

บทที่ 4

การควบคุมโดยชีววิธีของไข่ ตัวอ่อน และ ตัวเต็มวัยแมลงวันทอง

Biological Control of Egg, Larva and Adult

Oriental Fruit Flies (*Bactrocera dorsalis* Hendel)

4.1 คำนำ

แมลงวันทอง (Oriental fruit fly (OFF), *Bactrocera dorsalis* Hendel) ทำลายพืชผลมีวบางกว่า 300 ชนิด เช่น น้อยหน่า กัลยัม มะระ ส้ม กาแฟ ฝรั่ง มะม่วง มะละกอ พริก และมะเขือเทศ เป็นต้น แมลงวันทองแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในเอเชียเขตร้อน ได้แก่ อินเดีย พม่า เวียดนาม จีน ไทย ใต้หวัน ลาว ศรีลังกา และ กัมพูชา และในเขตแปซิฟิก แมลงวันทองจึงมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจการเกษตรมากและไม่สามารถประเมินได้ว่าการทำลายที่แท้จริงเท่าไร มีเขตการแพร่กระจายทั่วไปในประเทศไทย มีพืชอาศัยมากกว่า 50 ชนิดในเขตภาคกลาง คือ มะม่วง ฝรั่ง ชมพู่ ละมุด พุทรา น้อยหน่า ขนุน เงาะ ลำไย ลิ้นจี่ กระท้อน สะตอ กัลยัม น้ำว้า มะกอกฝรั่ง มะเฟือง มะปราง มะละกอ มะขม พริก ชำมะเลียง มะกอกน้ำ มะม่วงหิมพานต์ เชอร์รี่หวาน กระโดน สตาร์แอปเปิ้ล หว้า มะเดื่อหอม มะเดื่ออุทุมพร มะม่วงป่า มะมุด พิกุล ตะขบฝรั่ง มะคูน ฯลฯ แมลงวันทองทำความเสียหายต่อผลไม้โดย (1) วางไข่ในผลไม้และเนื้อเยื่ออ่อนของพืชบางชนิด (2) ตัวอ่อนกินเนื้อผลไม้ และ (3) เนื้อเยื่อพืชเน่าเสียจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ลุกลามโอกาส การควบคุมที่มีประสิทธิภาพคือการไม่ให้แมลงแพร่ขยายพันธุ์ และลดการเข้าวางไข่ ชัดขวางพัฒนาในวัฏจักรของแมลง (Figure 4.1) จะสามารถควบคุมประชากรแมลงที่จะเข้าสู่ฤดูกาลใหม่

4.1.1 การป้องกันและการจัดการแมลงวันทอง

การควบคุมป้องกัน/กำจัดแมลงวันทอง โดยหลักการทั่วไป คือ (1) การดูแลความสะอาดสวน (Cultural control) (2) ล่อจับแมลงตัวเต็มวัยทั้งสองเพศด้วย protein hydrolysate (Bait application technique (BAT)) ก่อนการผสมพันธุ์ (3) ดักจับแมลงตัวเต็มวัยเพศผู้ (Male annihilation technique (MAT)) ด้วย Methyl eugenol และ (4) การสำรวจเก็บข้อมูลทุกวัน (survey) เมื่อเปรียบเทียบทั้ง 4 วิธี พบว่าวิธี ดักจับแมลงตัวเต็มวัยเพศผู้มีประสิทธิภาพมากที่สุด รองลงมาคือวิธีล่อจับแมลงตัวเต็มวัยทั้งสองเพศด้วย

เหยื่อโปรตีน (Ali, *et al.*, 2010) ในวงการเกษตรกรไทยกำจัดแมลงวันผลไม้รวมทั้งแมลงวันทอง ด้วยวิธีการต่างๆ ดังนี้ (มนตรี จิรสรัตนัน, 2553)

- รักษาแปลงปลูกให้สะอาด มีการตัดแต่งกิ่งตามสมควร ไม่ให้เกิดร่มเงามากเกินไป เพื่อให้แมลงและสัตว์ศัตรูธรรมชาติ สามารถมีส่วนช่วยในการทำลายแมลงวันผลไม้ด้วย เช่น มด แมงมุม และสัตว์เลื้อยคลานชนิดต่างๆ เป็นต้น หมั่นเก็บผลไม้ร่วงในแปลงปลูก และผลไม้ที่ถูกทำลายบนต้นนำไปเผาทำลายหรือ ฟัง กลบ เพื่อป้องกันการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณแมลงวันผลไม้ในแปลง
- ห่อผลด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ หรือถุงพลาสติก เพื่อป้องกันการทำลายจากแมลงวันผลไม้เช่นการห่อผลในพืชต่างๆ
- พ่นด้วยสารฆ่าแมลง มาลาไทออน 57% EC ในอัตรา 30-50 มล./น้ำ 20 ลิตร ทุก 7 วัน/ครั้ง หรือ คลอไพริฟอส 40% EC ในอัตรา 40 มล./น้ำ 20 ลิตร
- พ่นด้วยเหยื่อพิษ ที่ประกอบด้วยโปรตีนยีสต์ในอัตรา 200 มล ผสมสารฆ่าแมลงมาลาไทออน 57 %EC จำนวน 40 มล.ในน้ำ 5 ลิตร ทุก 7 วันครั้ง โดยเริ่มพ่นเหยื่อพิษก่อนแมลงระบาด 1 เดือน

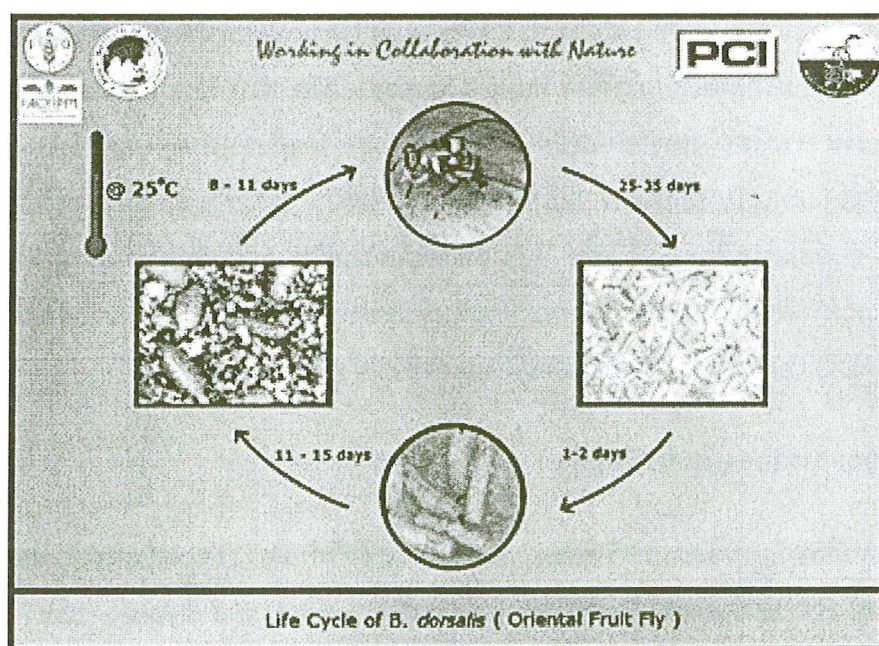


Figure 4.1 Life cycle of oriental fruit fly ของแมลงวันทอง *Bactrocera dorsalis* Hendel

Source: <http://ipm.ait.asia>

การศึกษาการควบคุมโดยวิธีชีวภาพแมลงวันทองส่วนมากเป็นการใช้ parasitoids จากตระกูล (family) Braconidae, Chalcidae และ Eulophidae ซึ่งสามารถลดประชากรแมลงวันทองได้ถึง 90% (www.spc.int) แต่ด้วยประเทศไทยมีความหลากหลายของพืช และมีพืชหลายชนิดที่ไม่ถูกรบกวนด้วยแมลงที่ภูมิปัญญาพื้นบ้านนำมาใช้ขับไล่แมลงในแปลงเพาะปลูกพืชอยู่บ้างแล้วในพื้นที่ไม่กว้างใหญ่ เช่น สวนผักผลไม้ อย่างไรก็ตามยังไม่ปรากฏพบข้อมูลการศึกษาการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมแมลงวันผลไม้อย่างเป็นระบบเชิงวิทยาศาสตร์ ในการวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาว่า สารสกัดจากพืชซึ่งปกติแล้วไม่พบว่าถูกรบกวนด้วยแมลงศัตรูพืช เพื่ออาจจะสามารถนำไปใช้ในการควบคุมกำจัดแมลงวันทองได้ ทั้งนี้การวิจัยเน้นศึกษาพืชและวัชพืชมง่าย และเศษทิ้งจากการตัดแต่งกิ่ง (pruning) หลังการเก็บเกี่ยวผลิตผลทางเกษตรแล้ว เป็นการใช้อย่างปลอดภัยจากการพืชนั้นซึ่งการเกษตรกรรม เพื่อการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อม และเพื่อสุขภาพของเกษตรกรเอง นอกจากนี้ การควบคุมโดยชีวภาพยังมีการใช้สารสกัดจากพืชในรูปแบบต่างๆ กันตามภูมิปัญญาพื้นบ้าน แต่ยังมีหลักฐานการศึกษาวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ไม่มากนัก เช่น การใช้สารสกัดสะเดา (Singh and Singh, 1998) สารสกัดจิง (Alpinia galangal) ผักเสี้ยนผี (Cleome viscosa) (Sukhirin, Bullangpoti, and Pluempanupat, 2009) เหงือกปลาหมอ (www.sci.lru.ac.th) หูกวาง (Siderhurst and Jang, 2006) และ พริกไทยดำ (Tongon and Bullangpoti, 2009) ทั้งนี้เพื่อวิเคราะห์หา botanical-based insecticides ใช้ทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ซึ่งส่วนมากเป็นพิษรุนแรงต่อสัตว์ สลายในธรรมชาติยาก ทำลายสิ่งแวดล้อม มีหลักฐานเกี่ยวกับสาร azadirachtins ซึ่งอยู่ในกลุ่ม triterpenoids จากสะเดา (*Azadirachta indica* Juss) ว่ามีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลงโดยยับยั้งการกิน (antifeeding) การเจริญเติบโต (growth disruption) (Isman *et al.*, 1990; Prijono and Hassan, 1993) และการสืบพันธุ์ของแมลงหลายชนิด (Pathak and Krishna, 1986; Shimizu, 1988; Riba *et al.*, 2003) สารสกัดสะเดาจึงได้รับการพัฒนาเป็นสารกำจัดแมลงเชิงพาณิชย์หลายสูตร แต่ก็ยังต้องการการวิจัยเพิ่มเติมอีกเพื่อการประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสมกับชนิดของแมลงที่จำเพาะต่อไป สารเคมีและคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของน้อยหน่า (*Annona squamosa* L.) ได้รับความสนใจศึกษามากกว่า 15 ปีที่ผ่านมา ใบและเมล็ดน้อยหน่าเป็นแหล่งสารธรรมชาติที่มีศักยภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด เช่น Asian armyworm *Spodoptera litura*, cabbage loopers *Trichoplusia*, และ diamondback moth larvae *Plutella xylostella* เป็นต้น (Isman, 2005) และพบสาร acetogenins หลายชนิดในสารสกัดแยกได้จากน้อยหน่า (Santos dos and Sant'Ana, 2001; Isman, 2005) นอกจากนี้พืชที่มีน้ำมันหอมระเหยในตระกูล Lamiaceae (Lamiaceae) ถูกนำมาใช้มากกับการป้องกันผลผลิตการเกษตรและการแพทย์ แมงลักคา (*Hyptis suaveolens* Poit) เป็นพืชหนึ่งในตระกูลนี้ สารสกัดแมงลักคาสามารถต้านเชื้อแบคทีเรีย (Chisomboon, *et*

al., 2003) ทดสอบหอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (รัชดาภรณ์ พิทักษ์ธรรม, 2544) และยุงพาหะใช้เลือดออก (Tanprasit, 2005)

4.2 วัตถุประสงค์

ในการศึกษานี้ ได้เลือกศึกษาสารสกัดด้วยน้ำและ ethanol ของพืชที่ผ่านการคัดเลือเบื้องต้น (pre-screened) แล้วโดยเลือกจากพืชที่มีค่า median lethal concentration, LC_{50} ที่เหมาะสม 3 พืช โดยทำการทดสอบฤทธิ์ต่อการไล่แมลงตัวเต็มวัย และ ต่อการเจริญพัฒนาระยะต่างๆ (antibiosis) ในวัฏจักรชีวิตของแมลงวันทอง ดังนี้

- 4.2.1 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพืชต่อการไล่แมลงวันทองตัวเต็มวัย
- 4.2.2 ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดพืชชนิดเดียวต่อการดำรงชีพ (biosis) แมลงวันทองระยะไข่ (eggs) ตัวอ่อน (larvae) และ ตัวเต็มวัย (adults)
- 4.2.3 ศึกษาฤทธิ์ของสารผสมของ 2 สารสกัดที่สกัดด้วยสารละลายชนิดเดียวกัน ต่อการดำรงชีพ (biosis) แมลงวันทองระยะไข่ (eggs) ตัวอ่อน (larvae) และ ตัวเต็มวัย (adults)

4.3 อุปกรณ์และวิธีการ

4.3.1 วัสดุและสารเคมี

แมลงวันทองที่ระบุจำแนกชนิดพันธุ์แล้ว และ yeast hydrolysate ได้รับอนุเคราะห์จากกลุ่มรังสีแมลง โครงการวิจัยรังสีเพื่อการเกษตร สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ (Radiation Entomology Group, the irradiation for Agriculture Research Program, Office of Atoms for Peace (OAP)), Ministry of Science and Technology, Thailand ไข่กุ้งฝอยซื้อจากร้านจำหน่ายอาหารเลี้ยงปลาทั่วไป 95% ethanol, hydrochloric acid และ Sodium benzoate ซื้อจาก Sigma Chemical Co. (St. Louis, Missouri, U.S.A.)

4.3.2 ตัวอย่างพืชและการเตรียมสารสกัดหยาบของพืชตัวอย่าง

ใบสะเดา น้อยหน่า และแมงลัก และเมล็ดแมงลักเก็บในบริเวณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (มทส) และบริเวณใกล้เคียง ทำความสะอาดใบพืชตัวอย่าง หั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ตากแห้งที่ 45°C เป็นเวลา 2 วัน ส่วนเมล็ดแมงลักแช่ในน้ำเปล่าจนเมือกหุ้มบวม กำจัดเมือกออกโดยการถูเมล็ดบนกระชอนโลหะ จากนั้นตากให้แห้ง บดใบและเมล็ดพืชให้เป็นผงละเอียด

การสกัด ใช้ ผงบด 10 กรัม ในน้ำ หรือ 95% ethanol 140 มิลลิลิตร สกัดในเครื่องสกัด Buchi model B811 (Germany) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ระเหยสารสกัดและทำให้แห้งเป็นผงด้วยเครื่อง lyophilizer (LabConco, U.S.A.) ที่ -54°C แล้วเก็บผงสารสกัดที่ -20°C ก่อนการทดลอง และ ในการทดลอง ละลายผงสารสกัดด้วยสารทำละลายเดิม และเก็บที่ 4°C ระหว่างการทดลอง

4.3.3 การเลี้ยงแมลงวันทอง

เพาะแมลงวันทองระยะดักแต่ในถาดซีลื้อยที่อบสะอาดและอยู่ในกรงเลี้ยงขนาด 50 x 50 x 50 เซนติเมตร (Figure 4.2) ภายใน 10-15 วัน ดักแต่ออกจากฝักเป็นตัวเต็มวัยซึ่งจะเข้าสู่ช่วงผสมพันธุ์ใน 7-10 วันต่อมา ให้อาหารตัวเต็มวัยด้วย yeast hydrolysate ผสมกับน้ำตาล (1:1 wt/wt) เพื่อเป็นแหล่งของน้ำตาล และแผ่นวุ้นเป็นแหล่งของน้ำ วางแผ่นวุ้นไว้บนกรงเลี้ยง ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ในอาหารเทียมซึ่งทำให้เป็นรูปกรวย (Figure 4.3) ในอาหารเทียม 500 mL ประกอบด้วย wheat germ 300 กรัม, น้ำตาล 120 กรัม, yeast hydrolysate 40 กรัม, Sodium benzoate 1 กรัม และ HCl 1 mL

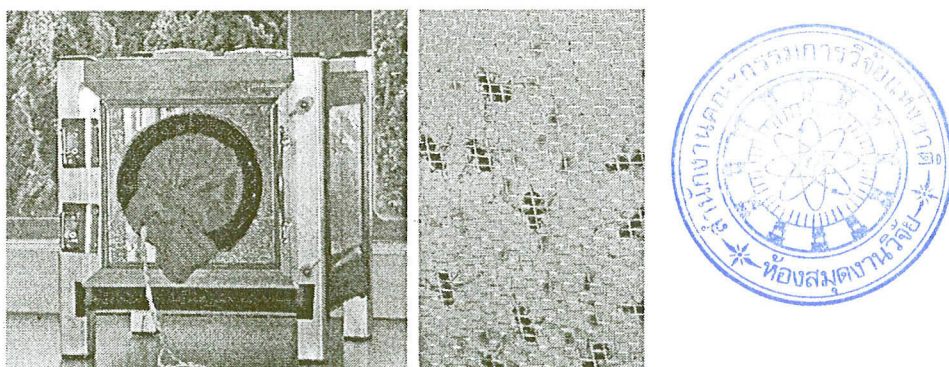


Figure 4.2 Wire-net cage for rearing adult oriental fruit flies.

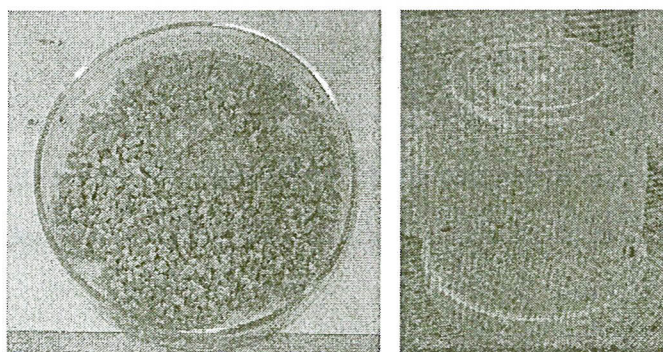


Figure 4.3 Artificial food and a cone-shaped device made from ripe fruits or artificial food for laying eggs of female adult oriental fruit flies.

หลังจากวางไข่ 24-48 ชั่วโมง ตัวอ่อน (หนอน) พักออกจากไข่ ย้ายตัวอ่อนให้พัฒนาในถาดซีลียที่สะอาดผ่านการอบแห้งกิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ตัวอ่อนเจริญเป็นดักแด้ใน 12-24 ชั่วโมง และเจริญเป็นตัวเต็มวัยต่อไป

4.3.4 การทดสอบฤทธิ์การไล่ (Repellent test) หรือ ดึงดูด (Attraction)

ฤทธิ์การไล่ โดยทดสอบในอุปกรณ์ Olfactometer รูปกระบอกยาว (Figure 4.4) Olfactometer ทำขึ้นจากแผ่นพลาสติกตัดเป็นกล่องขนาด 75 x 10 x 10 cm (L x W x H) และมีช่องสี่เหลี่ยมขนาด 10 x 10 cm อยู่กึ่งกลางความยาวของกล่อง ปลายด้านหนึ่งวางขวดบรรจุสารควบคุม ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาล 1 กรัม yeast hydrolysate 1 กรัม และ methyl eugenol 10 μ L และ ปลายอีกด้านหนึ่งวางขวดบรรจุสารสกัดที่ทำการทดสอบ ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล 1 กรัม yeast hydrolysate 1 กรัม และ สารสกัดพืช 1 กรัม หลังใส่สารทดสอบแล้วปิดปลายทั้งสองข้างให้สนิท ปลดแมลง (กละเพศ) ที่ช่องกลาง ครึ่งละตัว ปิดปากช่องด้วยผ้าก๊อซ (gauze) ฝึ่สังเกตพฤติกรรมของแมลงภายใน 1 ชั่วโมง บันทึกผล เปลี่ยนแมลงตัวใหม่ และทำการทดลอง 6 ซ้ำ

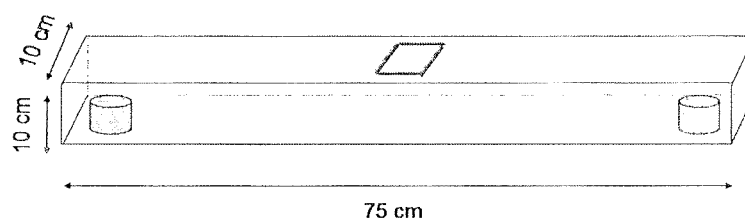


Figure 4.4 Olfactometer, setting up with two 10-mL bottles at each end of the device; one for the control and one test sample. A hole is in the middle for allowing the test insect into the device.

4.3.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการฟักไข่ (Egg hatching) แมลงวันทอง

นำไข่ 30 ฟองวางบริเวณกลางกระดาดำซึ่งมีขนาด 1 x 1 x 1 cm³ หยด 100 μ L สารสกัดที่ความเข้มข้นต่างบนกลุ่มของไข่ 24 ชั่วโมง นำกระดาดำนี้ใส่ใน 50-mL beaker ที่มีอาหารเทียม ปิด beaker และนับไข่ที่ไม่ฟักเป็นตัวอ่อน ใช้ carbamate เป็น positive control ใช้น้ำและ ethanol เป็น normal control ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

4.3.6 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวอ่อนโดยการกิน (Larval feeding)

นำหนอนตัวอ่อนระยะที่ 2 (second instar larvae) 30 ตัวหลังฟักออกจากไข่แล้ว 7 วัน ใส่ใน 50-mL beaker ที่มีอาหารเทียมผสมกับสารสกัดด้วยความเข้มข้นต่างๆ ในอัตราส่วน 1:1 (wt/wt) ปิด beaker นับจำนวนตัวหนอนที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

4.3.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวอ่อนโดยการจุ่ม (Larval dipping)

นำหนอนตัวอ่อนระยะที่ 2 (second instar larvae) 30 ตัวหลังฟักออกจากไข่แล้ว 7 วัน จุ่มในสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ นาน 3 วินาที นำตัวอ่อนนี้วางใน 50-mL beaker ปิด beaker นับจำนวนตัวหนอนที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

4.3.8 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวเต็มวัย (Adulticide)

นำแมลงตัวเต็มวัยอายุ 10-15 วัน ใส่ในตู้ขนาด 20 x 20 x 20 cm³ ที่มีน้ำและ yeast hydrolysate (1:1 wt/wt) ผสมกับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ นับแมลงที่ตายภายใน 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

4.3.9 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัด 2 พืช

การทดลองดำเนินการเหมือนกับการทดลองฤทธิ์ของสารเดี่ยว โดยการผสมระหว่าง 2 สารสกัดที่สารตัวทำละลายชนิดเดียวกันในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ของสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ กัน

4.3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์สถิติด้วยโปรแกรม Statistic Package for the social Science (SPSS) ถ้า LC₅₀ วิเคราะห์โดย Probit analysis และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของสารสกัดด้วย t-Test ของ Variance การวิเคราะห์ทั้งหมดที่ 95% confident level

4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์

4.4.1 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการไล่แมลงวันทองตัวเต็มวัย (Repellent effects)

การควบคุมแมลงวันทองโดยการไล่แมลงตัวเต็มวัย ใช้ผงสารสกัดของพืชแต่ละชนิดปริมาณ 1 กรัม เทียบกับสารควบคุม methyl eugenol ซึ่งเป็นสารดึงดูด (attractant) แมลงวันหลายชนิด พบว่าสารสกัดด้วย ethanol ไล่แมลงได้ใกล้เคียงกันและไล่ได้สูงกว่า 65% และไล่ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ (Figure

4.5 A) สารสกัดด้วย ethanol ของใบเมลิคแมงลักกา (MLE/e) และเมล็ดแมงลักกา (MSE/e) มีฤทธิ์ไล่แมลงได้มากที่สุด 74% สารสกัดใบเมลิคแมงลักกาด้วยน้ำ (MLE/w) มีฤทธิ์น้อยที่สุดไล่ได้เพียง $33.00 \pm 2.54\%$ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากพืชชนิดเดียวกันดังนี้ สารสกัดใบสะเดาด้วย ethanol (NLE/e) สามารถไล่ $69.23 \pm 1.96\%$ ใบสะเดาสกัดด้วยน้ำ (NLE/w) ได้ $46.41 \pm 2.59\%$ ฤทธิ์การไล่ของ NLE/e > NLE/w 1.5 เท่า สารสกัดใบสะเดาด้วย ethanol (NLE/e) สามารถไล่แมลงได้ $69.23 \pm 1.96\%$ ใบสะเดาสกัดด้วยน้ำ (NLE/w) ได้ $46.41 \pm 2.59\%$ ฤทธิ์การไล่ของ NLE/e > NLE/w 1.5 เท่า ($P < 0.01$) สารสกัดใบน้อยหน่า ethanol (CLE/e) สามารถไล่แมลงได้ $70.00 \pm 1.42\%$ ได้ใกล้เคียงกับสารสกัดใบน้อยหน่าสกัดด้วยน้ำ (CLE/w) ซึ่งไล่ได้ $61.23 \pm 2.10\%$ ฤทธิ์ของ MLE/e > MLE/w 2.2 เท่า ($P < 0.01$) และ MSE/e > MSE/w 1.5 เท่า ($P < 0.01$) ฤทธิ์การไล่แมลงวันทองของสารสกัดทั้งหมด เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ MSE/e > MLE/e > CLE/e > NLE/e > CLE/w > MSE/w > NLE/w > MLE/w

ฤทธิ์การไล่แมลงวันทองของสารสกัดผสมในอัตราส่วน 1:1 ของความเข้มข้นต่างๆ พบว่า NLE/w + CLE/w ($78.00 \pm 2.60\%$); NLE/w + MSE/w ($76.67 \pm 2.46\%$) และ NLE/w + MLE/w ($73.33 \pm 2.25\%$) เป็นชุดผสมที่มีฤทธิ์สูงกว่าและใกล้เคียงกัน (Figure 4.5 B) CLE + MLE และ CLE + MSE แสดงฤทธิ์การไล่ใกล้เคียงกัน ประมาณ 50-65% (Table 4.1)

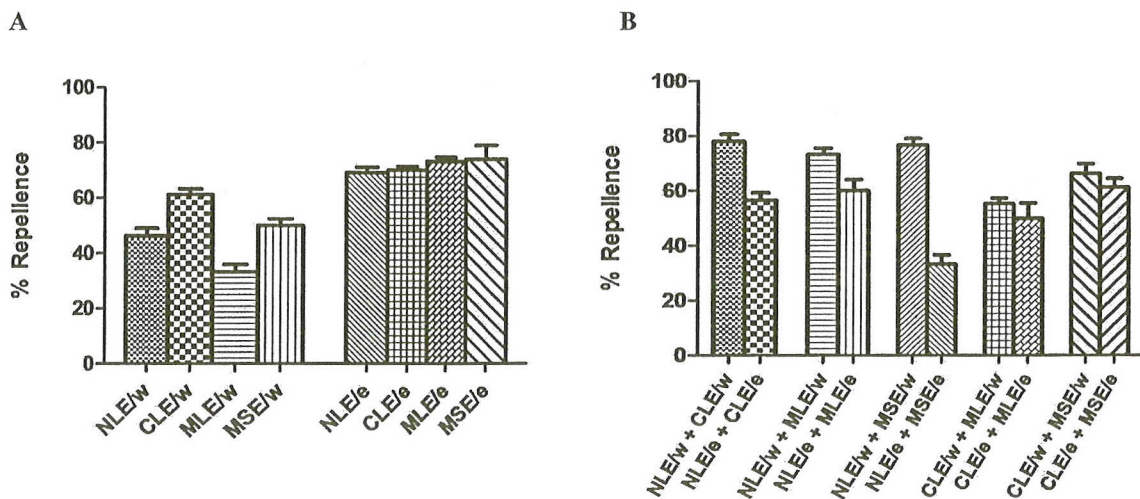


Figure 4.5 Repellent effects of the leaf extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE) and the seed extracts of mintweed (MSE) on adultn oriental fruit flies. A, individual extract treatments and B, combined extract treatments. Data were % Mean $\pm$ S.E. and n = 6.

พบว่า MLE/w และ MSE/w ช่วยเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) การไล่ ของ NLE/w แต่ลดฤทธิ์ (reduction effect) การไล่ของ CLE/w และในทำนองเดียวกัน NLE/e ลดฤทธิ์ของ MLE/e และ MSE/e อย่างมีนัยสำคัญ ฤทธิ์การไล่แมลงวันทองของสารสกัดสรุปใน Table 4.1

Table 4.1 Repellent activities of individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on adult oriental fruit flies at 24 hours. Data were expressed as % Mean $\pm$ S.E., n = 6.

	% Repellence		
	Mean $\pm$ S.E. (n = 6)		
Plant extract	Water Extract	Ethanol Extract	P-value
<u>Individual</u>			
NLE	46.41 $\pm$ 2.59	69.20 $\pm$ 1.96	0.002**
CLE	60.23 $\pm$ 2.10	70.00 $\pm$ 1.42	0.024*
MLE	33.33 $\pm$ 2.54	73.33 $\pm$ 1.45	0.000***
MSE	50.00 $\pm$ 2.43	74.00 $\pm$ 5.04	0.031*
<u>Combination</u>			
NLE + CLE	78.00 $\pm$ 2.60	56.66 $\pm$ 2.64	0.029*
NLE + MLE	73.33 $\pm$ 2.25	60.00 $\pm$ 4.07	0.033*
NLE + MSE	76.67 $\pm$ 2.46	33.33 $\pm$ 3.27	0.000**
CLE + MLE	55.25 $\pm$ 2.00	50.00 $\pm$ 5.43	0.937
CLE + MSE	66.25 $\pm$ 3.64	61.25 $\pm$ 3.24	0.065

Note:

NLE - neem, leaf extract, CLE - custard apple extract, MLE - mintweed leaf extract, and MSE - mintweed seed extract. ** significant difference at $P < 0.01$ and * significant difference at $P < 0.05$, analyzed by t-test of variance

4.4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการฟักไข่ (Egg hatching) ของแมลงวันทอง

ฤทธิ์การควบคุมพัฒนาการของการฟักไข่ออกเป็นตัวอ่อน (hatching) ของสารสกัดใบสะเดา น้อยหน่า แมงลักคาและเมล็ดแมงลักคาที่ความเข้มข้นระหว่าง 2,500 – 10,000 ppm ($\mu\text{g/mL}$) (พบว่าฤทธิ์ยับยั้งการฟักไข่ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (concentration dependent) สารสกัดใบสะเดา (NLE) และเมล็ดแมงลักคา (MSE) สกัดด้วยน้ำและด้วย ethanol ที่ความเข้มข้นเท่ากันให้ฤทธิ์ไม่แตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญ (Figure 4.6 A, D) ส่วน CLE/w ยับยั้งการฟักไข่ได้มากกว่า CLE/e ที่ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm (Figure 4.6 B) ตรงข้ามกับ MSE/e มีฤทธิ์สูงกว่า MSE/w ที่ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm (Figure 4.6 D) ส่วนฤทธิ์การควบคุมพัฒนาการของจุนฟักไข่ของสารสกัดผสมในอัตราส่วน 1:1 ของสารความเข้มข้นเท่ากัน พบว่าฤทธิ์ขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (concentration dependent) และ สารผสมของสารสกัดด้วย ethanol แสดงฤทธิ์การยับยั้งการฟักไข่ได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm ยกเว้นสารผสมระหว่าง NLE/w + MLE/w ที่แตกต่างกับ NLE/e + MLE/e เพียงเล็กน้อย (Figure 4.7 B)

ประสิทธิภาพของฤทธิ์ที่ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการฟักไข่ได้ 50% หรือ LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง แสดงใน Figure 4.8 A และ B และ Table 4.2 การทดสอบด้วยสารสกัดเดี่ยวพบว่า MSE/e แสดงประสิทธิภาพสูงสุด มีค่า LC_{50} 591.12 ± 30.26 ppm ประสิทธิภาพรองลงมาคือ MSE/w มีค่า LC_{50} $1,098.66 \pm 30.40$ ppm สารสกัดใบสะเดา NLE/w และ NLE/e มีประสิทธิภาพต่ำและใกล้เคียงกัน มีค่า LC_{50} $3,353.35 \pm 156.97$ ppm และ $3,625.14 \pm 162.38$ ppm ตามลำดับ และ CLE/e มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด LC_{50} เท่ากับ $5,815.26 \pm 172.20$ ppm (Figure 4.8 A และ Table 4.2) ประสิทธิภาพของสารสกัดเดี่ยวในการยับยั้งการฟักไข่แมลงวันทองเรียงจากมากไปน้อยดังนี้ $MSE/e > MSE/w > CLE/w > MLE/e > MLE/w > NLE/w > NLE/e > CLE/e$ ส่วนการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมต่อการฟักไข่ พบว่าสารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol มีประสิทธิภาพดีกว่าฤทธิ์การผสมระหว่างสารสกัดด้วยน้ำ CLE/e + MLE/e มีประสิทธิภาพมากที่สุด ค่า LC_{50} 475.19 ± 31.90 ppm และ NLE/e + MLE/e มีค่า LC_{50} เท่ากับ 666.76 ± 62.27 ppm (Figure 4.8 B และ Table 4.2) ซึ่งให้เห็นว่า MLE/e เสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ของ NLE/e และ CLE/e ในขณะที่ CLE/e เพิ่มฤทธิ์ (additive effect) ให้กับ NLE/e การควบคุมแมลงวันทองระยะไข่จึงควรใช้สารสกัดเมล็ดแมงลักกา (MSE) อย่างเดียว หรือใช้สารสกัดใบแมงลักกา หรือใช้สารสกัดผสมระหว่างสารที่สกัดด้วย ethanol ด้วยกัน ไม่ควรใช้สารสกัดสะเดาอย่างเดียวเพื่อการควบคุมระยะฟักไข่

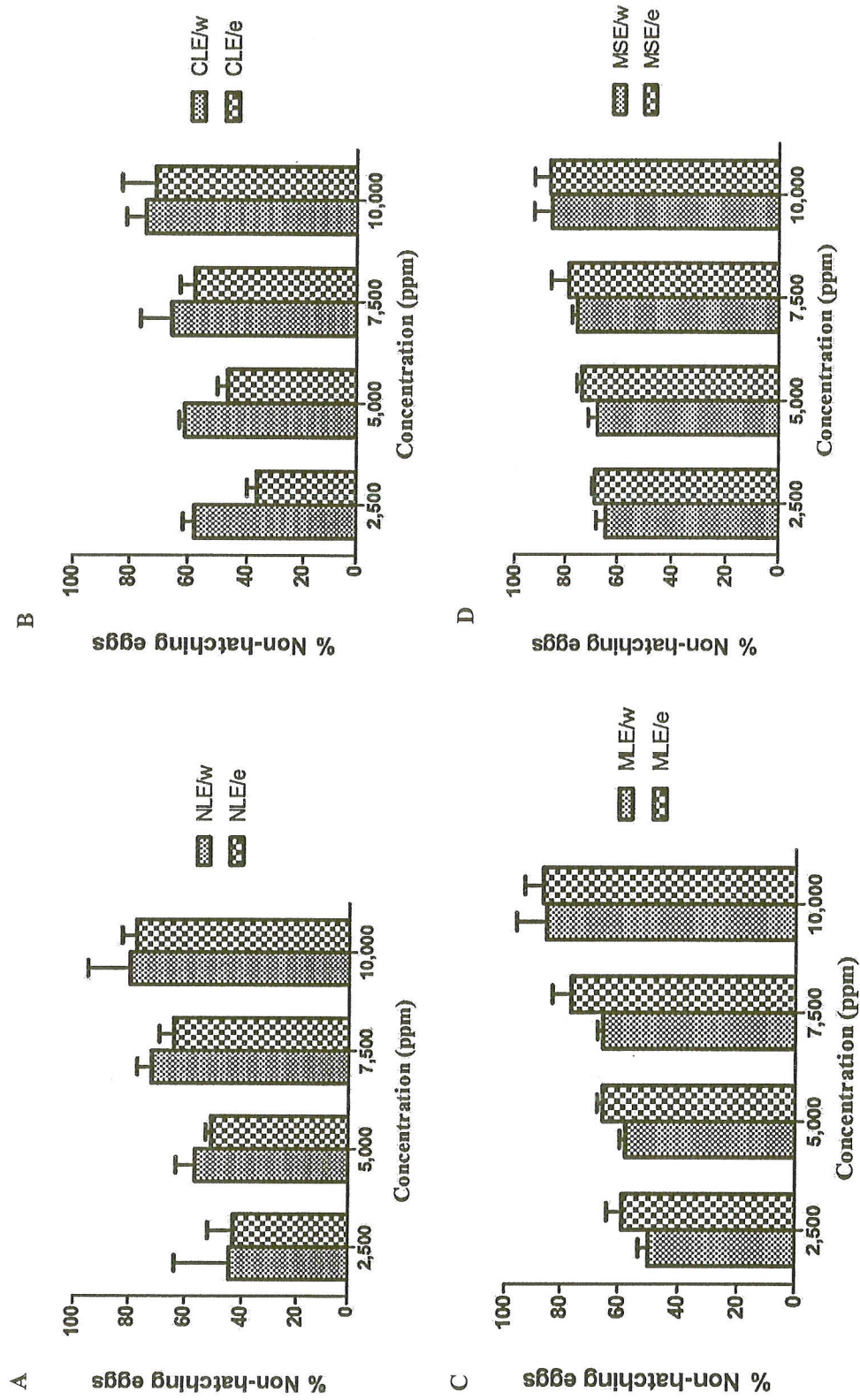


Figure 4.6 Anti-egg hatching effects of the leaf and seed extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE). Oriental fruit fly eggs were treated with the extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and $n = 5$.

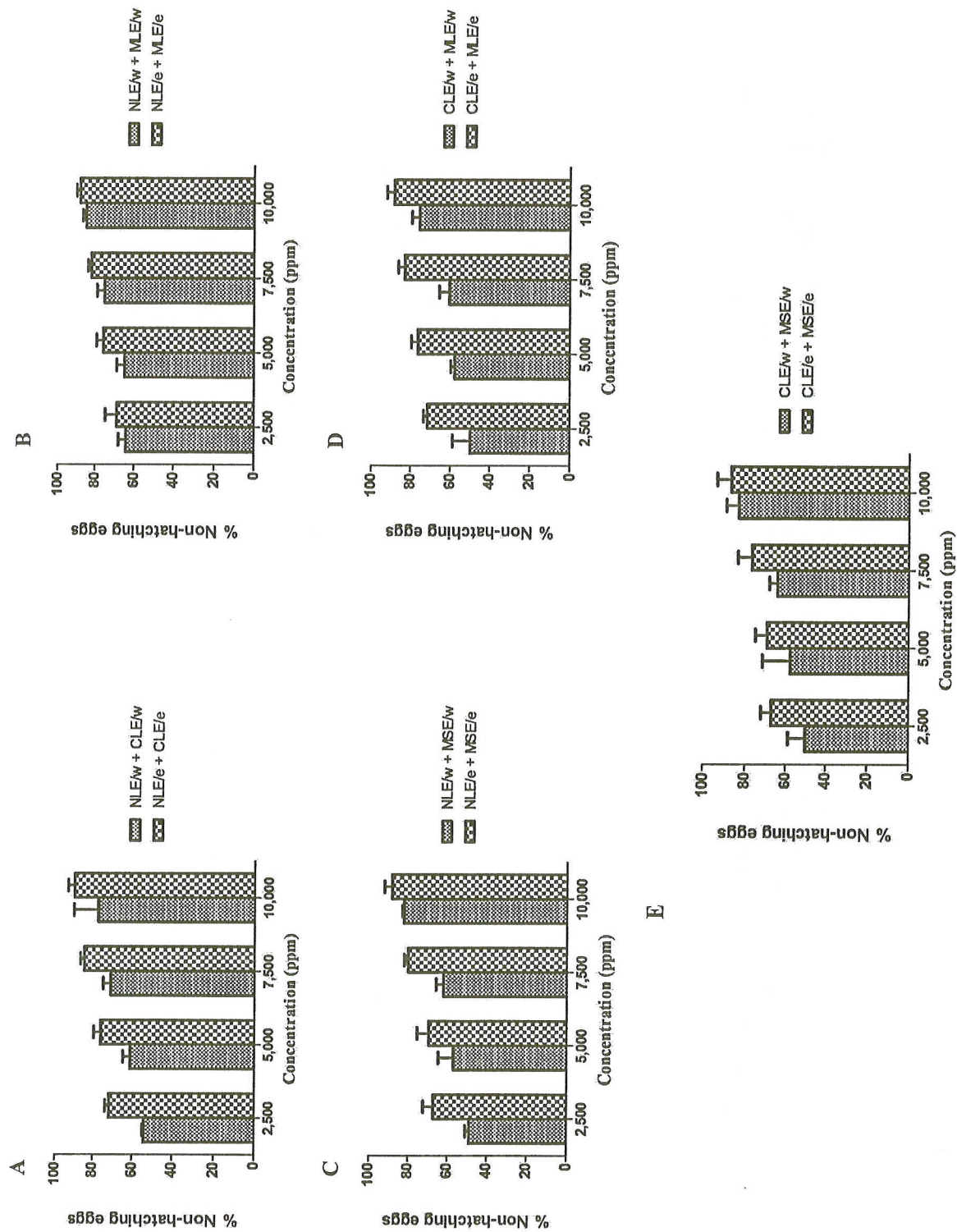


Figure 4.7 Anti-egg hatching effects of combined extracts (1:1) of the leaf and seed extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE). Oriental fruit fly eggs were treated with the extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

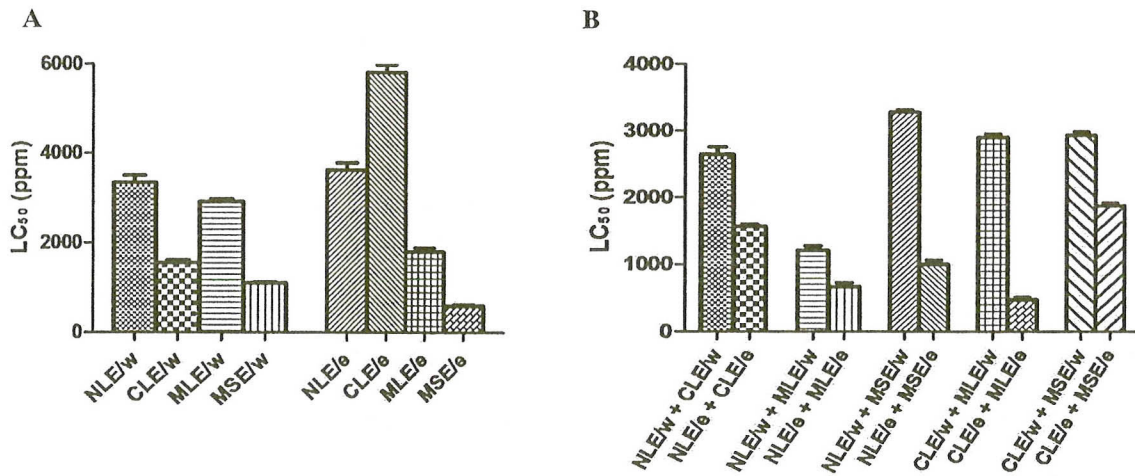


Figure 4.8 Anti-egg hatching efficacy of the extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and the extracts of mintweed seeds on egg hatching of oriental fruit flies. A, LC₅₀ at 24 of individual extract treatments. B, LC₅₀ at 24 h of the combined extract treatments. Data were expressed as Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

Table 4.2 Direct contact toxic effects on egg hatching of oriental fruit flies by dipping eggs in individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds at 24 hours. Data were expressed as Mean of LC₅₀ $\pm$ S.E., n = 5.

	LC ₅₀ (ppm), 24 h		
	Mean $\pm$ S.E. (n = 5)		
Plant extract	Water extract	Ethanol extract	P-value
Individual			
NLE	3,353.35 $\pm$ 156.97	3,625.14 $\pm$ 162.38	0.087*
CLE	1,551.40 $\pm$ 67.23	5,815.26 $\pm$ 172.20	0.000**
MLE	2,920.27 $\pm$ 55.92	1,798.12 $\pm$ 87.59	0.000**
MSE	1,098.66 $\pm$ 30.40	591.12 $\pm$ 30.26	0.000**
Combination			
NLE + CLE	2,644.43 $\pm$ 109.53	1,567.75 $\pm$ 31.84	0.020**
NLE + MLE	1,207.63 $\pm$ 70.25	666.76 $\pm$ 62.27	0.003**
NLE + MSE	3,277.69 $\pm$ 37.02	1,001.48 $\pm$ 63.59	0.000**
CLE + MLE	2,902.43 $\pm$ 50.67	475.19 $\pm$ 31.90	0.000**
CLE + MSE	2,934.66 $\pm$ 54.94	1,880.97 $\pm$ 41.46	0.000**

Note:

NLE - neem, leaf extract, CLE - custard apple extract, MLE - mintweed leaf extract, and MSE - mintweed seed extract. ** significant difference at $P < 0.01$ and * significant difference at $P < 0.05$, analyzed by t-test of variance

4.4.3 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมตัวอ่อนแมลงวันทองโดยการกิน (Larval feeding)

การตายของหนอนตัวอ่อน (larvae) แมลงวันทองโดยการกินสารสกัดของพืชชนิดเดียวที่ได้ผสมในอาหารเทียมในระดับความเข้มข้นของสารสกัดต่างๆ กัน ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าฤทธิ์การควบคุมหนอนแมลงวันขึ้นกับความเข้มข้น (concentration dependent) สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ทำให้หนอนแมลงวันทองตายได้มากกว่าสารสกัดด้วย ethanol ยกเว้นสารสกัดใบแมงลักสดด้วย ethanol มีฤทธิ์กำจัดหนอนได้มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำเพียงเล็กน้อย ที่ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm CLE/w ทำให้หนอนตายได้มากที่สุดประมาณ 64% (Figure 4.9 B) และ MSE/e ทำให้หนอนตายน้อยที่สุดประมาณ 37% (Figure 4.9 D) ซึ่งน้อยกว่า MSE/w 1.7 เท่า แต่ที่ความเข้มข้นสูง 10,000 ppm CLE/w และ MLE/e ทำให้หนอนตายเท่ากันคือประมาณ 82% (Figure 4.9 B, C)

ส่วนฤทธิ์ของสารสกัดผสมต่อการตายของหนอนแมลง พบว่าสารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol มีฤทธิ์กำจัดหนอนได้ดีกว่าสารผสมระหว่างสารสกัดด้วยน้ำ (Figure 4.10) NLE/e + MLE/e ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm กำจัดหนอนแมลงได้มากที่สุด 69% (Figure 4.10 B) และ NLE/e + CLE/e ความเข้มข้นสูง 10,000 ppm กำจัดหนอนแมลงได้มากที่สุด 86% (Figure 4.10 A) ซึ่งเท่ากับฤทธิ์ของ NLE/e + MLE/e (Figure 4.10 B)

ประสิทธิภาพของพืชต่อการกำจัดหนอนแมลงวันทองโดยการกิน พิจารณาจากค่า LC_{50} ซึ่งแสดงใน Figure 4.11 และ Table 4.3 พบว่า สารสกัดเดี่ยว MSE/e มีประสิทธิภาพมากที่สุด ค่า LC_{50} 982.18 ± 45.60 ppm (Figure 4.11 A และ Table 4.3) และพบว่าสารสกัดผสมฤทธิ์จะหักล้างกัน NLE/e $\pm$ MSE/e มีประสิทธิภาพมากที่สุด ค่า LC_{50} $1,194.63 \pm 46.64$ ppm (Figure 4.11 C) ประสิทธิภาพของ NLE/e + MLE/e ใกล้เคียงกับ NLE/w + CLE/w ซึ่งมีค่า LC_{50} $1,486.76 \pm 36.11$ ppm และ $1,551.01 \pm 82.27$ ppm ตามลำดับ (Figure 4.10 B และ Table 4.3) จะเห็นว่า MLE/e ช่วยเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ให้แก่ NLE/e และเพิ่มฤทธิ์ (additive effect) ให้แก่ CLE/e ดังนั้นการกำจัดหนอนแมลงวันทองโดยการให้กินสารสกัดจึงควรใช้สารสกัดเดี่ยวของใบน้อยหน่าด้วยน้ำ (CLE/w) และของสารสกัดใบแมงลักสดด้วย ethanol (MLE/e) ส่วนสารสกัดผสม ควรใช้สารผสมระหว่าง NLE/e + MSE/e และ สารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol ของพืชทั้ง 3 ชนิด

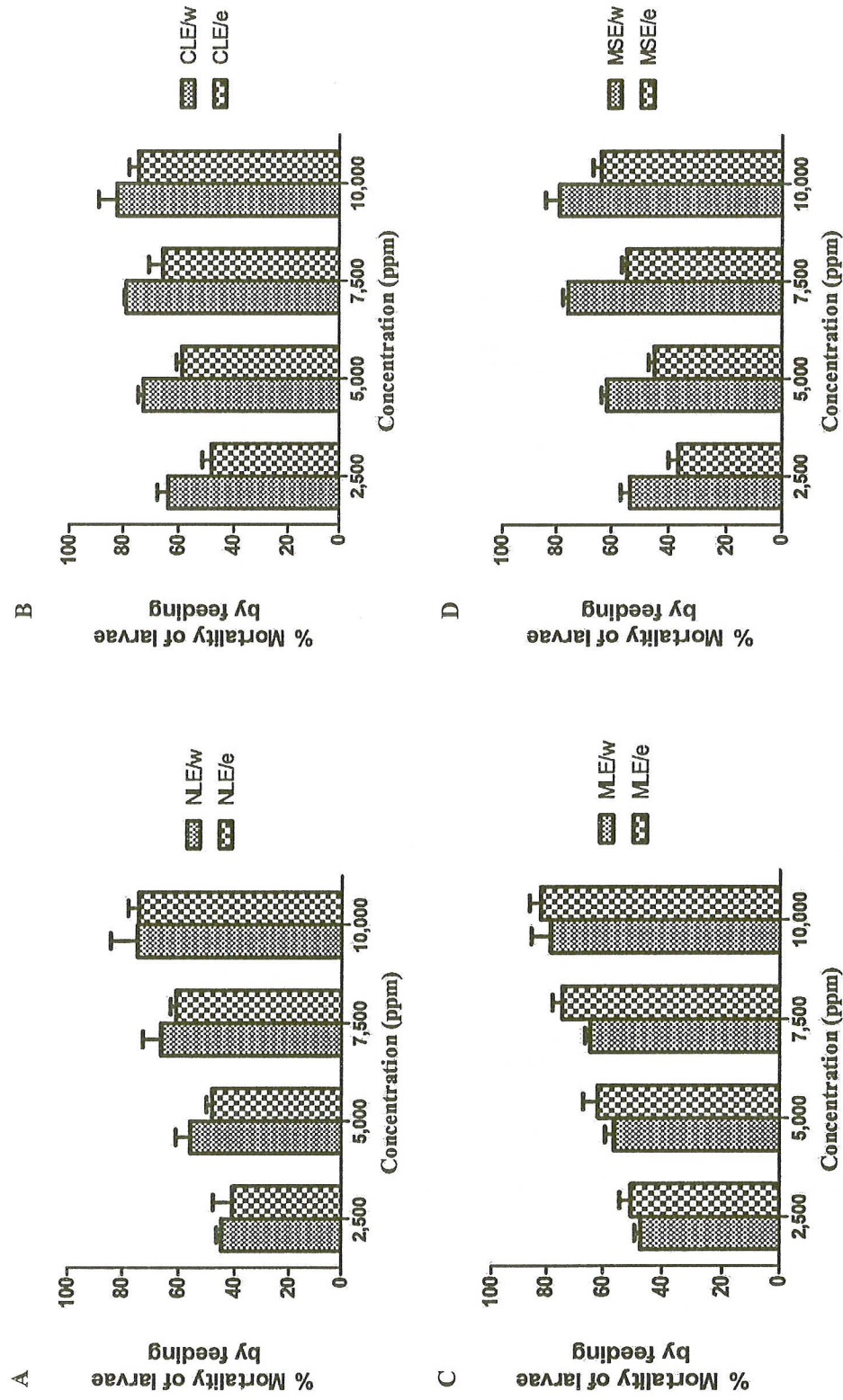


Figure 4.9 Larvicidal feeding effects of individual extracts of leaf and seed extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE). Oriental fruit fly larvae were fed with artificial food mixed with the extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and $n = 5$.

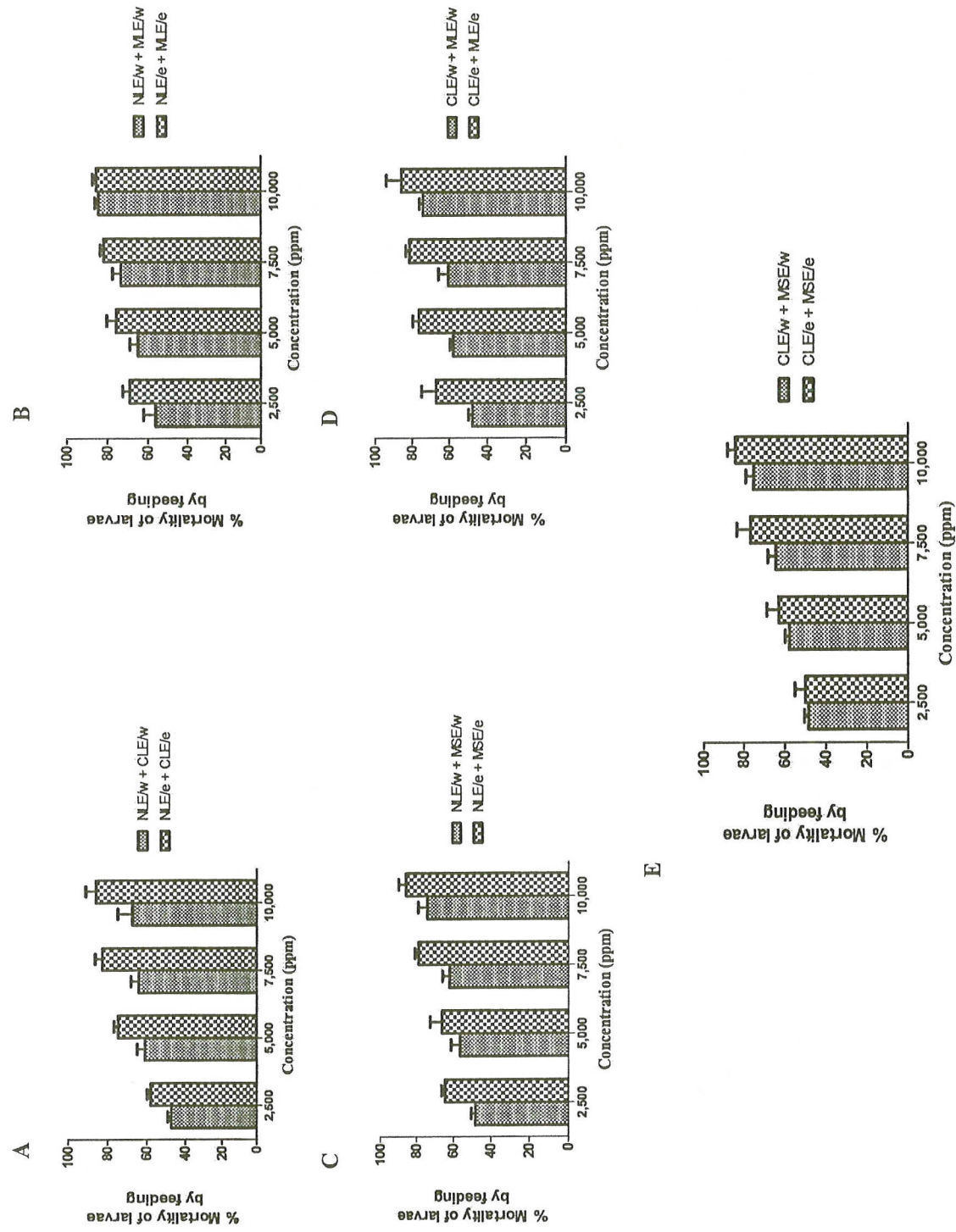


Figure 4.10 Larvicidal feeding effects of combined extracts (1:1) of leaf and seed extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE). Oriental fruit fly larvae were fed with artificial food mixed with the extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and $n = 5$.

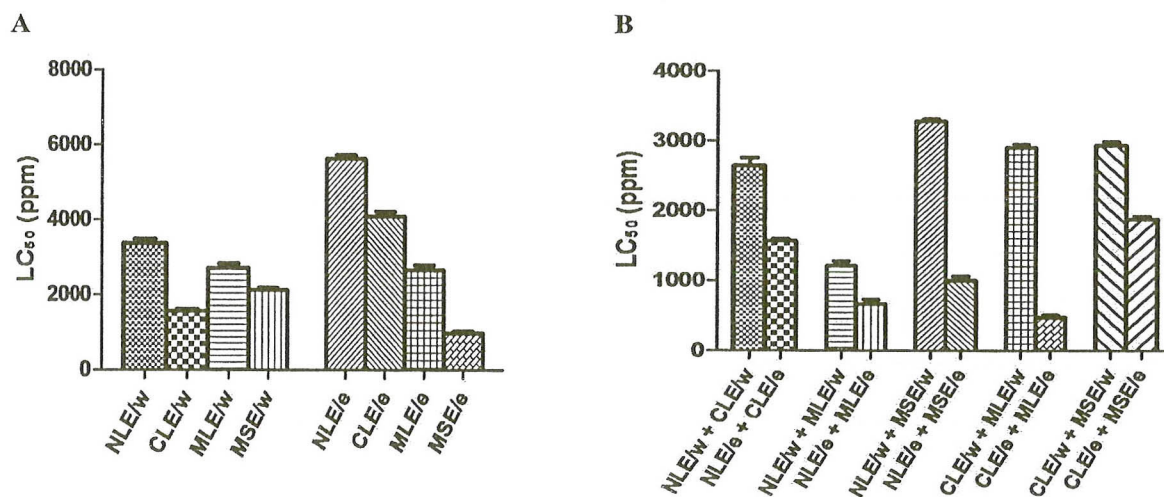


Figure 4.11 Larvicidal efficacy of the extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on larval feeding of oriental fruit flies. A, LC₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

Table 4.3 Feeding toxic effects of individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on oriental fruit fly larvae at 24 hours. Data were expressed as Mean of LC₅₀ $\pm$ S.E., n = 5.

	LC ₅₀ (ppm) at 24 h		
	Mean $\pm$ S.E (n = 5)		
Plant extract	Water extract	Ethanol extract	P-value
<u>Individual</u>			
NLE	3,371.00 $\pm$ 108.27	5,621.70 $\pm$ 101.43	0.009**
CLE	1,568.34 $\pm$ 47.50	4,088.79 $\pm$ 125.29	0.000**
MLE	2,707.80 $\pm$ 120.38	2,658.39 $\pm$ 132.40	0.021*
MSE	2,128.22 $\pm$ 57.14	982.18 $\pm$ 45.60	0.000 **
<u>Combination</u>			
NLE + CLE	2,595.00 $\pm$ 95.55	1,783.29 $\pm$ 72.52	0.002**
NLE + MLE	1,551.01 $\pm$ 82.27	1,486.76 $\pm$ 36.11	0.020*
NLE + MSE	3,062.30 $\pm$ 81.81	1,194.63 $\pm$ 46.64	0.000**
CLE + MLE	2,338.58 $\pm$ 43.41	3,340.76 $\pm$ 33.79	0.000**
CLE + MSE	2,700.43 $\pm$ 65.13	2,166.98 $\pm$ 79.67	0.000**

Note:

NLE = neem, leaf extract, CLE = custard apple extract, MLE = mintweed leaf extract, and MSE = mintweed seed extract. ** significant difference at $P < 0.01$ and * significant difference at $P < 0.05$, analyzed by t-test of variance

4.4.4ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการสัมผัสหนอนตัวอ่อนแมลงวันทอง โดยการจุ่มในสารละลาย

(Larval dipping)

การตายของหนอนแมลงวันทองที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการจุ่มหนอนในสารละลายของสารสกัดชนิดเดียว ลักษณะของฤทธิ์สารสกัดเดี่ยวของสารสกัดใบสะเดา และของใบและเมล็ดแมงลักเพิ่มขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (concentration dependent) แต่ฤทธิ์ของสารสกัดน้อยหน้าไม่ขึ้นกับความเข้มข้น และฤทธิ์ของสารสกัดทุกสารสกัดด้วยน้ำและ ethanol แตกต่างกันไม่มาก สารสกัดน้อยหน้า CLE/w ทำให้หนอนตายได้มากที่สุดทุกความเข้มข้น ตายระหว่าง 63-81% (Figure 4.12 B) สารสกัดสะเดา NLE/w และ NLE/e ที่ความเข้มข้นต่ำ 2,500 ppm แสดงฤทธิ์ทำให้หนอนตายน้อยมากประมาณ 34% (Figure 4.12 A) ที่ความเข้มข้นสูง 10,000 ppm สารสกัดทุกชนิดแสดงฤทธิ์ใกล้เคียงกัน คือ ทำให้หนอนตายประมาณ 70-80% ส่วนฤทธิ์ของสารสกัดผสม 1:1 (v/v) ที่ความเข้มข้นเท่ากัน

ฤทธิ์ของสารสกัดใบพีชด้วย ethanol กำจัดหนอนแมลงได้ดีกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ฤทธิ์ของ NLE/e + MLE/e 2,500 ppm ทำให้หนอนตายมากที่สุดประมาณ 72% และความเข้มข้น 10,000 ppm หนอนตาย 91% (Figure 4.13 B) อันดับรองลงมาคือ CLE/e + MLE/e (Figure 4.13 D) และ NLE/e + CLE/e (Figure 4.13 B)

ประสิทธิภาพของพิษต่อการฆ่าหนอนแมลงวันทองของสารสกัดเดี่ยวค่อนข้างต่ำ นั่นคือค่า LC_{50} ของสารสกัดเกือบทั้งหมดค่อนข้างสูง (Figure 4.14 A และ Table 4.4) MSE/w มีค่า LC_{50} น้อยที่สุดซึ่งเท่ากับ $2,220.36 \pm 83.79$ ppm อย่างไรก็ตามสารสกัดเดี่ยวด้วยน้ำแสดงพิษดีกว่าสารสกัดด้วย ethanol พิษของสารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol ค่อนข้างดี NLE/e + MLE/e และ CLE/e + MLE/e มีค่า LC_{50} น้อยที่สุดและใกล้เคียงกัน คือ 652.80 ± 13.15 ppm และ 683.25 ± 38.08 ppm ตามลำดับ (Figure 4.14 B และ Table 4.4) จะเห็นได้ชัดเจนว่าสารสกัดใบแมงลักกา MLE/e สามารถใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ให้แก่สารสกัดใบพีชอื่นได้ดีมาก และ CLE/e น่าจะเป็นสารเพิ่มฤทธิ์ (additive effect) ให้แก่ NLE/e ดังนั้น การกำจัดระยะหนอนของแมลงวันทองด้วยการจุ่มจึงควรใช้สารสกัดผสมที่มีสารสกัดใบแมงลักกาด้วย ethanol เป็นสารหลัก การประยุกต์ใช้การทดลองนี้อาจกระทำได้โดย การฉีดพ่นหรือลาดบนพื้นดินที่โคนต้นไม้ให้ดินเปียกและ เป็นต้น

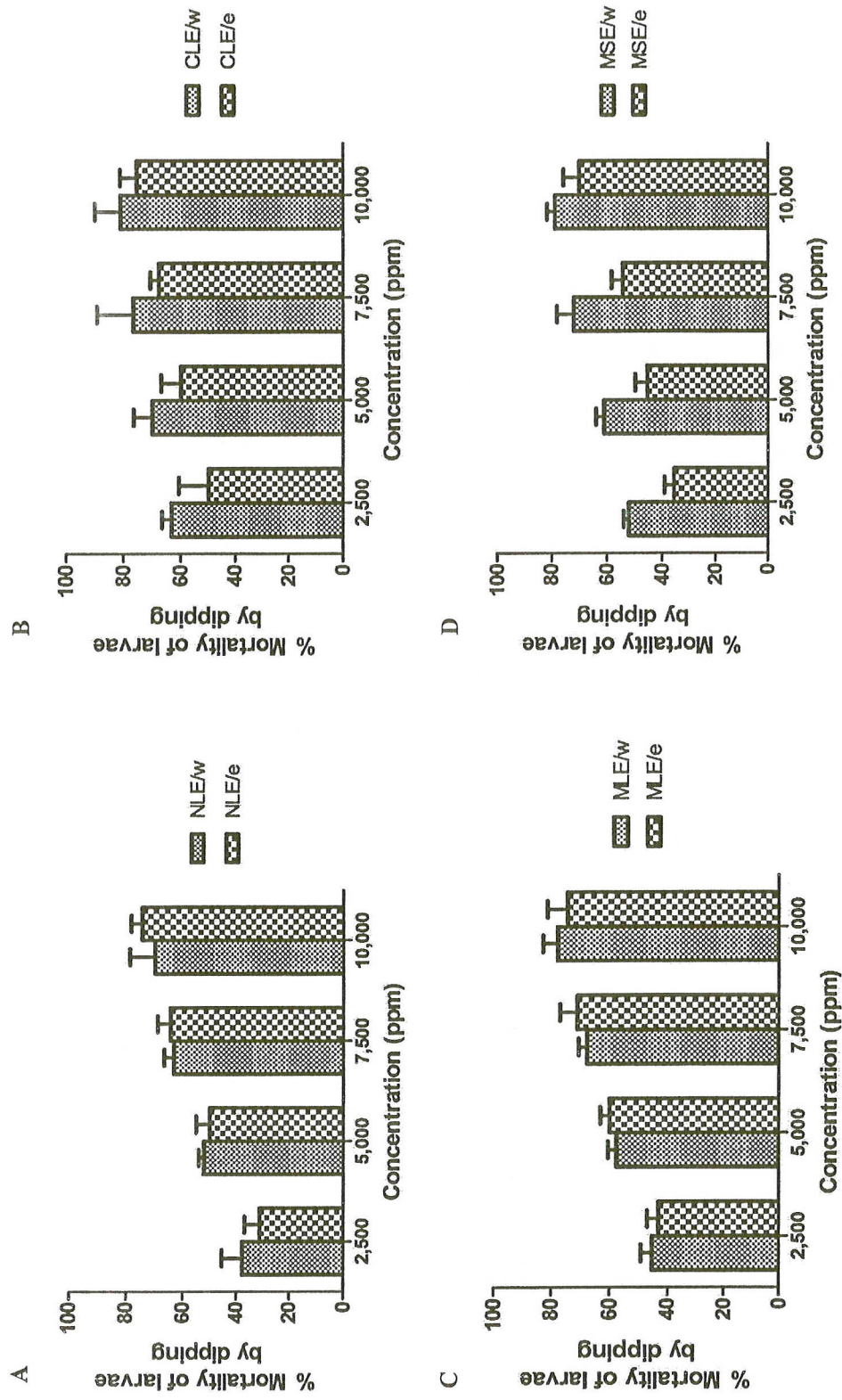


Figure 4.12 Direct contact effects of individual extracts of leaves and seeds of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE) on larvae by dipping, Oriental fruit fly larvae were dipped in individual extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and $n = 5$.

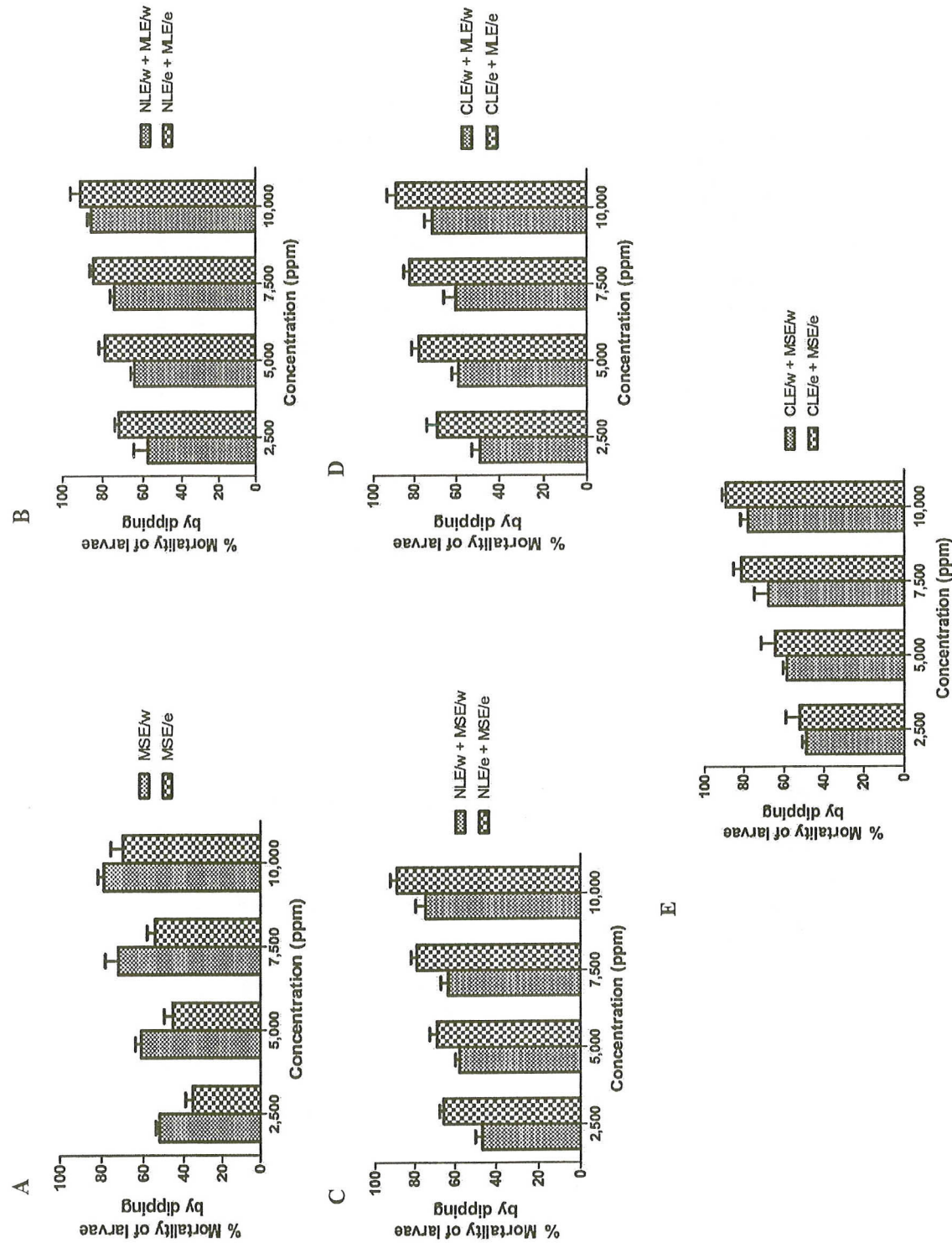


Figure 4.13 Direct contact effects of combined extracts of leaves and seeds of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE) on larvae by dipping Oriental fruit fly larvae dipped in combined extracts (1:1) as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

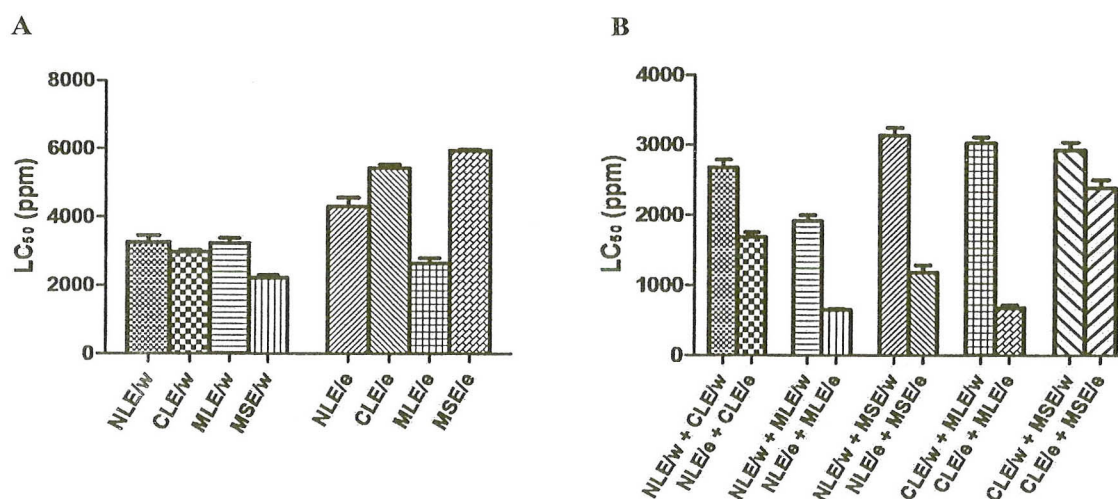


Figure 4.14 Direct contact efficacy the extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on oriental fruit fly larvae by dipping. A, LC₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

Table 4.4 Direct contact effects of individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds by larval dipping at 24 hours. Data were expressed as Mean of LC₅₀ $\pm$ S.E., n = 5.

	LC ₅₀ (ppm) at 24 h		
	Mean $\pm$ S.E (n = 5)		
Plant extract	Water extract	Ethanol extract	P-value
Individual			
NLE	3,256.96 $\pm$ 190.82	4,300.95 $\pm$ 259.78	0.020*
CLE	2,977.18 $\pm$ 67.07	5,429.48 $\pm$ 110.37	0.000**
MLE	3,222.85 $\pm$ 152.44	2,650.98 $\pm$ 143.79	0.028*
MSE	2,220.36 $\pm$ 83.79	5,945.54 $\pm$ 40.00	0.000**
Combination			
NLE + CLE	2,673.76 $\pm$ 114.68	1,685.06 $\pm$ 67.93	0.002**
NLE + MLE	1,912.25 $\pm$ 81.37	652.80 $\pm$ 13.15	0.000**
NLE + MSE	3,134.99 $\pm$ 108.62	1,177.86 $\pm$ 106.46	0.000**
CLE + MLE	3,029.40 $\pm$ 83.91	683.25 $\pm$ 38.08	0.000**
CLE + MSE	2,928.19 $\pm$ 111.59	2,380.19 $\pm$ 121.02	0.081

Note:

NLE - neem, leaf extract, CLE - custard apple extract, MLE - mintweed leaf extract, and MSE - mintweed seed extract. ** significant difference at $P < 0.01$ and * significant difference at $P < 0.05$, analyzed by t-Test of variance.

4.4.5 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมแมลงวันทองตัวเต็มวัย โดยการกิน (Adult feeding)

ฤทธิ์ของสารสกัดใบสะเดา น้อยหน่า และแมงลักคา และเมล็ดแมงลักคาผสมในอาหารเทียมที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้แมลงวันทองตัวเต็มวัยกิน สังเกตและนับจำนวนแมลงตายใน 24 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 2,500-10,000 ppm สารสกัดใบสะเดา NLE/w และ ใบแมงลักคา MLE/w แสดงฤทธิ์สูงกว่า NLE/e และ MLE/e เล็กน้อย แต่สารสกัด CLE/w และ MSE/w ทุกความเข้มข้นมีฤทธิ์สูงระหว่าง 58-80% และสูงกว่า CLE/e และ MSE/e อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) (Figure 4.15 B และ D) อย่างไรก็ตามฤทธิ์ของทุกสารสกัดที่ทำให้แมลงตายขึ้นความเข้มข้น (Figure 4.15 A, B, C และ D) ส่วนฤทธิ์ของสารสกัดผสม พบว่าสารผสมของสารสกัดด้วย ethanol กำจัดแมลงได้ค่อนข้างดีว่าการผสมของสารสกัดด้วยน้ำ (Figure 4.16) NLE/e + CLE/e ทำให้แมลงตายดีที่สุดทุกระดับความเข้มข้น แมลงตาย 59-95% (Figure 4.16 A) และ CLE/e + MLE/e ทำให้แมลงตาย 52-90% (Figure 4.16 D)

ประสิทธิภาพของพิษของสารสกัดเดี่ยวต่อการกินของแมลงวันทองตัวเต็มวัย พบว่า CLE/w มีประสิทธิภาพสูงกว่าทุกสารสกัด มีค่า LC_{50} $1,710.91 \pm 67.07$ ppm ลำดับรองลงมาคือ MSE/w มีค่า LC_{50} $2,021.28 \pm 83.79$ และ MLE/w มีค่า LC_{50} $2,347.77 \pm 152.44$ ppm ในขณะที่ NLE/w และ NLE/e ประสิทธิภาพกำจัดแมลงไม่ดี มีค่า LC_{50} ค่อนข้างสูง $4,239.07 \pm 190.82$ ppm และ $4,810.68 \pm 259.78$ ppm ตามลำดับ (Figure 4.16 A และ Table 4.5) ประสิทธิภาพควบคุมแมลงวันทองตัวเต็มวัยเรียงตามลำดับดังนี้ $CLE/w > MSE/w > CLE/e > MLE/w > MLE/w > NLE/w > NLE/e > MSE/e$ ในทำนองเดียวกันประสิทธิภาพของพิษสารสกัดผสมกำจัดแมลงวันทองตัวเต็มวัยด้วยการกินได้ปานกลาง NLE/e + CLE/e กำจัดแมลงได้สูงสุด มีค่า LC_{50} $1,605.87 \pm 67.93$ ppm และ NLE/w + MLE/w มีค่า LC_{50} $1,785.91 \pm 81.37$ ppm (Figure 4.17 B และ Table 4.5) จะเห็นได้ว่า CLE/e เสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ให้กับ NLE/e MLE/w เสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ให้กับ NLE/w และ CLE/e เสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ให้กับ MSE/e ดังนั้นการกำจัดแมลงวันทองตัวเต็มวัยควรใช้สารสกัดใบน้อยหน่า CLE/w หรือใช้สารสกัดผสม NLE/e + CLE/e และ NLE/w + MLE/w โดยใช้ผสมกับอาหารหรือกับเหยื่อที่ใช้ล่อจับแมลงวันทอง

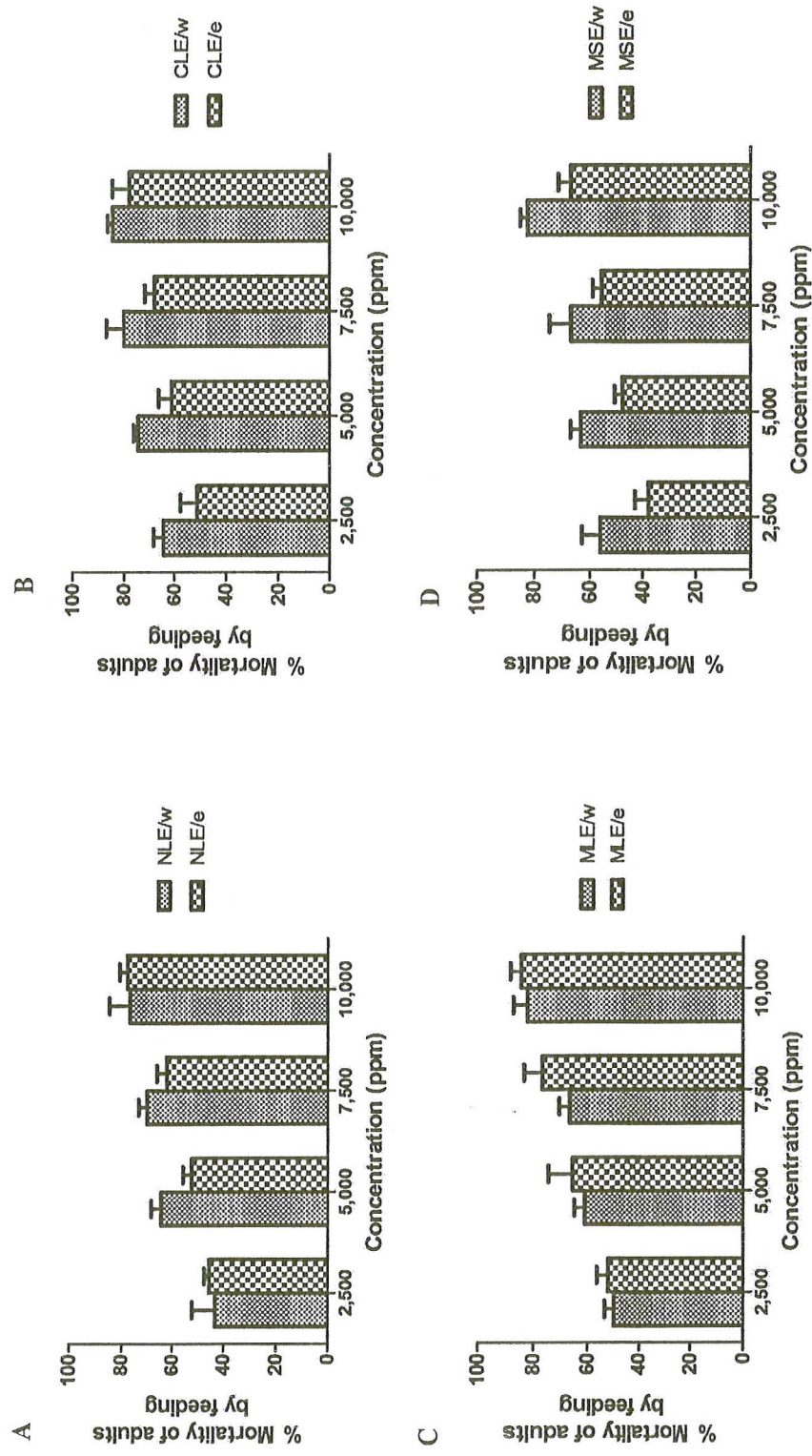


Figure 4.15 Adulticidal effects of individual extracts of leaves and seed of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE) by feeding, Oriental fruit fly adults were fed with artificial food mixed with the extracts as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and $n = 5$.

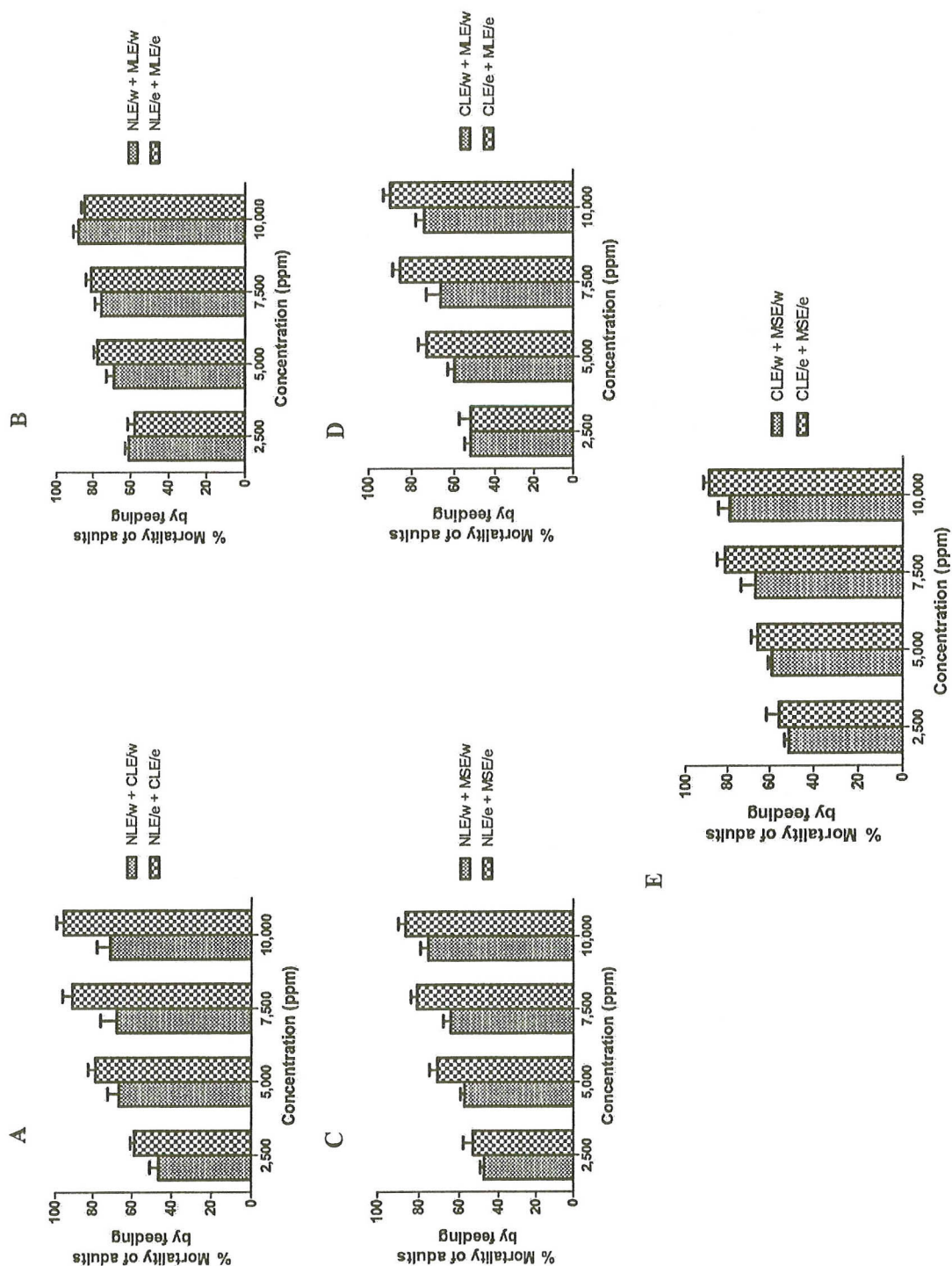


Figure 4.16 Adulticidal effects of combined extracts of leaves and seed of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE), Oriental fruit fly adults were fed with artificial food mixed with the extracts (1:1) as designated concentrations. Data were % Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

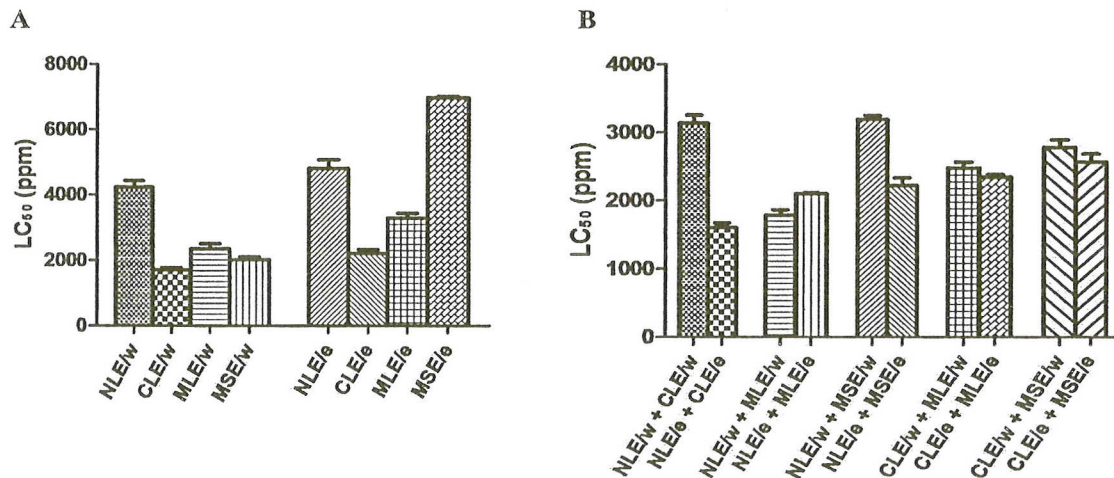


Figure 4.17 Adulticidal efficacy of extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on oriental fruit flies by feeding. A, LC₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean $\pm$ S.E. and n = 5.

Table 4.5 Adulticidal efficacy of individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on oriental fruit flies by feeding at 24 hours. Data were expressed as Mean of LC₅₀ $\pm$ S.E., n = 5.

	LC ₅₀ (ppm) at 24 h		
	Mean $\pm$ S.E (n = 5)		
Plant extract	Water extract	Ethanol extract	P-value
Individual			
NLE	4,239.07 $\pm$ 190.82	4,810.68 $\pm$ 259.78	0.071
CLE	1,710.91 $\pm$ 67.07	2,217.21 $\pm$ 110.37	0.000**
MLE	2,347.77 $\pm$ 152.44	3,295.75 $\pm$ 143.79	0.062
MSE	2,021.28 $\pm$ 83.79	6,970.40 $\pm$ 40.00	0.000**
Combination			
NLE + CLE	3,142.13 $\pm$ 114.68	1,605.87 $\pm$ 67.93	0.002**
NLE + MLE	1,785.91 $\pm$ 81.37	2,102.86 $\pm$ 13.15	0.000**
NLE + MSE	3,193.85 $\pm$ 106.62	2,227.32 $\pm$ 106.46	0.000**
CLE + MLE	2,483.26 $\pm$ 83.91	2,349.39 $\pm$ 36.08	0.082
CLE + MSE	2,784.36 $\pm$ 111.59	2,568.26 $\pm$ 121.03	0.081

Note:

NLE - neem, leaf extract, CLE - custard apple extract, MLE - mintweed leaf extract, and MSE - mintweed seed extract. ** significant difference at $P < 0.01$ and * significant difference at $P < 0.05$, analyzed by t-Test of variance.

ในการศึกษาการควบคุมโดยชีวภาพแมลงวันทองด้วยสารสกัดเดียวจากใบสะเดา ใบน้อยหน่า ใบแมงลักคาและเมล็ดแมงลัก ด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์ (ethanol) โดยวิธีการไล่ และการยับยั้งพัฒนาการและการเจริญเติบโตโดยการยับยั้งการฟักไข่ การกินของตัวหนอน การจุ่มตัวหนอนในสารสกัด และการกินของตัวเต็มวัย ทั้งเป็นการทดลองโดยใช้สารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งในสารสกัดจะมีสารเคมีหลายชนิดของพืชปะปนกันอยู่ พบว่าสารสกัดเดียวจากพืชเหล่านี้สามารถควบคุมแมลงวันทองได้ในระดับปานกลางถึงดีมาก และจากการทดลองใช้สารสกัดผสม พบว่าสารสกัดจากน้อยหน่าและแมงลักคา มีบทบาทเป็นสารเสริมฤทธิ์ของสารสกัดจากสะเดาได้ดีมาก พบลักษณะของการเสริมฤทธิ์แบบ synergistic effects และแบบ additive effects ฤทธิ์หรือพิษของสารสกัดจากพืชเหล่านี้แสดงประสิทธิภาพแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะแต่ละพืชมีสารเคมีแตกต่างกันและมีฤทธิ์ต่อแมลงระยะต่างๆ ในวัฏจักรชีวิตต่างกันหรือนัยยะหนึ่งแมลงแต่ละระยะซึ่งมีลักษณะของโครงสร้างทางเคมีของอวัยวะต่างกัน เช่น เปลือกไขมีรูเล็กๆ ที่สารเคมีบางชนิดผ่านเข้าสู่ภายในไขได้ยากง่ายต่างกัน หรือเมื่อสารที่เข้าไปในไขแล้วอาจไปยับยั้งพัฒนาการของตัวอ่อนแมลงต่างกัน สารเคมีมีปฏิกิริยาต่อเปลือก chitin ของลำตัวแมลงต่างกัน แมลงตัวเต็มวัยอาจมีระบบประสาทที่ไวต่อสารเคมีในสารสกัดต่างกันด้วย ซึ่งมีหลักฐานเชิงวิทยาศาสตร์ที่ผลการวิจัยจำนวนมากพอสมควรแต่ทั้งหมดเป็นการใช้สารสกัดชนิดเดียว ที่สอดคล้องสนับสนุนการศึกษาค้นคว้านี้ ไม่พบมีหลักฐานการวิจัยเชิงวิทยาศาสตร์ที่วิจัยการใช้สารสกัดผสมควบคุมแมลงวันทอง ยกเว้นในภูมิปัญญาพื้นบ้านที่มีการปฏิบัติทางการเกษตร พบว่ามีหลักฐานการใช้สารสกัดพืชชนิดเดียวในการควบคุมแมลงชนิดอื่นๆ โดยชีววิธีได้อย่างมีประสิทธิภาพซึ่งสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้

สะเดาส่งเคราะห์สารสำคัญคือ azadirachtin และ nimbolide ด้วย สารเหล่านี้เป็นสารในกลุ่ม limonoids ซึ่งสังเคราะห์จากสาร triterpenes สารกลุ่ม limonoids มีศักยภาพควบคุมแมลงศัตรูพืชได้กว่า 200 ชนิด รวมทั้งแมลงวันทอง โดยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม กลไกการควบคุมของสารการไล่ (repellence) กินตาย (antifeeding) ดักแต่ไม่ลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย (pupate inhibitor) จะเห็นได้ว่าสารจากสะเดาที่แมลงกิน นอกจากทำลาย reproductive cycle ของแมลงแล้ว ยังเป็นสารพิษโดยตรงด้วย (Roy and Saraf, 2006) ในสะเดายังมีสารอนุพันธ์ของ limonoid azadirachtin อีกมากมายซึ่งมี mode ของปฏิกิริยาซับซ้อนและมีมากจนยากที่จะบ่งชี้ให้ชัดเจน อาจเนื่องมาจากการงานวิจัยทดลองกับแมลงต่างชนิดและใช้ความเข้มข้นต่างๆ กัน อย่างไรก็ตามการศึกษาและใช้สารสกัดจากสะเดาจะใช้ในวิธีต่อไปนี้ (1) Disrupting or inhibiting พัฒนาการของ eggs, larvae, หรือ pupae (2) Blocking การลอกคราบของ larvae หรือ nymphs (3) Disrupting mating และ Sexual communication (4) Repelling larvae และ adults (5) Deterring females จากการวางไข่ (6) Sterilizing adults (7) Poisoning larvae และ adults (8) Deterring feeding (9) Blocking การกลืนอาหาร ทำให้ลดการเคลื่อนที่ของทางเดินอาหาร (10) Metamorphosis ระยะต่างๆ ผิดปกติ และ

(11) Inhibition การสร้างเปลือก chitin และ โดยเฉพาะฤทธิ์ของสะเดาต่อแมลงวันทอง สารสกัดจากสะเดาจะหยุดพัฒนาการของดักแด้ เป็นพิษต่อตัวอ่อน และ ทำให้แมลงเจริญเติบโตช้า (Ruskin, 1992; Nathan, *et al.*, 2006) มีการศึกษาสารสกัดสะเดาหลายหลักฐานที่ได้ผลดีเกี่ยวกับการไล่ยุง *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, *Ochierotatus triseriatus* และ *Anopheles darlingi* (Govindachari, 2000; Moor, *et al.*, 2002; Bamard and Xue, 2004; Senthil-Nathan, *et al.*, 2005; Sharma, *et al.*, 2010) การขัดขวางการวางไข่ (oviposition deterrence) ของยุง *Aedes aegypti* (Kaur, *et al.*, 2003) และไล่ด้วงผักทอง (*Raphidopalpa foveicollis*) (Tandon and Sirohi, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติการไล่แมลงวันทองของ NLE/e และ CLE/e ในการศึกษาครั้งนี้

สารสกัดหยาบของน้อยหน่าสามารถควบคุมตัวอ่อนผีเสื้อ (Leatemia and Isman, 2004) ควบคุมแมลงวันผลไม้ ชนิด Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) ระยะฟักไข่ ไล่ รบกวนการวางไข่ และ ยืดเวลาพัฒนาการของตัวอ่อน (Epino and Chang, 1993) ควบคุมตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของด้วงแป้งสีแดง *Tribolium castaneum* Herbst (Khalequzzaman and Sultana, 2006) จะเห็นว่าพิษของสารสกัดน้อยหน่าค่อนข้างหลากหลาย ทั้งนี้เนื่องจากน้อยหน่าผลิตสารพิษสำคัญ 2 ชนิดคือ isoquinolinic alkaloids ซึ่งเป็นพิษต่อระบบประสาท และ acetogenins / annacins เป็นสารพิษต่อ mitochondria โดยยับยั้งที่ complex I ซึ่งเป็นโปรตีนเชิงซ้อนใน electron transport chain เป็นผลยับยั้งการผลิตพลังงานของเซลล์ กลไกการทำงานของ acetogenins เหมือนกับของสาร rotenone เป็นสารพิษต่อแมลงและปลาซึ่งผลิตในพืชหางไหล (Isman, 2005) สารสกัดหยาบจาก *Annona squamosa* มีประสิทธิภาพสูงกว่า *Annona* spp อื่น น้อยหน่าจึงเป็นแหล่งสารธรรมชาติราคาต่ำอีกแหล่งหนึ่งที่น่าสนใจที่นำไปใช้ในการควบคุมแมลงวันทอง และเสริมฤทธิ์ได้ดีกับแมลงลักคาในการควบคุมแมลงวันทองทุกระยะตั้งแต่ไข่ถึงตัวเต็มวัย

Mintweed (bush tea, bushmint) ในไนจีเรียใช้เป็นพืชอาหาร และนิยมนำมาไล่ยุง พบว่าสารสกัดใบด้วย ethanol มีประสิทธิภาพควบคุมลูกน้ำระยะที่ 3 ของยุง *Aedes aegypti* ซึ่งเป็นพาหะของเชื้อ ไข้เลือดออก สามารถควบคุมได้สูงกว่า 75% ใน 24 ชั่วโมง (Amusan *et al.*, 2005) และกำจัดลูกน้ำยุง ระยะ 2 ด้วย LC₅₀ 20.24% (Tanprasit, 2005) ลดการระบาดของหนอนและตัวเต็มวัยผีเสื้อเจาะต้นข้าวโพด *Sesamia calamistis* Hampson ในภาคสนามเทียบได้กับสารฆ่าแมลง furadan (Adda, *et al.*, 2011) สารสกัดเมล็ดแมงลักสกัดด้วย methanol สามารถควบคุมด้วงถั่วลิสง *Trogoderma granarium* Everts ในห้องเก็บ โดยลดการวางไข่ ยับยั้งการเจริญของหนอน และการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ดีกว่าสารสกัดจากใบแมงลักคา (Musa *et al.*, 2009) ปรากฏหลักฐานวิเคราะห์น้ำมันจากใบแมงลักคาด้วย GC พบมีสารสำคัญคือ sabinene, terpinen-4-ol, β -pinene, β -caryophyllene และ limonene แสดงประสิทธิภาพต่อการควบคุมแมลงมอดในธัญพืช 4 ชนิด คือ *Callosobruchus maculatus*, *Rhyzopertha dominica*,

Sitophilus oryzae และ *Tribolium castaneum* โดยการไล่ (repellency) การรม (fumigation) การทาตัว (topical application) (Tripathi and Upadhyay, 2009) ในทำนองเดียวกับ น้ำมันใบแมงลักสามารถควบคุมมอดข้าวสาธิต *Sitophilus granarius* L. โดยการไล่และการทาตัวแล้วแมลงตาย และจากการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography (GC) พบสาร monoterpene hydrocarbons และ sesquiterpene hydrocarbons ในน้ำมันใบแมงลักซึ่งเป็นสารระเหยซึ่งคาดว่าจะเป็สารสำคัญที่ทำให้มอดข้าวสาธิตตายได้เมื่อถูกตัวแมลง (Conti *et al.*, 2011) นอกจากนี้สารสกัดใบแมงลักค้ด้วย hexane, diethyl ether, dichloromethane, ethyl acetate, methanol และน้ำ พบว่ามีประสิทธิภาพควบคุมผีเสื้อ *Helicoverpa armigera* และ *Spodoptera litura* โดยยับยั้งการกิน ฆ่าตัวหนอน ยับยั้งการฟักไข่ และป้องกันการวางไข่ ซึ่งพบว่าสารสกัดเหล่านี้มีสารประเภท long aliphatic chain group ที่มี α , β -unsaturated keto-moiety จับติดอยู่ที่ศูนย์กลางของ phenolic nucleus ซึ่งคาดว่าสารนี้ไปเสริมฤทธิ์ของ phenolic compounds แบบ synergistic effect และ methyl และ enolic residues เพิ่มคุณสมบัติ hydrophobic ของ phenolic compounds ช่วยเสริมฤทธิ์ของสารสกัดในการกำจัดแมลงได้ทางอ้อม (Raja *et al.*, 2005) ซึ่งหลักฐานข้างต้นนี้สอดคล้องและสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ที่พบว่า เมื่อใช้สารสกัดใบและเมล็ดแมงลักค้อย่างเดียวสามารถไล่ ยับยั้งการฟักไข่ กำจัดหนอน และ ตัวเต็มวัยแมลงวันทอง และเมื่อใช้ผสมกับสารสกัดสะเดาและน้อยหน่า สารสำคัญในสารสกัดแมงลักค้ น่าจะเป็นสารฆ่าและเสริมฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพดีมากในการควบคุมแมลงวันทอง ดังนั้นสารสกัดแมงลักค้จึงควรจะได้รับกรวิจัยพัฒนาเป็นตำรับในการผสมกับสารสกัดพืชอื่น (bio-pesticide formulations) เพื่อใช้กำจัดศัตรูพืช

4.5 สรุปการทดลอง

สารสกัดไล่แมลงวันทองที่มีฤทธิ์ไล่สูงที่สุดคือ สารสกัดใบและเมล็ดแมงลักค้ด้วย ethanol (MLE/e) และ (MSE/e) โดยแสดงฤทธิ์ไล่แมลงได้มาก 74% ผลการทดลองโดยรวมของสารสกัดค้เดียว สารสกัดค้ด้วย ethanol มีฤทธิ์ไล่แมลงวันทองได้ใกล้เคียงกับสารสกัดค้ด้วยน้ำซึ่งสามารถไล่แมลงวันทองได้สูงกว่า 65% ฤทธิ์การไล่แมลงตัวเต็มวัยของสารสกัดค้เดียว เรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ MSE/e > MLE/e > CLE/e > NLE/e > CLE/w > MSE/w > NLE/w > MLE/w ส่วนการทดลองผสมสารสกัดค้ด้วยสารทำละลายชนิดค้เดียวกันไล่แมลงวันทอง พบว่าสารสกัดค้ด้วยน้ำของใบและเมล็ดแมงลักค้ (MLE/w และ MSE/w) ช่วยเสริมฤทธิ์แบบ synergistic effect การไล่ของสารสกัดค้ด้วยน้ำของใบสะเดา (NLE/w) แต่ลดฤทธิ์การไล่ของสารสกัดใบน้อยหน่า (CLE/w) ในขณะที่ สารสกัดค้ด้วย ethanol ของใบสะเดา (NLE/e) ลดฤทธิ์การไล่ของแมงลักค้ (MLE/e และ MSE/e)

ฤทธิ์ยับยั้งการฟักไข่เป็นตัวอ่อน (anti-egg hatching) ของแมลงวันทองโดยสารสกัดใบสะเดา น้อยหน่าและแมงลักคา และเมล็ดแมงลักคาขึ้นกับความเข้มข้นของสารสกัด (concentration dependent fashion) MSE/e แสดงประสิทธิภาพสูงสุด มีค่า LC_{50} 591.12 ± 30.26 ppm ประสิทธิภาพรองลงมาคือ MSE/w มีค่า LC_{50} $1,098.66 \pm 30.40$ ppm CLE/e มีประสิทธิภาพน้อยที่สุด LC_{50} เท่ากับ $5,815.26 \pm 172.20$ ppm NLE/w และ NLE/e มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน มีค่า LC_{50} $3,353.35 \pm 156.97$ ppm และ $3,625.14 \pm 162.38$ ppm ตามลำดับ สารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol มีประสิทธิภาพดีกว่าฤทธิ์การผสมระหว่างสารสกัดด้วยน้ำ CLE/e + MLE/e มีประสิทธิภาพดีที่สุด ค่า LC_{50} 475.19 ± 31.90 ppm และ LC_{50} ของ NLE/e + MLE/e เท่ากับ 666.76 ± 62.27 ppm MLE/e เสริมฤทธิ์ (synergistic effect) ของ NLE/e และ CLE/e ในขณะที่ CLE/e เพิ่มฤทธิ์ (additive effect) ให้กับ NLE/e

ฤทธิ์การควบคุมหนอนแมลงวันทองโดยการกินของหนอนตัวอ่อน การตายของหนอนขึ้นกับความเข้มข้น (concentration dependent) สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ทำให้ตัวหนอนแมลงวันตายได้มากกว่าสารสกัดด้วย ethanol ที่ความเข้มข้นสูง 10,000 ppm CLE/w และ MLE/e ทำให้หนอนตายมากเท่ากันคือประมาณ 82% ประสิทธิภาพของพิษต่อการกำจัดหนอนแมลงวันทองโดยการกิน พิจารณาจากค่า LC_{50} พบว่า สารสกัดเดี่ยว MSE/e มีประสิทธิภาพมากที่สุด ค่า LC_{50} 982.18 ± 45.60 ppm และพบว่าสารสกัดผสมส่วนมากฤทธิ์จะหักล้างกัน NLE/e + MSE/e มีประสิทธิภาพมากที่สุด ค่า LC_{50} $1,194.63 \pm 46.64$ ppm

ประสิทธิภาพของพิษต่อการฆ่าหนอนแมลงวันทองโดยการจุ่มหนอนในสารสกัดเดี่ยวค่อนข้างต่ำ หรือค่า LC_{50} ความเข้มข้นทำให้หนอนตาย 50% ของสารสกัดเกือบทั้งหมดค่อนข้างสูง MSE/w มีประสิทธิภาพดีที่สุด มีค่า LC_{50} $2,220.36 \pm 83.79$ ppm พิษของสารผสมระหว่างสารสกัดด้วย ethanol ค่อนข้างดี NLE/e + MLE/e และ CLE/e + MLE/e มีค่า LC_{50} น้อยที่สุดและใกล้เคียงกัน คือ 652.80 ± 13.15 ppm และ 683.25 ± 38.08 ppm ตามลำดับ สารสกัดใบแมงลักคา MLE/e สามารถใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์แบบ synergistic effect ให้แก่สารสกัดใบพืชอื่นได้ดีมาก และ CLE/e น่าจะเป็นสารเพิ่มฤทธิ์แบบ additive effect ให้แก่ NLE/e

ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการกินของแมลงวันทองตัวเต็มวัย CLE/w มีประสิทธิภาพทำให้แมลงตายได้มากที่สุด มีค่า LC_{50} $1,710.91 \pm 67.07$ ppm ลำดับรองลงมาคือ MSE/w มีค่า LC_{50} $2,021.28 \pm 83.79$ ppm และ MLE/w มีค่า LC_{50} $2,347.77 \pm 152.44$ ppm ประสิทธิภาพของพิษสารสกัดผสมกำจัดแมลงวันทองตัวเต็มวัยด้วยการกินได้ปานกลาง NLE/e + CLE/e กำจัดแมลงได้สูงสุด มีค่า LC_{50} $1,605.87 \pm 67.93$ ppm และ NLE/w + MLE/w มีค่า LC_{50} $1,785.91 \pm 81.37$ ppm และ CLE/e เสริมฤทธิ์แบบ synergistic effect ให้กับ NLE/e MLE/w เสริมฤทธิ์แบบ synergistic effect ให้กับ NLE/w และ CLE/e เสริมฤทธิ์แบบ synergistic effect ให้กับ MSE/e

เอกสารอ้างอิง

- Adda, C., Atachi, P., Hell, K., and Tamo, M. (2011). Potential use of the bushmint, *Hyptis suaveolens*, for the control of infestation by the pink stalk borer, *Sesamia calamistis* on maize in southern Benin, West Africa. *J Insect Sci.* 11:33, available online: insectscience.org/11.33
- Ali, H., Ahmad, S., Jan, S., and Safiullah. (2010). Efficacy of different control methods against oriental fruit fly *Bactrocera zonata* (SAUNDERS). *ARPN J. Agric Biol Sci.* 5(2):1-3.
- Amusan, A.A.S., Idowu, A.B. and Arowolo, F.S. (2005). Comparative toxicity effect of bush tea leaves (*Hyptis suaveolens*) and orange peel (*Citrus sinensis*) oil extract on larvae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Tanzania Health Res Bull.*, 7:174-178.
- Barnard, D.R. and Xue, R.D. (2004). Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochierotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 41:726-730.
- Conti, B., Canale, A., Conti, P.L., Flamini, G., and Rifici, A. (2011). *Hyptis suaveolens* and *Hyptis spicigera* (Lamiaceae) essential oils: Qualitative analysis, contact toxicity and repellent activity against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Dryophthoridae). *J. Pest Sci.*, 84:219-228.
- Epino, P.B. and Chang, F. (1993). Insecticidal activity of *Annona squamosa* (L.) seed extracts against the mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedenmann) (Diptera:Tephritidae). *Philippine Entomologist*, v. 9(2):228-238.
- Govindachari, T. R., Suresh, G., Gopalakrishnan, G. and Wesley, S. D. (2000). Insect antifeedant and growth regulating activities of neem seed oil: The role of major tetranortriterpenoids. *J. Appl. Ent.* 124, 287:291.
- Isman, M.B., Koul, O., Luczynki, A., and Kamonski, J. (1990). Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. *J. Agri. Food Chem.* 38:1406-1411.
- Isman, M.B. (2005). Tropical forests as sources of natural insecticides. Chapter 6 in *Recent Advances in Phytochemistry, Volume 39. In Chemical Ecology and Phytochemistry of Forests and Forest Ecosystems*; JT Arnason, M Abou-Zaid, JT Romeo [eds.], Elsevier. 145-161.
- Kaur, J.S., Lai, Y.L., and Giger, A.D. Learning and memory in the mosquito *Aedes aegypti* shown by conditioning against oviposition deterrence. *Med. Vet. Entomol.* 17:457-460.
- Khalequzzaman, M and Sultana, S. (2006). Insecticidal activity of *Annona squamosa* L. seed extracts against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Biol-Sci.*, 14:107-112.
- Leatemia, J.A. and Isman, M.B. (2004). Insecticidal activity of crude seed extracts of *Annona* spp., *Lansium domesticum* and *Sandoricum koetjape* against Lepidopteran Larvae. *Phytoparasitica* 32(1):30-37.

- Moore, S.J., Lenglet, A. and Hill, N. (2002) Field evaluation of three plant-based insect repellents against malaria vectors in Vaca Diez Province, the Bolivian Amazon. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 18:107-110.
- Musa, A.K., Dike, M.C., and Onu, I. (2009). Evaluation of Nitta (*Hyptis suaveolens* Poit.) Seed and Leaf Extracts and Seed Powder for the Control of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) in Stored Groundnut. *American-Eurasian J. Agro.*, 2:176-179.
- Nathan, S.S., Kalaivani, K., Sehoon, K., and Murugan, K. (2006). The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Gueneée), the rice leafhopper. *Chemosphere* 62:1381–1387.
- Pathak, P.H., and Krishna, S.S. (1986). Reproductive efficiency in *Earias fabia* Stoll (Lepidoptera: Noctuidae) affected by neem oil vapour. *Appl. Entomol. Zool.* 21:347–348.
- Prijono, D., Hassan, E. (1993). Laboratory and field efficacy of neem (*Azadirachta indica* A: Juss) extracts against two broccoli pests. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 100:354–570.
- Raja, N., Jeyasankar, A., Vnkatesan, S.J., and Ignacimuthu S. (2005). Efficacy of *Hyptis suaveolens* against lepidopteran pests. *Current Sci.*, 88:220-222.
- Riba, M., Marti, J., and Sans, A. (2003). Influence of azadirachtin on development and reproduction of *Nezara viridula* L. (Het., Pentatomidae). *J. Appl. Entomol.* 127: 37–41.
- Roy, A. and Sara, S. (2006). Limonoids: Overview of Significant Bioactive Triterpenes Distributed in Plants Kingdom. *Biol Pharm. Bull.*, 29:191-201.
- Ruskin, F.R. (1992). Effects on insects. *Neem: A Tree for solving global problems*. National Academy Press, Washington, D.C. USA., pp 39-50.
- Santos dos, A.E. and Sant'Ana, A.E.G. (2001). Molluscicidal properties of some species of *Annona*. *Phytomedicine*. 8:115-120.
- Sharma, T., Qamar, A. and Khan, A.M. (2010). Evaluation of neem (*Azadirachta indica*) extracts against the eggs and adults of *Dysdercus cingulatus* (Fabricius). *World Appl. Sci. J.* 9:398-402.
- Shimizu, T. (1988). Suppressive effects of azadirachtin on spermiogenesis of the diapausing cabbage armyworm, *Mamestra brassicae*, in vitro. *Entomol. Exp. Appl.* 46: 197–199.
- Siderhurst, M.S. and Jang, E.B. (2006). Attraction of female oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, to *Terminalia catappa* fruit extracts in wind tunnel and olfactometer tests. *Formosan Entomol.* 26:45-55.
- Singh, S. and Singh, R.P. (1998). Neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts and azadirachtin as oviposition deterrents against the melon fly (*Bactrocera cucurbitae*) and oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *Phytoparasitica*. 26(3):191-197.

- Sukhirin, N., Bullangpoti, V., and Pluempanupat, W. (2009). The insecticidal studies from *Alpinia galanga* and *Cleome viscosa* extract as alternative control tool to *Bactrocera dorsalis* (Hendel). *KKU Sci. J.* 37 (Sup) 71-76.
- Tandon, P. and D+Sirohi, A. (2009). Laboratory assessment of the repellent properties of ethanolic extracts of four plants against *Raphidopalpa foveicollis* Lucas (Coleoptera: Chrysomelidar). *Int. J. Ssutain. Crop Prod* 4:1-5.
- Tanprasit, P. (2005). Biological control of dengue fever mosquitoes (*Aedes aegypti* Linn.) using leaf extracts of chan (*Hyptis suaveolens* (L.) Poit.) and hedge flower (*Lantana camara* Linn.). **Master Thesis**, Suranaree University of Technology. ISBN 974-533-548-7.
- Tripathi, A.K. and Upadhyay, S (2009) Repellency and insecticidal activities of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) leaf essential oil against four dtored-grain coleopteran pests, *Internat'l. J. Tropical Insect Sci.* 29:219-228.
- Tongon, N. and Bullangpoti, V. (2009). The insecticidal activity of *Piper nigrum* Linn, extract to oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis* Hendel) and its effect on carboxylesterase and glutathione-S-transferase. In *Proceedings of the 4th Conference on Science and Technology for Youth.* 55-64.
- <http://ipm.ait.asia>: Fruit fly life cycle. Available online at http://ipm.ait.asia/?page_id=35
- www.sci.lru.ac.th: กิตติ ต้นเมืองปัก Effect of sea holly (*Acanthus ilicifolius* Linn.) crude extract on mortality of oriental fruit fly (*Bactrocera correcta* Bezzi) in larval stage. Available online at www.sci.lru.ac.th/download/book2/2-7.pdf
- www.spc.int: Biological control against fruit flies in pacific island countries and territories. 2007. Available online at <http://www.spc.int/Pacifly/Control/Biocontrol.htm>
- รัชดาภรณ์ พิทักษ์ธรรม. (2544). ศึกษาความทนเค็ม ทนแล้ง และความเป็นพิษของต้นแมงลักคา (*Hyptis suaveolens* Linn.) ต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (*Heliothis armigera* Hubn.) ดุษฎีนิพนธ์ สาขาวิชาชีววิทยาสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ISBN 974-533-027-2.
- มนตรี จิรสรัตน์ (2553). แมลงวันผลไม้และการป้องกันกำจัด. สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย. Available online at <http://www.ezathai.org/knowledge05.html>