



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง

ประสิทธิผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผัก

EFFICACY OF ALOE VERA (*Aloe babradensis*, Miller.) RIND EXTRACT ON
DIAMONDBACK MOTH (*Plutella xylostella* L.) CONTROL

โดย

อาจารย์ปณรสี สู่ศิริรัตน์
อาจารย์ภัทรา พลับเจริญสุข

มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

รายงานการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

2552

คำสำคัญ : หนอนใบผัก, วานหางจระเข้

บทคัดย่อ

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ *Aloe babradensis*, Miller ในการควบคุม หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. พบว่า สารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้จากการสกัดด้วยวิธีซอกซ์ เลต (Soxhlet extraction) โดยมีเอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายและการสกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) ด้วยเอทานอล (ethanol) มีปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) 27.38 และ 4.56 % w/v ตามลำดับ ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยาบจากวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ไปทดสอบการไล่ การยับยั้งการ กินอาหาร อัตราการตาย และการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยผัก

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีต่อหนอนไผ่ฝักมีประสิทธิภาพในการไล่หนอนไผ่ระยะที่ 2 เมื่อเวลาผ่านไป 5 ชม.พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ให้เปอร์เซ็นต์การไล่ (percentage repellency PR) ดังนี้ 1.0, 2.0 และ 3.0 % w/v มีค่า 40.1-60.00 % ความเป็นสารไล่อยู่ระดับ 3 ที่ความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 % w/v มีค่า 60.1-80.00 % ความเป็นสารไล่อยู่ระดับ 4 จากผลการทดลองสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้เหมาะสมที่จะใช้เป็นสารไล่หนอนไผ่เนื่องจากประสิทธิภาพในการไล่ไม่ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนไผ่ระยะที่ 2 พบค่า median antifeedant index ;AFI₅₀ ที่ 24 ชม.เท่ากับ 2.97 % w/v และพบการตายของหนอนไผ่ 100% ที่ความเข้มข้น 3% (w/v) ค่า LC₅₀ ที่ 72 ชม.เท่ากับ 1.83 % ในการศึกษาผลการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่เมื่อทดสอบกับสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระดับเอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) พบว่าระดับเอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้นประมาณ 40 และ 80 % ที่ความเข้มข้น 1.50 และ 2.00 % (w/v) และระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เพิ่มขึ้นประมาณ 20, 40 และ 60 % ที่ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) แต่เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับเอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ในรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่ความเข้มข้นเดียวกันระดับเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลง

ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) 95 % เป็นตัวทำละลาย สามารถใช้ในการควบคุมหนอนใยผักแทนการใช้สารเคมีได้อย่างมีประสิทธิภาพ และหนอนใยผักไม่มีการสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ภายในระยะเวลาอันสั้น

Title : Efficacy of aloe vera (*Aloe babradensis*, Miller) rind extracts on diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) control.

Researchers : Mrs. Pannarasi Susirirut
Miss. Pattra Plubcharoensook

Institution : Dhurakij Pundit University

Year of Publication : 2009

Publisher : Dhurakij Pundit University

Sources : Dhurakij Pundit University Research Center.

Number of Pages : 80 Pages

Copyright : Dhurakij Pundit University

Keyword : diamondback moth (*Plutella xylostella* L.), aloe vera (*Aloe babradensis*, Miller)

Abstract

The efficacy of aloe vera (*Aloe babradensis*, Miller) rind extracts on diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) found that the percentage of anthraquinone in crude extract of aloe vera's rind by ethanol soxhlet extraction and ethanol fermentation were 27.38 and 4.56 % w/v. ethanol soxhlet extraction were used against to the diamondback moth control.

The repellency of the extract from aloe vera's rind to 2nd larvae diamondback moth (5 hr) showed percentage repellency (PR) class of 3 when exposed to 1.0, 2.0 and 3.0 % w/v and percentage repellency (PR) class of 4 when exposed to 4.0 and 5.0 % w/v. However, the exposure was left longer for 5 hours the extract of aloe vera's rind was more effective. The larvae were driven away. The antifeedant effect of the extracts on 2nd larvae diamondback moth was found median antifeedant index; AFI₅₀ (24 hr) values of 2.97 % w/v. The extract of aloe vera's rind exhibited 100 % mortality at concentration of 3.0 % w/v and median lethal dose LD₅₀ (72 hr) was 1.83 % w/v. Evaluations of detoxification enzymes change in diamondback moth was carried out. The concentration of 1.50, 2.00 and 2.25 % w/v were trialed for their enzymes reaction namely; esterase and glutathione S-transferase. Three generation of the insect were assayed. Increased esterase levels by 40 and 8 % at concentration of 1.50 and 2.00 % w/v were recorded. Glutathione S-transferase were increased by 20, 40 and 60 % at concentration of 1.50, 2.00 and 2.25 % w/v

Manipulative data showed that aloe vera (*Aloe babradensis*, Miller) rind extracts by ethanol soxhlet extraction could reduce detoxification enzyme activity in diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) and showed high percentage repellency, antifeedant activity and mortality at appropriate extraction technique. Their resistant mechanism reaction is not increased in short time.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์วิจัย มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ และขอขอบพระคุณ รศ.ดร.สรชัย พิศาลบุตร ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแนวทางในการทำวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณบริษัทปรางบุรี โอเตอิ จำกัด ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์เปลือกว่านหางจระเข้ เพื่อนำมาใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณ ดร.มณฑนา มิลน์ ผู้อำนวยการสำนักวิจัยและพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมงานวิจัยวัดฤมิพิษทางการเกษตรจากสารธรรมชาติ ที่ให้ความช่วยเหลือ และคำแนะนำในงานวิจัย และขอขอบพระคุณเกษตรกร อ.บางบัวทอง จ.นนทบุรีทุกท่านที่อนุเคราะห์ให้เก็บตัวอย่างหนอนใยผักเพื่อนำมาใช้ในงานวิจัย

ขอบคุณเพื่อน พี่ น้อง และอาจารย์มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ ที่ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และกำลังใจด้วยดีเสมอมา

ท้ายที่สุดประโยชน์อันเนื่องมาจากการงานวิจัย จะพึงมีเพียงใด คุณความดีนั้นขอมอบแต่ บิดา มารดา และอาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้จนถึงปัจจุบัน

คณะผู้วิจัย
เมษายน 2552

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
กิตติกรรมประกาศ		ค
สารบัญ		(1)
สารบัญตาราง		(3)
สารบัญภาพ		(4)
บทที่ 1	บทนำ	
	1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
	1.3 สมมติฐานของวิจัย	2
	1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
	1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
	1.6 นิยามศัพท์	3
บทที่ 2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
	2.1 วานหางจระเข้	4
	2.2 หนอนไผ่ผัก	7
	2.3 คุณสมบัติสารทุติยภูมิในพืช	15
	2.4 ระบบเอนไซม์ทำลายพิษของแมลง	18
บทที่ 3	อุปกรณ์และวิธีวิจัย	
	3.1 อุปกรณ์	19
	3.2 วิธีวิจัย	22
	3.2.1 การสกัดสารจากเปลือกวานหางจระเข้	22
	3.2.2 การปลูกผักคะน้า	25
	3.2.3 การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงหนอนไผ่ผัก	26

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

	3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือก	
	ว่านหางจระเข้ต่อหนอนใยผัก	28
	3.2.4.1 ประสิทธิภาพในการไล่	28
	3.2.4.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหาร	29
	3.2.4.3 ประสิทธิภาพต่ออัตราการตาย	30
	3.2.5 ตรวจวัดเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนใยผัก	31
บทที่ 4	ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	
	4.1 ผลการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้	34
	4.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือก	35
	ว่านหางจระเข้ต่อหนอนใยผัก	
	4.2.1 ผลการทดสอบในการไล่	35
	4.2.2 ผลการทดสอบในการยับยั้งการกินอาหาร	39
	4.2.3 ผลการทดสอบต่ออัตราการตาย	42
	4.3 ผลการตรวจเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนใยผัก	46
บทที่ 5	สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	
	5.1 สรุปผลการวิจัย	56
	5.2 ข้อเสนอแนะ	57
บรรณานุกรม		60
ภาคผนวก		67
ประวัติผู้วิจัย		71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽¹⁾ ของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักด้วยสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง	36
2	แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽¹⁾ ของระดับอัตราการไล่ (Repellency rate) หนอนใยผักด้วยสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 5 ชั่วโมง	37
3	แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชม.	39
4	แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.	43
5	แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽¹⁾ ของเอสเทอเรส (esterase) หนอนใยผักที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	47
6	เปรียบเทียบเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนใยผัก รุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	48
7	แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ⁽¹⁾ ของกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) หนอนใยผักที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	52
8	เปรียบเทียบกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใยผัก รุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ	53

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แอนทราควิโนน (Anthraquinone) ถูกรีดิวซ์ได้แอนทรานอล (Anthranol) โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่	5
2	วงจรชีวิตหนอนใยผัก <i>Plutella xylostella</i> L	8
3	ลักษณะตัวหนอนของหนอนใยผัก <i>Plutella xylostella</i> L. ระยะที่ 4	9
4	ลักษณะตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก <i>Plutella xylostella</i> L	9
5	เปลือกกว่านหางจระเข้	22
6	อบเปลือกกว่านหางจระเข้ด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)	23
7	เปลือกกว่านหางจระเข้อบแห้ง	23
8	เปลือกกว่านหางจระเข้อบแห้งบดละเอียด	23
9	การสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinone) โดยใช้เครื่องสกัดซอกซ์เลต	24
10	การสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinone) โดยใช้วิธีการหมัก	24
11	ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสูญญากาศแบบหมุน	24
12	สารสกัดหยาบจากเปลือกกว่านหางจระเข้	25
13	การเพาะเมล็ดพันธุ์คะน้า	25
14	ผักคะน้าปราศจากสารฆ่าแมลง	26
15	ผีเสื้อหนอนใยผักตัวเต็มวัยขณะผสมพันธุ์	27
16	ผีเสื้อหนอนใยผักวางไข่	27
17	หนอนใยผักเลี้ยงด้วยใบคะน้า	27
18	ดักแด้ผีเสื้อหนอนใยผัก	28
19	สารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ความเข้มข้นต่าง ๆ	30
20	การเตรียมใบผักคะน้าเพื่อใช้ในทดสอบ (Leaf dipping method)	31
21	อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดและสกัดเอนไซม์	33
22	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชม.	37
23	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชม.	40

สารบัญรูปภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
24	แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชม.	40
25	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.	44
26	แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.	44
27	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนใยผักที่เลี้ยงด้วยค่น้ำซึบสารสกัดจาก เปลือกวุ้นที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	48
28	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และ รุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำซึบสารสกัดจากเปลือกวุ้นที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	49
29	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใยผักที่เลี้ยงด้วยค่น้ำซึบสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	53
30	ฮีสโตแกรมเปรียบเทียบระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยค่น้ำซึบสารสกัดจากเปลือกวุ้นที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ	54

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ว่านหางจระเข้เพื่อการบริโภค จะมีเปลือกว่านหางจระเข้ เป็นของเสียที่เหลือจากกระบวนการผลิต มากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณวัตถุดิบ และเป็นปัญหาในการกำจัดของโรงงานอุตสาหกรรม อีกทั้งเป็นของเหลือทิ้งที่ไม่เกิดมูลค่าใดๆ ดังนั้นเพื่อเป็นการลดปัญหาดังกล่าวจึงต้องคิดหาวิธีการที่จะนำเปลือกว่านหางจระเข้มาใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น

เปลือกว่านหางจระเข้มีสารเคมีกลุ่มแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ซึ่งมีฤทธิ์เป็นยาระบายอยู่เป็นจำนวนมาก ในปัจจุบันมีการนำสารแอนทราควิโนนจากเปลือกว่านหางจระเข้มาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งกระบวนการผลิตนั้นใช้เทคโนโลยีสูง และเงินทุนเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเพื่อเป็นการแก้ปัญหาโดยใช้เทคโนโลยี และเงินลงทุนที่จำกัด การศึกษาวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชทดแทนการใช้สารเคมีเพื่อลดปัญหาดังกล่าว และทำให้เกิดสมดุลในระบบนิเวศ ซึ่งนำไปสู่การพัฒนาคุณภาพของสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

หนอนไผ่เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผักคะน้า ซึ่งเป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย นิยมปลูกเพื่อบริโภคทั้งส่วนของต้นและใบ หนอนไผ่เป็นแมลงขนาดเล็กที่มีวงจรชีวิตสั้นและขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว เกษตรกรจะเห็นความเสียหายในแปลงปลูกก็ต่อเมื่อประชากรของหนอนไผ่มีจำนวนมากแล้ว จึงยากแก่การป้องกัน วิธีป้องกันและกำจัดที่เกษตรกรนิยมใช้มากที่สุด คือ การใช้สารเคมี เนื่องจากใช้ง่าย สะดวก เห็นผลอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อใช้ไปนานๆ หนอนไผ่จะสามารถต้านทานต่อสารเคมีได้ เนื่องจากมีกระบวนการทำลายสารพิษ (Detoxification) ซึ่งเป็นวิธีทางชีวเคมีในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพิษให้มีฤทธิ์น้อยลงหรือไม่มีฤทธิ์เลย โดยเมื่อหนอนไผ่ได้รับสารพิษจะมีการเปลี่ยนแปลงการสร้างเอนไซม์ขจัดพิษออกมาในชนิดและปริมาณที่เหมาะสม เพื่อทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการขจัดพิษ การเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกต่อไป ดังนั้นจึงต้องใช้สารเคมีในปริมาณมากขึ้น หรือเปลี่ยนไปใช้สารเคมีชนิดใหม่ที่มีฤทธิ์มากกว่าเดิม ดังนั้นจึงเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตมากยิ่งขึ้น

ปัจจุบันรัฐบาลตระหนักถึงความสำคัญของปัญหาการใช้สารเคมี จึงมีนโยบายให้ใช้สารจากพืชมาทดแทนสารเคมี เนื่องจากมีราคาถูก ใช้ง่ายและเห็นผลค่อนข้างเร็ว มีการออกฤทธิ์ค่อนข้างเฉพาะเจาะจง อัตราการสลายตัวสูง พิษตกค้างในธรรมชาติน้อย ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการนำสารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้มาใช้ทดแทนสารเคมีในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ซึ่งเป็นการพิสูจน์ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักจากอัตราการตาย การไล่ และการยับยั้งการกินอาหารที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในระดับต่างๆ และดูการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืชเพื่อดูแนวโน้มการสร้างความต้านทานของหนอนใยผักรุ่นต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการควบคุมหนอนใยผักแทนการใช้สารเคมี

1.2.2. ศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักจาก การไล่ การยับยั้งการกินอาหาร และอัตราการตาย ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในระดับต่างๆ

1.2.3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยผัก เพื่อดูแนวโน้มการสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

1.3.1 เปลือกว่านหางจระเข้มีสารเคมีกลุ่มแอนทราควิโนน (Anthraquinone) มากเพื่อใช้ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผัก

1.3.2 สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้มีประสิทธิภาพในการไล่หนอนใยผัก

1.3.3 สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้มีผลยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก

1.3.4 สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้มีผลต่ออัตราการตายของหนอนใยผัก

1.3.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ไม่ก่อให้เกิดการสร้างความต้านทานในหนอนใยผักรุ่นต่อไป

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผักด้วยภายใต้ข้อจำกัดต่างๆดังต่อไปนี้

1.4.1 เปลือกว่านหางจระเข้จากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตว่านหางจระเข้ในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง อ.ปรางค์บุรี จ.ประจวบคีรีขันธ์

1.4.2 หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L จากแหล่งปลูกแปลงเกษตรกร อำเภอบางบัวทอง จ.นนทบุรี และนำมาขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงด้วยผักคะน้าที่ปลูกในห้องทดลอง

1.4.3 สารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้ ใช้ทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักในสภาวะห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์เท่านั้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1. ทราบถึงวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ เพื่อนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก

1.5.2 ทราบถึงประสิทธิผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผักที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในระดับต่างๆ

1.5.3. ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยผักเมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

1.5.4 สามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก หรือแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.5.5 ช่วยลดปริมาณของเสียและเพิ่มมูลค่าของเสียที่เหลือจากกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ว่านหางจระเข้ให้กับโรงงานอุตสาหกรรม

1.6 นิยามศัพท์

1.6.1 Leaf dipping method การตรวจสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยนำไปพืชมวงกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 นิ้ว จุ่มลงในสารสกัดระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 30 วินาที ผึ่งให้แห้งในกล่องพลาสติกที่มีกระดาษรองอยู่ แล้วนำไปทดสอบ

1.6.2 Crude extracts การสกัดสารที่อยู่ในตัวอย่าง โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมผ่านลงในตัวอย่างที่อยู่ในภาชนะ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเข้าไปในระบบ ตัวทำละลายจะระเหย และ ถูกควบแน่นลงมาสกัดตัวอย่างซ้ำอีก จากนั้นนำส่วนของสารละลายอินทรีย์ไปสู่กระบวนการวิเคราะห์ต่อไป

1.6.3 LC_{50} (median lethal concentration) ความเข้มข้นของพิษต่อน้ำหนักตัวที่สัตว์ทดลองได้รับแล้วทำให้สัตว์ทดลองตายไปเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของสัตว์ทดลองที่นำมาทดลองทั้งหมด แล้วทำให้สัตว์ทดลองแสดงอาการเป็นพิษโดยไม่ถึงตาย

1.6.4 AFI_{50} (median antifeedant index) ความเข้มข้นของพิษต่อน้ำหนักตัวที่สัตว์ทดลองได้รับแล้วทำให้สัตว์ทดลองหยุดกินอาหารเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของการกินทั้งหมด

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ว่านหางจระเข้ *Aloe babradensis*, Miller.

2.1.1. ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของว่านหางจระเข้

การจัดจำแนก (Classification)

Kingdom Plantae

Phylum Magnoliophyta

Class Liliopsida

Order Asparagales

Family Asphodelaceae

วิทยาศาสตร์ : *Aloe babradensis*, Miller., *Aloe vera* (L.)

ชื่อท้องถิ่น : ว่านไฟไหม้ (ภาคเหนือ), ว่านหางจระเข้, หางตะเข้ (ภาคกลาง), ว่านหางเข้ (ใต้)

ถิ่นกำเนิด : แอฟริกา

คำว่า “อะโล” (Aloe) เป็นภาษากรีกโบราณ หมายถึง ว่านหางจระเข้ ซึ่งแผลงมาจากคำว่า “Allal” มีความหมายว่า ฝาดหรือขม ในภาษายิว ฉะนั้นเมื่อผู้คนได้ยินชื่อนี้ ก็จะทำให้นึกถึงว่านหางจระเข้ ว่านหางจระเข้เดิมเป็นพืชที่ขึ้นในเขตร้อนต่อมาได้ถูกนำไปแพร่พันธุ์ในยุโรป และเอเชีย

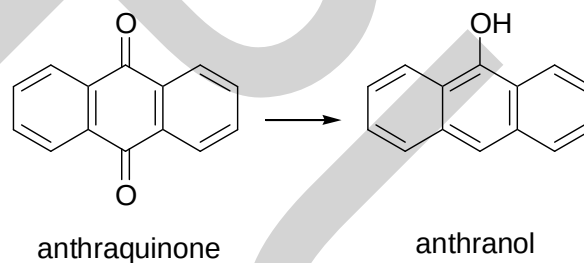
ว่านหางจระเข้ที่มีอยู่ในปัจจุบันนี้มีกว่า 300 ชนิด แต่ในจำนวนนี้มีอยู่ไม่กี่ชนิดที่ใช้รักษาโรคให้ผลชะงัด ซึ่งได้แก่ ว่านหางจระเข้เขียว แหล่งดั้งเดิมมาจากแอฟริกา ว่านหางจระเข้แหลมกูดโฮป และว่านหางจระเข้โบรา (BEIRA) เป็นต้น

ว่านหางจระเข้เป็นต้นพืชที่มีเนื้ออิมวอบ แหล่งกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในซานฟังทะเลเมดิเตอร์เรเนียน และบริเวณตอนใต้ของทวีปแอฟริกา พันธุ์ของว่านหางจระเข้มีมากมายกว่า 300 ชนิด ซึ่งมีทั้งพันธุ์ที่มีขนาดใหญ่มากจนไปถึงพันธุ์ที่มีขนาดเล็กกว่า 10 เซนติเมตร (พเยาว์, 2529)

2.1.2. สารเคมีในวุ้นหางจระเข้

สารเคมีที่พบในการตรวจวิเคราะห์จากวุ้นหางจระเข้นั้นประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สารกลุ่มสเตอรอยด์ กลุ่ม triterpenoids และกลุ่ม alkaloid (G.R.Waller *et.al*, 1978)

2.1.2.1 แอนทราควิโนน (Anthraquinones) ที่พบในวุ้นหางจระเข้มีลักษณะเป็นยางสีเหลืองพบได้ในส่วนของเปลือกวุ้นหางจระเข้ในรูปของ แอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Anthraquinone glycoside) ฤทธิ์ที่สำคัญของแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Anthraquinone glycoside) คือใช้เป็นยาระบายโดยมีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญ คือ อโลอิน (Aloin A และ B) ที่พบในยาตำซึ่งเป็นน้ำยางบริเวณใต้ผิวของใบวุ้นหางจระเข้ (นุชนาฏ, 2549) และอโล-อีโมดิน (Aloe-emodin) โดยแอนทราควิโนน (Anthraquinone) เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย จะถูกแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่รีดิวซ์ให้เป็นแอนทรานอล (Anthranol) ซึ่งระคายเคืองต่อลำไส้มีฤทธิ์เป็นยาระบาย (ภาพที่ 1) และเป็นอันตรายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่อใช้ในปริมาณมากเท่านั้น โดยมีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute oral toxicity) LD₅₀ มากกว่า 5000 มก./กก. (Anthraquinone Fact Sheet, 1998)



ภาพที่ 1 แอนทราควิโนน (Anthraquinone) ถูกรีดิวซ์ได้แอนทรานอล (Anthranol)

โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่

ที่มา: อุดลย์ (2537)

2.1.2.2 ชีวิตสังเคราะห์ของสารประกอบแอนทราควิโนน (Anthraquinone)

1.) Acetate-malonate route โดยมีสารตั้งต้นเป็น Acetate และ Malonate ผ่าน Aromatic polyketides ตัวอย่าง Anthraquinone ที่ได้จากขบวนการชีวิตสังเคราะห์แบบนี้ ได้แก่ Emodin, Chrysophanol

2.) Shikimate and malonate route สารประกอบ Anthraquinone ที่ได้จาก Pathway นี้จะมีหมู่แทนที่เฉพาะที่ ring C เท่านั้น Anthraquinone กลุ่มนี้มักพบในพืชวงศ์ Rubiaceae, Bignoniaceae และ Verbenaceae ตัวอย่าง Anthraquinone ที่ได้จากขบวนการชีวสังเคราะห์แบบนี้ได้แก่ Alizarin

2.1.2.3 ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) วุ้นในสบู่ในใบว่านหางจระเข้มีสารสำคัญจำพวกไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ชื่ออะลอกตินเอ (Aloctin A) และอะลอกตินบี (Aloctin B) มีสรรพคุณในการลดอาการอักเสบ ช่วยรักษาแผลที่เกิดจากไฟไหม้ และบรรเทาอาการแสบร้อน ช่วยลดอาการข้างเคียงสำหรับคนที่ทำรังสีบำบัด และรักษาแผลกระเพาะอาหารได้อีกด้วย

2.1.2.4 ซาโปนิน (Saponins) ที่พบในว่านหางจระเข้อยู่ในรูปไกลโคไซด์ (Glycoside) ที่มีส่วน Aglycone (Sapogenin) เป็นสารจำพวก Steroids หรือ Triterpenoids ซึ่งจะจับกับน้ำตาล หรืออนุพันธ์ของน้ำตาลที่ตำแหน่ง C3 ได้เป็น O-glycoside น้ำตาลที่พบมักจะเป็น Oligosaccharide 1 - 5 หน่วย ซาโปนิน (Saponin) มีคุณสมบัติเป็น detergent เมื่ออยู่ในน้ำซาโปนิน (Saponin) จะเกิดเป็น Colloidal solution ซึ่งเมื่อเขย่าจะเกิดฟอง เนื่องจากส่วน Aglycone เป็นสารโมเลกุลใหญ่มีจำนวน carbon 27 – 30 อะตอม ทำให้ส่วน Aglycone มีคุณสมบัติ Lipophilic และมีส่วนของน้ำตาลซึ่งละลายน้ำได้ จึงมีคุณสมบัติ Hydrophilic จากการที่ Saponin มีคุณสมบัติ Lipophilic / Hydrophilic อยู่ในโมเลกุล จึงมีความสามารถในการลดแรงตึงผิว และใช้ในการชะล้างได้ และมีฤทธิ์ทำลายเม็ดเลือดแดงโดยทำให้เกิดการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดง (Hemolysis) (อดุลย์, 2537)

2.2 หนอนใยผัก *Plutella xylostella* L.

2.2.1. วงจรชีวิต

การจัดจำแนก (Classification)

Kingdom Animalia

Phylum Arthropoda

Class Insecta

Order Lepidoptera

Family Plutellidae

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Plutella xylostella* L.

ชื่อสามัญ : Diamondback Moth

พืชอาหาร : พืชผักตระกูลกะหล่ำ เช่น คะน้า

วงจรชีวิตของหนอนใยผักมีการเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่างอย่างสมบูรณ์ (Complete metamorphosis) ประกอบด้วยระยะ ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยของหนอนใยผักเป็นผีเสื้อกลางคืน ผีเสื้อหนอนใยผักมีขนาดเล็ก มีความยาวลำตัวประมาณ 6 - 7 มิลลิเมตร ปีกสีเทา ส่วนหลังมีแถบสีเหลืองส้มเมื่อเกาะนิ่งปีกแนบลำตัว มีหยักหลายหยักบนปีกคู่หน้า หนวดเป็นแบบเส้นด้านแต่ละปล้องหนวดมีสีดำสลับขาว ผีเสื้อเพศเมียวางไข่เพียงฟองเดียวหรือเป็นกลุ่มๆ ละ 2 - 3 ฟอง (มยุรา, 2536) และผีเสื้อตัวหนึ่งสามารถวางไข่ตลอดชั่วอายุได้จำนวนมากถึง 100 - 150 ฟอง ไข่มีขนาดเล็กลักษณะค่อนข้างแบน และยาวรีมีสีเหลืองอ่อนเป็นมัน เมื่อไข่ฟักเป็นตัวหนอนจะเข้าทำลายกัดกินใบผักจนเป็นรูพรุน ตัวหนอนยาวประมาณ 8 - 9 มิลลิเมตร หัวแหลม ท้ายแหลม ลำตัวเรียวยาว ส่วนท้ายมีปุ่มยื่นออกไปเป็น 2 แฉก ตัวหนอนมีสีเขียวอ่อนหรือเขียวปนเหลืองหรือเทาอ่อน เมื่อหนอนถูกรบกวนจะดิ้น และทิ้งตัวลงข้างล่างโดยอาศัยเส้นใยที่สร้างขึ้น หนอนใยผักเข้าดักแด้บริเวณใบผักโดยสร้างเส้นใยปกคลุมตัว ดักแด้มีขนาดยาวประมาณ 10 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2-4) ในประเทศไทยมีรายงานว่าวงจรชีวิตของหนอนใยผักประมาณ 18 - 23 วัน ประกอบด้วย ระยะไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย 2 - 3, 8 - 10, 3 - 4, 5 - 7 วันตามลำดับ (วินัย, 2535) วงจรชีวิตของหนอนใยผักจะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น ประเทศอินเดียมีรายงานหนอนใยผักมีวงจรชีวิต 36 วัน โดยมีระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ดังนี้ คือ 4, 16, 6, 10 วัน ตามลำดับ (Satpathi, 1993) ในประเทศไต้หวันหนอนใยผักมีวงจรชีวิต 23 วัน โดยมีระยะไข่ 1 วัน หนอน 6 - 7 วัน ดักแด้ 3 - 5 วัน และตัวเต็มวัย 7 - 10 วัน (ปิยรัตน์ และคณะ, 2530) ในประเทศไทยในเขตเกษตรกรรมที่สูงเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ หนอนใยผักมีวงจรชีวิตประมาณ 17 - 18 วัน ในเดือนเมษายน-พฤษภาคม และ 29 วัน ในเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม (ปิยรัตน์ และคณะ, 2531)

หนอนใยผักสามารถผสมพันธุ์หลังจากออกจากดักแด้ภายใน 1 วัน (พิสิษฐ์, 2516) อัตราส่วนของเพศผู้ และเพศเมียในสภาพธรรมชาติเป็น 1 : 1 ในการวางไข่พบว่าผีเสื้อตัวเมีย วางไข่บริเวณยอดของพืชอาหารซึ่งอาจพบบนใบหรือใต้ใบ โดยวางเป็นฟองเดี่ยวๆ หรือเป็น กลุ่มๆ 2 - 3 ฟอง ตัวหนอนที่เกิดขึ้นจะกินพืชอาหารจนกระทั่งเติบโตเป็นตัวเต็มวัย การเคลื่อนที่ของหนอนจากต้นหนึ่งไปอีกต้นหนึ่งนั้นเกิดขึ้นได้ยาก โดยเฉพาะตัวหนอนระยะที่ 1 - 3 ส่วนระยะที่ 4 อาจเกิดขึ้นได้เพื่อหาบริเวณเข้าดักแด้ (Harcout, 1968) หนอนใยผักมีขนาดเล็ก ใช้อาหารในการ เจริญเติบโตน้อยจึงสามารถอยู่ร่วมกันอย่างหนาแน่น ในกระหล่ำปลี 1 หัว อาจพบหนอนใยผักถึง 270 ตัว หรือในผักกาดเขียวปลีอาจพบหนอนใยผัก 30 ตัวต่อต้น (กอบเกียรติ และคณะ, 2517)

หนอนใยผักเป็นแมลงที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี (Stepanova, 1962) สามารถเจริญเติบโตในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 10 - 30 องศาเซลเซียส (Arkhipov, 1980) การระบาดของหนอนใยผัก เริ่มระบาดในฤดูหนาวและระบาดอย่างรุนแรงในฤดูร้อนโดยเฉพาะเดือนเมษายน การระบาดจะลดน้อยลงในฤดูฝนเพราะฝนเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้หนอนใยผักตาย (ปิยรัตน์ และคณะ, 2531) ในประเทศแคนาดามีรายงานการระบาดของหนอนใยผักน้อยมากในฤดูฝน เนื่องจากฝนเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตายของหนอนใยผักระยะที่ 1 สูงสุด 46.5% (Harcout, 1968)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L.

ที่มา: ปิยรัตน์ (2531)



ภาพที่ 3 ลักษณะตัวหนอนของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. ระยะที่ 4
ที่มา: ปิยรัตน์ (2531)



ภาพที่ 4 ลักษณะตัวเต็มวัยของหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L.
ที่มา: ปิยรัตน์ (2531)

2.2.2 การป้องกันกำจัดหนอนใยผักมีการใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก วิธีนี้เป็นทางเลือกใหม่ของเกษตรกร ซึ่งมีรายงานการวิจัยการใช้สารสกัดจากพืชเป็นจำนวนมาก อาทิเช่น

สารสกัดจากสะเดา โดยสกัดจากเมล็ดสามารถฆ่าหนอนใยผักในระยะที่ 2 และระยะที่ 4 มีค่า LD_{50} เท่ากับ 0.49 และ 4.50% ตามลำดับ (กฤษกนธ์, 2530) สารสกัดจากยี่โถ โดยทำการแยกก้าน ใบ ดอก และลำต้นในการสกัด ผลปรากฏว่าสารสกัดจากดอกยี่โถความเข้มข้น 0.4 g/cc. มีฤทธิ์ทำให้หนอนใยผักตาย 95.99% ที่เวลา 72 ชม. (อารมณ และคณะ, 2535) นอกจากนี้สารสกัดจากดอกกรัก โดยนำใบของต้นดอกกรักมาทำการสกัด พบว่าสารสกัดจากใบดอกกรักความเข้มข้น 0.3 g/cc. มีผลต่อการตายของหนอนใยผัก 65.39% ที่เวลา 72 ชม.

(ชัยวัฒน์ และคณะ, 2535) และสารสกัดจากใบคนที่เขมา *Vitex negundo* (L.) ความเข้มข้น 100 และ 200 mg/l ทำให้หนอนไผ่ฝักระยะที่ 3 ตาย 97 และ 100% ที่เวลา 72 ชม. ตามลำดับ (Rejesus, 1993)

หนอนไผ่ฝักเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากพบการระบาดอยู่เสมอ และเข้าทำลายพืชฝักตระกูลกะหล่ำซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจของประเทศ จึงมีแนวทางป้องกันกำจัดหลายวิธี วิธีที่นิยมใช้มากที่สุด คือ การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดหนอนในฝัก สารเคมีมีมากมายหลายชนิด เช่น

การใช้สารเคมีกลุ่ม Organochlorine เริ่มมีการใช้ DDT ในปี พ.ศ. 2491 ซึ่งใช้ได้ผลดี เกษตรกรจึงนิยมใช้ DDT ในการป้องกันกำจัดหนอนไผ่ฝัก ต่อมารัฐบาลยกเลิกการใช้ DDT เมื่อเดือนมีนาคม 2526 เนื่องจากเป็นสารอันตรายอาจก่อให้เกิดมะเร็ง และมีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อมนาน (จันทร์ทิพย์, 2535) ปัจจุบันจึงไม่นิยมใช้สารกลุ่มนี้ในการป้องกันกำจัด

การใช้สารเคมีกลุ่ม Organophosphate ในประเทศไทยใช้ Ethymalathion, Methyl malathion ในปี พ.ศ. 2493 ในปัจจุบันมีการใช้สารกลุ่ม Organophosphate เพราะมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดได้ดี และมีพิษตกค้างไม่นาน เช่น Chlopyrifos, Methy parathion, Malathion, Metamidiphos, Diazinon monocrotophos เป็นต้น (Yu and Nguyen, 1992)

การใช้สารเคมีกลุ่ม Carbamate ในปี พ.ศ. 2513 ใช้ Methomyl เพราะฤทธิ์ของสารชนิดนี้ทำให้หนอนสลบหล่นลงมาจากพืชทันที (กอบเกียรติ, 2536) เช่นเดียวกับประเทศมาเลเซียมีการใช้ Methomyl และ Carbofuran ในการป้องกันกำจัดหนอนไผ่ฝัก (Sudderudin, 1978)

การใช้สารเคมีกลุ่ม Pyrethroid เริ่มมีการใช้สารกลุ่มนี้ พ.ศ. 2513 (Tabashnik et al., 1995) มีการระบาดอย่างรุนแรงของหนอนไผ่ฝักเมื่อปี พ.ศ. 2519 จึงมีการใช้สารกลุ่ม Pyrethroid ในการป้องกันกำจัดหนอนไผ่ฝักแทนสารเคมีในกลุ่ม Organophosphate และ Carbamate สารเคมีกลุ่มนี้มีการใช้มาก คือ Permetrin, Cypermetrin, Fenvalerate, Fluvalinate เนื่องจากค่อนข้างขยายตัวเร็วและเป็นอันตรายต่อสัตว์เลือดอุ่นค่อนข้างน้อย เกษตรกรใช้ในระยะก่อนเก็บเกี่ยวฝักสด 5 - 7 วัน (กอบเกียรติ, 2536)

การใช้สาร Insect growth regulator (IGR) สารกลุ่มนี้ใช้ในปี พ.ศ. 2523 (Kao and Sun, 1995) สารสำคัญในกลุ่มนี้คือ Teflubenzuron, Chlorfluazuron เป็นต้น แต่บางพื้นที่เกษตรกรไม่นิยมใช้เนื่องจากออกฤทธิ์ค่อนข้างช้า คือ หนอนต้องกินเข้าไป และตายภายหลังรับสาร 3 - 4 วัน (กอบเกียรติ, 2536)

นอกจากนี้การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัด ยังมีวิธีอื่นๆ ที่สามารถนำมาป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ซึ่งวิธีการดังกล่าว ได้แก่

การใช้จุลินทรีย์ เชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมใช้กันมาก คือ *Bacillus thuringiensis* มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก เมื่อหนอนกิน *Bacillus thuringiensis* จะมีฤทธิ์ยับยั้งการกิน และตายในที่สุด (วินัย, 2535) ในเขตปลูกผักในประเทศไต้หวันมีการใช้ *Bacillus thuringiensis* ซึ่งให้ผลการทำลายสูง ปลอดภัย และสะดวกต่อการนำไปใช้ (Liu et al., 1982) ปัจจุบันผลิตออกมาในรูปการค้าหลายชนิด

การใช้ศัตรูธรรมชาติในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก มีรายงานจากหลายประเทศ เช่น ในประเทศแคนาดาพบแตนเบียน 3 ชนิด คือ *Didegma plutella*, *D. insularis* และ *Microplitis plutellae* สามารถทำลายหนอนใยผักได้ 4.6%, 12.12%, 17.1% ตามลำดับ (Harcourt, 1968) ในประเทศนิวซีแลนด์พบหนอนใยผักที่กำลังระบาดถูกทำลายโดยแตนเบียน 2 ชนิด คือ *Angitia cerophage* และ *Didromus collaris* (Todd, 1959) ในประเทศญี่ปุ่นมีการศึกษาแมลงศัตรูธรรมชาติของหนอนใยผัก ระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน พบแตนเบียน 3 ชนิด คือ *Apanteles plutella* เข้าทำลายในระยะหนอน ส่วนแตนเบียนอีก 2 ชนิด *Itoplectis alternans* และ *Brachymeria* sp. เข้าทำลายในระยะดักแด้ของหนอนใยผัก (มยุรา, 2537) สำหรับในประเทศไทยมีรายงานการพบแตนเบียน *Apanteles plutellae*, *Thyrearella collaris*, *Trichogramma confusum* และ *Trichogramma bactrae* (พรพิมล และคณะ, 2534) ในเขตที่สูงพบแตนเบียนไข่ *T. confusum* ในเขตที่ราบพบ *T. bactrae* มีประสิทธิภาพในการควบคุมไข่ของหนอนใยผัก 16.2 - 45.2% นอกจากนี้ยังพบแตนเบียนหนอน *Cotesia plutellae* ควบคุมหนอนใยผักได้ 6.1 - 32.4% (ปิยรัตน์ และคณะ, 2531)

การใช้สารล่อเพศเป็นการดักสารเพศซึ่งมีส่วนผสมของ Cis-11-hexadecenyl acetate, Cis-11-hexadecenal และ Cis-11-hexadecenol ในอัตราส่วน 5 : 5 : 0.1 จำนวน 0.1 มิลลิกรัม มีประสิทธิภาพในการจับผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้ (พิสมัย และคณะ, 2538)

การใช้กับดักกาวเหนียวสีเหลืองทรงกระบอกหรือกระป๋องทาด้วยกาวเหนียว Polybutane ความเข้มข้น 5% ในสารละลาย Hexane โดยทา 10 - 15 วันต่อครั้ง สามารถดักผีเสื้อหนอนใยผักเฉลี่ย 16 ตัวต่อกับดัก โดยอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 0.79 : 1 เมื่อติดตั้งกับดักจำนวน 80 อันต่อไร่ สามารถลดการใช้สารฆ่าแมลงได้ถึง 50% (วินัย, 2535)

การใช้โรงเรือนตาข่ายในล่อน เป็นการปลูกผักทางมุ้งในโรงเรือนขนาด 4 x 2.50 เมตร กลุ่มต้นตาข่ายในล่อนขนาด 16 ช่องต่อตารางนิ้ว สามารถป้องกันการเข้าทำลายของหนอนใยผักได้ดี และผักที่ปลูกสามารถเจริญเติบโตปกติ (วินัย, 2535)

หนอนตายหยาก (*Stemono* spp.: *Stemonaceae*) เป็นพืชที่พบทั่วไปในแถบเอเชียมีสรรพคุณเป็นสมุนไพรในการรักษาโรค ปัจจุบันมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการรักษาพืช การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหนอนตายหยากต่อหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura* Hubner) และด้วงถั่วเขียว (*Callosobruchus maculatus* F.) ในห้องปฏิบัติการพบว่า สารสกัดด้วย methanol มีประสิทธิภาพสูงในลักษณะสัมผัสตายโดยมีค่า LC₅₀ ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 535, 2,313 และ 2,108 ppm ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดด้วย methanol จากตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า ตัวอย่างจากพื้นที่ภูเวียงมีประสิทธิภาพสูงสุดซึ่งเป็นหนอนตายหยากชนิด *Stemona tuberosa* Lour. การวิเคราะห์สารสกัดด้วยเทคนิค TLC และ HPLC ไม่พบสาร rotenone แสดงว่า rotenone ไม่ใช่สารออกฤทธิ์ที่มีผลต่อแมลง จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า สารสกัดหนอนตายหยากด้วย methanol มีศักยภาพที่จะนำไปใช้ในการควบคุมแมลงได้ (สุภาณี และคณะ, 2546)

การวิจัยเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสาร azadirachtin จากสารสกัดเมล็ดสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) สะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs) และสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var *siamensis* Vailant) โดยวิธี HPLC และทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดสะเดาต่อหนอนใยผัก จากการศึกษาพบว่าสารสกัดเมล็ดสะเดาไทยที่เก็บจากจังหวัดขอนแก่นและสุพรรณบุรี มีสาร azadirachtin เท่ากับ 0.25% และ 0.82 % ตามลำดับ และเมื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ azadirachtin ในเมล็ดสะเดาทั้ง 3 ชนิด ซึ่งเก็บมาจากแหล่งปลูกที่ต่างกัน พบว่าสะเดาอินเดีย (จากจังหวัดขอนแก่น) ปริมาณ azadirachtin มากกว่าสะเดาช้าง (จากจังหวัดสุราษฎร์ธานี) และสะเดาไทย (จากจังหวัดขอนแก่น) ตามลำดับ เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาทั้งสามชนิดต่อการตายของหนอนใยผัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง พบว่า เมล็ดสะเดาทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่า LC₅₀ ตามลำดับดังนี้ 9,550 , 8,430 , 14,510 ppm และผลการยับยั้งการกินใบค่น้ำของหนอนใยผักเท่ากับ 55.69 , 79.69 และ 44.45 % ตามลำดับ ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณสาร azadirachtin ในสะเดาไม่สัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการกำจัดหนอนใยผัก (รติยา และคณะ, 2547)

2.2.3. การต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดของหนอนใยผัก ปัจจุบันมีแมลงมากกว่า 500 ชนิด ที่สร้างความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัด รวมทั้งแมลงที่เป็นพาหะนำโรค แมลงศัตรูพืช แมลงศัตรูในโรงเก็บ สิ่งที่ยังบอกถึงความต้านทาน คือ การใช้สารเคมีในอัตราเท่าเดิมแต่ประสิทธิภาพไม่เท่าเดิม การสร้างความต้านทานของแมลงมีหลายรูปแบบ ดังนี้

2.2.3.1 การสร้างความต้านทานโดยสร้างชั้นไขมันบริเวณผนังลำตัวของแมลง ทำให้สารเคมีซึมเข้าสู่ตัวแมลงได้ช้าลง

2.2.3.2 การสร้างความต้านทานโดยการเปลี่ยนพฤติกรรม เช่น การหลีกเลี่ยงไม่กินอาหารที่มีสารเคมี โดยการไม่บินไปเกาะหรือเลี้ยงไปกินที่ไม่มีสารเคมี

2.2.3.3 การสร้างความต้านทานโดยปฏิกิริยาเคมีภายในตัวแมลง เช่น แมลงสร้างเอนไซม์ออกมาเพื่อลดความเป็นพิษให้น้อยลงหรือไม่มีฤทธิ์เลย

2.2.3.4 การสร้างความต้านทานโดยการเพิ่มความรวดเร็วในการขับถ่ายเพื่อทำลายสารพิษ

2.2.3.5 การสร้างความต้านทานโดยการสร้างไขมันเพื่อดูดซับสารพิษมากขึ้น เพื่อลดความเป็นพิษของสาร (พรรณเพ็ญ, 2539)

หนอนไผ่ฝักเป็นแมลงศัตรูพืชชนิดหนึ่งที่มีการพัฒนาความต้านทานต่อสารเคมีหลายชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดตั้งผลการวิจัยต่อไปนี้

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* (L.) ต่อการตายและการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ฝัก *Plutella xylostella* L.พบว่า สารสกัดจากใบสาบเสือทำให้ระดับเอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้นประมาณ 20, 40 และ 90% ที่ความเข้มข้น 0.05, 0.25 และ 0.50% ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เพิ่มขึ้นประมาณ 5 และ 20% ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50% ระดับโมนออกซิจีเนส (monooxygenase) เพิ่มขึ้นประมาณ 10 และ 30% ที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50%

สำหรับผลการทดลองสารสกัดจากใบสาบเสือผสมกับ Synergists พบว่า DEM ทำให้ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ลดลงประมาณ 5% ส่วน PB มีผลต่อระดับเอสเทอเรส (esterase) และโมนออกซิจีเนส (monooxygenase) ลดลงประมาณ 10% สำหรับ TPP มีผลทำให้ระดับเอสเทอเรส (esterase) ลดลงประมาณ 10 - 20% (มณัญญา, 2539)

การต้านทานสารเคมีกลุ่ม Organophosphate หนอนไผ่ฝักมีความต้านทานต่อสารเคมีกลุ่มนี้ในระดับค่อนข้างสูง เนื่องจากมีการใช้สารเคมีกลุ่มนี้ในระยะนาน ในประเทศมาเลเซียหนอนไผ่ฝักมีการต้านทานต่อ Malathion 2,096 เท่า Chlorpyrifos-methyl 626 เท่า และ Dichlorvos 40 เท่า (Sudderuddin and Kok, 1978) มีรายงานในประเทศไต้หวันพบหนอนไผ่ฝักต้านทานต่อสาร Cynofenphos และ Methyl parathion มากกว่า 1,000 เท่า Malathion, Profenofos และ Prothionfos 3,000 - 6,000 เท่า และน้อยกว่า 1,000 เท่าในสาร Dichlorvos (Liu et al., 1982) ในฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกาหนอนไผ่ฝักมีการต้านทานสาร Chlorpyrifos 21 เท่า Methyl parathion 35 เท่า Malathion 20 เท่า Methamidophos 35 เท่า Diazinon 73 เท่า (Yu and Nguyen, 1992)

การต้านทานสารเคมีกลุ่ม Organochlorine พบการต้านทานครั้งแรกที่ประเทศอินโดนีเซีย ซึ่งต้านทานต่อ DDT (Ankersmit, 1953) ในประเทศไต้หวันหนอนใยผักต้านทาน DDT 2,870 เท่า (Liu et al., 1982) ในสหรัฐอเมริกาที่ฟลอริดาหนอนใยผักต้านทานต่อสาร Endosulfan 25 เท่า (Yu and Ngugen, 1992)

การต้านทานต่อสารเคมีกลุ่ม Carbamate สารกลุ่มนี้นิยมใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก คือ Carbaryl และ Methomyl และพบการต้านทานต่อสาร 2 ชนิดนี้ในประเทศไต้หวัน 33 เท่า และ 111 เท่า ตามลำดับ (Liu et al., 1982) เช่นเดียวกับประเทศสหรัฐอเมริกา พบการต้านทานต่อ Carbofuran 504 เท่า และ Methomyl 409 เท่า (Yu and Nguyen, 1992) ในประเทศญี่ปุ่น (Hama, 1983) และประเทศมาเลเซีย (Sudderudin and Kok, 1978) มีรายงานการต้านทานสารกลุ่มคาร์บอเมทของหนอนใยผัก

การต้านทานสารกลุ่ม Pyrethroid ประเทศสหรัฐอเมริกามีการใช้สารกลุ่มนี้เมื่อปี พ.ศ. 2523 ที่ฟลอริดา และเพียงระยะเวลาไม่นานหนอนใยผักสามารถต้านทาน Permethrin และ Fenvalerate ในปี พ.ศ. 2534 หนอนใยผักมีความต้านทาน Permethrin 2,132 เท่า Cypermethrin 11,177 เท่า Fenvalerate 12,278 เท่า Cyhalothrin 10,699 เท่า Fenvalerate 2, 305 เท่า Fluralinate 12,278 เท่า (Yu and Nguyen, 1992)

การต้านทานสารกลุ่ม Insect growth regulator (IGR) จากการศึกษาการใช้สารระงับการลอกคราบ Teflubenzuron ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักพบการต้านทานต่อสารชนิดนี้ 12 เท่า ในหนอนใยผักรุ่นที่ 29 (Perng et al., 1987) ส่วนในประเทศไทยพบหนอนใยผักจากทับทิม และบางแก้ว ต้านทาน Chlorfluazuron 400 เท่า และ 3,400 เท่าตามลำดับ (Fahmy et al., 1991)

การต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* ของหนอนใยผัก ในประเทศสหรัฐอเมริกามีการศึกษาการต้านทานของหนอนใยผักต่อ *Bacillus thuringiensis* 2 สายพันธุ์ คือ *Bacillus thuringiensis kustaki* และ *Bacillus thuringiensis aizawai* พบการต้านทานต่อ *Bacillus thuringiensis kustaki* ที่มีชื่อทางการค้า Biobit HP และ Javelin WG 461.1 และ 320.7 เท่า ตามลำดับ และการต้านทานต่อ *Bacillus thuringiensis aizawai* ที่มีชื่อทางการค้า Xentari, Agree และ NB 200 FC 3.0, 3.5 และ 4.1 เท่า ตามลำดับ เห็นได้ว่าแม้จะเป็น *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์เดียวกันแต่แต่ผลิตจากต่างบริษัทการต้านทานก็แตกต่างกัน (Shelton et al., 1993)

2.3 คุณสมบัติสารทุติยภูมิในพืช

สารทุติยภูมิในพืชมีมากมายหลายชนิด บางชนิดเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์ในการนำไปใช้งานในด้านต่าง ๆ เช่น สารพวก alkaloids มักมีรสขมและมีฤทธิ์เป็นต่าง ได้แก่ rotenone , nicotine , pyrethrin สารพวก saponin , tannin , glycoside ในรูปอนุพันธ์ต่าง ๆ น้ำมันหอมระเหย (essential oil) สามารถควบคุมแมลงหลายชนิดได้ สำหรับสาเหตุและกระบวนการสร้างหรือวิธีการเปลี่ยนแปลงของสารเหล่านี้ส่วนใหญ่มักยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ทั้งนี้เนื่องจากมีอุปสรรคในการศึกษาหลายประการ เช่น สารอาจถูกสร้างในปริมาณที่น้อยมาก หรืออาจถูกสร้างเพียงชั่วระยะเวลาใดเวลาหนึ่งแล้วเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารชนิดอื่น หรือปริมาณของสารอาจเปลี่ยนแปลงตามชนิด อายุ ประเภทเนื้อเยื่อของพืช ตัวอย่างเช่น สาร α -tomation จะพบมากในเนื้อเยื่อเจริญมากกว่าเนื้อเยื่อชนิดอื่น ๆ ในมะเขือเทศ (Juvik and Stevens, 1982) นอกจากนั้น ปัจจัยเกี่ยวกับสภาพของดิน ฤดูกาล อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ระยะเวลาที่พืชได้รับแสง ก็มีผลต่อปริมาณของสารนี้ด้วย (ทิตยา, 2532)

สารเคมีทุติยภูมิในพืชที่มีผลต่อการควบคุมแมลงอาจแบ่งประเภทตามปฏิกิริยาการตอบสนองของแมลงต่อสารเคมี เช่น มีกลิ่นขับไล่หรือดึงดูดแมลงให้เข้าหา มีรสที่ระงับการกินของแมลง หรือกระตุ้นให้แมลงกิน มีพิษต่อแมลงโดยอาจทำให้แมลงตาย หรือมีกระบวนการเมตาบอลิซึมผิดปกติ เช่น ทำให้แมลงมีขนาดเล็ก ใช้ระยะเวลานานมากขึ้นในการพัฒนาจนครบวงจรชีวิต มีอัตราการวางไข่ลดลง หรือมีอัตราตายสูงในขณะลอกคราบ โดยมีตัวอย่างจากผลการศึกษาที่น่าสนใจเกี่ยวกับสารเหล่านี้พอสังเขป

2.3.1 สารที่มีผลระงับการกินหรือการทำลายของแมลง (antifeedant , feeding deterrent , feeding inhibitor) จากผลการศึกษาเกี่ยวกับงานด้านนี้พอจะกล่าวได้ว่า สารที่มีผลระงับการกินหรือหยุดยั้งการเข้าทำลายของแมลงมักมีรสขมหรือฝาด ซึ่งมักมีสาร alkaloids เป็นส่วนประกอบ ปัจจุบันกลุ่มของ terpenoids เป็นสารที่ได้รับความสนใจค่อนข้างมาก ผลการศึกษาที่น่าสนใจ ได้แก่

2.3.1.1 Wada and Munakata (1971) ทำการศึกษาผลวิจัยของ terpenoids จากพืช 6 ชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่ม sesauitepernoids , diterpenoids และ triterpenoids ที่ความเข้มข้น 0.030 ถึง 0.5% ใน acetone กับตัวอ่อนของหนอนเจาะมันฝรั่ง *Spodoptera littoralis* พบว่าสารในกลุ่มของ sesquiterpenoids เช่น pinquison และ absinthin ให้ผลดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.125% และ 0.03% ตามลำดับ และไม่พบสารในกลุ่มของ diterpenoids หรือ triterpenoids แสดงผลยับยั้งการกินของแมลงดังกล่าว

2.3.1.2 Reed et al. (1982) ตลอดจนนักวิจัยอีกหลายท่านที่ได้ให้ความสนใจนำน้ำมันสกัดจากเมล็ดสะเดา Azadirachtin ซึ่งเป็น tetranor-triterpinoid มีผลควบคุมแมลงได้

หลายด้าน ตัวอย่างเช่น สามารถหยุดยั้งการกินอาหารของแมลงวันบ้าน ตัวอ่อนหนอนใยผัก ตัวง่าแดง นอกจากนี้สาร *azadirachtin* ยังมีผลควบคุมแมลงในด้านอื่นอีกหลายด้าน

2.3.2 สารที่มีผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของแมลงผิดปกติ (antibiosis) สารที่มีผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของแมลงผิดปกติ จะเป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการผิดปกติหลายประการในแมลง เช่น

2.3.2.1 ทำให้แมลงวางไข่และฟักไข่น้อยกว่า Hyde et al.(1985) รายงานว่า หนอนใยผักที่ได้รับสารสกัดหยาบจากเมล็ดสะเดา ตั้งแต่ระยะที่ 2 จะมีอัตราการวางไข่ลดลงจากปกติ 20-100% ขึ้นกับความเข้มข้นของสารที่ได้รับ และมีรายงานผลของน้ำมันสะเดาในด้านนี้ต่อแมลงชนิดอื่น ๆ คล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Hyde et al.(1985) นี่อาจเป็นผลที่เกิดโดยตรงเนื่องจากแมลงได้รับสารนี้เข้าไป หรือเป็นผลโดยอ้อมที่เกิดจากสารนี้มีต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของแมลงในด้านอื่น ๆ แล้วพลอยทำให้แมลงวางไข่หรือมีอัตราการฟักของไข่น้อยกว่าปกติ โดยทั่วไป สารที่มีผลหยุดยั้งการกินของแมลง หรือขัดขวางหรือรบกวนการสร้างโปรตีน นิวคลีอิกแอซิด หรือสารที่จำเป็นอื่น ที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของแมลงย่อมจะมีผลทำให้อัตราการวางไข่ และการฟักไข่ลดลงต่ำลง จึงเป็นสาเหตุทำให้ประชากรของแมลงลดลงตามไปด้วย

สำหรับสารเคมีจากพืชชนิดที่มีแนวโน้มว่าจะนำมาใช้ควบคุมแมลงได้ดีนั้น ส่วนใหญ่จะมีผลทำให้กระบวนการเมแทบอลิซึมของแมลงผิดปกติเกือบทั้งสิ้น งานวิจัยในเรื่องนี้จึงได้รับความสนใจมากทั้งในด้านการพัฒนาไปผลิตในทางอุตสาหกรรมหรือเพื่อการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีสารดังกล่าวในปริมาณสูงขึ้น เพื่อการใช้เป็นพันธุ์ต้านทานต่อแมลงศัตรูเป้าหมาย

2.3.3. สารที่มีผลไล่แมลงไม่ให้เข้าทำลายพืชหรือเข้าวางไข่ ผลจากงานวิจัยจำนวนมาก รายงานว่า สารที่มีผลไล่แมลงมักเป็นสารที่มีกลิ่น ได้แก่ น้ำมันระเหยซึ่งเป็นส่วนผสมของสารเคมีหลายชนิด ตัวอย่างเช่น citral , carvacol citronellal , cincole และ citronellol ซึ่งพบมากในเครื่องเทศ ได้แก่ สารระเหย กะเพรา โหระพา กานพลู กระชาย ฯลฯ หรือในพืชที่มีกลิ่น เช่น ยูคาลิปตัส สารดังกล่าวมีกระเหยได้ดี จึงไล่แมลงได้ในระยะใกล้ แต่อาจมีระยะเวลาในการไล่แมลงได้เพียงชั่วระยะเวลาสั้น ๆ เนื่องจากกระเหยหมดเร็ว การศึกษาในด้านนี้จึงมักให้ความสนใจกับสาร alkaloids บางชนิดที่มีผลไล่แมลงได้เป็นระยะเวลายาวนานกว่า ตัวอย่างของสารที่น่าสนใจ ได้แก่

2.3.3.1 สาร *azadirachtin* และ *salanine* ซึ่งพบมากในเมล็ดสะเดา สามารถไล่แมลงศัตรูในโรงเก็บได้ดีกว่า *sisquiterpene ketone* เมื่อใช้ความเข้มข้นเท่ากัน (Jilani and Su, 1983) Mansour and Ascher (1984) รายงานว่าประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาในการไล่ไรแดง *Tetranychus cinnobarinus* ขึ้นกับสารที่ใช้ในการสกัดโดยมีประสิทธิภาพเรียงจากมากไปหาน้อยดังนี้ chloroform > n-butanol> acetone> methanol > น้ำ

2.3.3.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่แมลงของน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh ที่เก็บในฤดูแล้วและฤดูฝนต่อหนอนกระทู้ผัก *Spodoptera litura* Fabricius พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบที่เก็บในฤดูแล้วมีประสิทธิภาพในการไล่หนอนกระทู้ผักได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบที่เก็บในฤดูฝน โดยน้ำมันหอมระเหยจากใบที่เก็บในฤดูแล้วไล่แมลงได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 3.5 % ปริมาตร/ปริมาตร ให้ระดับการไล่แมลงเท่ากับ 4 และน้ำมันหอมระเหยจากใบที่เก็บในฤดูฝนที่ความเข้มข้น 4.0 % ปริมาตร/ปริมาตร ให้ระดับการไล่แมลงเท่ากับ 3 อย่างไรก็ตามไม่เหมาะสมที่จะใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสเป็นสารไล่หนอนกระทู้ผัก เนื่องจากไล่ได้ดีที่สุด คือ 60-80 % เมื่อใช้เวลา 15 นาที ประสิทธิภาพในการไล่หนอนกระทู้ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และเมื่อใช้เวลา 5 ชั่วโมง หนอนถูกไล่เพียง 45-72 % (ศิริพรรณ และคณะ, 2550)

2.3.3.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพสารสมุนไพรในการไล่หนอนใยผักพบว่าสมุนไพรไทย 2 ชนิดคือหนุมานประสานกาย *Scheffera venulosa* Harms และตะไคร้หอม *Cymbopogon nardus* Rendle มีปริมาณสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการไล่ตัวอ่อนหนอนใยผักในสภาพห้องทดลองได้เป็นอย่างดี

2.3.4. สารที่มีผลฆ่าแมลง มนุษย์รู้จักใช้ประโยชน์จากพืชเพื่อฆ่าแมลงมาตั้งแต่สมัยโบราณ พืชซึ่งเป็นที่รู้จักและใช้กันมาก ได้แก่ หนอนตายอยาก *Stenona* spp. ซึ่งมีสารพวกโรทีโนนัส ยาสูบ *nicotina tabacum* ซึ่งมีสารนิโคติน และต้นไพรีทรัม *Chrysanthemum cinerariaefolium* ซึ่งมีสารไพรีทรินส์ สารดังกล่าวเป็นสารพวก alkaloid ที่สามารถฆ่าแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด แต่ในที่นี้จะไม่กล่าวถึงรายละเอียดเกี่ยวกับสารทั้ง 3 ชนิดนี้ เนื่องจากมีผู้เขียนรายงานและมีข้อมูลมาแล้วจึงกล่าวถึงสารชนิดอื่น ๆ ที่พบในพืชและมีผลฆ่าแมลงตัวอย่างเช่น สารประเภท saponin , tannin และ resin ฯลฯ โดยมีรายงานที่น่าสนใจดังนี้

2.3.4.1 นาริรัตน์ และคณะ (2526) พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากไพลประกอบด้วยสารต่าง ๆ อย่างน้อย 10 สาร สารสำคัญที่พบ ได้แก่ pinine , myrcene และ terpinene เป็นต้น สารเหล่านี้มีผลฆ่าหนอนกระทู้ผักได้ดีมาก

2.3.4.2 Mariappan and Saxena (1984) พบว่า สารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่ามีสาร alkaloid หลายชนิด เช่น anonaine และ resin บางชนิดที่ฆ่าเพลี้ยจักจั่นสีเขียวได้ด้วยความเข้มข้น 20% ใน acetone

2.3.4.3 สำหรับสาร azadirachtin และ salanin ซึ่งสกัดได้จากเมล็ดสะเดานั้น มีผู้สนใจศึกษาามาก และพบว่าสามารถฆ่าแมลงได้หลายชนิด ปัจจุบันจึงมีการสกัดสารดังกล่าวเพื่อใช้ฆ่าแมลง Schmutterer (1992) และนักวิจัยอีกมากต่างมีความเห็นพ้องกันว่า สารดังกล่าวมีความปลอดภัยและเหมาะสมมากจะนำมาใช้ควบคุมแมลง โดยเฉพาะในประเทศที่สามารถปลูกพืชดังกล่าวได้ดี เนื่องจากมีประสิทธิภาพไม่ต่ำกว่าสารเคมีสังเคราะห์ชนิดที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

2.4 ระบบเอนไซม์ของแมลง

2.3.1 กระบวนการทำลายสารพิษเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจะมี 2 ขั้นตอน คือ

2.3.1.1 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงระยะที่ 1 สารพิษเมื่อเข้าสู่เซลล์จะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโดยมีเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาให้เกิดเป็นโครงสร้างใหม่ที่แตกต่างไปจากเดิม คือ แตกตัวเป็นสารที่มีขั้วและละลายน้ำเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย ปฏิกิริยาที่สำคัญ ได้แก่ Oxidation, Hydrolysis เป็นต้น

2.3.1.2 ขั้นตอนการจับตัวระยะที่ 2 สารพิษที่ยังไม่ถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างแล้วจะจับตัว (Conjugation) กับสารที่มีอยู่ภายในเซลล์เพื่อให้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้นเพื่อขับออกจากร่างกาย

2.3.2 ในแมลงมีเอนไซม์ในการทำลายพิษที่สำคัญ 3 ชนิด คือ เอสเทอเรส (esterase), กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) และโมนอกซิจีนเนส (monooxygenase) (Dauterman and Hodgson, 1978)

2.3.2.1 เอสเทอเรส (esterase) เป็นเอนไซม์ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 มีหน้าที่สำคัญเกี่ยวกับการทำลายสารพิษ หรือสารแปลกปลอมโดยเร่งปฏิกิริยา Hydrolysis ในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษเพื่อกำจัดออกจากร่างกาย ในแมลงเราพบเอนไซม์ชนิดนี้ใน Cytosol, Microsome, Mitochondria, Nucleus ของลำไส้ และพบว่าการทำงานของเอสเทอเรส (esterase) ในเพศผู้จะมากกว่าเพศเมีย 25%

Cohen et. al. (1977) พบว่าการทำงานของ Esterase ในแมลงชนิดเดียวกันแต่ต่างระยะกัน จะมีการทำงานของเอสเทอเรส (esterase) ต่างกันด้วย ใน *Tribolium castaneum* (Herbst) ในระยะไข่จะมีการทำงานของเอสเทอเรส (esterase) น้อย และจะเพิ่มขึ้นในระยะตัวหนอน และจะลดลงเมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ และจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะตัวเต็มวัย เอสเทอเรส (esterase) มีหน้าที่สำคัญในการทำลายสารพิษหรือสิ่งแปลกปลอม ก่อให้เกิดการต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการกำจัดป้องกัน เช่นสารเคมีในกลุ่ม Organophosphate, Pyrethroid, Chitin inhibitor

2.3.2.2. กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นเอนไซม์เกี่ยวกับกระบวนการทำลายสารพิษ หรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 2 โดยจะไปเร่งปฏิกิริยาการรวมกันของ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) กับสารประกอบสารพิษที่เข้ามาในร่างกาย (Chasscaud, 1979) เอนไซม์ชนิดนี้พบในพืช โปรโตซัว รา แบคทีเรีย สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และแมลง (Jakoby, 1978) มีรายงานเกี่ยวกับการทำงานของกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) หนอนใยผัก ว่าการทำงานของเอนไซม์จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจากระยะตัวหนอนไประยะดักแด้ (Rose and Wallbank, 1986)

ในหนอนใยผักสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อสารฆ่าแมลงสูงกว่าสายพันธุ์ที่ไม่ต้านทานถึง 3 - 4 เท่า และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นเอนไซม์ทำลายพิษพิษชนิดหนึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดการต้านต่อสารเคมีของแมลง (Jakoby, 1978) โดยเฉพาะสารเคมีในกลุ่ม Organophosphate, Organochlorine, Pyrethroid carbamate (Motoyama and Dauterman, 1980)

2.3.2.3. โมโนออกซิจีเนส (monooxygenase) เป็นเอนไซม์สำคัญชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำลายสารพิษซึ่งอยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 โดยเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษ หรือสารแปลกปลอมที่ง่ายต่อการกำจัดออกจากร่างกาย ปฏิกิริยาสำคัญที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ Oxidation, Hydrolysis, Reduction, Conjugation เป็นต้น เอนไซม์ชนิดนี้พบในพืช สัตว์ จุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษนอกจากจะทำให้สารพิษมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดีขึ้นแล้วยังทำให้สารพิษมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงไปคือ เปลี่ยนแปลงจากสารพิษที่ไม่สามารถออกฤทธิ์การเกิดพิษเป็นสารที่ออกฤทธิ์ได้ เปลี่ยนแปลงสารพิษที่ออกฤทธิ์ให้มีฤทธิ์น้อยลง หรือไม่มีฤทธิ์เลย หรือออกฤทธิ์เป็นพิษมากกว่าเดิม (ชัยวัฒน์, 2539)

2.3.3 เอนไซม์ทำลายพิษ (Detoxification enzyme) ควรมีคุณสมบัติ ดังนี้

2.3.3.1 อยู่ในออร์แกเนลของเซลล์ที่ได้รับสารพิษ หรือสารแปลกปลอมอยู่เป็นประจำ เช่น เซลล์ไขมัน และลำไส้ของแมลง

2.3.3.2 เป็น Non specific enzyme คือ สามารถทำปฏิกิริยากับสารแปลกปลอมได้หลายชนิดไม่จำเพาะเจาะจง

2.3.3.3 เมื่อร่างกายได้รับสารพิษ หรือสารแปลกปลอมแล้วจะสร้างเอนไซม์ขึ้นอย่างรวดเร็ว

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีวิจัย

3.1 อุปกรณ์

- 3.1.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้
 - 3.1.1.1 เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer) ยี่ห้อ FOTEK รุ่น MT-48E
 - 3.1.1.2 เครื่องสกัดซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ยี่ห้อ Gerhardt
 - 3.1.1.3 เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotatory vacuum evaporator) ยี่ห้อ EYELA รุ่น Botany N-1000
 - 3.1.1.4 เครื่องปั่นไฟฟ้า ยี่ห้อ PHILIPS CUCINA
 - 3.1.1.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ UNIVERSAL รุ่น 32 R
 - 3.1.1.6 เครื่องแก้ว
 - 3.1.1.7 เซลลูโลส ทิมเบิล (Cellulose Thimble)
 - 3.1.1.8 เอทานอล (ethanol) 95%
- 3.1.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการปลูกผักคะน้า
 - 3.1.2.1 เมล็ดพันธุ์คะน้า
 - 3.1.2.2 กระบะปลูกต้นกล้าคะน้า
 - 3.1.2.3 ดิน และกระถาง
 - 3.1.2.4 ฝักบัวรดน้ำ
- 3.1.3 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการเลี้ยงหนอนใยผัก
 - 3.1.3.1 พูกัน
 - 3.1.3.2 กระบอกลดน้ำ
 - 3.1.3.3 สำลี
 - 3.1.3.4 กระดาษชำระ
 - 3.1.3.5 กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงหนอนใยผัก
 - 3.1.3.6 กรงมุ้งลวดสำหรับเลี้ยงผีเสื้อหนอนใยผัก
 - 3.1.3.7 น้ำกลั่น

3.1.4 เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมีในการสกัดและตรวจวัดเอนไซม์ทำลายพืช

3.1.4.1 สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Biochrom 3

รุ่น Libra S 22

3.1.4.2 pH meter ยี่ห้อ CONSORF รุ่น C830

3.1.4.3 คิวเวต (Cuvette) พลาสติก

3.1.4.4 Microtube

3.1.4.5 Micropipette tip

3.1.4.6 ถังมือ

3.1.4.7 กล้องโฟม

3.1.4.8 โกร่ง

3.1.4.9 พาราฟิล์ม

3.1.4.10 Potassium dihydrogen orthophosphate buffer (KH_2PO_4)

ยี่ห้อ Ajax Finechem รหัส AF 501339 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4.11 Polyvinylpyrrolidone (PVPP)

ยี่ห้อ Fluka รหัส 43807123 43807123 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4.12 Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)

ยี่ห้อ Ajax Finechem รหัส AF 502381 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4.13 Paranitrophenyl acetate (PNPA)

ยี่ห้อ Fluka รหัส 1329140 33607398 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4.14 Chlorodinitrobenzene (CDNB)

ยี่ห้อ Aldrich รหัส 07720BH เก็บที่อุณหภูมิห้อง

3.1.4.15 Glutathione reduced form

ยี่ห้อ Fluka 1319516 34207221 เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.4.16 น้ำกลั่น

3.2 วิธีวิจัย

3.2.1 การสกัดสารจากเปลือกวุ้นหางจระเข้

3.2.1.1 นำเปลือกวุ้นหางจระเข้เรียงใส่ถาด และนำไปอบด้วยเครื่องอบแห้งแบบ ถาด (Tray dryer) อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง (ภาพที่ 5- 7)

3.2.1.2 นำเปลือกวุ้นหางจระเข้อบแห้งไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า (ภาพที่ 9)

3.2.1.3 นำผงวุ้นหางจระเข้อบแห้งที่ปั่นละเอียดไปสกัดสารด้วยวิธีที่ต่างกันดังนี้

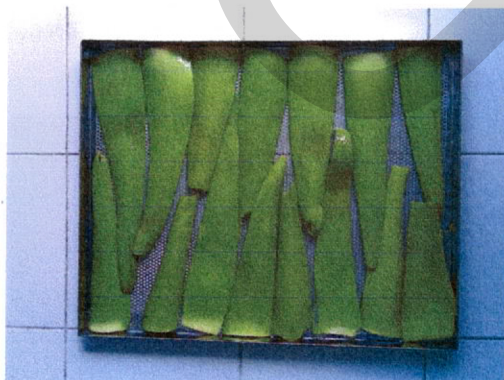
1.) นำผงวุ้นหางจระเข้อบแห้งที่ปั่นละเอียด 50 กรัม (ภาพที่ 8) ไปสกัดด้วย วิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) 500 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย (ภาพที่ 9) นาน 8 ชั่วโมง

2.) นำผงวุ้นหางจระเข้อบแห้งที่ปั่นละเอียด 50 กรัม ไปสกัดด้วยการหมัก (fermentation) โดยใช้เอทานอล (ethanol) 500 มิลลิลิตร เป็นตัวทำละลาย หมักทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 10) กรองเอากากออก

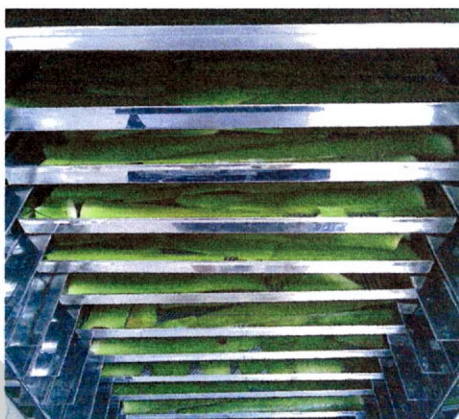
3.2.1.4 จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธีไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotatory vacuum evaporator) (ภาพที่ 11)

3.2.1.5 เก็บส่วนของสารที่ได้จากการระเหยตัวทำละลายออกไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพต่อไป (ภาพที่ 12)

3.2.1.6 นำตัวอย่างสารสกัดที่ระเหยตัวทำละลายออกแล้วไปตรวจวิเคราะห์หา ปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร สถาบันค้นคว้า และพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 เปลือกวุ้นหางจระเข้



ภาพที่ 6 อบเปลือกกว่านหางจระเข้ด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)



ภาพที่ 7 เปลือกกว่านหางจระเข้เข้บแห้ง



ภาพที่ 8 เปลือกกว่านหางจระเข้เข้บแห้งปั่นละเอียด



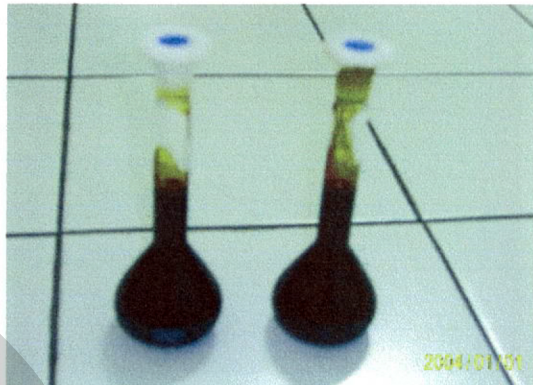
ภาพที่ 9 การสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinone) โดยใช้เครื่องสกัดชอกซ์เลต



ภาพที่ 10 การสกัดแอนทราควิโนน (Anthraquinone) โดยใช้วิธีการหมัก



ภาพที่ 11 ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน



ภาพที่ 12 สารสกัดหยาบจากเปลือกว่านหางจระเข้

3.2.2. การปลูกผักคะน้า

3.2.2.1 เพาะเมล็ดพันธุ์คะน้าในกระถางปลูกต้นกล้า (ภาพที่ 13)

3.2.2.2 หลังจากนั้นย้ายลงปลูกในกระบะปลูกต้นกล้าคะน้า ดูแลรดน้ำ และพรวนดินเป็นเวลา 30 วัน โดยไม่ใช้สารเคมีทุกชนิด นำผักคะน้าที่ปลูกโดยปราศจากสารเคมีไปใช้ในการทดลอง (ภาพที่ 14)



ภาพที่ 13 การเพาะเมล็ดพันธุ์คะน้า



ภาพที่ 14 ผักคะน้าปราศจากสารฆ่าแมลง

3.2.3 การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงหนอนใยผัก

3.2.3.1 นำหนอนใยผักจากแหล่งปลูกผักแปลงเกษตรกรรมมาเลี้ยงโดยให้พืชอาหารคือผักคะน้า ซึ่งปลูกโดยวิธีปลอดจากสารฆ่าแมลง เปลี่ยนคะน้าทุกวันจนหนอนเข้าดักแด้

3.2.3.2 นำดักแด้ไปใส่ไว้ในกรงผสมพันธุ์ เพื่อขยายพันธุ์ ระยะดักแด้ใช้เวลา 3 – 4 วัน ก็จะเจริญเป็นตัวเต็มวัย (ภาพที่ 15)

3.2.3.3 เมื่อเจริญเป็นตัวเต็มวัยแล้วนำใบของคะน้าที่เพาะไว้มาใส่ในกรงผสมพันธุ์ประมาณ 7 วัน เพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ โดยเปลี่ยนใบคะน้าทุกวัน (ภาพที่ 16)

3.2.3.4 นำใบคะน้าที่มีไข่ของผีเสื้อเก็บไว้ในกล่องพลาสติกเพื่อรอให้ไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนระยะที่ 1 ซึ่งจะกินใบคะน้าจนเข้าสู่ตัวอ่อนระยะที่ 2 จึงนำใบคะน้ามาเป็นอาหารเลี้ยง และทำการเปลี่ยนทุกวัน (ภาพที่ 17)

3.2.3.5 หนอนจะเข้าดักแด้บริเวณฝา และผนังของกล่องพลาสติกที่เลี้ยง รวบรวมดักแด้และดำเนินการขยายจำนวนประชากรต่อไป (ภาพที่ 18)



ภาพที่ 15 ผีเสื้อหนอนใยผักตัวเต็มวัยขณะผสมพันธุ์



ภาพที่ 16 ผีเสื้อหนอนใยผักวางไข่



ภาพที่ 17 หนอนใยผักเลี้ยงด้วยใบกะน้า



ภาพที่ 18 ดักแด้ผีเสื้อหนอนใยผัก

3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ต่อหนอนใยผัก

3.2.4.1 ประสิทธิภาพในการไล่ ทำการทดสอบหาความระดับเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการไล่หนอนใยผัก การทดลองนี้ดัดแปลงมาจากวิธีของเกรียงไกร และคณะ (2540) และ McDonald *et al.* (1970) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดังนี้

1.) เตรียมสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 w/v จำนวน 3 ซ้ำ

2.) ตัดกระดาษกรองเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร (Whatman No.1) แบ่งออกเป็น 2 ส่วน เท่า ๆ กันหยดสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 w/v ปริมาณ 400 ไมโครลิตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายลงบนกระดาษกรองส่วนแรก สำหรับกระดาษกรองส่วนที่สอง หยดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ปริมาณ 400 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นส่วนควบคุม (control) ติดกระดาษกรองกับ petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร

3.) เมื่อเอทานอลระเหยไป และกระดาษกรองแห้งแล้วจึงทำการปล่อยหนอนใยผักระยะที่ 2 ลงไปตรงกลางของกระดาษกรองจำนวน 10 ตัว ปิดฝา petri dish จดบันทึกจำนวนหนอนใยผักในแต่ละส่วนของกระดาษกรองทุก 1 ชั่วโมงจนครบ 5 ชั่วโมง บันทึกข้อมูล

4.) นำข้อมูลมาคำนวณค่า percentage repellency (PR) โดยใช้สูตรของ Talukder and Howse (1995) และนำมาวิเคราะห์โดยใช้ ANOVA และ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

$$\text{percentage repellency (PR)} = 2 (C-50)$$

เมื่อ C คือเปอร์เซ็นต์ของหนอนไผ่ที่อยู่นบนกระดาดกรองส่วนที่ไม่มีสารสกัด โดยค่า PR ที่เป็นบวกแสดงว่าเป็นสารไล่ (repellency) และค่า PR ที่เป็นลบแสดงว่าเป็นสารดึงดูด (attractancy) นำค่าเฉลี่ยที่ได้มาจัดระดับความเป็นสารไล่โดยแบ่งออกเป็น 5 ระดับดังนี้ (Talukder and Howse, 1995)

ระดับ	Repellency rate (%)
0	>0.01-<0.1
1	0.1-20
2	20.1-40
3	40.1-60
4	60.1-80
5	80.1-100

3.2.4.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหาร เป็นการทดสอบหาความระดับเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมต่อการยับยั้งการกินอาหารของหนอนไผ่ การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) ดังนี้

1.) เตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 w/v จำนวน 3 ซ้ำ

2.) ตัดใบคะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว จุ่มลงในสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งใส่สารจับใบ 1 หยดเป็นเวลา 30 วินาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปใส่กล่องพลาสติกขนาด 3 x 2 x 0.8 นิ้ว ซึ่งมีกระดาดขั้วรองอยู่ (ภาพที่ 19-20)

3.) นำหนอนไผ่ระยะที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2 ชม. ปล่อยลงบนใบคะน้าที่ชุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ดังกล่าว ตรวจวัดพื้นที่การกินของหนอนไผ่ภายใน 24 ชั่วโมง

4.) นำค่าดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) โดยการคำนวณจากสูตร (Abivardi and Benz, 1984) มาวิเคราะห์โดยวิธี Probit analysis เพื่อหาค่า median antifeedant index (AFI₅₀) ของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อหนอนไผ่ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 14.00

$$AFI = (1 - T / C) \times 100$$

เมื่อ C คือ พื้นที่การกินในกลุ่มควบคุม

T คือ พื้นที่การกินในกลุ่มทดลอง

3.2.4.3 ประสิทธิภาพต่ออัตราการตาย เป็นการทดสอบหาความระดับเข้มข้นของสารสกัดที่เหมาะสมเพื่อหาค่าหาอัตราการตาย และค่า LC_{50} การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) โดยการทดสอบแบบจุ่มใบ (Leaf dipping bioassay) ดังนี้

1.) เตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดซอกซ์เลตซึ่งมี ethanol เป็นตัวทำละลาย ความเข้มข้น 0.01, 0.025, 0.05, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00% (w/v) (ภาพที่ 19)



ภาพที่ 19 สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้นต่างๆ

2.) ตัดใบคะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน เป็นวงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 นิ้ว จุ่มลงในสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นต่างๆ ซึ่งใส่สารจับใบ 1 หยดเป็นเวลา 30 วินาที นำไปผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปใส่กล่องพลาสติกขนาด 3 x 2 x 0.8 นิ้ว ซึ่งมีกระดาษซับรองอยู่ (ภาพที่ 20)

3.) นำหนอนไผ่กระยะที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2 ชม. ปลอ่ยลงบนใบคะน้าที่ชุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ดังกล่าว เปลี่ยนใบคะน้าทุก 24 ชม. ตรวจเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนไผ่ภายใน 72 ชม.



ภาพที่ 20 การเตรียมใบผักคะน้าเพื่อใช้ในทดสอบ (Leaf dipping method)

4.) การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง โดยใช้วิธี Abbott's formula (Matsumura) เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนไผ่หลังจากได้รับสารสกัด

5.) นำข้อมูลการตายมาวิเคราะห์โดยวิธี Probit analysis เพื่อหาค่า median lethal concentration (LC_{50}) ของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อหนอนไผ่ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 14.00

6.) เปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ยของอัตราการตาย และระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ โดยวิธี One - way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

3.2.5 ตรวจวัดเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ จำนวน 3 รุ่น เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดชอกซ์เลต ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยวิธีทดสอบแบบจุ่มใบ (Leaf dipping method) การทดลองนี้วางแผนทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD)

1.) เตรียมสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ 3 ระดับ ที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง

2.) นำใบคะน้าที่ปลูกประมาณ 30 วัน มาชุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ตามระดับความเข้มข้นดังกล่าว ใส่สารจับใบ 1 หยด เป็นเวลา 30 วินาที นำมาผึ่งให้แห้ง แล้วใส่ในกล่องพลาสติกขนาด $6 \times 8 \times 3$ นิ้ว ที่มีกระดาษขั้วรองอยู่

3.) นำหนอนไผ่ระยะที่ 2 จำนวน 10 ตัว ผ่านการอดอาหาร 2 ชม. มาปล่อยลงบนใบคะน้าที่ชุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ดังกล่าว เปลี่ยนใบคะน้าทุก 24 ชม. จนหนอนเข้าสู่ระยะที่ 4

4.) นำหนอนใยฝักระยะที่ 4 มาสกัด และตรวจวัดเอนไซม์ โดยดัดแปลงวิธีการของ Feng และคณะ (1995) และ Visetson and Mantana (2001) เพื่อใช้ตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพืช โดยนำหนอนใยฝักจำนวน 5 ตัว เติม polyvinylpolypyrrolidone 0.25 กรัม ใส่ลงในโกร่งที่แช่เย็น บดให้ละเอียด แล้วเติม potassium phosphate buffer pH 7.5 นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่กรองได้ใส่หลอด centrifuge แล้วนำไปปั่นด้วยความเร็ว 10,000 G ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที ดูดส่วนใสข้างบนใส่ microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวัดระดับเอนไซม์ต่อไป ส่วนหนอนใยฝักที่เหลือเลี้ยงจนหนอนเข้าดักแด้นำนามาทดลองในรุ่นที่ 2 และ 3 ต่อไป

5.) ตรวจวัดระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) ใช้วิธี PNPA assay ของ Mackness และ คณะ (1983) ; Yu (1983) และ Yu S. J. and E.L.Hsu. (1985) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 400 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ paranitrophenol โดยเอนไซม์เอสเทอเรส จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของสารตั้งต้นคือ paranitrophenyl acetate (PNPA) ไปเป็น paranitrophenol ได้สารละลายสีเหลือง

6.) ตรวจวัดระดับเอนไซม์ กลูตาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione s-transferase) ใช้วิธี CDNB-DCNB assay ของ Booth และคณะ (1961); สุรพล และ เรวดี (2542) และ สุรพล และคณะ (2544) โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 340 นาโนเมตร ตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ monochloro-nitrobenzene glutathione ซึ่ง dichloronitrobenzene จะเกิดปฏิกิริยารวมตัวกับ glutathione โดยมีเอนไซม์กลูตาไทโอน เอส-ทรานสเฟอเรส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

7.) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (one way analysis of variance) ทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับเอนไซม์ทำลายพืชของหนอนใยฝักในแต่ละรุ่น ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)



A



B



C



D

ภาพที่ 21 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดและสกัดเอนไซม์

A = อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

B = การสกัดเอนไซม์ *esterase* และ *glutathione S-transferase*

C = เครื่อง *refrigerated high speed centrifuge*

D = เครื่อง *spectrophotometer* ยี่ห้อ *Biochrom 3 รุ่น Libra S 22*

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การสกัดสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) จากเปลือกกว่านหางจระเข้

ผลจากการสกัดสารจากเปลือกกว่านหางจระเข้อบแห้ง ปั่นละเอียด ปริมาณ 50 กรัม โดยนำไปสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายนาน 8 ชม. เปรียบเทียบกับการสกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายที่อุณหภูมิห้องนาน 48 ชม. นำตัวอย่างจากการสกัดทั้ง 2 วิธีไประเหยตัวทำละลายออกจนได้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเปลือกกว่านหางจระเข้ ลักษณะสีเขียวเข้มจนเหลือปริมาณ 50 มิลลิลิตรแล้วส่งไปตรวจวิเคราะห์หาความเข้มข้นของปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้ผลดังนี้

4.1.1 สกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธีทดสอบ T-CM-050 Based on Food and Chemical Toxicology (1999) รายงานการตรวจแอนทราควิโนน (Anthraquinone) จากสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเปลือกกว่านหางจระเข้พบว่ามีปริมาณ 27.38 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

4.1.2 สกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลาย ด้วยวิธีทดสอบ T-CM-050 Based on Food and Chemical Toxicology (1999) รายงานการตรวจแอนทราควิโนน (Anthraquinone) จากสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเปลือกกว่านหางจระเข้พบว่ามีปริมาณ 4.56 เปอร์เซ็นต์ (w/w)

เปรียบเทียบปริมาณแอนทราควิโนน (Antraquinone) จากสารสกัดหยาบ (crude extract) จากเปลือกกว่านหางจระเข้ เมื่อสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (Absolute ethanol) เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีปริมาณมากกว่าการสกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายประมาณ 7 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากแอนทราควิโนน (Antraquinone) สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายในโตรเบนซีนซึ่งเป็นตัวละลายไม่มีขั้ว แต่แอนทราควิโนน (Antraquinone) ที่สกัดได้จากเปลือกกว่านหางจระเข้จะอยู่ในรูปของแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Anthraquinone glycoside) จึงสามารถละลายในเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วได้ แต่เนื่องจากแอนทราควิโนน (Antraquinone) มีจุดเดือด และจุดหลอมเหลวสูงทำให้ละลายได้น้อยที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งการสกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) นั้นจะใช้อุณหภูมิห้องจึงทำให้ได้ปริมาณแอนทราควิโนน (Antraquinone) น้อยกว่าการสกัดโดย

วิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ซึ่งสกัดภายใต้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (H.du et al,1998) ดังนั้นในการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุม หนอนใยผักจึงเลือกใช้สารสกัดจากวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายเท่านั้น

4.2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อหนอนใยผัก

4.2.1 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการไล่หนอนใยผัก

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยใช้เอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายมีผลต่อการไล่หนอนใยผักระยะที่ 2 นับเปอร์เซ็นต์การไล่หนอน 5 ชั่วโมงพบว่าสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายมีผลต่อการไล่หนอนใยผัก โดยใช้ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v ดังนี้

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ชั่วโมงที่ 1 มีค่า 3.33 ± 3.33 , 20.00 ± 11.55 , 26.67 ± 8.82 , 16.67 ± 6.67 และ 26.67 ± 8.82 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผัก โดยใช้ One-way ANOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่ความเข้มข้น 1.0 % w/v มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แต่ที่ความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ชั่วโมงที่ 2 มีค่า 10.00 ± 5.77 , 20.00 ± 11.55 , 33.33 ± 6.67 , 33.33 ± 3.33 และ 36.67 ± 8.82 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผัก โดยใช้ One-way ANOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่ความเข้มข้น 1.0 % w/v มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แต่ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 % w/v ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และที่ความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ชั่วโมงที่ 3 มีค่า 20.00 ± 5.77 , 26.67 ± 6.67 , 40.00 ± 5.77 , 33.33 ± 6.67 และ 46.67 ± 3.33 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผัก โดยใช้ One-way ANOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 4.0% w/v ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และที่ความเข้มข้น 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ชั่วโมงที่ 4 มีค่า 20.00 ± 5.77 , 33.33 ± 6.67 , 40.00 ± 5.77 , 56.67 ± 3.33 และ 60.00 ± 5.77 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผัก โดยใช้ One-way ANOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่ความเข้มข้น 1.0 % w/v มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 % w/v อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0% w/v เหมือนกับความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 % w/v คือไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ชั่วโมงที่ 5 มีค่า 43.33 ± 3.33 , 53.33 ± 3.33 , 50.00 ± 5.77 , 63.33 ± 3.33 และ 73.33 ± 3.33 % ตามลำดับ (ตารางที่ 1) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผัก โดยใช้ One-way ANOVA พบว่าเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักที่ความเข้มข้น 1.0 และ 3.0 % w/v เหมือนกับความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 % w/v คือไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และที่ความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 % w/v มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 % w/v อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เมื่อสิ้นสุดระยะเวลา 5 ชั่วโมง ระดับการไล่แมลงอยู่ในระดับ 3 เมื่อทำการทดสอบกับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 1.0, 2.0 และ 3.0 % w/v และระดับการไล่แมลงอยู่ในระดับ 4 เมื่อทำการทดสอบกับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 % w/v (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽¹⁾ ของเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนใยผักด้วยสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (% w/v)	เปอร์เซ็นต์การไล่ในแต่ละเวลา(%) ⁽²⁾				
	1	2	3	4	5
1.0	$3.33^a \pm 3.33$	$10.00^a \pm 5.77$	$20.00^a \pm 5.77$	$20.00^a \pm 5.77$	$43.33^a \pm 3.33$
2.0	$20.00^b \pm 11.55$	$20.00^{ab} \pm 11.55$	$26.67^a \pm 6.67$	$33.33^b \pm 6.67$	$53.33^b \pm 3.33$
3.0	$26.67^b \pm 8.82$	$33.33^b \pm 6.67$	$40.00^b \pm 5.77$	$40.00^b \pm 5.77$	$50.00^{ab} \pm 5.77$
4.0	$16.67^b \pm 6.67$	$33.33^b \pm 3.33$	$33.33^{ab} \pm 6.67$	$56.67^c \pm 3.33$	$63.33^c \pm 3.33$
5.0	$26.67^b \pm 8.82$	$36.67^b \pm 8.82$	$46.67^b \pm 3.33$	$60.00^c \pm 5.77$	$73.33^d \pm 3.33$

หมายเหตุ ⁽¹⁾ระดับอัตราการไล่ (Repellency rate) หนอนใยผักที่คำนวณได้จากการทดสอบด้วยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ 5 ระดับๆ ละ 3 ซ้ำ

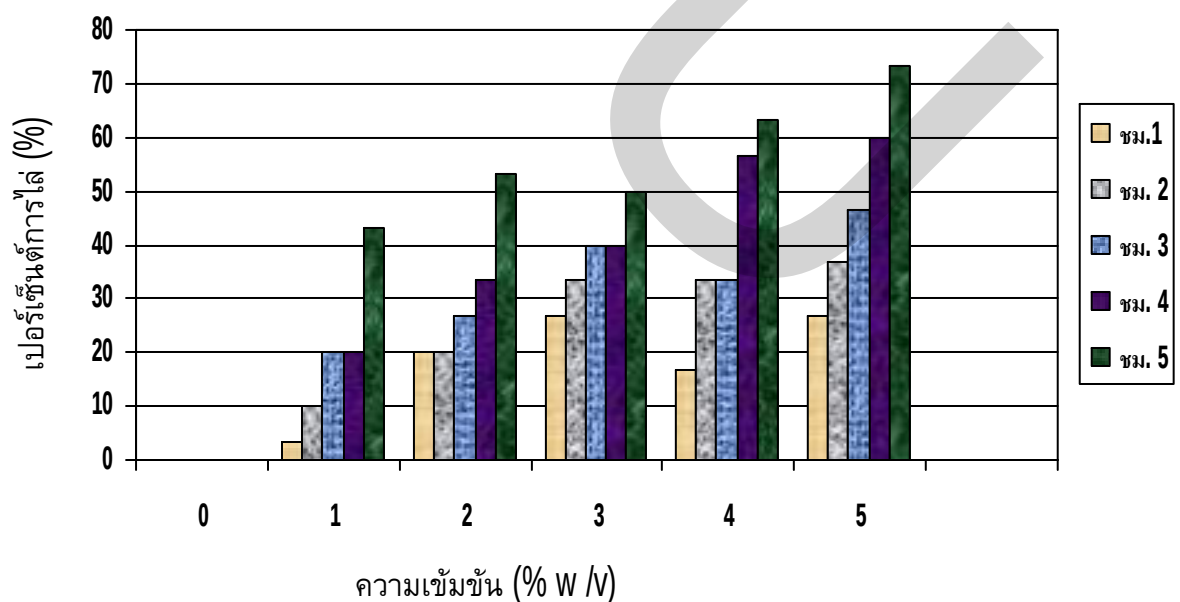
⁽²⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽¹⁾ ของระดับอัตราการไล่ (Repellency rate) หนอนไผ่ผักด้วยสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆที่ เวลา 5 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (% w/v)	เปอร์เซ็นต์การไล่ที่ 5 ชั่วโมง (%) ⁽²⁾	ระดับการไล่แมลง
1.0	43.33 ^a ± 3.33	3
2.0	53.33 ^b ± 3.33	3
3.0	50.00 ^{ab} ± 5.77	3
4.0	63.33 ^c ± 3.33	4
5.0	73.33 ^d ± 3.33	4

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ระดับอัตราการไล่ (Repellency rate) หนอนไผ่ผักที่คำนวณได้จากการทดสอบ ด้วยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ 5 ระดับๆ ละ 3 ซ้ำ

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)



ภาพที่ 22 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การไล่หนอนไผ่ผักที่เวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 ชม.

จากการศึกษาสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดชอกซ์เลตซึ่งมี เอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย โดยพบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่นอนไยที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ 1.0, 2.0 และ 3.0 % w/v ที่เวลา 5 ชั่วโมง ให้ระดับการไล่นอนไยอยู่ในระดับเดียวกันคือระดับ 3 และค่าระดับการไล่นอนไยสูงสุดอยู่ในระดับ 4 เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ความเข้มข้นของ 4.0 และ 5.0 % w/v โดยค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่นอนไยฝักสูงสุด คือ 73.33 ± 3.33 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดชอกซ์เลตซึ่งมีเอทานอล (Absolute ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีการสกัดสารแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่มีฤทธิ์ในการไล่นอนไยฝักได้ การที่แอนทราควิโนน (Anthraquinone) สามารถไล่นอนไยฝักได้ เนื่องมาจากคุณสมบัติทางเคมีจัดอยู่ในสารจำพวกไล่นอนไย อยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์ (Alkaloid) มีฤทธิ์เป็นเบส และเป็นพิษทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังสัมผัส อีกทั้งยังคงอยู่ในสภาพธรรมชาติได้นานกว่ากลุ่มน้ำมันหอมระเหย (essential oils) จากผลการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่นอนไยของน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส *Eucalyptus camaldulensis Dehnh* ต่อหนอนกระทู้ฝัก *Spodoptera litura Fabricius* พบว่าไม่เหมาะสมที่จะใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสเป็นสารไล่นอนไยกระทู้ฝัก เนื่องจากไล่ได้ดีที่สุด คือ 60-80 % เมื่อใช้เวลา 15 นาที ประสิทธิภาพในการไล่นอนไยกระทู้ฝักลดลงเมื่อเวลาผ่านไป และเมื่อใช้เวลา 5 ชั่วโมง หนอนถูกไล่เพียง 45-72 % (ศิริพรรณ และคณะ, 2550) ซึ่งจะเห็นได้จากประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการไล่นอนไยฝักยังคงมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป 5 ชั่วโมง ดังนั้นจึงมีประสิทธิภาพในการไล่นอนไยฝักได้ดีกว่ากลุ่มน้ำมันหอมระเหย (essential oils) และเหมาะสมในการใช้เพื่อการเกษตรเนื่องจากสารแอนทราควิโนน (Anthraquinone) เป็นอันตรายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่อใช้ในปริมาณมากเท่านั้น โดยมีค่าความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก (Acute oral toxicity) LD₅₀ มากกว่า 5000 มก./กก. (Anthraquinone Fact Sheet,1998)

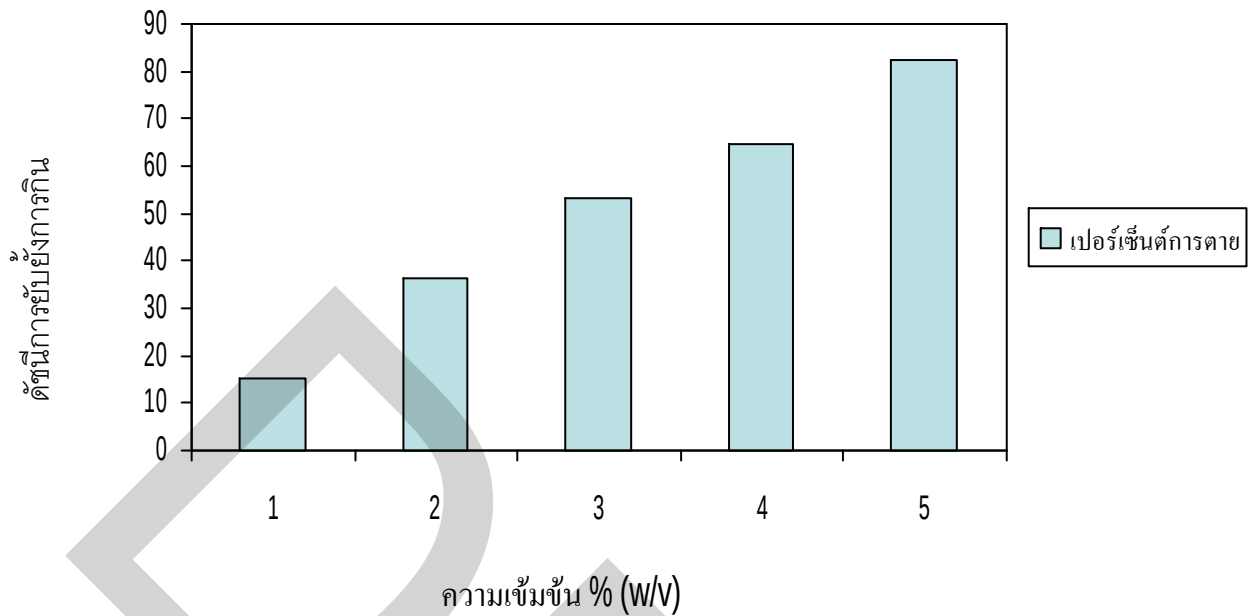
4.2.2 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่สกัดโดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผัก โดยใช้วิธีทดสอบแบบจุ่มใบ (Leaf dipping method) กับหนอนใยผัก ระยะที่ 2 ตรวจวัดพื้นที่การกินของหนอนใยผักภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้ความเข้มข้น 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, และ 5.00% (w/v) พบดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) มีค่า 15.01, 36.36, 53.36, 64.82 และ 82.60 %ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และมีค่า AFI_{50} 2.97 % เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้ Probit Analysis (ภาพที่ 24)

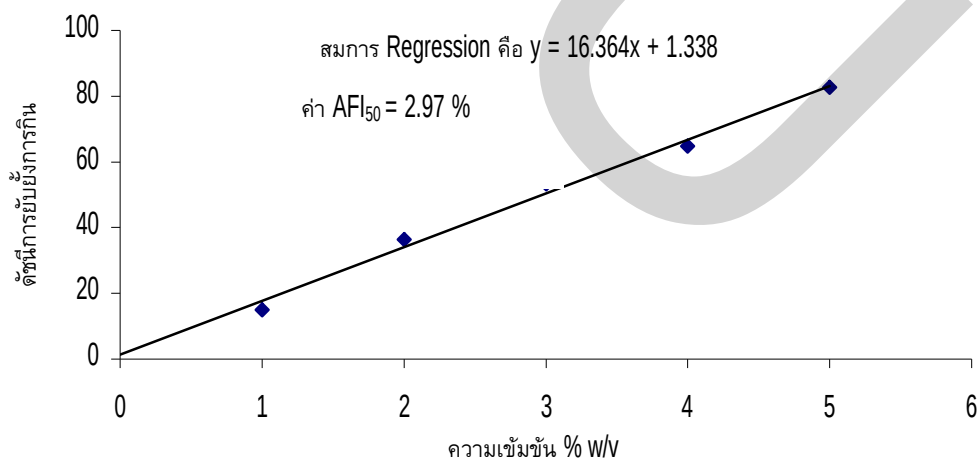
ตารางที่ 3 แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชม.

ความเข้มข้น % (w/v)	ดัชนีการยับยั้งการกิน ⁽¹⁾
1.00	15.01
2.00	36.36
3.00	53.36
4.00	64.82
5.00	82.60

หมายเหตุ ⁽¹⁾ คำนวณโดยใช้ Antifeedant index formula (Abivardi and Benz, 1984)



ภาพที่ 23 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกวานหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนไผ่ผักที่เวลา 24 ชม.



ภาพที่ 24 แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกวานหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) ของหนอนไผ่ผักที่เวลา 24 ชม.

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดชอกซ์เลต ซึ่งมี เอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการกินของหนอนใยผักสูงสุดที่ 24 ชม.คือ 5 % (w/v) มีค่าดัชนียับยั้งการกินเท่ากับ 82.60 % และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ทำให้เกิดการยับยั้งการกินของหนอนใยผักต่ำสุดที่ 24 ชม.คือ 1 % (w/v) มีค่าดัชนียับยั้งการกินเท่ากับ 15.01 % และสมการ regression คือ $y = 16.364X + 1.3382.97$ ค่า AFI_{50} เท่ากับ 2.97 % (w/v) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้ Probit Analysis แสดงว่าแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่ได้จากการสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักที่ 24 ชม. เปรียบเทียบผลการศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักหรือแมลงชนิดอื่นเมื่อได้รับสารสกัดทุติยภูมิจากพืชในกลุ่มอัลคาลอยด์ (alkaloid) ชนิดอื่นๆได้ผลเป็นไปในทางเดียวกันคือ ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา 3 ชนิดคือสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss) สะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* (Jack) Jacobs) และสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var *siamensis* Valetton) ต่อหนอนใยผัก พบว่าผลการยับยั้งการกินใบคะน้าของหนอนใยผักเท่ากับ 55.69 , 79.69 และ 44.45 % ตามลำดับ (รติยา และคณะ, 2547) หรือสารพวก terpinoid ซึ่งมีรสขมสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักได้ดังผลการศึกษา (Reed et al.,1982) ตลอดจนนักวิจัยอีกหลายท่านที่ได้ให้ความสนใจน้ำมันสกัดจากเมล็ดสะเดา Azadirachtin ซึ่งเป็น tetranor-teiterpinoid มีผลควบคุมแมลงได้หลายด้าน ตัวอย่างเช่น สามารถหยุดยั้งการกินอาหารของแมลงวันบ้าน ตัวอ่อนหนอนใยผัก ตัวง่าแดง นอกจากนี้สาร azadirachtin ยังมีผลควบคุมแมลงในด้านอื่นอีกหลายด้าน แสดงว่าแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่ได้จากการสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในรูปอนุพันธ์ของไกลโคไซด์ (glycoside derivative) (อดุลย์, 2537) มีผลต่อการยับยั้งการกินของหนอนใยผัก เนื่องจากเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มอัลคาลอยด์เช่นกัน และยังมีอนุพันธ์อื่นๆเป็นองค์ประกอบด้วย คือสารซาโปนิน (saponin) และ กลุ่ม triterpenoids (G.R.Waller et.al, 1978) จึงสามารถทำให้เกิดการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักได้ภายใน 24 ชม. เป็นไปในทางเดียวกับผลการศึกษาของ Wada and Munakata (1971) ทำการศึกษาผลวิจัยของ terpenoids จากพืช 6 ชนิดซึ่งอยู่ในกลุ่ม sesauitepernoids , diterpenoids และ triterpenoids ที่ความเข้มข้น 0.030 ถึง 0.5% ใน acetone กับตัวอ่อนของหนอนเจาะมันฝรั่ง *Spodoptera littoralis* พบว่า สารในกลุ่มของ sesquiterpenoids เช่น pinquison และ absinthin ให้ผลดีที่สุดที่ความเข้มข้น 0.125% และ 0.03% ตามลำดับ และไม่พบสารในกลุ่มของ diterpenoids หรือ triterpenoids แสดงผลยับยั้งการกินของแมลงดังกล่าว แสดงว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักจากสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้เป็นกลุ่มแอนทราควิโนน ไกลโคไซด์ (Anthraquinone glycoside)

4.2.3 ผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อการตายของ หนอนใยผัก

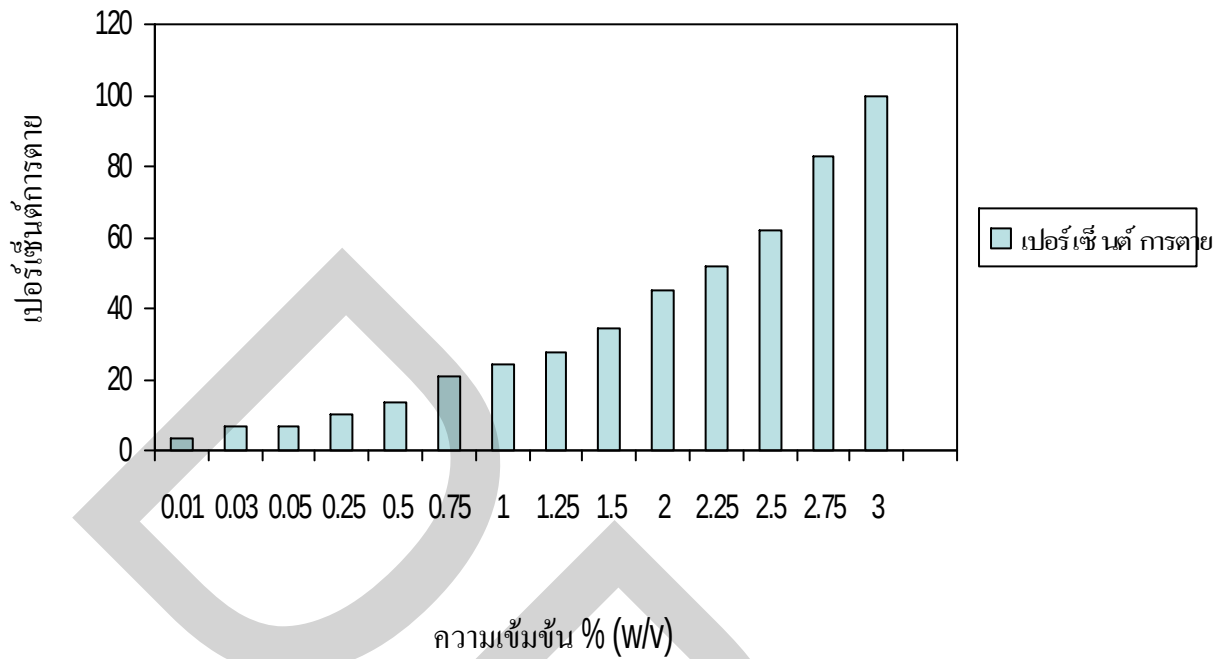
การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายที่มีผลต่อการตายของหนอนใยผัก โดยใช้วิธีทดสอบแบบจุ่มใบ (Leaf dipping method) กับหนอนใยผักระยะที่ 2 ซึ่งผ่านการอดอาหาร 2 ชม. นับเปอร์เซ็นต์ การตายที่ 72 ชม. เพื่อเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมในการศึกษาระดับเอนไซม์ของหนอนใยผัก ต่อไป

สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย ที่มีผลต่อการตายของหนอนใยผัก โดยใช้ความเข้มข้น 0.01, 0.025, 0.05, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00% (w/v) พบเปอร์เซ็นต์การตายจริง 3.45, 6.90, 6.90, 10.34, 13.79, 20.69, 24.14, 27.58, 34.48, 44.83, 51.73, 62.07, 82.76 และ 100% ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และมีค่า LC_{50} 1.83% เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยใช้ Probit Analysis (ภาพที่ 26)

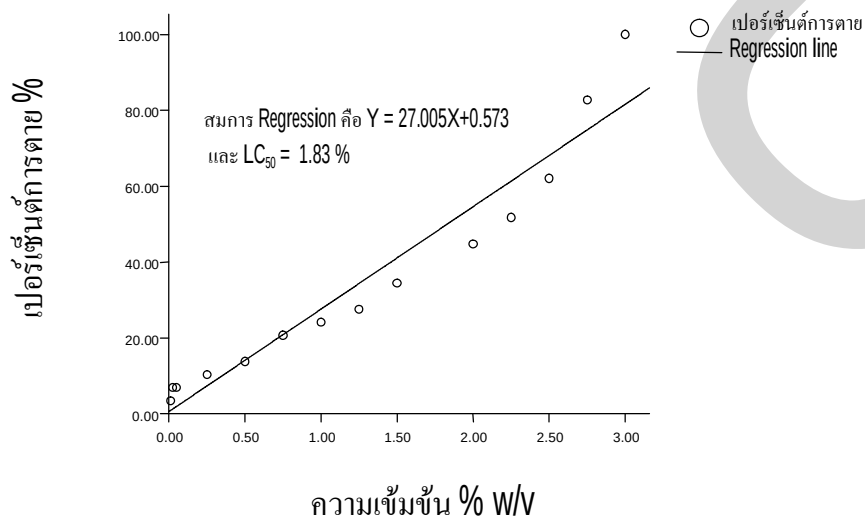
ตารางที่ 4 แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.

ความเข้มข้น % (w/v)	เปอร์เซ็นต์การตายจริง ⁽¹⁾
0.00	0.00
0.01	3.45
0.025	6.90
0.05	6.90
0.25	10.34
0.50	13.79
0.75	20.69
1.00	24.14
1.25	27.58
1.50	34.48
2.00	44.83
2.25	51.73
2.50	62.07
2.75	82.76
3.00	100.00

หมายเหตุ ⁽¹⁾ คำนวณโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)



ภาพที่ 25 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.



ภาพที่ 26 แสดงผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อเปอร์เซ็นต์การตายจริงของหนอนใยผักที่เวลา 72 ชม.

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดช็อกซ์เลต ซึ่งมี เอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย โดยพบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลายที่ทำให้หนอนใยผักตบ 100% คือ 3% (w/v) และพบค่า LC_{50} คือ 1.83% (w/v) (สมการ Regression คือ $Y = 27.005X + 0.573$) แสดงว่าวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดช็อกซ์เลต ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย เป็นวิธีการสกัดสารแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ที่มีฤทธิ์ในการทำให้หนอนใยผักตบได้ การที่แอนทราควิโนน (Anthraquinone) สามารถทำให้หนอนใยผักตบได้ภายใน 72 ชม. เนื่องจากคุณสมบัติทางเคมีของแอนทราควิโนน (Anthraquinone) คือ เมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะถูกรีดิวซ์ให้เป็นแอนทรานอล (Anthranol) ซึ่งระคายเคืองต่อลำไส้ (อดุลย์, 2537) หรืออีกสาเหตุหนึ่ง คือแอนทราควิโนน (Anthraquinone) ไปมีผลทำให้กลไกการทำลายสารพิษในหนอนใยผักเกิดการเหนี่ยวนำให้สร้างเอนไซม์ทำลายพิษของสารแปลกปลอมในปริมาณน้อยเกินไป ซึ่งเอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ถือว่าเป็นกลไกหลักของแมลงที่จะถูกเหนี่ยวนำให้มีปฏิกิริยาเปลี่ยนแปลงไป เพื่อทำลายความเป็นพิษของสารแปลกปลอม (Yu, 1984) ดังนั้นจึงทำให้หนอนใยผักไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ ในทางตรงกันข้าม หนอนใยผักที่รอดตายจะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ทำลายพิษปริมาณมากพอที่จะทำลายพาของสารแปลกปลอมออกไปจนไม่สามารถทำอันตรายให้ถึงกับตายได้

4.3 ผลการศึกษาในระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ผัก

การศึกษาระดับเอนไซม์ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 โดยเลี้ยงหนอนไผ่ผักระยะที่ 2 ด้วยผักคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่สกัดโดยวิธีการสกัดซอกซ์เลต ซึ่งมี เอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) เลี้ยงจนหนอนไผ่ผักเข้าสู่ระยะที่ 4 จึงนำไปสกัดเอนไซม์ และตรวจวัดระดับเอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) มีผลการทดลองดังนี้

4.3.1 ระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v)

ระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 1 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 5.47 ± 0.09 นาโนโมล และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 7.29 ± 0.53 , 9.47 ± 0.72 และ 11.03 ± 0.38 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณเอสเทอเรส (esterase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 2 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 5.47 ± 0.14 n mole และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 7.32 ± 0.24 , 9.43 ± 0.67 และ 11.02 ± 0.31 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณเอสเทอเรส (esterase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มทดลอง สำหรับปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 2.00 และ 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 3 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 5.45 ± 0.16 นาโนโมล และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณเอสเทอเรส (esterase) 7.21 ± 0.51 , 9.40 ± 0.48 และ 10.97 ± 0.92 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 5) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณเอสเทอเรส (esterase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจาก

เปลือกวุ้นหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มทดลอง สำหรับ ปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ฝักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ความเข้มข้น 2.00 และ 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

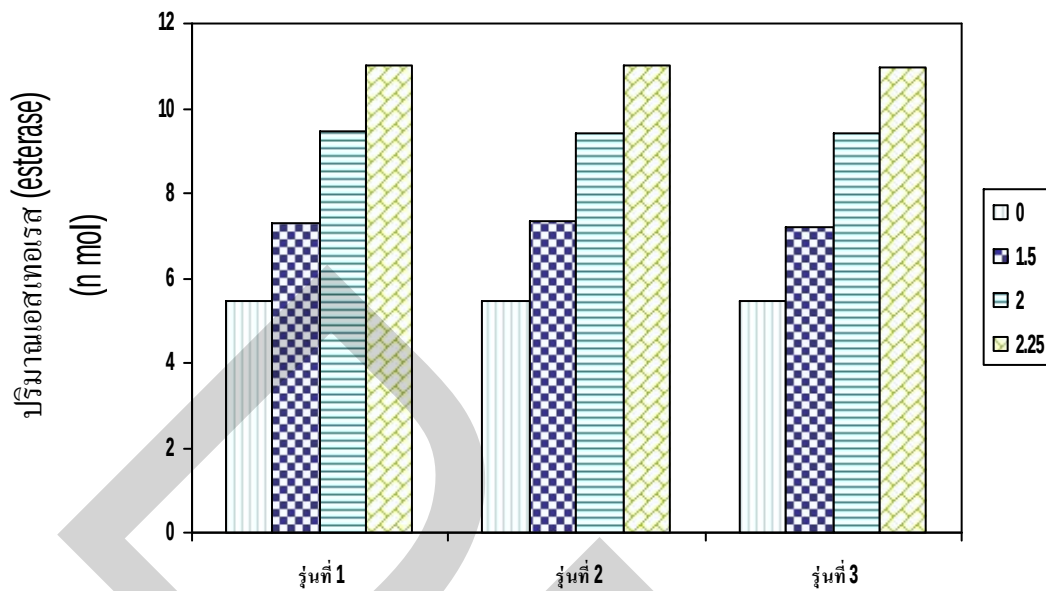
เมื่อนำเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ฝักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มาวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณเอสเทอเรส (esterase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณ เอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ฝักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ความเข้มข้นเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽¹⁾ ของเอสเทอเรส (esterase) หนอนไผ่ฝักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น % (w/v)	ปริมาณ esterase เฉลี่ย (n mole) ⁽²⁾		
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3
0.00	5.47 ^a $\pm$ 0.09	5.47 ^a $\pm$ 0.14	5.45 ^a $\pm$ 0.16
1.50	7.29 ^b $\pm$ 0.53	7.32 ^{ab} $\pm$ 0.24	7.21 ^{ab} $\pm$ 0.51
2.00	9.47 ^c $\pm$ 0.72	9.43 ^b $\pm$ 0.67	9.40 ^b $\pm$ 0.48
2.25	11.03 ^c $\pm$ 0.38	11.02 ^b $\pm$ 0.31	10.97 ^b $\pm$ 0.92

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ปริมาณเอสเทอเรส (esterase) ที่วัดได้จากการทดสอบด้วยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกวุ้นหางจระเข้ 3 ระดับ ๆ 3 ชั่วโมงในหนอนไผ่ฝักที่มีชีวิต

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

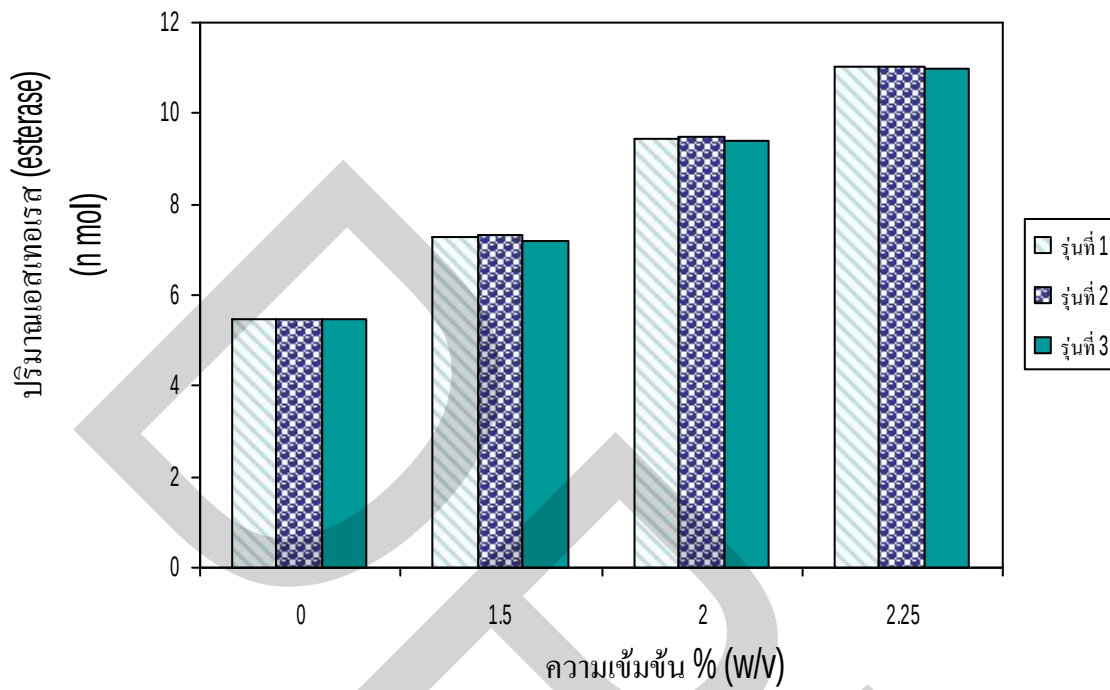


ภาพที่ 27 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ฝักที่เลี้ยงด้วย
คะน้ำขุบสารสกัดจาก เปลือกกว่านที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ฝัก รุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3
ที่เลี้ยงด้วยคะน้ำขุบสารสกัดจากเปลือกกว่านทางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

หนอนไผ่ฝัก (รุ่น)	ปริมาณ esterase เฉลี่ย (n mole) ⁽¹⁾			
	0.00% (w/v)	1.50% (w/v)	2.00% (w/v)	2.25% (w/v)
1	5.47 ^a ± 0.09	7.29 ^a ± 0.53	9.43 ^a ± 0.67	11.03 ^a ± 0.38
2	5.47 ^a ± 0.14	7.32 ^a ± 0.24	9.47 ^a ± 0.72	11.02 ^a ± 0.31
3	5.45 ^a ± 0.16	7.21 ^a ± 0.51	9.40 ^a ± 0.48	10.97 ^a ± 0.92

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
(P<0.05)



ภาพที่ 28 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบระดับเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และ รุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

การศึกษาผลของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนใยผัก พบว่าสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่มีผลทำให้ระดับเอนไซม์ทำลายพิษ คือ เอสเทอเรส (esterase) ของหนอนใยผักมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาพบว่าระดับเอสเทอเรส (esterase) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ คือ เพิ่มจากความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) ตามลำดับ (ภาพที่ 27) การที่เอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้นเพราะเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้เข้าไปในร่างกาย แมลงจะมีการสร้างเอสเทอเรส (esterase) เพื่อเร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนโครงสร้างของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ให้มีความสามารถในการละลายน้ำได้เพื่อแยกการกำจัดออกจากร่างกาย เอสเทอเรส (esterase) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 1 (phase 1) ซึ่งอยู่ในกลไกการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่ใช้เอนไซม์โดยตรง เอสเทอเรส (esterase) มีความสามารถในการ

Metabolized สารพิษ โดยจะทำหน้าที่ในการ Hydrolyzed สารในกลุ่ม Ester ให้เป็นสารพิษตัวใหม่ที่เป็น Carboxy และ Alcohol เป็นต้น (ชัยวัฒน์, 2539) ดังนั้นเมื่อหนอนไผ่ผักได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ ซึ่งก็คือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย จึงมีการสร้างเอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้นเพื่อทำลายพิษ ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Yu and Nguyen (1992) พบว่าเมื่อหนอนไผ่ผักได้รับสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroid และสารเคมีในกลุ่ม Organophosphate จะมีการสร้างเอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้น และยังสอดคล้องกับ Mackness et al. (1984) มีรายงานว่า ใน *Thibolium castaneum* ที่ต้านทานต่อสาร Malathion พบระดับเอสเทอเรส (esterase) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ เมื่อแมลงได้รับสาร Malathion พบว่าเอสเทอเรส (esterase) คือ Carboxyesterase จะเร่งปฏิกิริยา Hydrolysis สาร Malathion ให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น α - monoacid γ - monoacid และ Ethanol เพื่อแยกการกำจัดออกจากร่างกาย (Dauterman, 1983; Kao et al., 1984) เช่นเดียวกับผลการทดลองของ Konnc et al. (1989) ตรวจพบเอสเทอเรส (esterase) ของ *Heliothis virescens* มีระดับสูงขึ้นเมื่อ Methyl parathion เพิ่มขึ้น

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ซึ่งเป็นสารสกัดจากพืช มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ คือ เอสเทอเรส (esterase) โดยพบว่าเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น Yu (1983, 1984) ได้กล่าวว่าเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชจะทำให้แมลงมีการสร้างเอนไซม์ทำลายพิษ คือ เอสเทอเรส (esterase) เป็นต้น ในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อทำลายพิษจากสารสกัดจากพืชซึ่งเป็นสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายให้มีความเป็นพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษเลย และการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในแมลงแต่ละชนิดต่อสารพิษในระดับที่แตกต่างกัน หรือในแมลงชนิดเดียวกันถ้าได้รับสารพิษคนละชนิด การเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษก็จะแตกต่างกันด้วย (Rose, 1985; Rose and Terier, 1980)

ในการศึกษาเอนไซม์ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของหนอนไผ่ผักต่อสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ จากผลการทดลองพบว่าเอสเทอเรส (esterase) ของหนอนไผ่ผักทั้ง 3 รุ่นไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 28) การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดจะใช้เวลาแตกต่างกัน และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroid เป็นสารเคมีที่แมลงสร้างความต้านทานได้เร็วที่สุด คือ 2 ปี การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดต้องใช้เวลาหลายรุ่น (Generation) เพราะการสร้างเอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมคู่ที่ 2 (Metcalf, 1989) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไป ซึ่งจะมีผลทำให้แมลงมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัด (Visetson, 1992) ดังนั้นผลการศึกษาก็ยังสรุปไม่ได้ว่าหนอนไผ่ผักไม่สามารถสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ แต่จะไม่มีมีการเปลี่ยนแปลงในระยะเวลานาน

4.3.2 ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v)

ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักรุ่นที่ 1 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.59 ± 0.03 n mole และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.63 ± 0.04 , 0.71 ± 0.09 และ 0.78 ± 0.08 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม สำหรับปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 2.00, 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักรุ่นที่ 2 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.59 ± 0.06 n mole และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.62 ± 0.01 , 0.70 ± 0.02 และ 0.78 ± 0.09 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม สำหรับปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 2.00, 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใบผักรุ่นที่ 3 พบว่า กลุ่มควบคุมมีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.55 ± 0.06 n mole และกลุ่มที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจะเข้ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มีปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) 0.62 ± 0.02 , 0.69 ± 0.04 และ 0.76 ± 0.02 n mole ตามลำดับ (ตารางที่ 7) และเมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส

(glutathione S-transferase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 1.50% (w/v) ไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม สำหรับปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 2.00, 2.25% (w/v) มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

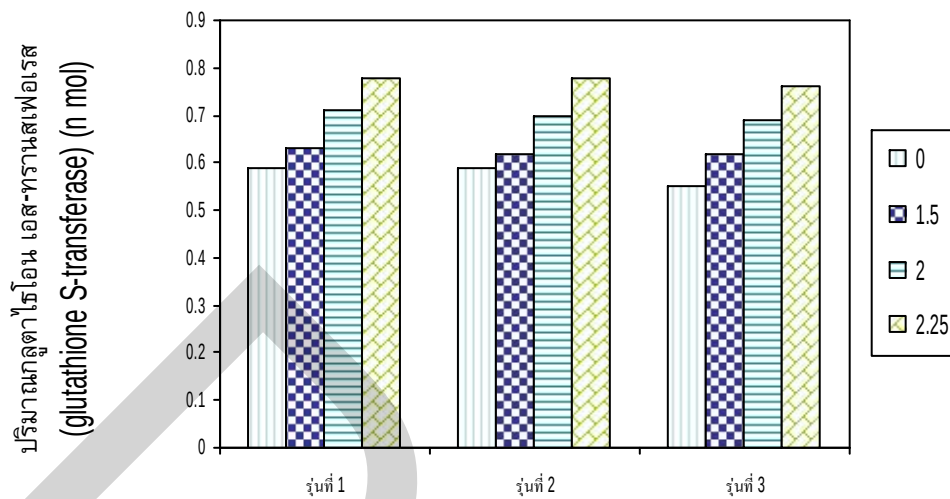
เมื่อนำกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) มาวิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ความเข้มข้นเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน⁽¹⁾ ของกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) หนอนไผ่ผักที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น % (w/v)	ปริมาณ glutathione S-transferase เฉลี่ย (n mole) ⁽²⁾		
	รุ่นที่ 1	รุ่นที่ 2	รุ่นที่ 3
0.00	0.59 ^a $\pm$ 0.03	0.59 ^a $\pm$ 0.06	0.55 ^a $\pm$ 0.06
1.50	0.63 ^{ab} $\pm$ 0.04	0.62 ^{ab} $\pm$ 0.01	0.62 ^{ab} $\pm$ 0.02
2.00	0.71 ^{bc} $\pm$ 0.09	0.70 ^{bc} $\pm$ 0.02	0.69 ^{bc} $\pm$ 0.04
2.25	0.78 ^c $\pm$ 0.08	0.78 ^c $\pm$ 0.09	0.76 ^c $\pm$ 0.02

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ปริมาณจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ที่วัดได้จากการทดสอบด้วยความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ 3 ระดับๆ 3 ชั่วโมงในหนอนไผ่ผักที่มีชีวิต

⁽²⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวดิ่งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

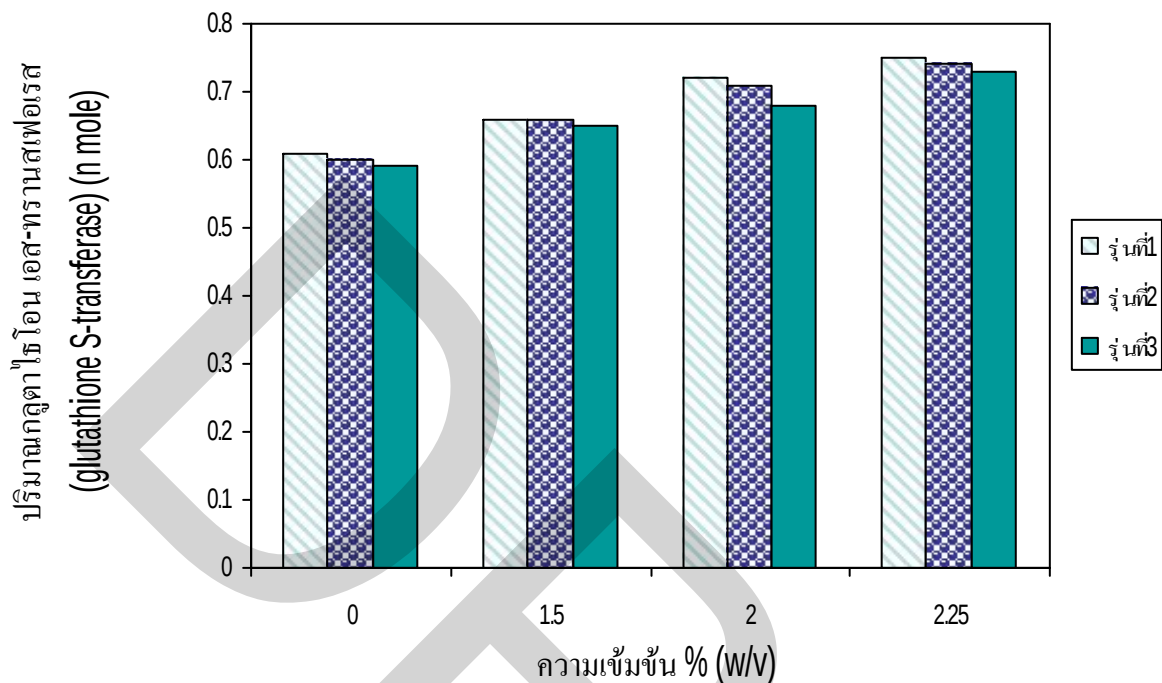


ภาพที่ 29 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ฝักที่เลี้ยงด้วยคะน้ำขุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ฝัก รุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้ำขุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

หนอนไผ่ฝัก (รุ่น)	ปริมาณ glutathione S-transferase เฉลี่ย (n mole) ⁽¹⁾			
	0.00% (w/v)	1.50% (w/v)	2.00% (w/v)	2.25% (w/v)
1	0.59 ^a ± 0.03	0.63 ^a ± 0.04	0.71 ^a ± 0.09	0.78 ^a ± 0.08
2	0.59 ^a ± 0.06	0.62 ^a ± 0.01	0.70 ^a ± 0.02	0.78 ^a ± 0.09
3	0.55 ^a ± 0.06	0.62 ^a ± 0.02	0.69 ^a ± 0.04	0.76 ^a ± 0.02

หมายเหตุ ⁽¹⁾ ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)



ภาพที่ 30 ฮิสโตแกรมเปรียบเทียบระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ฝักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

การศึกษารสของสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่ฝัก พบว่าสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ที่มีผลทำให้ระดับเอนไซม์ทำลายพิษ คือ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนไผ่ฝักมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น

จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยระดับเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้น 0.00, 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) ตามลำดับ (ภาพที่ 29) การที่กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ เพราะ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นเอนไซม์เกี่ยวกับกระบวนการทำลายสารพิษ หรือสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระยะที่ 2 โดยจะไปเร่งปฏิกิริยาการรวมกันของกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) กับสารพิษที่เข้ามาในร่างกาย

เพื่อให้มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีขึ้นเพื่อขับออกจากร่างกาย (Chasscaud, 1979) ดังนั้นเมื่อ หนอนใยผักได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ ซึ่งก็คือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย จึงมีการสร้างกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เพิ่มขึ้นเพื่อทำลาย พิษ จากผลการศึกษาสอดคล้องกับผลงานของ Walls, Rock and Dauterman (1983) คือ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นเอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดการต้านทานของแมลงต่อสารในกลุ่ม Organophosphate โดยพบว่า กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) จะเร่งปฏิกิริยาการรวมตัวของสารเคมีในกลุ่ม Organophosphate กับ Glutathione (GSH) ให้เกิดสารชนิดใหม่ที่สามารถละลายน้ำได้มากขึ้น เพื่อง่ายแก่การกำจัด

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ซึ่งเป็นสารสกัดจากพืช มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษ คือ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยพบว่าเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น Yu (1983, 1984) ได้กล่าวว่าแมลงได้รับสารสกัดจากพืชจะทำให้แมลงมีการสร้างเอนไซม์ทำลายพิษ คือ กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นต้น ในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อทำลายพิษจากสารสกัดจากพืชซึ่งเป็นสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายให้มีความเป็นพิษน้อยลงหรือไม่มีพิษเลย และการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในแมลงแต่ละชนิดต่อสารพิษในระดับที่แตกต่างกัน หรือในแมลงชนิดเดียวกันถ้าได้รับสารพิษคนละชนิดการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษก็จะแตกต่างกันด้วย (Rose, 1985; Rose and Terier, 1980)

ในการศึกษาเอนไซม์ของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของหนอนใยผักต่อสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ จากผลการทดลองพบว่า กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใยผักทั้ง 3 รุ่น ไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 30) การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดจะใช้เวลาแตกต่างกัน และพบว่าสารเคมีในกลุ่ม Pyrethroid เป็นสารเคมีที่แมลงสร้างความต้านทานได้เร็วที่สุด คือ 2 ปี การสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัดต้องใช้เวลาหลายรุ่น (Generation) เพราะการสร้างเอนไซม์ถูกควบคุมโดยยีนบนโครโมโซมคู่ที่ 2 (Metcalf, 1989) และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไป ซึ่งจะมีผลทำให้แมลงมีความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ในการป้องกันกำจัด (Visetson, 1992) ดังนั้นผลการศึกษาก็ยังสรุปไม่ได้ว่าหนอนใยผักไม่สามารถสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกกว่านหางจระเข้ แต่จะไม่มีเปลี่ยนแปลงในระยะเวลาอันสั้น

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในการควบคุมหนอนใยผักสรุปผลได้ดังนี้

5.1.1 ผลการสกัดสารแอนทราควิโนน (anthraquinone) จากเปลือกว่านหางจระเข้ พบว่าการสกัดโดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายมีปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) 27.38 เปอร์เซ็นต์ (w/w) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดโดยให้ปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) มากกว่าการสกัดด้วยวิธีการหมัก (fermentation) โดยใช้เอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลาย 6 เท่า คือมีปริมาณแอนทราควิโนน (Anthraquinone) เพียง 4.56 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และจะนำสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ไปทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักต่อไป

5.1.2 จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่สกัดโดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย ในการไล่หนอนใยผักระยะที่ 2 พบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การไล่ที่ 5 ชั่วโมง โดยผลการทดสอบที่ความเข้มข้น 1.0, 2.0, 3.0 % w/v อยู่ในระดับ 3 คือประสิทธิภาพในการไล่ (Repellency rate) เท่ากับ 40.1-60 % และที่ความเข้มข้น 4.0 และ 5.0 % w/v อยู่ในระดับ 4 คือประสิทธิภาพในการไล่ (Repellency rate) เท่ากับ 60.1-80 % และประสิทธิภาพในการไล่หนอนใยผักจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น และเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น

5.1.3 จากผลการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่สกัดโดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย ในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักระยะที่ 2 ตรวจวัดพื้นที่การกินอาหารของหนอนใยผักพบว่าความเข้มข้น 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, และ 5.00% (w/v) พบดัชนีการยับยั้งการกิน (Antifeedant index ; AFI) มีค่า 15.01, 36.36, 53.36, 64.82 และ 82.60 %ตามลำดับ และมีค่า AFI₅₀ เท่ากับ 2.97 % และประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของหนอนใยผักที่เวลา 24 ชม. จะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น

5.1.4 จากผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 0.01, 0.025, 0.05, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75 และ 3.00% (w/v) ที่สกัดโดยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ซึ่งมีเอทานอล

(ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย พบเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผักที่ 72 ชม. คือ 3.45, 6.90, 6.90, 10.34, 13.79, 20.69, 24.14, 27.58, 34.48, 44.83, 51.73, 62.07, 82.76 และ 100% ตามลำดับ และมี LC_{50} คือ 1.83%

5.1.5 จากผลการศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนใยผักรุ่นที่ 1 รุ่นที่ 2 และรุ่นที่ 3 ที่เลี้ยงด้วยคะน้าซุบสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีการสกัดซอกซ์เลต ซึ่งมีเอทานอล (ethanol) 95% เป็นตัวทำละลาย ที่ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) และตรวจวัดปริมาณ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) พบปริมาณ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น โดยพบปริมาณเอสเทอเรส (esterase) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นประมาณ 40, 80 และ 90% ที่ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) ตามลำดับ ส่วนกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น โดยพบปริมาณกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นประมาณ 10, 20 และ 20 % ที่ความเข้มข้น 1.50, 2.00 และ 2.25% (w/v) ตามลำดับ และพบว่าพบวาระดับ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ของหนอนใยผักทั้ง 3 รุ่นไม่แตกต่างกัน และแนวโน้มในการสร้างความต้านทานของหนอนใยผักในแต่ละรุ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าหนอนใยผักไม่สามารถสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

5.1.6 จากการศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ต่อการควบคุมหนอนใยผักนั้น พบว่าสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้สามารถไล่ ยับยั้งการกินอาหาร และฆ่าหนอนใยผักได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งแนวโน้มของระดับเอนไซม์ทำลายพิษไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งจะทำให้การสร้างความต้านทานสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในหนอนใยผักไม่สามารถเกิดได้ในระยะเวลานั้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการทดลองเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้โดยวิธีอื่น และควรจะใช้ตัวทำละลายหลายชนิดในการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ เพื่อหาวิธีการสกัด และตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารจากเปลือกว่านหางจระเข้ไปใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก และแมลงศัตรูพืช

5.2.2 ควรตรวจวิเคราะห์หาสารทุติยภูมิตัวอื่นๆในเปลือกว่านหางจระเข้ที่สามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมหนอนใยผักได้ หรือทำการแยกสารทุติยภูมิแต่ละชนิดให้บริสุทธิ์รวมทั้งแอนทราควิโนน (Anthraquinone) แล้วนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักเพื่อเปรียบเทียบหาสารที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

5.2.3 เนื่องจากการทดลองครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นจึงควรมีการนำสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ไปทดสอบในพื้นที่จริง โดยทดลองฉีดพ่นในแปลงผักชนิดต่างๆ เพื่อจะได้ทราบว่าสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้สามารถป้องกันกำจัดหนอนใยผักในสภาพธรรมชาติ และคุ้มต้นทุนในการที่เกษตรกรจะนำไปใช้หรือไม่

5.2.4 ควรมีการทดลองกับแมลงศัตรูพืชอื่นๆ และศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้มีผลต่อระยะใดระยะหนึ่งของวงจรชีวิต เช่น การวางไข่ การเป็นตัวหนอน การเข้าดักแด้ การลอกคราบ เป็นต้น และดูผลของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่มีต่อระดับเอนไซม์ทำลายพิษของแมลงในระยะยาว เพื่อดูแนวโน้มการต้านทานของแมลงต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้

5.2.5 ในการศึกษาในระดับเอนไซม์ของหนอนใยผัก เมื่อได้รับสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ ควรมีการศึกษาในหนอนใยผักอีกหลายๆ รุ่น เพื่อดูว่าหนอนใยผักมีการต้านทานต่อสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้หรือไม่ และทำการศึกษาปฏิกิริยากลไกการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ในหนอนใยผัก

5.2.6 ควรมีการทดลองผสมสารเสริมฤทธิ์ (Synergists) ในแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกว่านหางจระเข้ที่ใช้ทดสอบ เพื่อศึกษาหาผลของสารเสริมฤทธิ์ ต่ออัตราการตาย และการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) ในหนอนใยผักด้วย

บรรณานุกรม

- กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์, วินัย รัชตปกรณ์ชัย และอนันต์ วัฒนธัญกรรม. 2517. การศึกษาป้องกันและกำจัดหนอนผีเสื้อผักตระกูลกะหล่ำและการทดลองยาฆ่าแมลงบางชนิดในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักและหนอนผีเสื้ออื่นๆ กับผักกาดในไร่. รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ปี 2517. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.
- กอบเกียรติ์ บันสิทธิ์. 2536. ประวัติการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแมลงในสวนผัก. *กัญและสัตววิทยา*. 15(1): 58-62.
- กฤษณันท์ เต็มบุญเกียรติ. 2530. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดที่มีต่อหนอนใยผัก *Plutella xylostella* L. และเพลี้ยอ่อนถั่ว *Apis craccivora* Koch. สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เกรียงไกร จำเริญมา, เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์. 2540. ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดากับหนอนกระทู้หอม. *กัญและสัตววิทยา* 19 (2): 78-88.
- จันทร์ทิพย์ ชำรงศรีสกุล. 2535. ปัญหาและการลดอันตรายจากสารพิษทางการเกษตร. *ข่าวสารวัดภูมิพิษ*. 19(2): 71-72.
- ชัชวาล เรืองประพันธ์. สถิติพื้นฐาน. ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์พระธรรมขันธ์, ขอนแก่น.
- ชัยวัฒน์ จิระธรรมจารี, อารมณ แสงวนิชย์, อุดมลักษณ์ อุ่ณจิตต์วรรณะ, มานะ สุวรรณรักษ์ และวินัย รัชตปกรณ์ชัย. 2535. วิจัยคุณสมบัติสารสกัดจากดอกกรักกับหนอนใยผัก. *เอกสารรายงานการวิจัย ปี 2534*. กองวัดภูมิพิษ กรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว, ชีระยุทะ กลิ่นสุคนธ์ และปัญญา เต็มเจริญ. 2539. หลักการทางพิษวิทยา. ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แสงเดือน, กรุงเทพฯ.
- ณัฐพงษ์ แดงหนู, ศิริพรรณ ตันตาคม. 2549. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเทียมในการเป็นสารไล่หนอนกระทู้ผัก. *วิทยาสารกำแพงแสน* 4 (1): 1-7.
- ทิตยา จิตติहरรักษา. 2532. การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลง. *วารสารวิชาการเกษตร* 7 (1-3): 92-98.

- นาริรัตน์ รุกขไชยศิริกุล, ลัดดา เบญจพรกุลนิจ, จารุณี รุกขไชยศิริกุล, สุไกร เพิ่มคำ, พิมพ์จิต ตามพวรรณ, พิเชษฐ์ วิริยจิตรา. 2526. สารฆ่าหนอนกระทุ้งจากไฟล. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 5 (4): 353-358.
- นุชนาฏ กิจเจริญ. 2549. อาหารสมุนไพรขยายชนิดกระตุ้นลำไส้ใหญ่. ไทยเกษตรศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ 1 (2): 159-169.
- ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, จารี เกียรติสุพิมล, อนันต์ วัฒนธัญกรรม, วินัย รัชตปกรณชัย และเสรี ทองมาก. 2530. การศึกษาประสิทธิภาพของแตนเบียนไข่และการใช้สารฆ่าแมลงบางชนิดในการควบคุมการระบาดของหนอนไผ่. รายงานการค้นคว้าและวิจัย ปี 2530. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, วินัย รัชตปกรณชัย, ไชยวัฒน์ วัฒนชัย, สถิติ ปฐมรัตน์ และอนัน วัฒนธัญกรรม. 2531. การศึกษาความสามารถของแตนเบียนไข่ในการควบคุมการระบาดของหนอนไผ่. รายงานการค้นคว้าและการวิจัย ปี 2531. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พรรณเพ็ญ ชโยภาส. 2539. การตรวจความต้านทานสารฆ่าแมลงด้วยวิธีการต่างๆ. วารสารกัญและสัตววิทยา. 18(2): 115-123.
- พรพิมล นันทะ, จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์, สถิติ ปฐมรัตน์, รัตนา นชะพงษ์ และรุจ มรกต. 2534. รายชื่อแมลงศัตรูธรรมชาติของพืชเศรษฐกิจบางชนิดในประเทศไทย. เอกสารการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พิสมัย ขวลิตพงษ์. 2538. แนวทางการบริหารหนอนไผ่. กัญและสัตววิทยา. 17(1): 43-46.
- พิสิทธิ์ เสพสวัสดิ์, วิชุดา นิธิอุทัย และอรนุช กองกาญจนะ. 2516. ชีวิตประวัติของแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ. วิทยาศาสตร์เกษตร. 6: 523-542.
- เพียว เหมือนวงษ์ญาติ. 2529. สมุนไพรแก้วใหม่. สามัคคีสาร. 12(5): 90-91.
- มัญญา เพียรเจริญ. 2539. ผลของสารสกัดจากใบสาบเสือ *Chromolaena odorata* (L.) ต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์กำจัดพิษของหนอนไผ่ *Plutella xylostella* L. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- มยุรา สุนย์วีระ. 2536. บทปฏิบัติการกัญวิทยาทางการเกษตร. ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์พัชร, กรุงเทพฯ.

- รติยา คุเขตพิทักษ์วงศ์, สังวาล สมบูรณ์, สุภาณี พิมพ์สมาน, วชิร คุณกิตติ. 2546. การเปรียบเทียบปริมาณสาร *azadirachtin* และฤทธิ์การยับยั้งการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามชนิดต่อหนอนใยผัก. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น 8 (2): 11-16.
- วินัย รัชตปกรณชัย. 2535. แมลงศัตรูผักตระกูลกะหล่ำและแนวบริหาร. แมลงและ สัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร. 11(4): 142-143.
- ศิริพรรณ ตันตาคม, นันทิยา จิตธรรมมา, บุญฤทธิ์ สายัมพล, สุรัตน์ดี จิระจินดา, ธรรมศักดิ์ ทองเกตุ. 2550. ประสิทธิภาพในการเป็นสารไล่หนอนกระทู้ผักของน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส. วิทยาศาสตร์การเกษตร 5 (1): 30-35.
- สุภาณี พิมพ์สมาน, รัตนภรณ์ พรหมศรีทศา, สังวาล สมบูรณ์. 2546. การประชุมวิชาการ อารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 6. (งานประชุมวิชาการ).
- สุรพล วิเศษสรรค์ มนูญญา เพียรเจริญ และธารี วัฒนสมบัติ. “ผลของสารสกัดจากใบสาบเสือ (*Chromolaena odorata*) และเหง้าข่า (*Alpinia galanga* Stuntz) ต่อระดับเอนไซม์ทำลายพิษในหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.)” ในรายงานการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5 เรื่อง อารักขาพืช: ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก. 55-61 กรุงเทพมหานคร : สมาคมคนไทย-ผู้ประกอบการธุรกิจสารเคมีเกษตร/สมาคมอารักขาพืชไทย/สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย, 2544.
- สุรพล วิเศษสรรค์. และเรวดี ชูช่วย 2542. ประสิทธิภาพของสารสกัดจากตะไคร้หอม และสะเดากับการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ทำลายพิษในเห็บสนัข รายงานผลการวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย. การประชุมวิชาการประจำปี โครงการ BRT ครั้งที่ 3. 11-14 ตุลาคม 2542 หาดใหญ่ สงขลา หน้า 847-851.
- อดุลย์ รัตนมันเกษม. 2537. วานหางจะเข้ตำหรับแพทย์จีนฉบับปรับปรุง. นานมี บุ๊คส์, กรุงเทพฯ.
- อารมณ แสงวนิชย์, ชัยพัฒน์ จิระธรรมาริ, อุดมลักษณ์ อุ่นจิตต์วรรณะ, มานะ สุวรรณรักษ์ และวินัย รัชตปกรณชัย. 2535. วิจัยคุณสมบัติของสารสกัดจากดอกยี่โถกับหนอนใยผัก. เอกสารรายงานวิจัย ปี 2534. กองวัดภูมิพิษ กรมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- Abivardi C., G Benz. 1984. Test wiht the extracts of 21 medicinal plants for antifeedant activity against larvae of *Pieris barssicae* L.(Lep.,pieridae).. **Bull Soc Entomol Swisse** 57: 383-392.
- Ankersmit, G.W. 1953. DDT-resistance in *Plutella maculipennis* (Curt) (Irp.) in Java. **Bull. Entomol. Res.** 44: 421-426.
- Antraquinone Fact Sheet. 1998. U.S.Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs.
- Arkhipov, G.E. 1980. The cabbage moth. **Rev. Appl. Entomol. Ser A.** 69: 391.
- Booth, J., Boyl, E. and and P. Sims. 1961. An enzyme from rat liver catalyzing conjugation with glutathione. **Biochem. J.** 79: 516-524.
- Chasseaud, L.F. 1979. The role of glutathione s-transferase in the metabolism of chemical Carcinogens and other eletrophilic agents. **Adv. Cancer Res.** 29: 175-274.
- C.H., kao, Motoyama N, Dauterman W.C. 1984. Studieson hydrolysis in various house fly strains and their role in Malathion resistance. **Pestic.Biochem.Physiol** 22: 86-92.
- Cohen, Sverdlov, E. and Wool. 1977. Expression of esterase during ontogenesis of the flour beetle *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae: Coleoptera). **Biochem. Genet.** 15: 253-264.
- Dauterman, W.C. and E. Hodgson. 1978. Biochemistry of insect. **Detoxication mechanism in insect.** Academic Press: New York.
- Dauterman, W.C. 1983. Role of hydrolase and glutathione-S-transferase in pest resistance to pesticides (end. G.P. Georghion aned T. Saito) Plenum Press, New York and London ,1994.
- Du.H., R.A. Fuh, J. Li, A. Corkan, J.S. Lindsey. 1998. photochemCAD : A computer-aided design and research tool in photochemistry. **Photochemistry a d photobiology** 68: 141-142.
- Fahmy, A. R., Sinchaisri, N. and T. Miyata. 1991. Development of chlofluazuron resistance and Patten of cross-resistance in diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Pestic. Sci.** 16: 665-672.

- Feng, R., W. Chen and M. B. Isman. 1995. Synergism of malathion and inhibition of midgut esterase activities by an extract from *Melia toosendan* (Meliaceae). **Pest.Biochem. And Physiol.** 53 : 34-41.
- Finney, D.J. 1971. Statistical Methods in Biological Assay. 2nd ed. Charls Griffin and Company Limited, London. 365 p.
- H.A., Rose, Terriere L.C. 1980. Microsomal oxidase activity of tree blowfly species and its induction by phenobarbital an p-naphthoflavone.. **Pestic.Biochem.Physiol.** 20: 238-245.
- Hama, H. and Hoboda. 1983. High aliesterase activity and low acetylcholinesterase sensitivity Involved in organophosphorus and carbamate resistance of the brown planthoper *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae). **Appl. Ent. Zool.** 18: 475-485.
- Harcout, D.G. 1968. The development and use of life tabkes in the study of natural insect populatin. **Ann. Rev. Entomol.** 14: 175-196.
- Huang, Zhen, Fu Chak Zhou, Di Xu, M. Afzal, M.Hamid Bashir, Shaukat Ali, Shoaib Freed. 2008. Antifeedant activities of secondary Metabolites from AJUGA NIPPONENSIS against Plutella xylostella. **Pak.J.Bot** 40 (5): 1983-1992.
- Hyde V.D., J.R.C Saxena, H. Schmutterer. 1985. Effects of neem, derivatives on growth and fecundity of the rice pest Nephotettix virescens (Homoptera:Cicadellidae). **Z.Pflanzenkr Pflanzenschutz** 92 (4): 346-354.
- Jakoby, W.E. 1978. The glutathione s-transferase: A group of multifunction detoxification Proteins. **Adv. Enzymol. Relat. Area. Mol. Biol.** 46: 383-414.
- Jilani.G, H.C.F. Su. 1983. Laboratory studies on several plant materials as insect repellents for protection of cereal grains. **J.Econ.Entomol.** 76 (1): 154-157.
- Juvik.A.J, A.M. stevens. 1982. Survey of Genus Lycopersicon for variability in alpha tomatine content. **Hort. Sci.** 17 (5): 764-766.
- Kao, C.H. and Sun. 1995. In vitro degradation of some organophosphorus insecticides by Susceptible and resistant diamondback moth. **Pestic. Biochem. Physiol.** 41: 134-141.
- Konno T., Kasai Y, Rose R.L., Hodgson E, Dauterman W.C. 1990. Purification and characterization of phosphotriester hydrolase form methyl parathion-resistant *Heliothis virescens*. **Pestic.Biochem.Physiol.** 36: 1-13.

- Liu, M.Y., Tzeng, Y.J. and Sun. 1982. Insecticide resistance in the diamondback moth. **J. Econ. Entomol.** 12(2): 32-38.
- Lowly, H.O., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. of Bio. Chem.** 193: 265-275.
- Mackness, M., Walker, I.C.H., Rowland, D.G. and N.R. Price. 1983. Esterase activity in Homogenates of three strains of the rust red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). **Comp. Biochem. And Physiol.** 74(1): 65-68.
- Mansour.F.A., K.R.S. Ascher. 1984. Effect of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts from different solvents on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. Proc. 2nd Int Neem Conf Rauischholzhausen 1983. 461-470
- Mariappan.V, Saxena RC. 1984. Effect of Mixtures of Custard-Apple *Annona-Squamosa* Oil and Neem *Azadirachta-Indica* Oil on Survival of *Nephotettix-Virescens* Homoptera Cicadellidae and on Rice Tungro Virus Transmission. **Journal of Economic Entomology** 77: 519-521.
- McDonald L.L, Guy R.H, Speirs R.D. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents and attractants against stored product insect. **Marketing Research Report** (882):
- Motoyama N. and W.C. Dauterma. 1980. Glutathione S-transferase: Their role in the Metabolism of organophosphat insecticides. **Rev. Biochem. Toxicol.** 2: 49-69.
- Neungpanich, Sinchaisri, Dumre Roongsook, Sutharm Areekul. 1988. Botanical Repellent Against the Diamondback Moth, *Plutella xylostella* L.. **Kasetsart Journal** 22: 71-74.
- Perng, F.S. and C.N. Sun. 1987. Susceptibility of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) Resistance to conventional insecticide chitin synthesis inhibitor. **J. Econ. Ent.** 80: 29-31.
- Reed.D., K. Warthen, J.D. Jf, Uebel E.E, Reed G.L. 1982. Effect of two-triterpenoids from neem on feeding by Cucumber beetles, Coleoptera: Chrysomelidae. **Journal of Economic Entomology** 75: 1109-1113.
- Rejesus, B.M., Maini, H.A., Ocampo, V.R., Dayrit, F.M., and E.G. Quintana. 1993. Insecticidal Actions of several philippine with emphasis on *Vitex negundo* L. **The Philippine _Agriculturist**. 76(4): 355-371.

- R.L., Metcalf. 1989. Insect resistance to insecticides. **Pestic.Sci.** 26: 333-358.
- Rose, H.A. and B.E. Wallbank. 1986. Mixed-function oxidase and glutathione S-transferase Activity in a susceptible and a fenitrothion resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Cucujidae). **J. Econ. Ent.** 79: 896-899.
- Satpathi, C.R. 1993. Biology of diamondback moth *Plutella xylostella* (L.) **Rev. of Agr. Entomol.** 81(12): 1341.
- Shelton, A.M., Robertson, J.L., Tang, J.D., Perez, C., Eigenbrode, S.D., Perisler, H.K., Wilsey, W.T. and R.J. Colley. 1993. Resistance of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) *Bacillus thuringiensis* subspecies in the field. **J. Econ. Ent.** 86(3): 697-705
- Schmutterer, H. 1992. **Neem : A tree for solving global problems.** National Academic Press, Washington, D.C..
- Stepanova, L.A. 1962. An experiment in the ecological analysis of the condition of the development of pests of cruciferous vegetable crop in nature **Rev. Appl. Entomol. Ser. A.** 53:172.
- Sudderudin, K.I. and P.K.Kok. 1978. Insecticide resistance in *Plutella xylostella* collected from the Cameron Highlands of Malaysia. **Plant. Prot. Bull.** 26: 37-53.
- Tabashnik, B.E., Finson, N., Johnson, M.W. and D.G. Heckle. 1995. Prolonged selection affects stability of resistance to *Bacillus thuringiensis* in diamondback moth (Lepidoptera: plutellidae). **J. Econ. Ent.** 88(2): 219-224.
- Talukder F.A, Howse P.E. 1995. Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. **Journal of Stored Products Research.** 31 (1): 55-61.
- Todd, D.H. 1959. Incidence and parasitism of insect pests of cruciferous crops in the North island, 1955-1958 seasons, New Zealand. **J. Agr. Res.** 2: 613-622.
- Visetson, S. 1991. Insecticide resistance mechanism in the rust red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). **Phytochemistry** 13: 284-285.
- Visetson, S. and M. Milne. "Effects of root extract from derris (*Derris elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* Linn.)". **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** 35 (2001): 157-163.

- Wada K., K Munakata. 1971. Insect feeding inhibitors in plants III. Feeding inhibitory activity of terpenoids in plants. **Agricultural Biological Chemistry** 35: 115-118.
- Waller, G.R., S. Mangiafico, C.R. Ritchey. 1978. A Chemistry investigation of *Aloe Barbadensis* MILLER. **Proc.Okla.Acad.Sci** 58: 69-76.
- Yu, S.J. 1983. Induction of detoxifying enzymes by allelochemicals and host plant in the fall armyworm. **Pestic. Biochem. Physiol.** 12:330-336.
- Yu, S.J. 1984. Interaction of allelochemical with detoxification enzymes of insecticides susceptible and resistance fall armyworm. **Pestic. Biochem. Physiol.** 14:275-281.
- Yu, S.J. and E.L.Hsu. 1985. Induction of hydrolases by allelochemicals and host plants in fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) larvae. **Environ. Ent.** 14:512-515.
- Yu, S.J. and S.N. Nguyen. 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide Resistance in diamondback moth. **Pestic. Biochem. Physiol.** 44: 74-81.

PSU

ภาคผนวก

การตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่

1) การเตรียมสารเคมีในการสกัดเอนไซม์

1.1 การเตรียม Potassium dihydrogen orthophosphate buffer (KH_2PO_4) 0.1 M ปริมาตร 1 ลิตร

- ชั่ง KH_2PO_4 13.609 กรัม
- ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

1.2 การเตรียม EDTA 0.001 M ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

- ชั่ง EDTA 0.0046 กรัม
- ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

1.3 การเตรียม Potassium dihydrogen orthophosphate buffer (KH_2PO_4) 0.1 M ปริมาตร 500 มิลลิลิตร pH 7.0 และ pH 7.5

- นำ EDTA 0.001 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมลงใน Potassium phosphate buffer 0.1 M ปริมาตร 1 ลิตร คนให้เข้ากัน
- นำมาปรับ pH 7 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร และ pH 7.5 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

1.4 การเตรียมสารละลาย Glutathione reduced form 0.01 M ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

- ชั่ง Glutathione reduced form 1.563 กรัม ละลายด้วย EDTA 0.001 M ใน Potassium phosphate buffer 0.1 M pH 7 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร สารละลายนี้ควรใช้ที่เตรียมเสร็จใหม่ ๆ วันต่อวัน

1.5 การเตรียม Polyvinylpyrrolidone (PVPP)

- ชั่ง Polyvinylpyrrolidone (PVPP) 0.25 กรัม

1.6 การเตรียม Paranitrophenyl acetate (PNPA)

- ชั่ง Paranitrophenyl acetate (PNPA) 0.12 กรัม ใส่ใน 100% เอทานอล 5 มิลลิลิตร

1.7 การเตรียม Chlorodinitrobenzene (CDNB)

- ชั่ง Chlorodinitrobenzene (CDNB) 0.152 กรัม ใส่ใน 100% เอทานอล 5 มิลลิลิตร

2) การสกัดเอนไซม์จากหนอนไผ่

2.1 ชั่งหนอนไผ่ระยะที่ 4 ที่ทดสอบด้วยใบผักคะน้าชุปสารสกัดจากเปลือกกว่านหาง จระเข้ 0.5 กรัม ใส่ลงในโถรงบดที่แช่เย็น

2.2 ล้างตัวอย่างด้วย 0.1 M Potassium dihydrogen orthophosphate buffer pH 7.5

2.3 ทำการบดหนอนไผ่โดยใช้ GSH-reduced form 0.01 M ประมาณ 2 - 3 มิลลิลิตรและ Polyvinylpyrrolidone (PVPP) 0.25 กรัม บดจนละเอียด

2.4 กรองสารละลายที่ได้ด้วยผ้าขาวบางสะอาด 5 - 6 ชั้นใส่ใน Centrifuge tube ปรับน้ำหนักด้วยสารละลาย GSH-reduced form 0.01 M

2.5 นำไปเหวี่ยงปั่นแยกด้วยเครื่อง Centrifuge ที่ 10, 000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 4 นาที

2.6 ดูดส่วนใสของเอนไซม์ที่สกัดได้ใส่ใน Centrifuge tube เพื่อนำไปตรวจวัดระดับ เอสเทอเรส (esterase) และกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ทุกขั้นตอนทำภายใต้อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

3) การตรวจวัดระดับเอนไซม์ทำลายพิษของหนอนไผ่

3.1 การวัดระดับเอสเทอเรส (esterase) โดยวิธี PNPA assay ของ Mackness และคณะ (1983)

การตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงของ Paranitrophenol โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Hydrolysis ของ Paranitrophenyl acetate (PNPA) เปลี่ยนเป็น Paranitrophenol โดยมีเอสเทอเรส (esterase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Mackness et al., 1938)

หลอด Blank

- Potassium dihydrogen orthophosphate buffer 0.1 M pH 7.5 2.9 มิลลิลิตร
- PNPA 50 ไมโครลิตร
- สารละลาย GSH- reduced form 0.01 M 50 ไมโครลิตร

หลอดตัวอย่าง

- Potassium dihydrogen orthophosphate buffer 0.1 M pH 7.5 2.9 มิลลิลิตร
- PNPA 50 ไมโครลิตร
- เอนไซม์ 50 ไมโครลิตร

3.2 การวิเคราะห์เอสเทอเรส (esterase)

Paranitrophenol produced = $OD / \text{min} \times 58.8235 \times \text{total volume of assay}$

แทนค่า OD / min ได้จากการวัดจากเครื่อง spectrophotometer ด้วย A

และปริมาตรรวมที่ใช้วิเคราะห์เอนไซม์ = 3.0

ดังนั้นปริมาตรเอนไซม์ที่วัดได้ = $A \times 58.8253 \times 3.0 \text{ n mole}$

3.3 การวัดระดับกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase)

โดยวิธี CDNB assay ของ Booth และคณะ (1961)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของ Chloromononitrobenzene โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยา Conjugation ของ Chlorodinitrobenzene (CDNB) กับ Glutathione โดยมีกลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Booth et al., 1961)

หลอด Blank

- Potassium dihydrogen orthophosphate buffer 0.1 M pH 7.5 2.15 มิลลิลิตร
- CDNB 10 ไมโครลิตร
- สารละลาย Glutathione reduced form 0.9 M 20 ไมโครลิตร

หลอดตัวอย่าง

- Potassium dihydrogen orthophosphate buffer 0.1 M pH 7.5 2.15 มิลลิลิตร
- CDNB 10 ไมโครลิตร
- เอนไซม์ 20 ไมโครลิตร

3.4 การวิเคราะห์กลูตาไธโอน เอส-ทรานสเฟอเรส (glutathione S-transferase)

CDNB product = $OD / \text{min} \times 1.31 / 9.6 \times 1000$

แทนค่า OD / min ได้จากการวัดจากเครื่อง Spectrophotometer ด้วย B

ดังนั้นปริมาตรเอนไซม์ที่วัดได้ = $B \times 1.31 / 9.6 \times 1000 \text{ n mole}$

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล

ปัทมรสี สุธิรรัตน์

Mrs.PANNARASI SUSIRIRUT

วัน เดือน ปี ที่เกิด

5 มกราคม พ.ศ.2520

สถานที่เกิด

จ.ราชบุรี

คุณวุฒิ

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา

วท.ม.(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตววิทยา

วท.ม.(สัตววิทยา) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน

อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์

สถานที่ทำงานปัจจุบัน

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

ประวัติการได้รับทุน

1. ทุนอุดหนุนและส่งเสริมวิทยานิพนธ์ระดับโทเอกประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2545
จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

2. ทุนวิจัย โครงการผลการวิจัยและประเมินผลโครงการวิจัยเพื่อลดการใช้สารเคมี
ทางการเกษตร ระยะที่ 2 (ปี 2540-2544) จากคณะกรรมการวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กรม
วิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ผลงานวิจัยที่พิมพ์ออกเผยแพร่

1. รายงานผลการวิจัยและประเมินผลโครงการวิจัยเพื่อลดการใช้สารเคมีทาง
การเกษตร ระยะที่ 2 (ปี 2540-2544) เสนอต่อ คณะกรรมการวิจัยวัตถุมีพิษทางการเกษตร กรม
วิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ วันที่ 2 พฤษภาคม พ.ศ.2546

ชื่อ-นามสกุล

ภัทรา พลับเจริญสุข

Miss.PATTRA PLUBCHAROENSOOK

วัน เดือน ปี ที่เกิด

6 เมษายน พ.ศ.2518

สถานที่เกิด

จ.กรุงเทพมหานคร

คุณวุฒิ

วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาชีววิทยา

วท.ม.(ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยศิลปากร

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

วท.ม.(เทคโนโลยีชีวภาพ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตำแหน่ง

อาจารย์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์

สถานที่ทำงาน

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

ประวัติการได้รับทุน

1. ทุนอุดหนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการ

ทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย

ผลงานวิจัยที่พิมพ์ออกเผยแพร่

-