

นิพนธ์ต้นฉบับ

Original Article

การศึกษาผลเบื้องต้นของเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืช ต่อยุงลายบ้านและยุงลายสวน

A preliminary study of the effects of attractive toxic sugar baits mixed with plant extract against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*

คนพต ทองขาว¹Kanaphot Thongkhao¹กชพรรณ สุกระ¹Kotchapan Sukra¹วาสนี ศรีปลั่ง²Wasinee Sriplong²กามัล กอลาห์²Kamal Kolaeh²¹สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11¹Office of Disease Prevention and Control, Region 11

นครศรีธรรมราช

Nakhon Si Thammarat

²สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 12²Office of Disease Prevention and Control, Region 12

สงขลา

Songkhla

DOI: 10.14456/dcj.2022.68

Received: November 1, 2021 | Revised: March 14, 2022 | Accepted: March 16, 2022

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืช ในการฆ่าตัวเต็มวัยยุงลายบ้านและยุงลายสวนครั้งนี้ เป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ ใช้ยุงลายบ้านและยุงลายสวนระยะตัวเต็มวัย สายพันธุ์ท้องปฏิบัติการ เพศเมีย อายุ 2-5 วัน ทดสอบกับเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ รากหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. f.) เมล็ดน้อยหน่า (*Annona squamosa* L.) เปลือกลูกเนียง (*Archidendron jiringa* (Jack) I.C. Nielsen) และใบยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) ที่ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20% (v/v) ตามลำดับ ตรวจนับอัตราการตายที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ผลการศึกษาในยุงลายบ้าน พบว่าค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงระหว่างเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) โดยเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าตัวเต็มวัยยุงลายบ้านได้ดีที่สุด คือ เหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 10, 20% และเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราการตายร้อยละ 100 ที่ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ส่วนผลการศึกษาในยุงลายสวน พบว่า ค่าเฉลี่ยอัตราการตายของตัวเต็มวัยในยุงลายสวนระหว่างเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้น มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) เช่นกัน โดยเหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าตัวเต็มวัยยุงลายบ้านได้ดีที่สุด คือ เหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราการตายร้อยละ 100 ที่ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ทั้งนี้เหยื่อพิษน้ำตาลหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากและเปลือกลูกเนียง ที่ระดับความเข้มข้น 20% สามารถฆ่าตัวเต็มวัยยุงลายบ้านและยุงลายสวนได้ดี จึงควรมีการศึกษาพัฒนารูปแบบและสูตรผสมของเหยื่อพิษน้ำตาล

หวานผสมสารสกัดจากพืชที่เหมาะสม มีประสิทธิภาพ และหาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถฆ่ายุงลายบ้านและยุงลายสวนได้มากกว่า 90% หลังการทดสอบที่ 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปใช้กำจัดตัวเต็มวัยยุงลายบ้านและยุงลายสวนต่อไป

ติดต่อผู้พิมพ์ : คณพศ ทองขาว

อีเมล : kanaphot.t@gmail.com

Abstract

The study to determine the effects of attractive toxic sugar baits mixed with plant extract against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* under laboratory conditions was conducted. Two-to-five-day-old laboratory-reared *Aedes* mosquitoes were selected and evaluated with four plant extracts, namely *Stemona curtisii* Hook. F, *Annona squamosa* L., *Archidendron jiringa* (Jack) I.C. Nielsen, and *Nicotiana tabacum* L. at different concentrations of 1%, 5%, 10% and 20 % (v/v), respectively. The mosquito adulticidal property was assessed after 24, 48 and 72 hours of exposure. Based upon comparisons of mortality rates of *Ae. aegypti* among these attractive toxic sugar baits mixed with plant extracts after exposure, there was statistical significance at high level ($p<0.01$). The attractive toxic sugar baits mixed with *S. curtisii* extract at 10% and 20% concentration were the most effective to all *Ae. aegypti* tested and the attractive toxic sugar baits mixed with *Ar. jiringa* at 20% held death rate of 100% after 72-hour exposure. In the same manner, the mortality rate of *Ae. albopictus* displayed a statistically significant difference at high level ($p<0.01$). The attractive toxic sugar bait mixed with *S. curtisii* extract at 20% concentration was the most effective to all *Ae. albopictus* evaluated, which displayed the death rate of 100% after 72-hours exposure. In this regard, the attractive toxic sugar baits mixed with *S. curtisii* and *Ar. jiringa* extracts at 20% concentration could kill more than 90% of both *Aedes* mosquitoes. Findings from this study suggested that the appropriate form and formula of the attractive toxic sugar baits mixed with plant extracts should be further developed. Besides, the study of lethal concentration of plant extracts which provide >90% mortality rate after 24-hour exposure should be also carried out.

Correspondence: Kanaphot Thongkhao

E-mail: kanaphot.t@gmail.com

คำสำคัญ

หนอนตายหยาก, เนียง, น้อยหน่า, ยาสูบ, ยุงลายบ้าน, ยุงลายสวน, เหยื่อพิษน้ำตาล

Keywords

Stemona curtisii, *Archidendron jiringa*, *Annona squamosa*, *Nicotiana tabacum*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, Attractive toxic sugar bait (ATSB)

บทนำ

โรคติดต่อมาโดยแมลงเป็นโรคที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะโรคไข้เลือดออก พบเป็นปัญหาของเกือบทุกประเทศทั่วโลก

ทั้งในทวีปแอฟริกา เอเชีย อเมริกากลาง หมู่เกาะแคริบเบียน หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิกตอนใต้ ยุโรป และทางตอนเหนือของทวีปออสเตรเลีย โดยเกิดจากเชื้อไวรัสเดงกี (Dengue virus) ซึ่งมียุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และ

ยุงลายสวน (*Ae. albopictus*) เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออกที่สำคัญ นอกจากนี้ยังพบเป็นพาหะนำโรคไข้ปวดข้อ ยุงลาย และโรคติดเชื้อไวรัสซิกา⁽¹⁻³⁾ ในปัจจุบันการป้องกันควบคุมโรคติดต่อมาโดยแมลงวิธีที่ดีที่สุด คือ การควบคุมยุงลายพาหะนำโรคให้มีจำนวนน้อยลง ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น การทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ยุง การใช้สารเคมีกำจัดลูกน้ำ และการใช้สารเคมีกำจัดแมลงฉีดพ่นเคมีทั้งแบบหมอกควันหรือแบบฝอยละออง ทั้งนี้ การใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก ในปัจจุบัน เนื่องจากได้ผลรวดเร็ว แต่ในการฉีดพ่นสารเคมีกำจัดแมลงนั้น หากฉีดพ่นบ่อยๆ จะมีผลเป็นตัวเร่งให้ยุงลายสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลงได้รวดเร็วขึ้นและยังเพิ่มระดับความต้านทานให้สูงขึ้นอีกด้วย ซึ่งเห็นได้จากการรายงานการสร้าง ความต้านทานของยุงลายต่อสารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิดในลูกน้ำและยุงลายตัวเต็มวัยทั้งในและต่างประเทศ⁽⁴⁻¹⁰⁾ ทั้งนี้ ประเทศไทยมีการศึกษาผลกระทบการดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงในยุงมากที่สุด ในบรรดาประเทศฝั่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งพบว่าในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมา มีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงอย่างมหาศาลใน 4 ประเภท ได้แก่ ออร์กาโนคลอรีน (organochlorines) ออร์กาโนฟอสเฟต (organophosphates) ไพรีทรอยด์ (pyrethroids) และคาร์บาเมต (carbamates) ซึ่งส่งผลให้เกิดการพัฒนาสายพันธุ์ยุงที่ต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง โดยมีการศึกษาพบว่า ประชากรยุงลายในประเทศไทยดื้อต่อสารเคมีกำจัดแมลงหลายชนิด ได้แก่ เดลตาเมทริน (deltamethrin), เพอร์เมทริน (permethrin), เฟนิโทรไธโอน (fenitrothion), เทมฟอส (temephos), โพรพอกเซอร์ (propoxur), ดีดีที (DDT), ไซฟูทริน (cyfuthrin) และอัลฟา-ไซเปอร์เมทริน (alpha-cypermethrin)⁽¹¹⁾ ดังนั้นเพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ได้มีการศึกษาหาทางเลือกอื่นที่เหมาะสมมาทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งการนำสารสกัดจากพืชมาใช้ในการป้องกันกำจัดยุงพาหะนำโรคเป็นทางเลือกหนึ่งที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง ทั้งนี้หากดูจากพฤติกรรมความต้องการดูดกินน้ำหวานและเลือดในการดำรงชีวิตของยุงตัวเต็ม

วัย โดยยุงตัวเต็มวัยจะต้องบินค้นหาแหล่งน้ำหวานในสิ่งแวดล้อมบริเวณรอบๆ ที่อยู่อาศัย หากมีการจัดทำหรือวางน้ำหวานที่ใส่สารเคมีหรือสารสกัดจากพืชที่มีฤทธิ์สามารถฆ่ายุงได้ในบริเวณแหล่งเพาะพันธุ์และบริเวณเกาะพักของยุงตัวเต็มวัย ก็จะเป็นวิธีการหนึ่งที่จะใช้ในการควบคุมกำจัดยุงได้⁽¹²⁾ ปัจจุบันนี้มีการควบคุมยุงลายโดยใช้ Attractive toxic sugar baits (ATSB) โดยได้มีการพัฒนาและทดสอบอย่างกว้างขวางในหลายประเทศ วิธีการนี้ใช้หลักการตอบสนองต่อความต้องการแหล่งพลังงานจากการกินน้ำหวานจากพืชเพื่อการดำรงชีวิตของยุงทั้งเพศผู้และเพศเมีย และได้มีการศึกษาการใช้สารเคมีหลายชนิดผสมน้ำผลไม้ที่มีน้ำตาลธรรมชาติให้ยุงมาดูดกิน เช่น กรดบอริก (boric acid) สปินโนแซด (spinosad) และไพริพโรกซิเฟน (pyriproxyfen) เป็นต้น⁽¹³⁻¹⁶⁾ มีการศึกษาทั้งในห้องปฏิบัติการ กังภาคสนาม และภาคสนาม พบว่า Attractive toxic sugar baits (ATSB) สามารถฆ่าและลดจำนวนยุงลายได้ นอกจากนี้การศึกษการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมยุงลายก็มีมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ในประเทศไทยมีรายงานการศึกษาใช้สารสกัดจากพืชหลายชนิดมาใช้ควบคุมยุงลาย⁽¹⁷⁻²¹⁾ โดยเฉพาะการกำจัดยุงตัวเต็มวัย การใช้สารสกัดจากพืชผสมน้ำหวานเพื่อให้ยุงตัวเต็มวัยมาดูดกินเป็นแหล่งพลังงานแล้วสามารถทำให้ยุงตัวเต็มวัยตายได้นั้นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีกำจัดแมลงสำหรับการกำจัดยุงตัวเต็มวัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในประเทศไทยได้มีการศึกษาสารสกัดจากพืชหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการฆ่าลูกน้ำยุง เช่น กระเพราแดง ขมิ้นชัน ข่า ขี้เหล็ก หางไหล ประคำดีควาย พริกไทย โหระพา วานน้ำ สะเดา แมงลัก สะระแหน่ หนอนตายหยาก น้อยหน่า ยาสูบ⁽²²⁻²⁵⁾ ดังนั้นสารสกัดจากพืชเหล่านี้อาจจะมียูธี่ฆ่ายุงลายตัวเต็มวัยได้เช่นกัน โดยนำสารสกัดจากพืชผสมน้ำหวานเพื่อให้ยุงตัวเต็มวัยมาดูดกิน การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ของเหื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืช 4 ชนิด ได้แก่ รากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ในการฆ่าตัวเต็มวัย

ยุงลายบ้านและยุงลายสวน และเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดที่ใช้ผสมกับเหยื่อน้ำหวานที่สามารถฆ่ายุงลายบ้านและยุงลายสวนได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการศึกษา

รูปแบบการศึกษา

การศึกษครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) โดยศึกษาผลการฆ่าตัวเต็มวัยยุงลายบ้านและยุงลายสวนของเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ที่ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20% (v/v) และมีน้ำหวาน 10% เป็นชุดควบคุมเชิงลบ โดยทดสอบกับตัวเต็มวัยยุงลายบ้านและยุงลายสวนสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

วัสดุอุปกรณ์

1. การเตรียมสารสกัดจากพืช โดยนำรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ไปล้างด้วยน้ำสะอาดให้สะอาด (น้ำไหล) 2-3 ครั้ง นำไปผึ่งให้แห้ง สำหรับรากหนอนตายหยาก เปลือกเนียง และใบยาสูบ นำมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ ส่วนเมล็ดน้อยหน่านำไปบดให้แตก จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิในช่วง 35-40 องศาเซลเซียส จนแห้งดี แล้วนำพืชทั้ง 4 ชนิดมาสกัดด้วยวิธีแช่เย็น ใช้เอทานอล 70% เป็นตัวทำละลาย ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 5^\circ\text{C}$) เป็นเวลา 7 วัน นำมาเขย่า แล้วนำสารละลายสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 4 ชนิดมากรองด้วยผ้าขาวบาง และกรองด้วยกระดาษกรองอีกครั้ง จากนั้นนำสารละลายสารสกัดที่ได้จากพืชทั้ง 4 ชนิดไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) เพื่อให้ปริมาตรลดลงครึ่งหนึ่ง แล้วนำสารละลายของสารสกัดที่ได้ไปใช้ในการทดสอบต่อไป

2. การเตรียมยุงลายสำหรับการทดสอบ โดยนำไข่ยุงลายบ้านและยุงลายสวนสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์

การแพทย์ มาเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ $25 \pm 5^\circ\text{C}$ แสงสว่าง 12 : 12 (สว่าง : มืด) และความชื้นสัมพัทธ์ที่ $80 \pm 10\%$ ด้วยการนำไข่ยุงลายบ้านหรือยุงลายสวนใส่ในถาดพลาสติกขนาด $20 \times 30 \times 6$ เซนติเมตร ที่มีน้ำกรองที่ผ่านการระเหยสารคลอรีนออกแล้วใน 1 สัปดาห์ โดยใส่น้ำให้สูงประมาณครึ่งหนึ่งของถาด เมื่อไข่ฟักเป็นลูกน้ำ ให้เลี้ยงลูกน้ำด้วยอาหารเลี้ยงหม่อ่อน และเปลี่ยนน้ำในถาดพลาสติกทุกๆ 2 วัน เพื่อให้ลูกน้ำเจริญเติบโตเร็วขึ้น จนกระทั่งลูกน้ำเจริญเป็นตัวโม่ง จึงใช้หลอดดูด (dropper) ดูดตัวโม่งใส่ถ้วยพลาสติก แล้วนำถ้วยพลาสติกไปใส่ในกรงเลี้ยงยุงขนาด $30 \times 30 \times 30$ ลูกบาศก์เซนติเมตร เพื่อรอให้ลอกคราบเป็นยุงตัวเต็มวัย แล้วคัดเลือกยุงลายตัวเต็มวัย เพศเมีย อายุ 2-5 วัน ที่สมบูรณ์และแข็งแรง มีปีกและขาครบ และยังไม่กินน้ำหวาน สำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป

3. การเตรียมเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืช นำสารละลายสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบที่ได้จากการสกัดสารด้วยวิธีแช่เย็น (คิดความเข้มข้นเป็น 100%) มาผสมกับน้ำหวานสำหรับเลี้ยงยุงที่มีความเข้มข้น 10% ให้ได้ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20% (ปริมาตร/ปริมาตร) แล้วนำสำลีสัมผัสกับไม้เสียบลูกชิ้นเป็นแท่ง มีเส้นผ่านศูนย์กลางด้านหน้าตัดประมาณ 1 เซนติเมตร ชุบน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้น แล้วนำไปใส่ในขวดแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร สูง 6 เซนติเมตร ไปวางไว้ในกรงเลี้ยงยุง

วิธีการทดสอบ

1. ใช้หลอดดูดยุง (aspirator) ดูดยุงลายบ้านหรือยุงลายสวนตัวเต็มวัยที่เตรียมไว้ในกรงยุงทดสอบขนาด $15 \times 15 \times 15$ เซนติเมตร จำนวน 25 ตัวต่อกรง ใช้กรงยุงทดสอบจำนวน 4 กรงต่อการทดสอบกับเหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดในแต่ละระดับความเข้มข้น สำหรับการทดสอบจะใช้ยุงจำนวน 100 ตัวกับเหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดทั้ง 4 ชนิดในแต่ละระดับความเข้มข้น สำหรับชุดควบคุม ใช้กรงยุงทดสอบจำนวน

4 กรง ใส่ น้ำหวาน 10% ที่ไม่ผสมสารสกัดจากพืช

2. พักยุงไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อสังเกตดูความแข็งแรงของยุง หากมียุงที่ไม่สมบูรณ์ บาดเจ็บ หรือตาย ให้ดูยุงตัวใหม่ใส่ไปทดแทน

3. ใส่เหยื่อพิษน้ำหวานที่ผสมสารสกัดจากพืชในแต่ละระดับความเข้มข้นที่เตรียมไว้ในกรงยุงทดสอบ ขนาด 15 x 15 x 15 เซนติเมตร ที่เตรียมไว้ บันทึกเวลาที่เริ่มทำการทดสอบ

4. วางกรงยุงทดสอบไว้ในห้องเลี้ยงยุง ภายใต้อุณหภูมิ $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$ แสงสว่าง 12 : 12 (สว่าง : มืด) และ

ความชื้นสัมพัทธ์ที่ $80 \pm 10\%$

5. ตรวจนับจำนวนยุงที่ตาย เมื่อครบกำหนดเวลาที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงหลังการทดสอบ ตรวจนับจำนวนยุงที่ตาย แล้วบันทึกข้อมูลในแบบบันทึกผลการทดสอบ เพื่อนำมาคำนวณค่าอัตราการตาย (mortality rate)

6. ในการทดสอบ หากยุงในชุดควบคุม (control) มีอัตราการตายอยู่ระหว่าง 5–10% ในการทดสอบ ต้องทำการปรับค่าอัตราการตาย โดยใช้ Abbott's formula ดังนี้

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{อัตราการตายยุงทดสอบ} - \text{อัตราการตายยุงเปรียบเทียบ}}{100 - \text{อัตราการตายยุงเปรียบเทียบ}} \times 100$$

หากในชุดควบคุม (control) มีอัตราการตายมากกว่า 10% ต้องทำการทดสอบใหม่

การเก็บรวบรวมข้อมูล

บันทึกผลจำนวนการตายของยุงลายบ้านและยุงลายสวน ในแต่ละระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด และชุดควบคุม ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

หลังการทดสอบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

1) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ อัตราตายของยุงตัวเต็มวัย

$$\text{อัตราการตาย (\% mortality)} = \frac{\text{จำนวนยุงลายตัวเต็มวัยที่ตาย}}{\text{จำนวนยุงลายตัวเต็มวัยที่ใช้ทดสอบ}} \times 100$$

2) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเชิงวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ Analysis of Variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงลายบ้านและยุงลายสวน ระหว่างแต่ละความเข้มข้นของเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด และชุดควบคุม ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป Statistical Tool for Agricultural Research (STAR) 2.0.1

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบต่อยุงลายบ้านและยุงลายสวนในครั้งนี้ ผลการศึกษาในยุงลายบ้าน เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอัตราการตายของยุงลายบ้านระหว่างเหยื่อ

น้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้น ผลการศึกษาในยุงลายบ้าน พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) โดยหลังการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ทำยุงลายบ้านได้น้อยกว่าร้อยละ 90 แต่หลังการทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง เหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20% มีอัตราการตายเท่ากับ 98 และ 95% ตามลำดับ เหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20% มีอัตราการตายเท่ากับ 94 และ 96% ตามลำดับ และหลังการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง เหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 10, 20% และเหยื่อน้ำหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราการตายเท่ากับ 100% เท่ากัน ในขณะที่เหยื่อน้ำหวานผสมสาร

สกัดจากเปลือกเนียงระดับความเข้มข้น 10% และเหยื่อ ชัน 20% มีอัตราการตายเท่ากับ 99% เท่ากัน (ตารางที่ 1) น้ำหวานผสมสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าระดับความเข้มข้น

ตารางที่ 1 อัตราตายของยุงลายบ้านจากเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืช ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดสอบ

ชนิดสารสกัด	ระดับความเข้มข้น (% v/v)	อัตราการตาย (%) ที่ ^{1/}		
		24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
รากหนอนตายหยาก	1	5.00 ^{ef}	5.00 ^g	7.00 ^{ef}
	5	71.00 ^a	83.00 ^c	84.00 ^{bc}
	10	79.00 ^a	98.00 ^a	100.00 ^a
	20	77.00 ^a	95.00 ^{ab}	100.00 ^a
เมล็ดน้อยหน่า	1	0.00 ^f	0.00 ^g	1.00 ^f
	5	2.00 ^e	9.00 ^{fg}	19.00 ^d
	10	15.00 ^d	56.00 ^e	78.00 ^c
	20	36.00 ^c	87.00 ^{bc}	99.00 ^a
เปลือกเนียง	1	12.00 ^{de}	18.00 ^f	18.00 ^d
	5	36.00 ^c	70.00 ^d	91.00 ^{ab}
	10	46.00 ^b	94.00 ^{ab}	99.00 ^a
	20	54.00 ^b	96.00 ^{ab}	100.00 ^a
ใบยาสูบ	1	0.00 ^f	2.00 ^g	5.00 ^{ef}
	5	2.00 ^{ef}	3.00 ^g	4.00 ^{ef}
	10	2.00 ^{ef}	4.00 ^g	6.00 ^{ef}
	20	5.00 ^{ef}	8.00 ^g	12.00 ^{de}
ชุดควบคุม		0.00 ^f	0.00 ^g	0.00 ^f
<i>p</i> -value		<0.01	<0.01	<0.01

Coefficient of Variation (C.V.) = 17.02%

^{1/} อัตราตายที่มีตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย อัตราตายของยุงลายสวนระหว่างเหยื่อน้ำหวานผสม สารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ในแต่ละระดับความเข้มข้น พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) โดยหลังการทดสอบที่เวลา 24 ชั่วโมง เหยื่อ น้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ฆ่ายุงลายสวน ได้น้อยกว่าร้อยละ 90 แต่หลังการทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และรากหนอนตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราการตาย เท่ากับ 99, 95 และ 92% ตามลำดับ หลังการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสม

สารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ที่ระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราการตาย เท่ากับ 100, 99, 99 และ 97.73% ตามลำดับ เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากใบยาสูบ และเปลือกเนียงที่ระดับความเข้มข้น 10% มีอัตราการตาย เท่ากับ 98.86 และ 96% ตามลำดับ และเหยื่อพิษ น้ำหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงระดับความเข้มข้น 5% และเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอน ตายหยากที่ระดับความเข้มข้น 10% มีอัตราการตาย เท่ากับ 93% (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อัตราตายของยุงลายสวนจากเหยื่อพิษน้ำตาลผสมสารสกัดจากพืชที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง หลังการทดสอบ

ชนิดสารสกัด	ระดับความเข้มข้น (% v/v)	อัตราตาย (%) ที่ ^{1/}		
		24 ชม.	48 ชม.	72 ชม.
รากหนอนตายหยาก	1	1.00 ^e	1.00 ^g	2.00 ^g
	5	10.00 ^{de}	50.00 ^e	61.00 ^d
	10	36.00 ^c	66.00 ^{cd}	93.00 ^{abc}
	20	37.00 ^{bc}	92.00 ^a	100.00 ^a
เมล็ดน้อยหน่า	1	3.00 ^{de}	17.00 ^f	32.00 ^e
	5	40.00 ^{bc}	76.00 ^{bc}	87.00 ^{abc}
	10	49.00 ^{ab}	76.00 ^{bc}	89.00 ^{abc}
	20	61.00 ^a	99.00 ^a	99.00 ^a
เปลือกเนียง	1	5.00 ^{de}	50.00 ^e	83.00 ^{bc}
	5	12.00 ^{de}	82.00 ^{ab}	93.00 ^{abc}
	10	12.00 ^{de}	87.00 ^{ab}	96.00 ^{ab}
	20	15.00 ^d	95.00 ^a	99.00 ^a
ใบยาสูบ	1	10.00 ^{de}	12.00 ^{fg}	19.00 ^f
	5	35.23 ^c	61.37 ^{de}	81.82 ^c
	10	61.37 ^a	88.63 ^{ab}	98.86 ^a
	20	35.23 ^c	89.77 ^a	97.73 ^a
ชุดควบคุม		0.00 ^f	0.00 ^g	0.00 ^g
p-value		<0.01	<0.01	<0.01

Coefficient of Variation (C.V.) = 16.20%

^{1/}อัตราตายที่มีตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

วิจารณ์

การศึกษาเหยื่อพิษน้ำตาลผสมสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืช 4 ชนิด ได้แก่ รากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ในการฆ่า ยุงลายบ้านและยุงลายสวนระยะตัวเต็มวัยครั้งนี้ พบว่า ค่าเฉลี่ยอัตราตายของยุงลายบ้านและยุงลายสวนระหว่าง เหยื่อพิษน้ำตาลผสมสารสกัดจากพืชทั้ง 4 ชนิด ที่ระดับ ความเข้มข้น 1, 5, 10 และ 20% มีความแตกต่าง ทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) โดยเหยื่อพิษ น้ำตาลผสมสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าตัวเต็มวัย ยุงลายบ้านได้ดีที่สุด คือ เหยื่อพิษน้ำตาลผสมสารสกัด จากรากหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 10, 20% และเปลือกเนียงที่ระดับความเข้มข้น 20% มีอัตราตาย

เท่ากับ 100% ส่วนสารสกัดจากพืชที่สามารถฆ่าตัวเต็มวัย ยุงลายสวนได้ดี คือ เหยื่อพิษน้ำตาลผสมสารสกัด จากรากหนอนตายหยากระดับความเข้มข้น 20% มีอัตรา ตายเท่ากับ 100% ที่ 72 ชั่วโมง ในขณะที่เหยื่อพิษ น้ำตาลผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงระดับความเข้มข้น 10% และเมล็ดน้อยหน่าระดับความเข้มข้น 20% ทำให้ ยุงลายบ้านมีอัตราตายเท่ากับ 99% และเหยื่อพิษ น้ำตาลผสมสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าและเปลือกเนียง ที่ระดับความเข้มข้น 20% ทำให้ยุงลายสวนมีอัตราตาย เท่ากับ 99% ที่ 72 ชั่วโมง ทั้งนี้การศึกษาเหยื่อพิษน้ำ หวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียง และใบยาสูบ ในการกำจัดยุงลายระยะตัว เต็มวัยในประเทศไทยนั้น ยังไม่พบรายงานการศึกษาวิจัย

มาก่อน มีแต่การทดสอบประสิทธิภาพวัตถุที่มีพิษกำจัดแมลงบิน ประเภทเหยื่อพิษกำจัดแมลงวัน สำหรับการทดสอบกับแมลงวันบ้าน (*Musca domestica*) โดยใช้เกณฑ์การตัดสินผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทดสอบว่ามีประสิทธิภาพนั้น ต้องทำให้แมลงวันบ้านตายไม่น้อยกว่า 90% เมื่อครบเวลา 24 ชั่วโมง⁽²⁶⁾ ซึ่งจากผลการศึกษาเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เมล็ดน้อยหน่า เปลือกเนียงและใบยาสูบ ต่อยุงลายบ้านและยุงลายสวนระยะตัวเต็มวัยในครั้งนี หลังการทดสอบครบเวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชชนิดใดเลย ที่สามารถทำให้ตัวเต็มวัยของยุงลายบ้านและยุงลายสวนตายเท่ากับ 90% แต่อย่างไรก็ตามหลังการทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากและเปลือกเนียง ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20% สามารถทำให้ยุงลายบ้านตัวเต็มวัยตายได้มากกว่า 90% และหลังการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียง ที่ระดับความเข้มข้น 5% และเมล็ดน้อยหน่าที่ระดับความเข้มข้น 20% สามารถทำให้ยุงลายบ้านตายได้มากกว่า 90% ได้เช่นกัน สำหรับการทดสอบในยุงลายสวนตัวเต็มวัยหลังการทดสอบ ที่เวลา 48 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยาก เปลือกเนียงและเมล็ดน้อยหน่า ที่ระดับความเข้มข้น 20% สามารถทำให้ยุงลายสวนตายได้มากกว่า 90% และหลังการทดสอบที่เวลา 72 ชั่วโมง เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากใบยาสูบที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20% เหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากรากหนอนตายหยากและเปลือกเนียงที่ระดับความเข้มข้น 10% และเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากเปลือกเนียงที่ระดับความเข้มข้น 5% สามารถทำให้ยุงลายสวนตายได้มากกว่า 90% ซึ่งจากรายงานการศึกษาขององค์ประกอบทางเคมีในรากหนอนตายหยาก ประกอบด้วย อัลคาลอยด์ stemonine, tuberostemonine, stemonidineisostemonidine, rotinoid compound stmonacetal, stemonal และ stemonone⁽²⁷⁻²⁸⁾ อย่างไรก็ตาม Kinoshita และ Mori⁽²⁷⁾ ศึกษาพบว่า stemoamide เป็น polycyclic alkaloid ชนิดหนึ่งที่แยกได้จาก

รากพืชตระกูล Stemonaceae มีศักยภาพสูงในการฆ่าแมลงส่วนสารกลุ่ม rotinoid ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารจำพวกไอโซฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มนี้ได้แก่ deguelin, tephrosin, rotinone, taxicarol, eliptone, rotenolone, sumatrol สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง ฆ่าไร และฆ่าปลาได้ และจากการศึกษาสารโรทีนอยด์ที่มีอยู่ในพืช พบว่า deguelin และ rotinone มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงมากที่สุด สำหรับเปลือกลูกเนียงมีรายงานการแยกองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกเนียง (*Ar. jiringa*) พบว่า ได้สารบริสุทธิ์ทั้งหมด 14 สาร ประกอบไปด้วยสารในกลุ่มของไอโซฟลาโวน สเตียรอยด์ ไตรเทอปีนอยด์ และโรทีนอยด์ คือ lonchocarpusone, 4-cholesten-3-one, stigmasteryl, β -sitosterol, β -sitosterol glycoside, stigmasteryl glycoside, betulinic acid, oleanolic acid, rotenone, rotenonone, elliptone, 6a α -12a α -12a-hydroxyelliptone, deguelin และ 12 α -hydroxyrotenone⁽³⁰⁾ ซึ่งโรทีนोन (rotenone) เป็นสารประกอบเคมีประเภทไอโซฟลาโวน ใช้เป็นยาเบื่อปลา สารเคมีกำจัดแมลง และสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในวงกว้าง⁽³¹⁾ ส่วนในเมล็ดน้อยหน่ามีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ alkaloid, glycosides, steroid, anonanine, anonaine, resins และ essential oil 45% ซึ่งสารสกัดจากเมล็ดและใบน้อยหน่ามีฤทธิ์ฆ่าแมลงศัตรูพืช เช่น หนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัยของไรขาวในพริก เพลี้ยไฟ เพลี้ยอ่อน เพลี้ยจักจั่นเขียว (*Nephotettix virescens*) ไข่แมลงวันผลไม้ (Oriental Fruit Fly) ตัวงอตัวเหลือง⁽³²⁾ ในขณะที่ใบยาสูบมีองค์ประกอบทางเคมีเป็นอัลคาลอยด์นิโคติน (nicotine) C₁₀H₁₄N₂ อยู่ประมาณ 0.6 - 9% ใช้ทำเป็นยาฉีดฆ่าแมลงและเพลี้ยต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เพราะจัดเป็นสารพิษชนิดหนึ่ง⁽³²⁾ ทั้งนี้การศึกษาเหยื่อน้ำหวานพืชต่อยุงพาหะนำโรคนั้น จะพบการศึกษาเหยื่อน้ำหวานผสมกับสารเคมีเป็นส่วนใหญ่ เช่น การใช้เหยื่อพิษน้ำหวานผสม Spinosad กับยุงก้นปล่อง *Anopheles sergentii* และยุงลาย *Aedes caspius* ในโอเอซิส ทางตอนใต้ของประเทศอิสราเอล⁽¹⁵⁾ การใช้เหยื่อพิษน้ำหวานผสมกรดบอริก (Boric acid sugar baits) กับยุงลายสวน (*Aedes*

albopictus) ในชุมชนของ เมืองเซนต์ ออกัสติน รัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา⁽¹⁴⁾

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการพัฒนาเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชให้เป็นรูปแบบที่ใช้ได้ง่าย และสะดวกในการนำไปใช้กำจัดยุงลายบ้านและยุงลายสวนต่อไป โดยต้องพัฒนารูปแบบและสูตรผสมของเหยื่อพิษน้ำหวานผสมสารสกัดจากพืชให้ออกฤทธิ์ฆ่ายุงตัวเต็มวัยให้ดียิ่งขึ้นภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง อาจจะต้องศึกษาการนำไปผสมกับสารเสริมฤทธิ์ (synergist) หรือศึกษาผลของการเสริมฤทธิ์ (synergistic effect) หรือผสมกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่นๆ เพื่อศึกษาการเพิ่มฤทธิ์ (additive effect) ซึ่งเป็นแนวทางที่อาจจะสามารถเพิ่มการออกฤทธิ์ในการฆ่ายุงลายตัวเต็มวัยได้รวดเร็วขึ้นมากขึ้น และยาวนานขึ้น ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดยุงลาย เป็นที่ต้องการของผู้ใช้มากขึ้น และสามารถใช้ประโยชน์จากพืชได้มากยิ่งขึ้นต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 11 นครศรีธรรมราช ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยและอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย ขอคุณ รศ. ดร.อรัญ งามผ่องใส และ รศ. ดร.อำมร อินทรสังข์ ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะในการดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอบคุณทีมงานวิจัยและผู้ร่วมงานทุกท่านที่ร่วมกันดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Strickman D, Kittayapong P. Dengue and its vectors in Thailand: introduction to the study and seasonal distribution of *Aedes* larvae. *Am J Trop Med Hyg.* 2002;67(3):247–59.
2. Platt KB, Linthicum KJ, Myint KS, Innis BL, Lerdthusnee K, Vaughn DW. Impact of dengue

virus infection on feeding behavior of *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg.* 1997;57(2):119–25.

3. Harrington R, Fleming RA, Woiwood IP. Climate Chang Impacts on Insect Management and Conservation in Temperate Regions: can they be predicted?. *Agric For Entomol.* 2001; 3:233–40.
4. Aum-ong B, Ngampathom S, Srikaew M. Susceptibility of *Aedes aegypti* to insecticide and effect of synergist in Thailand. *Thai Journal of Public Health.* 1999;18:93–101. (in Thai)
5. Wirth MC, Georgiou GP. Selection and characterization of temephos resistance in a population of *Aedes aegypti* from Tortola, British Virgin Islands. *J Am Mosq Control Assoc.* 1999;15(3):315–20.
6. Braga IA, Lima JBP, Soares SS, Valle D. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.* 2004;99(2):199–203.
7. Macoris Mde LG, Andrighetti MTM, Takaku L, Glasser CM, Garbeloto VC, Bracco JE. Resistance of *Aedes aegypti* from the state of São Paulo, Brazil, to organophosphates insecticides. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2003;98(5):703–8.
8. Saelim V, Kankaew P, Sithiprasasna R. Temephos resistance by bottle and biochemical assays in *Aedes aegypti* in Thailand. Pattani Provincial Public Health Office, Muang District, Pattani, Thailand [Internet]. [cited 2020 Aug 11]. Available from: http://esa.confex.com/esa/2004/techprogram/paper_14849.htm

9. Chen CD, Nazni WA, Lee HL, Sofian-Azirun M. Susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* to temephos in four study sites in Kuala Lumpur City Center and Selangor State, Malaysia. *Trop Biomed.* 2005;22(2):207-16.
10. Lima EP, Paiva MH, de Araújo AP, da Silva EV, da Silva UM, de Oliveira LN, et al. Insecticide resistance in *Aedes aegypti* populations from Ceara, Brazil. *Parasit Vectors.* 2011;4(5):5.
11. Gan SJ, Leong YQ, bin Barhanuddin MFH, Wong ST, Wong SF, Mak JW, et al. Dengue fever and insecticide resistance in *Aedes* mosquitoes in Southeast Asia: a review. *Parasites Vectors.* 2021;14:315.
12. Xue RD, Kline DL, Ali A, Barnard DR. Application of boric acid baits to plant foliage for adult mosquito control. *J Am Mosq Control Assoc.* 2006;22(3):497-500.
13. Junnila A, Revay EE, Muller GC, Kravchenko V, Qualls WA, Xue RD, et al. Efficacy of attractive toxic sugar baits (ATSB) against *Aedes albopictus* with garlic oil encapsulated in beta-cyclodextrin as the active ingredient. *Acta Trop.* 2015;152:195-200.
14. Naranjo DP, Qualls WA, Muller GC, Samson DM, Roque D, Alimi T. Evaluation of boric acid sugar baits against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in tropical environments. *Parasitol Res.* 2013;112(4):1583-7.
15. Müller GC, Kravchenko VD, Schlein Y. Decline of *Anopheles sergentii* and *Aedes caspius* populations following presentation of attractive toxic (spinosad) sugar bait stations in an oasis. *J Am Mosq Control Assoc.* 2008;24(1):147-9.
16. Fulcher A, Scott JM, Qualls WA, Muller GC, Xue RD. Attractive toxic sugar baits mixed with pyriproxyfen sprayed on plants against adult and larval *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J Med Entomol.* 2014;51(4):896-9.
17. Phan-urai. Report on efficacy of *Acorus calamus* Linn. against *Aedes aegypti* larvae. *Bull Dept Med Sci.* 1977;19(4):251-2. (in Thai)
18. Phan-urai. Report on bioanalysis of *Stemona tuberosa* root. *Bull Dept Med Sci.* 1977;19(3):145-55. (in Thai)
19. Institute of Medical Sciences. Herbs for preventing medical insects. Nonthaburi: Institute of Medical Sciences; 2003. (in Thai)
20. Tawatsin A, Thavara U, Techadumrongsin Y, Kongngamsuk W, Chompoosri C, Chansang J, et al. Research report on Development of herbal products to control mosquitoes, flies and cockroaches Development of herbal products to prevent mosquitoes, flies and cockroaches. Nonthaburi: Department of Medical Science, Ministry of Public Health; 2003. (in Thai)
21. Thavara U, Tawatsin A, Srithamrat R, Purotkanon P. Herbal Plants as Insecticides to Control Medical Entomology. Nonthaburi: Institute of Public Health Science, Ministry of Public Health; 2003. (in Thai)
22. Tawatsin A, Thavara U, Techadamrongsin Y, Chompoosri J, Kong-Ngamsuk W. Ovipositional deterrence, larvicidal and repellent effects of volatile oils extracted from turmeric (*Curcuma longa* L.) and galangal minor (*Alpinia officinarum* Hance) against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae). Program and abstracts book. the Third International Congress of Vector Ecology, 16-21 September 2001, Barcelona, Spain.

23. Chokechaijaroenporn O, Boonyapraphatsara N, Kongchuensin S. Mosquito repellent activities of *Ocimum* volatile oils. *Phytomedicine*. 1994;1:135–9.
24. Zebitz CPW. Effect of some crude and azadirachtin-enriched neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts on larvae of *Aedes aegypti*. *Entomol Exp Appl*. 1984;35:11–6.
25. Nantakonpreda N, Naisaen S, Tunruean K, Poolpreasert P, Srisayam M, Phothong D, et al. Larvicidal property of wood vinegar extract of *Annona souamosas* seed against *Aedes aegypti* mosquito. *PSRU Journal of Science and Technology*. 2017;2(3):33–40. (in Thai)
26. National Institute of Health of Thailand. Efficacy of toxic substances to control flying or crawling insects, a case study of using toxic baits to control flies or cockroaches [Internet]. Nonthaburi; 2015 [cited 2018 May 16]. Available from: <http://nih.dmhc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=584> (in Thai)
27. Kinoshita A, Mori M. Total synthesis of (–) stemoamide using ruthenium catalyzed enzyme metalysis reaction. *J Org Chem*. 1996;61(24):8356–7.
28. Koyanma H, Oda K. Structural and biological investigations of the *Stemona* alkaloids. *J Chem Soc*. 1970;125:268.
29. Wongthep H. The Study of Chemical Composition and Bioactive Substances in *Archidendron jiringa* bark. Bangkok: The Thailand Research Fund; 2012. (in Thai)
30. Stijugawan S, Attanon P, Suriyant S, Boonmanop S, Kerd Siri P. Growth and Yields of *Deris elliptica* Benth. Planting at the Three Places. *Thai Agricultural Research Journal*. 2004;22(2):119–27. (in Thai)
31. Horma P, Chaimong K. *Annona squamosa* L. J Prapokklao Hosp Clin Med Educat Center. 2020;37(3):262–4. (in Thai)
32. Medthai. Tobacco, Twenty-seven properties and benefits of tobacco leaves [Internet]. [cited 2022 Nov 4]. Available from: <https://medthai.com/ยาสูบ/> (in Thai)