



ผลของสารสกัดหยาบจากว่านน้ำต่อการตาย ยับยั้งการวางไข่และพัฒนาเจริญเติบโตของ
หนอนใยผัก, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera : Yponomeutidae)
Effect of Crude Extract from Sweet Flag on Insecticidal, Anti-oviposition and
Growth Inhibition of Diamondback Moth, *Plutella xylostella* (L.)
(Lepidoptera : Yponomeutidae)
ณัฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์*
Nathapong Matintarangsarn
ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์**
Duangduan Wattanuruk

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากว่านน้ำในการเป็นสารฆ่า ยับยั้งการวางไข่และยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนใยผัก 4 ที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) การศึกษาการฆ่าและการยับยั้งการพัฒนากาเจริญเติบโต ใช้หนอนใยผัก 10 ตัวต่อความเข้มข้น ทำการทดลอง 5 ซ้ำ การยับยั้งการวางไข่ใช้ผีเสื้อหนอนใยผัก 20 คู่ต่อกรง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยาอุณหภูมิตั้ง 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า การยับยั้งการวางไข่และเจริญเติบโตของหนอนใยผักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ความเข้มข้น 2.0% ของสารสกัดจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าหนอนใยผัก 4 สูงสุด มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดเท่ากับ 76.0 และ 96.0% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 0.75 และ 0.25% ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในการยับยั้งการวางไข่ ที่ความเข้มข้นที่ 2.0% มีผลต่อการยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักสูงสุด มีจำนวนไข่เฉลี่ย 2.00 ± 0.81 ฟอง คิดเป็น 95.31% โดยความเข้มข้นที่ 0.125, 0.25, 0.5 และ 0.1% มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการวางไข่เท่ากับ 45.31, 59.37, 71.87 และ 80.47% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมเปรียบเทียบไม่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการวางไข่ นอกจากนี้ที่ความเข้มข้น 0.125% ของสารสกัดจากว่านน้ำ ระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 32.0% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์ 4.60% ระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 7.80 ± 0.74 และ 10.60 ± 0.47 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 4.60 ± 0.80 และ 6.20 ± 0.74 ตัว ตามลำดับ

คำสำคัญ : การฆ่า / การยับยั้งการวางไข่ / การยับยั้งการเจริญเติบโต / หนอนใยผัก

*อาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์

**อาจารย์ประจำหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์
ในพระบรมราชูปถัมภ์

ABSTRACT

The objective was to study effect of crude extract from sweet flag on insecticidal, anti-oviposition and growth inhibition on the 4th instar larvae of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera : Yponomeutidae). The various concentrations of crude extract from sweet flag 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0% (w/v) were applied. The study of insecticidal and growth inhibition used ten larvae of diamondback moth. Each concentration was replicated for five times. The 0.125% concentration was used as the anti-oviposition and released 20 pairs/cage of adult of diamondback moth and replicated for three times. The treatments were arranged in a completely randomized design (CRD) and were conducted at laboratory of biology at temperature (25-27°C) and RH (75-80%). The results were found that the crude extract from sweet flag as insecticidal, anti-oviposition and development on 4th larvae of diamondback moth was significantly effective ($p < 0.05$) when compared with the control group. At 2.0% of crude extract from sweet flag was effective as insecticidal on 4th larvae of diamondback moth. The percent of mortality was the highest 76.0 and 96.0% and LC_{50} value with 0.75 and 0.25% at 24 and 48 h. The anti-oviposition, at 2.0% of crude extract from sweet flag was effective as insecticidal on 4th larvae of diamondback moth. The mean number of egg was 2.00 ± 0.81 eggs (95.31%) and the concentration of 0.125, 0.25, 0.5 and 0.1% was 45.31, 59.37, 71.87 and 80.47% at 48 h, respectively. Besides, at 0.125% of crude extract from sweet flag was 32.0% of mortality of pupa stage when compared with control group was 2.0%. The time of development of pupa stage and adult stage were 7.80 ± 0.74 and 10.60 ± 0.47 days, respectively when compared with control group were 4.60 ± 0.80 and 6.20 ± 0.74 days, respectively.

Keyword : Insecticidal / Anti-oviposition / Growth Inhibition / Diamondback Moth

บทนำ

หนอนใยผัก (Diamondback Moth : DBM) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Plutella xylostella* Linnaeus อยู่ในวงศ์ Yponomeutidae อันดับ Lepidoptera หนอนใยผักก่อให้เกิดความเสียหายกับผักตระกูลกะหล่ำทั่วทั้งประเทศไทย โดยเฉพาะในแหล่งปลูกผักเพื่อการค้าจะพบหนอนใยผักระบาดเป็นประจำ เนื่องจากหนอนใยผักมีวงจรชีวิตสั้นและมีการแพร่ขยายพันธุ์รวดเร็ว ตัวเต็มวัยของหนอนใยผักเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก มีสีเทา ส่วนหลังมีแถบสีเหลืองส้ม หนวดเป็นแบบเส้นด้าย แต่ละปล้องมีสีดำสลับขาว เมื่อกางปีกวัดได้ประมาณ 6-7 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีอายุประมาณ 5-7 วัน มีการพัฒนาการวางไข่ได้เร็วในระยะแรกของตัวเต็มวัยคือ หลังออกจากดักแด้ภายใน 1 วัน สามารถวางไข่ได้ทันทีและวางไข่ได้ตลอดชีวิต เพศเมียวางไข่เป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็นกลุ่มเล็กๆ เรียงติดกันประมาณ 20-80 ฟอง โดยวางไข่ทั้งบนใบและใต้ใบพืช ตัวเต็มวัยเพศเมียสามารถวางไข่ได้ประมาณ 47-407 ฟอง ไข่มีลักษณะค่อนข้างแบนและยาวรี มีสีเหลืองอ่อนเป็นมันและจะเปลี่ยนเป็นสีดำ เมื่อใกล้ฟักออกเป็นตัวหนอน ระยะไข่ประมาณ 3-4 วัน ตัวหนอนมีลักษณะลำตัวยาวหัวแหลมท้ายแหลมส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกเป็น 2 แฉก ตัวหนอนมีสีเขียวอ่อน เทาอ่อนหรือเขียวปนเหลือง เมื่อถูกตัวจะคันอย่างรุนแรงและทั้งตัวลงดินโดยการชักใย หนอนเมื่อโตเต็มที่มีขนาด 1 เซนติเมตร มี 4 วัย หนอนจะเข้าดักแด้ตามใบพืชโดยมีใย

ปกคลุม ดักด้หอนอยฝักในระยะแรกๆ จะมีสีเขียวและจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเทาเมื่อไถ่ล่อออกเป็นตั้เต็มวัย ดักด้มีขนาด 1 เซนติเมตร (นันทยา, 2549; ษศิริวรรณ, 2557)

การป้องกันกำจัดหอนอยฝักเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมีสังเคราะห์ (synthesis insecticide) เนื่องจาเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ อย่างไรก็ตามผลกระทบที่ตามมามีหลายประการ เช่น สารเคมีตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม สัตว์และสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ตาย ลดความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศและที่สำคัญแมลงพัฒนาสร้างความต้านทานต่อสารเคมี (Dey, et al., 2013) จากรายงานการวิจัยของ Conte de Oliveira, et al. (2011) ศึกษาการสร้างความต้านทานของหอนอยฝักต่อสารเคมีสังเคราะห์ Abamectin, Deltamethrin และ Spinosad พบว่าหอนอยฝักสามารถสร้างความต้านทานได้ถึง 20.2 เท่า โดยค่าความเป็นพิษ (LC₅₀) มีค่าเท่ากับ 85.2 ถึง 360.1 mg/L⁻¹ นอกจากนี้หอนอยฝักยังสามารถสร้างความต้านทานต่อสารเคมีสังเคราะห์ชนิดอื่น เช่น emamectin benzoate, chlorantraniliprole และ flubendiamide (Sunitha, et al., 2014)

การใช้สารสกัดจากพืช (plant extract) เป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เนื่องจากสารออกฤทธิ์จากพืชไม่คงทนและสลายตั้ง่าย จึงทำให้ไม่มีปัญหาในเรื่องการสะสมของสารพิษและไม่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม (Khater, 2012; Sarwar, 2015) จากการศึกษาของ Azad, et al. (2012) พบว่าสารจากพืชมีคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่า สารไล่ สารยับยั้งการกิน สารยับยั้งการวางไข่และสารยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงศัตรูพืช ว่านน้ำ (Sweet flag) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Acorus calamus* L. อยู่ในวงศ์ Araceae เป็นพืชล้มลุก ลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดินลักษณะเป็นแท่งค่อนข้างแบนขึ้นบริเวณโคลนตามริมบ่อ หนอง คลองบึงในระดับน้ำตื้น นิยมนำมาใช้เป็นสมุนไพรและใช้ประโยชน์ทางด้านการเกษตร สารสำคัญที่พบในว่านน้ำได้แก่ alpha-asarone, beta-asarone, asaryl aldehyde, eugenol, asarone, acorin, acalamol aldehyde โดยเฉพาะสาร beta-asarone พบประมาณ 79.54% เป็นพิษต่อระบบประสาทของแมลง ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ยับยั้งการเจริญเติบโตและการกินอาหาร รวมทั้งยับยั้งการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์และการออกจากไข่ของตัวอ่อน เหมาะสำหรับการประยุกต์ใช้สำหรับสารป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูพืช (นันทยา, 2547) การวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากว่านน้ำต่อการตาย (insecticidal) ยับยั้งการวางไข่ (anti-oviposition) และยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibition) ของหอนอยฝัก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการควบคุมหอนอยฝักและเป็นการลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ ซึ่งจะปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์และสิ่งแวดล้อมต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเลี้ยงและเพิ่มจำนวนหอนอยฝัก

นำหอนอยฝักจากแปลงผักเกษตรกรมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการชีววิทยาที่อุณหภูมิห้อง 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ใบคะน้าเป็นอาหาร นำไข่ที่ได้ไปฟักโดยใส่ไว้ในกล่องพลาสติกใสขนาด 19 x 28 x 10 เซนติเมตร ให้ความชื้นสำหรับไข่โดยใช้สำลีสบุน้ำให้พอชุ่มสั้ไว้ในกล่องประมาณ 2-3 วัน ไข่จะเปลี่ยนจากสีขาวนวลเป็นสีน้ำตาลดำและฟักออกมา หอนอยวัยแรกมีลำตั้วางใสเป็นมันวาว สีเหลืองอ่อนหัวสีน้ำตาลเกือบดำ ส่วนอกปล้องแรกค่อนข้างแข็ง ส่วนลำตั้จะมีขนสีดำปกคลุมตั้ไป ย้ายหอนอยฝักวัยแรกใสในกล่องพลาสติกใสขนาดเท่าเดิมโดยมีใบคะน้าสั้ไว้ในกล่องเพื่อเป็นอาหาร เปลี่ยนอาหารและกล่องเลี้ยงหอนอยทุกวัน หลังจากหอนอยฝักเข้าดักแด้นำไปแยกเก็บไว้ในกล่องใหม่ซึ่งรองก้นด้วยกระดาษทิชชูที่พรมน้ำพอชื้น เมื่อดักแด่ออกเป็นตั้เต็มวัยปล่อยให้สั้ผสมพันธุ์กัน ใช้สำลีสบุน้ำหวานความเข้มข้น 10% สำหรับให้เป็นอาหาร ในการทดสอบใช้หอนอยฝักวัย 4 ที่ได้จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมสารสกัดจากวุ้นน้ำ

นำส่วนเหง้าของวุ้นน้ำที่เก็บจากหนองน้ำในเขต ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี มาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นผึ่งให้แห้งในที่ร่ม นำส่วนเหง้าของวุ้นน้ำมาหั่นให้ละเอียด หลังจากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction โดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย นำส่วนเหง้าของวุ้นน้ำที่เตรียมไว้บรรจุใน Thimble โดยใช้ส่วนเหง้าของวุ้นน้ำ 100 กรัมต่อเอทานอล 800 มิลลิลิตร (1:8 w/v) แล้วนำไปสกัดด้วยเครื่องสกัดสาร (Soxhlet apparatus) สกัดวันละ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน นำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman[®] เบอร์ 1 จะได้สารสกัดที่ผสมอยู่ในตัวทำละลาย แล้วนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ก็จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งจัดเป็นสารสกัดความเข้มข้น 100% เก็บไว้ในขวดสี แล้วนำไปไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดสอบขั้นต่อไป



ก



ข

ภาพที่ 1 เครื่อง Soxhlet Extraction (ก) เครื่อง evaporator (ข)

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน (oral toxicity)

ทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากวุ้นน้ำโดยวิธีจุ่มใบพืช (Leaf Dipping Method) วางแผนการทดลองแบบสุ่มบรูณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ทำการทดสอบโดยวางใบค่น้ำที่จุ่มสารสกัดจากวุ้นน้ำ ที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) โดยใช้ เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นาน 30 วินาที ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม นำใบค่น้ำใส่ลงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร รองก้นกล่องด้วยกระดาษฟางชุบน้ำเพื่อให้ความชื้น ส่วนของฝากล่องเจาะรูและบุด้วยผ้าขาวบางเพื่อระบายอากาศ ปลอ่ยหนอนใยฝักวัย 4 จำนวน 10 ตัวต่อกล่อง ทำการทดสอบ 5 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยใช้เอทานอล บันทึกจำนวนหนอนใยฝักตายที่เวลา 24 ชั่วโมง หลังการทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการวางไข่ (anti-oviposition)

ทำการทดสอบโดยการเพาะกล้าค่น้ำในถ้วยพลาสติกซึ่งรองด้วยกระดาษทิชชูเปียก เมื่อครบ 7 วัน ถอนต้นกล้าค่น้ำทิ้งให้เหลือ 15 ต้น ฉีดพ่นสารสกัดจากวุ้นน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดสเปรย์ขนาดเล็ก หลังจากนั้นนำต้นกล้าค่น้ำที่ผ่านการฉีดพ่นสารแล้ว ความเข้มข้นละ 1 ถ้วยใส่ในกรงพลาสติก โดยมีต้นกล้าค่น้ำที่ฉีดพ่นด้วยเอทานอล 1 ถ้วยเป็นชุดควบคุม ปลอ่ยฝั่หนอนใยฝักที่เพิ่งออกเป็นตัวเต็มวัยใหม่ๆ ในกรงๆ ละ 20 คู่ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้พืชและแมลงคนละชุดกัน ทั้งไว้ 48 ชั่วโมง จึงทำการตรวจนับจำนวนไข่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มบรูณ์ (Completely Randomized Design : CRD) นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่า Effective Repellency (%ER) ตามวิธีของ Xue., et al. (2001) โดยที่ $ER (\%) = \frac{(NC-NT)}{NC} \times 100 (\%)$ เมื่อ

NC = จำนวนไขในชุดควบคุม NT = จำนวนไขในชุดทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth Inhibition)

ทำการทดสอบแบบเดียวกับการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน โดยนำใบคะน้าที่ชุบด้วยสารสกัดจากว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.125% ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่มีผลต่อการตายของหนอนใยผักมาเลี้ยงตัวหนอนจนเข้าดักแด้และเจริญเป็นตัวเต็มวัย ความเข้มข้นละ 10 ตัว ทำการทดลอง 5 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยใช้เอทานอล บันทึกจำนวนหนอนใยผักที่รอดชีวิต เข้าสู่ดักแด้และเจริญเป็นตัวเต็มวัย

วิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า นำข้อมูลที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) ดังสูตร อัตราการตายที่แท้จริง = $(A-B) \times 100 / (100-B)$ A = อัตราการตายของกลุ่มทดลอง B = อัตราการตายของกลุ่มควบคุม และนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองแต่ละการทดสอบมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ และวิเคราะห์ค่า Median Lethal Concentration (LC_{50}) โดยวิธี Probit analysis (Finney, 1971)

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากว่านน้ำในการเป็นสารฆ่าโดยการกินของหนอนใยผักวัย 4 ที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าหนอนใยผักวัย 4 ได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้นของสารสกัดจากว่านน้ำสูงขึ้น มีผลทำให้จำนวนและเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัย 4 เพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้น 2.0% ของสารสกัดจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักสูงสุดเท่ากับ 76.0 และ 96.0% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 0.75 และ 0.25 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่มีการตายของหนอนใยผัก ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5 และ 1.0% มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักอยู่ในระดับต่ำมีค่าเท่ากับ (26.0, 34.0), (32.0, 50.0), (48.0, 68.0) และ (52.0, 76.0) ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่มีการตายของหนอนใยผักวัย 4 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักวัย 4 เมื่อได้รับสารสกัดจากว่านน้ำที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยวิธีจุ่มใบพืช (Leaf Dipping Method)

Conc (%)	No of 4 instar larvae	Mean $\pm$ SD after 24 h	Percent mortality after 24 h	Mean $\pm$ SD after 48 h	Percent mortality after 48 h
0	10	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00	0.00 $\pm$ 0.00 ^a	0.00
0.125	10	2.80 $\pm$ 0.40 ^b	26.0	3.40 $\pm$ 0.48 ^b	34.0
0.25	10	3.20 $\pm$ 0.40 ^b	32.0	5.00 $\pm$ 0.63 ^b	50.0
0.5	10	4.80 $\pm$ 0.48 ^b	48.0	6.80 $\pm$ 0.74 ^{bc}	68.0
1	10	5.20 $\pm$ 0.40 ^{bc}	52.0	7.60 $\pm$ 0.48 ^{bc}	76.0
2	10	7.60 $\pm$ 0.48 ^c	76.0	9.60 $\pm$ 0.48 ^c	96.0

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการวางไข่

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากว่านน้ำในการเป็นสารยับยั้งการวางไข่ของหนอนใยผักวัย 4 ที่ระดับความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีผลในการเป็นสารยับยั้งการวางไข่ของหนอนใยผักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดว่านน้ำสูงขึ้นมีผลต่อการยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักลดลง โดยที่ความเข้มข้นที่ 2.0% มีผลต่อการยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักสูงสุด มีจำนวนไข่เฉลี่ย 2.00 ± 0.81 ฟอง คิดเป็น 95.31% โดยความเข้มข้นที่ 0.125, 0.25, 0.5 และ 0.1% มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการวางไข่เท่ากับ 45.31, 59.37, 71.87 และ 80.47% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมเปรียบเทียบกับไม่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการวางไข่ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากว่านน้ำที่ 48 ชั่วโมง

Concentration (%)	Mean number of egg (egg)	Percent of anti-oviposition (ER %)
0	42.66 $\pm$ 2.05 ^a	0.00
0.125	23.33 $\pm$ 1.69 ^b	45.31
0.25	17.33 $\pm$ 1.69 ^c	59.37
0.5	12.00 $\pm$ 1.69 ^d	71.87
1.0	8.33 $\pm$ 1.24 ^e	80.47
2.0	2.00 $\pm$ 0.81 ^f	95.31

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดจากว่านน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0.125% ในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนใยผัก พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่ระดับความเข้มข้น 0.125% มีผลทำให้หนอนมีอัตราการรอดชีวิตเพื่อเข้าดักแด้และเจริญออกเป็นตัวเต็มวัยน้อยลง โดยในระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 32.0% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 2.0% ระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 7.80 ± 0.74 และ 10.60 ± 0.47 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 4.60 ± 0.80 และ 6.20 ± 0.74 ตัว ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตาย ระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้และตัวเต็มวัยของผีเสื้อหนอนใยผักเมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากว่านน้ำที่ความเข้มข้น 0.125%

Conc (%)	Pupal mortality (%)		Pupal duration (days)	Adult duration (days)
	Mean $\pm$ S.D.	(%)	Mean $\pm$ S.D.	Mean $\pm$ S.D.
0.125	3.20 ± 0.74^a	32.0	7.80 ± 0.74^a	10.60 ± 0.74^a
control	0.20 ± 0.40^b	2.0	4.60 ± 0.80^b	6.20 ± 0.74^b

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$

อภิปรายผล

จากการศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากว่านน้ำที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 และ 2.0% (w/v) ต่อการตาย ยับยั้งการวางไข่และพัฒนาเจริญเติบโตของหนอนใยผัก พบว่าสารสกัดหยาบจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า ยับยั้งการวางไข่และการพัฒนาเจริญเติบโตของหนอนใยผัก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในการเป็นสารฆ่า ที่ระดับความเข้มข้น 2.0% ของสารสกัดจากว่านน้ำมีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักสูงสุดเท่ากับ 76.0 และ 96.0% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 0.75 และ 0.25 ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ในการยับยั้งการวางไข่ ที่ความเข้มข้น 2.0% มีผลต่อการยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักสูงสุด มีจำนวนไข่เฉลี่ย 2.00 ± 0.81 ฟอง คิดเป็น 95.31% ในการยับยั้งการเจริญเติบโต ที่ความเข้มข้น 0.125 ระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 2.0% ระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 7.80 ± 0.74 และ 10.60 ± 0.47 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 4.60 ± 0.80 และ 6.20 ± 0.74 ตัว ตามลำดับ จากการศึกษาของ Melani, et al. (2016) อธิบายว่าองค์ประกอบทางเคมีที่พบในสารสกัดว่านน้ำมี methyl isoeugenol, 3,9-decadien-ol-1,3-methyl-6-(1-methylethenyl), 4-pentyl-1-(4-propylcyclohexyl)1cyclohexene, γ -asarone และ β asarone มีผลต่อระบบประสาทโดยขัดขวางการทำงานของระบบประสาท ซึ่งมีผลต่อการไปยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ทำให้เป็นอัมพาตและตายในที่สุดและสามารถใช้ควบคุมศัตรูพืชได้ และจากการศึกษาของ Mishra, et al. (2015) อธิบายว่าเมื่อหนอนกินพืชอาหารที่มีสารพิษเข้าไป สารพิษจะมีผลต่อระบบย่อยอาหารส่วนกลาง (midgut) ของแมลง (digestive system) สารพิษจะทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อผิวของกระเพาะอาหาร เซลล์เยื่อผิวมีรูปร่างผิดปกติ

ซึ่งจะมีผลต่อการดูดซึมสารอาหาร และส่งผลต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตจากตัวหนอนเข้าสู่ดักแด้และตัวเต็มวัย และจากการวิจัยของ Rizwan-ul-haq, et al. (2010) อธิบายว่าสารพิษจากพืชจะมีผลในการยับยั้งการทำงานของกลูตาไธโอน เอส ทรานเฟอเรส (Glutathione S-transferases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการกำจัดสารพิษของแมลง และจากการศึกษาของ Senrungs, et al. (2014) อธิบายว่าตรงปลายสุดของอวัยวะสืบพันธุ์ (ovipositor) ของแมลงจะมีเซลล์ประสาทรับสัมผัสทางเคมี (chemoreceptor) อยู่ ถ้าแหล่งอาหารไม่มีความเหมาะสมในการวางไข่ เช่น การมีสารพิษ แมลงจะใช้อวัยวะวางไข่แต่ยังบริเวณแหล่งอาหารและถอยหนีออกไป นอกจากนี้ Balakumbahan, et al. (2010) ยังอธิบายว่าสาร β asarone ในวุ้นน้ำจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง โดยจะไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์เอกไดโซน (ecdysone) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการลอกคราบในระยะหนอนในแมลง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ขอขอบคุณคณาจารย์และบุคลากรห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้ห้องปฏิบัติการวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ในการทดลองครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- นันทยา กัลยาศิริ. (2549). ควบคุมศัตรูพืชด้วยสารสกัดจากพืช. **จดหมายข่าวผลไม้**, 9(8), 1-3.
- ชศิธรณ เรือศรีจันทร์. (2557, พฤศจิกายน). หนอนไผ่ผัก. **จดหมายข่าวพยากรณ์และเตือนภัยการระบาดศัตรูพืช สำนักงานเกษตรจังหวัดตราด**, 3(3), 1-3.
- Abbott, W.S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. **Journal Econ Entomol**, 18, 265-267.
- Azad, M.A.K. (2012). Effect of botanical extract on pest control in Brinjal field. **Journal environ sci and nat resources**, 5(2), 173-176.
- Balakumbahan, K. Rajamani, K. & Kumanan, K. (2010). Acorus calamus : An overview. **Journal Med Pants Res**, 4(25), 2740-2745.
- Conte de Oliveira, A., et al. (2011). Resistance of Brazilian diamondback moth populations to insecticides. **Sci. Agric**, 68(2), 154-159.
- Dey, K.R., Choudhury, P. & Dutta, B.K. (2013). Impact of pesticide use on the health of farmers : A study in Barak Valley, Assam (India). **Journal Environ Chem Ecotoxicol**, 5, 269-277.
- Finney, D.J. (1971). **Probit Analysis**. (3 rd ed.). London : Cambridge University Press.
- Khater, H.F. (2012). Prospects botanical biopesticides in insect pest management. **Phramacologia**, 3(12), 641-651.
- Melani, D., Himawan, T. & Afandhi, A. (2016). Bioactivity of sweet flag (Acorus calamus Linnaeus) essential oils against Spodoptera litura Fabricius (Lepidoptera : Noctuidae). **Journal Trop Life. Science**, 6(2), 86-90.
- Mishra, M., Gupta, K.K. & Kumar, S. (2015). Impact of the stem extract of Thevetia neriifolia on the feeding potential and histological architecture of the midgut epithelial tissue of early fourth instars of Helicoverpa armigera Hübner. **Int. Journal Trop. Insect Sci**, 7, 53-60.
- Rizwan-ul-haq, M., et al. (2010). Impact of two medicinal plant extracts on glutathione s-transferase activity in the body tissues Spodoptera exigua (Lepidoptera : Noctuidae). **Pakistan Journal of Botany**, 42(6), 3971-3979.
- Sarwar, M. (2015). The killer chemicals for control of agriculture insect pests : The botanical insecticides. **Int. Journal Chem and Biomol Sci**, 1(3), 123-128.
- Senrunga, A., et al. (2014). Effect of Murraya koenigii extracts on feeding and ovipositional response of Spodoptera litura (Fab.) (Lepidoptera : Noctuidae). **Journal Ento. and Zoo Studies**, 2(3), 27-31.
- Sunitha, V., Singh, T.V.K. & Satyanarayana, J. (2014). Cross-resistance variation among different populations of diamondback moth, Plutella xylostella (Linn.) to new insecticides. **Int. Journal Bio-resource and Stress Management**, 5(4), 522-529.
- Xue, R.D., Barnard, D.R. & Ali, A. (2001). Laboratory and field evaluation of insect repellents as oviposition deterrents against the mosquito Aedes albopictus. **Med and Vet Entomol**, 15, 126-133.