โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราต่อหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)

Antifeedant activity of volatile oil from *Ocimum sanctum* against larvae of *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)

ชื่อนิสิต นายสุรศักดิ์ แซ่ตั่น **เลขประจำตัว** 5932054423

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราต่อหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)

Antifeedant activity of volatile oil from *Ocimum sanctum* against larvae of *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)

นายสุรศักดิ์ แซ่ตั่น

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562

ชื่อโครงการ	: ประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา ต่อหนอนหัวดำมะพร้าว *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นายสุรศักดิ์ แซ่ตั่น
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*Opisina arenosella* walker) เป็นแมลงศัตรูมะพร้าวที่สร้างความเสียหายอย่างหนักแก่เกษตรกรไทยตั้งแต่ปี 2553 ต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน วิธีการควบคุมจำนวนผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวที่เกษตรกรนิยมใช้ในปัจจุบัน คือ การใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมีที่ใช้มักจะส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น เช่น แมลงศัตรูธรรมชาติ และสัตว์ขาปล้องชนิดอื่น งานวิจัยครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*Ocimum sanctum*) ที่สกัดด้วยวิธี hydrodistillation ต่อหนอนหัวดำมะพร้าวในระยะ 2 และ 3 โดยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ถูกเจือจางด้วย 95% เอทานอล ให้มีความเข้มข้น 10%, 20% และ 30% (W/V) เพื่อใช้เป็นชุดทดสอบ ผลการทดสอบใน 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 3 ความเข้มข้นสามารถยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 20% และ 30% สามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนทั้ง 2 ระยะ 100% และน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10% สามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนระยะที่ 2 และ 3 ได้ 99.67% และ 100% ตามลำดับ นอกจากนี้น้ำมันหอมระเหยยังสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนได้ดีอีกด้วย การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) สามารถใช้สำหรับการจัดการควบคุมจำนวนหนอนหัวดำมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: การยับยั้งการกินอาหาร, กะเพรา, น้ำมันหอมระเหย, แมลงศัตรูมะพร้าว, หนอนหัวดำมะพร้าว

Research Title	: Antifeedant activity of volatile oil from *Ocimum sanctum* against larvae of *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera)
Student name	: Mr. Surasak Saetun
Advisor	: Assistant Professor Dr. Sureerat Deowanish
Co-Advisor	: Assistant Professor Dr. Warinthorn Chavasiri
Department of	: Biology

Abstract

Coconut black-headed caterpillar; *Opisina arenosella* Walker is a major coconut palm pest that cause severe damage to Thai coconut farmer from 2010 to the present. Chemical insecticides are mostly used to control *O. arenosella*. However, this method can be toxic to other organisms including beneficial insects and non-target arthropods. The aim of this study was to evaluate the antifeedant activity of volatile oil from *Ocimum sanctum* against 2nd and 3rd instar larvae of *O. arenosella*. The volatile oil from fresh leaves was extracted by hydrodistillation and diluted with 95% ethanol to 10%, 20% and 30% (W/V). After 24 hours, the results showed high antifeedant activity against both instars of *O. arenosella* Walker. The 20% and 30% volatile oil resulted in antifeedant rates of 100% and the 10% volatile oil showed 99.67% and 100% of antifeedant activity against 2nd and 3rd instar larvae, respectively. In addition, the volatile oil also showed the high toxicity against 2nd and 3rd instar larvae. This study demonstrated the potential of volatile oil from *O. sanctum* as alternative method for management of the Coconut black-headed caterpillar.

Keywords: Antifeedant activity, Coconut black-headed caterpillar, Coconut palm pest, Holy basil, Volatile oil

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีรัตน์ เดี่ยววาณิชย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษามาโดยตลอดตั้งแต่เริ่มคิดโครงการ วางแผน แก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง ติดต่อประสานงานเพื่อจัดซื้อแมลงที่ใช้สำหรับทดลอง และให้คำแนะนำในการเขียนเล่มรายงาน รวมทั้งให้ข้อคิดดีๆ ความรู้ และกำลังใจตลอดช่วงเวลาในการทำงานวิจัยชิ้นนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรินทร ชวศิริ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่กรุณาให้คำปรึกษา ความรู้ คำแนะนำ และเทคนิคเฉพาะ รวมทั้งอนุเคราะห์ห้องทดลองและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำวิจัย จนงานวิจัยครั้งนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คณาจารย์ในภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ถ่ายทอดความรู้ และประสบการณ์ที่ให้ข้าพเจ้าสามารถนำเอาสิ่งเหล่านี้มาปรับใช้ในโครงงานวิจัยชิ้นนี้ได้อย่างเต็มที่

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวตี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงษ์ชัย ดำรงโรจนวัฒนา อาจารย์ผู้ประสานงานรายวิชา โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2562 ที่ให้คำแนะนำในองค์ประกอบของเอกสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการ

ขอขอบพระคุณ คุณสัมฤทธิ์ เกียววงษ์ นักวิจัยประจำศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ได้คำปรึกษาเกี่ยวกับความรู้และวิธีการเลี้ยงดูหนอนหัวดำมะพร้าวซึ่งเป็นสัตว์ทดลองในโครงงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ นางสาวธัญลักษณ์ ตะโกดี ที่ให้คำแนะนำ จัดหาใบมะพร้าวที่ใช้ในโครงงานวิจัย ช่วยเหลือในการหาอุปกรณ์เครื่องมือ และคอยเป็นกำลังใจจนทำให้โครงงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณครอบครัวของข้าพเจ้า และเพื่อนๆ ในภาควิชาชีววิทยา ที่คอยเป็นกำลังใจช่วยเหลือและให้คำแนะนำตลอดช่วงเวลาดำเนินโครงการ

ขอบขอบคุณโครงการ การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก
ABSTRACT ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญตาราง ..... ฉ
สารบัญภาพ ..... ช
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ 1
1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ 2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1. ปัญหาความเสียหายของสวนมะพร้าวในประเทศไทย 3
2.2. ชีววิทยาของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker) 4
2.2.1. รูปร่างลักษณะทั่วไป 4
2.2.2. ระยะการเจริญเติบโต 5
2.3. วิธีการจัดการและควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker) 6
2.3.1. การใช้แตนเบียนในการควบคุม 6
2.3.2. การใช้สารเคมีฉีดพ่นทางใบในการควบคุม 6
2.3.3. การใช้สารเคมีฉีดเข้าต้นในการควบคุม 7
2.4. สารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช 7
2.5. ลักษณะทั่วไป และองค์ประกอบสำคัญทางเคมีของกะเพรา (*Ocimum sanctum*) 8
2.5.1 ลักษณะทั่วไปของกะเพรา 8
2.5.2. องค์ประกอบสำคัญของสารสกัดจากกะเพรา 8
2.6. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) 10
2.6.1. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อเชื้อรา 10
2.6.2. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อแบคทีเรีย 10
2.6.3. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อแมลง 10
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงาน 12
3.1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี 12

3.2. ขั้นตอนการศึกษา 13
3.2.1. การเตรียมพืชตัวอย่างและสกัดน้ำมันหอมระเหย 13
3.2.2. การเตรียมใบมะพร้าวชุบน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา 14
3.2.3. การทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราต่อการยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker) 14
บทที่ 4 ผลการศึกษา 16
4.1. ประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อหนอนหัวดำมะพร้าว 16
บทที่ 5 อภิปรายและสรุปผลการศึกษา 19
เอกสารอ้างอิง 22
ภาษาไทย 22
ภาษาอังกฤษ 22
ภาคผนวก 27

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4-1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctu*m) ต่อหนอนหัวดำมะพร้าว.....16

ตารางที่ 4-2 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ฆ่าหนอนหัวดำมะพร้าวของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*).....17

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 ลักษณะรูปร่างของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella*) ในแต่ละระยะ คือ ระยะไข่ (ก) ระยะตัวหนอน (ข) ระยะดักแด้ (ค) และตัวเต็มวัย (ง) 5

ภาพที่ 2-2 กะเพราขาว 8

ภาพที่ 2-3 โครงสร้างสารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) คือ linalool (ก) eugenol (ข) estragole (ค) และ α-bergamotene (ง)..... 9

ภาพที่ 3-1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราขาวด้วยชุดสกัดด้วยการต้มกลั่น (Clevenger type apparatus) (ก) โดยน้ำมันที่ได้จะแยกชั้นกับน้ำอย่างชัดเจน (ข).....13

ภาพที่ 3-2 การระเหย Diethyl ether ด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) 14

ภาพที่ 3-3 ชุดการทดลองในหนอนหัวดำ instar ที่ 2 ทั้ง 4 ชุด คือ ชุดควบคุม (ก) ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10% (W/V) (ข) ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 20% (W/V) (ค) และ ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 30% (W/V) (ง)..... 15

ภาพที่ 4-1 ใบมะพร้าวที่ใช้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าว โดยใบมะพร้าวที่ชุบสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราจะไม่ถูกกัดกิน (ก) ส่วนใบมะพร้าวที่ชุบด้วย 95% เอทานอลจะถูกกัดกิน (ข).....17

ภาพที่ 4-2 ใบมะพร้าวที่ถูกทำลายจากหนอนหัวดำมะพร้าวในชุดควบคุม 18

ภาพที่ 4-3 หนอนหัวดำมะพร้าว instar ที่ 3 ที่ตายในชุดการทดลองด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราในระดับความเข้มข้นต่างๆ 18

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

มะพร้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่จัดอยู่ในวงศ์ Arecacae ซึ่งถือได้ว่าเป็นพืชเศรษฐกิจอีกหนึ่งชนิดที่สำคัญของประเทศไทย จากรายงานของกรมส่งเสริมการเกษตรพบว่า ในปี พ.ศ. 2559 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกมะพร้าวทั้งสิ้น 1,219,025 ไร่ โดยส่วนใหญ่อยู่ทางภาคใต้และภาคกลาง จังหวัดที่มีพื้นที่ปลูกมากที่สุด ได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ สุราษฎร์ธานี และชุมพร ตามลำดับ มีปริมาณผลผลิตรวมทั้งสิ้น 1,230,890 ตัน และสร้างรายได้มากกว่าพันล้านบาทต่อปี (ศูนย์อัจฉริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร, 2561) แต่ในปัจจุบันอุตสาหกรรมมะพร้าวไทยต้องเผชิญต่อสภาวะการส่งออกที่ลดลง เนื่องมาจากประเทศเพื่อนบ้าน ได้แก่ เวียดนาม และอินโดนีเซีย เริ่มหันมาผลิตและส่งออกผลิตภัณฑ์จากมะพร้าวเพิ่มมากขึ้น (สำนักข่าวโพสต์ทูเดย์, 2561) รวมถึงมาจากผลผลิตในประเทศลดลงซึ่งมีสาเหตุมาจากการแพร่ระบาดของศัตรูมะพร้าว คือ แมลงดำหนาม (*Brontispa longissima*) ด้วงงวงมะพร้าว (*Rhynchophorus ferrugineus*) และผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*Opisina arenosella* Walker) เป็นต้น

ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker) เป็นแมลงศัตรูพืชตระกูลปาล์มที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศพม่า และศรีลังกา (Perera et al., 1989) สร้างความเสียหายเป็นอย่างมากต่ออุตสาหกรรมมะพร้าวในประเทศอินเดีย ศรีลังกา พม่า อินโดนีเซีย รวมถึงประเทศไทย (Kumara et al., 2015) โดยทำให้การเจริญเติบโตของต้นมะพร้าวชะงักลง ผลผลิตลดลง และยืนต้นตาย (Chomphukhiao et al., 2011) สำหรับประเทศไทย ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวเริ่มระบาดในปี พ.ศ. 2550 โดยพบครั้งแรกที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ และระบาดอย่างหนักในปี พ.ศ. 2553 (Chomphukhiao and Uraichuen, 2017) ระยะตัวอ่อนคือระยะการเข้าทำลายของแมลงดังกล่าว ซึ่งจะเข้าทำลายใบมะพร้าวแก่ ทำให้ใบมะพร้าวมีลักษณะแห้งเป็นสีน้ำตาล โดยตัวหนอนจะถักใยดึงใบมะพร้าวมาเรียงติดกันเป็นแพ และสร้างอุโมงค์เป็นทางยาว อาศัยและกัดกินใบอยู่ภายในอุโมงค์ เมื่อตัวหนอนเจริญเต็มที่ตัวหนอนจะถักใยหุ้มลำตัวอีกครั้งและเจริญเติบโตเข้าสู่ระยะดักแด้และกลายเป็นผีเสื้อกลางคืนในที่สุด (อัมพร วิโนทัย, 2551) เนื่องจากการระบาดของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวยังคงรุนแรงต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน หน่วยงานภาครัฐและเอกชนจึงได้ดำเนินการควบคุมการแพร่ระบาดและการเข้าทำลายของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวโดยใช้วิธีการต่างๆ เช่น การใช้สารเคมี การเผาทำลายทางมะพร้าวที่ถูกกัดกินเสียหาย รวมถึงการใช้ชีววิธีในการควบคุม คือ การใช้ตัวเบียนและตัวห้ำ โดยจากการศึกษาของ Chomphukhiao และคณะที่ศึกษาศัตรูธรรมชาติของผีเสื้อหนอน

หัวดำมะพร้าวในพื้นที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ในปี ค.ศ. 2011 พบแตนเบียน 6 ชนิด และแมลงตัวห้ำ 2 ชนิด ที่สามารถควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวได้

นอกจากวิธีที่กล่าวไปข้างต้น อีกหนึ่งวิธีที่ปัจจุบันได้มีการศึกษากันอย่างแพร่หลายนั่นคือ การนำน้ำมันหอมระเหยสกัดจากพืชมาใช้เป็นสารควบคุมการเข้าทำลายของแมลงศัตรูมะพร้าว โดยน้ำมันหอมระเหยจะประกอบด้วยสารเคมีหลายกลุ่ม เช่น terpenes, terpenoids หรือ polyphenols ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายรูปแบบ เช่น ต้านการเจริญของไวรัสและแบคทีเรีย ออกฤทธิ์ไล่แมลง (repellent) รวมถึงสามารถยับยั้งการกินอาหาร (antifeedant) ได้อีกด้วย (Adorjan and Buchbauer, 2010; Bakkali et al., 2008) และจากงานวิจัยของ Shukla และคณะในปี ค.ศ. 2012 ได้ใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชท้องถิ่นในประเทศอินเดียมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารต่อด้วงงวงมะพร้าว (*Rhynchophorus ferrugineus*) พบว่าส่วนดอกของสาบหมา (*Eupatorium adenophorum* Spreng.) และโกฐจุฬาลัมพา (*Artemisia nilagirica*) สามารถยับยั้งการกินอาหารของด้วงงวงดังกล่าวได้ รวมถึงงานวิจัยของ Qin และคณะในปี ค.ศ. 2009 พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบชะพลูสามารถยับยั้งการกินอาหารของตัวอ่อนแมลงดำหนาม (*Brontispa longissima*) ในประเทศจีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กะเพรา (*Ocimum sanctum*) เป็นพืชท้องถิ่นของไทยซึ่งได้มีการนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหยและใช้ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารต่อแมลงศัตรูพืชได้ โดยจากรายงานพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบกระเพราสามารถใช้เป็นสารควบคุมการระบาดของหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) และหนอนเจาะฝักข้าวโพด (*Helicoverpa armigera*) ได้ (Kamaraj et al., 2008) แต่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราต่อแมลงศัตรูมะพร้าว งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราต่อการยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker) โดยจะทำการทดสอบในตัวอ่อนระยะที่ 2 และ 3 (instar ที่ 2 และ 3) ซึ่งเป็นระยะตัวอ่อนที่จะพบในใบมะพร้าวที่กำลังถูกทำลายเป็นส่วนใหญ่โดยอ้างอิงจากการรายงานของ Chakravarthy และ Doddabasappa ในปี 2009 ที่ศึกษาผลของกระเทียมต่อหนอนหัวดำมะพร้าว การศึกษาในครั้งนี้มุ่งหวังเพื่อให้ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมจำนวนผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวที่ปัจจุบันยังมีการแพร่ระบาดในหลายพื้นที่ของประเทศไทย รวมทั้งช่วยลดการใช้สารเคมีที่มีความเป็นพิษสูง อันจะนำไปสู่คุณภาพชีวิตและความปลอดภัยของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในสภาพแวดล้อมที่ดียิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อการยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker)

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. ปัญหาความเสียหายของสวนมะพร้าวในประเทศไทย

ปัญหาและอุปสรรคในการปลูกมะพร้าวมีอยู่หลายด้าน เช่น ด้านการผลิต การตลาด และปัญหาด้านการเพาะปลูก ซึ่งปัญหาด้านการเพาะปลูกนับเป็นปัญหาที่สำคัญมาก สร้างความเสียหายต่อเกษตรกรอย่างมหาศาล อันเนื่องมาจากทั้งโรคในต้นมะพร้าวที่เกิดจากเชื้อรา และแมลงศัตรูมะพร้าวที่มีการทำลายมะพร้าวในรูปแบบต่างๆ โดยแมลงศัตรูมะพร้าวที่สำคัญในประเทศไทยมี 4 ชนิด (อัมพร วิโนทัย และคณะ, 2556) ได้แก่

2.1.1. ด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes rhinoceros*)

แมลงชนิดนี้มีลำตัวสีน้ำตาลแดงเกือบดำ มีขนสีน้ำตาลอ่อนที่ด้านข้างของส่วนหัว อก ขา และด้านท้ายของลำตัว ส่วนหัวมีเขาคล้ายนอแรด พบได้มากตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงไปทางภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งมักจะพบในปาล์มน้ำมันมากกว่ามะพร้าว แต่ก็สามารถทำลายต้นมะพร้าวได้ โดยมีลักษณะการทำลายคือ ตัวเต็มวัยจะกัดเจาะโคนใบมะพร้าว และปาล์มน้ำมัน ทำให้ทางใบหักง่าย นอกจากนี้ยังกัดกินทำลายยอดอ่อน ทำให้ทางใบที่เกิดขึ้นใหม่ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้รอยแผลที่ถูกกัดเป็นเนื้อเยื่ออ่อนจะกลายเป็นแหล่งวางไข่ของด้วงงวงมะพร้าว (*Rhynchophorus ferrugineus*) ซึ่งเป็นแมลงที่สามารถสร้างความเสียหายแก่ต้นมะพร้าวได้เช่นกัน

2.1.2. ด้วงงวงมะพร้าว (*Rhynchophorus ferrugineus)*

แมลงศัตรูพืชตระกูลปาล์มชนิดหนึ่ง เป็นแมลงปีกแข็ง ลำตัวมีสีน้ำตาลแดง ส่วนหัวมีส่วนคล้ายงวงยื่นออกมา โดยด้วงงวงมะพร้าวจะขยายพันธุ์อยู่ภายในคอมะพร้าว บางครั้งพบการทำลายที่โคนลำต้นทำให้ต้นตาย อาการบ่งชี้ที่แสดงให้เห็นว่ามีการทำลายของด้วงงวงมะพร้าวคือ ยอดอ่อนแห้ง ใบเหลืองสอดหักพับ ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่บริเวณรอยแผลหรือรอยแตกของโคนทางใบหรือโคนลำต้น

2.1.3. แมลงดำหนามมะพร้าว (*Brontispa longissimi*)

เป็นแมลงดำหนามชนิดต่างถิ่น โดยมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินโดนีเซีย มีขนาดใหญ่กว่าแมลงดำหนามท้องถิ่นในไทย (*Plesispa reicheri*) นอกจากนี้ยังทำลายต้นมะพร้าวทั้งต้นเล็ก และต้นใหญ่ จึงทำให้การทำลายของแมลงดำหนามต่างถิ่นมีความรุนแรงกว่าแมลงดำหนามท้องถิ่น ทั้งระยะหนอน และตัวเต็มวัยสามารถเข้าทำลายต้นมะพร้าวได้ มีลักษณะการเข้าทำลายด้วยการกัดกิน

ยอดอ่อนของมะพร้าว ทำให้การเจริญเติบโตของยอดอ่อนชะงักลง หากมีการเข้าทำลายอย่างรุนแรง จะทำให้ใบมะพร้าวหลายใบมีสีน้ำตาล มองจากระยะไกลจะเห็นเป็นสีขาวโพลน ชาวสวนจะเรียกอาการนี้ว่า “โรคหัวหงอก”

2.1.4. ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*Opisina arenosella* Walker)

เป็นแมลงศัตรูมะพร้าวชนิดต่างถิ่นที่เข้ามาระบาดครั้งแรกในประเทศไทยที่จังหวัดประจวบคีรีขันธ์เมื่อประมาณ 10 ปีที่ผ่านมา โดยมีการระบาดอย่างรุนแรงในปี 2553 โดยระยะเข้าทำลายของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวคือ ระยะตัวอ่อน (larval stage) หรือระยะหนอน ซึ่งตัวหนอนจะเข้ากัดกินบริเวณกลางใบมะพร้าว โดยจะเข้าทำลายเฉพาะใบแก่ ต้นมะพร้าวที่ถูกผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวทำลายจะมีใบแห้ง และมีสีน้ำตาล ผลผลิตลดลง หากการทำลายรุนแรงอาจทำให้มะพร้าวยืนต้นตายได้

2.2. ชีววิทยาของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker)

2.2.1. รูปร่างลักษณะทั่วไป

ลักษณะทั่วไปของไข่ผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวมีสีเหลืองและสีจะเข้มขึ้นกลายเป็นสีน้ำตาลเมื่อใกล้ฟัก โดยตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่ม เมื่อเจริญเข้าสู่หนอนระยะที่ 1 ตัวหนอนจะมีลำตัวสีขาวเหลือง จากนั้นจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีเส้นสีน้ำตาลพาดตามยาวของลำตัวจำนวน 3 เส้น ส่วนหัวมีสีน้ำตาลเข้มและส่วนอกมีสีน้ำตาลอ่อน เมื่อหนอนเจริญเต็มที่จนถึงระยะที่ 5 หนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้ซึ่งมีสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะยาวรี หลังจากนั้นจะเจริญกลายเป็นผีเสื้อกลางคืนขนาดเล็ก ส่วนหัว หนวด อก ปีก และส่วนท้องมีสีเทาอ่อน และมีจุดเทาเข้มอยู่ที่บริเวณปลายปีก ลำตัวมีลักษณะแบนและเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ (Chomphukhiao et al., 2011)

ภาพที่ 2-1 ลักษณะรูปร่างของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella*) ในแต่ละระยะ คือ ระยะไข่ (ก) ระยะตัวหนอน (ข) ระยะดักแด้ (ค) และตัวเต็มวัย (ง)
(ที่มา: กรมวิชาการเกษตร)

2.2.2. ระยะการเจริญเติบโต

ระยะการเจริญเติบโตของตัวหนอนผีเสื้อหัวดำมะพร้าวทั่วไปจะมีทั้งหมด 5 ระยะ ทั้งนี้บางรายงานอาจพบระยะของหนอนได้ถึง 7-8 ระยะ (Chakravarthy and Doddabasappa, 2009) โดยจากการศึกษาของ Chomphukiao และคณะที่ได้ศึกษาชีววิทยาของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวพบว่าตัวหนอนหัวดำมะพร้าวมี 5 ระยะ โดยหนอนในแต่ระยะใช้เวลาเจริญเติบโต 6-8 วัน และใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตทั้งหมด 30-40 วัน สำหรับไข่ใช้เวลาฟักอยู่ที่ 6-8 วัน ดักแด้มีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 11-12 วัน ตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียมีอายุเฉลี่ยอยู่ที่ 11-14 และ 11-15 วัน ตามลำดับ รวมวงจรชีวิตของผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวอยู่ที่ 51-62 วัน ในขณะที่การศึกษาของ Sujatha ในปี 2001 พบว่าหนอนมีระยะการเจริญทั้งหมด 7-8 ระยะ แต่ระยะเวลาในการเจริญสอดคล้องกัน คือ มีระยะ

ฟักไข่ 5-6 วัน ระยะหนอนทั้งหมดมีอายุ 32-48 วัน ดักแด้มีอายุประมาณ 9-11 วัน และตัวเต็มวัยมีอายุ 5-11 วัน

2.3. วิธีการจัดการและควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker)

2.3.1. การใช้แตนเบียนในการควบคุม

แตนเบียน เป็นแมลงในอันดับ Hymenoptera ที่สามารถใช้เป็นตัวควบคุมการระบาดของแมลงศัตรูมะพร้าว รวมถึงผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว โดยทางกรมวิชาการเกษตรได้นำเข้าแตนเบียน *Goniozus nephantidis* จากประเทศศรีลังกาเมื่อวันที่ 28 เมษายน 2555 เพื่อใช้เป็นตัวเบียนสำหรับควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าว เนื่องจากแตนเบียนชนิดนี้สามารถให้ผลที่ดีในประเทศอินเดีย และศรีลังกา พฤติกรรมการเบียนจะเป็นแบบเบียนภายนอก โดยแตนเบียนชนิดนี้จะต่อยและทำให้หนอนตายครั้งละ 2-3 ตัว แต่จะวางไข่บนตัวหนอนเพียง 1 ตัวเท่านั้น สำหรับการใช้แตนเบียนชนิดนี้แนะนำให้ปล่อยแตนเบียนตัวเต็มวัยจำนวน 50-100 ตัวต่อไร่ ปล่อย 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 เดือน

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับแมลงท้องถิ่นที่สามารถใช้เป็นตัวควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวเพิ่มเติม ดังเช่นการศึกษาของศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (2011) ที่ทำการศึกษาศัตรูธรรมชาติในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พบตัวเบียนในอันดับ Hymenoptera เพิ่มเติมได้แก่ แตนเบียน *Bracon hebetor* Say แตนเบียน *Brachymeria euploea* Westwood แตนเบียน Eupelmid แตนเบียน Eurytomid และแตนเบียน Eulophid

2.3.2. การใช้สารเคมีฉีดพ่นทางใบในการควบคุม

การใช้สารเคมีฉีดพ่นทางใบเป็นอีกหนึ่งวิธีการควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวที่ทางกรมวิชาการเกษตรแนะนำให้แก่เกษตรกร ซึ่งได้แก่สารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต และไพรีทรอยด์สังเคราะห์ ดังเช่นจากการศึกษาของ สุเทพ และคณะ (2553) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมแมลงหนอนหัวดำมะพร้าวด้วยวิธีพ่นทางใบพบว่า Flubendiamide, Lufenuron และ Chlorfluazuron มีประสิทธิภาพ 100, 93.35 และ 83.74% ตามลำดับ ส่วนการพ่นเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* มีประสิทธิภาพ 50.77% ทั้งนี้การใช้วิธีพ่นทางใบมีข้อจำกัดในเรื่องของความสูงของต้นมะพร้าวที่ไม่ควรสูงเกิน 10 เมตร เนื่องจากข้อจำกัดของเครื่องพ่นสารชนิดแรงดันน้ำสูงนอกจากนี้สารเคมีที่ใช้เป็นอันตรายอย่างมากต่อศัตรูธรรมชาติ และสารเคมี

บางชนิดมีผลต่อสัตว์ชนิดอื่นในธรรมชาติ ดังนั้นหากเกษตรกรใช้ในปริมาณที่มากเกินไปอาจมีผลกระทบร้ายแรงต่อระบบนิเวศ (สุเทพ และคณะ, 2556)

2.3.3. การใช้สารเคมีฉีดเข้าต้นในการควบคุม

การฉีดสารเข้าต้นเป็นวิธีการควบคุมผีเสื้อหนอนหัวดำมะพร้าวเพื่อแก้ปัญหาสำหรับต้นมะพร้าวที่มีความสูงเกิน 12 เมตร ที่วิธีการฉีดพ่นสารทางใบไม่สามารถฉีดพ่นได้อย่างทั่งถึง โดยกรมวิชาการเกษตรแนะนำให้ใช้สาร Emamectin benzoate ปริมาณ 30 มิลลิลิตรต่อต้น ฉีดเข้าสู่ต้นมะพร้าวในรูที่เจาะด้วยสว่านซึ่งอยู่สูงจากพื้นดินประมาณ 1 เมตร โดยมีทั้งหมด 2 รูต่อต้น จากนั้นปิดรูเจาะด้วยดินน้ำมัน ปริมาณสารที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำได้ผ่านการศึกษาแล้วว่าเป็นอัตราที่เหมาะสม และมีความคุ้มค่า ทั้งนี้แนะนำให้ใช้วิธีดังกล่าวเฉพาะกับต้นมะพร้าวที่สูงมากกว่า 12 เมตรขึ้นไป และห้ามใช้กับมะพร้าวน้ำหอม และมะพร้าวกะทิ เนื่องจากผลวิจัยยังครอบคลุมไม่ถึง

2.4. สารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช

การใช้สารสกัดจากพืชเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืชเป็นอีกหนึ่งวิธีที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายในแง่ของการออกฤทธิ์ไล่แมลง และการออกฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อน เพื่อใช้แทนสารเคมีที่มีผลเสียรุนแรงต่อแมลงศัตรูธรรมชาติของศัตรูพืช และสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ความเป็นพิษของสารสกัดจากพืชสามารถสลายตัวได้เร็ว และไม่ตกค้างในดินเป็นเวลานาน (คณะทรัพยากรธรรมชาติ, 2547) โดยสารเคมีในพืชที่มีผลต่อแมลงนี้เป็นสารทุติยภูมิ (secondary plant metabolite) ซึ่งเป็นสารประกอบที่พบแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด สารเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา แบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ สารกลุ่ม alkaloids สารกลุ่ม phenolic compounds สารกลุ่ม terpenoids และสารกลุ่ม Glucosinolate compound โดยพืชหลายๆ ชนิดได้ถูกนำมาศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ดังเช่น

Qin และคณะ (2009) ศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบชะพลู (*Piper sarmentosum*) ต่อแมลงดำหนามมะพร้าว (*B. longissimi*) พบว่า น้ำมันจากพืชดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการกินของแมลงดำหนามมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังเป็นพิษต่อหนอนแมลงดำหนามมะพร้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในหนอนระยะที่ 1 และ 2 โดยจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันใบชะพลูพบว่า Myristicin และ trans-caryophyllene เป็นองค์ประกอบสำคัญโดยพบเป็น 65.22% และ 13.89% ตามลำดับ

Shukla และคณะ (2012) ศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของน้ำมันหอมระเหยจากดอกและใบของต้นสาบหมา (*Eupatorium adenophorum* Spreng) และส่วนเหนือดินต้นโกศจุฬาลัมพา (*Artemisia nilagirica*) ต่อด้วงงวงมะพร้าว (*Rhynchophorus ferrugineus*) พบว่า

ส่วนดอกของสาบหมา และโกศจุฬาลัมพา สามารถยับยั้งการกินของด้วงงวงมะพร้าวได้ โดยจากการวิเคราะห์องค์ประกอบเคมีของดอกสาบหมาพบ oxygenated sesquiterpenes แล sesquiterpene hydrocarbons เป็นองค์ประกอบหลัก สำหรับโกศจุฬาลัมพาพบ sesquiterpenes และ monoterpene hydrocarbons เป็นองค์ประกอบหลัก

2.5. ลักษณะทั่วไป และองค์ประกอบสำคัญทางเคมีของกะเพรา (*O. sanctum*)

2.5.1. ลักษณะทั่วไปของกะเพรา (*O. sanctum*)

กะเพรามีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Ocimum sanctum* Linn. โดยมีชื่อเรียกตามท้องถิ่นได้หลายชื่อ เช่น กอมก้อ กอมก้อดง เป็นต้น เป็นไม้ล้มลุก มีลักษณะเป็นพุ่มสูง 1-3 ฟุต ลักษณะใบเดี่ยวออกตรงข้าม ขอบใบหยักเป็นฟันเลื่อย ลำต้นและใบมีขนอ่อน มีกลิ่นหอมฉุนเฉพาะตัว ดอกมีลักษณะเป็นช่อ ออกดอกรอบข้อเป็นชั้นๆ โดยกะเพราในประเทศไทยพบอยู่ 3 สายพันธุ์ คือ กะเพราขาว มีใบและกิ่งก้านสีเขียวอ่อน กะเพราแดง มีใบและกิ่งก้านสีเขียวแกมแดง และกะเพราผสม ระหว่างกะเพราขาว และกะเพราแดง (พรรณี และรุ้งตะวัน, 2543)

โดยกะเพราถือได้ว่าเป็นพืชที่มีความสำคัญมากในประเทศไทย นอกจากจะเป็นพืชผักและเครื่องเทศสำหรับประกอบอาหารแล้ว กะเพรายังสามารถนำมาใช้เป็นยาทั้งในรูปแบบสดและแห้ง

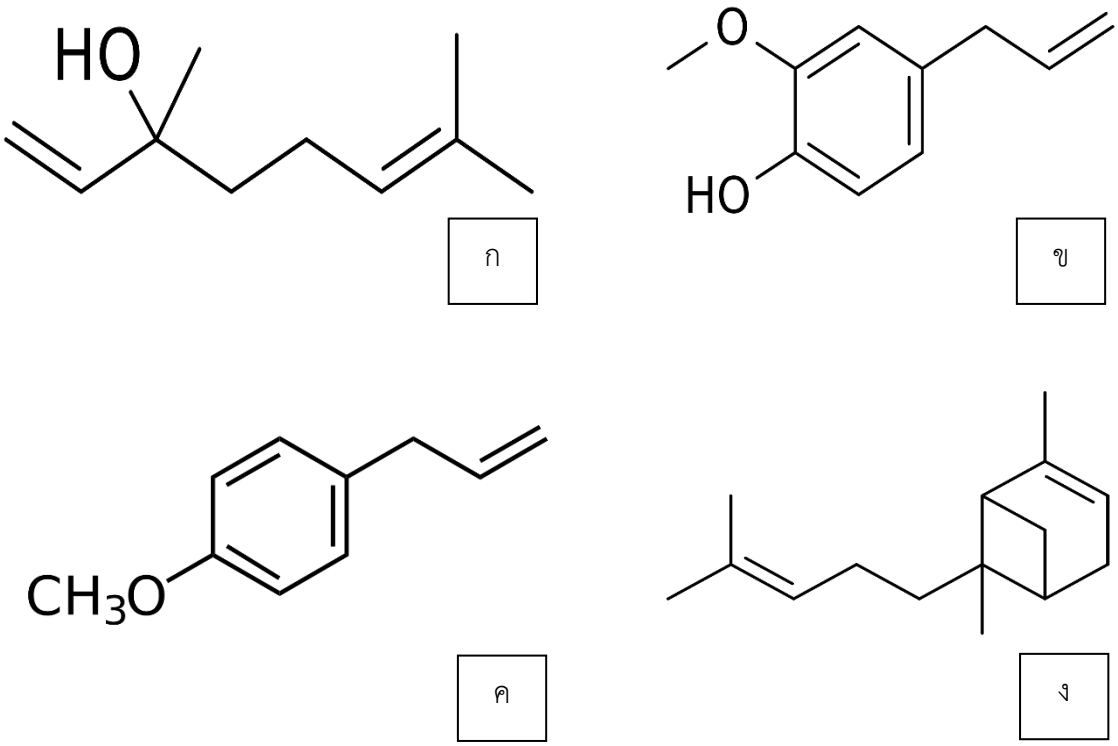
ภาพที่ 2-2 กะเพราขาว

2.5.2. องค์ประกอบสำคัญของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*)

กะเพรามีน้ำมันหลายชนิดเป็นส่วนประกอบ ทั้งน้ำมันชนิดธรรมดาที่ไม่ระเหย (fixed oil) และน้ำมันหอมระเหย (volatile oil) โดยส่วนใบจะเป็นส่วนที่นิยมนำมาสกัดน้ำมันมากที่สุด สำหรับ

น้ำมันที่ไม่ระเหยจากกะเพราประกอบด้วยสารในกลุ่ม triglycerides และกรดไขมันหลัก 5 ชนิด คือ steric acid, palmitic acid, oleic acid, linoleic acid และ linolenic acid

สำหรับน้ำมันหอมระเหยในใบกะเพราประกอบด้วยสารเคมีหลายตัว โดยจากการศึกษาของ Ijaz และคณะ (2017) รายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราซึ่งวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph Mass Spectrometer (GCMS) พบว่า น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยสารตัวสำคัญ คือ linalool 54.82% รองลงมาคือ eugenol อยู่ที่ 12.97%, estragole 5.35% และ α-bergamotene 3.59% นอกจากนี้ยังพบสารเคมีตัวอื่นที่มีอยู่ในน้ำมันหอมระเหยอยู่เพียงเล็กน้อยคือ camphor, menthol, α-terpineol, E-linalool, bromyl acetate, β-elemene, γ-cadinene cadinol, spathulenol, α-pinene และ β-pinene โดยสารเคมีที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรามีคุณสมบัติที่หลากหลาย เช่น การออกฤทธิ์ทำลายเชื้อราและแบคทีเรีย รวมถึงฤทธิ์การฆ่าแมลง เป็นต้น



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างสารประกอบสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) คือ linalool (ก) eugenol (ข) estragole (ค) และ α-bergamotene (ง)

2.6. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*)

2.6.1. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อเชื้อรา

น้ำมันหอมระเหยจากกะเพรานั้นได้ถูกนำมาศึกษาในแง่ของการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราอย่างมากในปัจจุบัน โดยสามารถต้านเชื้อได้หลายชนิด เช่น *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* (Bansod and Rai, 2008), *Rhizopus stolinifera*, *Penicillium digitatum* และ *Aspergillus flavus* (Kumar et al., 2009) โดยองค์ประกอบทางเคมีสำคัญอย่าง linalool คือตัวยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่สำคัญ โดยมีผลต่อการสังเคราะห์ ergosterol ทำให้เกิดความผิดปกติต่อผนังเซลล์ของเชื้อรา (Khan et al., 2010)

2.6.2. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อแบคทีเรีย

น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยในปัจจุบันมีการศึกษาอย่างแพร่หลายที่แสดงให้เห็นว่า สารเคมีในกะเพราสามารถออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* และ *Salmonella typhimurium* เป็นต้น (Mishra and Mishra, 2011; Mittal et al., 2018; Yamani et al., 2016)

2.6.3. การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อแมลง

น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อแมลงได้หลายชนิด ดังนั้นจึงมีการศึกษานำน้ำมันหอมระเหยดังกล่าวมาใช้เพื่อควบคุมจำนวนแมลงศัตรูพืช รวมถึงควบคุมแมลงที่เป็นพาหะสำคัญของโรคติดต่อเขตร้อน ดังเช่น

การศึกษาของ Oyegoke (2012) ที่ศึกษาผลจากกะเพราต่อความเป็นพิษในตัวอ่อนของมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) ที่เป็นแมลงศัตรูสำคัญทางการเกษตร และประสิทธิภาพการไล่มอดแป้ง (*T. castaneum*) ตัวเต็มวัย พบว่าสารสกัดจากกะเพราสามารถทำให้ตัวอ่อนของมอดแป้งตายได้ และสารสกัดดังกล่าวสามารถออกฤทธิ์ไล่มอดแป้งตัวเต็มวัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษาของทิติยา และณรงค์ (2542) ที่ศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากกะเพราต่อพฤติกรรมการกินอาหารของเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว พบว่ากะเพราสามารถออกฤทธิ์ไล่เพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว ซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญของข้าวได้

การศึกษาของ Kamaraj และคณะ (2008) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการออกฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนแมลงและยับยั้งการกินพบว่า สารสกัดจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนของหนอนม้วนใบ (*Sylepta derogate*) ได้ดี และยังสามารถออกฤทธิ์ไล่หนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) และ (*S. derogate*) ได้ด้วย นอกจากนี้สารสกัดจากกะเพรายังสามารถออกฤทธิ์ต่อหนอนกระทู้ (*Spodoptera litura*) ได้เช่นกัน

การศึกษาของ Anees (2008) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจากกะเพราในส่วนดอก และใบต่อลูกน้ำยุง 2 ชนิดคือ ยุงลาย (*Aedes aegypti*) และ ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) พบว่าสารสกัดจากใบกะเพรามีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงของยุงทั้ง 2 ชนิดได้ดีกว่าสารสกัดจากดอกและออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการดำเนินงาน

3.1. วัสดุอุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1. อุปกรณ์

- ชุดสกัดด้วยการต้มกลั่น (Clevenger type apparatus)
- เครื่องชั่งดิจิตอล (Analytical balance)
- เครื่องทำความร้อน (Heating mantle)
- เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator)
- ขวดแก้วเล็ก (Vial)
- ขวดก้นกลม (Round bottom flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร และ 2,000 มิลลิลิตร
- กรวยแยกสาร (Separating funnel)
- กรวยกรอง (Funnel)
- สำลี
- ขวดใส่สารละลาย (Reagent bottle)
- ช้อนตักสาร (spatula)
- กระบอกตวง (Measuring cylinder)
- Pasteur pipette
- คีม (Forceps)
- จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
- อุปกรณ์เลี้ยงแมลง
- พู่กัน
- หนอนหัวดำมะพร้าวระยะ 2 และ 3
- ใบมะพร้าวแก่
- กะเพราขาว

3.1.2. สารเคมี

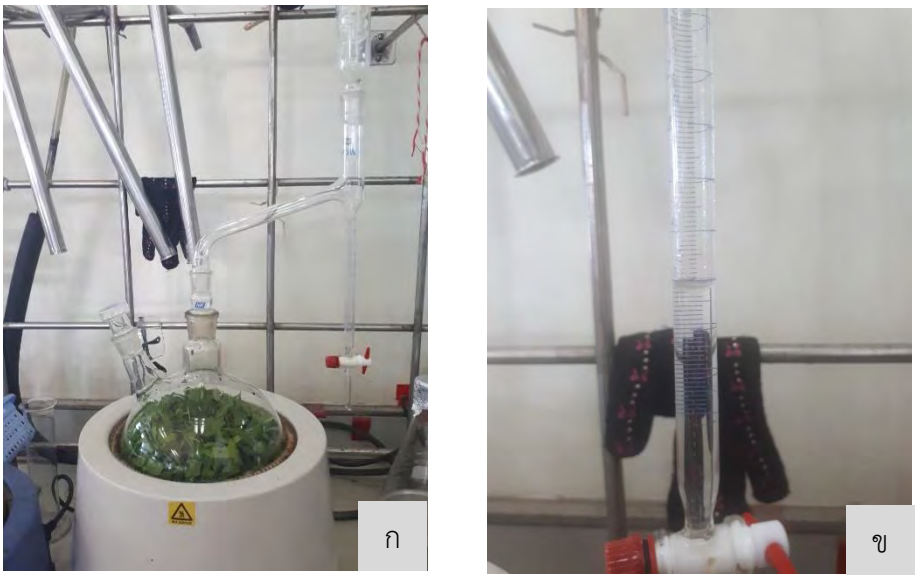
- Diethyl ether
- Sodium sulfate
- 95% Ethanol

3.2. ขั้นตอนการศึกษา

3.2.1. การเตรียมพืชตัวอย่างและสกัดน้ำมันหอมระเหย

เก็บตัวอย่างกะเพราและทำการระบุชนิดพืช จากนั้นทำการเก็บเฉพาะส่วนใบมาล้างทำความสะอาดเพื่อเตรียมพร้อมต่อการสกัดน้ำมันหอมระเหย

สกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี hydrodistillation ด้วยชุดสกัดด้วยการต้มกลั่น (Clevenger type apparatus) โดยใช้ใบกะเพราสดที่ถูกตัดให้มีขนาด 2×2 ตารางเซนติเมตร หนัก 700 กรัม ใส่ลงในขวดก้นกลมขนาด 2,000 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งชุดการทดลองการตั้งกลั่น (ภาพที่ 3-1) เติมน้ำกลั่นแล้วทำการกลั่นเป็นเวลา 4-5 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างน้ำมันหอมระเหยเพื่อนำไปผ่านขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ต่อไป



ภาพที่ 3-1 การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราขาวด้วยชุดสกัดด้วยการต้มกลั่น (Clevenger type apparatus) (ก) โดยน้ำมันที่ได้จะแยกชั้นกับน้ำอย่างชัดเจน (ข)

นำน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยการต้มกลั่นใส่ในกรวยแยกสาร จากนั้นเติม Diethyl ether เขย่ากรวยแยกสารขึ้นลงแล้วจึงเปิด stopcock เพื่อปลดปล่อยความดัน ตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้น ทำการไขชั้นน้ำทิ้ง ทำเช่นนี้ 2-3 ครั้ง ทำการเติม Sodium sulfate แล้วทำการกรองสารสกัดด้วยกรวยกรองที่รองด้วยสำลีลงในขวดก้นกลมขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วทำการระเหยเอา Diethyl ether ออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) จึงจะได้น้ำมันหอมระเหยบริสุทธิ์

ภาพที่ 3-2 การระเหย Diethyl ether ด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator)

3.2.2. การเตรียมใบมะพร้าวชุบน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา

เตรียมความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 4 ชนิดให้มีความเข้มข้นอยู่ที่ 10%, 20% และ 30% (W/V) โดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นนำใบมะพร้าวที่ตัดให้มีขนาดประมาณ 4×10 ตารางเซนติเมตรมาชุบลงในสารละลายน้ำมันหอมระเหยในระดับความเข้มข้นต่างๆ แล้วทิ้งไว้ให้แห้งเพื่อใช้สำหรับชุดทดลอง และนำใบมะพร้าวชุบลงใน 95% เอทานอลเพื่อใช้สำหรับเป็นชุดควบคุม

3.2.3. การทดสอบผลของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราต่อการยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella* Walker)

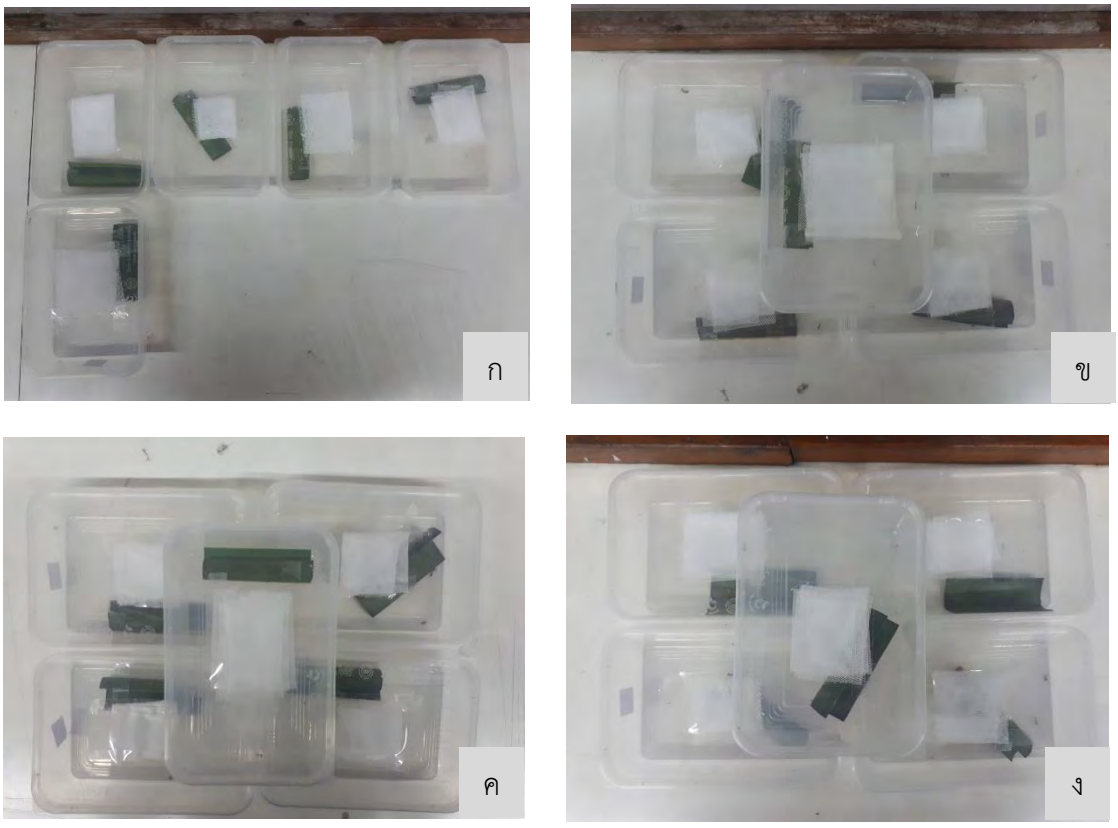
การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ชุดการทดลองในแต่ละระยะการเจริญของตัวหนอน (instar) คือ ชุดที่ 1 จัดเป็นชุดควบคุม ชุดที่ 2, 3 และ 4 จัดเป็นชุดการทดสอบของน้ำมันหอมระเหยที่มีความเข้มข้น 10%, 20% และ 30% (W/V) ตามลำดับ โดยในชุดการทดลองของหนอนใน instar ที่ 2 จะใช้หนอนหัวดำมะพร้าวจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ จำนวน 10 ตัว ต่อหนึ่งชุดการทดลอง ซึ่งจะเลี้ยงตัวหนอนในกล่องเลี้ยงหนอนซึ่งดัดแปลงจากกล่องพลาสติกใสกว้าง 10 เซนติเมตร ยาว 15 เซนติเมตร และนำใบมะพร้าวที่ชุบน้ำมันหอมระเหยใส่ลงไปในกล่อง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

จากนั้นนำใบมะพร้าวไปคำนวณพื้นที่ที่เหลือหลังจากการทดสอบโดยใช้โปรแกรม Image J โดยในแต่ละชุดการทดลองจะทำการทดลอง 5 ซ้ำ จากนั้นทำการทดลองรูปแบบเดียวกันในหนอน instar ที่ 3

สูตรที่ใช้สำหรับการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว ซึ่งอ้างอิงจากงานวิจัยของ Qin และคณะในปี 2009 คือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหาร} = (C-T)/C \times 100$$

C คือ พื้นที่ใบมะพร้าวที่หนอนหัวดำมะพร้าวกินของชุดควบคุม
T คือ พื้นที่ใบมะพร้าวที่หนอนหัวดำมะพร้าวกินของชุดทดสอบ



ภาพที่ 3-3 ชุดการทดลองในหนอนหัวดำ instar ที่ 2 ทั้ง 4 ชุด คือ ชุดควบคุม (ก) ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10% (W/V) (ข) ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 20% (W/V) (ค) และ ชุดทดสอบน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 30% (W/V) (ง)

บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1. ประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อหนอนหัวดำมะพร้าว

จากการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารในหนอนหัวดำมะพร้าวโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) พบว่า น้ำมันดังกล่าวสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าวทั้งในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารละลายน้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10% สามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2 และ 3 (instar ที่ 2 และ 3) ได้ 99.69% และ 100% ตามลำดับ ในขณะที่สารละลายความเข้มข้น 20% สามารถยับยั้งการกินอาหารได้ 100% ในหนอนทั้ง 2 ระยะ เช่นเดียวกันกับสารละลายความเข้มข้น 30% ที่สามารถยับยั้งการกินอาหารได้ 100% ในหนอนทั้ง 2 ระยะ (ตารางที่ 4-1)

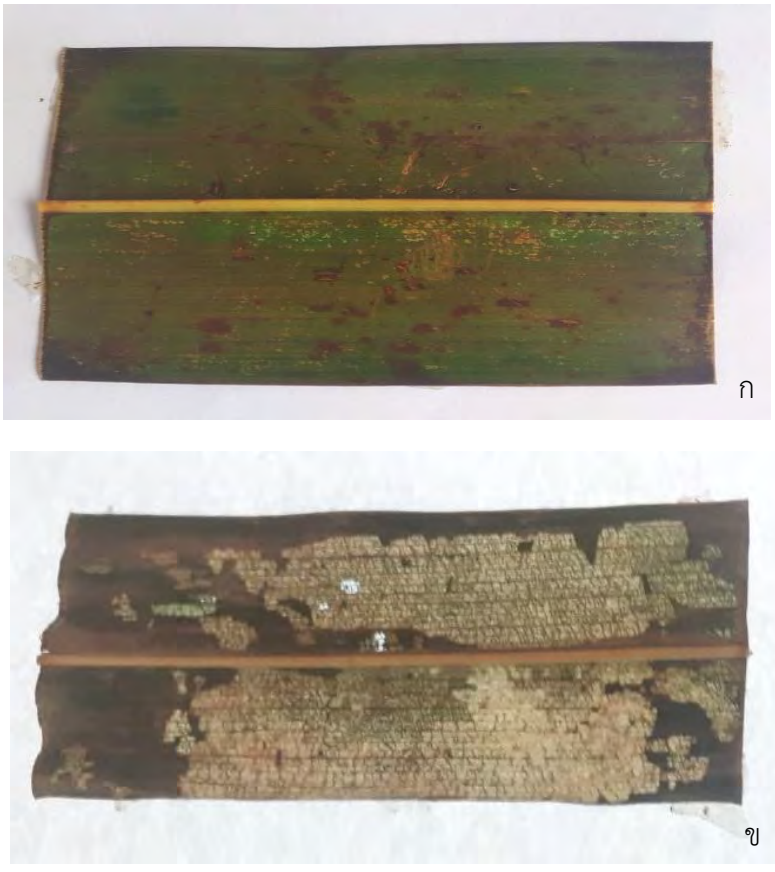
ตารางที่ 4-1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) ต่อหนอนหัวดำมะพร้าว

ระยะหนอน	ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*)		
	10%	20%	30%
Instar ที่ 2	99.69±0.68	100±0.00	100±0.00
Instar ที่ 3	100±0.00	100±0.00	100±0.00

นอกจากประสิทธิภาพการยับยั้งการกินอาหารแล้ว การศึกษาในครั้งนี้พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนได้ทั้ง 2 ระยะ โดยจากการทดสอบในหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2 (Instar ที่ 2) พบว่า น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้น 10%, 20% และ 30% สามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนได้ 86%, 96% และ 100% ตามลำดับ และจากการทดสอบในหนอนระยะที่ 3 (Instar ที่ 3) พบว่า น้ำมันหอมระเหยความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับข้างต้นสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนได้ 92%, 98% และ 98% ตามลำดับ (ตารางที่ 4-3) โดยน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ทดสอบด้วย 95% เอทานอล

ตารางที่ 4-2 เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ฆ่าหนอนหัวดำมะพร้าวของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*)

ระยะหนอน	ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*)		
	10%	20%	30%
Instar ที่ 2	86±16.73	96±5.47	100±0.00
Instar ที่ 3	92±13.03	98±4.47	98±4.47



ภาพที่ 4-1 ใบมะพร้าวที่ใช้ทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าว โดยใบมะพร้าวที่ชุบสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราจะไม่ถูกกัดกิน (ก) ส่วนใบมะพร้าวที่ชุบด้วย 95% เอทานอลจะถูกกัดกิน (ข)

ภาพที่ 4-2 ใบมะพร้าวที่ถูกทำลายจากหนอนหัวดำมะพร้าวในชุดควบคุม

ภาพที่ 4-3 หนอนหัวดำมะพร้าว instar ที่ 3 ที่ตายในชุดการทดลองด้วยสารละลายน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราในระดับความเข้มข้นต่างๆ

บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา (*O. sanctum*) เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella Walker*) ลงบนใบมะพร้าว ซึ่งเป็นส่วนของมะพร้าวที่หนอนหัวดำมะพร้าวเข้าทำลาย โดยการสกัดน้ำมันหอมระเหยในครั้งนี้ใช้การสกัดด้วยวิธี hydrodistillation ซึ่งมีค่าผลผลิตร้อยละ (percentage yield) อยู่ที่ 0.032% กล่าวคือ ใบกะเพราหนัก 500 กรัม จะสกัดได้น้ำมันหอมระเหย 0.159 กรัม โดยค่าผลผลิตร้อยละที่ได้มีความแตกต่างกันในแต่ละงานวิจัยขึ้นอยู่กับฤดูกาลหรือช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง ส่วนของพืชที่ใช้สกัด อายุของพืช รวมถึงวิธีที่ใช้ในการสกัด (Evergetis et al., 2016)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าวพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพราสามารถยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าวทั้งในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรามีค่าสูงถึง 99-100% และเมื่อสังเกตหนอนในแต่ละชุดการทดลองพบว่า มีการตายของหนอนในทุกชุดการทดลอง ดังนั้นประสิทธิภาพการยับยั้งการกินของหนอนหัวดำมะพร้าวที่เกิดขึ้นอาจมาจากความสามารถในการออกฤทธิ์ฆ่าตัวหนอนของน้ำมันหอมระเหย จึงทำให้หนอนหัวดำมะพร้าวตายและไม่สามารถเข้าทำลายใบมะพร้าวได้ ซึ่งจากผลการศึกษาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ฆ่าแมลงในระยะตัวอ่อน (larval stage) ได้ เช่น ผลการศึกษาของ Oyegoke และคณะ (2012) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถออกฤทธิ์ฆ่าระยะตัวอ่อนของ *T. castaneum* ได้ โดยน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วย acetone สามารถออกฤทธิ์ได้ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Asawalam และคณะ (2007) ที่พบว่า การสกัด *Piper guineense* ด้วย acetone สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับกับการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น นอกจากนี้ จากผลการศึกษาของ Kamaraj และคณะ (2008) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากกะเพราที่สกัดด้วย actetone สามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนของหนอนเจาะสมอฝ้าย, หนอนม้วนใบและยุงก้นปล่อง (*Anopheles stephensi*) ได้ดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น ซึ่งสามารถออกฤทธิ์ฆ่าตัวอ่อนหนอนม้วนใบได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 36.66 ppm อีกทั้งยังสามารถออกฤทธิ์ไล่ตัวอ่อนของหนอนเจาะสมอฝ้าย และหนอนม้วนใบได้ และจากงานวิจัยของ Kamaraj และคณะ (2008) อีกหนึ่งฉบับ ได้รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากกะเพราสามารถฆ่าตัวอ่อนของหนอนกระทู้, ยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say) ได้ดี โดยมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 68.84, 81.56 และ 38.30 ppm ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากกะเพรา (*O. sanctum*) ของ Ijaz และคณะ (2017) พบว่า น้ำมันหอมระเหยมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ linalool, eugenol, estragole และ **α**-bergamotene ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า linalool, eugenol และ estragole สามารถออกฤทธิ์เป็นสารฆ่าแมลงได้ ดังเช่นการศึกษาของ Praveena และ Sanjayan (2011) พบว่า linalool สามารถออกฤทธิ์ฆ่ายุงลายบ้าน (*Ae. aegypti*) ด้วง *Leptinotarsa decemlineata* และหนอนกะทู้ (*S. litura*) ได้ เนื่องจาก linalool มีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase ซึ่งเป็นเอนไซม์ตัวสำคัญในการควบคุม acetylcholine มีผลต่อระบบประสาทของแมลงและทำให้แมลงตายลง

eugenol คือสารเคมีที่เป็นหนึ่งในองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากพืชและสมุนไพรหลายชนิดที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อแมลงได้หลายรูปแบบ เช่น การออกฤทธิ์ไล่แมลง โดยจากการศึกษาของ Revay และคณะ (2013) พบว่า ประสิทธิภาพของ eugenol สามารถไล่ยุงลาย (*Aedes albopictus*) และยุงรำคาญ (*Culex pipiens*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับสาร metofluthrin ซึ่งเป็นสารไล่ยุงในผลิตภัณฑ์ตามท้องตลาด และ eugenol สามารถออกฤทธิ์ฆ่าแมลงได้ในระดับกลาง โดยจากการศึกษาของ Obeng-Ofori และ Reichmuth (1999) พบว่า eugenol สามารถฆ่าแมลงศัตรูโรงเก็บ 4 ชนิด ได้แก่ *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* และ *Prostephanus truncates* ภายใต้ห้องปฏิบัติการ การศึกษาของ Regnault-Roger และคณะ (2012) พบว่า ด้วงถั่วแดง (*Acanthoscelides obtectus*) ในระยะไข่, ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยมีสภาพที่อ่อนแอลงจากความเป็นพิษของ eugenol นอกจากนี้ตามรายงานของ Regnault-Roger (1997) eugenol ยังสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งการกินของแมลงได้อีกด้วย

estragole เป็นสารเคมีสำคัญในองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยอีกหนึ่งชนิดที่มีผลการศึกษาว่าสามารถสร้างความเป็นพิษต่อแมลงได้ จากการศึกษาของ Ojimelukwe และ Adler (1999) ที่ศึกษาความเป็นพิษขององค์ประกอบทางเคมีในพืชต่อมอดแป้ง (*Tribolium confusum*) พบว่า estragole (4-Allylanisole) มีความเป็นพิษในระดับสูงเมื่อเทียบกับสารตัวอื่น โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 0.05 µl/cm^2 และ estragole ยังมีความเป็นพิษสูงที่สุดต่อมอดแป้งที่ทำให้มีอัตราการตายสูงกว่า 80% จากการทดสอบความเป็นพิษในรูปแบบสารรมควัน (fumigant toxicity) นอกจากนี้ estragole ยังสามารถออกฤทธิ์ไล่แมลงได้ โดยจากการศึกษาของ Bedini และคณะ (2016) พบว่า estragole สามารถออกฤทธิ์ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสารตัวอื่นในการทดสอบ โดยมีค่า RD_{50} ในการไล่มอดข้าวเปลือก (*Rhyzopertha dominica*) มอดแป้ง (*T. confusum*) และด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) อยู่ที่ 0.007, 0.051 และ 1.124 mg/cm^2 ตามลำดับ

จากผลการทดสอบครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบกะเพรา (*O. sanctum*) ที่สกัดด้วยวิธี hydrodistillation สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพและยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว (*O. arenosella*) ใน instar ที่ 2 และ 3 ได้ ทั้งนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในหนอนหัวดำมะพร้าวในระยะที่ยังไม่ได้ทำการทดสอบ เพื่อยืนยันว่าน้ำมันหอมระเหยสามารถออกฤทธิ์ต่อหนอนในทุกระยะได้จริง และจำเป็นต้องมีการทดสอบกับน้ำมันหอมระเหยที่มีระดับความเข้มข้นที่ลดลงเพื่อหาปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่น้อยที่สุดที่สามารถออกฤทธิ์ต่อหนอนหัวดำมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้จะเป็นอีกหนึ่งสิ่งที่ยืนยันการนำพืชที่สามารถหาได้ทั่วไปมาใช้ในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูการเกษตรที่มีประสิทธิภาพและไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ทิติยา จิตติหรรษา และณรงค์ สามงามนิ่ม. 2542. การศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากพืชบางชนิดต่อการตายและต่อพฤติกรรมการกินของเพลี้ยจักจั่นสีเขียว. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, หน้า 70-77. 3-5 กุมภาพันธ์ 2542 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พรรณี หนูซื่อตรง และรุ้งตะวัน สุภาพผล. 2543. ใบกะเพรากับมะเร็ง (1): ฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://thesis.swu.ac.th/swufac/Med/Pannee_N_R223794.pdf [19 พฤษภาคม 2563]

ศูนย์อัจฉริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. (2561). อุตสาหกรรมมะพร้าวและผลิตภัณฑ์แปรรูปของไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabankall2_detailnext.php?smid=1758 [15 มกราคม 2563]

สำนักข่าวโพสต์ทูเดย์. (2561). อนาคตมะพร้าวไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://www.posttoday.com/aec/column/571663 [14 มกราคม 2563]

สุเทพ สหายา, พวงผกา อ่างมณี และอัมพร วิโนทัย. 2553. ทดสอบเบื้องต้นประสิทธิภาพสารป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าว. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 28: 3-9.

สุเทพ สหายา, พฤทธิชาติ ปุญวัฒโท, พวงผกา อ่างมณี, สุภางคนา ถิรวุธ, สุชาดา สุพรศิลป์, สรรชัย เพชรธรรมรส และสิริวิภา พลตรี. 2556. การป้องกันกำจัดหนอนหัวดำมะพร้าว Coconut black-headed caterpillar; *Opisina arenosella* (Walker) โดยวิธีพ่นทางใบ. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2556 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. 4: 2367-2375.

อัมพร วิโนทัย. 2551. หนอนหัวดำมะพร้าวศัตรูพืชชนิดใหม่. วารสารกีฏและสัตววิทยา. 26: 73-75.

อัมพร วิโนทัย, สุเทพ สหายา, เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์, กัสชญภณ หมื่นแจ้ง, ยิ่งนิยม ริยาพันธ์, ปิยนุช นาคะ และวีรา คล้ายพุก. 2556. แมลงศัตรูมะพร้าวที่สำคัญและการป้องกันกำจัด. ใน เอกสารประกอบการอบรมเรื่องการจัดการแมลงศัตรูมะพร้าวที่เกาะสมุย, หน้า 6-36. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร.

ภาษาอังกฤษ

Adorjan, B. and Buchbauer, G. 2010. Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal.* 25:407-426.

Anees, A.M. 2008. Larvicidal activity *of Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Parasitology Research*. 103(6): 1451-1453.

Asawalam, E.F., Emosairue, S.O., Ekeleme, F. and Wokocha, R. 2007. Efficacy of *Piper guineense* (Schum & Thonn) seed extract against maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) as influenced by different extraction solvents. *International Journal of Pest Management*. 53(1): 1-6

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Journal of Food and Chemical Toxicology.* 46: 446-475.

Bansod, S and Rai, M. 2008. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World Journal of Medical Sciences*. 3(2): 81-88.

Bedini, S., Bougherra, H.H., Flamini, G., Cosci, F., Belhamel, K., Ascrizzi, R. and Conti, B. 2016. Repellency of anethole- and estragole-type fennel essential oils against stored grain pests: the different twins. *Bulletin of Insectology*. 69(1): 149-57.

Chakravarthy, A.K. and Doddabasappa, B. 2009. Testing of garlic based bio-pesticide on insect pests of coconut (*Cocus nucifera* L.) [Online]. Available from: http://www.garlicbarrier.com/documents/Coconut_Report.pdf [4 January 2020]

Chomphukhiao, N., Suasaard, W., Uraichuen, S., Buchatian, P. and Charernsom, K. 2011. Biology of the coconut black-headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) and its natural enemies in Thailand. In: *The 8th Kasetsart University Kamphaengsaen Campus Conference*, pp. 31-37. Nakhon Pathom. Kasetsart University Kamphaengsaen Campus.

Chomphukhiao, N. and Uraichuen, S. 2017. Coconut black-headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae): host plant, biology and its natural enemies. *Thaksin University Journal*. 20(3): 77-85.

Evergetis, E., Michaelakis, A., Papachristos, D.P., Badieritakis, E., Kapsaskikanelli, V.N. and Haroutounian, S.A. 2016. Seasonal variation and bioactivity of the essential oils of two *Juniperus* species against *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse, 1894). *Parasitology Research*. 115(6): 2175-2183.

Ijaz, B., Hanif, M.A., Mushtaq, Z., Khan, M.M., Bhatti, I.A. and Jilani, M.J. 2017. Isolation of bioactive fractions from *Ocimum sanctum* essential oil. *Oxidation Communications.* 40: 158-167.

Kamaraj, C., Rahuman, A.A. and Bagavan, A. 2008. Antifeedant and larvicidal effects of plant extracts against *Spodoptera litura* (F.), *Aedes aegypti* L. and *Culex quinquefasciatus* Say. *Parasitology Research*. 103: 325-331.

Kamaraj, C., Rahuman, A.A. and Bagavan, A. 2008. Screening for antifeedant and larvicidal activity of plant extracts against *Helicoverpa armigera* (Hübner), *Sylepta derogata* (F.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Parasitology Research*. 103: 1361-1368.

Khan, A., Ahmad, A., Akhtar, F., Yousuf, S., Xess, I., Khan, L.A. and Manzoor, N. 2010. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Research in Microbiology*. 161(10): 816-823.

Kumar, A., Shukla, R., Singh, P. and Dubey, N.K. 2010. Chemical composition, antifungal and antiaflatoxigenic activities of *Ocimum sanctum* L. essential oil and its safety assessment as plant based antimicrobial. *Food and Chemical Toxicology*. 48(2): 539-543.

Kumara, A.D.N.T., Chandrashekharaiah, M., Subaharan, K. and Chakravarthy, A.K. 2015. Periodicity of adult emergence and sexual behavior of coconut black headed caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Oecophoridae). *Phytoparasitica.* 43(5): 701-712

Mishra, P. and Mishra, s. 2011. Mishra, P. and Mishra, S., 2011. Study of antibacterial activity of *Ocimum sanctum* extract against gram positive and gram negative bacteria. *American Journal of Food Technology*. 6(4): 336-341.

Mittal, R., Kumar, R. and Chahal, H.S. 2018. Antimicrobial activity of *Ocimum sanctum* leaves extracts and oil. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 8(6): 201-204.

Obeng-Ofori, D.E. and Reichmuth, C.H. 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species of stored-product Coleoptera. *International Journal of Pest Management*. 43(1): 89-94

Ojimelukwe, P.C. and Adler, C. 1999. Potential of zimtaldehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of the confused flour beetle

(*Tribolium confusum* J. d. V.)(Col., Tenebrionidae). Anzeiger für Schädlingskunde *Journal of Pest Science*. 72(4): 81-86.

Oyegoke, O.O., Babarinde, S.A., Akintola, A.J. and Olatunji, Z.B. 2012. Bioactivity of *Ocimum sanctum* Linn. leaf powder and extracts against *Tribolium castaneum* Herbst. *African Journal of Plant Science and Biotechnology*. 6(1): 56-59.

Perera, P.A.C.R., Hassell, M.P. and Godfray, H.C.J. 1989. Population dynamics of the coconut caterpillar, *Opisina arenosella* Walker (Lepidoptera: Xyloryctidae), in Sri Lanka. *Journal of the Coconut Research Institute of Sri Lanka*. 7: 42-57.

Praveena, A. and Sanjayan, K.P. 2011. Inhibition of acetylcholinesterase inthree insects of economic importance by linalool, a monoterpene phytochemical. *Insect Pest Management, A Current Scenario*. (1): 340-345.

Qin, W., Huang, Sh., Li, Ch., Chen, S. and Peng, Z. 2009. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 96: 132-139.

Regnault-Roger, C. 1997. The potential of botanical essential oils from insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*. 2(1): 25-34.

Regnault-Roger, C., Vincent, C. and Arnason, J.T. 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*. 57: 405-424.

Revay, E.E., Junnila, A., Xue, R.D., Kline, D.L., Bernier, U.R., Kravchenko, V.D., Qualls, W.A., Ghattas, N. and Müller, G.C. 2013. Evaluation of commercial products for personal protection against mosquitoes. *Acta Tropica*. 125(2): 226-230.

Shukla, P., Vidyasagar, P.S.P.V., Aldosari, S.A. and Abdel-Azim, M. 2012. Antifeedant activity of three essential oils against the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. *Bulletin of Insectology*. 65: 71-76

Sujatha, A. 2001. *Investigations on Natural Enemy Complex of Coconut Leaf Caterpillar Opisina arenosella Walker (Lepidoptera: Oecophoridae) with Special Reference to Egg and Early Larval Parasitoids and Predators*. Master's Thesis, University of Mysore.

Yamani, H.A., Pang, E.C., Mantri, N. and Deighton, M.A. 2016. Antimicrobial activity of Tulsi (*Ocimum tenuiflorum*) essential oil and their major constituents against three species of bacteria. *Frontiers in Microbiology*. 7: 681.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 ตารางบันทึกข้อมูลพื้นที่ใบก่อนถูกกัดกิน หลังถูกกัดกิน และที่ถูกกัดกินโดยหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2

ซ้ำ	ชุดการทดลอง	พื้นที่ใบ (ตร.ซม.)		
		ก่อนถูกกัดกิน	หลังถูกกัดกิน	ที่ถูกกัดกิน
1	ควบคุม	73.314	70.185	3.129
	10%	74.289	74.289	0
	20%	78.060	78.060	0
	30%	84.530	84.530	0
2	ควบคุม	79.966	74.222	5.744
	10%	72.093	72.093	0
	20%	77.430	77.430	0
	30%	74.256	74.256	0
3	ควบคุม	81.050	73.877	7.173
	10%	81.174	81.064	0.11
	20%	73.186	73.186	0
	30%	78.762	78.762	0
4	ควบคุม	79.011	74.714	4.297
	10%	78.999	78.999	0
	20%	77.905	77.905	0
	30%	68.780	68.780	0
5	ควบคุม	85.425	69.072	16.353
	10%	76.259	76.259	0
	20%	75.466	75.466	0
	30%	75.058	75.058	0

ภาคผนวกที่ 2 ตารางบันทึกข้อมูลพื้นที่ใบก่อนถูกกัดกิน หลังถูกกัดกิน และที่ถูกกัดกินโดยหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 3

ซ้ำ	ชุดการทดลอง	พื้นที่ใบ (ตร.ซม.)		
		ก่อนถูกกัดกิน	หลังถูกกัดกิน	ที่ถูกกัดกิน
1	ควบคุม	67.118	42.844	24.274
	10%	63.125	63.125	0
	20%	69.244	69.244	0
	30%	62.854	62.854	0
2	ควบคุม	54.034	37.063	16.971
	10%	53.916	53.916	0
	20%	63.614	63.614	0
	30%	80.809	80.809	0
3	ควบคุม	70.850	55.521	15.329
	10%	70.367	70.367	0
	20%	63.737	63.737	0
	30%	74.942	74.942	0
4	ควบคุม	63.614	53.638	9.976
	10%	56.599	56.599	0
	20%	72.145	72.145	0
	30%	71.413	71.413	0
5	ควบคุม	61.886	45.003	16.883
	10%	58.307	58.307	0
	20%	68.85	68.85	0
	30%	76.792	76.792	0

ภาคผนวกที่ 3 ตารางบันทึกเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารในหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2 และ 3

ซ้ำ	ชุดการทดลอง	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารในหนอนหัวดำมะพร้าว	
		ระยะที่ 2	ระยะที่ 3
1	10%	100%	100%
	20%	100%	100%
	30%	100%	100%
2	10%	100%	100%
	20%	100%	100%
	30%	100%	100%
3	10%	98.47%	100%
	20%	100%	100%
	30%	100%	100%
4	10%	100%	100%
	20%	100%	100%
	30%	100%	100%
5	10%	100%	100%
	20%	100%	100%
	30%	100%	100%

หมายเหตุ: สูตรที่ใช้สำหรับการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารของหนอนหัวดำมะพร้าว ซึ่งอ้างอิงจากงานวิจัยของ Qin และคณะในปี 2009 คือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหาร} = (C-T)/C \times 100$$

C คือ พื้นที่ใบมะพร้าวที่หนอนหัวดำมะพร้าวกินของชุดควบคุม

T คือ พื้นที่ใบมะพร้าวที่หนอนหัวดำมะพร้าวกินของชุดทดสอบ

ภาคผนวกที่ 4 ตารางบันทึกจำนวนการตายของหนอนหัวดำมะพร้าวในระยะที่ 2 และ 3

ซ้ำ	ระยะหนอน	จำนวนการตายของหนอนหัวดำมะพร้าว ในชุดการทดลอง			
		ชุดควบคุม	10%	20%	30%
1	ระยะที่ 2	0	10	10	10
	ระยะที่ 3	0	7	9	10
2	ระยะที่ 2	1	8	10	10
	ระยะที่ 3	0	10	10	10
3	ระยะที่ 2	0	9	10	10
	ระยะที่ 3	0	9	10	9
4	ระยะที่ 2	0	10	9	10
	ระยะที่ 3	0	10	10	10
5	ระยะที่ 2	0	6	9	10
	ระยะที่ 3	0	10	10	10

ภาคผนวกที่ 5 ข้อมูลแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารในหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2 โดยวิธี One-Way ANOVA

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกิน

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Cofisence Interval for Mean		Mini mum	Maxi mum
					Lower bound	Upper Bound		
10%	5	99.6940	.68424	.30600	98.8444	100.5436	98.47	100.00
20%	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
30%	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	15	99.8980	.39504	.10200	99.6792	100.1168	98.47	100.00

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกิน

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.111	2	12	.009

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกิน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.312	2	.156	1.000	.397
Within Groups	1.873	12	.156		
Total	2.185	14			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกิน

Dunnett T3

(I) ชุดทดลอง	(J) ชุดทดลอง	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
10% treated	20% treated	-.3060	.30600	.704	-1.4518	.8398
	30% treated	-.3060	.30600	.704	-1.4518	.8398
20% treated	10% treated	.3060	.30600	.704	-.8398	1.4518
	30% treated	.0000	.00000	.	.0000	.0000
30% treated	10% treated	.3060	.30600	.704	-.8398	1.4518
	20% treated	.0000	.00000	.	.0000	.0000

หมายเหตุ: เนื่องจากข้อมูลเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินอาหารในหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 3 มีชุดข้อมูลที่เหมือนกัน คือ 100% จึงไม่สามารถวิเคราะห์ข้องมูลทางสถิติโดยวิธี One-Way ANOVA

ภาคผนวกที่ 6 ข้อมูลแสดงผลการวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การตายทางสถิติของหนอนหัวดำมะพร้าวระยะที่ 2 และ 3 โดยวิธี One-Way ANOVA

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 2

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	5	2.0000	4.47214	2.00000	-3.5529	7.5529	.00	10.00
10%	5	86.0000	16.73320	7.48331	65.2230	106.7770	60.00	100.00
20%	5	96.0000	5.47723	2.44949	89.1991	102.8009	90.00	100.00
30%	5	100.0000	.00000	.00000	100.0000	100.0000	100.00	100.00
Total	20	71.0000	42.04008	9.40045	51.3246	90.6754	.00	100.00

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
7.094	3	16	.003

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 2

	Sum of squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	32260.000	3	10753.333	130.343	.000
Within Groups	1320.000	16	82.500		
Total	33580.000	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 2

Dunnett T3

(I) ชุดทดลอง	(J) ชุดทดลอง	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	10%	-84.00000*	7.74597	.001	-115.6557	-52.3443
	20%	-94.00000*	3.16228	.000	-104.7489	-83.2511
	30%	-98.00000*	2.00000	.000	-106.7322	-89.2678
10%	control	84.00000*	7.74597	.001	52.3443	115.6557
	20%	-10.00000	7.87401	.744	-41.3367	21.3367
	30%	-14.00000	7.48331	.452	-46.6729	18.6729
20%	control	94.00000*	3.16228	.000	83.2511	104.7489
	10%	10.00000	7.87401	.744	-21.3367	41.3367
	30%	-4.00000	2.44949	.560	-14.6947	6.6947
30%	control	98.00000*	2.00000	.000	89.2678	106.7322
	10%	14.00000	7.48331	.452	-18.6729	46.6729
	20%	4.00000	2.44949	.560	-6.6947	14.6947

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Descriptives

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 3

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
control	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
10%	5	92.0000	13.03840	5.83095	75.8107	108.1893	70.00	100.00
20%	5	98.0000	4.47214	2.00000	92.4471	103.5529	90.00	100.00
30%	5	98.0000	4.47214	2.00000	92.4471	103.5529	90.00	100.00
Total	20	72.0000	43.23741	9.66818	51.7643	92.2357	.00	100.00

Test of Homogeneity of Variances

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.686	3	16	.016

ANOVA

เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34680.000	3	11560.000	220.190	.000
Within Groups	840.000	16	52.500		
Total	35520.000	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนระยะที่ 3

Dunnett T3

(I) ชุดทดลอง	(J) ชุดทดลอง	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
control	10%	-92.00000*	5.83095	.000	-117.4585	-66.5415
	20%	-98.00000*	2.00000	.000	-106.7322	-89.2678
	30%	-98.00000*	2.00000	.000	-106.7322	-89.2678
10%	control	92.00000*	5.83095	.000	66.5415	117.4585
	20%	-6.00000	6.16441	.887	-30.3591	18.3591
	30%	-6.00000	6.16441	.887	-30.3591	18.3591
20%	control	98.00000*	2.00000	.000	89.2678	106.7322
	10%	6.00000	6.16441	.887	-18.3591	30.3591
	30%	.00000	2.82843	1.000	-9.5170	9.5170
30%	control	98.00000*	2.00000	.000	89.2678	106.7322
	10%	6.00000	6.16441	.887	-18.3591	30.3591
	20%	.00000	2.82843	1.000	-9.5170	9.5170

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.