

โครงการวิจัยที่ 2: โครงการพัฒนาการจัดการศัตรูผลิตผลเกษตรเพื่อรักษาคุณภาพ

กิจกรรมที่ 2: การพัฒนาการผลิตชีวภัณฑ์และการนำไปใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร

ชื่อการทดลอง: การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยลูกจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียว

(Effects of *Myristica fragrans* and *Alpinia conchigera* oils against insect pests in mung bean)

หัวหน้าการทดลอง:	ดวงสมร สุทธิสุทธิ์	สังกัด	กวป.
ผู้ร่วมงาน:	รังสิมา เก่งการพานิช	สังกัด	กวป.
	ภาวินี หนูชนะภัย	สังกัด	กวป.
	พนัญญา พบสุข	สังกัด	กวป.
	ปิยรัตน์ รุจิณรงค์	สังกัด	สคว.

Abstract

Efficacy of *Myristica fragrans* and *Alpinia conchigera* oils were evaluated against *Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus chinensis* at Postharvest Technology on Field Crops Research and Development Group, Postharvest and Processing Research and Development Division during October 2011 to September 2015. Seed of *M. fragrans* and rhizomes of *A. conchigera* were extracted the essential oils. It was identified the chemical composition by GC-MS which 10 and 12 constitutes were found on *M. fragrans* and *A. conchigera* oils. The major component of *M. fragrans* and *A. conchigera* oils were sabinene and 1,8-cineole, respectively. Contact toxicity assay on filter paper of both essential oils and the LC₅₀ value of *C. maculatus* and *C. chinensis* adults when treated with *M. fragrans* oil at 72 h were 4.6 and 1.2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ while 1.7 and 2.5 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ for *A. conchigera* oil. Therefore, the *C. chinensis* adult was more susceptible to *M. fragrans* oil than *C. maculatus* adult which was more susceptible to *A. conchigera* oil than *C. chinensis*. For fumigation experiment, the LC₅₀ values of *C. maculatus* and *C. chinensis* adult at 24 h were 57.7 and 222.6 $\mu\text{L}/\text{L}$, for *M. fragrans* oil and 124.7 and 74.1 $\mu\text{L}/\text{L}$, for *A. conchigera* oil, respectively. Then, *C. maculatus* adult was more susceptible to *M. fragrans* oil than *C. chinensis* and the *C. chinensis* adult was more susceptible to *A. conchigera* oil than *C. maculatus* adult by fumigation toxicity. Furthermore, the number of laid egg and adult progeny production of *C. maculatus* and *C. chinensis* were inhibited by treated with *M. fragrans* and *A. conchigera* oils at 10 and 8% under laboratory condition. In additions, the efficacies of both essential oils were conducted for 6 months at warehouse of Lopburi Agricultural Research and Development Center. The results showed that insect pests and natural enemies were more found in the mung bean treated with *M. fragrans* oil than *A. conchigera* oil and *C. maculatus* was the major pest.

Keywords: *Callosobruchus maculatus*, *Callosobruchus chinensis*, *Myristica fragrans*, *Alpinia conchigera*, essential oils

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง ได้ทำการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการของกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างตุลาคม 2554 ถึงกันยายน 2558 โดยนำเมล็ดจันทน์เทศและเหง้าของข่าลิงมาสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในการทดสอบ และน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดได้ถูกวิเคราะห์สารสำคัญโดยใช้เครื่อง GC-MS จากการวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่าลิง พบสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมี 10 ชนิด โดยมี sabinene เป็นสารสำคัญ และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมี 12 ชนิด และมี 1,8-cineole เป็นสารสำคัญ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศในการเป็นสารสัมผัสต่อตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง พบค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 4.6 และ 1.2 มคก./ตร. ซม. และการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการเป็นสารสัมผัสต่อตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง พบค่า LC_{50} ที่ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 1.7 และ 2.5 มคก./ตร. ซม. ดังนั้นตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเหลืองมีความอ่อนแอต่อน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมากกว่าตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว และด้วงถั่วเขียวมีความอ่อนแอต่อน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมากกว่าด้วงถั่วเหลือง เมื่อทดสอบการเป็นสารรมของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศในการเป็นสารรมต่อตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองมีค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 57.7 และ 222.6 มคก./ล. และ ค่า LC_{50} ที่ 24 ชั่วโมง ของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการเป็นสารรมต่อตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง เท่ากับ 124.7 และ 74.1 มคก./ล. ตามลำดับ ดังนั้นเมื่อทดสอบการเป็นสารรมของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด พบว่าด้วงถั่วเขียวมีความอ่อนแอต่อน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมากกว่าด้วงถั่วเหลืองและด้วงถั่วเหลืองมีความอ่อนแอต่อน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมากกว่าด้วงถั่วเขียว และเมื่อทดสอบน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อการวางไข่และการเกิดเป็นตัวเต็มวัยรุ่นลูกของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองพบว่า น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้น 10 และ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถป้องกันการวางไข่และการเกิดเป็นตัวเต็มวัยรุ่นลูกของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดีในสภาพห้องปฏิบัติการ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดในสภาพโรงเก็บ เป็นระยะเวลา 6 เดือน ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร จังหวัดลพบุรี พบว่ามีแมลงศัตรูถั่วเขียวและแมลงศัตรูธรรมชาติในเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด โดยด้วงถั่วเขียวเป็นแมลงที่พบได้มากที่สุด และพบว่าด้วงถั่วเขียวเข้าทำลายในเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยข่าลิง

คำสำคัญ: ตัวงั่วเขียว ตัวงั่วเหลือง จันทน์เทศ ข่าลิง น้ำมันหอมระเหย

คำนำ

ถั่วเขียวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในอาหารมังสวิรัต ในเขตเอเชียและแอฟริกา (Staton และคณะ 1966) โดยถั่วเขียวสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งคุณภาพและ ปริมาณระหว่างการเก็บรักษาจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูหลังการเก็บเกี่ยว โดยความเสียหายที่เกิดจาก แมลงศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวประมาณ 5-10% ในเขตอบอุ่นและ 20-30 % ในเขตร้อน (Nakakita, 1998) Caswell (1981) ได้กล่าวว่า ถั่วเขียวที่เก็บเป็นเวลา 3 ถึง 4 เดือน จะมีความสูญเสียประมาณ 50% โดยเกิด จากการทำลายของ ตัวงั่วเขียว *Callosobruchus maculatus* (F.) และตัวงั่วเหลือง *Callosobruchus chinensis* (L.) ซึ่งเป็นแมลงชนิดแรกที่ทำลายเมล็ดถั่วที่เก็บรักษาและสามารถพบแมลงทั้ง 2 ชนิดนี้ แพร่กระจายทั่วไปในประเทศไทย (พรทิพย์และคณะ, 2547) การควบคุมแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรโดยทั่วไป นิยมใช้สารเคมี โดยปัจจุบันสารเคมีที่มี 2 ชนิด คือสารเคมีทิลโบรไมด์ (Methyl bromide) และ ฟอสฟีน (Phosphine) แต่จากการรายงานพบว่า แมลงเริ่มสร้างความต้านทานต่อสารเคมีฟอสฟีนและสารเคมีทิลโบรไมด์ มีผลไปทำลายโอโซน (ozone) จึงมีผลบังคับให้มีการยกเลิกการใช้สารเคมีชนิดนี้ในปี 2005 สำหรับประเทศที่มี การพัฒนาแล้วและประเทศที่กำลังพัฒนามีการยกเลิกใช้ ปี 2015 (TEAP, 2000) นอกจากนี้พบว่าแมลงศัตรู ผลิตผลเกษตรหลายชนิดสร้างความต้านทานสารเคมีฟอสฟีนจนกลายเป็นปัญหาที่สามารถพบได้ทั่วไป (Bell และ Wilson, 1995) ซึ่งสิ่งเหล่านี้เป็นสิ่งที่น่ากังวลอย่างยิ่งที่จะไม่สามารถใช้สารเคมีทั้ง 2 ชนิดนี้ในการป้องกัน กำจัดแมลงศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวได้ ดังนั้นการใช้ น้ำมันหอมระเหยจากพืชจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถ นำมาป้องกันกำจัดแมลงได้ ซึ่ง น้ำมันหอมระเหยสามารถสกัดได้จากส่วนต่างๆ ของพืช เช่น ใบ เมล็ด ผล และ เปลือก เป็นต้น (Bakkali และคณะ, 2008) โดย น้ำมันหอมระเหยนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่พืชผลิตขึ้นมา ออกมไปด้วยสารกลุ่มโมโนเทอร์เพน (monoterpenes) ที่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ ระเหยเร็วและมีความเป็น พิษต่อแมลง นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย ยับยั้งเชื้อรา ยับยั้งไวรัสได้ โดยที่ น้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิดจะมีสารสำคัญที่แตกต่างกันไปโดยชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่ พบจะขึ้นอยู่กับแหล่งที่ปลูก ฤดูกาล สภาพแวดล้อม วิธีการการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัด และส่วนของพืชที่ใช้ สกัด สิ่งเหล่านี้ทำให้ได้สารสำคัญที่แตกต่างกัน (Lee และคณะ, 2001)

น้ำมันหอมระเหยมีบทบาทสำคัญต่อแมลงเพราะเป็นแหล่งที่สำคัญขององค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactivity chemical) น้ำมันหอมระเหยสามารถทำให้แมลงตายได้โดยไปยับยั้งสารสื่อประสาท (acetylcholinesterase) ในระบบประสาทของแมลง (Houghton และคณะ, 2006) โดยน้ำมันหอมระเหยสามารถนำมาใช้ป้องกันกำจัดแมลงศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวได้หลายรูปแบบ เช่น สารฆ่าแมลง (insecticide), สารไล่แมลง (repellent), สารล่อแมลง (attractant), สารยับยั้งการกิน (antifeedant) และสารรม (fumigant) (Shaaya และคณะ, 1997)

จันทน์เทศ (Nutmeg; *Myristica fragrans* Houtt., Myristicaceae) มีสารสำคัญคือ Sabinene, α -Pinene, Bicyclo(3.1.1) heptanes-beta-Mycrene เป็นพืชที่สามารถพบได้ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย โดย Huang และคณะ, 1997 พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากลูกจันทน์เทศสามารถนำมาใช้ป้องกันเมล็ดพันธุ์โดยมีฤทธิ์ในการสัมผัส, สารรม, สารยับยั้งการกิน ต่อด้วงงวงข้าวโพด และมอดแป้ง

ข่าลิง (Lesser alpinia; *Alpinia concigera* Griff., Zingiberaceae) ข่าลิงเป็นพืชล้มลุก และมีเหง้าสามารถพบได้ในเขตภาคใต้ของประเทศไทย โดยเหง้าของข่าลิงมีประโยชน์ทางยาหลากหลายด้านทั้งแก้ปวดและเป็นยารักษาแผล สารสำคัญที่สามารถพบได้ในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเหง้าข่าลิง คือ 1,8- Cineole และ β -Pinene โดยน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ได้มีผลในการเป็น สารรม สารไล่ สารสัมผัสในด้วงงวงข้าวโพด และมอดแป้ง (Suthisut และคณะ, 2011 a, b) ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ต้องการทราบถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อการป้องกันกำจัดด้วงข้าวและด้วงกล้วย

วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์
1. เมล็ดข้าวโพดพันธุ์กำแพงแสน 2
 2. น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิง
 3. อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ เครื่องแก้ว กระดาษกรอง ฯลฯ
 4. กระสอบปอ
 5. เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer)

1. การเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงศัตรูข้าวและ การสกัดน้ำมันหอมระเหย

ทำการเลี้ยงขยายพันธุ์ตัวเต็มวัยของด้วงข้าวและด้วงกล้วย โดยใช้เมล็ดข้าวโพดเป็นแหล่งอาหาร นำเมล็ดข้าวโพดมาล้างด้วยน้ำเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มียาฆ่าแมลงหลงเหลืออยู่ ผึ่งให้แห้งและนำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เพื่อฆ่าแมลงที่มีการปนเปื้อนภายในเมล็ดข้าวโพด ทำการเก็บเมล็ดข้าวโพดที่อุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเมื่อต้องการทำการทดลองจะนำออกมาใช้

เก็บผลของจันทน์เทศจาก ต. ถ้ำน้ำพุต อ. เมือง จ. พังงาและเหง้าข่าลิงจาก อ. ท่าศาลา จ. นครศรีธรรมราช โดยนำผลจันทน์เทศมาแกะเอาเมล็ดเพื่อนำเอาเมล็ดด้านใน (Figure 1 a) และเหง้าข่าลิงจะถูกนำมาล้างให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เพื่อนำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย (Figure 1 b) โดยนำชิ้นส่วนพืช

ดังกล่าวจำนวน 1 กิโลกรัม และเติมน้ำบริสุทธิ์ จำนวน 3000 มิลลิลิตร ลงในเครื่องสกัดน้ำมัน Cleverger-type apparatus ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยเป็นเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการเติม anhydrous sodium sulphate ลงในน้ำมันหอมระเหยที่ได้เพื่อใช้ดึงน้ำออกจากน้ำมันหอมระเหย น้ำมันหอมระเหยจะถูกเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 8-10 °C เพื่อใช้ในการทดลอง สำหรับตัวอย่างพรรณไม้ (voucher specimens) ทั้ง 2 ชนิด คือ จันทน์เทศ (อ้างอิงงานวิจัย BK 066102) และ ข่าลิง (อ้างอิงงานวิจัย BK 64163) ถูกเก็บรักษาไว้ที่พิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร



Figure 1. a) seed of *Myristica fragrans* b) rhizome of *Alpinia conchigera*

ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบหรือสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดด้วยเครื่อง GC-MS (Agilent model 6890N (GC) and 5973 (MS)) ของห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด โดยใช้คอลัมน์เคปิลลารี (column capillary) ชนิด DB-5MS เส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 0.25 เมตร ยาว 30 เมตร และความหนาของฟิล์ม 0.25 ไมโครเมตร อุณหภูมิเริ่มต้นตั้งไว้ที่ 75 องศาเซลเซียส และเพิ่มทุก 2 องศาเซลเซียส/นาที จนกระทั่งได้ 100 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเพิ่มทุก 3 องศาเซลเซียส/นาทีจนได้ 120 องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 10 นาที และเพิ่ม 2 องศาเซลเซียส/นาทีจนได้ 134 องศาเซลเซียส และเพิ่ม 5 องศาเซลเซียส/นาที จนได้อุณหภูมิสุดท้ายคือ 240 องศาเซลเซียส และคงที่อุณหภูมินี้ 15 นาที

ส่วนตัวฉีดสารตัวอย่าง (injector) และตัวตรวจวัด (detector) ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 280 องศาเซลเซียส และใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นตัวพา (carrier gas) อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที ในระบบ spit less ชนิดของสารระเหยจะถูกเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลที่มีอยู่ใน MS (mass spectrum)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของผลจันทน์เทศและเหง้าข่าลิงในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงในการเป็นการสัมผัสบนกระดาษกรอง (contact toxicity on filter paper)

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยของจันทน์เทศ และ ข่าลิงที่มีฤทธิ์ในการเป็นสารสัมผัสต่อตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง ทำการละลายน้ำมันหอมระเหยในเอทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 2, 4, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (เท่ากับ 1.27, 2.54, 5.08 และ 6.36 มล./ตร.ซม.หรือไมโครลิตรต่อตารางเซนติเมตร) นำน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 500 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร สำหรับกรรมวิธีควบคุม (control) หยดเอทานอล 500 ไมโครลิตรเพียงอย่างเดียวปล่อยให้กระดาษแห้งประมาณ 2 นาที แล้วนำกระดาษกรองแต่ละแผ่นวางลงในด้านล่างของจานแก้ว จากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยที่มีอายุ 0-24 ชั่วโมง ลงบนกระดาษกรองในจานแก้วแล้วปิดฝา (กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ/ ซ้ำละ 20 ตัว) หลังจากนั้นทำการบันทึกจำนวนแมลงที่ตายและแมลงที่มีชีวิตหลังจากการทดสอบที่ 24 และ 72 ชั่วโมง

2.2 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงในการเป็นสารรม (fumigation toxicity)

นำน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงในปริมาณที่ต่างกันคือ 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 มล. (เท่ากับ 0, 15, 30, 60, 121, 181, 242 และ 303 มล./ล.หรือไมโครลิตรต่อลิตร) มาทดสอบกับตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลือง โดยทำการนับตัวเต็มวัยแต่ละชนิด (กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 20 ตัว) ใส่ลงในขวดแก้วแต่ละใบและหยดน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดบนกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตรตามปริมาณที่กำหนด และทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นใส่กระดาษกรองที่ฝาขวดด้านในแล้วปิดฝาขวดให้สนิทพร้อมกับปิดผนึกด้วยพาราฟิล์ม ทำการบันทึกจำนวนแมลงที่ตายและแมลงที่มีชีวิตหลังจากการทดสอบ 24 และ 48 ชั่วโมง

2.3 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงต่อการวางไข่และการเกิดของแมลงศัตรูถั่วเขียว

ทำการละลายน้ำมันหอมระเหยในเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 200 ไมโครลิตร นำน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดมาผสมกับเมล็ดถั่วเขียว 150 เมล็ด (10 กรัม) ใส่เมล็ดถั่วเขียวงลงในขวดพลาสติกและเขย่าขวดพลาสติกเพื่อให้ น้ำมันหอมระเหยมีการกระจายอย่างทั่วถึง ปล่อยให้เอทานอลระเหยเป็นเวลา 15 นาที Control มี 2 ชุดที่ใช้คือ เอทานอล 200 ไมโครลิตร (Solvent control) และ Control ที่ใส่เฉพาะเมล็ดถั่วเขียว นำตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองที่มีอายุ 0-24 ชั่วโมง ที่ยังไม่ได้ผสมพันธุ์ (เพศผู้ : เพศเมีย อย่างละ 5 ตัว) ใส่ลงไปในช่วงที่มีเมล็ดถั่ว เพื่อให้ตัวเต็มวัยผสมพันธุ์ และวางไข่ หลังจากนั้น 48 ชั่วโมง นำตัวเต็มวัยออก ทำการจดบันทึกจำนวนการตายของแมลงแต่ละชนิด และทำการจดบันทึกจำนวนไข่ของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองที่พบบนเมล็ด หลังจากทำการทดลอง 72 ชั่วโมง หลังจากการทดลอง 1 เดือนทำการนับจำนวนตัวเต็มวัยรุ่นลูกที่เกิดใหม่

3. ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อแมลงศัตรูถั่วเขียวในสภาพโรงเก็บ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อการป้องกันและการเข้าทำลายของแมลงในสภาพโรงเก็บโดยได้ทำการทดสอบที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรจังหวัดลพบุรี ทำการวางแผนแบบ RCB มี 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ โดยทำการคลุกน้ำมันหอมระเหยแต่ละชนิดในเมล็ดถั่วเขียว จำนวน 2500 กรัม ที่ระดับความเข้มข้น 15% 30% และ 45% โดยมีกรรมวิธีควบคุม 2 กรรมวิธีคือ เมล็ดถั่วเขียวที่ไม่ได้คลุกสาร และ เมล็ดถั่วเขียวที่ทำการคลุกด้วยเอทานอล ทำการแบ่งถั่วเขียวที่คลุกน้ำมันหอมระเหยแล้ว จำนวน 150 กรัม และบรรจุลงในกระสอบปอ ขนาด 20x15 เซนติเมตร และนำกระสอบดังกล่าวไปวางในโรงเก็บ ทำการสูมทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 6 เดือน และทำการเช็คชนิดและจำนวนแมลงที่เข้าทำลายถั่วเขียวในแต่ละกรรมวิธี

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดลองหากมีอัตราการตายในกรรมวิธีควบคุม มากกว่า 5-10 เปอร์เซ็นต์จะต้องนำข้อมูลชุดนั้นมาหาเปอร์เซ็นต์การตายปรับเทียบโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) ก่อนที่ข้อมูลจะถูกวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี จะถูกเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับ $p < 0.05$ สำหรับค่า LC_{50} และ LC_{90} จะถูกคำนวณโดยใช้โปรแกรม POLO-PLUS เวอร์ชัน 2.0 (LeOra Software, Petaluma, CA, USA)

เวลาและสถานที่ ตุลาคม 2554-กันยายน 2558 ที่กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร และที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรลพบุรี กรมวิชาการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิง

สารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศ ที่ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-MS พบสารสำคัญทั้งหมด 10 ชนิด โดยสาร sabinene, α -pinene และ Bicyclo (3.1.10)heptane, 6,6-dimethyl-1-2methylene เป็นสารสำคัญที่พบมากที่สุด คือมี 38.74, 12.84 และ 10.21 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) ในขณะที่ Muchtaridi และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาสารสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย พบสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศทั้งหมด 32 ชนิด โดยมี sabinene (21.38), 4-terpineol (13.92) และ myristicin (13.57) เป็นสารสำคัญ สำหรับสารสำคัญที่พบในน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมี 12 ชนิดโดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ 1,8-cineole, β -pinene และ β -sesquiphellandrene (34.84, 14.77 และ 10.46 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ (Table 2) โดย Suthisit และคณะ (2011) ได้ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยข่าลิงจากแหล่งเดียวกันกับการทดลองครั้งนี้ พบมีสารสำคัญที่พบ 15 ชนิด โดยมี 1,8-cineole เป็นสารสำคัญที่พบมากที่สุดเช่นกัน

2. การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ดของผลจันทน์เทศและเหง้าข่าลิงในห้องปฏิบัติการ

2.1 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงในการเป็นการสัมผัสบนกระดาษกรอง (contact toxicity on filter paper)

จากการทดลองการเป็นสารสัมผัสของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศต่อดังแก้วเขียวและดั่งแก้วเหลือง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ความเข้มข้น 2, 4, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ดั่งแก้วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 2, 64.3 และ 77.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ดั่งแก้วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 75.5, 95.7, 97.9 และ 100 เปอร์เซ็นต์หลังการทดลอง 72 ชั่วโมง โดยค่า LC_{50} ที่คำนวณได้พบว่า ค่า LC_{50} ของดั่งแก้วเขียวมีค่าเท่ากับ 4.6 มคล./ตร.ซม. และดั่งแก้วเหลืองมีค่าเท่ากับ 1.2 มคล./ตร.ซม. (Table 3) จากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้ทำให้ทราบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมีประสิทธิภาพในการกำจัดดั่งแก้วเหลืองได้ดีกว่าดั่งแก้วเขียว การทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Adedire (2001) ที่ได้นำเอาเมล็ดของจันทน์เทศมาบดเป็นผงและนำเอาเมล็ดของจันทน์เทศมาสกัดน้ำมันหอมระเหย เพื่อนำมาทดสอบกับดั่งแก้วเขียว จากการทดสอบพบว่า ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ผงของเมล็ดจันทน์เทศ ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดดั่งแก้วเขียว ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศทำให้ดั่งแก้วเขียวตาย 60 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลอง 72 ชั่วโมง

ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อดั่งแก้วเขียวและดั่งแก้วเหลืองพบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้น 2, 4, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ดั่งแก้วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 20.2, 91.5, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับดั่งแก้วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 4.9.3, 96.5 และ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลอง 72 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้พบว่า ค่า LC_{50} ของดั่งแก้วเขียวมีค่าเท่ากับ 1.7 มคล./ตร.ซม. และดั่งแก้วเหลืองมีค่าเท่ากับ 2.5 มคล./ตร.ซม. (Table 3) จากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้ทำให้ทราบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีประสิทธิภาพในการกำจัดดั่งแก้วเขียวได้ดีกว่าดั่งแก้วเหลือง

Suthisut และคณะ (2011b) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการเป็นสารสัมผัสโดยใช้เครื่อง micro applicator หยดน้ำมันหอมระเหยข่าลิงลงบนหลังของดั่งวงวงข้าวโพดและมอดแปงหลังจากการทดลอง 7 วันพบว่ามีค่า LD_{50} เท่ากับ 24 และ 45 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ

2.2 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและจันทน์เทศในการเป็นสารรม (fumigation toxicity)

จากการทดลองการเป็นสารรมของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศต่อดั่งแก้วเขียวและดั่งแก้วเหลืองพบว่า น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ปริมาณ 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 มคล. ดั่งแก้วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 10, 10, 38.9, 85.6, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ดั่งแก้วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 0, 0.4, 0, 0, 55.7, 85.9 และ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลอง 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้พบว่า ค่า LC_{50} ของดั่งแก้วเขียวมีค่าเท่ากับ 57.7 มคล./ล. และดั่งแก้วเหลืองมีค่าเท่ากับ 222.6 มคล./ล. (Table 4) จากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้ทำให้ทราบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมีประสิทธิภาพในการกำจัดดั่งแก้วเขียวได้ดีกว่าดั่งแก้วเหลือง

สำหรับน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อดังกล่าวเขียวและดั่งถั่วเหลืองพบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ปริมาณ 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 มคล. ดั่งถั่วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 0, 3.9, 0.6, 37.8, 73.5, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ดั่งถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 2.3, 0.4, 13.4, 99.0, 100, 100 และ 100 เปอร์เซ็นต์ หลังการทดลอง 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาจากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้พบว่า ค่า LC_{50} ของ ดั่งถั่วเขียวมีค่าเท่ากับ 124.7 มคล./ล. และดั่งถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 74.1 มคล./ล.(Table 4) จากค่า LC_{50} ที่คำนวณได้ทำให้ทราบว่าน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีประสิทธิภาพในการกำจัดดั่งถั่วเหลืองได้ดีกว่าดั่งถั่วเขียว

Suthisit และคณะ (2011a) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการเป็น สารรมต่อดั่งถั่ววงข้าวโพดและมอดแป้ง (ทั้งในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) พบว่าตัวเต็มวัยของดั่ง ถั่ววงข้าวโพดและมอดแป้งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 85 และ 73 มคล./ล. ตามลำดับและนอกจากนี้พบว่าระยะไข่และ ระยะดักแด้เป็นระยะที่ทนทานต่อน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมากที่สุด และในตัวเต็มวัยเพศเมียของมอดแป้งจะ ทนทานต่อน้ำมันหอมระเหยข่าลิงมากกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้

2.3 ทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและข่าลิงต่อการวางไข่และการเกิดของ แมลงศัตรูถั่วเขียว

จากการทดลองโดยการคลุกเมล็ดถั่วเขียวกับน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ความเข้มข้น 2, 4, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ แล้วปล่อยตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียลงไปในเมล็ดที่คลุกน้ำมันหอมระเหยแล้ว จากการ ทดลองพบว่าดั่งถั่วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 0, 55.0 และ 87.5 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนไข่ที่พบบน เมล็ดถั่วเขียวคือ 148.5, 149.0, 31.5 และ 3.0 ฟอง โดยตัวเต็มวัยใหม่ที่เกิดใหม่เท่ากับ 115.3, 75.0, 4.0 และ 0 ตัว ตามลำดับ (Table 5)

สำหรับประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศต่อดั่งถั่วเหลือง พบว่าดั่งถั่วเหลืองมี เปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 0, 17.5 และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนไข่ที่พบคือ 131.5, 128.5, 67.3 และ 2.3 ฟอง โดยตัวเต็มวัยใหม่ที่พบเท่ากับ 45.5, 13.8, 0 และ 0 ตัว (Table 5) จากข้อมูลที่ได้พบว่าที่น้ำมันหอม ระเหยจันทน์เทศที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์จะสามารถกำจัดตัวเต็มวัยของดั่งถั่วเขียวและดั่งถั่วเหลือง พร้อมกับควบคุมตัวเต็มวัยรุ่นลูกที่เกิดมาใหม่ได้อย่างดีเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อดั่งถั่วเขียวพบว่าดั่งถั่วเขียวมีเปอร์เซ็นต์การ ตายเท่ากับ 0, 2.5, 90.0 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนไข่ที่พบคือ 68.0, 24.8, 4.8 และ 5.3 ฟอง โดยตัว เต็มวัยใหม่ที่พบเท่ากับ 50.8, 15.0, 0 และ 0 ตัว (Table 5) ในขณะที่ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยข่า ลิงต่อดั่งถั่วเหลือง พบว่าดั่งถั่วเหลืองมีเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 0, 30.0, 95.5 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และ จำนวนไข่ที่พบคือ 149.5, 59.8, 9.5 และ 10.0 ฟอง โดยตัวเต็มวัยใหม่ที่พบเท่ากับ 134.8, 29.3, 0 และ 0 ตัว (Table 5) จากข้อมูลที่ได้พบว่าที่น้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์จะสามารถกำจัดตัว เต็มวัยของดั่งถั่วเขียวและดั่งถั่วเหลืองพร้อมกับควบคุมตัวเต็มวัยรุ่นลูกที่เกิดมาใหม่ได้อย่างดีเมื่อ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ

การทดลองครั้งนี้มีความแตกต่างจาก Adedire (2001) ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์สามารถยับยั้งการวางไข่และจำนวนของตัวง่าเขียวระยะตัวเต็มวัยที่เกิดใหม่ได้ทั้งหมด แต่ผงจันทน์เทศยับยั้งได้เพียง 68 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การทดลองครั้งนี้ต้องใช้น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ในการป้องกันการวางไข่และควบคุมจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดใหม่

3. ทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงต่อแมลงศัตรูถั่วเขียวในสภาพโรงเก็บ

จากผลการทดลองพบมีแมลงที่เข้าทำลายถั่วเขียวหลายชนิด และแมลงแต่ละชนิดสามารถเข้าทำลายถั่วเขียวที่ปลูกน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงไม่แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธี โดยขณะที่ถั่วเขียวที่ปลูกน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศ จะพบศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวที่เข้าทำลายถั่วเขียว 9 ชนิด คือ ตัวง่าเขียว, ตัวงวงข้าวโพด, มอดหัวป้อม, มอดแป้ง, เหาหนังสือ, มอดยาสูบ, ตัวง่าเหลือง, ฝีเสื้อข้าวโพด, และตัวดำ โดยมีเปอร์เซ็นต์ที่พบเฉลี่ย 1777.0, 15.75, 8.25, 6.8, 6.5, 3.8, 2.8, 1.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 3 ชนิดด้วยกันคือ มวน *Xylocoris flavipes*, แตนเบียนดั่ง *Theocolax elegans* และแตนเบียน *Proconura* sp. โดยมีเปอร์เซ็นต์ที่พบเฉลี่ย 25.3, 65.5 และ 0.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในขณะที่ถั่วเขียวที่ปลูกน้ำมันหอมระเหยข่าลิง จะพบศัตรูหลังการเก็บเกี่ยวที่เข้าทำลายถั่วเขียว 12 ชนิด คือ ตัวง่าเขียว, เหาหนังสือ, มอดยาสูบ, ตัวงวงข้าวโพด, ฝีเสื้อข้าวโพด, มอดแป้ง, มอดหัวป้อม, มอดฟันเลื่อย, ตัวดำ, มอดหนวดยาว, ตัวง่าเหลือง และ ตัว *Latheticus oryzae* โดยมีเปอร์เซ็นต์ที่พบเฉลี่ย 883.8, 44.3, 24.3, 9.8, 7.3, 2.8, 2.3, 1.3, 0.5, 0.5, 0.5 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ และพบแมลงศัตรูธรรมชาติ 4 ชนิดด้วยกันคือ มวน *Xylocoris flavipes*, แตนเบียน *Proconura* sp., แตนเบียนมอด *Anisopteromalus calandrae* และแตนเบียนดั่ง *Theocolax elegans* โดยมีเปอร์เซ็นต์ที่พบเฉลี่ย 46.3, 33.5, 4.5 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่า ตัวง่าเขียวเข้าทำลายเมล็ดถั่วเขียวที่ปลูกน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ ตั้งแต่ เดือนที่ 1 และที่ความเข้มข้น 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบตัวง่าเขียวเข้าทำลายตั้งแต่เดือนที่ 2 และในแต่ละเดือนจะพบจำนวนของตัวง่าเขียวเป็นจำนวนมาก (Figure 2, 3) ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวแตกต่างจาก Adedire (2001) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศสามารถป้องกันตัวง่าเขียวได้นานถึง 3 เดือน ในสภาพโรงเก็บ ขณะที่เมล็ดถั่วเขียวที่ปลูกน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้นต่างๆพบตัวง่าเขียวจำนวนไม่มากในเดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 5 แต่จะพบตัวง่าเขียวเป็นจำนวนมากในเดือนที่ 6 หลังจากปลูกเมล็ดด้วยน้ำมันหอมระเหยข่าลิง (Figure 3) จากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้น 15, 30 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพโรงเก็บไม่สามารถป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียวได้ แต่มีแนวโน้มว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยข่าลิงจะสามารถป้องกันตัวง่าเขียวซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญของถั่วเขียวได้ดีกว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศ

สรุปผลทดลองและคำแนะนำ

สารสำคัญที่พบปริมาณมากที่สุดในน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงคือ sabinene และ 1,8-cineole สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงในการเป็นสารสัมผัสพบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเหลือง ($LC_{50}=1.2$ มคล./ตร.ซม.) ได้ดีกว่าด้วงถั่วเขียว ($LC_{50}=4.6$ มคล./ตร.ซม.) แต่น้ำมันหอมระเหยข่าลิงสามารถกำจัดด้วงถั่วเขียว ($LC_{50}=1.7$ มคล./ตร.ซม.) ได้ดีกว่าด้วงถั่วเหลือง ($LC_{50}=2.5$ มคล./ตร.ซม.) หลังการทดสอบ 72 ชั่วโมง ในการทดสอบการเป็นสารรมพบว่าน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศ สามารถกำจัดด้วงถั่วเขียว ($LC_{50}=57.7$ มคล./ล.) ได้ดีกว่าด้วงถั่วเหลือง ($LC_{50}=222.6$ มคล./ล.) แต่น้ำมันหอมระเหยข่าลิงมีประสิทธิภาพในการกำจัดด้วงถั่วเหลือง ($LC_{50}=74.1$ มคล./ล.) ได้ดีกว่าด้วงถั่วเขียว ($LC_{50}=124.7$ มคล./ล.) หลังการทดสอบ 48 ชั่วโมง และน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศและน้ำมันหอมระเหยข่าลิงที่ความเข้มข้น 10 และ 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถป้องกันการวางไข่และการเกิดเป็นตัวเต็มวัยรุ่นลูกของด้วงถั่วเขียวและด้วงถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดีในห้องปฏิบัติการ สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิดในสภาพโรงเก็บ พบว่ามีแมลงศัตรูถั่วเขียวเข้าทำลายเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด โดยพบด้วงถั่วเขียวเข้าทำลายในเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยจันทน์เทศมากกว่าเมล็ดถั่วเขียวที่คลุกด้วยน้ำมันหอมระเหยข่าลิงและน้ำมันหอมระเหยทั้ง 2 ชนิด ไม่สามารถป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียวในสภาพโรงเก็บได้

เอกสารอ้างอิง

- พรทิพย์ วิสารทานนท์ , กุสุมา นวลวัฒน์ , บุชรา จันท์แก้วมณี , ใจทิพย์ อุไรชื่น , รังสิมา เก่งการพานิช , กรรณิการ์ เฟ็งคุ่ม , จิราภรณ์ ทองพันธ์ , ดวงสมร สุทธิสุทธิ , ลักษณ์า ร่มเย็นและภาวิณี หนูชนะภัย. 2548. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 150 หน้า.
- Abbot, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic and Entomology*. 18, 265-267.
- Adedire, C.O., 2002. Use of nutmeg *Myristica fragrane* (Houtt.) powder and oil for the control of cowpea storage bruchid, *Callosobruchus maculatus* Fabricius. *Journal of Plant Diseases and Protection* 109, 193-199.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475.
- Bell, C.H., Wilson, S.M., 1995. Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). *Journal of Stored Products Research*. 31, 199-205.
- Caswell, G.H., 1981. Damage to stored cowpea in the northern part of Nigeria.

- Samaru. *Journal of Agricultural Research*. 1, 11–19.
- Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.J., 2006. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural Product Reports*. 23, 181-199.
- Huang, Y., Tan, J., Kini, R.M., Ho, S.H., 1997. Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research*. 33, 289-298.
- Lee, B.L., Choi, W.S., Lee, S.E., Park, B.S., 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae*. *Crop Protection*. 20, 317-320.
- Muchtaridi, Subarnas, A., Apriyantono, A., Mustarichie, R., 2010. Identification of compounds in the essential oil of nutmeg seeds (*Myristica fragrans* Houtt.) that inhibit locomotor activity in mice. *International Journal of Molecular Sciences*. 11(11), 4771–4781.
- Nakakita, H., 1998. Stored rice and stored product insects. In: *Rice Inspection Technology Manual*. A.C.E. Corporation, Tokyo, Japan, pp. 49–65.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., Sukprakarn, C., 1997. Plant oils as fumigant and contact insecticides for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research*. 33, 7–15.
- Stanton, W.R.D., Orraca-Tetteh, R., Steele, W., 1966. *Voandzeia subterranea* Thouars. In: *Grain legumes in Africa*. Food and Agriculture Organisation, Rome, pp. 128–133.
- Suthisut, D., Fields, P.G., Chandrapatya, A., 2011a. Fumigant toxicity of essential oils from three Thai plants (Zingiberaceae) and their major compounds against *Sitophilus zeamais*, *Tribolium castaneum* and two parasitoids. *Journal of Stored Products Research*. 47, 222-230.
- Suthisut, D., Fields, P.G., Chandrapatya, A., 2011b. Contact toxicity, feeding reduction, and repellency of essential oils from three plants from the ginger family (Zingiberaceae) and their major components against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. *Journal of Economic Entomology*. 104, 1445-1454.
- TEAP, 2000. Montreal Protocol on substances that deplete the ozone layer: UNEP Technology and Economic Assessment Panel. April 2000 Rep. United Nations.

Table 1 Chemical constituents of essential oils from *Myristica fragrans* fruits collected from phang-Nga province, Thailand.

Compound	Retention time (min)	Composition (%)
Sabinene	7.62	38.74
α -pinene	6.27	12.84
Bicyclo (3.1.1)heptane, 6,6-dimethyl-1-2methylene	7.79	10.21
3-cyclohexane-1-ol,4-methyl-1 (1-methlethyl)	17.89	6.32
γ -terpinene	11.21	6.15

dl-Limonene	9.86	4.44
α -terpinene	9.31	4.33
β -Thujene	9.94	3.34
α -Terpinolene	12.54	2.49
β -Mycrene	8.15	2.30

Table 2 Chemical constituents of essential oils from *Alpinia conchigera* rhizomes collected from Nakhon Si Thammarat province, Thailand.

Compound	Retention time (min)	Composition (%)
1,8-cineole	6.73	34.84
β -pinene	5.27	14.77
β -sesquiphellandrene	33.59	10.46
α -pinene	4.31	5.82
β -bisabolene	32.26	4.33
α -terpineol	13.17	4.10
Phenol,4(2-propenyl)- ,acetate	20.04	3.98
β -caryophyllene	24.55	3.89
3-cyclohexen-1-ol	12.48	3.26
Benzene,1methyl-4-(1- methylethyl)	6.43	3.03
Limonene	6.58	2.15
β -Panasinsene	40.02	1.59

Table 3 Contact toxicity of extracted essential oil from *Myristica fragrans* and *Alpinia conchigera* against adults of *Callosobruchus maculatus* and *C. chinensis* for different exposure periods (24 and 72 h after exposure)

Contact assay	Insect	Duration time (h)	LC ₅₀	95 % confidence interval	LC ₉₀	95 % confidence interval
<i>M. fragrans</i>	<i>C. maculatus</i>	24	>6.4	-	-	-
		72	4.6	3.6-5.6	7.9	6.2-13.9
	<i>C. chinensis</i>	24	3.3	2.6-4.1	6.5	5.0-10.7
		72	1.2	0.8-1.4	2.4	1.9-3.3
<i>A. conchigera</i>	<i>C. maculatus</i>	24	2.1	1.8-2.4	3.2	2.7-4.1
		72	1.7	1.5-1.7	2.5	2.2-2.8
	<i>C. chinensis</i>	24	3.7	3.1-4.3	6.8	5.7-9.1
		72	2.5	2.3-2.7	4.1	3.6-4.8

Table 4 Fumigation toxicity of extracted essential oil from *Myristica fragrans* and *Alpinia conchigera* against adults of *Callosobruchus maculatus* and *C. chinensis* for different exposure periods (24 and 48 h after exposure)

Fumigation assay	Insect	Duration time (h)	LC ₅₀	95 % confidence interval	LC ₉₀	95 % confidence interval
<i>M. fragrans</i>	<i>C. maculatus</i>	24	79.2	57.7-103.8	154.3	116.2-255.2
		48	57.7	49.3-67.0	136.4	113.5-173.1
	<i>C. chinensis</i>	24	222.6	210.7-234.5	272.3	255.6-301.1
		48	183.5	173.7-192.6	238.3	224.8-258.0
<i>A. conchigera</i>	<i>C. maculatus</i>	24	167.2	132.5-207.8	341.5	261.8-590.2
		48	124.7	97.8-152.2	224.5	173.9-373.7
	<i>C. chinensis</i>	24	85.1	74.6-96.1	139.2	121.1-168.8

48

74.1

65.8-84.2

108.1

93.6-136.1

Table 5 Percentage of mortality of adults, the number of eggs laid and adult progeny production of *Callosobruchus maculatus* and *Callosobruchus chinensis* were found on mung bean that mixed with *Myristica fragrans* and *Alpinia conchigera* oil at difference concentration.

Concentration (%)	<i>Myristica fragrans</i> oil						<i>Alpinia conchigera</i> oil					
	<i>Callosobruchus maculatus</i>			<i>Callosobruchus chinensis</i>			<i>Callosobruchus maculatus</i>			<i>Callosobruchus chinensis</i>		
	Mortality of adult (%)	Eggs number (%)	adult progeny production (%)	Mortality of adult (%)	Eggs number (%)	adult progeny production (%)	Mortality of adult (%)	Eggs number (%)	adult progeny production (%)	Mortality of adult (%)	Eggs number (%)	adult progeny production (%)
Control	0 C	148.5 A	130.8 A	0 C	143.5 A	68.0 A	0 D	133.5 A	98.8 A	0 B	140.0 A	122.3 A
Control Ethanol	0 C	150.5 A	116.3 B	0 C	140.3 A	55.0 B	0 D	142.3 A	92.0 A	0 B	158.8 A	107.3 A
2	0 C	148.5 A	115.3 B	0 C	131.5 A	45.5 B	0 D	68.0 B	50.8 AB	0 B	149.5 A	134.8 A
4	0 C	149.0 A	75.0 C	0 C	128.5 A	13.8 C	25.0 C	24.8 BC	15.0 B	30.0 A	59.8 B	29.3 B
8	55.0 B	31.5 B	4.0 D	17.5 B	67.3 B	0 D	90.0 B	4.8 C	0 B	95.5 A	9.5 C	0 C
10	87.5 A	3.0 C	0 D	97.5 A	2.3 C	0 D	100 A	5.3 C	0 B	100 A	10.0 C	0 C
CV (%)	36.8	15.06	12.84	20.4	12.8	24.7	14.7	64.9	62.3	34.6	87.9	38.0

Figure 2 The number of *Callosobruchus maculatus* adults were found on mung bean that mixed with *Myristica fragrans* oils, different concentrations at warehouse of Lopburi Agricultural Research and Development Center.

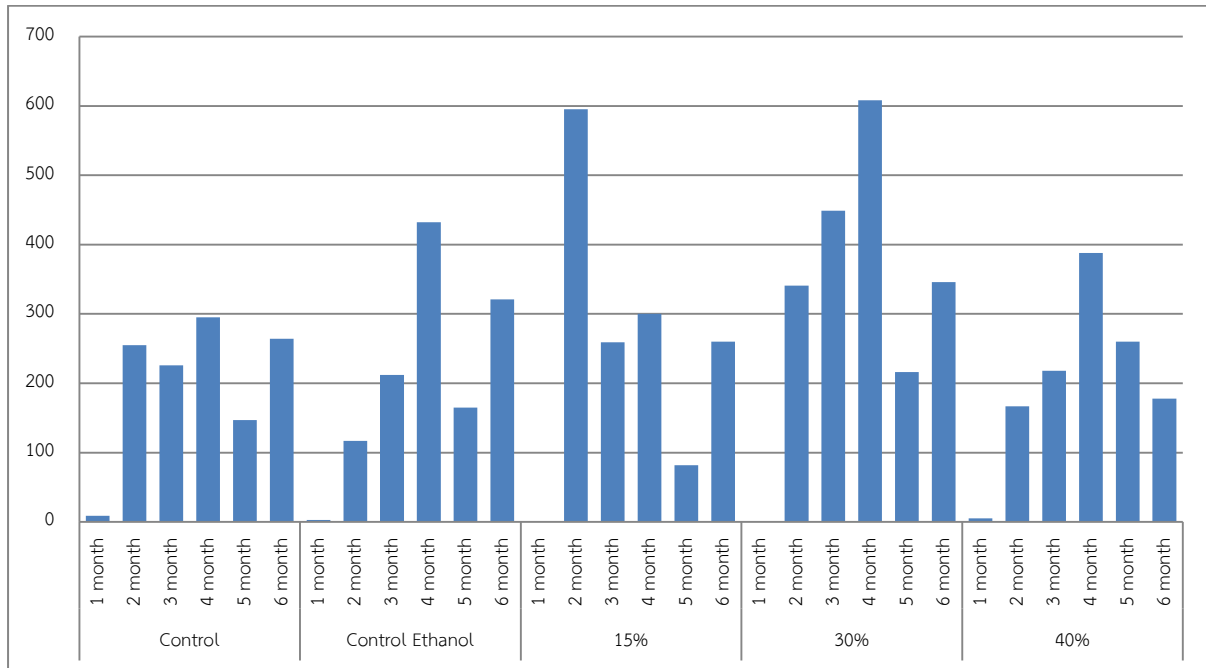


Figure 3 The number of *Callosobruchus maculatus* adults were found on mung bean that mixed with *Alpinia conchigera* oils, different concentrations at warehouse of Lopburi Agricultural Research and Development Center.

