

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

#### 1. การสกัดสารออกฤทธิ์จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

ในกระบวนการผลิตสารสกัดจากพืชนั้น มีกระบวนการสำคัญอยู่ 2 ประการคือ การเตรียมตัวอย่างที่จะนำมาสกัด และ การสกัดสารออกฤทธิ์

##### 1.1 การเตรียมตัวอย่างที่นำมาสกัด

การเตรียมตัวอย่างที่นำมาสกัดเป็นขั้นตอนที่ต้องใช้ความพิถีพิถันเพื่อให้ได้มาซึ่งวัตถุดิบที่มีคุณภาพในปริมาณที่มากเพียงพอกับความต้องการ โดยใช้เมล็ดสะเดาช้างจากการเก็บรวบรวมผลสุกของสะเดาช้างจากพื้นที่จังหวัด นครศรีธรรมราช ตรัง พัทลุง และสงขลา โดยทิวา (2543) และ ปารีชาติ (2543) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์อย่างดียิ่งจากศูนย์เพาะชำกล้าไม้ที่ 6 จังหวัดสงขลา อำเภอรัตนภูมิ จังหวัดสงขลา

นำผลสุกของสะเดาช้างมาบิบและแยกเอาเนื้อผลออกให้เหลือเฉพาะเมล็ด นำเมล็ดไปล้างน้ำแล้วนำไปตากแดดประมาณ 2-3 วัน เพื่อลดความชื้นภายในเมล็ด เมล็ดที่แห้งดีแล้วจะมีลักษณะเปลือกเป็นสีครีมสะอาด และสามารถบิบเปลือกให้แตกได้ง่าย นำเมล็ดไปกะเทาะเปลือกออก แล้วนำเฉพาะเนื้อในเมล็ด (seed kernel) ไปทำให้แห้งละเอียดโดยใช้ครกหิน เพื่อจะนำไปทำการสกัดสารออกฤทธิ์ต่อไป

##### 1.2 การสกัดสารออกฤทธิ์

การสกัดสารออกฤทธิ์จากพืชสามารถทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของสารในการทนความร้อนและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ โดยทั่วไปในกระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์จากเมล็ดสะเดานิยมใช้วิธีการแช่ขุ่ย (maceration) ซึ่งเป็นวิธีการทั่วไปที่นิยมใช้ในการสกัดสารจากธรรมชาติ ซึ่งมีขั้นตอนการสกัดโดยการหมักตัวอย่างพืชกับตัวทำละลายในภาชนะ เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปชมพู่ หรือโถ เป็นต้น ทิ้งไว้ประมาณ 3-7 วัน แล้วจึงทำการรินสารละลายออกมา ก่อนจะนำสารละลายที่ได้ไปกรองแล้วกลั่นเอาตัวทำละลายออก กระบวนการแช่ขุ่ยนี้ควรทำซ้ำหลาย ๆ ครั้งเพื่อให้สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ออกมาให้มากที่สุด

สำหรับการแช่ขุ่ยเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์จากเมล็ดสะเดาช้างในการทดลองนี้แบ่งออกเป็น 2 กระบวนการ คือ

### 1.2.1 กระบวนการสกัดน้ำมันสะเดาช้าง

นำผงเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 7 กิโลกรัมไปบรรจุไว้ในขวดปากกว้างขนาด 20 ลิตร เติมตัวทำละลาย n-hexane ลงไปจนท่วม ปิดขวดให้สนิทด้วยจุกยางที่หุ้มด้วย aluminium foil เพื่อป้องกันไม่ให้สาร n-hexane ทำปฏิกิริยากับจุกยาง ทิ้งไว้ 7 วัน ระหว่างนี้ต้องเขย่าขวดบ่อย ๆ เพื่อให้สารละลายสัมผัสกับเนื้อของตัวอย่างให้มากที่สุด

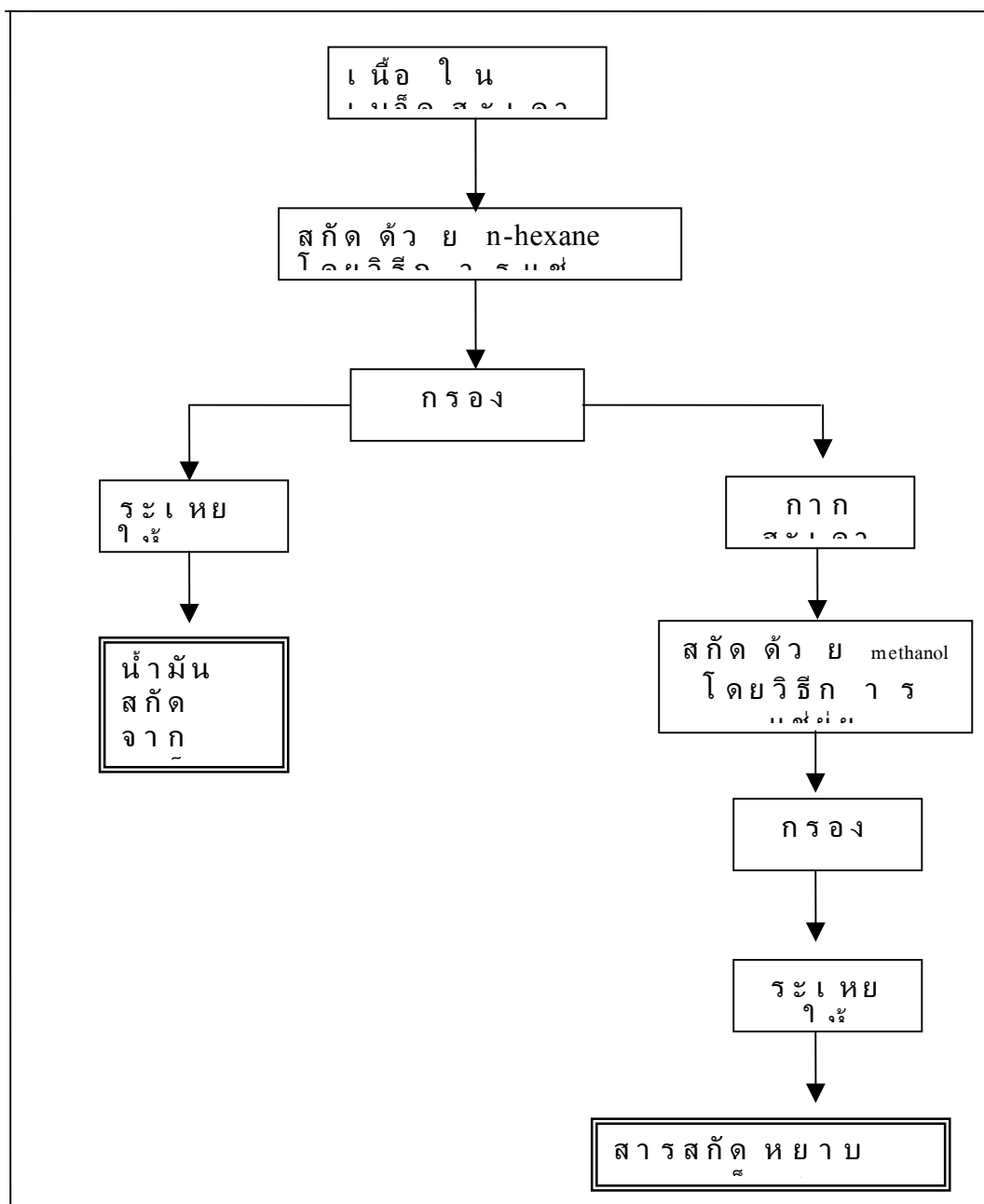
เมื่อครบกำหนดแล้วจึงรินสารละลายออกให้หมด นำไปกรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบ แล้วจึงนำสารละลายไประเหยให้แห้ง (evaporation) โดยการกลั่นตัวทำละลายออกจากสารสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเสื่อมประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป โดยใช้เครื่อง rotary evaporator ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ภาควิชาเภสัชเวทและเภสัชพฤกษศาสตร์ และหน่วยเครื่องมือกลางคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จากนั้นจึงนำน้ำมันสกัดจากสะเดาช้างไปวางไว้บน water bath อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อระเหยตัวทำละลายที่อาจมีหลงเหลืออยู่ในน้ำมันสกัดจากสะเดาช้างออกให้หมด ส่วนตัวทำละลายนำไปใช้แช่ขุ่ยผงเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างต่อไป และทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

จากขั้นตอนการสกัดนี้จะได้น้ำมันสกัดจากสะเดาช้างและกากสะเดาช้างที่ปราศจากน้ำมัน นำน้ำมันสกัดจากสะเดาช้างไปชั่งน้ำหนักเปรียบเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างสด และนำกากสะเดาช้างไปทำการสกัดสารสกัดหยาบต่อไป

### 1.2.2 การสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยแอลกอฮอล์

นำกากสะเดาช้างที่ผ่านการสกัดน้ำมันในเนื้อเมล็ดออกด้วย n-hexane แล้วมาผึ่งลมให้แห้งก่อนจะนำมาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ต่อกับ methanol โดยวิธีการแช่ขุ่ย เหมือนกับการสกัดในหัวข้อ 1.2.1 เมื่อครบ 7 วันก็นำมารินเอาสารละลายออก กรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบ แล้วนำสารละลายไปแยกเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดหยาบด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดหยาบจากสะเดาช้างที่สกัดได้ไปวางบน water bath ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสใช้เวลา 5 วันเป็นอย่างต่ำ เพื่อให้น้ำและตัวทำละลายที่อาจเหลืออยู่ระเหยออกไป ส่วนตัวทำละลายที่แยกได้โดยเครื่อง rotary evaporator นำไปแช่กากสะเดาช้างต่อ แล้วดำเนินการเหมือนเดิมอีก 3 ครั้งเพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ (crude methanol extract) ที่มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการทดสอบ จากนั้นนำไปชั่งเปรียบเทียบน้ำหนักและคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดหยาบในเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

กระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทั้งหมดสามารถสรุปเป็นขั้นตอนได้ดังภาพที่ 3 ซึ่งผลที่ได้คือ ส่วนของน้ำมันสกัดจากสะเดาช้าง และส่วนของสารสกัดหยาบจากสะเดาช้าง ซึ่งจะนำไปทำการทดสอบฤทธิ์การไล่แมลงวันแดงและแมลงวันบ้านต่อไป



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสกัดสารออกฤทธิ์จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง

## 2. การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแดงและแมลงวันบ้าน

### 2.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแดง

ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันแดงที่เข้าทำลายแตงกวา และบวบ ในแปลงทดลองภาควิชาการจัดการศัตรูพืชมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งหนอนแมลงวันแดงดังกล่าวกลายเป็นตัวเต็มวัย จากนั้นจึงทำการเลือกเฉพาะแมลงวันแดงชนิด *Bactrocera cucurbitae* มาทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณ

เลี้ยงตัวเต็มวัยของแมลงวันแดงในกรงตาข่ายไนลอนขนาด 20 x 25 x 30 เซนติเมตร โดยใช้สารละลายน้ำผึ้ง 10 % และยีสต์ไฮโดรไลเสทเป็นอาหาร เมื่อแมลงออกจากดักได้แล้วทำการจับแมลงวันแดงแยกเพศผู้และเพศเมียออกจากกัน ทำการเลี้ยงแมลงวันแดงตัวเต็มวัย 12 วันแล้วจึงจับแมลงวันแดงทั้ง 2 เพศมารวมไว้ในกรงเดียวกันเพื่อการจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ ปล่อยให้แมลงวันแดงวางไข่บนชิ้นแตงกวาผ่าซีกและคว้านเนื้อในออก (บรรหาร, 2536) แล้วแยกไข่ที่ได้ไปฟักและเลี้ยงบนอาหารกึ่งเทียมที่เป็นส่วนผสมของ ข้าวโพดคั่ว ฟักทองต้ม และยีสต์ไฮโดรไลเสท (แสน, 2529) ทำการเลี้ยงแมลงวันแดงระยะหนอนในกล่องพลาสติกขนาด 10 x 20 x 30 เซนติเมตร ประมาณ 5-7 วัน จึงปล่อยให้หนอนแมลงวันแดงเข้าสู่ระยะดักแด้ในจีลื้อผสมทรายในอัตราส่วน 3 : 1

ทำการเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแดงทั้งหมด 5 รุ่น เพื่อให้มีแมลงวันแดงตัวเต็มวัยมากเพียงพอและใช้แมลงวันแดงรุ่นที่ 5 ในการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดจากสะเดาช้าง

### 2.2 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันบ้าน

ทำการรวบรวมแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยมาทำการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ในกรงไนลอนขนาด 20 x 25 x 30 เซนติเมตร โดยใช้สารละลายน้ำผึ้ง 10 % และอาหารของแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยประกอบด้วยน้ำผึ้ง 10 % และ ยีสต์ไฮโดรไลเสท (จินดา, 2528) ทำการปล่อยให้แมลงวันวางไข่บนอาหารที่เป็นส่วนผสมของรำละเอียด อาหารไก่ไข่ และน้ำตาลทราย อัตราส่วน 1 : 1 : 1 หมักทิ้งไว้ 1 คืนเพื่อให้เกิดกลิ่น (Chong *et.al*, 1999) และปล่อยให้หนอนแมลงวันบ้านฟักออกจากไข่และเจริญเติบโตในอาหารดังกล่าวจนถึงระยะเข้าดักแด้ ปล่อยให้หนอนแมลงวันบ้านเข้าดักแด้ในจีลื้อแห้งผสมทรายในอัตราส่วน 3 : 1 ทำการแยกแมลงวันบ้านเพศผู้และเพศเมียออกจากกันเลี้ยงไว้ 5 วัน ก่อนจะนำแมลงวันบ้านทั้ง 2 เพศมารวมกันเพื่อการจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่รุ่นถัดไป

ทำการเลี้ยงแมลงวันบ้านทั้งหมด 5 รุ่นเพื่อเพิ่มจำนวนให้ได้มากที่สุดสำหรับการทดลอง และใช้แมลงวันบ้านรุ่นที่ 5 มาทำการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดจากสะเดาข้างในการเป็นสารไล่แมลง

### 3. การทดสอบประสิทธิภาพการไล่แมลงของสารสกัดจากสะเดาข้างต่อแมลงวันแดงและแมลงวันบ้าน

#### 3.1 การเตรียมสารสกัดในการทดลอง

สารสกัดจากสะเดาข้างที่นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันแดงนี้มี 2 รูปแบบ คือ น้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง ในการทดลองนี้ได้ทำการเตรียมความเข้มข้นของสารสกัดทั้ง 2 ชนิด ออกเป็น 5 ระดับ คือ 300,000, 200,000, 150,000, 100,000 และ 50,000 มิลลิกรัม / ลิตร ตามลำดับ โดยใช้สารอะซิโตน (acetone) เป็นตัวทำละลายน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและใช้สารเอทานอล (ethanol) เป็นตัวทำละลายสารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง ใช้สารอะซิโตนเป็นชุดควบคุมในการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและใช้สารเอทานอลเป็นชุดควบคุม ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างตามลำดับ

#### 3.2 การเตรียมวัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง

วัสดุอุปกรณ์ในการทดสอบประสิทธิภาพการไล่แมลงนี้ได้แก่

- กรงทดสอบ เป็นกรงจัตุรัสผลิตจากพลาสติกใสขนาด 60 x 60 x 60 เซนติเมตรเจาะช่องระบายอากาศด้านข้างของกรงทั้ง 4 ด้าน พื้นด้านในของกรงทดสอบปูด้วยกระดาษสีขาวที่มีการกำหนดจุดวางเป่าล่อแมลงไว้ 6 จุดตามรัศมีวงกลมโดยเป่าล่อแมลงจะอยู่ห่างจากจุดศูนย์กลางวงกลม 15 เซนติเมตรเท่ากันทุกเป่า

- เป่าล่อการเกาะของแมลงวันแดง ทำโดยนำแตงกวาที่มีขนาดเท่า ๆ กัน โดยเลือกผลแตงกวาที่มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร และไม่มีรอยทำลายของแมลงมาล้างน้ำสะอาด ผ่าเป็น 2 ซีกตามความยาวและคว้านเอาเนื้อและเมล็ดข้างในออกจนหมด จากนั้นใช้เข็มหมุดเจาะรูบนผิวแตงกวาจำนวน 50 รู เพื่อล่อให้แมลงวันแดงเข้ามาวางไข่ จากนั้นนำชิ้นแตงกวาดังกล่าวมาวางบนด้านหลังของฝาครอบจาน petri dish และใช้แผ่นพาราฟิล์มห่อหุ้มผลแตงกวาให้มิดชิดเพื่อป้องกันแมลง เข้ามาวางไข่ตรงรอยต่อระหว่างรอยผ่าของผลแตงที่วางอยู่บนพื้นราบของ

หลังจากนั้น ก่อนทำการกรีดเพื่อเปิดแผ่นพาราฟิล์มออกในส่วนที่หุ้มแดงกว่าส่วนที่ได้เจาะรูไว้ เพื่อล่อให้แมลงเข้ามาเกาะ (ภาพที่ 4) ก่อนจะนำไปฉีดพ่นสารสกัดความเข้มข้นต่าง ๆ ขึ้นละ 1 ความเข้มข้น โดยกำหนดปริมาตรของสารที่ตกลงบนเป้า 1 มิลลิลิตร การฉีดพ่นสารสกัดบนเป้าล่อแมลงวันแดงใช้เครื่องฉีดพ่นสารแบบ potter sprayer ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ ในการทดสอบแต่ละครั้งจะใช้แดงกว่าจำนวน 6 ขึ้นสำหรับฉีดพ่นสารสกัดที่ระดับต่าง ๆ จำนวน 5 ขึ้นและชุดควบคุม 1 ขึ้น

- เป้าล่อการเกาะของแมลงวันบ้าน ใช้นมผงสำหรับเลี้ยงทารกผสมคลุกเคล้ากับน้ำตาลทรายในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วนำส่วนผสมนี้ใส่ไว้ในจาน petri dish เพื่อล่อให้แมลงวันบ้านมาเกาะ (ภาพที่ 5) ทำการฉีดพ่นสารสกัดลงบนเป้าล่อแมลงโดยใช้เครื่อง potter sprayer ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตรจำนวน 6 เป้าสำหรับ 5 ความเข้มข้นของสารสกัด และ ชุดควบคุมในการทดลอง 1 ชุด

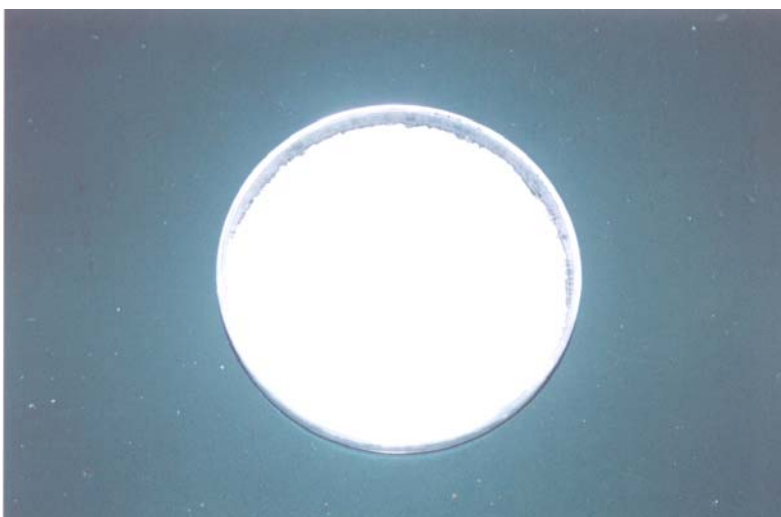
- แมลงวันแดงสำหรับการทดสอบ ใช้แมลงวันแดงสำหรับการทดสอบครั้งละ 30 คู่ โดยทำการย้ายแมลงวันแดงตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียอายุ 20 วันซึ่งพร้อมจะทำการผสมพันธุ์แล้วมาไว้ในกรงทดสอบเดียวกันแล้วปล่อยทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อให้แมลงได้จับคู่ผสมพันธุ์กันก่อนจะนำไปทำการทดสอบประสิทธิภาพการไล่แมลงของสารสกัดจากสะเดาช้างต่อไป

- แมลงวันบ้านสำหรับการทดสอบ ใช้แมลงวันบ้านสำหรับการทดสอบครั้งละ 30 คู่ โดยทำการย้ายแมลงวันบ้านตัวเต็มวัยอายุ 7 วันเพศผู้และเพศเมียมาไว้ในกรงทดสอบเดียวกันทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงก่อนจะนำไปทำการทดสอบประสิทธิภาพการไล่แมลงของสารสกัดจากสะเดาช้างต่อไป

- อุปกรณ์บันทึกภาพ ซึ่งใช้สำหรับบันทึกภาพการเกาะของแมลงวันแดงและแมลงวันบ้านบนเป้าหมาย ใช้ชุดกล้องถ่ายวิดีโอบันทึกภาพ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาพัฒนาการเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ และนับความถี่ของการเกาะของแมลงวันแดงและแมลงวันบ้านบนเป้าหมายโดยชุดเครื่องเล่นวิดีโอ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาการ-จัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ



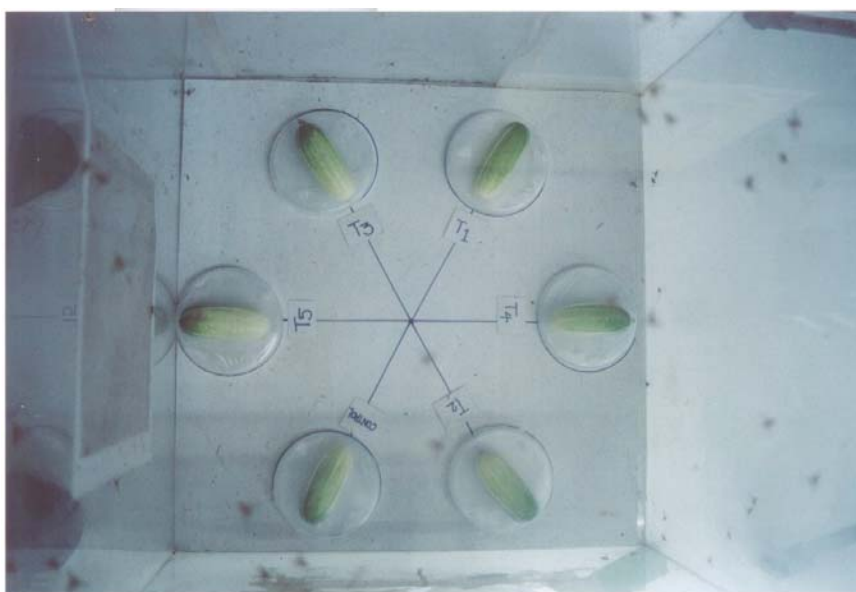
ภาพที่ 4 แสดงการเตรียมชิ้นแต่งตัวอย่างสำหรับเป็นเป่าล่อแมลงวันแดงในการทดลอง



ภาพที่ 5 แสดงการเตรียมนมผงเลี้ยงทารกเป็นเป่าล่อแมลงวันบ้านในการทดลอง

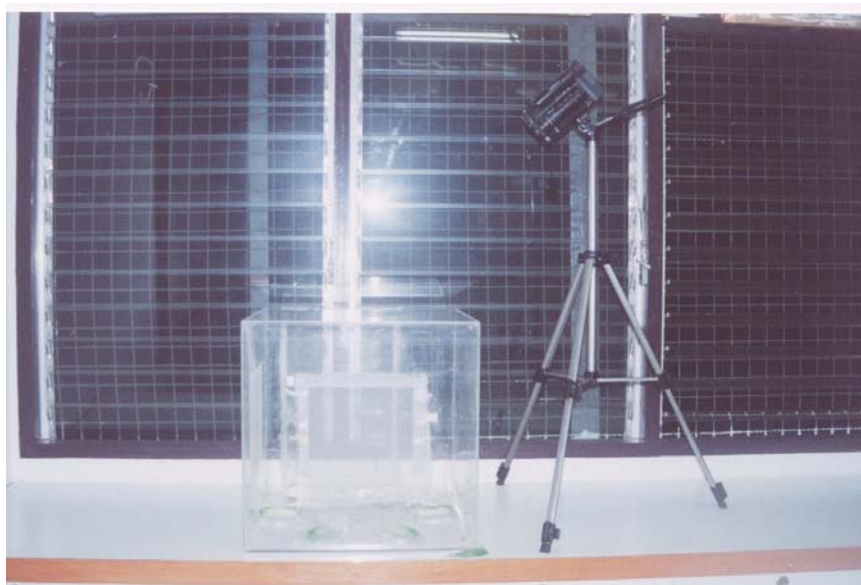
### 3.3 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการไล่แมลงวันแดงของน้ำมันสกัดจากสะเดาช้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาช้างที่เวลาต่าง ๆ

นำแมลงวันแดงที่ได้เตรียมไว้มาพ่นน้ำมันสกัดจากสะเดาช้างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ขึ้นละ 1 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 1 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องฉีดพ่นแบบ potter sprayer จากนั้นเป่าด้วยพัดลมจนแห้ง แล้วจึงนำแมลงวันเหล่านั้นเข้าไปวางไว้ในกรงทดสอบที่มีแมลงวันแดง 30 คู่ อยู่ภายในแบบสุ่มตามจุดที่กำหนดไว้ 6 จุดตามรัศมีวงกลม (ภาพที่ 6) แล้วทำการบันทึกภาพการเข้าเกาะผลแดงที่ถูกฉีดพ่นที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยกล้องวิดีโอในลักษณะดังภาพที่ 7 เมื่อเวลาผ่านไป 1, 4, 8, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยทำการบันทึกภาพครั้งละ 1 ชั่วโมง หลังจากบันทึกภาพเสร็จในแต่ละครั้ง จะนำวัสดุมาครอบผลแดงไว้เพื่อไม่ให้แมลงได้มีโอกาสสัมผัสกับแดงในการทดสอบ อีกจนกระทั่ง จะมีการถ่ายทำวิดีโอครั้งต่อไป และให้สารละลายน้ำผึ้ง 10% แก่แมลงวันแดงในช่วงที่ไม่มีกรงบันทึกภาพตลอดการทดลองเพื่อลดความเครียดของแมลงวันแดงในช่วงการทดลอง จากนั้นทำการนับความถี่การเกาะของแมลงวันแดงบนชุดทดลองต่าง ๆ ในระยะเวลา 1 ชั่วโมงผ่านทางเครื่องเล่นวิดีโอเทป โดยนับเฉพาะการเกาะของแมลงที่สะสมเพิ่มขึ้นตลอดเวลาบนชุดทดลองทุกชุดในช่วงที่บันทึกไว้ ทำการทดสอบ 4 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งในการทดสอบจะถือเป็น 1 บล็อกในแผนการทดลองแบบ Randomize complete block (RCB) และทำการเปลี่ยนแมลงวันแดงชุดใหม่ในทุกบล็อกของการทดสอบ



ภาพที่ 6 ลักษณะการจัดวางตำแหน่งของเป้าหมายการเกาะชุดต่าง ๆ ในการทดลอง





ภาพที่ 7 แสดงการวางกล้องถ่ายภาพวิดีโอเพื่อติดตามการเข้าเกาะเป้าหมายของแมลงวันแดง

จากนั้นจึงนำผลที่ได้จากการนับจำนวนการเข้าเกาะผลแดงของแมลงวันแดงเฉลี่ยจาก 4 บล็อกมาหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของการเกาะในแต่ละชุดทดลอง โดยใช้สมการหาเปอร์เซ็นต์การได้

$$\%R = [(NC-NT)/NC] \times 100$$

โดย %R = เปอร์เซ็นต์การได้แมลงวันแดงของสารสกัดจากสะเดาช้าง

NC = จำนวนการเกาะของแมลงวันแดงบนชุดควบคุม

NT = จำนวนการเกาะของแมลงวันแดงบนชุดทดสอบต่าง ๆ

นำผลเปอร์เซ็นต์การลดลงดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยและนำค่าเฉลี่ยเหล่านี้ไปคำนวณหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ในการป้องกันแมลงวันแดงเข้าเกาะเป้าหมาย 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ( $ET_{50}$  และ  $ET_{80}$ ) ที่เวลาต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการของ Finney (1981)

ส่วนการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ในการไล่แมลงวันแดงของสารสกัดหยาบจากสะเดาช้างที่เวลาต่าง ๆ ทำการทดสอบโดยใช้วิธีการเดียวกับการทดสอบหาความเข้มข้นที่

เหมาะสมในการไล่แมลงของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้าง แต่ใช้สารสกัดหยาบจากสะเดาข้างแทนน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างในการทดสอบ

### 3.4 การทดสอบหาความยาวนานในการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสะเดาข้างในการไล่แมลงวันแดงได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ( $ET_{80}$ )

การหาความยาวนานในการออกฤทธิ์ไล่แมลงวันแดงของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทำโดยการนำค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การไล่จากการทดลองหัวข้อ 3.3 ทั้งในส่วนของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและส่วนของสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างมาหาค่า  $ET_{80}$  หรือเวลาที่สารสกัดจากสะเดาข้างทั้งน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง สามารถไล่แมลงวันแดงได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการของ Finney (1971)

### 3.5 การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการไล่แมลงวันบ้านของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างที่เวลาต่าง ๆ

วิธีการทดสอบในหัวข้อนี้ใช้วิธีการเดียวกับการทดสอบในหัวข้อ 3.3 เพียงแต่ทำการทดสอบในแมลงวันบ้านและใช้เป่าล่อของแมลงวันบ้านดังที่กล่าวไปแล้วในหัวข้อ 3.2 ในการทดสอบ

### 3.6 การทดสอบหาความยาวนานในการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากสะเดาข้างในการไล่แมลงวันบ้านได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ( $ET_{80}$ )

การหาความยาวนานในการออกฤทธิ์ไล่แมลงวันบ้านของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ทำโดยการนำค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การไล่จากการทดลองหัวข้อ 3.5 ทั้งในส่วนของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและส่วนของสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างมาหาค่า  $ET_{80}$  หรือเวลาที่สารสกัดจากสะเดาข้างทั้งน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างสามารถไล่แมลงวันบ้านได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการของ Finney (1981)

#### 4. การทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านการวางไข่ของสารสกัดจากสะเดาข้างต่อแมลงวันแดงและแมลงวันบ้าน

##### 4.1 การเตรียมวัสดุอุปกรณ์การทดลอง

วัสดุอุปกรณ์ในการทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านการวางไข่ของแมลงวันแดงนี้ ได้แก่

- สารสกัดในการทดสอบ ทำการเตรียมสารสกัดทั้งในส่วนของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างโดยใช้วิธีการเดียวกับการเตรียมสารสกัดในการทดสอบการไล่แมลงในหัวข้อที่ 3.1

- กรงทดสอบ เป็นกรงจัตุรัสผลิตจากพลาสติกใสขนาด 60 x 60 x 60 เซนติเมตรเจาะช่องระบายอากาศด้านข้างของกรงทั้ง 4 ด้าน พื้นด้านในของกรงทดสอบปูด้วยกระดาษสีขาวที่มีการกำหนดจุดวางเป่าล่อแมลงไว้ 6 จุดตามรัศมีวงกลมโดยเป่าล่อแมลงจะอยู่ห่างจากจุดศูนย์กลางวงกลม 15 เซนติเมตรเท่ากันทุกเป่า

- เป่าล่อการวางไข่ของแมลงวันแดง ใช้แดงกวางผ่าซีกเป็นเป่าล่อการวางไข่ของแมลงวันแดง ซึ่งใช้วิธีการเตรียมแดงกวางแต่ละชิ้นเหมือนกับการเตรียมวัสดุอุปกรณ์การทดลองในหัวข้อที่ 3.2 หัวข้อเป่าล่อแมลงวันแดง โดยเตรียมเป่าล่อแมลงวันแดงดังกล่าวไว้ 6 ชุด ชุดละ 6 ชิ้น ทำการฉีดพ่นสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พร้อมกันทั้งหมดก่อนจะนำไปใช้ทดสอบครั้งละชุด เนื่องจากการทดสอบการต่อต้านการวางไข่นี้จะจัดให้แมลงมีโอกาสสัมผัสสารสกัดตลอดเวลา โดยจะทำการเปลี่ยนเป่าแต่ละชุดทุก ๆ 12 ชั่วโมง ซึ่งจะมีรายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 4.2

- แมลงวันแดงสำหรับการทดสอบ ใช้แมลงวันแดงสำหรับการทดสอบชุดทดสอบละ 30 คู่ โดยทำการย้ายแมลงวันแดงตัวเต็มวัยอายุ 20 วันเพศผู้และเพศเมียซึ่งพร้อมจะทำการผสมพันธุ์แล้วมาไว้ในกรงทดสอบเดียวกัน ทั้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อให้แมลงได้จับคู่ผสมพันธุ์กันก่อนจะนำไปทำการทดสอบประสิทธิภาพการไล่แมลงของสารสกัดจากสะเดาข้างต่อไป

##### 4.2 การทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านการวางไข่ของสารสกัดจากสะเดาข้างต่อแมลงวันแดงทั้งในส่วนของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง

การทดสอบประสิทธิภาพการต่อต้านการวางไข่ของน้ำมันสกัดจากสะเดาข้างต่อแมลงวันแดงทำโดยการนำแดงกวางที่ได้ฉีดพ่นน้ำมันสกัดจากเมล็ดสะเดาข้างแล้วชุดที่ 1 เข้าไปวางไว้ในกรงทดสอบที่มีแมลง 30 คู่อยู่ภายในแบบสุ่มตามจุดที่กำหนดไว้ 6 จุดตามรัศมีวงกลม ให้สารละลายน้ำผึ้ง 10% ตลอดการทดลอง เพื่อลดความเครียดของสัตว์ทดลองในช่วงการทดลอง ปล่อย

ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วจึงนำแสงกวาทดลองชุดที่ 1 ออกจากกรงแล้วนำชุดที่ 2 เข้าไปวางไว้ในกรงแทน โดยเป่าล่อที่ฉีดพ่นด้วยแต่ละความเข้มข้นของสารสกัดจะถูกวางไว้ที่จุดเดิม ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง ก่อนทำการเปลี่ยนชุดแสงกวาอีกทุก ๆ 12 ชั่วโมง จนกระทั่งครบเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งจะใช้แสงกวาทั้งหมด 6 ชุด

แสงกวาแต่ละชุดที่เปลี่ยนออกมาจะถูกนับจำนวนกลุ่มไข่ของแมลงวันแดงที่อยู่ภายในชั้นแดงทุกชั้น ทำการทดสอบซ้ำอีก 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งในการทดสอบจะถือเป็น 1 บล็อกในแผนการทดลองแบบ Randomize complete block (RCB) และทำการเปลี่ยนแมลงวันแดงชุดใหม่ในทุกครั้งของการทดสอบ

นำผลที่ได้จากการนับจำนวนไข่ของแมลงวันแดง ในแต่ละบล็อกมาหาเปอร์เซ็นต์การต่อต้านการวางไข่ในแต่ละชุดทดลอง โดยใช้สมการ

$$\%AR = [(NC-NT)/NC] \times 100$$

โดย %AR = เปอร์เซ็นต์การต่อต้านการวางไข่ของแมลงวันแดง

NC = จำนวนไข่ของแมลงวันแดงบนชุดควบคุม

NT = จำนวนไข่ของแมลงวันแดงบนชุดทดสอบต่าง ๆ

นำผลเปอร์เซ็นต์การต่อต้านการวางไข่นี้ดังกล่าวมาหาค่าเฉลี่ยจาก 4 บล็อก และนำค่าเฉลี่ยเหล่านี้มาหาความเข้มข้นของน้ำมันสกัดจากสะเดาซึ่งที่เหมาะสมในการป้องกันการวางไข่ของแมลงวันแดง 50 และ 80 เปอร์เซ็นต์ ( $ET_{50}$  และ  $ET_{80}$ ) ที่เวลาต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป probit analysis ของ Raymond (1985) ตามวิธีการของ Finney (1981)

## 5. การทดสอบผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพต่อการออกฤทธิ์ต่อต้านการวางไข่ของ สารสกัดจากสะเดาข้างต่อแมลงวันแดงในสภาพแปลงทดลอง

### 5.1 การผลิตสูตรสำเร็จต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบ

นำสารสกัดทั้งในรูปน้ำมันสกัดและสารสกัดหยาบจากสะเดาข้างที่ความเข้มข้น 15%(W/V) ในน้ำกลั่น มาผสมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพบางชนิดได้แก่ สาร piperonyl butoxide ซึ่งเป็นสารที่ใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของสารในกลุ่ม pyrethroid (Thomson, 1992) สารเพิ่มประสิทธิภาพสารกำจัดศัตรูพืช 2 ชนิดคือ เลทรอน ซีเอส-7 (Latron CS-7) และ ฟอยด์ (Foil) ชนิดละ 10 % โดยปริมาตร

### 5.2 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จจากสารสกัดจาก สะเดาข้างแต่ละสูตรในการป้องกันการเข้าทำลายของแมลงวันแดง

ทำการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแต่ละสูตรสำเร็จต่อการป้องกันการเข้าวางไข่ของแมลงวันแดงบนแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) ที่ปลูกในสภาพแปลง โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อก (Randomized Completed Block, RCB) จำนวน 3 บล็อก แต่ละบล็อกประกอบด้วย 12 สูตรสำเร็จ ดังนี้

1. น้ำมันสกัดจากสะเดาข้าง 15% (W/V) ในน้ำกลั่น
2. สารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง 15% (W/V) ในน้ำกลั่น
3. 15% น้ำมันสกัดจากสะเดาข้าง + piperonyl butoxide 10% โดยปริมาตร
4. 15% น้ำมันสกัดจากสะเดาข้าง + เลทรอน ซีเอส-7 10% โดยปริมาตร
5. 15% น้ำมันสกัดจากสะเดาข้าง + ฟอยด์ 10% โดยปริมาตร
6. 15% สารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง + piperonyl butoxide 10% โดยปริมาตร
7. 15% สารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง + เลทรอน ซีเอส-7 10% โดยปริมาตร
8. 15% สารสกัดหยาบจากสะเดาข้าง + ฟอยด์ 10% โดยปริมาตร
9. สาร piperonyl butoxide 10% โดยปริมาตรในน้ำกลั่น
10. เลทรอน ซีเอส-7 10% โดยปริมาตรในน้ำกลั่น
11. ฟอยด์ 10% โดยปริมาตรในน้ำกลั่น
12. ชุดควบคุม (น้ำกลั่น)

ทำการผูกสัญลักษณ์ไว้ที่ผลแดงที่ดอกเพียงโรยจำนวน 10 ผลต่อสิ่งทดลอง เพื่อการติดตามการเข้าทำลายของแมลงวันแดงบนแดงกวารุ่นเดียวกัน แล้วทำการฉีดพ่นสูตรสำเร็จจากสารสกัดจากสะเดาข้างทุก ๆ สูตรลงบนแดงกวาที่ทำเครื่องหมายไว้ ทิ้งไว้ 5 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่แดงกวาโตพอที่จะเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ ทำการเก็บผลแดงกวาทุกผลที่ผูกสัญลักษณ์ไว้มาบ่มไว้ 12 ชั่วโมง เพื่อติดตามความเสียหายที่เกิดจากแมลงวันแดง นับจำนวนผลแดงที่เสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงวันแดงในแต่ละสูตร แล้วนำมาหาเปอร์เซ็นต์การลดลงของการทำลายผลแดงของแมลงวันแดงแล้วจึงนำค่าเปอร์เซ็นต์การลดลง ดังกล่าวมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของเปอร์เซ็นต์ความเสียหายที่เกิดขึ้น และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การต่อต้านการวางไข่ของแมลงวันแดงในแต่ละสูตร โดยใช้วิธีการตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Block 2	Block 3	Block 1
T 3	T12	T7
T8	T5	T9
T6	T8	T6
T12	T10	T2
T2	T1	T12
T7	T6	T10
T11	T9	T4
T4	T11	T3
T5	T4	T8
T10	T2	T11
T1	T3	T5
T9	T7	T1

**ภาพที่ 8** การวางแผนการทดลองเพื่อใช้ทดสอบผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพต่อการออกฤทธิ์ต่อต้านการวางไข่ของสารสกัดจากสะเดาซึ่งต่อแมลงวันแดง