มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทุนวิจัยหมวดเงินอุดหนุน (ว.1)

ประจำปีงบประมาณ 2558

ผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้าย

Toxicity of fumigated essential oils in Cotton Thrips (*Thrips palmi* Karny)

คณะผู้วิจัย

ดร.ธัญญารัตน์	คงขุนเทียน	หัวหน้าโครงการ
ผศ.ดร.มนัญญา	เพียรเจริญ	ผู้ร่วมโครงการ
ดร.วรากร	รัตนอารีกุล	ผู้ร่วมโครงการ
ดร.รัตนา	รุ่งศิริสกุล	ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวละเอียด	เพ็งโสภา	ผู้ร่วมโครงการ
นางสาวสุภาวดี	ชมพูพันธุ์	ผู้ร่วมโครงการ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี

ตุลาคม 2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้าย

Toxicity of fumigated essential oils in Cotton Thrips (*Thrips palmi* Karny)

จัดทำโดย

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี

คณะผู้วิจัย

ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน มนัญญา เพียรเจริญ วรากร รัตนอารีกุล รัตนา รุ่งศิริสกุล

ละเอียด เพ็งโสภา และ สุภาวดี ชมภูพันธุ์

เสนอ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ตุลาคม 2560

สารบัญ (Table of Contents)

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
สารบัญกราฟ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	4
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	7
บทที่ 4 ผลการวิจัย	16
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง	34

ผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้าย

[1] ธัญญารัตน์ คงขุนเทียน [1] มนัญญา เพียรเจริญ [1]วรากร รัตนอารีกุล [1]รัตนา รุ่งศิริสกุล
[1]ละเอียด เพ็งโสภา และ [2]สุภาวดี ชมพูพันธุ์

บทคัดย่อ

เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny) เป็นศัตรูพืชที่ทำลายพืชอย่างรุนแรง โดยใบจะถูกทำลายให้แห้งกรอบและตาย ส่วนผลและดอกจะถูกทำลายทำให้มีแผลหรือผิดรูปไป เพลี้ยไฟฝ้ายมีถิ่นกำเนิดในเอเชีย แต่ปัจจุบันแพร่กระจายและกลายเป็นศัตรูพืชทั่วโลก เพลี้ยไฟฝ้ายทำลายพืชได้หลายชนิดแต่ส่งผลรุนแรงมากกับพืชในตระกูลแตงและมันฝรั่งซึ่งก่อให้เกิดผลเสียทางเศรษฐกิจ ปัจจุบันการควบคุมเพลี้ยฝ้ายใช้การพ่นยาฆ่าแมลงทางใบซึ่งมีผลในการควบคุมต่ำ ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้พยายามทดสอบผลการฆ่าเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูด ขมิ้น และกานพลูด้วยวิธีการรมควัน เป็นที่น่าเสียดายที่สารสกัดจากพืชทั้งสามชนิดไม่แสดงฤทธิ์ฆ่าแมลงต่อเพลี้ยไฟฝ้าย อย่างไรก็ตามไอของตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์พบว่าสามารถฆ่าเพลี้ยไฟได้ ในการศึกษาครั้งนี้ผลการศึกษาพบว่าไอขอเอทิลแอลกอฮอล์มีความเข้มข้นเกิน 16.67% (v/v) สามารถทำให้เกิดอัตราการตาย 100% ในเพลี้ยไฟฝ้ายได้ภายใน 3 ชั่วโมงที่ได้รับไอเมื่อทดสอบในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองนี้พบว่า ค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายที่ 30 นาที คือ 24.14% (v/v) และค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายที่ 1 ชั่วโมง คือ 17.95% (v/v) เนื่องจากความเป็นพิษของเอทิลแอลกอฮอล์ต่อมนุษย์และสัตว์ค่อนข้างต่ำจึงมีความเป็นไปได้ที่พัฒนาใช้การรมควันด้วยแอลกอฮอล์เพื่อควบคุมเพลี้ยไฟฝ้ายต่อไปโดยเฉพาะในสภาพแวดล้อมแบบโรงเรือน

คำสำคัญ : เพลี้ยไฟฝ้าย วิธีการรมควัน มะกรูด ขมิ้น กานพลู เอทิลแอลกอฮอล์

[1]มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรี 209 หมู่ 1 ตำบลรางบัว อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150
[2]การจัดการทรัพยากรชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี จังหวัดกรุงเทพ 10140

Toxicity of fumigated essential oils in Cotton Thrips (Thrips palmi Karny)

[1]Tanyarat Khongkhuntian,[1] Mananya Phiancharoen, [1]Warakorn Rattanaareekul, [1]Rattana Rungsirisakul
[1]La-eid Pengsopar and [2]Supawadee Chompopun

Abstract

Melon thrips (*Thrips palmi* Karny) cause severe injury as a pest. Leaves become deteriorated then crinkle and die. Fruits and flowers can be damaged, scared and deformed. Though originally from Asia, it is now worldwide pest. Melon thrips is a polyphagous species, but it effected heavily to crop of Cucurbitaceae and Solanaceae causing economical damage. Foliar insecticides are frequently applied for Melon thrips suppression nowadays, but attain less effective. In this study, authors were attempting to test bergamot, turmeric and clove essential oil extract insecticidal activities against Melon thrips using fumigation method. Unfortunately, no plant extracts show insecticidal activity against this insect. However, vapor of the extraction solvent, ethanol, was found to kill thrips. The result showed that vapor of ethanol above 16.67% (v/v) cause 100% lethal rate within 3 hours exposure in laboratory. From this study, the LC_{50} of ethanol against melon thrips at 30 minutes is 24.14% (v/v). And the LC_{50} of ethanol against melon thrips at 1 hours is 17.95% (v/v). Due to its low toxicity rate to human and animals, the ethanol fumigation may can be developed to further control Melon thrips, especially in glasshouse environment.

Keywords: Melon thrips (*Thrips palmi* Karny), fumigation method, bergamot, turmeric, Clove, Ethanol

King Mongkut's University of Technology Thonburi Ratchaburi Campus Rang Bua, Chom Bueng, Ratchaburi 70150, Thailand.
[1]Division of Natural Resources Management, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 10140 Thailand

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

โครงการวิจัยเรื่อง ผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้าย ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2558 พร้อมด้วยการสนับสนุนด้านความรู้และบุคลากร ตลอดจนการอำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่และเครื่องมือต่างๆ สำหรับการศึกษาวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ราชบุรีและบางมด และเกษตรกร ตำบลน้ำพุ อำเภอเมือง ตำบลด่านทับตะโก อำเภอจอมบึง ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์คณะวิจัยไปเก็บเพลี้ยไฟฝ้ายเพื่อมาทำวิจัย จึงขอขอบพระคุณทุกท่าน ทุกหน่วยงานที่ทำให้การดำเนินโครงการวิจัยสามารถบรรลุผลและเป็นไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ. โอกาสนี้

คณะผู้วิจัย

2 ตุลาคม 2560

สารบัญตาราง (List of Tables)

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วยน้ำ 17
4.2 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วย เอทิลแอลกอฮอลล์ 70% 18
4.3 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วย เอทิลแอลกอฮอลล์ 95% 19

สารบัญภาพ (List of Illustrations)

ภาพที่ **หน้า**

2.1 ตัวอ่อนของเพลี้ยไฟฝ้ายและตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟฝ้าย 4
3.1 แสดงลักษณะของเครื่องมือที่ใช้ทำการสกัดแบบ Soxlet extraction 7
3.2 แสดง extraction thimble ที่ทำจากเยื่อกระดาษวางใน extraction chamber 8
3.3 ลักษณะเครื่องบดสมุนไพร 9
3.4 การวางกรวยแยก 11
3.5 การจับกรวยแยกเพื่อทำการเขย่าและการเปิดจุกเพื่อลดความดัน 11
3.6 หลอดเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟและการเก็บจากแปลงที่มีการระบาดเพื่อนำมาทำการทดลอง 12
3.7 กล่องทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยแบบฝาปิดสนิท 13
3.8 กล่องทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยใช้ฝาแบบมีช่องระบายอากาศ 14
4.1 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย 17
4.2 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70 % เป็นตัวทำละลาย 18
4.3 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 % (ไม่ปรับ pH) เป็นตัวทำละลาย 19
4.4 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้แอลกอฮอล์ 95 % (ปรับ pH) เป็นตัวทำละลาย 21
4.5 แสดงลักษณะแปลงพริกขี้หนูที่มีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย 22

สารบัญกราฟ (List of chart)

กราฟที่ **หน้า**

4.1 แสดงผลการรมไอระเหยด้วยสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์การตาย ของเพลี้ยไฟฝ้าย 23

4.2 แสดงผลการรมไอระเหยด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นตัวทำละลาย ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย 24

4.3 แสดงผลการรมไอระเหยด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 35% เป็นตัวทำละลาย ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย 25

4.4 แสดงผลการรมไอระเหยด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% เป็นตัวทำละลาย ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย 26

4.5 แสดงผลการรมไอระเหยด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ (% v/v) ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย 28

4.6 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายเมื่อใช้เวลารมไอระเหย 30 นาที 29

4.7 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายเมื่อใช้เวลารมไอระเหย 1 ชั่วโมง 30

บทที่ 1 บทนำ

(Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เพลี้ยไฟฝ้าย (Cotton Thrips/Melon Thirps; *Thrips palmi* Karny) เป็นแมลงศัตรูพืชที่มีผลต่อพืชเศรษฐกิจหลากหลายชนิด โดยเฉพาะในกล้วยไม้ (สุภราดา และคณะ, 2554) นอกจากทำลายกล้วยไม้แล้ว ยังพบทำลายในพืชผักเศรษฐกิจ ได้แก่ มะเขือเปราะ แตงโม แตงกวา มะระ ฟักเขียว ถั่วฝักยาว หน่อไม้ฝรั่ง กระเจี๊ยบเขียว ในไม้ผล ได้แก่ องุ่น มะม่วง ส้มโอ ในพืชไร่ ได้แก่ ฝ้าย ยาสูบ งา ทานตะวัน ข้าวโพด และในไม้ดอก ได้แก่ กุหลาบ เบญจมาศ และดาวเรือง เป็นต้น (สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร, 2556)

ปัจจุบันการสำรวจพบว่าเพลี้ยไฟฝ้ายมีความต้านทานต่อยาฆ่าแมลงที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับเพลี้ยไฟ เช่น spiromesifen, fipronil, imidacloprid และ clothianidin (สุภราดา และคณะ, 2554) อีกทั้งยังมีพืชอาศัย (plant host) หลากหลาย (ชลิดาและคณะ, 2554) ซึ่งทำให้ยากต่อการตัดวงจรชีวิตเพื่อควบคุมการแพร่ระบาด

การควบคุมจำนวนประชากรเพลี้ยไฟฝ้ายสามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมมากที่สุดคือการใช้ยาฆ่าแมลง แต่การสำรวจพบว่าปัจจุบันเพลี้ยไฟฝ้ายมีความต้านทานต่อยาฆ่าแมลงที่ใช้กับเพลี้ยไฟอย่างแพร่หลาย (สุภราดา และคณะ, 2554) ซึ่งทำให้ไม่สามารถควบคุมการแพร่ระบาดได้ การควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยวิธีทางกล ได้มีการศึกษาการวางกับดักกาวเหนียว ซึ่งสามารถดักจับเพลี้ยไฟฝ้ายได้บางส่วนแต่ยังคงไม่สามารถใช้เป็นวิธีการหลักในการควบคุมประชากรเพลี้ยไฟฝ้าย (ศรีสุดาและคณะ, 2556) สำหรับการควบคุมจำนวนประชากรเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยชีววิธี (Biological control) นั้น จากการศึกษาเอกสารพบว่าเพลี้ยไฟฝ้ายมีแมลงเบียนในประเทศไทยที่สามารถนำมาควบคุมได้ คือ มวนตัวห้ำเพลี้ยไฟ *Wollastoniella rotunda* และ *Wollastoniella parvicuneis* (Hemiptera: Anthcoridae) ซึ่งยังอยู่ในขั้นตอนการพัฒนาวิธีเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณสำหรับการแจกจ่ายให้แก่เกษตรกร (สินีนาฏ และคณะ, 2556; วิวัฒน์ และคณะ, 2554)

ปัจจุบันเกษตรกรประเทศไทยยังใช้การรมควันด้วย methyl bromide ในการกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้ เนื่องจากกำจัดแมลงได้ผลดีและได้รับการยอมรับทั่วไป (Bond 1984, Richarson, 1949) อย่างไรก็ตามการใช้ methyl bromide มีพิษตกค้างเรื้อรังต่อผู้ใช้เมื่อใช้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้ยังเป็นสารที่ถูกระบุในอนุสัญญามอนทรีออลว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิดการเสื่อมของชั้นโอโซน ทำให้เริ่มมีหลายประเทศเข้มงวดในการใช้มากขึ้น ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีงานวิจัยหลายงานที่พยายามลดการใช้ methyl bromide ด้วยวิธีต่างๆ เช่น การเปลี่ยนมาใช้ Ethyl formate ซึ่งเป็นสารระเหยที่พบในพืชหลายชนิด (Pupin *et al*., 2013)

จากการทบทวนวรรณกรรมมีหลักฐานว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยสามารถฆ่าแมลงได้ ซึ่งในประเทศไทยมีพืชที่ให้น้ำมันหอมระเหยได้หลายชนิดซึ่งน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการใช้งานเพื่อควบคุมการแพร่ระบาดของแมลงศัตรูพืชในประเทศไทย และปัจจุบันยังไม่มีผู้ทำการทดลองผลของน้ำมันหอมระเหยที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายซึ่งมีผลต่อพืชเศรษฐกิจหลายชนิด

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาทำให้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดในการทำวิจัยเรื่องผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้าย โดยศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสามชนิดซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยปริมาณมาก คือ มะกรูด ขมิ้นชัน และกานพลู โดยผลการวิจัยจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมประชากรของเพลี้ยไฟฝ้ายในโรงเรือนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายระยะตัวเต็มวัย
2. เพื่อศึกษาหาสารสำคัญหลักในน้ำมันหอมระเหยที่มีฤทธิ์ฆ่าเพลี้ยไฟฝ้าย

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากพืชจำนวน 3 ชนิด คือ มะกรูด (Bergamot; *Citrus bergamia* (Risso) Wright & Arn) ขมิ้น (Turmeric; *Curcuma longa* L.) และ กานพลู (Clove; *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison) ความเข้มข้นต่างๆ กันที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้าย โดยการศึกษาด้วยวิธีการ Lethal Concentration (LC_{50})

ในการทดลองนี้จะทดสอบค่าบ่งชี้ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute Toxicity) โดยใช้การรมควัน (fumigation method) โดยวัด Lethal concentration (LC) จะหมายถึง ค่าความเข้มข้นของสารพิษซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายภายในระยะเวลาที่กำหนด กำหนดใช้หน่วยเป็นอัตราส่วนเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน เช่น 1:1, 1:2 และ 1:3 เป็นต้น การประเมินค่า LC นี้จะไม่ทำการทดสอบว่าสัตว์ทดลองแต่ละตัวได้รับสารพิษในปริมาณเท่าใด แต่รู้ว่าสัตว์ทดลองได้รับสารพิษที่มีความเข้มข้นเท่าใด ในระยะเวลาที่กำหนด (วสกร บัลลังก์โพธิ์, ม.ป.ป) เพื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมการแพร่ระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายในโรงเรือน เพื่อเป็นหนึ่งในทางเลือกของการส่งเสริมการจัดการบริหารการเกษตรเพื่อลดผลกระทบทางนิเวศวิทยา ผลกระทบต่อเกษตรกรผู้สัมผัสสารเคมีโดยตรงและผลกระทบต่อผู้บริโภคของพืชเกษตร

1.4 ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

น้ำมันหอมระเหยของพืชมีผลในการควบคุมเพลี้ยไฟฝ้าย โดยกรอบแนวความคิดของโครงการจะศึกษาเพื่อนำผลไปประยุกต์ใช้ร่วมกับการจัดการเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยวิธีอื่นๆ ในโรงเรือนของพืชเศรษฐกิจเพื่อลดการใช้ยาฆ่าแมลง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. วิธีการฆ่าเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืช
2. การประยุกต์ผลการศึกษาที่ได้เพื่อส่งเสริมควบคุมการแพร่ระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายในโรงเรือนโดยวิธีผสมผสาน
3. ส่งเสริมการจัดการบริหารการเกษตรเพื่อลดผลกระทบทางนิเวศวิทยา ผลกระทบต่อเกษตรกรผู้สัมผัสสารเคมีโดยตรงและผลกระทบต่อผู้บริโภคของพืชเกษตรที่มีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย

หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. กลุ่มเกษตรกรปลูกพืชแบบโรงเรือนที่ได้รับผลกระทบจากเพลี้ยไฟฝ้าย
2. กรมส่งเสริมการเกษตร
3. กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม

(Literature Review)

เพลี้ยไฟฝ้าย

เพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi* Karny; Melon Thrips) อยู่ในวงศ์ Thripidae อันดับ Thysanoptera มีลักษณะสำคัญคือ มีสีเหลือง ขนาดลำตัวยาว 0.7 – 1.0 มิลลิเมตร (มม.) หนวดสีเหลืองมี 7 ปล้อง ขาทุกคู่สีเดียวกับลำตัว ปีกสีเหลือง ขนบริเวณปีกคู่หน้าเรียงกันเป็นเส้นปีกแบบไม่สมบูรณ์ ตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟฝ้ายจะเข้าทำลายพืชโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากใบอ่อนและดอก (ชลิดาและคณะ, 2554) ศิริณี (2554) รายงานว่าสามารถพบเพลี้ยไฟฝ้ายในพืชมากกว่า 20 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย พืชตระกูลถั่ว พืชตระกูลมะเขือ พืชตระกูลแตง พืชตระกูลกะหล่ำ ไม้ผล และไม้ดอกหลายชนิด รวมถึงวัชพืชประเภทต่างๆ อีกด้วย

เพลี้ยไฟสามารถสืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ และแบบไม่อาศัยเพศ (parthenogenesis) (Wu *et al.*, 1995) โดยวางไข่เป็นฟองเดี่ยวสีขาวใส รูปร่างคล้ายเมล็ดถั่ว โดยฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืช ขนาดของไข่ประมาณ 0.1-0.2 มม. ไข่จะฟักเป็นตัวในระหว่าง 4.8-8.4 วัน ตัวอ่อนมีอายุประมาณ 6.2-10.6 วัน โดยแบ่งเป็นสามระยะ คือ ระยะแรกมีลักษณะเป็นตัวอ่อนสีขาวใส ผอมเรียว ขนาดประมาณ 0.2 –0.3 มม. และเริ่มดูดกินน้ำเลี้ยงของพืชในทันที ในระยะที่สองจะมีการเคลื่อนไหวที่รวดเร็วว่องไว มีขนาดประมาณ 0.3-0.4 มม. ส่วนในระยะสุดท้ายของตัวอ่อนซึ่งเป็นระยะก่อนเข้าดักแด้ มีขนาดประมาณ 0.5 – 0.7 มม. มีสีเหลืองเข้ม ระยะนี้เพลี้ยไฟจะเคลื่อนไหวช้าลง แต่ยังคงทำลายพืชอาศัย จากนั้นจึงเข้าดักแด้ในดิน โดยดักแด้จะมีอายุ 2.7 – 3.9 วัน มีสีเหลืองเข้ม ไม่เคลื่อนไหวและไม่กินอาหาร เมื่อเข้าระยะตัวเต็มวัย มีสีเหลืองเข้ม มีขนาดประมาณ 0.8-1.0 มม. มีการคลื่อนไหวรวดเร็วและว่องไว วงจรชีวิตของเพลียไฟจากไข่ถึงตัวเต็มวัยในประเทศไทยมีอายุระหว่าง 14-23 วัน (ศิริณี พูนไชยศรี, 2544)

ภาพที่ 2.1 ตัวอ่อนของเพลี้ยไฟฝ้าย(ซ้าย) และตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟฝ้าย (ขวา)

ภาพจาก http://entnemdept.ufl.edu/creatures/veg/melon_thrips.htm

การสกัดสารด้วยเครื่องมือเครื่องมือสกัดแบบซ็อกเล็ต

เครื่องมือสกัดแบบซ็อกเล็ต (Soxhlet extractor) เป็นอุปกรณ์ที่ออกแบบมาสำหรับสกัดสารให้ได้ประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งนิยมใช้ในกรณีที่สารที่จะสกัดละลายได้ไม่ดีนักในตัวทำละลายที่จะสกัดหรือการสกัดในแต่ละครั้งให้ผลผลิตน้อยมาก การสกัดใช้หลักการการระเหยกลายเป็นไอของตัวทำละลายที่กลั่นตัวเป็นของเหลวผ่านลงไปในสารที่ต้องการสกัด ตัวทำละลายที่ได้สัมผัสกับสารจะไหลลงสู่ขวดรองรับ จากนั้นตัวทำละลายจะถูกระเหยกลับขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงบนสารอีกไปเรื่อยๆ ซึ่งจะทำให้ได้สารที่ต้องการสกัดสะสมขวดรองรับมากกว่าการสกัดเพียงรอบเดียว (คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ม.ป.ป.)

การใช้สารสกัดจากพืชแบบน้ำมันหอมระเหยเป็นสารฆ่าแมลงด้วยการรมควัน

สารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลงมีหลายประเภท ในปัจจุบันมีรายงานของพืชมากกว่า 75 ชนิดที่สามารถนำมาใช้สกัดสารจำพวกน้ำมันหอมระเหยเพื่อกำจัดแมลง นอกจากการใช้น้ำมันหอมระเหยโดยตรงยังมีการแยกสารที่มีฤทธิ์ฆ่าแมลงมาใช้เป็นสารเคมีเดี่ยวอีกด้วย การทดสอบและรายงานมากมายชี้ให้เห็นว่าแมลงแต่ละชนิดมีความอ่อนแอของสารจากพืชแตกต่างกันออกไป ซึ่งโดยทั่วไปการทดสอบมักจะทดสอบในแมลงระยะที่มีการเคลื่อนที่ เช่น ตัวเต็มวัย เนื่องจากระยะนี้จะมีการหายใจมากที่สุด (Reviewed by Rajendra and Sriranjini, 2008) สารสกัดจากพืชเป็นสารจากธรรมชาติ ปัจจุบันกำลังได้รับความนิยมเนื่องจากมีพิษต่อคนต่ำ อีกทั้งการสกัดสารจากพืชในรูปของสารหอมระเหยที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กว้างขวางและสามารถผลิตได้ง่าย งานด้านหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจในการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหย คือ การพัฒนาน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นยาฆ่าแมลง (Isman, 2000) ซึ่งในแต่ละประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพมักพบว่าพืชท้องถิ่นมีการสร้างน้ำมันหอมระเหยที่มีผลต่อแมลงในท้องถิ่นของตน ตัวอย่างของการศึกษาน่าสนใจในประเทศจีน เป็นการศึกษาของ Choi และคณะ (2003) ที่ศึกษาผล LD_{50} ของน้ำมันหอมระเหยในพืชถึง 53 ชนิดที่มีผลต่อ แมลงหวี่ขาว (*Trialeurodes vaporariorum*) ผลของการศึกษาพบว่าน้ำมันหอมระเหยในพืชมากกว่า 20 ชนิดมีผลต่อแมลงหวี่ขาว และสามารถฆ่าแมลงหวี่ขาวได้ภายใน 24 ชั่วโมง การทดลองโดยการรมควันมีการทดลองในห้องทดลองด้วยสารสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลขิงและ Laceflower (*Amni majus*) โดยทดลองกับแมลงศัตรูพืชสองชนิดคือ แมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci*) และด้วงเต่าลายขวาง (*Aphis craccivora*) ซึ่งพบว่าสามารถฆ่าแมลงทั้งสองชนิดได้ในระดับที่น่าพอใจ (Abou-Yousef *et al*., 2010) นอกจากนั้นการทดลองของ Chu และคณะ (2011) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกจาก *Illicium difengpi* สามารถใช้รมเพื่อฆ่าด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) มอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) ในโรงเก็บเมล็ดพันธุ์ได้เป็นอย่างดี งานในประเทศเกาหลีของ Kim และคณะ (2003) ได้ทำการคัดเลือกสารสกัดจากพืชกว่า 30 ชนิดทดสอบกับมอดยาสูบ (*Lasioderma sericorne*)

พบว่าสารสกัดจากเปลือกอบเชยจีน (*Cinnamomum cassia*) ผลโป๊ยกั๊ก (*Illicium verum*) และ ผลผักชีล้อม (*Foeniculum vulgare*) สามารถทำให้มอดยาสูบตายได้มากกว่า 90% ในเวลา 3 วันเมื่อใช้ความเข้มข้น 3.5 mg/cm^3

การวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษของสาร

การจะทราบความเป็นพิษของสารได้จำเป็นจะต้องนำสารเหล่านั้นมาทดสอบความเป็นพิษกับสัตว์ทดลองในระดับความเข้มข้นต่างๆเพื่อวัดอัตราการตาย (mortality) จากนั้นนำไปคำนวณหาค่าระดับความเป็นพิษต่อไปเสียก่อน ในการศึกษาทางพิษวิทยามีค่าต่างๆใช้ในการบ่งชี้ความเป็นพิษหลายค่า ตัวอย่างเช่น LD_{50}, LC_{50} หรือ KI_{50}

การหาค่า LD_{50} หรือ LC_{50} จากการพลอตกราฟนั้นอาจเกิดความผิดพลาดได้ง่ายจากการลากเส้นในแต่ละบุคคล เนื่องจากโดยทั่วไปค่าอัตราการตายไม่อยู่บนเส้นตรงที่ลากต่อกันเลยทีเดียว จึงต้องอาศัยหลักการคำนวณสมการถดถอยอย่างง่าย (simple linear regression) ซึ่งสามารถหาค่า LC_{50} ได้อย่างสะดวก และมีความเที่ยงตรงได้มากขึ้น หากค่า LC_{50} มีค่าตัวเลขที่สูงก็แสดงว่าสารเคมีที่ทดสอบมีอันตรายน้อย เนื่องจากต้องได้รับในปริมาณมากจึงจะทำให้สัตว์ทดลองเสียชีวิตไปครึ่งหนึ่งในการทดสอบความเป็นพิษ ในขณะทางตรงกันข้าม ค่าตัวเลขต่ำจะแสดงความเป็นพิษที่รุนแรงสูงคือได้รับเพียงเล็กน้อยก็จะทำให้สัตว์ทดลองเสียชีวิตไปครึ่งหนึ่งในการทดสอบความเป็นพิษ

บทที่ 3 วิธีการวิจัย

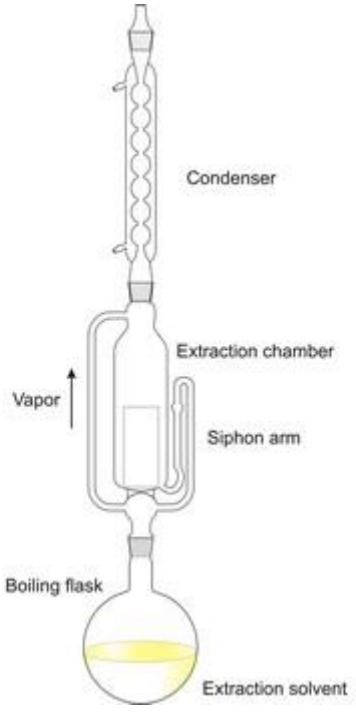
(Materials and Method)

การดำเนินโครงการวิจัยเรื่อง ผลของการรมควันโดยใช้น้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้ายประกอบด้วย 2 ขั้นตอนการเตรียมการก่อนการทดลองและการทดลอง 2 การทดลอง ดังนี้

ขั้นตอนการเตรียมการก่อนการทดลอง

ขั้นเตรียมน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยมาก จำนวน 3 ชนิด ประกอบด้วย มะกรูด (Bergamot; *Citrus bergamia* (Risso) Wright & Arn) ขมิ้น (Turmeric; *Curcuma longa* L.) และ กานพลู (Clove; *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison) ทำการสกัดด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำ



ภาพที่ 3.1 แสดงลักษณะของเครื่องมือที่ใช้ทำการสกัดแบบ Soxhlet extraction

ภาพจาก https://glossary.periodni.com/glossary.php?en=Soxhlet+extractor

การเตรียมชิ้นส่วนสำหรับการสกัด

1. มะกรูด

ส่วนที่ใช้ ผิวมะกรูด

การเตรียมชิ้นส่วน ล้างผลมะกรูดให้สะอาด เช็ดให้แห้ง จากนั้นทำการปอกผิวมะกรูดโดยติดเนื้อผิวสีขาวให้น้อยที่สุด นำผิวที่ได้มาทำการแบ่งชั่งเป็นชุด ชุดละ 50 กรัมต่อการสกัด 1 ครั้ง

การหั่นเป็นชิ้นบาง หั่นผิวมะกรูดในชุดเป็นชิ้นบางๆ ความหนาไม่เกิน 3 มิลลิเมตร ใส่ใน thimble (ดังภาพ 3.2) เตรียมสำหรับการสกัดต่อไป

การปั่นละเอียด นำผิวมะกรูด 1 ชุดมาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ผสมตัวทำละลายที่ต้องการสกัดประมาณ 30 มิลลิลิตร เพื่อให้ปั่นได้ง่าย เทใส่ thimble พร้อมทั้งล้างโถปั่นด้วยตัวทำละลาย เทใส่ thimble อีกครั้งหนึ่ง

ภาพที่ 3.2 แสดง extraction thimble ที่ทำจากเยื่อกระดาษวางใน extraction chamber

ภาพจาก http://www.mn-net.com/StartpageFiltration/Extractionthimbles/tabid/5242/language/en-US/Default.aspx

2. ขมิ้น

ส่วนที่ใช้ หัวใต้ดิน

การเตรียมชิ้นส่วน ล้างหัวขมิ้นให้สะอาด เช็ดให้แห้ง จากนั้นทำการปอกผิวขมิ้นชันออกให้เกลี้ยง หั่นเนื้อหัวขมิ้นชันออกเป็นชิ้นๆ ทำการแบ่งชั่งเป็นชุด ชุดละ 50 กรัม

การหั่นเป็นชิ้นบาง หั่นหัวขมิ้นชันในชุดเป็นชิ้นบางๆ ความหนาไม่เกิน 3 มิลลิเมตร ใส่ใน thimble เตรียมสำหรับการสกัดต่อไป

การปั่นละเอียด นำหัวขมิ้นชันในชุดมาปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ผสมตัวทำละลายที่ต้องการสกัดประมาณ 30 มิลลิลิตรเพื่อให้ปั่นได้ง่าย เทใส่ thimble พร้อมทั้งล้างโถปั่นด้วยตัวทำละลาย เทใส่ thimble อีกครั้งหนึ่ง

3. กานพลู

ส่วนที่ใช้ ดอกแห้ง

การเตรียมชิ้นส่วน เป่าดอกกานพลูด้วยลมให้สะอาด ทำการแบ่งชั่งเป็นชุด ชุดละ 50 กรัม

การใช้เป็นชิ้น ใช้ดอกกานพลูที่ชั่งแล้วใส่ใน thimble เตรียมสำหรับการสกัดต่อไป

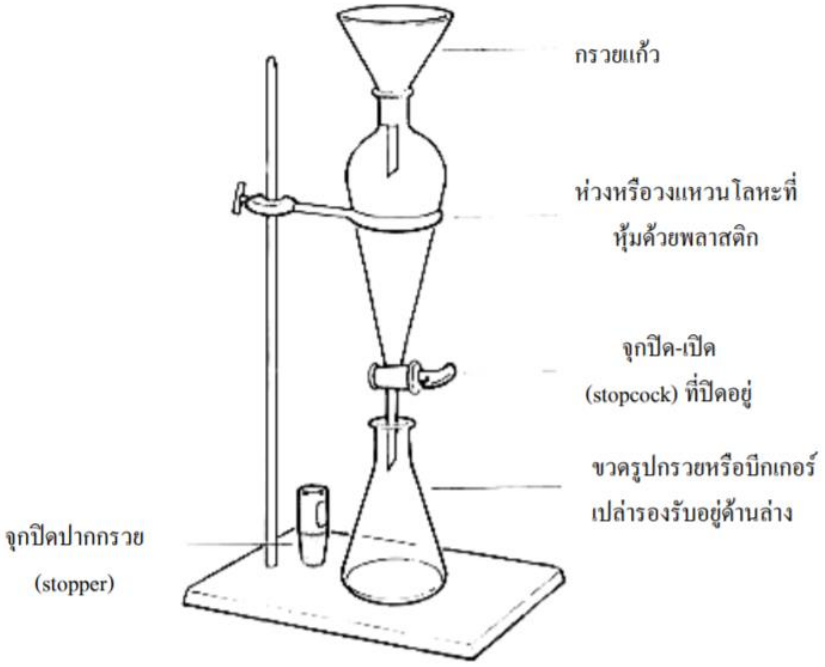
การบดละเอียด นำดอกกานพลูไปบดด้วยเครื่องบดสมุนไพรแห้ง (ดังภาพที่ 3.3; จ้างบด) ร่อนผ่านตะแกรง นำไปชั่งให้ได้ชุดละ 50 กรัม จากนั้นเทใส่ thimble

ภาพที่ 3.3 ลักษณะเครื่องบดสมุนไพร

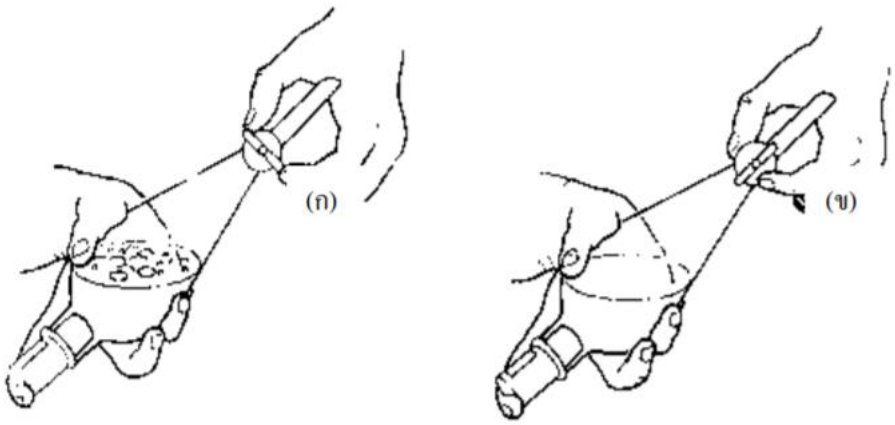
ภาพจาก http://www.spicepula.com/product/2/เครื่องบดสมุนไพร-200-กรัม

ขั้นตอนการสกัดแบบ Soxhlet extraction

1. ประกอบชิ้นส่วนของ Soxhlet extractor เข้าด้วยกัน (ดังภาพที่ 3.1) วาง extractor thimble ที่มีชิ้นส่วนที่ต้องการสกัดเข้า extraction chamber เติมตัวทำละลายที่กำหนดในการสกัดในครั้งที่สกัดให้ท่วม extractor thimble ตัวทำละลายที่เหลือลงใน boiling flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ต่อท่อน้ำหล่อเย็นของ condenser เข้ากับ waterbath (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)
2. เดินเครื่อง Soxhlet extractor โดยกำหนดให้อุณหภูมิที่ boiling flask เป็น 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาตามที่กำหนด สังเกตลักษณะของสารสกัดและกลิ่นเพื่อปรับระยะเวลาสกัดให้เหมาะสม (ทั้งนี้ในการทดลองนี้กำหนดการสกัดด้วยน้ำไว้ที่ 15 ชั่วโมง การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ไว้ที่ 5 ชั่วโมง) เมื่อครบกำหนดเวลาปิดเครื่องและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นโดยไม่ขยับเครื่อง
3. เตรียมกรวยแยกสารก้านยาวขนาด 500 มิลลิลิตร หมุนสต็อปค็อก (stopcock) ปิดให้เรียบร้อย ตั้งบนห่วงโลหะ (ภาพที่ 3.4) และวางบีกเกอร์ไว้รองรับกรณีเทสารในกรวยแยกสารแล้วสต๊อปค็อกรั่ว
4. ถ่ายสารสกัดจาก boiling flask ที่ตั้งไว้จนเย็นแล้วลงในกรวยแยก ปิดจุกปิด (stopper) ด้านบนของปากกรวย จากนั้นนำมาเขย่าดังภาพที่ 3.5 เปิดกรวยแยก เป็นระยะๆ เพื่อลดความดันที่สะสมภายในกรวยแยก จากนั้นตั้งทิ้งไว้ (ดังภาพที่ 3.4) 8 ชั่วโมงเพื่อลดปัญหาการเกิดอิมัลชัน (emulsion)
5. เปิดจุกปิด จากนั้นจึงไขสต๊อปค็อกแยกของเหลวชั้นล่างออกมาอย่างช้าๆ ใช้บีกเกอร์รองรับตัวทำละลายโดยให้ปลายก้านของกรวยแตะด้านข้างของบีกเกอร์เพื่อลดการกระเด็น เมื่อของเหลวชั้นล่างถูกพาลงมาจนเกือบหมดแล้วให้ปิดจุกที่ปลายกรวย แกว่งแบบวนเบาๆ เพื่อให้ของเหลวชั้นล่างที่ติดอยู่ภายในผนังกรวยไหลลงมา จากนั้นจึงเปิดจุกที่ปลายกรวยช้าๆ อีกครั้ง เพื่อให้ของเหลวชั้นล่างที่เหลืออยู่ไหลลงมาจนหมด จากนั้นเคาะของเหลวที่ค้างอยู่ในก้านกรวยทิ้ง สำหรับของเหลวชั้นบนให้เทออกทางปากกรวย ทำเครื่องหมายแสดงชั้นของของเหลว ก่อนนำไปทดสอบ
6. การทดสอบน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ให้นำของเหลวแต่ละชั้นมาหยดลงในน้ำสะอาด หากเป็นน้ำมันหอมระเหยจะแยกชั้นจากน้ำสะอาดอย่างเด่นชัด



ภาพที่ 3.4 การวางกรวยแยก (คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ม.ป.ป)



ภาพที่ 3.5 การจับกรวยแยกเพื่อทำการเขย่า (ก) และการเปิดจุกเพื่อลดความดัน (ข)

(คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, ม.ป.ป)

ขั้นเตรียมเพลี้ยไฟฝ้าย

การเก็บเพลี้ยไฟฝ้าย

การทดลองเลี้ยงเพลี้ยไฟในเริ่มแรกไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากเกิดปัญหาและอุปสรรค คือ มีแมลงศัตรูเข้าทำลายเพลี้ยไฟที่ทำการเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ ได้แก่ มดคันไฟและแมงมุม นอกจากนั้นความชื้นในอากาศที่สูงทำให้การเจริญของเพลี้ยไฟไม่เป็นไปตามที่ตั้งเป้าหมายไว้ จึงปรับเปลี่ยนวิธีการเตรียมเพลี้ยไฟโดยทำการสำรวจตามแปลงปลูกพืชของเกษตรกรและทำการจับเพลี้ยไฟที่พบในระยะที่สามารถจะนำมาทดลองได้มาทำการอนุบาลเพื่อเตรียมความพร้อมก่อนทำการทดลอง

ภาพที่ 3.6 หลอดเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟและการเก็บจากแปลงที่มีการระบาดเพื่อนำมาทำการทดลอง

การเตรียมเพลี้ยไฟสำหรับการทดลอง (สุภราดา และคณะ, 2554)

นำเพลี้ยไฟที่เก็บได้มาเลี้ยงในหลอดเก็บตัวอย่างโดยให้ใบพริก เกสรดอกกกธูปฤาษี ฟ้าผึ้ง 10% และฟ้าที่ชุบกับสำลีเป็นอาหาร เลี้ยงเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ในวันรุ่งขึ้นทำการคัดแยกเอาเพลี้ยไฟตัวเต็มวัยและมีความแข็งแรงโดยดูจากการมีความสามารถว่องไวในการไต่ขึ้นภายในหลอดเก็บตัวอย่างมาเพื่อใช้ในการทดลอง

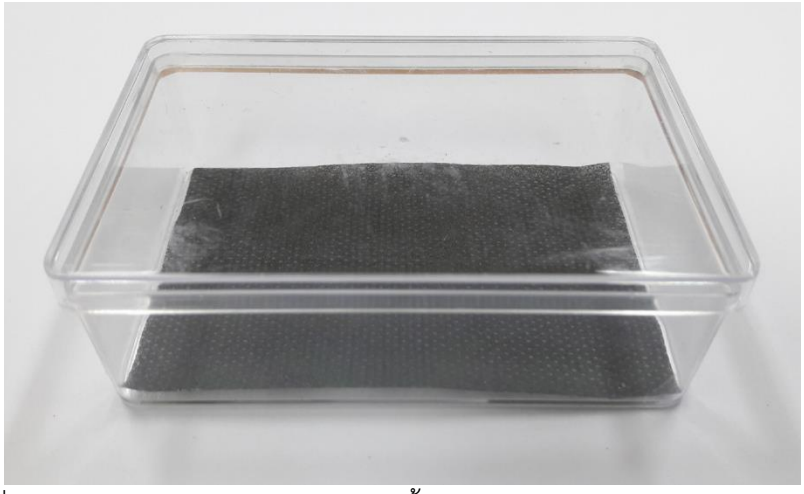
การทดลอง

ในการทดลองนี้จะทดสอบค่าบ่งชี้ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute Toxicity) โดยใช้การรมควัน (fumigation method) โดยวัด Lethal concentration (LC) จะหมายถึง ค่าความเข้มข้นของสารพิษซึ่งทำให้สัตว์ทดลองตายภายในระยะเวลาที่กำหนด กำหนดใช้หน่วยเป็นอัตราส่วนเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน เช่น 1:1, 1:2 และ 1:3 เป็นต้น การประเมินค่า LC นี้จะไม่ทำการทดสอบว่าสัตว์ทดลองแต่ละตัวได้รับสารพิษในปริมาณเท่าใด แต่รู้ว่าสัตว์ทดลองได้รับสารพิษที่มีความเข้มข้นเท่าใด ในระยะเวลาที่กำหนด (วสกร บัลลังก์โพธิ์, ม.ป.ป)

<u>การทดลองที่ 1</u> การทดสอบผลการรมควันด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะตัวอ่อน และ ระยะตัวเต็มวัย โดยใช้วิธี Median Lethal Concentration (LC_{50}) ในความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยต่างๆ กัน

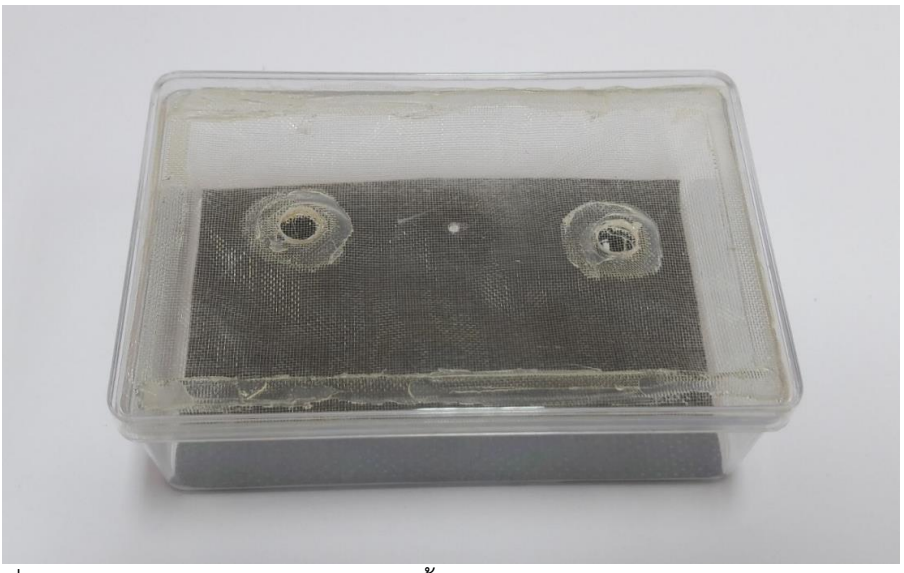
ขั้นตอนการรมควัน

1. วางแผ่นกระดาษกรองเบอร์หนึ่ง ที่ชุบน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้นตามที่กำหนดปริมาตร 1 มิลลิลิตรเป็นเวลา 2 วินาที ในกล่องทดลองที่ทำจากอะครีลิก กว้าง x ยาว x สูง คือ 5.5 x 9 x 3.5 เซนติเมตร^3 รองพื้นด้วยกระดาษไม่เคลือบสีดำ (ภาพที่ 3.7) ปิดฝาให้สนิทและทิ้งไว้เป็นเวลา 20 นาทีเพื่อให้อากาศในกล่องทดลองอิ่มตัว โดยกำหนดความเข้มข้นของสารสกัดจากแต่ละตัวทำละลายดังนี้
   1.1 ไม่เจือจาง
   1.2 เจือจางด้วยตัวทำละลาย 1:1
   1.3 เจือจางด้วยตัวทำละลาย 1:2
   1.4 เจือจางด้วยตัวทำละลาย 1:3



ภาพที่ 3.7 กล่องทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยแบบฝาปิดสนิท

2. ปล่อยที่มีเพลี้ยไฟฝ้ายที่มีชีวิตจำนวน 10 ตัวจากหลอดเก็บตัวอย่าง พร้อมอาหาร ลงในกล่องทดสอบความเป็นพิษ ระวังไม่ให้เพลี้ยไฟฝ้ายสัมผัสกับกระดาษกรองที่ชุบน้ำมันหอมระเหยโดยตรง ปิดกล่องทดสอบความเป็นพิษด้วยฝาแบบมีช่องระบายอากาศซึ่งปิดผ้าตาข่ายแบบถี่เพื่อกันแมลงหนีออกไว้ ดังรูปที่ 3.8



รูปที่ 3.8 กล่องทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันหอมระเหยใช้ฝาแบบมีช่องระบายอากาศ

3. กล่องทดสอบความเป็นพิษที่มีเพลี้ยไฟฝ้ายจะนำเข้าไปเก็บใน incubator ที่มีอุณหภูมิ 26± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) และนับจำนวนเพลี้ยไฟฝ้ายที่ตายในเวลา 10 นาที 15 นาที 30 นาที 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 9 ชั่วโมง 12 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง (1วัน) 48 ชั่วโมง (2 วัน) 72 ชั่วโมง (3 วัน) 96ชั่วโมง (4 วัน) 120 ชั่วโมง (5 วัน) 144 ชั่วโมง (6 วัน) และ 168 ชั่วโมง (7 วัน) เก็บข้อมูลเพื่อนำมาวิเคราะห์ผล โดยในแต่ชนิดและความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจะทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

<u>การทดลองที่ 2</u> การวิเคราะห์หาสารสำคัญและอัตราส่วนของสารในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยสารละลายที่มีผลต่อเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยวิธี GC และ GC-MS analysis

เนื่องจากผลการทดลองในการทดลองที่ 1 ไม่พบว่าสารสกัดในน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายจึงไม่ได้ทำการทดลองต่อไป

<u>การทดลองที่ 3</u> การทดสอบผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะตัวเต็มวัยโดยใช้วิธี Median Lethal Concentration (LC_{50})

3.1 ผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ

ทดสอบด้วยวิธีการตามการทดลองที่ 1 แต่เปลี่ยนแปลงสารสกัดเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

1.1เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ไม่เจือจาง (เอทิลแอลกอฮอล์ 70%)

1.2 เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เจือจางด้วยน้ำ 1:1 (เอทิลแอลกอฮอล์ 35%)

1.3 เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เจือจางด้วยน้ำ 1:2 (เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33%)

1.4 เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เจือจางด้วยน้ำ 1:3 (เอทิลแอลกอฮอล์ 17.5%)

1.5 เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เจือจางด้วยน้ำ 1:4 (เอทิลแอลกอฮอล์ 11.67%)

3.2 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะเวลาต่างๆ

หาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะเวลา 30 นาที และ 1 ชั่วโมง ด้วยหลักการคำนวณสมการถดถอยอย่างง่าย (simple linear regression)

บทที่ 4 อภิปรายผลและสรุปผลการทดลอง

(Results and Discussion)

ผลการศึกษาตามขั้นตอนการเตรียมการก่อนการทดลองและการทดลอง 2 การทดลอง มีดังนี้

การเตรียมการก่อนการทดลอง

1. <u>การเตรียมน้ำมันหอมระเหย</u>

จากการทดลองสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ทำการศึกษา ได้แก่

1. มะกรูด ส่วนที่ใช้สกัด คือ ผิว ลักษณะที่ใช้ในการสกัด 2 ลักษณะคือ ปั่นละเอียด และ หั่นเป็นชิ้น
2. ขมิ้น ส่วนที่ใช้สกัด คือ หัวปอกเปลือก ลักษณะที่ใช้ในการสกัด 2 ลักษณะคือ ปั่นละเอียด และ หั่นเป็นชิ้นบาง
3. กานพลู ส่วนที่ใช้สกัด คือ ก้าน ลักษณะที่ใช้ในการสกัด 2 ลักษณะคือ บดละเอียด และ ไม่ทำการบด

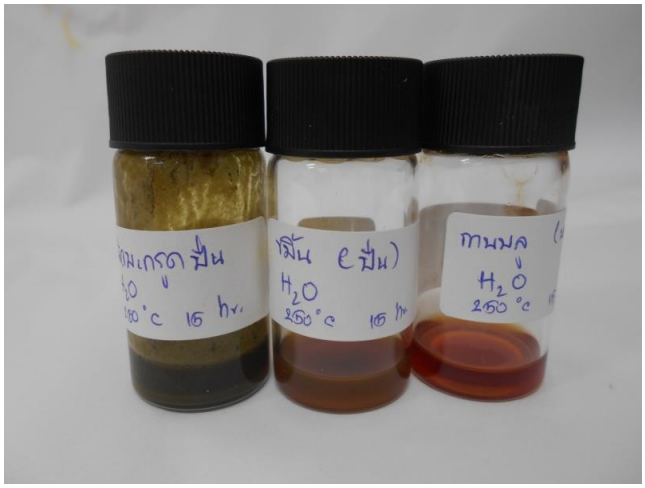
ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธี Soxhlet extraction ด้วยตัวทำละลายต่างๆ แบ่งเป็นการสกัดด้วยน้ำกลั่น การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% และการสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ได้ผลการสกัดดังนี้

1. การสกัดด้วยน้ำกลั่น

ภาวะในการสกัด : ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ได้ผลการสกัดดังนี้

ตารางที่ 4.1 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วยน้ำ

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ลักษณะ	ปริมาณน้ำมันที่ได้ (ต่อวัตถุดิบสด 100 กรัม)	ลักษณะน้ำมันที่ได้
มะกรูด	ผิว	ปั่น	‹ 3 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นไหม้
มะกรูด	ผิว	หั่นเป็นชิ้น	ไม่ได้ทำการทดลอง	
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	ปั่น	5 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นไหม้
ขมิ้น	หัวสด	หั่นเป็นชิ้นบาง	ไม่ได้ทำการทดลอง	
กานพลู	ก้าน	บดละเอียด	-	- สารละลายมีกลิ่นไหม้ไม่สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้ - ได้ตะกอนขาวขุ่น ลักษณะเหมือนไขมันจับเป็นก้อนจำนวนเล็กน้อย
กานพลู	ก้าน	ไม่บด	ไม่ได้ทำการทดลอง	



ภาพที่ 4.1 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

จากสารสกัดที่ได้พบว่าการใช้น้ำกลั่นสกัด จำเป็นต้องให้ความร้อนเป็นเวลานาน แต่เมื่อให้ความร้อนเป็นเวลานานกลับพบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีกลิ่นไหม้ (กรณีมะกรูด และขมิ้น) ซึ่งจะมีผลต่อคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหย หรือไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันหอมระเหยออกมาได้ (กรณีกานพลู) เนื่องจากผลผลิตที่ได้ต่ำเกินไป

2. การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 %

ภาวะในการสกัด : ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ได้ผลการสกัดดังนี้

ตารางที่ 4.2 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอลล์ 70%

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ลักษณะ	ปริมาณน้ำมันที่ได้ (ต่อวัตถุดิบสด 100 กรัม)	ลักษณะน้ำมันที่ได้
มะกรูด	ผิว	ปั่น	30 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นธรรมชาติ - มีสีขุ่น ตะกอนปน
มะกรูด	ผิว	หั่นเป็นชิ้น	30 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นธรรมชาติ - มีสีขุ่น ตะกอนปนเล็กน้อย
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	ปั่น	50 มิลลิลิตร	- ใส มีสีเหลืองส้ม
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	หั่นเป็นชิ้นบาง	60 มิลลิลิตร	- ใส มีสีเหลืองส้ม
กานพลู	ก้าน	บดละเอียด	-	- ได้ตะกอนขาวขุ่นลักษณะเหมือนน้ำมันจับเป็นก้อน - ไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันออกมาได้
กานพลู	ก้าน	ไม่บด	5 มิลลิลิตร	- การแยกน้ำมันออกจากสารละลายด้วยวิธีการแยกชั้นทำได้ยาก

ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70 % เป็นตัวทำละลาย

จากสารสกัดที่ได้พบว่าการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70 % เป็นตัวทำละลายในการสกัด สามารถลดเวลาในการให้ความร้อนได้ ผลการสกัดโดยการใช้วัตถุดิบหั่นละเอียดมีปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยน้อยกว่าหรือเท่ากับการสกัดทั้งชิ้น อีกทั้งในการสกัดผิวมะกรูด พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้มีความขุ่น มีตะกอนมาก ใน

การสกัดด้วยสารละลายอื่นจึงเลือกใช้เฉพาะวัตถุดิบแบบหั่นชิ้น ในขณะที่การสกัดกานพลูพบว่าไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันหอมระเหยออกมาได้เมื่อใช้วัตถุดิบบดละเอียดแสดงให้เห็นว่ายังไม่ใช่ภาวะที่เหมาะสม

3. การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 %

ภาวะในการสกัด : ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ให้ผลการสกัดดังนี้

ตารางที่ 4.3 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอลล์ 95%

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ลักษณะ	ปริมาณน้ำมันที่ได้ (ต่อวัตถุดิบสด 100 กรัม)	ลักษณะน้ำมันที่ได้
มะกรูด	ผิว	ปั่น	ไม่ได้ทำการทดลอง	
มะกรูด	ผิว	หั่นเป็นชิ้น	100 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นธรรมชาติ - มีสีขุ่น ตะกอนปนเล็กน้อย
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	ปั่น	ไม่ได้ทำการทดลอง	
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	หั่นเป็นชิ้นบาง	100 มิลลิลิตร	- ใส มีสีเหลืองส้ม
กานพลู	ก้าน	บดละเอียด	-	- ได้ตะกอนขาวขุ่นลักษณะเหมือนน้ำมันจับเป็นก้อน - สารละลายใส มีกลิ่นกานพลู แต่ไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันออกมาได้
กานพลู	ก้าน	ไม่บด	20 มิลลิลิตร	- ได้น้ำมันไม่บริสุทธิ์ เนื่องจากการแยกน้ำมันออกจากสารละลายด้วยวิธีการแยกชั้นทำได้ยาก

ภาพที่ 4.3 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95 % (ไม่ปรับ pH) เป็นตัวทำละลาย

จากสารสกัดที่ได้พบว่าการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (ไม่ปรับ pH) เป็นตัวทำละลายในการสกัด สามารถลดเวลาในการให้ความร้อนได้เช่นเดียวกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ผลการสกัดพบว่าปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากการสกัดทั้งชิ้นมีมากกว่าวิธีอื่นๆ ในขณะที่การสกัดกานพลูพบว่าไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันหอมระเหยออกมาได้เมื่อใช้วัตถุดิบบดละเอียดแสดงให้เห็นว่ายังไม่ใช่ภาวะที่เหมาะสม เช่นเดียวกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70%

4. การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ปรับ pH ให้เป็นกรด (pH 5.5)

สภาวะในการสกัด : ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ให้ผลการสกัดดังนี้

ตารางที่ 4.4 ตารางลักษณะน้ำมันหอมระเหยและปริมาณที่สกัดได้จากวัตถุดิบต่างๆ เมื่อสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอลล์ 95% ปรับ pH ให้เป็นกรด (pH 5.5)

ชนิดพืช	ส่วนที่ใช้	ลักษณะ	ปริมาณน้ำมันที่ได้ (ต่อวัตถุดิบสด 100 กรัม)	ลักษณะน้ำมันที่ได้
มะกรูด	ผิว	ปั่น	ไม่ได้ทำการทดลอง	
มะกรูด	ผิว	หั่นเป็นชิ้น	100 มิลลิลิตร	- มีกลิ่นธรรมชาติ - มีสีขุ่น มีตะกอนปน
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	ปั่น	ไม่ได้ทำการทดลอง	
ขมิ้น	หัวสดปอกเปลือก	หั่นเป็นชิ้นบาง	100 มิลลิลิตร	- ใส มีสีเหลืองส้ม
กานพลู	ก้าน	บดละเอียด	-	- ได้ตะกอนขาวขุ่นลักษณะเหมือนน้ำมันจับเป็นก้อน สารละลายมีสีขุ่นดำ - ไม่สามารถแยกชั้นน้ำมันออกมาได้
กานพลู	ก้าน	ไม่บด	20 มิลลิลิตร	- ได้น้ำมันไม่บริสุทธิ์ และมีตะกอนขาวขุ่นลักษณะเหมือนไขมันจับเป็นก้อนจำนวนมาก สารละลายมีลักษณะเป็นสีขุ่นดำ

ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะสารสกัดที่ได้จากการใช้แอลกอฮอล์ 95 % (ปรับ pH) เป็นตัวทำละลาย

จากสารสกัดที่ได้พบว่าการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (ปรับ pH) เป็นตัวทำละลายในการสกัด สามารถลดเวลาในการให้ความร้อนได้เช่นเดียวกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% และ 95% ผลการสกัดพบว่าปริมาณผลผลิตของน้ำมันหอมระเหยจากการสกัดทั้งชิ้นมีปริมาณใกล้เคียงกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (ไม่ปรับ pH) เป็นตัวทำละลายในการสกัด ในขณะที่การสกัดกานพลูพบว่ามีผลผลิตต่ำลงแสดงให้เห็นว่าภาวะที่ทำการสกัดไม่เหมาะสม

<u>สรุปผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยในภาวะต่างๆ</u>

1. น้ำมันหอมระเหยที่ได้เมื่อทำการแยกชั้นยังคงมีความไม่บริสุทธิ์อยู่บ้าง

2. การใช้ตัวอย่างควรหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ มากกว่าทำการบดหรือการปั่น โดยพบว่าได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าการบดหรือการปั่น

3. สารละลายที่ใช้สกัดได้ดีที่สุดคือ เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ที่ไม่ได้ทำการปรับ pH โดยให้ผลผลิตดีที่สุด

4. ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วย soxhlet extraction ของวัตถุดิบทั้งสามชนิดเพื่อนำไปทดสอบ คือ การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง

2. <u>การเตรียมเพลี้ยไฟฝ้าย</u>

การทดลองเลี้ยงเพลี้ยไฟในเริ่มแรกไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากเกิดปัญหาและอุปสรรค คือ มีแมลงศัตรูเข้าทำลายเพลี้ยไฟที่ทำการเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ ได้แก่ มดคันไฟและแมงมุม นอกจากนั้นความชื้นในอากาศที่สูงทำให้การเจริญของเพลี้ยไฟไม่เป็นไปตามที่ตั้งเป้าหมายไว้ จึงปรับเปลี่ยนวิธีการเตรียมเพลี้ยไฟโดยทำการสำรวจตามแปลงปลูกพืชของเกษตรกรและทำการจับเพลี้ยไฟที่พบในระยะที่สามารถจะนำมาทดลองได้มาทำการอนุบาลเพื่อเตรียมความพร้อมก่อนทำการทดลอง

ในพื้นที่ จ.ราชบุรีมีการปลูกพืชที่มีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายหลายจุด เมื่อเข้าไปทำการสำรวจพบว่ามีสามแหล่งคือ พื้นที่บริเวณ ต.น้ำพุ อ.เมือง จ.ราชบุรี พื้นที่ ต.ด่านทับตะโก อ.จอมบึง จ.ราชบุรี และพื้นที่ ต.สวนผึ้ง อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี มีการปลูกพริกขี้หนูและมีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้ายจึงได้ทำการเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟระยะตัวเต็มวัยมาทำการทดลอง

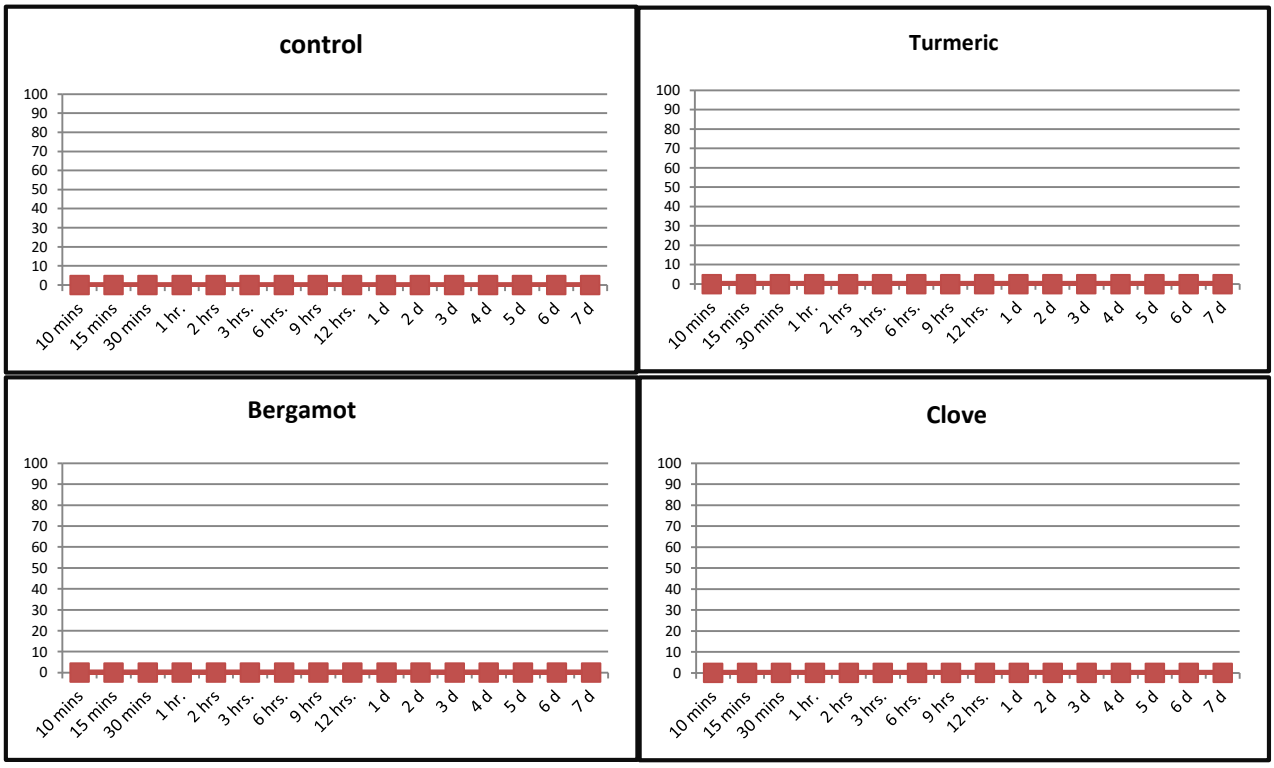
ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะแปลงพริกขี้หนูที่มีการระบาดของเพลี้ยไฟฝ้าย

ผลการทดลอง

<u>การทดลองที่ 1</u> การทดสอบผลการรมควันด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะตัวเต็มวัยโดยใช้วิธี Median Lethal Concentration (LC_{50})

1.1 สารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

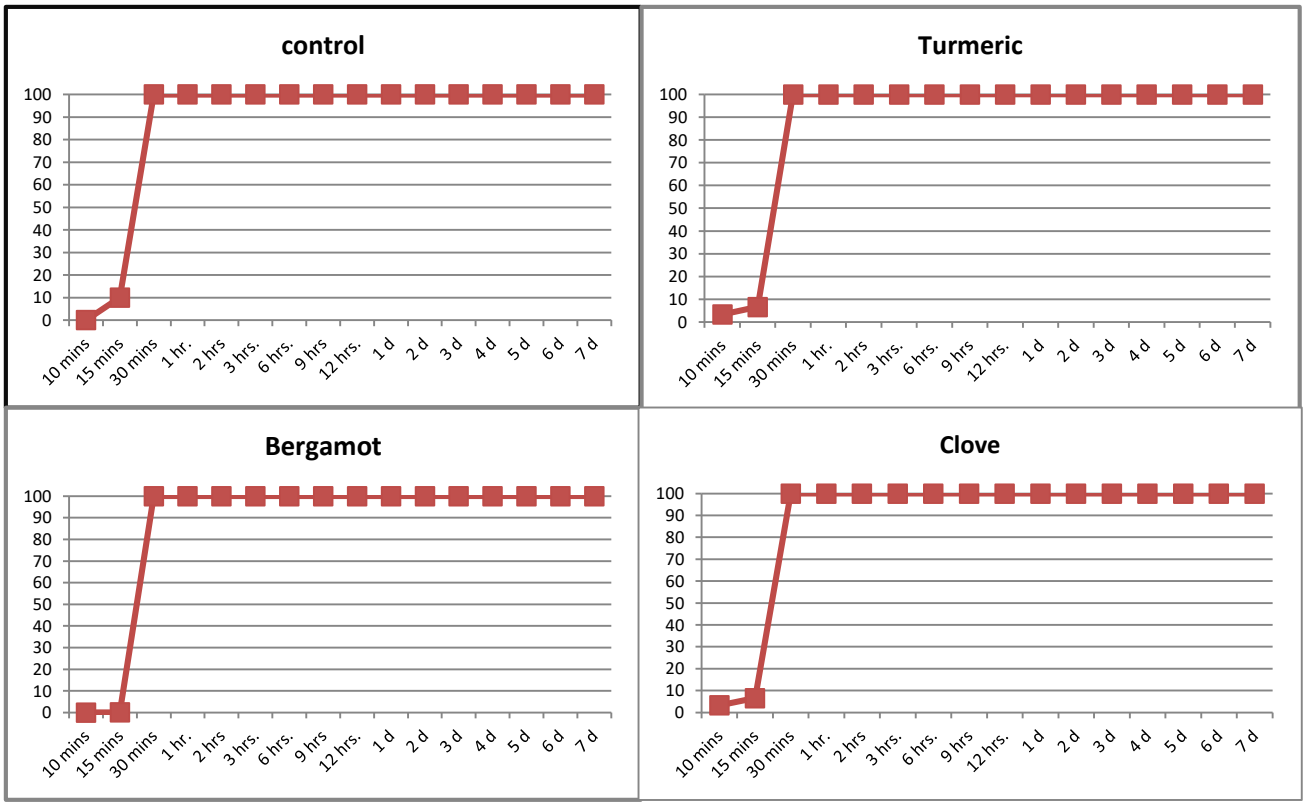
กราฟที่ 4.1 แสดงผลการรมควันด้วยสารสกัดที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยแกน Y แสดงอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย (เปอร์เซ็นต์; n = 30) และแกน X เวลาที่ทำการบันทึกผลนับจากการเริ่มรมควัน โดยสารสกัดที่ใช้ทดสอบประกอบด้วย น้ำเปล่า (control) มะกรูด (bergamot) ขมิ้น (turmeric) และกานพลู (clove)



จากกราฟทั้งหมดพบว่า การรมควันด้วยน้ำ (control) และสารสกัดจากพืชทั้งสามชนิดไม่ทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตาย ซึ่งอาจเป็นไปได้ในสองกรณี คือ สารสกัดที่มีผลต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในพืชทั้งสามชนิดไม่ละลายในน้ำ หรือในน้ำมันหอมระเหยของพืชทั้งสามชนิดไม่มีฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเพลี้ยไฟฝ้าย ทั้งนี้จึงได้ทำการทดลองทดสอบสมมุติฐานทั้งสองกรณีต่อไปในการทดลองที่ 1.1.2

1.2 สารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นตัวทำละลาย (70% Ethanol)

กราฟที่ 4.2 แสดงผลการรมควันด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นตัวทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยแกน Y แสดงอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย (เปอร์เซ็นต์; n = 30) และแกน X เวลาที่ทำการบันทึกผลนับจากการเริ่มรมควัน โดยสารสกัดที่ทดสอบประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% (control) มะกรูด (bergamot) ขมิ้น (turmeric) และกานพลู (clove)

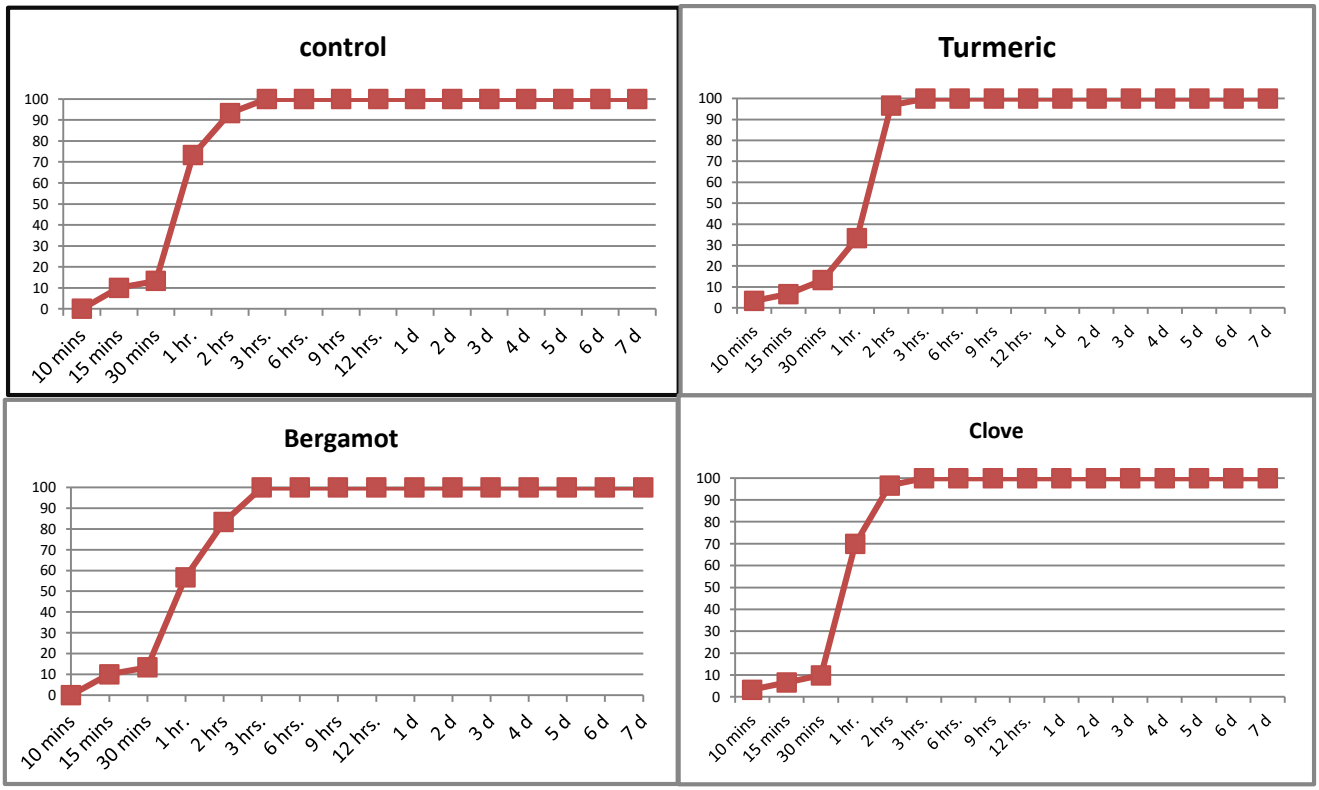


จากกราฟพบว่า ผลการรมควันด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ต่อเพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 30 นาที เช่นเดียวกับผลการรมควันด้วยสารสกัดมะกรูด ขมิ้น และกานพลูต่อเพลี้ยไฟฝ้าย โดยทั้งสามภาวะพบว่าเพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 30 นาทีเช่นกัน

จากทดลอง 1.2 พบว่า การรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (control) และสารสกัดจากพืชทั้งสามชนิดส่งผลให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายในระดับเดียวกัน ซึ่งทำให้สามารถตอบสมมติฐานของการอธิบายเกี่ยวกับสารสกัดที่มีฤทธิ์ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในพืชทั้งสามชนิดไม่ละลายในน้ำจากการทดลอง 1.1.1 ว่าไม่เป็นจริง เนื่องจากแม้ว่าจะเปลี่ยนตัวทำละลาย แต่ผลของสารสกัดเมื่อเทียบกับ control ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการตายของเพลี้ยไฟฝ้ายอาจเกิดจากการผลของเอทิลแอลกอฮอล์ หรือ อาจเกิดจากผลของสารสกัดยังไม่ส่งผลต่อการตายอย่างชัดเจนเนื่องจากผลของเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นสูง จึงได้ทำการออกแบบการทดลอง 1.3 และ 1.4 ต่อไป

1.3 สารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 35% เป็นตัวทำละลาย (35% Ethanol)

กราฟที่ 4.3 แสดงผลการรมควันด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 35% เป็นตัวทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยแกน Y แสดงอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย (เปอร์เซ็นต์; n = 30) และแกน X เวลาที่ทำการบันทึกผลนับจากการเริ่มรมควัน โดยสารสกัดที่ทดสอบประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 35% (control) มะกรูด (bergamot) ขมิ้น (turmeric) และกานพลู (clove)

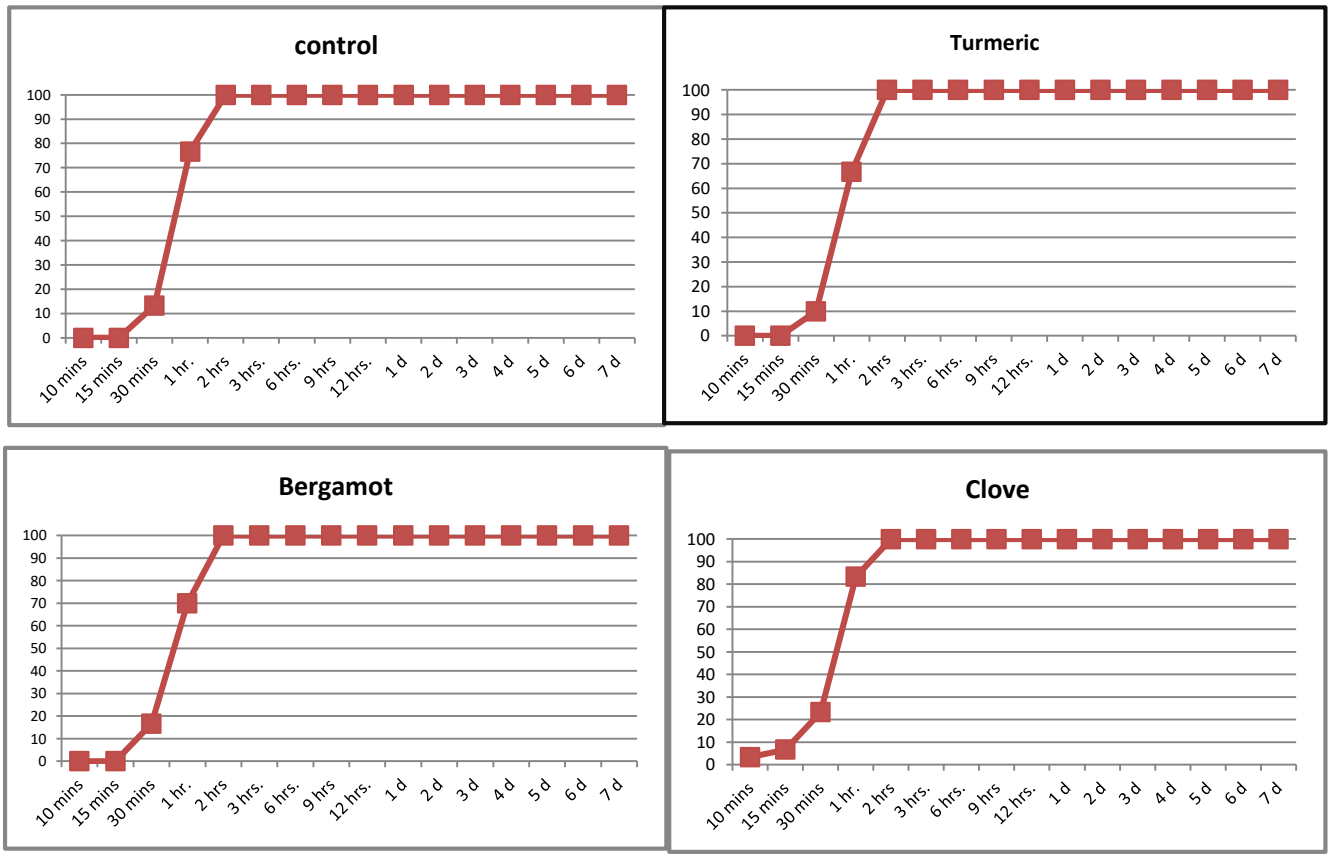


จากกราฟพบว่า ผลการรมควันด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 35% ต่อเพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 3 ชั่วโมง โดยเริ่มมีอัตราการตายอยู่ในระหว่างช่วง 15 นาที ถึง 3 ชั่วโมง เช่นเดียวกับผลการรมควันด้วยสารสกัดมะกรูด ขมิ้น และกานพลูต่อเพลี้ยไฟฝ้าย โดยทั้งสามภาวะพบว่าเพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 3 ชั่วโมง โดยเริ่มมีอัตราการตายอยู่ในระหว่างช่วง 15 นาที ถึง 3 ชั่วโมงเช่นกัน

ผลการทดลองที่ 1.1.3 สามารถตอบสมมติฐานได้ว่าน้ำมันหอมระเหยของพืชทั้งสามชนิดไม่มีฤทธิ์ที่เป็นพิษต่อเพลี้ยไฟฝ้ายจริง เนื่องจากผลการสังเกตอัตราการตายไม่แตกต่างจาก control แม้ว่าจะเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ทำการสกัด ทั้งนี้ได้ทำการทดสอบซ้ำด้วยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ในการสกัดเพื่อลดความเข้มข้นของสารสกัดอีกครั้งหนึ่งโดยใช้สารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% เป็นตัวทำละลาย

1.4 สารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% เป็นตัวทำละลาย (22.33% Ethanol)

กราฟที่ 4.4 แสดงผลการรมควันด้วยสารสกัดที่ใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% เป็นตัวทำละลายต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยแกน Y แสดงอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย (เปอร์เซ็นต์; n = 30) และแกน X เวลาที่ทำการบันทึกผลนับจากการเริ่มรมควัน โดยสารสกัดที่ทดสอบประกอบด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% (control) มะกรูด (bergamot) ขมิ้น (turmeric) และกานพลู (clove)



จากกราฟพบว่า ผลการรมควันด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 23.33% ต่อเพลี้ยไฟฝ้าย เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 2 ชั่วโมง โดยเริ่มมีอัตราการตายอยู่ในระหว่างช่วง 30 นาที ถึง 2 ชั่วโมง เช่นเดียวกับผลการรมควันด้วยสารสกัดมะกรูด ขมิ้น และกานพลูต่อเพลี้ยไฟฝ้าย โดยทั้งสามภาวะพบว่าเพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 2 ชั่วโมง โดยเริ่มมีอัตราการตายอยู่ในระหว่างช่วง 15 นาที ถึง 3 ชั่วโมงเช่นกัน

เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการทดลอง 1.1.2, 1.1.3 และ 1.1.4 จะเห็นได้ว่าการใช้สารสกัดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลาย (เอทิลแอลกอฮอล์) มีความเข้มข้นเท่ากัน ไม่มีความแตกต่างกัน

อย่างไรก็ตามผลการทดลอง 1.1.4 (ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 23.33%) จะพบว่าเพลี้ยไฟฝ้ายมีอัตราตาย 100 % ที่ 2 ชั่วโมง ในขณะที่การทดลอง 1.1.3 (ตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 35%) เพลี้ยไฟฝ้ายจะมีอัตราตาย 100 % ที่ 3 ชั่วโมง แต่เมื่อพิจารณาจากข้อมูลในกราฟ จะพบว่าเริ่มมีอัตราการตายอยู่ในระหว่างช่วง 15 นาที ในขณะที่การทดลอง 1.1.4 จะพบอัตราการตายเริ่มต้นที่ 30 นาที แสดงให้เห็นว่าเพลี้ยไฟมีการตอบสนองต่อไอระเหยของเอทิลแอลกอฮอล์แตกต่างกันได้

<u>สรุปผลการทดลองผลการรมควันด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ</u>

สารสกัดที่ทำการสกัดด้วยน้ำไม่มีความแตกต่างกับสารที่เป็น control สารที่อยู่ในมะกรูด, ขมิ้นชัน และกานพลูไม่มีผลต่อการตายของเพลี้ยไฟ แต่พบว่า เมื่อใช้สารสกัดเป็นเอทิลแอลกอฮอล์ สามารถทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายได้ ทั้งนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสารสกัดจากการใช้เอทิลแอลกอฮอล์และเอทิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว จึงได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของการรมเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ต่อไป

ทั้งนี้ผลจากการทดลองที่ 1.1.2, 1.1.3 และ 1.1.4 จึงถูกนำมาออกแบบการทดลองเพื่อตอบสมมติฐานใหม่ นั่นคือ เอทิลแอลกอฮอล์มีความเป็นพิษต่อเพลี้ยไฟฝ้าย (การทดลองที่ 3) และเพื่อหา LC_{50} ของแอลกอฮอล์ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายต่อไป

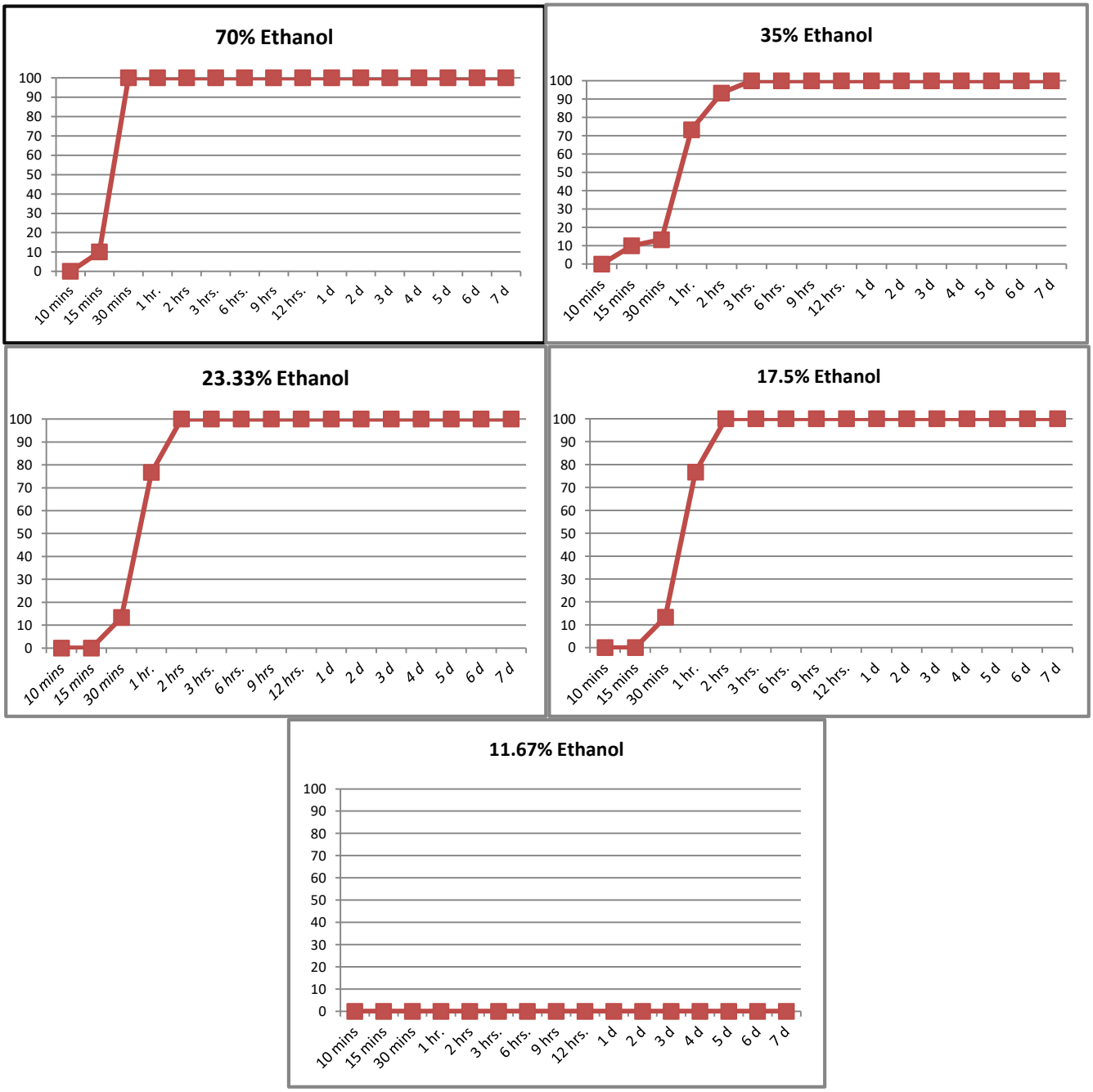
<u>การทดลองที่ 2</u> การวิเคราะห์หาสารสำคัญและอัตราส่วนของสารในน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยสารละลายที่มีผลต่อเพลี้ยไฟฝ้ายด้วยวิธี GC และ GC-MS analysis

ไม่ได้ดำเนินการทดลองเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ไม่มีผลต่อการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย

<u>การทดลองที่ 3</u> การทดสอบผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ ต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะตัวเต็มวัยโดยใช้วิธี Median Lethal Concentration (LC_{50})

3.1 ผลการรมควันด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ

กราฟที่ 4.5 แสดงผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นต่างๆ (% v/v) ต่อเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยไฟฝ้าย โดยแกน Y แสดงอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย (เปอร์เซ็นต์; n = 30) และแกน X เวลาที่ทำการบันทึกผลนับจากการเริ่มรมควัน โดยมีความเข้มข้น 70%, 35%, 23.33% 17.5% และ 11.67% ตามลำดับ



ผลการทดลองพบว่า ผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 70% เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 50% อยู่ในช่วงเวลา 15 ถึง 30 นาที และมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 30 นาทีในขณะที่ระดับความเข้มข้น 35% เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 50% อยู่ในช่วงเวลา 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง และมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 3 ชั่วโมง ผลการรมควันด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 23.33% เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 50% อยู่ในช่วงเวลา 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง และมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 2 ชั่วโมง ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 17.5% เพลี้ยไฟมีอัตราการตาย 50% อยู่ในช่วงเวลา 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง และมีอัตราการตาย 100% ที่เวลา 2 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามพบว่าผลการรมควันด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 11.67% ไม่พบอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย

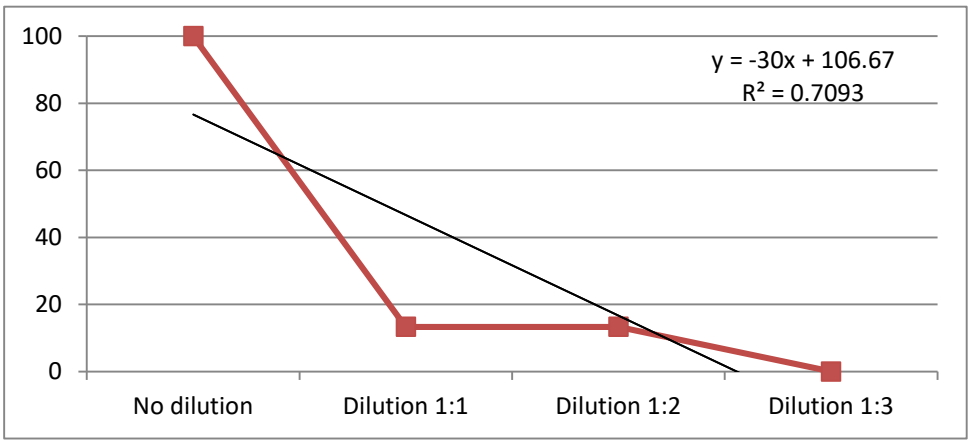
กล่าวโดยสรุปคือความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายจากการทดลองนี้ คือ 16.67% เอทิลแอลกอฮอล์ และเอทิลแอลกอฮอล์มีฤทธิ์ในการฆ่าเพลี้ยไฟฝ้ายจริง โดยมีอัตราการตาย 50% ระหว่างช่วงเวลา 15 นาที ถึง 1 ชั่วโมง และ 100% ระหว่าง 30 นาทีถึง 2 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับความเข้มข้น

3.2 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายในระยะเวลาต่างๆ

จากผลของการทดลอง 3.1 สามารถนำมาหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่ช่วงเวลาต่างๆ เพื่อระบุค่าความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการใช้งานดังแสดงในกราฟ

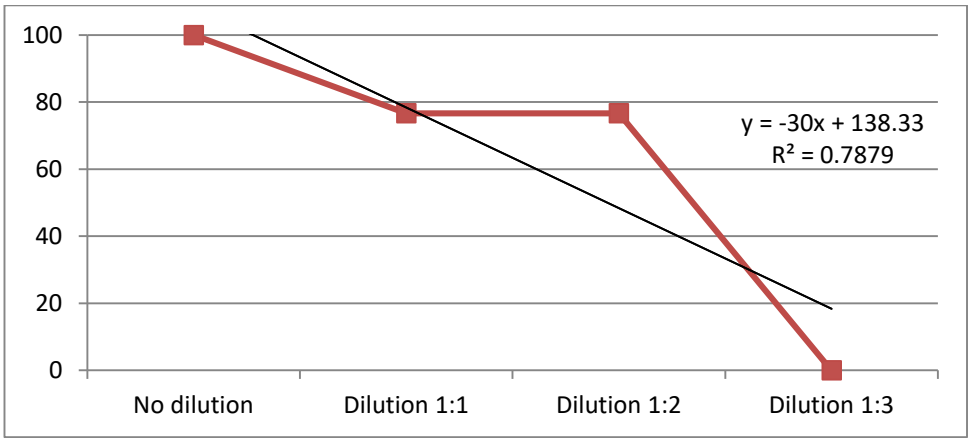
จากกราฟที่ 4.6 พบว่าเมื่อต้องการอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้ายที่ 50% ในเวลา 30 นาที ควรจะรมพื้นที่ให้อากาศอิ่มตัวด้วยไอระเหยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% 1 ส่วน ต่อน้ำ 1.9 ส่วน (จากสมการ y = -30x + 106.67 เมื่อ Y = อัตราการตาย และ X = สัดส่วนการเจือจาง) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ 24.14% ดังนั้น ความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ที่จะทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตาย 50% หรือ LC_{50} ที่ 30 นาที คือ 24.14% (v/v)

กราฟที่ 4.6 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายเมื่อใช้เวลารมควัน 30 นาที



จากกราฟที่ 4.7 พบว่าเมื่อต้องการอัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้ายที่ 50% ในเวลา 1 ชั่วโมง ควรจะรมพื้นที่ให้อากาศอิ่มตัวด้วยไอระเหยเอทิลแอลกอฮอล์ 70% 1 ส่วน ต่อน้ำ 2.9 ส่วน (จากสมการ y = -30x + 138.33 เมื่อ Y = อัตราการตาย และ X = สัดส่วนการเจือจาง) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ 17.95% ดังนั้น ความเข้มข้นของเอทิลแอลกอฮอล์ที่จะทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตาย 50% หรือ LC_{50} ที่ 1 ชั่วโมง คือ 17.95% (v/v) เอทิลแอลกอฮอล์

กราฟที่ 4.7 การหาค่า LC_{50} ของเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีต่อเพลี้ยไฟฝ้ายเมื่อใช้เวลารมควัน 1 ชั่วโมง



<u>สรุปผลการทดลองผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ</u>

1. การทดสอบความเป็นพิษของไอระเหยของเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่ออัตราการตายของเพลี้ยไฟฝ้ายพบว่า เอทิลแอลกอฮอล์ฝ้ายมีฤทธิ์ในการฆ่าเพลี้ยไฟฝ้ายจริง โดยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายจากการทดลองนี้ คือ 16.67% เอทิลแอลกอฮอล์ โดยมีอัตราการตาย 50% ระหว่างช่วงเวลา 15 นาที ถึง 1 ชั่วโมง และ 100% ระหว่าง 30 นาที ถึง 2 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับความเข้มข้น
2. ค่า LC_{50} ของการรมควันของเอทิลแอลกอฮอล์ให้อากาศอิ่มตัวที่ 30 นาที คือ 24.14% (v/v) เอทิลแอลกอฮอล์ และ ค่า LC_{50} ของการรมควันของเอทิลแอลกอฮอล์ให้อากาศอิ่มตัวที่ 1 ชั่วโมง คือ 17.95% (v/v) เอทิลแอลกอฮอล์

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusions and Recommendations)

สรุปผลการสกัดน้ำมันหอมระเหยในภาวะต่างๆ และข้อเสนอแนะ

น้ำมันหอมระเหยสกัดเลือกใช้การสกัดแบบ Soxhlet extraction เนื่องจากโดยทั่วไปการน้ำมันหอมระเหยจะให้ปริมาณที่น้อย การเลือกใช้น้ำและเอทิลแอลกอฮอล์เพื่อให้เกษตรกรสามารถนำไปผลิตได้เอง ผลที่ได้พบว่า

1. น้ำมันหอมระเหยที่ได้เมื่อทำการแยกชั้นยังพบอิมัลชันอยู่บ้าง ไม่สามารถแยกให้ได้น้ำมันหอมระเหยที่บริสุทธิ์ โดยเฉพาะการสกัดกานพลู
2. ตัวอย่างควรหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ มากกว่าทำการบดหรือการปั่น โดยพบว่าได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าการบดหรือการปั่นและมีความขุ่นน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด
3. ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วย soxhlet extraction ของวัตถุดิบทั้งสามชนิดเพื่อนำไปทดสอบ คือ การสกัดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % ให้ความร้อนกับ soxhlet อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง
4. สารละลายที่ใช้สกัดได้ดีที่สุดของทั้งสามวัตถุดิบ คือ เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ที่ไม่ได้ทำการปรับ pH โดยให้ผลผลิตดีที่สุด อย่างไรก็ตามหากต้องการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากมะกรูดหรือขมิ้น สามารถใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 70% ได้เช่นกันเนื่องจากได้ผลผลิตปริมาณใกล้เคียงกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์ 95% ที่ไม่ได้ทำการปรับ pH

สรุปผลการทดลองผลการรมควันด้วยน้ำมันหอมระเหยต่อเพลี้ยไฟฝ้ายที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ

สารสกัดจากมะกรูด, ขมิ้นชันและกานพลูที่ทำการสกัดด้วยน้ำไม่มีฤทธิ์ต่อการตายของเพลี้ยไฟฝ้าย แต่พบว่าเอทิลแอลกอฮอล์สามารถทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายได้ ทั้งนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสารสกัดจากมะกรูด, ขมิ้นชันและกานพลูด้วยตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอทิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว

สรุปผลการทดลองผลการรมควันด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นต่างๆ

3. เอทิลแอลกอฮอล์ฝ้ายมีฤทธิ์ในการฆ่าเพลี้ยไฟฝ้ายจริง โดยความเข้มข้นที่น้อยที่สุดที่มีฤทธิ์ทำให้เพลี้ยไฟฝ้ายตายจากการทดลองนี้ คือ 16.67% เอทิลแอลกอฮอล์
4. ลักษณะของผลการรมควันเอทิลแอลกอฮอล์เป็นแบบออกฤทธิ์เฉียบพลัน โดยมีอัตราการตาย 50% ระหว่างช่วงเวลา 15 นาที ถึง 1 ชั่วโมงจากความเข้มข้น 70%-16.67% และ 100% ระหว่าง 30 นาทีถึง 2 ชั่วโมงจากความเข้มข้น 70%-16.67%
5. ค่า LC_{50} ของการรมควันของเอทิลแอลกอฮอล์ให้อากาศอิ่มตัวที่ 30 นาที คือ 24.14% (v/v) เอทิลแอลกอฮอล์
6. ค่า LC_{50} ของการรมควันของเอทิลแอลกอฮอล์ให้อากาศอิ่มตัวที่ 1 ชั่วโมง คือ 17.95% (v/v) เอทิลแอลกอฮอลล์

ข้อเสนอแนะของงานวิจัยเพื่อประยุกต์ใช้ผลงานวิจัยให้เกิดประโยชน์

การควบคุมศัตรูพืชโดยใช้สารเคมี เป็นวิธีหนึ่งที่นำมาใช้ควบคุมศัตรูพืช โดยเฉพาะเมื่อการใช้วิธีการควบคุมศัตรูพืชอื่นๆ ไม่ได้ผล แต่จะต้องใช้อย่างเหมาะสมและปลอดภัย การใช้สารเคมีเพื่อกำจัดศัตรูพืชควรเริ่มจากการสำรวจศัตรูพืช เมื่อศัตรูพืชมีปริมาณสูง หรือศัตรูพืชทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตหรือเมื่อศัตรูพืชอยู่ในระยะที่กำจัดได้ยาก วิธีการใช้สารเคมีที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีเป็นเหยื่อล่อ เหยื่อ พิษหรือใช้สารล่อ หรือการฉีดเข้าลำต้น การใช้สารเคมีไม่ถูกต้องจะก่อให้เกิดผลเสียหลายประการ เช่น พบพิษตกค้างของสารเคมีในผลผลิต ปนเปื้อนใน สิ่งแวดล้อม เกิดอันตรายต่อผู้ใช้และผู้บริโภค เพิ่มต้นทุนในการผลิต นอกจากนี้ สารเคมียังทำลายกระบวนการควบคุมศัตรูพืชของศัตรูธรรมชาติ ทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศเปลี่ยนแปลง ไป กระบวนการควบคุมศัตรูพืชในระบบห่วงโซ่อาหารเปลี่ยนไป จนอาจทำให้การควบคุมโดยธรรมชาติไม่ได้ผลหรือยุ่งยากมากขึ้นในอนาคต

ในปัจจุบันมีการใช้ Isopropyl alcohol ในการกำจัดแมลงประเภทเพลี้ยแป้ง (mealybug) เพลี้ยอ่อน (aphids) แมลงหวี่ขาว (whitefly) และเพลี้ยหอย (soft scales) ในระดับครัวเรือนด้วยการพ่นสเปรย์ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าทำให้ใบพืชมีอาการไหม้ และการใช้เป็นการฉีดพ่นเข้าใส่แมลงโดยตรง (Bradley *et al*., 2010) อีกทั้งยังอาจฆ่าแมลงมีประโยชน์อื่นๆ ไปด้วยหากใช้ปริมาณมากเนื่องจากไม่ได้มีฤทธิ์เจาะจงกับแมลงที่ต้องการกำจัดเพียงอย่างเดียว

ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่าเอทิลแอลกอฮอล์ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่หาได้ทั่วไปมีฤทธิ์เป็นพิษเฉียบพลันกับเพลี้ยไฟฝ้ายระยะตัวเต็มวัย ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในเนื้อเยื่อเพลี้ยไฟฝ้ายเมื่อเทียบกับน้ำหนักตัว ซึ่งเอทิลแอลกอฮอล์นี้พบว่าในสัตว์ทั่วไปมีกลไกการกำจัดเอทิลแอลกอฮอล์ออกจากร่างกายด้วยเอนไซม์กลุ่ม alcohol dehydrogenase อย่างไรก็ตามในกลุ่มแมลงพบว่าความจำเพาะของเอนไซม์กลุ่มนี้ต่อเอทิลแอลกอฮอล์ค่อนข้างต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดไม่ดีนักเมื่อเทียบสัตว์ประเภทอื่น (Danielson *et al*., 1994) อย่างไรก็ตามในแมลงหลายชนิดแสดงความทนต่อเอทิลแอลกอฮอล์ในระดับ

หนึ่งและยังแสดงพฤติกรรมดึงดูดต่อเอทิลแอลกอฮอล์ได้อีกด้วย เช่น แมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*; Guarnieri and Heberlein, 2003) หรือผึ้ง (*Apis melifera*; Maze *et al*., 2006) แสดงให้เห็นว่าหากใช้การรมควันในระดับที่เหมาะสมจะสามารถนำมาใช้เพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชชนิดที่มีขนาดเล็กหลบซ่อนเก่งได้ดี อีกทั้งไม่มีความเป็นพิษตกค้างเนื่องจากระเหยได้ง่ายและสิ่งมีชีวิตทั่วไปมีกลไกการกำจัดเอทิลแอลกอฮอล์ออกจากร่างกาย

ปัจจุบันยังรายงานการทดสอบน้ำมันหอมระเหยในรูปแบบการรมควันที่มีผลต่อแมลงศัตรูพืชออกมาอยู่อย่างมากมาย พืชไม่ต่ำกว่า 75 ชนิดได้ถูกนำมาสกัดสาร ทดสอบกับแมลงต่างๆ อย่างไรก็ตามเนื่องจากสารส่วนใหญ่ในพืชมีอัตรการระเหยที่ค่อนข้างต่ำ ทำให้ถูกใช้ในการกำจัดแมลงในพื้นที่ขนาดเล็กเท่านั้น (Reviewed by Rajendra and Sriranjini, 2008) ซึ่งเอทิลแอลกอฮอล์จะสามารถนำมาใช้ร่วมกับน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่นๆ ในแง่ของการเป็น carrier phase ได้อีกด้วย เพื่อผลลัพธ์สำหรับการกำจัดแมลงมากกว่าหนึ่งชนิดในเวลาเดียวกันได้อีกด้วย

การรมควันในการวิจัยนี้ใช้การรมด้วยการทิ้งไว้ให้อากาศอิ่มตัว ใช้ปริมาตรสาร 1 มิลลิลิตรต่อกล่องปริมาตร 173.25 ลูกบาศก์เซนติเมตร (5.5 x 9 x 3.5 เซนติเมตร^3) ซึ่งหากจะนำไปใช้ประโยชน์จะต้องมีการคำนวนปริมาตรของโรงเรือนเพื่อหาปริมาณของการใช้งานที่เหมาะสมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ม.ป.ป. บทที่ 8 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) สืบค้นจาก http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/chapter8.pdf.

ชลิดา อุณหวัฒ, ศิริณี พูนไชยศรี, ลักขณา บำรุงศรี, ยุวรินทร์ บุญทบ, สุนัดดา เชาวลิต, ณัฐวัฒน์ แย้มยิ้ม และ สิทธิศิโรดม แก้วสวัสดิ์. 2554. อนุกรมวิธานแมลงศัตรูที่พบในเบญจมาศ. รายงานผลงานวิจัย ประจำปี 2554 สำนักวิจัยการพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร รหัสการทดลอง 09-02-49-01-02-01-36-51. หน้า 1953-1962.

วสกร บัลลังก์โพธิ์. ม.ป.ป. บทที่ 15 เรื่อง พิษวิทยานิเวศเบื้องต้น Principle of Ecotoxicology. ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สืบค้นจาก http://pirun.ku.ac.th/~fscibtb/Boonsatien/01424381_Ecology_files/Principle_of_Ecotoxicology.pdf

ศรีสุดา โท้ทอง ปยรัตน เขียนมีสุข ศิริณี พูนไชยศรี และ สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น. 2554. การศึกษาประสิทธิภาพกับดักกาวเหนียวสีตางๆกับเพลี้ยไฟในกลวยไม. รายงานการทดลองกลุมงานวิจัยแมลงศัตรูผักไมดอกและไม้ประดับ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. เพลี้ยไฟ Terebrantia. โรงพิมพ์คุรุสภาพลาดพร้าว กรุงเทพมหานคร.

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง, สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น, พวงผกา อ่างมณี และวนาพร วงษ์นิคง. 2554. ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟ ฝ้าย (cotton thrips, Thrips palmi Karny). ใน รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2555. (สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการ เกษตร) กรุงเทพฯ. หน้า 1-9.

Abou-Yousef H.M., Farghaly S.F. and Torkey H.M. 2010. Insecticidal Activity of Some Plant Extracts Against some Sap-Sucking Insect under Laboratory Condition. World Journal of Agricultural Science. 6(4): 434-439.

Bradley F. M., Ellis B. W. and Martin D. L. 2010. The organic gardener's handbook of natural pest and disease control: a complete guide to maintaining a healthy garden and yard the Earth-friendly way. New York: Rodale Books. p 378.

Bond E.J. 1984. Manual of fumigation for insect control: Chapter6 Chemical Used As Fumigants. FAO plant production and protection p 54. Food and agriculture organization of the United Nations.

Choi W.I., Lee E.H., Choi B.R., Park H.M. and Ahn Y.J. 2003. Toxicity of Plant Essential Oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology. 96(5): 1479-1489.

Chu S.S., Wang C.F., Du S.S., Lin S.L. and Lin Z.L. 2011. Toxicity of the essential oil of *Illicium difengpi* stem bark and its constituent compounds towards two grain storage insects. Journal of Insect Science. 11: 152 doi: 10.1673/031.011.15201.

Danielsson O., Atrian S., Luque T., Hjelmovist L., Gonzalez-Duarte R. and Jörnvall H. 1994. Fundamental molecular differences between alcohol dehydrogenase classes. Proc. Nati. Acad. Sci. USA. 91: 4980-4984.

Francine P., Veronique B., William B. B., Gabriel M.P., Yuling O., Elizabeth E. G.C., and Elizabeth J. M. 2013. Postharvest Control of Western Flower Thrips (Thysanoptera: Thripidae) and California Red Scale (Hemiptera: Diaspididae) with Ethyl Formate and Its Impact on Citrus Fruit Quality. Journal of Economic Entomology. 106(6): 2341-2348.

Guarnieri D.J. and Heberlein U. 2003. *Drosophila melanogaster*, a genetic model system for alcohol research. Int Rev Neurobiol. 54: 199-228.

Henry H. R. 1949. Methyl Bromide Fumigation of Imported Orchid Plants. Journal of Economic

Entomology. 42(4): 650–652. https://doi.org/10.1093/jee/42.4.650

Isman M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection . 19: 603-608.

Kim S.I, Park C., Ohh M.H., Cho H.C. and Ahn Y.J. 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Journal of Stored Products Research. 39(1): 11-19.

Maze I.S., Wright G.A. and Mustard J.A. 2006. Acute ethanol ingestion produces dose-dependent effects on motor behavior in the honey bee (*Apis mellifera*). Journal of Insect Physiology. 52 (11-12): 1243–1253.

Rajendran S. and Sriranjini V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research. 44: 126–135.

Wu J., Zhang W. L. and Wen G. 1995. Study on bisexual and parthenogenetic reproduction of *Thrips palmi* Karny. Natural Enemies of Insect1995-02. http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-KCTD199502000.htm