

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ง
สารบัญ	ช
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัยโดยย่อ	3
1.5 ประโยชน์ของการวิจัยที่คาดว่าจะได้รับ	3
เอกสารอ้างอิง	4
2 ปรัชญ่วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 คำนำ	5
2.2 แมลงวันผลไม้	8
2.3 แมลงวันทอง (oriental fruit fly – OFF)	9
2.3.1 วัฏจักรชีวิต (life cycle) ของแมลงวันทอง	10
2.3.2 การทำความเสียหาย	12
2.3.3 การควบคุมและการจัดการแมลงวันทอง	12
เอกสารอ้างอิง	14
3 พฤกษเคมีและความเป็นพิษต่อเซลล์มีชีวิต (cytotoxicity)	19
3.1 คำนำ	19
3.1.1 สะเดา Neem (<i>Azadirachta indica</i> Juss)	21
3.1.2 น้อยหน่า Custard apple (<i>Annona squamosa</i> L.)	22
3.1.3 แมงลักคา Mintweed (<i>Hyptis suaveolens</i> L., Poit)	23
3.2 วัตถุประสงค์	24

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 อุปกรณ์และวิธีการ	24
3.3.1 วัสดุและสารเคมี	24
3.3.2 แหล่งของพืชและการสกัด	24
3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Total phenolic compounds (TPC)	25
3.3.4 Antioxidant activity โดย DPPH assay	25
3.3.5 Thin layer chromatography (TLC) fingerprinting	26
3.3.6 ทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) โดย	27
Brine shrimp lethal assay (BSLA)	
3.4 ผลการทดลองและวิจารณ์	28
3.4.1 สารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds - TPC)	28
และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging - FRS)	
ของสารสกัด	
3.4.2 Thin layer chromatographic (TLC) fingerprinting	33
3.4.3 ความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารสกัด	37
3.5 สรุปผลการทดลอง	40
เอกสารอ้างอิง	42
4 การควบคุมโดยชีววิธีของไข่ ตัวอ่อน และ ตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้	47
4.1 คำนำ	47
4.1.1 การป้องกันและการจัดการแมลงวันทอง	47
4.2 วัตถุประสงค์	50
4.3 อุปกรณ์และวิธีการ	50
4.3.1 วัสดุและสารเคมี	50
4.3.2 ตัวอย่างพืชและการเตรียมสารสกัดหยาบจากพืชตัวอย่าง	50
4.3.3 การเลี้ยงแมลงวันทอง	51
4.3.4 การทดสอบฤทธิ์การไล่ (repellent test) หรือ ดึงดูด (attraction)	52
4.3.5 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อการฟักไข่ (egg hatching)	52
แมลงวันทอง	
4.3.6 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวอ่อนโดยการกิน	53
(larval feeding)	
4.3.7 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวอ่อนโดยการจุ่ม	53
(larval dipping)	

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.8 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดต่อแมลงตัวเต็มวัย (adulticide)	53
4.3.9 การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดผสมระหว่างสารสกัด 2 พืช	53
4.3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ	53
4.4 ผลการทดลองและวิจารณ์	53
4.4.1 ฤทธิ์การไล่แมลงวันทองตัวเต็มวัย (repellent effects)	53
4.4.2 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการฟักไข่แมลงวันทอง (egg hatching)	55
4.4.3 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมตัวอ่อนแมลงวันทอง	60
โดยการกิน (larval feeding)	
4.4.4 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการสัมผัสหนอนตัวอ่อนแมลงวันทอง	64
โดยการจุ่มในสารละลาย (larval dipping)	
4.4.5 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมแมลงวันทองตัวเต็มวัย	68
โดยการกิน (adult feeding)	
4.5 สรุปการทดลอง	74
เอกสารอ้างอิง	76
5 สรุปผลการทดลอง	79
5.1 คุณสมบัติทางพิษวิทยาเคมีและความเป็นพิษต่อ	79
เซลล์มีชีวิตของสารสกัดของสะเดา น้อยหน่าและ แมงลักคา	
5.1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และการกำจัดอนุมูลอิสระ	79
(total phenolic compounds and free radical scavenging)	
5.1.2 Thin layer chromatographic (TLC) fingerprinting	80
5.1.3 ความเป็นพิษ (cytotoxicity) ของสารสกัด	80
5.2 การควบคุมโดยชีววิธีของไข่ ตัวอ่อน และ ตัวเต็มวัยแมลงวันทอง	81
5.2.1 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการไล่ (repellency) แมลงวันทองตัวเต็มวัย	81
5.2.2 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการฟักไข่ (egg hatching) แมลงวันทอง	82
5.2.3 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมตัวอ่อนโดยการกิน (larval feeding)	82
5.2.4 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการสัมผัสตัวอ่อนโดยการจุ่มในสารละลาย	83
(larval dipping)	
5.2.5 ฤทธิ์ของสารสกัดต่อการควบคุมแมลงตัวเต็มวัยโดยการกิน	83
(adult feeding)	
ประวัติผู้วิจัย	85

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 Total phenolic compounds and free radical scavenging by DPPH of the water and ethanolic leaf and seed extracts of neem, custard apple and mintweed	28
3.2 Comparison R_f values and colour appearances of neem, custard apple, and mintweed extracts separated by thin layer chromatography using three mobile phase systems. System A contained ethyl acetate : methanol : water (81:11:8 (v/v/v)), System B contained n-buthanol : glacial acetic acid : water (40:10:50 (v/v/v)), and System C contained chloroform : methanol : glacial acetic acid (47.5:47.5:5 (v/v/v)). The band color was detected under $UV_{365\text{ nm}}$	36
3.3 Cytotoxicity of individual and combined extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds, determined by brine shrimp lethal assay (BSLA). Data are expressed as Mean \pm S.D. of LC_{50} (ppm) at 24 hours.	39
3.4 Summary of total phenolic compound content, free radical scavenging activity and cytotoxicity activity of the leaf extracts of neem, custard apple, and mintweed and the seed extracts of mintweed.	41
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.	55
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 $LC_{50} \pm$ S.E., n = 5.	59
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 $LC_{50} \pm$ S.E., n = 5.	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
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 $LC_{50} \pm S.E.$, n = 5. 67
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 $LC_{50} \pm S.E.$, n = 5. 71
5.1 Summary of total phenolic compound content free radical scavenging activity and cytotoxicity activity of the leaf extracts of neem, custard apple, and mintweed and the seed extracts of mintweed. 81
5.2 Summary of the insecticidal activities of the leaf extracts of neem, custard apple and mintweed and the seed extracts of mintweed on adult repellence, egg hatching, larval feeding, larval dipping, and adult feeding. The data are expressed as % repellence and the LC_{50} values of the rest effects. 84

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 Adult female (left) and male (right) oriental fruit flies <i>Bactrocera dorsalis</i> Hendel	10
2.2 The life cycle of most <i>Tephritidae</i> species is similar. The female implants its eggs in the young fruit of the host plant. The larvae or maggots develop in the flesh of untreated fruit by digging tunnels. The growth of the larvae accelerates maturation of the fruit, which detaches and falls to the ground. The larvae leave the fruit and the pupae develop in the top layer of the soil. Upon emergence, the adult soon starts looking for the nourishment it needs to reach sexual maturity, couple, and lay eggs.	11
3.1 Neem: <i>Azadirachta indica</i> A. Juss	21
3.2 Custard apple: <i>Annona squamosa</i> L.	22
3.3 Mintweed: <i>Hyptis suaveolens</i> (L.) Poit.	23
3.4 The two-chamber container with a perforate divider and light. The smaller chamber was for brine shrimp egg hatching. The larger chamber was for the nauplii, migrated toward the light.	27
3.5 Radical scavenging of crude extracts of neem leaves (panel A), custard apple leaves (panel B), mintweed leaves (panel C), and mintweed seeds (panel D).	32
3.6 Thin layer chromatographic fingerprints of neem leaf extracts and custard apple leaf extracts. A: mobile phase system composed of ethyl acetate : methanol : water at proportion of 81:11:8 (v/v/v). B: mobile phase system composed of n-buthanol : gracial acetic acid : water at proportion of 40:10:50 (v/v/v). C: mobile phase system composed of chloroform : methanol : gracial acetic acid at proportion of 47.5:47.5:5 (v/v/v)	34
3.7 Thin layer chromatographic fingerprints of mintweed leaf extracts and mintweed seed extracts. A: mobile phase system composed of ethyl acetate : methanol : water at proportion of 81:11:8 (v/v/v). B: mobile phase system composed of n-buthanol : gracial acetic acid : water at proportion of 40:10:50 (v/v/v). C: mobile phase system composed of chloroform : methanol : gracial acetic acid at proportion of 47.5:47.5:5 (v/v/v)	35

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
3.8 Cytotoxic effects of individual extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds monitored and screened by brine shrimp lethal assay (BSLA). The toxicity was expressed as 50% lethal concentration (LC_{50}) at 24 hours. N = neem, C = custard apple, M = mintweed, L = leaf, S = seed, w = water and e = ethanol. Bars were S.D. (n = 6).	37
3.9 Cytotoxic effects of extract combinations between the same extract solvent. The toxicity was by brine shrimp lethality assay and expressed as 50% lethal concentration (LC_{50}) at 24 hours. N = neem, C = custard apple, M = mintweed, L = leaf, S = seed, w = water and e = ethanol. Bars were S.D. (n = 6).	38
4.1 Life cycle of oriental fruit fly <i>Bactrocera dorsalis</i> Hendel	48
4.2 Wire-net cage for rearing adult oriental fruit flies.	51
4.3 Artificial food and a cone-shaped device made from ripe fruits or artificial food for egg laying of female adult oriental fruit flies.	51
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.	52
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 adult oriental fruit flies. A, individual extract treatments and B, combined extract treatments. Data were % Mean \pm S.E. and n = 6.	54
4.6 Anti-Egg hatching effects of individual extracts of the leaf and seed extracts of neem (NLE), custard apple (CLE) and mintweed (MLE / MSE), Oriental fruit fly eggs were treated with extracts as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	57
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 extracts as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.8 Anti-egg hatching efficacy on egg hatching of oriental fruit flies by the extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and the extracts of mintweed seeds. A, LC ₅₀ at 24 of individual extract treatments. B, LC ₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean \pm S.E. and n = 5.	59
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 extracts as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	61
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 extracts as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	62
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, LC ₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC ₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean \pm S.E. and n = 5.	63
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.	65
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.	66
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, LC ₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC ₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean \pm S.E. and n = 5.	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
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 extracts as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	69
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 extracts (1:1) as designated concentrations. Data were % Mean \pm S.E. and n = 5.	70
4.17 Adulticidal efficacy of extracts of neem, custard apple and mintweed leaves and mintweed seeds on oriental fruit flies by feeding. A, LC ₅₀ at 24 h of individual extract treatments. B, LC ₅₀ at 24 h of combined extract treatments. Data were expressed as Mean \pm S.E. and n = 5.	71