ฤทธิ์ฆ่าแมลงของพืชต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว

Insecticidal Activity of Plants against Aphis craccivora Koch.

สุดารัตน์ หอมหวล *[1], ยุวดี ชูประภาวรรณ [2] และวิรัตน์ จันทร์ตรี [1]

[1]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

[2]คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190

*E-mail: pharmacom888@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงของพืชจำนวน 8 ชนิด คือ ใบน้อยหน่า (Annona squamosa Linn.), ใบและฝักคูน (Cassia fistula Linn.), เมล็ดสลอด (Croton tiglium Linn.), ผลเทียนหยด (Duranta repens Linn.), ส่วนเหนือดินกะเม็ง (Eclipta prostrata Linn.), ส่วนเหนือดินน้ำนมราชสีห์ (Euphorbia hirta Linn.), ใบและผลกันเกรา (Fagraea fragrans Roxb.) และดอกดาวเรือง (Tagetes erecta Linn.) โดยนำผงพืชมาสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน, คลอโรฟอร์ม และเมทานอล นำสารสกัดเมทานอลมาทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อไรทะเล (Artemia salina Leach.) ที่เวลา 6 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อไรทะเล คือ น้อยหน่า ใบกันเกรา กะเม็ง สลอด และเทียนหยด โดยมี LC50 เท่ากับ 3.09, 20.56, 346.74, 518.80 และ 901.57 μg/mL ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว (Aphis craccivora Koch.) ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนถั่วคือ น้อยหน่า สลอด ใบกันเกรา กะเม็ง ฝักคูน น้ำนมราชสีห์ และดาวเรือง โดยมีค่า LC50 เท่ากับ 2,089.30 2,238.72 3,019.95 5,248.07 5,508.08 5,754.40 และ 6,683.44 μg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เหลือไม่เป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว

คำสำคัญ : เพลี้ยอ่อนถั่ว ไรทะเล ฆ่าแมลง น้อยหน่า คูน สลอด เทียนหยด กะเม็ง น้ำนมราชสีห์ กันเกรา ดาวเรือง

Abstract

Insecticidal activity studies were carried out on eight plants, Annona squamosa Linn.(leaf), Cassia fistula Linn.(leaf and pod), Croton tiglium Linn.(seed), Duranta repens Linn.(fruit), Eclipta prostrata Linn.(aerial part), Euphorbia hirta Linn.(aerial part), Fagraea fragrans Roxb.(leaf and fruit), and Tagetes erecta Linn.(flower). The powdered plants were successively extracted with hexane, chloroform, and methanol. The methanolic extracts were screened for insecticidal activity by using brine shrimp (Artemia salina Leach.). The extracts of A. squamosa, F. fragrans (leaves), E. prostrate, C. tiglium, and D. repens exhibited toxicity against brine shrimp with LC50 values of 3.09, 20.56, 346.7, 518.80 and 901.57 μg/mL respectively at the end of 6 h contact time. All methanolic extracts were tested for insecticidal activity using cowpea aphids (Aphis craccivora Koch.). The extracts of A. squamosa, C. tiglium, F. fragrans (leaves), E. prostrata, C. fistula (pod), E. hirta, and T. erecta demonstrated toxicity against aphids with LC50 values of 2,089.30 2,238.72 3,019.95 5,248.07 5,508.08 5,754.40 and 6,683.44 μg/mL respectively at the end of 48 h contact time, whereas the other extracts were inactive.

Keywords : Aphis craccivora, aphid, Artemia salina, brine shrimp, insecticide, pesticide, Annona squamosa, Cassia fistula, Croton tiglium, Duranta repens, Eclipta prostrata, Euphorbia hirta, Fagraea fragrans, Tagetes erecta

1. บทนำ

ประเทศในภูมิภาคลุ่มแม่น้ำโขง ประกอบด้วย ไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนาม จัดเป็นเขตเกษตรกรรม ที่มีการเพาะปลูกพืชผัก และพืชไร่หลายชนิด ทั้งเพื่อการบริโภคภายในครัวเรือน การปลูกเพื่อจำหน่ายภายในประเทศ และเพื่อการส่งออก กลุ่มพืชที่นับว่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจกลุ่มหนึ่ง คือ พืชตระกูลถั่ว ประกอบด้วยกลุ่มพืชผัก ที่สำคัญได้แก่ ถั่วฝักยาว (Vigna unguiculata (L.) Walp.) และพืชไร่ตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเขียว (Vigna radiata L.) Wilczek.) ถั่วลิสง (Arachis hypogaea L.) ถั่วเหลือง (Glycine max)(L.) Merr. เป็นต้น [1] พืชตระกูลถั่วเหล่านี้นับเป็นแหล่งอาหารของทั้งคนและสัตว์ โดยเฉพาะถั่วฝักยาวซึ่งเป็นพืชที่ให้คุณค่าทางอาหารสูง เป็นแหล่งสำคัญของโปรตีน และวิตามิน เนื่องจากถั่วฝักยาวเป็นพืชที่มีการปรับตัวได้ดี และให้ผลผลิตสูง [2] จึงมีการปลูกกันมากทั้งประเทศในภูมิภาคลุ่มน้ำโขง และประเทศเขตร้อนอื่นๆ [3] ถึงแม้ว่าถั่วฝักยาวจะเป็นพืชที่ปลูกได้ง่าย ให้ผลผลิตเร็ว แต่ก็พบการทำลายของแมลงศัตรูพืช ที่สำคัญคือ เพลี้ยอ่อนถั่ว ที่ทำให้เกิดโรคใบด่างจากเชื้อไวรัส ซึ่งทำให้ผลผลิตถั่วฝักยาวลดลงเป็นอย่างมาก

ถั่วเขียว ใช้เป็นวัตถุดิบ ในการผลิตแป้ง วุ้นเส้น เพาะถั่วงอก และประกอบอาหารอื่นๆ ปริมาณความต้องการใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเขียวในประเทศ และส่งออก มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ปัญหา และข้อจำกัดในการผลิตคือ ผลผลิตต่อไร่ต่ำ เนื่องจากต้นทุนการผลิตสูงแล้วยังมีปัญหาการระบาดของโรคและแมลงมาก [4] สำหรับถั่วลิสง จัดอยู่ในกลุ่มพืชที่ผลิตได้ไม่เพียงพอกับความต้องการใช้ภายในประเทศ เพราะถั่วลิสงเป็นพืชอาหารที่บริโภคง่าย เป็นส่วนประกอบอาหารหวานคาวต่างๆ และเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป บางส่วนนำไปสกัดน้ำมันและกากใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ [4] พื้นที่เพาะปลูกทั่วประเทศรวม 448,241 ไร่ โดยมีมูลค่าการส่งออกของถั่วลิสงกะเทาะเปลือก 25,558,000 บาท (634 เมตริกตัน) ในปี พ.ศ. 2548 [5] แมลงศัตรูที่สำคัญคือ เพลี้ยอ่อนถั่ว และหนอนชอนใบ [4]

พืชไร่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง คือ ถั่วเหลือง พบว่าผลผลิตของถั่วเหลืองจากทั่วโลกในปีพ.ศ. 2544 มีประมาณ 177 ล้านตัน ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองอันดับ 10 ของโลก ในปี พ.ศ.2543 ส่งออกในรูปผลิตภัณฑ์มูลค่า 11 ล้านบาท แต่นำเข้าปริมาณ 1.3 ล้านตัน มูลค่า 11,474 ล้านบาท ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกในปี พ.ศ.2544 เนื้อที่ 1.15 ล้านไร่ โดยมีแหล่งปลูกอยู่ทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมันที่สำคัญของโลก เนื่องมาจากสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทั้งบริโภคเมล็ด และน้ำมัน แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร และใช้กากเป็นอาหารสัตว์ ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น สีทาบ้าน ปลาทูน่ากระป๋อง พลาสติก และกาว เป็นเหตุให้ความต้องการใช้ถั่วเหลือง ขยายตัวมาโดยตลอด การผลิตในประเทศยังไม่เพียงพอ และยังมีศัตรูพืชรบกวนมาก ทำให้ผลผลิตลดลง 30-80% [4]

ถึงแม้ว่าพืชตระกูลถั่วเหล่านี้จะเป็นพืชที่มีความต้องการใช้มาก หรือส่งออกสูง แต่ก็ยังพบว่าผลผลิตที่ได้ยังคงมีปริมาณไม่เพียงพอ หรือลดลง ซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ การรบกวนของวัชพืช แมลงศัตรูพืช และเชื้อโรคต่างๆ [6] โดยพบว่าปัญหาการลดลงของผลผลิตทางเศรษฐกิจที่สำคัญเกิดจากแมลงศัตรูพืชทั้งการเข้าทำลายพืชโดยตรง และการเป็นพาหะนำโรคมายังพืช [7] แมลงศัตรูพืชจะเข้ารบกวนหรือทำลายพืชได้ตั้งแต่ระยะเริ่มงอกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต [3]

แมลงศัตรูพืชที่ก่อปัญหาในอันดับต้นๆต่อพืชตระกูลถั่วชนิดต่างๆ คือ เพลี้ยอ่อนถั่ว (Aphis craccivora Koch.) จัดเป็นแมลงประเภทปากดูด (sucking pest) เพลี้ยอ่อนชนิดนี้จะดูดกินน้ำเลี้ยงจากทุกๆ ส่วนของพืช เช่น ลำต้น ใบ ยอด กิ่ง และดอก ตลอดจนฝัก ส่วนมากเกาะรวมกันเป็นกลุ่มตามยอด ก้านชูดอก และใต้ใบ แมลงพวกนี้จะใช้ปากแบบเจาะดูดแทงเข้าไปในเนื้อเยื่อพืช แล้วดูดกินน้ำเลี้ยง ทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชโดยเฉพาะยอด และใบอ่อน มีอาการหงิกงอ และเหี่ยวแห้ง ถ้าทำลายใบจะทำให้สีใบเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีเหลือง และร่วงหล่นไป เมื่อพืชถูกทำลายมากๆ จะชะงักการเจริญเติบโต และตายไปในที่สุด แต่ถ้าการทำลายของเพลี้ยอ่อนมีไม่มากนัก พืชอาจจะเจริญต่อไปได้บ้าง แต่ผลที่ได้รับคือ ฝัก หรือส่วนที่เจริญเติบโตภายหลังจะไม่สมบูรณ์ มีลักษณะแคระแกรน ถ้าหากทำลายที่บริเวณดอก ก็จะทำให้ดอกร่วงหล่นไม่อาจเจริญเติบโตเป็นฝักได้ และเมื่อทำลายฝักฝักจะไม่สมบูรณ์ และหงิกงอ [8]

นอกจากทำความเสียหายโดยตรงแล้ว เพลี้ยอ่อนถั่วยังเป็นพาหะนำโรค (vector) โดยเฉพาะเชื้อไวรัสมาสู่พืชตระกูลถั่ว ทำให้เกิดโรคใบด่าง (Mosaic) เป็นโรคของใบที่สำคัญมากของถั่วฝักยาวที่ปลูกในภาคตะวันออก เฉียงเหนือ และพืชตระกูลถั่วอื่นๆ เกิดจากเชื้อ Cowpea aphid-borne mosaic virus (CAMV) พบทุกฤดูกาล และทุกแหล่งปลูก เชื้อไวรัสที่แพร่มาโดยเพลี้ยอ่อนนี้ยังสามารถทำลาย และอาศัยอยู่บนพืชผักชนิดอื่นๆอีก เช่น ถั่วปากอ้า (Vicia faba L.), ถั่วพุ่ม และถั่วดำ (Vigna sinensis) เป็นต้น [9] นอกจากพืชตระกูลถั่วแล้ว เพลี้ยอ่อนถั่วยังเข้าทำลายพืชผักชนิดอื่นๆอีกหลายชนิด เช่น ผักกาดเขียวปลี (Brassica juncea Coss.), ผักกาดกวางตุ้ง (B. chinensis L.), ผักกาดหัว (Raphanus sativus

L.) รวมทั้ง Spinach และยาสูบ โดยเป็นพาหะแพร่เชื้อ Turnip Mosaic Virus ทำให้พืชเหล่านี้เกิดโรคใบด่าง เพลี้ยอ่อนยังเป็นพาหะนำโรคใบด่างแถบถั่วลิสง (peanut strips virus) ได้ด้วย [1,9]

การควบคุมกำจัดเพลี้ยอ่อนในปัจจุบันมีหลายวิธี เช่น การใช้ยาฆ่าแมลง (insecticides) ที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์การใช้ชีววิธี (biological control) ซึ่งในปัจจุบันถึงแม้ว่าการใช้การควบคุมทางชีวภาพจะทำกันอย่างแพร่หลาย และมีผลกับแมลงหลายชนิด แต่ยังมีประสิทธิภาพไม่ดีนักกับแมลงกลุ่มปากดูด [7] นอกจากนี้ยังมีการใช้สายพันธุ์พืชที่มีความต้านทานต่อแมลง [10,11] แต่ก็พบว่ามีความแปรผันไปตามชนิดของแมลง ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุกรรมของแมลงแต่ละชนิดเป็นสำคัญ [12] รวมทั้งการควบคุมในด้านการเพาะปลูก (Cultural control) เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน (Crop rotation), การปลูกพืชอื่นสลับในแปลง (Trap crops) เป็นต้น ถึงแม้ว่าจะมีการควบคุมกำจัดหลากหลายวิธี แต่การใช้สารเคมีสังเคราะห์ ก็ยังคงมีประสิทธิภาพสูงสุดในการทำลายเพลี้ยอ่อน [3] ทำให้เกษตรกรใช้สารเคมีพ่นฆ่าแมลง เพื่อเพิ่มผลผลิตของพืชกันมาเป็นระยะเวลายาวนาน จากสถิติของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร [5] ได้รายงานปริมาณมูลค่าการนำเข้าของยาปราบศัตรูพืช ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 มีมูลค่า 6,417.46 ล้านบาท และมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกๆปี จนกระทั่งปี พ.ศ. 2549 มีปริมาณมูลค่าการนำเข้าสูงมากถึง 13,018.46 ล้านบาท ซึ่งการใช้สารปราบศัตรูพืชเหล่านี้ นอกจากจะพบปัญหาการดื้อยาของแมลงแล้ว สารเคมียังมีการสะสมอยู่ในธรรมชาติ ดิน น้ำ และสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสลายตัวยาก ทำให้ระบบนิเวศเสียสมดุล ที่สำคัญสารเคมีเหล่านี้จะทำลายสุขภาพของเกษตรกรผู้ใช้ หรือฉีดพ่นยา และผู้บริโภคพืชผักเหล่านั้นจากการได้รับสารตกค้างได้ [13]

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงได้มุ่งพัฒนาสารสกัดจากธรรมชาติ เพื่อเป็นแหล่งใหม่ของสารกำจัดศัตรูพืช ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสารจากธรรมชาติจะมีปัญหาการตกค้างน้อยกว่าสารสังเคราะห์ ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้ยาฆ่าแมลงสังเคราะห์ลงได้ การใช้สารจากธรรมชาติทำให้ปัญหาการดื้อยาของแมลงมีน้อยกว่าสารสังเคราะห์ อีกทั้งปัจจุบันผู้บริโภคหันมาเอาใจใส่ต่อสุขภาพตนเองมาก และความต้องการบริโภคพืชผักปลอดสารพิษมีมากขึ้น จึงมีความสำคัญเป็นอย่างมากที่จะลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในการกำจัดศัตรูพืช จากการทบทวนเอกสารอ้างอิงพบว่ามีพืชจำนวนมากที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงทั้งของไทย และต่างประเทศ สำหรับประเทศไทย มีพืชมากมายที่มีศักยภาพ และมีประวัติการใช้เป็นสารฆ่า และไล่แมลง รวมทั้งเห็บ หมัด แต่พืชที่มีรายงานในการกำจัดเพลี้ยอ่อนถั่ว ยังมีการศึกษาไม่มากนัก การพัฒนาสารใหม่ในการควบคุมเพลี้ยอ่อนที่ได้จากธรรมชาติ รวมทั้งแมลงศัตรูพืชชนิดอื่นๆ จากผลจากการวิจัยจะนำไปสู่การส่งเสริมให้เกษตรกรใช้ อันจะส่งผลต่อสุขภาพอนามัยของเกษตรกร ไม่เจ็บป่วยบ่อยๆ และอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ดีขึ้น นิเวศวิทยาเกิดความสมดุล ตลอดจนประชาชนทั่วไปที่จะได้บริโภคพืชผักปลอดสารพิษ และยังจะเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตผลให้กับเกษตรกรอีกทางหนึ่งด้วย ทำให้ลดต้นทุนในด้านการซื้อยาเคมีสังเคราะห์เพื่อฆ่าแมลง เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นพืชที่มีในท้องถิ่น และหาได้ง่ายทั่วไป ซึ่งเหมาะกับประเทศกำลังพัฒนาในภูมิภาคนี้ และเป็นการส่งเสริมเศรษฐกิจแบบพอเพียงอีกด้วย

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องบดพืช (Fritschi ®)
2. Hot air oven (Heraeues ®)
3. Magnetic stirrer (Heidolph®)
4. Micropipette (Socorex ®)
5. Rotary Evaporator (Buchi ®)
6. Soxhlet apparatus (Buchi ®)
7. Ultrasonic (Bransonic ®)
8. Vacuum Pump (Sartorius®)
9. Vertex-mixer (IKA ®)
10. 96 Well micro plate
11. Microsprayer
12. กรงเลี้ยงแมลง (50x50x100 เซนติเมตร)
13. กระถางต้นไม้ และที่ครอบกระถาง
14. วัสดุเพาะปลูก

สารเคมี

1. Artemia cysts (Red Sea ®)
2. Chloroform (Carlo erba ®)
3. Diethyl mercaptosuccinate, S-ester with O, O-di methyl phosphoro dithioate (Eramol®)
4. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Fluka ®)
5. Hexane (Carlo erba ®)
6. Methanol (Carlo erba ®)
7. Potassium dichromate (Carlo erba ®)
8. Sea salt (Q-sea ®)

3.วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างพืช

นำพืช มาล้างน้ำให้สะอาด และนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C จนกระทั่งพืชแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดเป็นผง เพื่อเตรียมสกัด

3.2 การสกัด

นำผงพืชมาสกัดแบบต่อเนื่อง ด้วยเครื่องสกัด Soxhlet โดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด ตามลำดับความมีขั้ว คือ hexane, chloroform และ methanol นำสารละลายเมทานอล มากรองและนำมาระเหยแห้ง จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ต่อไรทะเล และเพลี้ยอ่อน

3.3 การตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

3.3.1 การทดสอบฤทธิ์สารสกัดต่อไรทะเล [14]

การเตรียมน้ำทะเลเทียม ละลายเกลือทะเลจำนวน 38 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงไรทะเล จนได้ตัวอ่อนระยะ nauplii (48 ชม.ภายหลังการโปรยไข่) เตรียมสารทดสอบ โดยนำสารสกัดพืชที่ได้ ละลายในน้ำทะเลเทียมที่เตรียมไว้จนได้สารละลายใส ใช้ DMSO ช่วยในการละลาย

การทดสอบการเกิดพิษ ใช้ไรทะเลระยะ nauplii ประมาณ 10 ตัวในน้ำทะเลเทียม 50 ไมโครลิตร ใส่สารทดสอบ 200 ไมโครลิตร ต่อ 1 well ทดสอบ ใช้ความเข้มข้นต่อสารสกัดพืชอย่างน้อย 4 ความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 6 well เพื่อหาค่าเฉลี่ย โดยใช้ โพแทสเซียมไดโครเมต (K2Cr2O7) เป็น positive control และใช้ DMSO เป็นสารช่วยละลาย นับตัวไรทะเลที่ตายภายหลังใส่สารทดสอบที่เวลา 6 ชั่วโมง (acute toxicity) โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope)

3.3.2 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว

การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ย

สำรวจและเก็บตัวอย่างเพลี้ยอ่อนถั่วจากแปลงปลูกของเกษตรกร นำมาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยปลูกพืชตระกูลถั่วในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร จำนวน 8 ต้น/1 กระถาง ปลูกจำนวน 20 กระถาง เมื่อถั่วมีอายุประมาณ 2 อาทิตย์ นำกระถางต้นถั่วทั้งหมดใส่ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 50 x 50 x 100 เซนติเมตร นำเพลี้ยอ่อนที่เก็บมาปล่อยลงในต้นถั่วที่เตรียมไว้ เพื่อให้เกิดการระบาดของเพลี้ยอ่อน และเปลี่ยนต้นถั่วใหม่เมื่อถั่วเกิดอาการเหี่ยว

วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดพืชต่อเพลี้ย

ปลูกพืชตระกูลถั่วในกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร จำนวน 1 ต้น/ กระถาง เมื่อถั่วมีอายุ 2 อาทิตย์ ปล่อยเพลี้ยอ่อนจำนวน 10 ตัว/ต้น ปล่อยทิ้งไว้ 1 วัน เพื่อให้เพลี้ยอ่อนเกาะต้นถั่ว และครอบกระถางด้วยที่ครอบกระถางกันเพลี้ยอ่อนออก ฉีดพ่นสารสกัดจากพืช ที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และใช้ DMSO เป็นสารช่วยละลาย จำนวน 4 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

ทำการฉีดพ่นสารสกัดแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องฉีดพ่นสาร (microsprayer) ในอัตรา 2 ซีซี/เพลี้ยอ่อน 10 ตัว/ต้น ครอบกระถางด้วยที่ครอบกระถางกันเพลี้ยอ่อนออก นับจำนวนเพลี้ยอ่อนหลังการพ่นที่เวลา 48 ชั่วโมง นำข้อมูลที่ได้ไปหาเปอร์เซ็นต์การตายและวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การวิเคราะห์ และการแปรผล

ทำตามวิธีของ Reed-Muench method [14] โดยการสร้างกราฟระหว่างจำนวนที่มีชีวิตรอดแบบสะสม (number of the accumulate alive) และจำนวนที่ตายแบบสะสม (number of the accumulate death) บนแกนเดียวกัน (number of animal and log dose) กราฟทั้งสองจะตัดกันที่จำนวนของ accumulate alive กับ accumulate death จุดตัดคือค่า LC_{50}

การแปรผล

พิจารณาจากค่า LC_{50} โดย ผลบวก (positive result) การทดสอบเพลี้ยอ่อน $LC_{50} \leq 10,000$ μg/ml การทดสอบไรทะเล LC50 ≤ 1,000 μg/ml [15]

ตารางที่ 1 ข้อมูลพืช 8 ชนิด และส่วนของพืชที่ใช้ในการศึกษา

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	ชื่อวงศ์	ส่วนที่ใช้
1	*Annona squamosa* Linn.	น้อยหน่า	Annonaceae	ใบ
2	*Cassia fistula* Linn.	คูน	Leguminosae	เนื้อในฝักแก่
3	*Croton tiglium* Linn.	สลอด	Euphorbiaceae	เมล็ด
4	*Duranta repens* Linn.	เทียนหยด	Verbenaceae	ผลแก่
5	*Eclipta prostrata* Linn.	กะเม็ง	Compositae	ส่วนเหนือดิน
6	*Euphorbia hirta* Linn.	น้ำนมราชสีห์	Euphorbiaceae	ส่วนเหนือดิน
7	*Fagraea fragrans* Roxb.	กันเกรา	Potaliaceae	ใบ ผลแก่
8	*Tagetes erecta* Linn.	ดาวเรือง	Compositae	ดอก

ตารางที่ 2 ค่า LC50ของสารสกัดเมทานอลของพืช และสารมาตรฐานในการทดสอบความเป็นพิษต่อไรทะเล ที่เวลา 6 ชั่วโมง

ชนิดสารสกัดพืช	LC_{50} (µg/mL)
น้อยหน่า	3.09
กันเกรา (ใบ)	20.56
กันเกรา (ผล)	> 1,000*[a]
กะเม็ง	346.74
สลอด	518.80
เทียนหยด	901.57
คูน (ฝัก)	> 1,000*[b]
คูน (ใบ)	> 1,000*[c]
ดาวเรือง	> 1,000*[d]
น้ำนมราชสีห์	> 1,000*[e]
Potassium dichromate (positive control)	363.08

*[a-e] เปอร์เซ็นต์การตาย 0.00, 0.00, 6.39, 1.52 และ 35.95% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นสูงสุด 1,000 1,000 1,000 400 และ800 -µg/mL ตามลำดับ

ตารางที่ 3 ค่า LC50 ของสารสกัดเมทานอลของพืช และสารมาตรฐาน ในการทดสอบความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อน ที่เวลา 48 ชั่วโมง

สารทดสอบ	LC_{50} (μg/mL)
น้อยหน่า	2,089.03
สลอด	2,238.72
กันเกรา (ใบ)	3,019.95
กันเกรา (ผล)	> 10,000*[a]
กะเม็ง	5,248.07
คูน (ฝัก)	5.508.08
คูน (ใบ)	> 10,000*[b]
น้านมราชสีห์	5,754.40
ดาวเรือง	6,683.44
เทียนหยด	> 10,000*[c]
Diethyl mercaptosuccinate (positive control)	6.46

*[a-c] เปอร์เซ็นต์การตาย 30.00, 32.22 และ 40.00% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 10,000 μg/mL

4. ผลการวิจัย

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อไรทะเลน้ำเค็ม (*A. salina Leach*.) ที่เวลา 6 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อไรทะเล คือ ใบน้อยหน่า ใบกันเกรา ต้นกะเม็ง,เมล็ดสลอด และผลเทียนหยด โดยมี LC_{50} เท่ากับ 3.09, 20.56, 346.7, 518.80 และ 901.57 μg/mL ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว (*Aphis craccivora Koch*.) ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดที่มีความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนถั่วคือ ใบน้อยหน่า เมล็ดสลอด ใบกันเกรา ต้นกะเม็ง ฝักคูน ต้นน้ำนมราชสีห์ และดอกดาวเรือง โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 2,089.30 2,238.72 3,019.95 5,248.07 5,508.08 5,754.40 และ 6,683.44 μg/mL ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่เหลือไม่เป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนถั่ว

5. ข้อเสนอแนะ

การทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อไรทะเลโดยใช้ไรน้ำเค็ม เพื่อใช้คัดเลือกส่วนสกัดที่มีศักยภาพเพื่อนำไปทดสอบความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อนพบว่า สารสกัดน้อยหน่า กะเม็ง สลอด กันเกรา และเทียนหยด มีความเป็นพิษต่อเพลี้ยอ่อน ทำให้คาดการณ์ได้ว่า สารสกัดจากพืชทั้ง 5 ชนิดดังกล่าวน่าจะมีศักยภาพในการกำจัดเพลี้ยอ่อน เนื่องจากให้ค่า LC_{50} ต่ำกว่า 1,000 μg/mL เมื่อทดสอบด้วยไรทะเล แต่เนื่องจากมีรายงานว่าพืชที่จะมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นยาฆ่าแมลงควรมีค่า LC_{50} น้อยกว่า 30 μg/ml [16] และจากผลการวิจัยพบว่ามีเพียงสารสกัดน้อยหน่า เท่านั้นที่ศักยภาพตามทฤษฎี เมื่อนำสารสกัดทั้งหมดไปทดสอบฤทธิ์ต่อเพลี้ยอ่อนในห้องปฏิบัติการ โดยการเพาะเลี้ยงเพลี้ยอ่อนให้เจริญบนต้นถั่วที่ปลูกเอาไว้ และควบคุมสภาวะการทดลองให้เหมือนกับสภาพธรรมชาติที่เพลี้ยอาศัยอยู่ ภายหลังจากการพ่นสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่า มีสารสกัดทั้งหมด 7 ชนิดที่ออกฤทธิ์ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ดีคือ ใบน้อยหน่า เมล็ดสลอด และใบกันเกรา โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 2,089.30 2,238.72 และ 3,019.95 μg/ml ตามลำดับ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ได้ปานกลางคือ ต้นกะเม็ง เนื้อในฝักคูน ต้นน้ำนมราชสีห์ และดอกดาวเรือง โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,248.07 5,508.08 5,754.40 และ 6,683.44 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากเทียนหยด ใบคูน ผลกันเกรา และผลเทียนหยด ไม่ออกฤทธิ์ต่อเพลี้ยอ่อน (ค่า LC_{50} มากกว่า 10,000 μg/ml) ซึ่งผลการวิจัยส่วนใหญ่สอดคล้องกับค่าการทดสอบความเป็นพิษต่อไรทะเล (ยกเว้นฝักคูน น้ำนมราชสีห์ และดาวเรือง) ดังนั้นจึงสามารถใช้การทดสอบด้วยไรทะเล ในการคัดเลือกส่วนสกัดที่มีจำนวนมากเพื่อใช้ในการศึกษาวิจัยด้านการคัดเลือกสารสกัดพืชเบื้องต้นเพื่อทดสอบต่อเพลี้ยอ่อน ก็จะทำให้ประหยัดเวลา และงบประมาณ ไม่จำเป็นต้องทดสอบพืชทุกตัวต่อเพลี้ย

อ่อน ซึ่งต้องอาศัยสภาวะการทดลอง และการเพาะเลี้ยงที่จำเพาะได้ เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการกำจัดเพลี้ยกับสารจากพืชที่มีการวิจัย หรือรายงานมาก่อนหน้านี้ พบว่าค่า LC_{50} ของงานวิจัยในครั้งนี้ค่อนข้างสูงกว่าการทดสอบด้วยวิธีอื่นๆ เนื่องจากเป็นวิธีการทดสอบ ที่ทำให้เหมือนกับสภาพที่เกษตรกรจะนำไปใช้ได้จริง มิได้ใช้วิธีจุ่ม (dip) เฉพาะสารลงบนตัวเพลี้ย หรือพืชเท่านั้น แต่ใช้การฉีดพ่นสารซึ่ง เป็นวิธีการเดียวกับการฉีดพ่นยากำจัดแมลงในทางปฏิบัติที่เกษตรกรใช้กันอยู่ ลงไปในสภาพแปลงพืชจำลอง (พืชปลูกในกระถาง) เพื่อให้ใกล้เคียงกับสภาพที่จะนำไปใช้มากที่สุด จึงอาจต้องใช้ปริมาณสารสกัดมากขึ้นเพื่อพ่นลงบนตัวเพลี้ย และพืชที่เพลี้ยอาศัยอยู่ไปพร้อมกัน

จากการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดต่อเพลี้ยอ่อน พบว่า สารสกัดจากน้อยหน่า ออกฤทธิ์ดีที่สุดต่อเพลี้ยอ่อน จากรายงานวิจัยพบว่าสารสำคัญในใบน้อยหน่าเป็นสารแอลคาลอยด์ แอนโนเนอีน (anonaine) และเรซิ่น (resin) ในเมล็ดมีน้ำมันอยู่ประมาณ 45% น้ำมันเป็นพิษกับด้วงปีกแข็ง เพลี้ยอ่อนแมลงวัน และมวนปีกแข็ง [17] แต่ยังไม่มีรายงานว่าสารชนิดใดกำจัดเพลี้ยอ่อนได้ ส่วนสลอดมีรายงานว่าน้ำมันมีสารพิษ มีรายงานว่าสารสกัดน้ำ และเอทานอล ของเมล็ด มีพิษต่อหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata* Lamarck.) [18] แต่ยังไม่มีรายงานการวิจัยองค์ประกอบทางเคมีว่าเป็นสารกลุ่มใด จึงมีความน่าสนใจที่จะศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีของพืชทั้ง 2 ชนิด และการนำไปใช้ รวมทั้งพืชชนิดอื่นๆ ที่ออกฤทธิ์ได้ดีปานกลาง คือกะเม็ง ฝักคูน น้ำนมราชสีห์ และดอกดาวเรือง มีผู้นำไปศึกษาฤทธิ์ฆ่าแมลงชนิดต่างๆ แต่การศึกษาต่อเพลี้ยอ่อนทั้งในห้องปฏิบัติการ และการทดลองภาคสนามที่มีการทดลองที่ควบคุมสภาวะต่างๆ ยังมีน้อยมาก ดังนั้นพืชเหล่านี้จึงมีศักยภาพที่น่าจะนำไปศึกษาต่อ ถึงองค์ประกอบทางเคมี เพื่อแยกเอาเฉพาะสารที่ออกฤทธิ์

ในการวิจัยครั้งนี้ทดสอบเฉพาะในสารสกัดส่วนที่มีความเป็นขั้วสูง (polar extract) จึงควรศึกษาเปรียบเทียบกับส่วนที่มีความเป็นขั้วต่ำ (nonpolar extract) ด้วย ควรมีการวิจัยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารทดสอบ อาจจำเป็นต้องเติมสารช่วยต่างๆ เช่น สารจับใบ surfactant เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารสกัดพืชให้ดียิ่งขึ้นทั้งด้านการละลาย และการเกาะติดใบของพืช จึงควรมีการศึกษาต่อไปเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ และการนำสารสกัดเหล่านี้ไปพัฒนาเป็นสารควบคุม และกำจัดเพลี้ยอ่อน รวมทั้งความคุ้มทุนที่จะนำมาใช้

6. สรุปผลการทดลอง

สารสกัดเมทานอลของพืช 5 ชนิด มีความเป็นพิษต่อไรทะเล โดยที่สารสกัดใบน้อยหน่าออกฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาคือ ใบกันเกรา ต้นกะเม็ง เมล็ดสลอด และผลเทียนหยด ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต่อเพลี้ยอ่อนพบว่า มีสารสกัดทั้งหมด 7 ชนิด การออกฤทธิ์ แบ่งเป็น กลุ่มที่ออกฤทธิ์ดีคือ ใบน้อยหน่า เมล็ดสลอด และใบกันเกรา โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 2,089.30 2,238.72 และ 3,019.95 ตามลำดับ กลุ่มที่ออกฤทธิ์ได้ปานกลางคือ ต้นกะเม็ง ฝักคูน ต้นน้ำนมราชสีห์ และดอกดาวเรือง โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5,248.07 5,508.08 5,754.40 และ 6,683.44 μg/ml ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากใบคูน ผลกันเกรา และผลเทียนหยด ไม่ออกฤทธิ์ (ค่า LC_{50} มากกว่า 1,000 μg/ml)

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ภายใต้ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาภูมิภาคลุ่มน้ำโขง ประจำปี 2550

8. บรรณานุกรม

[4] กรมวิชาการเกษตร. 2550. **ฐานความรู้ด้านพืช**. http://www.doa.go.th/pl_data/SOYBEAN/1stat/st02.html. 16 April.

[8] ณรรฐพล วัลลีย์ลักษณ์. 2536. **แมลงศัตรูผักของประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[1] พิสิษฐ์ เสพสวัสดิ์, ศรีสมร พิทักษ์, วิเชียร บำรุงศรี, เตือนจิตต์ สัตยาวิรุทธิ์ และสาทร สิริสิงห์. 2535. “แมลงศัตรูพืชไร่ตระกูลถั่ว และการป้องกันกำจัด”. ใน: สุวัฒน์ รวยอารีย์ (บรรณาธิการ). แมลง **และสัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจ และการบริหาร**. ไอเดีย สแควร์: กรุงเทพมหานคร.

[13] พาลาภ สิงหเสนี. 2540. **พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม**. พิมพ์ครั้งที่ 5. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย: กรุงเทพมหานคร.

[9] ศุภลักษณ์ ฮอกะวัด. 2526. **เอกสารประกอบการสอนโรคพืชผัก**. กรุงเทพฯ: ภาควิชากีฏวิทยา และโรคพืช, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[17] สมสุข ศรีจักรวาฬ. 2546. “พืชฆ่าแมลง”. ใน: **พืชฆ่าแมลง และพืชมีพิษบางชนิดในประเทศไทย**.(ไม่ระบุบรรณาธิการ). สำนักงานเกษตร และสหกรณ์จังหวัดอุบลราชธานี: อุบลราชธานี.

[5] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. **ยาปราบศัตรูพืช: ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน**. http://www.doa.go.th. 16 April.

[6] Agele, S.O, Ofuya T.I, James P.O. 2006. "Effects of watering regimes on aphid infestation and performance of selected varieties of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp) in a humid rainforest zone of Nigeria". **Crop Protect**. 25, 73-78.

[3] Asiwe J.A.N., Nokoe S., Jackai L.E.N., Ewete F.K. 2005. "Does varying cowpea spacing provide better protection against cowpea pests?." **Crop Protect**. 24, 465-471.

[2] Ehlers J.D. and Hall A.E. 1997. "Cowpea *(Vigna unguiculata* L. Walp." **Field Crop Res**., 53, 187-204.

[10] Lattanzio V., Arpaia S., Cardinali A., Venere D.D., Linsalata V. 2000. "Role of endogenous flavonoids in resistance mechanism of Vigna to aphids". **J Agric Food Chem**. 48, 5316-5320.

[7] Majumder P., Mondal H.A., Das S., 2005. "Insecticidal activity of Arum maculatum tuber lectin and its binding to the glycosylated insect gut receptors". **J Agric Food Chem**, 53, 6725-6729.

[16] Meyer B.N., Ferrigni N.R., Putnam J.E., Jacobson L.B., Nichol D.E. McLaughlin J.L. 1982. "Brine shrimp. A convenient general bioassay for active plant constituents". **Planta Med**. 45, 31-34.

[18] Moungnoi, S. 2002. **Toxicity of indigenous plant extracts to Pomacea canaliculata Lamarck**. Thesis for Master Degree: Mahidol University (Environmental Sanitation).

[11] Ofuya T.I., 1995. "Colonization and control of Aphis craccivora Koch. (Homoptera: Aphididae) by coccinellid predators in some resistant and susceptible cowpea varieties in Nigeria". **Crop Protect**. 14, 47-50.

[14] Sam T.W. 1993. **Bioactive natural products: Detection, isolation and structural determination**. CRC Press: New York. 441-456.

[15] Solis P.N., Wright C.W., Anderson M.M., Gupta M.P., Phillipson J.D. 1993. "A microwell cytotoxicity assay using Artemia salina (Brine shrimp)".**Planta Med**., 59, 250-252.

[12] Ward A, Morse S, Denholm I, McNamara N. 2002. "Foliar insect pest management on cowpea (*Vigna unguiculata* Walpers) in simulated varietal mixtures.: I. The suitability of partial insecticide applications" **Field Crops Res 2002**, 79, 53-65.