ผลของสารสกัดดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ในควบคุมหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว *Papilio demoleus* Linnaeus (Lepidoptera: Papilionidae)

ณฐพงศ์ เมธินธรังสรรค์[1*] ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์[1]

บทคัดย่อ

การทดสอบผลของสารสกัดจากดาวเรืองที่สกัดด้วยเอทานอล ในการเป็นสารยับยั้งการกิน สารฆ่าและสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัย 4 โดยวิธีจุ่มใบพืช ที่ความเข้มข้น 0, 0.3125, 0.625, 0.125, 0.25 และ 5% (w/v) พบว่าสารสกัดดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการกิน สารฆ่าและสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่ความเข้มข้น 5% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกิน การฆ่าและการยับยั้งการเจริญเติบโตสูงสุด โดยการยับยั้งการกิน (AFI) ของหนอนสูงสุดเท่ากับ 51.89 และ 66.50% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในการเป็นสารฆ่าหนอนเท่ากับ 86.60 และ 100% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 2.27 และ 1.14% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ความเข้มข้น 0.3125% ระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 43.30% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 3.33% ระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 7.33 $\pm$ 0.47 และ 13.33 $\pm$ 0.47 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 3.66 $\pm$ 0.47 และ 6.66 $\pm$ 0.47 ตัว ตามลำดับ

คำสำคัญ : สารสกัดดาวเรือง ยับยั้งการกิน สารฆ่า ยับยั้งการเจริญเติบโต หนอนผีเสื้อกินใบมะนาว

[1] อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

**ผู้นิพนธ์หลัก E-mail: Entomology2552@gmail.com*

EFFECT OF MARIGOLD EXTRACT (*Tagetes erecta* L.) IN CONTROLLING THE *PAPILIO DEMOLEUS* LINNAEUS (Lepidoptera: Papilionidae)

Nathapong Matintarangsan[1*] Duangduan Wattanuruk[1]

Abstract

The anti-feedant, insecticidal and inhibiting growth activity of ethanol extracts from marigold extract were tested on the 4th instar larvae of *Papilio demoleus* Linnaeus. The leaf dipping method at various concentrations of marigold extract 0, 0.3125, 0.625, 0.125, 0.25 and 5% (w/v) were applied. The results found that the marigold extract at the concentration of 5% (w/v) was highly effective in the anti-feedant, insecticidal and inhibiting growth activity. The anti-feedant showed the value 51.89 and 66.50% at 24 and 48 hours, respectively. The insecticidal showed the value 86.6 and 100% and showed the LC_{50} of 2.27 and 1.14% at 24 and 48 hours, respectively. Besides, at the concentration of 0.3125% of marigold extract was 43.30% of mortality of pupa stage when compared with control was 3.33%. The time of development of pupa stage and adult stage were 7.33 $\pm$ 0.47 and 13.33 $\pm$ 0.47 days, respectively when compared with control were 3.66 $\pm$ 0.47 and 6.66 $\pm$ 0.47 days, respectively.

Keyword : marigold extract, anti-feedant, insecticidal, inhibiting growth, *Papilio demoleus*

[1] *Lecturer, Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage, Pathumthani, Thailand*

** Corresponding author: Entomology2552@gmail.com*

บทนำ

มะนาว (Lime) เป็นพืชพื้นเมืองในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus aurantifolia* Swingle อยู่ในวงศ์ Rutaceae ผลมีรสเปรี้ยวจัดอยู่ในสกุลส้ม (Citrus) เมื่อสุกจัดจะเป็นสีเหลืองเปลือกบาง ภายในมีเนื้อแบ่งกลีบๆ ชุ่มน้ำมาก นับเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและทางการแพทย์ มะนาวมีวิตามินซีในปริมาณที่สูงมากและมีน้ำมันหอมระเหยที่ให้กลิ่นสดชื่นเพราะมีส่วนประกอบของสารซิโตรเนลลัล (Citronellal) ซิโทรเนลลิล อะซีเตต (Citronellyl Acetate) ไลโมนีน (Limonene) ไลนาลูล (Linalool) เทอร์พีนีออล (Terpeneol) รวมทั้งมีกรดซิตริก (Citric Acid) กรดมาลิก (Malic Acid) และกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid) ซึ่งถือเป็นกรดผลไม้ (AHA: Alpha Hydroxy Acids) และได้รับการยอมรับว่าช่วยให้ผิวหน้าที่เสื่อมสภาพหลุดลอกออกไปพร้อมๆกับช่วยกระตุ้นการสร้างเซลล์ใหม่ๆ ช่วยให้รอยด่างดำหรือรอยแผลเป็นจางลงได้ (ธวัชชัย, 2558)

ปัญหาสำคัญในการเพาะปลูกมะนาวคือการระบาดและการเข้าทำลายของแมลงศัตรูมะนาว โดยเฉพาะหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว (*Papilio demoleus* Linnaeus) จัดเป็นแมลงศัตรูมะนาวที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ตัวเต็มวัยเป็นผีเสื้อกลางวัน มีขนาด 8-9 เซนติเมตร ปีกคู่หน้ามีจุดสีเหลืองขนาดใหญ่กระจายส่วนท้ายของส่วนปีกคู่หลังมีจุดสีน้ำเงินและสีแดง (Tennant *et al*., 2009) โดยระยะตัวหนอนจะมี 5 วัย ระยะหนอนวัยที่ 1-3 จะมีขนาดเล็ก สีน้ำตาลดำ ปล้องที่ 8-9 จะมีสีขาวและมีรูสำหรับปล่อยกรดยูริกในการป้องกันอัตรายจากศัตรู ระยหนอนวัยที่ 4-5 มีความยาว 3-4 เซนติเมตร ลำตัวสีเขียว ลักษณะทรงกระบอก ตัวหนอนจะกัดกินยอดอ่อนและใบของต้นมะนาวให้ได้รับความเสียหาย โดยระยะหนอนวัยที่ 4-5 จะกัดกินใบมะนาวให้ได้รับความเสียหายมากที่สุด ทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์แสงในการเจริญเติบโตได้ (Sarada *et al*., 2014) นอกจากนี้ยังส่งผลให้การเจริญเติบโตหยุดชะงัก ผลผลิตลดลง 18-85% (Pena *et al*., 2000)

การป้องกันกำจัดหนอนกินใบมะนาวส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมใช้สารเคมีสังเคราะห์ (synthetic chemical) เพราะสะดวก ง่าย มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดแมลง อย่างไรก็ตามผลกระทบที่ตามมาหลายประการ เช่น สารเคมีตกค้างในผลผลิตและสิ่งแวดล้อม สัตว์และสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ตาย ความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศลดลง (Isenring, 2010; Dey, *et al*., 2013) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแมลงสามารถพัฒนาสร้างความต้านทานต่อสารเคมี (Sarwar and Salman, 2015) การใช้สารสกัดจากพืช (plant extract) เป็นแนวทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชเพราะสารสกัดจากพืชไม่มีพิษต่อคนและสัตว์ เนื่องจากคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของสารออกฤทธิ์ที่สกัดจากพืชไม่คงทนและสลายตัวง่าย จึงทำให้ไม่มีปัญหาในเรื่องการสะสมของสารพิษและไม่มีผลต่อสิ่งแวดล้อม (Isman 2000; Prakash *et al*., 2008) จากการศึกษาของ Shareef *et al*., (2016) พบว่าคุณสมบัติของสารสกัดจากพืชมีผลต่ออัตราการกินของหนอนชอนใบของพืชตระกูลส้ม มีผลทำให้หนอนตายและสามารถลดการทำลายของประชากรหนอนชอนใบได้

ดาวเรือง (Marigold) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tagetes erecta* L. อยู่ในวงศ์ Asteraceae ดาวเรืองเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจ นอกจากจะปลูกเพื่อเป็นไม้ตัดดอกแล้วยังสามารถแปรรูปเป็นชาเสริมสุขภาพ สีผสมอาหาร เครื่องสำอาง สีย้อมผ้าและใช้เป็นสวนผสมของอาหารสัตว์ สารประกอบทางเคมีของดาวเรืองสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ใช้เป็นสารกำจัดแมลง กำจัดวัชพืชและยังเป็นแหล่งสำคัญของสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ (Priyanka *et al*., 2013) จากรายงานการวิจัยพบว่าสารประกอบในดาวเรืองมีฤทธิ์ในการเป็นสารไล่ (repellent) สารฆ่า (insecticidal) การยับยั้งการกิน (anti-feedant) และการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง (inhibiting growth) (Ray *et al*., 2008; Phoofolo *et al*., 1013) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรือง ในการเป็นสารยับยั้งการกิน สารฆ่าและสารยับยั้ง

การเจริญเติบโตของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว เพื่อเป็นแนวทางในการควบคุมหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวและนำมาประยุกต์ใช้ทดแทนสารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรือง ในการเป็นสารยับยั้งการกิน (anti-feedant) สารฆ่า (insecticidal) และสารยับยั้งการเจริญเติบโต (growth inhibition) ต่อหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว

วิธีดำเนินการวิจัย

การเลี้ยงและเพิ่มจำนวนหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว

เก็บหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว (*Papilio demoleus* Linnaeus) จากแปลงปลูกมะนาวในพื้นที่จังหวัดปทุมธานี มาเลี้ยงขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวในกล่องพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร โดยฝากล่องเจาะรูและติดด้วยลวดตาข่าย ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ ระยะหนอนวัย 1-3 ใช้ยอดอ่อนหรือใบอ่อนมะนาวเลี้ยงเป็นอาหาร ในขณะที่ระยะหนอนวัย 4 ใช้ใบมะนาวเลี้ยงเป็นอาหาร ในการทดลองจะใช้ระยะหนอนวัยที่ 4 ซึ่งผ่านการอดอาหารนาน 24 ชั่วโมง เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมสารสกัดดาวเรือง

นำใบและลำต้นดาวเรือง (ส่วนที่เหลือใช้) ที่เก็บจากแปลงเกษตรกรมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นผึ่งให้แห้งในที่ร่ม นำใบและลำต้นดาวเรืองมาหั่นให้ละเอียด หลังจากนั้นนำไปสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction โดยใช้ 95% ethanol เป็นตัวทำละลาย นำใบและลำต้นดาวเรืองที่เตรียมไว้บรรจุใน Thimble โดยใช้ตัวอย่างพืช 100 กรัม ต่อ ethanol 800 มิลลิลิตร (1:8 w/v) แล้วนำไปสกัดด้วยเครื่องสกัดสาร Soxhlet apparatus สกัดวันละ 8 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman®เบอร์ 1 จะได้สารสกัดที่ผสมอยู่ในตัวทำละลาย จึงนำไประเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ก็จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งเป็นสารสกัดความเข้มข้น 100% นำไปเก็บโดยการแช่แข็งเพื่อใช้ทดสอบขั้นต่อไป

(ก)

(ข)

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

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรือง

ทำการทดสอบด้วยวิธีจุ่มใบพืช (leaf dipping method) โดยนำใบมะนาวที่ปลูกในโรงเรือนทดลองมาตัดเป็นวงกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร จุ่มในสารสกัดจากดาวเรืองที่ความเข้มข้น 0 (10% ของ tween-20) 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 และ 5% (w/v) นาน 1 นาที ทิ้งไว้ให้แห้งในที่ร่ม วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ใช้หนอนทดสอบ 10 ตัวต่อซ้ำ ประเมินการทดสอบดังนี้

ภาพที่ 2 การเตรียมหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวเพื่อใช้ทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการกิน (anti-feedant test)

ทำการทดสอบแบบไม่ให้ทางเลือก (no choice test) โดยวางใบมะนาวที่จุ่มสารสกัดจากดาวเรืองที่บริเวณจุดศูนย์กลางของกล่องทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร รองก้นกล่องด้วยกระดาษฟาง ชุบน้ำเพื่อให้ความชื้น ส่วนของฝากล่องเจาะรูและปิดด้วยผ้าขาวบางเพื่อระบายอากาศจำนวน 1 ใบต่อกล่อง ปล่อยหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัยที่ 4 ลงไปจำนวน 1 ตัวต่อกล่อง แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการวัดพื้นที่การกินด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ (LI-3000A Portable Area Meter) โดยวัดพื้นที่ใบก่อนการทดสอบและหลังการทดสอบที่ 24 และ 48 ชั่วโมง คำนวณคาการยับยั้งการกิน anti-feedant index ตามวิธีของ Escoubas *et al*., (1992) เปรียบเทียบกับพื้นที่ใบเสียหายจากชุดควบคุม (น้ำกลั่น) โดยใช้สูตร AFI = (C-T)/(C+T) x 100 (เมื่อ C = %การกินในชุดควบคุม, T = %การกินในชุดทดลอง)

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน (oral toxicity test)

ทำการทดสอบโดยวางใบมะนาวที่จุ่มสารสกัดจากดาวเรืองลงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร รองก้นกล่องด้วยกระดาษฟางชุบน้ำเพื่อให้ความชื้น ส่วนฝากล่องเจาะรูและปิดด้วยผ้าขาวบางเพื่อระบายอากาศ ปล่อยหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัยที่ 4 จำนวน 10 ตัวต่อกล่อง แต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น) นำไปวางไว้ที่ชั้นเลี้ยงแมลงที่อุณหภูมิห้อง 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ บันทึกจำนวนหนอนที่ตายที่ 24 และ 48 ชั่วโมง หลังการทดสอบ จากนั้นนำผลที่ได้มาคำนวณหาคา LC_{50} หลังการทดสอบและเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนตามสูตร Abbott's formula (Abbott, 1925)

$$\%\text{การตายจริง} = \frac{\%\text{ การตายของหนอนที่ได้รับสารสกัด - }\%\text{ การตายของหนอนในชุดควบคุม}}{100 - \%\text{ การตายของหนอนในชุดควบคุม}} \times 100$$

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibiting growth test)

ทำการทดสอบแบบเดียวกันกับการทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน โดยนำใบมะนาว 10 ใบ จุ่มด้วยสารสกัดจากดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่มีผลต่อหนอนกินใบมะนาวคือ 0.3125% ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นนำมาวางในกล่องเลี้ยงแมลงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13 เซนติเมตร สูง 5 เซนติเมตร รองก้นกล่องด้วยกระดาษฟางชุบน้ำเพื่อให้ความชื้น ปล่อยหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัยที่ 4 จำนวน 10 ตัวต่อกล่อง ในขณะชุดควบคุมจุ่มด้วยน้ำกลั่น นำไปวางไว้ที่ชั้นเลี้ยงแมลงที่อุณหูมิห้อง 25-27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75-80 เปอร์เซ็นต์ บันทึกอัตราการตายและระยะเวลาของหนอนกินใบมะนาวในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัย

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการกิน นำข้อมูลที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินของหนอน การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่า นำข้อมูลที่ได้มาหาเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) ภายใน 24 และ 48 ชั่วโมง และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่า Median lethal concentration (LC_{50}) โดยใช้โปรแกรม SPSS probit analysis (Finney, 1971)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการกิน (anti-feedant test)

จากการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรืองในการเป็นสารยับยั้งการกินของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว การทดสอบแบบไม่ให้มีทางเลือก (no choice test) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 และ 5% พบว่าสารสกัดดาวเรืองมีผลต่อการยับยั้งการของหนอนกินใบมะนาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อความเขมขน ของสารสกัดดาวเรืองสูงขึ้น พื้นที่ใบที่ถูกทำลายหรือมีค่าเฉลี่ยการกินในชุดทดลองมีแนวโนมลดลงเมื่อเปรียบเทียบพื้นที่ใบในชุดควบคุม ที่ความเข้มข้น 5% พื้นที่ใบที่ถูกทำลายหรือมีค่าเฉลี่ยการกินน้อยสุดเท่ากับ 8.25 ± 0.08 และ 5.18 ± 0.24 ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม 26.05 ± 1.36 และ 25.75 ± 0.57 ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ค่าการยับยั้งการกิน (AFI) ของหนอนจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ความเข้มข้น 5% มีค่าการยับยั้งการกินของหนอนสูงสุดเท่ากับ 51.89 และ 66.50% ในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการกินของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัย 4 เมื่อได้รับสารสกัดดาวเรืองที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยวิธีจุ่มใบพืช (leaf dipping method)

Conc (%)	No of 4 instar larvae	Mean ± SD after 24 h	Percent anti-feedant after 24 h	Mean ± SD after 48 h	Percent anti-feedant after 48 h
0	1	26.05 ± 1.36e	0.00	25.75 ± 0.57e	0.00
0.3125	1	20.71 ± 0.38d	11.61	17.25 ± 0.08d	19.76
0.625	1	19.75 ± 0.29cd	13.75	15.15 ± 0.08cd	25.91
1.25	1	15.61 ± 0.44bc	25.06	12.85 ± 0.50bc	33.41
2.5	1	12.61 ± 0.59ab	34.76	9.58 ± 0.40ab	45.76
5	1	8.25 ± 0.08a	51.89	5.18 ± 0.24a	66.50

* ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารฆ่าโดยการกิน (insecticidal test)

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรืองในการเป็นสารฆ่าโดยการกินของหนอนกินใบมะนาว ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.3125, 0.625, 1.25, 2.5 และ 5% พบว่าสารสกัดดาวเรืองมีผลต่อการฆ่าของหนอนกินใบมะนาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดดาวเรืองสูงขึ้น มีผลทำให้อัตราการตายของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวเพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้น 5% ของสารสกัดดาวเรืองมีประสิทธิภาพสูงสุดในการฆ่าหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวเท่ากับ 86.6 และ 100% ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 2.27 และ 1.14% ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไม่มีการตายของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 0.3125, 0.625, 1.25 และ 2.5% มีเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาวอยู่ในระดับต่ำมีค่าเท่ากับ (16.6, 33.3), (30.0, 40.0), (36.6, 53.3) และ (53.3, 73.3) ที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาววัย 4 เมื่อได้รับสารสกัดดาวเรืองที่ 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยวิธีจุ่มใบพืช (leaf dipping method)

Conc (%)	No of 4-5 instar larvae	Mean ± SD after 24 h	Percent mortality after 24 h	Mean ± SD after 48 h	Percent mortality after 48 h
0	10	0.00 ± 0.00c	0.00	0.00 ± 0.00d	0.00
0.3125	10	1.66 ± 0.47b	16.6	3.33 ± 0.47c	33.3
0.625	10	3.00 ± 0.00b	30.0	4.00 ± 0.81c	40.0
1.25	10	3.66 ± 0.47b	36.6	5.33 ± 0.47c	53.3
2.5	10	5.33 ± 0.47b	53.3	7.33 ± 0.47b	73.3
5	10	8.66 ± 0.47a	86.6	10.0 ± 0.00a	100.0

* ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.

การทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต (inhibiting growth test)

จากผลการทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรืองที่ระดับความเข้มข้น 0.3125% ในการเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว พบว่าสารสกัดดาวเรืองมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนกินใบมะนาวได้อย่างมีประสิทธิภาพของหนอนกินใบมะนาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ที่ระดับความเข้มข้น 0.3125% มีผลทำให้หนอนมีอัตราการรอดชีวิตเพื่อเข้าดักแด้และเจริญออกเป็นตัวเต็มวัยน้อยลง โดยในระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 43.3% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมระยะดักแด้มีเปอร์เซ็นต์การตาย 3.33% ระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 7.33 $\pm$ 0.47 และ 13.33 $\pm$ 0.47 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมระยะเวลาในการพัฒนาเจริญเติบโตเป็นระยะดักแด้และตัวเต็มวัยใช้เวลาเฉลี่ย 3.66 $\pm$ 0.47 และ 6.66 $\pm$ 0.47 ตัว ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตาย ระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้และตัวเต็มวัยของผีเสื้อหนอนกินใบมะนาว เมื่อทดสอบด้วยสารสกัดดาวเรืองที่ความเข้มข้น 0.3125%

Conc (%)	Pupal mortality (%)		Pupal duration (days)	Adult duration (days)
	Mean $\pm$ SD	(%)	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD
0.3125	4.33 $\pm$ 0.47a	43.3	7.33 $\pm$ 0.47a	13.33 $\pm$ 0.47a
control	0.33 $\pm$ 0.47b	3.33	3.66 $\pm$ 0.47b	6.66 $\pm$ 0.47b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test.

สรุปผลการวิจัย

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดดาวเรือง (*Tagetes erecta* L.) ในการควบคุมหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว *Papilio demoleus* Linnaeus พบว่าสารสกัดดาวเรืองมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกิน การฆ่าและการยับยั้งการเจริญเติบโตของผีเสื้อและหนอนกินใบมะนาว จากการศึกษาของรัตนาภรณ์ และคณะ (2544) ได้รายงานว่าสารประกอบที่ตรวจพบในต้น ใบ และดอกของดาวเรืองที่สกัดด้วย methanol ส่วนใหญ่เป็นสารพวก isoprene unit (carbon 5 ตัว) เช่น limonene, ocimene, caryophyllene, farnesene และ neophytadiene ซึ่งกลุ่มสารดังกล่าวมีผลการยับยั้งการกินของหนอนผีเสื้อกินใบมะนาว จากการศึกษาของ Arivoli and Tennyson (2013) อธิบายว่าบริเวณส่วนปากของหนอนผีเสื้อจะมีเซลล์ประสาทรับสัมผัสทางเคมี (chemosensilla) ซึ่งจะตอบสนองต่ออาหารที่กินเข้าไป ถ้าอาหารนั้นเป็นอาหารที่ไม่มีพิษหนอนก็จะยอมรับและกินไปเรื่อยๆ แต่ถ้าอาหารนั้นไม่เหมาะสมหรือมีสารพิษ ระบบประสาทส่วนกลางจะสั่งการมายังเซลล์ประสาทรับสัมผัสทางเคมีให้หยุดการตอบสนองและยับยั้งการกินของหนอน และจากการศึกษาของ Mishra *et al*., (2015) อธิบายว่าเมื่อหนอนกินพืชอาหารที่มีสารพิษเข้าไป สารพิษจะมีผลต่อระบบย่อยอาหารส่วนกลาง (midgut) ของแมลง (digestive system) สารพิษจะทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อบุผิวของกระเพาะอาหาร เซลล์เยื่อบุผิวมีรูปร่างผิดปกติ ซึ่งจะมีผลต่อการดูดซึมสารอาหาร ซึ่งจะส่งผลต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตจากตัวหนอนเข้าสู่ดักแด้และตัวเต็มวัย และ Rizwan-ul-haq *et al*., (2010) อธิบายว่าสารพิษจากพืชจะมีผลในการยับยั้งการ

ทำงานกลูธาไทโอน เอส ทรานเฟอเรส (glutathione S-transferases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการกำจัดสารพิษของแมลง

ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งต่อไปควรจะจำลองการปลูกมะนาวในโรงเรือนและแปลงทดลอง และทดลองประสิทธิภาพของสารสกัดจากดาวเรืองต่อผีเสื้อหนอนมะนาวและศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดจากดาวเรืองในแปลงปลูกมะนาวในสภาพจริงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ธวัชชัย หยุบแก้ว. (2558). มะนาว..พืชแก้วิกฤติภัยแล้งและใช้น้ำน้อย. วิชาการปริทัศน์. 23(12): 5-8.

รัตนาภรณ พรหมศรัทธา, มัณฑนา มิลน และอารมณ แสงวนิชย์. (2543). การศึกษาองคประกอบทางเคมีของดาวเรือง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตรครั้งที่ 39. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์: กรุงเทพฯ. หน้า 406-409.

Abbott, W.S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology. 18: 265– 267.

Arivoli, S and S. Tennyson. (2013). Screening of plant extracts for oviposition activity against *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Fauna and Biological Studies. 1(1): 20-24.

Blaney, W.M., M.S.J. Simmonds., S.V. Evans and L.E. Fellows. (1984). The role of the secondary plant compound 2,5-dihydroxymethyl 3,4 dihydroxypyrrolidine as a feeding inhibitor for insects. Entomologia Experimentalis Et Applicata. 36: 209–216.

Dey, K.R., P. Choudhury and B.K. Dutta. (2013). Impact of pesticide use on the health of farmers: A study in Barak valley, Assam (India). Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 5(10): 269-277.

Escoubas, P., Y. Fukushi, L. Lajide and J. Mizutani. (1992). A new method for fast isolation of insect antifeedant compounds from complex mixtures. Journal of Chemical Ecology. 18: 1819-1832.

Finney, D.J. (1971). Statistical method in biological assay (Second edition). Charles Griffin & Co. London. 668 p.

Isenring, R. (2010). Pesticides reduce biodiversity. Pesticides News. 88: 4-7.

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

Mishra, M., K.K. Gupta and S. Kumar. (2015). Impact of the Stem Extract of *Thevetia neriifolia* on the Feeding Potential and Histological Architecture of the Midgut Epithelial Tissue of Early Fourth Instars of *Helicoverpa armigera* Hübner. International Journal of Insect Science. 7: 53–60.

Pena, J.E., A. Hunsberger and B. Schaffer. (2000). Citrus Leafminer (Lepidoptera:Gracillariidae) Density: Effect on Yield of 'Tahiti' Lime. Journal of Economic Entomology. 93(2): 374-379.

Phoofolo, M.W., S. Mabaleha and S.B. MekFbib. (2013). Laboratory assessment of insecticidal properties of *Tagetes minuta* crude extracts against *Brevicoryne brassicae* on cabbage. Journal of Entomology and Nematology. 5(6): 70-76.

Prakash, A., J. Rao and V. Nandagopal. (2008). Future of Botanical Pesticides in rice, wheat, pulses and vegetables pest management. Journal of Biopesticides. 1(2): 154–169.

Priyanka, D., T. Shalini and V.K. Navneet. (2013). A brief study on marigold (*Tagetes* species): a review. International Research Journal of Pharmacy. 4(1): 43-49.

Ray, D.P., P. Dureja and S. Walia. (2008). Evaluation of Marigold (*Tagetes erecta* L.) Flower Essential Oil for Antifeedant Activity against *Spodoptera litura* F. Pesticide Research Journal. 20(1): 10-12.

Rizwan-ul-haq, M., M.Y. Hu., M. Afzal., M.H. Bashir., L. Gong and J. Luo. (2010). Impact of Two Medicinal Plant Extracts on Glutathione S-Transferase Activity in the Body Tissues *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Pakistan Journal of Botany. 42(6): 3971-3979.

Sarada, G., K Gopal., KT.V. Ramana., L.M. Lakshmi and T. Nagalakshmi. (2014). Citrus Butterfly (*Palilio demoleus* Linnaeus) Biology and Management A Review. Journal of Agriculture and Allied Sciences. 3(1): 17-25.

Sarwar, M and M. Salman. (2015). Insecticides Resistance in Insect Pests or Vectors and Development of Novel Strategies to Combat Its Evolution. International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering. 1(3): 344-351.

Shareef, M.F., A.B.M Raza., M.Z. Majeed., K.S. Ahmed, W. Raza and H.F. Hussain. (2016). Effect of botanicals on the infestation of citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella* stainton. Journal of Entomology and Zoology Studies. 4(4): 1335-1340.

Tennant, P.F., D. Robinson., L. Fisher., S.M. Bennett., D. Hutton., P. Coates-Beckford and W.M. Laughlin. (2009). Diseases and Pests of Citrus (*Citrus* spp.). Tree and Forestry Science Biotechnology. 3(2): 81-107.