

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus*
(DC. Ex Nees)) และจันทน์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook. f.))
ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål))

EFFECTIVENESS OF NANO ESSENTIAL OILS FROM LEMON GRASS
(*Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees)) AND STAR ANISE (*Illicium verum* (Hook. f.))
ON BROWN PLANTHOPPER (*Nilaparvata lugens* (Stål))

อนุวัฒน์ รักญาติ

ANUWAT RAKYAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา เกษตรศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-065-293

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus*
(DC. Ex Nees)) และจันทน์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook. f.))
ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål))

EFFECTIVENESS OF NANO ESSENTIAL OILS FROM LEMON GRASS
(*Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees)) AND STAR ANISE (*Illicium verum* (Hook. f.))
ON BROWN PLANTHOPPER (*Nilaparvata lugens* (Stål))

อนุวัฒน์ รักญาติ

ANUWAT RAKYAT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

KMITL-2019-AG-M-065-293

**EFFECTIVENESS OF NANO ESSENTIAL OILS FROM LEMON GRASS
(*Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees)) AND STAR ANISE (*Illicium verum* (Hook. f.))
ON BROWN PLANTHOPPER (*Nilaparvata lugens* (Stål))**

ANUWAT RAKYAT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2019

KMITL-2019-AG-M-065-293

COPYRIGHT 2019

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC. Ex Nees)) และจันทน์แปดกลีบ (<i>Illicium verum</i> (Hook. f.)) ต่อเพ็ล็กกระโดดสีน้ำตาล (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål))
นักศึกษา	นายอนุวัฒน์ รักญาติ
รหัสประจำตัว	60604007
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2562
อาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. อัมร อินทร์สังข์

บทคัดย่อ

ในการปรับปรุงสูตรน้ำมันหอมระเหยให้อยู่ในรูปนาโนอิมัลชันของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees)) พบว่าการใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก tween 60 และสารลดแรงตึงผิวร่วม PEG400 อัตราส่วน 1:4.5 และ 2.5 สามารถทำให้มีอนุภาคเป็นสารนาโนได้โดยไม่ต้องนำไปลดขนาด โดยมีขนาดอนุภาคเท่ากับ 12.63 nm ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook. f.)) เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก tween 20 และสารลดแรงตึงผิวร่วม PEG400 ที่อัตราส่วน 1:4 และ 1.5 และนำไปลดขนาดอนุภาคผ่านเครื่อง High pressure homogenizer โดยใช้ความดันที่ 15,000 psi สามารถทำให้มีอนุภาคเป็นสารนาโนได้ โดยมีขนาดเท่ากับ 90.73 nm ในการทดสอบประสิทธิภาพการใช้น้ำมันหอมระเหยนาโนเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยที่มี Tween ในอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพ็ล็กกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการสัมผัสตาย โดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ อัตราส่วน 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1% นีดพ่นจำนวน 1 ml ทำการปล่อยตัวเต็มวัยเพ็ล็กกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 20 ตัว ลงไปในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 cm ตรวจสอบอัตราการตายที่ 12 และ 24 ชั่วโมง ส่วนในการทดสอบโดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ด้วยเครื่อง Potter's spray tower จำนวน 5 ml ที่ความเข้มข้น 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 0.6% ตรวจสอบอัตราการตายที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง และการทดสอบโดยวิธีการไล่ โดยการฉีดพ่นสารตามทริตเมนต์ที่กำหนดจำนวน 1 ml ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.06 และ 0.1% โดยชุดควบคุมคือ น้ำกลั่นผสม Tween ในอัตราสองเท่า นอกจากนี้ในการทดสอบ

ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน ในรูปของสารฆ่า ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในปริมาตร 10 ml ต่อ 1 กระจ่าง โดยทำการตรวจนับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในวันที่ 1, 3, 5 และ 7 วางแผนการทดลองแบบ RCBD จำนวน 3 ซ้ำ และสุดท้ายในการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน (C) และจันทน์แปดกลีบ (I) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลง วางแผนแบบ RCBD จำนวน 4 ซ้ำ โดยทำการฉีดพ่นสารและบันทึกผล 2 ช่วงเวลา คือ ในระยะข้าวแตกกอ (45 วัน) และในระยะข้าวตั้งท้อง (90 วัน) ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร n1C3 และ n2C2 ที่ความเข้มข้น 0.25% และสารกำจัดแมลง imidacloprid 0.5% ในส่วนของกลุ่มควบคุมนั้นไม่ฉีดพ่นสารใด ๆ ตรวจนับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 ทำการตรวจนับ 2 วิธี คือ ตรวจนับด้วยตาเปล่า และใช้สวิงโอบ จากนั้นบันทึกผลผลิตข้าวเปลือกที่ได้

จากการทดสอบแบบสัมผัสตายพบว่า ที่เวลา 12 ชั่วโมง สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบที่มี Tween ผสมเป็นอัตราสองเท่า และน้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ โดยที่ความเข้มข้นที่ 0.06% สามารถฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ถึง 100% มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.028 และ 0.032% ตามลำดับ ขณะที่เวลา 24 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยที่มี Tween เป็นอัตราสองเท่าและแบบนาโนจากจันทน์แปดกลีบนั้นมีประสิทธิภาพในการฆ่าได้ดีที่สุด มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.025 และ 0.031% ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบโดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรงพบว่า ที่เวลา 6 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 0.6% น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านที่มี Tween เป็นอัตราสองเท่า พบอัตราการตายมากที่สุด 100% มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.285% รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบที่มี Tween เป็นอัตราสองเท่า และน้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ มีอัตราการตายเท่ากับ 98.0, 95.9 และ 93.3% ตามลำดับ ขณะที่เวลาดังแต่ 12 ชั่วโมง เป็นต้นไป น้ำมันหอมระเหยทุกชนิดที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.3-0.6% ขึ้นไป มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากกว่า 67.0% โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละช่วงเวลา ในส่วนของผลการทดสอบโดยวิธีการไล่พบว่า ที่เวลา 12 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 0.02% มีประสิทธิภาพในการไล่ได้ดีที่สุด มีเปอร์เซ็นต์อัตราการไล่เท่ากับ 43.83% รองลงมาคือน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 0.06% มีเปอร์เซ็นต์อัตราการไล่เท่ากับ 31.48% แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปหลังจาก 12 ชั่วโมง พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มี Tween เป็นอัตราสองเท่า และ

อนุภาคนาโนจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้านทุก ๆ ความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการไล่
เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลง ในผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจาก
ตะไคร้บ้าน (C) และจันทน์แปดกลีบ (I) ในรูปของสารฆ่า ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยวิธีการฉีด
พ่นโดยตรงพบว่า น้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 ที่ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพในการ
ป้องกันกำจัดได้ดีที่สุด โดยสามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ถึง 100% ภายใน 7 วัน รองลงมา
คือน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI2C2 ที่ความเข้มข้น 0.25% สามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
ได้ถึง 86.7% ภายใน 7 วัน และสุดท้ายผลการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน
ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงพบว่า แปลงที่ใช้ น้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 และ
สูตร nI2C2 มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยเฉพาะในระยะข้าวแตก
กอสามารถลดจำนวนประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงข้าวได้ภายใน 7 วัน โดยในวันที่ 0
ของการตรวจนับด้วยตาเปล่า และโดยใช้สวิงโฉบ มีอัตราการพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลถึง 1.3-0.8
ตัว/กอ และ 9.3-16.8 ตัว/กอ ตามลำดับ และพบจำนวนน้อยลงมากหลังการฉีดพ่นและในวันที่ 7 มี
การตรวจนับด้วยตาเปล่า และโดยใช้สวิงโฉบพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว 0.0-0.0 ตัว/กอ
และ 0.0-1.0 ตัว/กอ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับกับสารกำจัดแมลง imidacloprid 0.5% พบจำนวน
น้อยกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผลผลิตข้าวเปลือกนั้น พบว่าแปลงที่ใช้ น้ำมันหอม
ระเหยนาโนสูตร nI1C3, nI2C2 และ สารกำจัดแมลง imidacloprid 0.5% ให้ผลผลิต 1,111.11,
1,057.77 และ 960.00 กิโลกรัม/ไร่ ขณะที่กลุ่มควบคุม ได้ผลผลิตน้อยกว่าคือ 906.66 กิโลกรัม/ไร่
แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

Thesis	Effectiveness of Nano Essential Oils from Lemon Grass (<i>Cymbopogon citratus</i> (DC. Ex Nees)) and Star Anise (<i>Illicium verum</i> (Hook. f.)) on Brown Planthopper (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål))
Student	Mr. Anuwat Rakyat
Student ID	60604007
Degree	Master of Science
Program	Agricultural Science
Year	2019
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Ammorn Insung

ABSTRACT

Nano-emulsion essential oils from lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC. Ex Nees)) was performed by using tween60 as main surfactant and PEG400 as co-surfactant at ratios of 1: 4.5 and 2.5 resulting in the nanoparticles with a size of 12.63 nm. When of star anise (*Illicium verum* (Hook. F.)), tween20 was used as main surfactant and PEG400 as co-surfactant at ratios of 1: 4 and 1.5 to reduce the particle size via High Pressure Homogenizer at 15,000 psi. This essential oil particle was 90.73 nm. The efficiency test of the nano essential oils (nEO) from lemon grass and star anise as well as those plant essential oils mixed with Tween as surfactant at doubling concentration of essential oil used (EO2T) against adult of brown planthopper (BPH) (*Nilaparvata lugens* (Stål)) was performed in the laboratory by residual contact method. Amount of 1 ml essential oil at 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 and 0.1% concentrations were applied into the Petri dishes (9 cm diameter) which 20 BPH adults were released. Then the insect mortality was observed at 12 and 24 hours. The efficiency test by direct spray method was also investigated when those essential oils (nEO or EO2T) were directly sprayed with 5 ml at 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 and 0.6 % concentrations under Potter's spray tower. The insect mortality was observed at 6, 12, 18 and 24 hours. In part of repellent activity, choice test was used when BPH was directly sprayed with 1 ml of each nEO or EO2T at 0.02, 0.06 and 0.1% concentrations and compared with the control (water mixed with tween as surfactant at doubling concentration). The efficiency test of the nano essential oils formulas from lemon grass (C) and star anise (I) against BPH adult was made in insectary by direct spray method.

Amount of 10 ml nano essential oil formula per plot was applied and numbers of the BPH adult at 1st, 3rd, 5th and 7th day after spraying were observed. RCBD experiment with 3 replications was performed. The efficiency test of those nano essential oil formulas against adult of BPH was also evaluated in field conditions. RCBD experiment with 4 replications was applied. The spraying of nEO formulas and recording of BPH number were made during 2 developmental stages of rice, ie, in tillering stage (45 days) and booting stage (90 days). Nano-essential oil formulas as nI1C3 and nI2C2 at 0.25% concentration and 0.5% imidacloprid insecticide were applied when control group was free of any spraying. Then, BPH was observed on day 0, 1st, 3rd, 5th and 7th by sampling with two methods, namely direct count method and using hand net. Finally, the product of paddy rice obtained was conducted.

The efficiency test by contact toxicity method revealed that at 12 hours, both EO2T and nEO of star anise were highly effective in killing BPH adult caused 100% mortality at 0.6% concentration with LC₅₀ at 0.028 and 0.032%, respectively. As for the toxicity at 24 hours, both EO2T and nEO of star anise were extremely effective in killing BPH adults. Those EO2T and nEO of star anise presented LC₅₀ values at 0.025 and 0.031%, respectively. The efficiency test by direct spray method revealed that at 6 hours of 0.6 % concentration, EO2T of lemon grass showed the highest effectiveness caused 100 % with LC₅₀ at 0.285 %, followed by nEO of lemon grass, EO2T of star anise and nEO of star anise, which gave %mortality at 98.0, 95.9 and 93.3 %, respectively. As for the toxicity from 12 hours henceforth, nEO and EO2T of all essential oils at 0.3- 0.6% concentrations could kill BPH more than 67.0% without non-statistical differences in each period. In part of repellent activity by choice test revealed that at 12 hours, 0.02% nEO of lemon glass showed the most repellent effect to adult, with 43.83 %RI, followed by 0.06% nEO of star anise, showed the repellent effect to adult, with 31.48 %RI. But when the time has passed after 12 hours, it was found that the nEO and EO2T of all essential oils, every concentration had lower repellent efficiency to BPH adults. The efficiency test of using nano essential oil formulas from lemon grass (C) and star anise (I) by direct spraying method in the insectary showed that nI1C3 at 0.25% concentration gave the best control of BPH in which could eliminate BPH up to 100% within 7

days, followed by nI2C2 at 0.25% concentration, caused BPH elimination by 86.7% within 7 days. Finally, the efficiency test of using those nano essential oil formulas against BPH in field conditions presented that nI1C3 and nI2C2 were highly effective in preventing BPH, particularly during tilling stage. It could reduce the population of BPH in rice plots within 7 days. On the day of the beginning, number of BPH observed by direct count and using hand net were 1.3-0.8 and 9.3-16.8 BPH/clump, respectively. Subsequently, very few BPH number was found on 7th day. However, BPH number was a lit bit lower when compared to 0.5% imidacloprid insecticide treatment with non-statistical differences. As for the paddy rice product, it was found that nI1C3, nI2C2 and imidacloprid 0.5% insecticides resulting in 1,111.11, 1,057.77 and 960.00 kg/rai, higher than that of the control group which gave 906.66 kg/rai, however there was no statistical difference.

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วง ได้เป็นอย่างดีด้วยคำแนะนำ และคำปรึกษาจาก รศ.ดร. อัมร อินทร์สังข์ ซึ่งเป็นอาจารย์ควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแก้ไขปัญหาระหว่างการ
การทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนสำเร็จสมบูรณ์ ผู้วิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์จากท่านและขอ
กราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ โครงการวิจัย “การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยจากพืชในการ
ควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและตัวเรือดโดยวิธีนาโนเทคโนโลยี” สนับสนุนโดยสำนักงาน
กองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สัญญาเลขที่ RDG 5950159

ขอขอบคุณ ดร.จรงค์ศักดิ์ พุมนวน นักวิทยาศาสตร์เชี่ยวชาญ ประจำห้องปฏิบัติการทางกีฏ
วิทยา ที่คอยควบคุมดูแลกระบวนการทำวิจัยที่ถูกต้อง และคอยชี้แนะในทุกเรื่องของการทำ
วิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบัน
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้อนุเคราะห์ในการใช้สถานที่ เครื่องมือ
อุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ ในการทำวิจัยให้ลุล่วงด้วยดีตลอดมา

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ประจำสาขาภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ในการทำวิจัยครั้งนี้จนเสร็จสมบูรณ์และ
ให้กำลังใจต่อผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้องทุกคนที่ให้ได้รับความอนุเคราะห์ ค่าใช้จ่ายใน
การศึกษาเล่าเรียนและคอยให้กำลังใจในการเรียนและทำวิจัยเสมอมา ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณทุก ๆ
ท่าน ไว้ ณ โอกาสนี้

สุดท้ายนี้คุณประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ผู้วิจัยขอมอบแต่บิดา มารดา และผู้มี
พระคุณทุกท่าน สวัสดิ์

อนุวัฒน์ รักญาติ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IV
กิตติกรรมประกาศ.....	VII
สารบัญ.....	VIII
สารบัญตาราง.....	XII
สารบัญภาพ.....	XIV
บทที่ 1 บทนำ 1	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	4
1.3 ขอบเขตการศึกษา.....	5
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 สถานการณ์ข้าวไทย.....	6
2.2 การใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....	8
2.3 การใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดแมลง.....	12
2.4 การใช้พืชสมุนไพรในรูปของสารนาโนในการป้องกันกำจัดแมลง.....	14

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	16
3.1 อุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย.....	16
3.1.1 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช.....	16
3.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโคคัสส์น้ำตาล.....	16
3.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช ต่อเชื้อแบคทีเรียโคคัสส์น้ำตาล.....	16
3.2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	17
3.2.1 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช.....	19
3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโคคัสส์น้ำตาล.....	20
3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโน จากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเชื้อแบคทีเรียโคคัสส์น้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ.....	21
3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน จากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง.....	24
3.2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน จากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเชื้อแบคทีเรียโคคัสส์น้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง.....	26
3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	29
4.1 การหาสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช.....	29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพื่อยกระ โคคสีน้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ.....	33
4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง.....	40
4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช จากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพื่อยกระ โคคสีน้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง.....	41
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย.....	46
5.1 การหาสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช.....	46
5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อ เพื่อยกระ โคคสีน้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ.....	46
5.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช ในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง.....	49

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช จากจันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน ต่อเพื่อยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง.....	49
บทที่ 6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	51
6.1 สรุปผลการวิจัย.....	51
6.2 ข้อเสนอแนะในการนำสูตรน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ไปใช้ในการป้องกันกำจัดเพื่อยกระโดดสีน้ำตาล.....	52
6.3 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยต่อไป.....	53
บรรณานุกรม.....	54
ภาคผนวก.....	64
ประวัติผู้เขียน.....	90

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิว 12 ชนิด กับน้ำมันหอมระเหย จาก จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ.....	30
4.2 สรุปการทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวที่ไม่ตกตะกอน แล้วมาผสมกับน้ำมันหอมระเหยจาก จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน.....	31
4.3 การนำสูตรน้ำมันหอมระเหยนานาไปวัดขนาดอนุภาคนาโน และทำการลดขนาดอนุภาคจากพืชสมุนไพร จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาตร 100 ml.....	32
4.4 การนำสูตรน้ำมันหอมระเหยนานาไปวัดขนาดอนุภาคนาโน และทำการลดขนาดอนุภาคจากพืชสมุนไพร จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ในอัตราส่วนต่าง ๆ ปริมาตร 100 ml โดยใช้ PEG400 เป็น Co-surfactant.....	32
4.5 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)) ที่เกิดจากน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 12 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการสัมผัส.....	34
4.6 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)) หลังจากทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืชผสม tween 2 เท่า และน้ำมันหอมระเหย นาโนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง.....	36

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.7 ค่า LC_{50} และ LC_{90} ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชผสม tween 2 เท่า และน้ำมันหอมระเหยนาโนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)) ที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง.....	37
4.8 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่พบในแปลงทดสอบในจังหวัดอ่างทอง ช่วงระยะข้าวแตกกอ และตั้งท้องโดยวิธีการโอบแบบไป-กลับ 20 ครั้งนับ 1 (ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ).....	41
4.9 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่พบในแปลงทดสอบในจังหวัดอ่างทอง ช่วงระยะข้าวแตกกอ และตั้งท้องโดยวิธีการสูมนับด้วยตาเปล่าแบบทแยงมุม 15 กอ (ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ).....	43

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ตัวเต็มวัยเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล แบบปีกสั้น.....	8
2.2 ตัวเต็มวัยเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล แบบปีกยาว.....	8
2.3 จันทน์แปดกลีบ (<i>Illicium verum</i> (Hook.f.)).....	11
2.4 ตะไคร้บ้าน (<i>Cymbopogon citratus</i> (Dc.ex.Nees)).....	12
3.1 แผนการดำเนินงานการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโน จากพืชต่อเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง และสภาพแปลง.....	18
3.2 เครื่อง High pressure homogenizer รุ่น M – 110P.....	20
3.3 เครื่อง Nano plus zeta / Nano particle analyzer.....	20
3.4 กล่องเพาะข้าวเพื่อเลี้ยงเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....	21
3.5 กรงเพาะเลี้ยงเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ขนาด 50x100x50 cm.....	21
3.6 ก: ใช้ aspirator ดูดตัวเต็มวัยของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อใช้ในการทดลอง ข: ใช้ออโตปิเปตขนาด 1 ml ดูดสารหยดลงบนกระดาษกรองที่อยู่ภายในจานเพาะเชื้อ ค: ปล่อยตัวเต็มวัยเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงไปบนจานเพาะเชื้อ.....	22
3.7 เครื่อง Potter's spray tower.....	23
3.8 ก: ฉีดพ่นสารทดสอบบริเวณกอข้าวตามทริตเมนต์ ข: กล่องทดสอบทรงกระบอก.....	24
3.9 ต้นข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 45 วัน.....	25
3.10 กรงทดสอบตาข่ายขนาด 40x40x100 cm.....	26
3.11 วิธีการฉีดพ่นสารทดสอบ โดยใช้ผ้าใบตาข่ายกั้นละอองสาร.....	27
3.12 ก: วิธีโฉบด้วยสวิง ข: วิธีตรวจนับด้วยสายตาเปล่า.....	27

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
<p>4.1 เปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่ (%RI) ของสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชสูตรปรับปรุง (2 tween20) และสูตรนาโน ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการทดสอบด้วยวิธีการฉีดพ่น ที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง (EO2T.L=น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน, EO2T.S = น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ, nEO.L = น้ำมันหอมระเหยนานาจากตะไคร้บ้าน, nEO.S=น้ำมันหอมระเหยนานาจากจันทน์แปดกลีบ).....</p>	39
<p>4.2 เปอร์เซ็นต์การตายตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (<i>Nilaparvata lugens</i> (Stål)) หลังจากการทดสอบด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ความเข้มข้น 0.10, 0.5 และ 0.50% โดยวิธีการฉีดพ่น โดยตรงตรวจนับอัตราการตายที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน (น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) สูตร nIIC3 (อัตรา 1:3) สูตร nI2C2 (อัตรา 2:2) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5%) ..</p>	40
<p>4.3 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อกอที่ตรวจพบบนกอข้าวโดยวิธีการโอบ หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนานา nIIC3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวแตกกอ (I= จันทน์แปดกลีบ และ C=ตะไคร้บ้าน).....</p>	42

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.4 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตอกอที่ตรวจพบบนกอข้าวโดยวิธีการโอบ หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nI1C3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวตั้งท้อง (I= จันทน์แปดกลีบ และ C=ตะไคร้บ้าน)	42
4.5 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตอกอที่ตรวจพบบนกอข้าว โดยวิธีการสูมนับด้วยตาเปล่า หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nI1C3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวแตกกอ (I= จันทน์แปดกลีบ และ C=ตะไคร้บ้าน)	44
4.6 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตอกอที่ตรวจพบบนกอข้าว โดยวิธีการสูมนับด้วยตาเปล่า หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nI1C3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวตั้งท้อง (I=จันทน์แปดกลีบและ C=ตะไคร้บ้าน)	44
4.7 จำนวนข้าวเปลือกแห้งที่ได้ในแต่ละแปลงทดสอบเมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณต่อไร่	45

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นพืชที่ปลูกเพื่อใช้เป็นอาหารของมวลมนุษย์ และยังเป็นอาหารหลักของประชาชนในประเทศกำลังพัฒนาอย่างเช่น ในเอเชีย ข้าวอยู่ใน genus *Oryza* มีมากกว่า 20 ชนิด แต่ข้าวที่ปลูกในเอเชียเป็น *Oryza sativa* Linn. ซึ่งที่นิยมปลูกกันโดยทั่วไป ขนาดของพื้นที่ปลูกโดยเฉลี่ยต่อครัวเรือนมีตั้งแต่ 2.5 ไร่ จนถึง 22 ไร่ในประเทศจีน ส่วนในประเทศไทย มากกว่า 250 ล้านครัวเรือน ชาวเอเชียมีการดำรงชีวิตเกี่ยวข้องกับการเพาะปลูกข้าวมานาน (Pingali and Hussain, 1998) ปัจจุบันการทำนามีการเปลี่ยนรูปแบบเป็นเชิงพาณิชย์มากขึ้น เกษตรกรนิยมใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชสังเคราะห์เพิ่มมากขึ้นส่งผลกระทบต่อสมดุลธรรมชาติ และยากที่จะคาดการณ์หรือคาดเดาสถานการณ์วิกฤติของสภาพแวดล้อมได้อย่างแม่นยำ สำหรับระบบการผลิตข้าว นอกเหนือจากความแปรปรวนข้างต้นแล้ว การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลก ความแปรปรวนของปริมาณน้ำฝน ความชื้นสัมพัทธ์ เป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีแนวโน้มต่อรูปแบบการแพร่ระบาดของโรคและแมลงศัตรูข้าว (กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, 2558) จากรายงานการสำรวจแมลงศัตรูพืชในนาข้าวของประเทศไทย พบว่ามีทั้งสิ้น 50 ชนิด โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มดังนี้ 1.) แมลงกินใบ จำพวกหนอนผีเสื้อเช่น หนอนห่อใบข้าว หนอนปลอก เป็นต้น 2.) แมลงเจาะลำต้นและยอด เป็นแมลงจำพวกตัวหนอนของผีเสื้อเช่นกัน ได้แก่ หนอนกอชนิดต่าง ๆ 3.) แมลงปากดูดซึ่งเจาะดูดน้ำเลี้ยงจากใบและลำต้น เป็นแมลงกลุ่มเพลี้ยและมวน ชนิดที่สำคัญได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว แมลงหว่า และแมลงสิง เป็นต้น 4.) ศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ เช่น แมลงบั่ว รวมถึงพวกไรแดงและไรขาว (Pathak and Khan, 1994) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) เป็นแมลงศัตรูข้าวชนิดปากดูด ที่ทั้งตัวอ่อน และตัวเต็มวัยทำลายข้าว ทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้ง ลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวกแห้งตายเป็นหย่อมๆ เรียก “อาการไหม้ (hopper burn)” นอกจากทำความเสียหายแก่ต้นข้าวโดยตรงแล้ว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ยังเป็นพาหะนำโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อไวรัส สาเหตุโรคเขียวเตี้ย และโรคใบหงิก (ชัยรัตน์ จันทร์หนู และนริศรา จำรูญวงษ์, 2557) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญต่อการปลูกข้าวในประเทศไทย เมื่อฤดูนาปรังช่วงตั้งแต่เดือน

พศจิกายน 2552 ต่อเนื่องมาถึงเดือนมีนาคม 2553 ในพื้นที่กว่า 3.8 ล้านไร่ จาก 14 จังหวัด ในภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี อ่างทอง สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ปทุมธานี นนทบุรี นครนายก กำแพงเพชร พิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ และสระบุรี (กรมการข้าว. 2553) สาเหตุการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ดังกล่าว เกิดจากการปลูกข้าวอย่างต่อเนื่อง และใช้พันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเกิดจากแรงจูงใจทางด้านราคาที่โรงสีกำหนดอีกด้วย (วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ และคณะ. 2554) ปัจจัยที่ก่อให้เกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เกิดจากปัจจัยทั้งทาง ด้านชีวภาพ และสภาพแวดล้อม เช่น การปลูกข้าวพันธุ์ที่อ่อนแอ ปลูกข้าวพันธุ์เดียวกันต่อเนื่องกันมากกว่า 3 ปี หรือเป็นพื้นที่ที่กว้างการทำนาต่อเนื่อง การปลูกข้าวที่หนาแน่น การใส่ปุ๋ยในโตรเจนอัตราสูง การใช้สารเคมีกำจัดแมลงไม่ถูกต้อง ทำให้เสียสมดุลของศัตรูธรรมชาติอนุภูมิ ความชื้น และทิศทางลม ฯลฯ (ชัยรัตน์ จันทร์หนู และ นริศรา จำรูญวงษ์. 2557) เกษตรกรจึงมักเลือกแก้ปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้สารเคมีเร่งการเจริญเติบโตของต้นพืช และใช้สารเคมีกำจัดแมลงจำนวนมากในการป้องกันกำจัด ซึ่งเป็นสาเหตุหรือปัจจัยหลัก ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม เช่น สภาพแวดล้อมเสื่อมโทรม แมลงศัตรูธรรมชาติลดลงเพราะสารเคมี และสารเคมีตกค้างสู่ผู้บริโภค นอกจากนี้ยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมี และทำให้เกิดการระบาดเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยา การสำรวจ ตรวจนับ และความหนาแน่น ประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแต่ละพื้นที่ก่อนการป้องกันกำจัด ในระดับปฏิบัติการเพื่อเกษตรกรที่น้อยมาก จึงทำให้การป้องกันกำจัดไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร ในปัจจุบันมีการศึกษาการใช้น้ำมันหอมระเหย (essential oil) จากพืช ซึ่งเป็นสารธรรมชาติที่พัฒนาขึ้นมาทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ในการเป็นสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม สามารถสกัดได้จากส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น สารสกัดและน้ำมันหอมระเหยจาก *Mentha piperita*, *Acorus calamus*, *Anethum sowa*, *Piper nigrum*, *Pongamia glabra* และ *Azadirachta indica* มีคุณสมบัติในการควบคุมศัตรูพืชในύังฉาง ซึ่งน้ำมันหอมระเหยจากพืชมีคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ที่หลากหลาย ได้แก่ คุณสมบัติในการเป็นสารกำจัดแมลง (insecticidal activity) สารไล่แมลง (repellent activity), สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ(bioactivity) สารกำจัดไส้เดือนฝอย (nematicidal activity) สารกำจัดตัวเต็มวัยของแมลง (adulthood activity) สารต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial activity) สารยับยั้งการกิน (antifeedants) และการเจริญเติบโตของแมลง (growth inhibitor) และสารรม

(fumigants) (กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2553) Sainath (2016) ได้รายงานเกี่ยวกับประสิทธิภาพการไล่ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่น ๆ เช่น ยูคาลิปตัส และ ตะไคร้บ้าน เมื่อทดสอบกับ six-way olfactometer ที่ความเข้มข้น 10 μ l มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมีย Bhimrao (2005) ได้ทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของพืชชนิดต่าง ๆ กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากสะเดา ที่ความเข้มข้น 2% มีประสิทธิภาพในการไล่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงสุดที่ 90% ของจำนวนแมลงที่ได้รับการทดสอบในแปลงทดสอบ Hong, X. et al. (2015) ได้รายงานว่าฤทธิ์ของ methyl eugenol ต่อแมลงศัตรูข้าว พบว่า methyl eugenol มีฤทธิ์ในการไล่ และสัมผัสตาย ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อัตราการตายของตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของ methyl eugenol สำหรับตัวอย่างการศึกษาการใช้สารสกัดเพื่อควบคุมแมลงชนิดอื่น ๆ เช่น Mohamed, F. et al. (2010) ได้ทำการศึกษา สารสกัดผลสดและผลดิบของต้นเลี่ยน (*Melia azedarach* L.) โดยใช้อะซิโตน ในการสกัด ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวหนอน *Spodoptera littoralis* ผลการทดลองพบว่าน้ำมันที่สกัดด้วยอะซิโตนของทั้งสองชนิด มีประสิทธิภาพในการกำจัดตัวหนอนได้ดีกว่าสารสกัดหยาบ โดยผลของต้นเลี่ยนพบว่า มีสารออกฤทธิ์จำนวนมากที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการฆ่าและการเจริญเติบโตของ *S. littoralis* เช่นเดียวกับ Mishra, B.B. et al. (2012) ได้รายงานว่า สารขับไล่ที่ความเข้มข้นสูงสุด 0.4% ของน้ำมันหอมระเหยจาก ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globules*) มีฤทธิ์ในการไล่ได้ดีเท่ากับ 9.16 และ 8.66 ต่อ *Tribolium castaneum* และ *Sitophilus oryzae* ตามลำดับ เช่นเดียวกับน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา (*Ocimum basilicum*) มีฤทธิ์ในการไล่เท่ากับ 8.50 และ 8.16 ต่อ *T. castaneum* และ *S. oryzae* ตามลำดับ ฤทธิ์ในการไล่ของพืชทั้งสองชนิด ต่อแมลงศัตรูในโรงเก็บขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น นอกจากนี้มีรายงานหลายเกี่ยวกับการใช้ตะไคร้บ้าน และจันทร์แปดกลีบในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น Karunamoorthi, K. et al. (2010) ได้ศึกษาเรื่องการศึกษาในห้องปฏิบัติการในการทดสอบพืชตั้งต้นในการไล่ยุงก้นปล่องพบว่า เมื่อทาสารสกัดเมธานอลจากใบแห้งของตะไคร้ที่ความเข้มข้น 2-2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร บนผิวหนังสามารถป้องกันยุงก้นปล่อง (*Anopheles arabiensis*) ได้นาน 12 ชั่วโมง โดยมีค่าการป้องกันยุงเท่ากับ 68.06 และ 78.83% ตามลำดับ และ Verbel, J.O. et al. (2010) ได้รายงานไว้ว่าน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วย geranial (34.4%) และ neral (28.4%) และ geraniol (11.5%) เป็นสารออกฤทธิ์หลัก และพบว่ามีประสิทธิภาพในรูปแบบสารไล่ในการไล่มอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากจันทร์แปดกลีบเป็นสารฆ่าแมลงที่มีศักยภาพต่อมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย และยังมีรายงานอีกว่าน้ำมันหอมระเหย

จากจันทร์แปดกลีบมีฤทธิ์ในการฆ่าตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของ *T.castaneum* เมื่อทำการทดสอบ โดยวิธีการรม โดยมีค่า LC_{50} ต่อตัวอ่อน เท่ากับ 18.43 μ l และ ต่อตัวเต็มวัย เท่ากับ 19.83 μ l และมีค่า EC_{50} ต่อคักแด้ที่กลายเป็นตัวเต็มวัยจำนวนครึ่งหนึ่งเท่ากับ 11.97 μ l (Shukla, J. et al. 2009)

นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) หมายถึง การประยุกต์ความรู้ทาง วิทยาศาสตร์ในการจัดการและควบคุมสาร และการสังเคราะห์วัสดุในระดับนาโนสเกล เพื่อใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติหรือปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นกับขนาดหรือ โครงสร้างของสาร โดยคุณสมบัติหรือปรากฏการณ์ ดังกล่าวแตกต่างจากที่พบในวัสดุขนาดใหญ่ นาโนเทคโนโลยีถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในผลิตภัณฑ์สุขภาพ และที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์สุขภาพ เช่น ในผลิตภัณฑ์ยา เพื่อเพิ่มความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เป้าหมาย ผลิตภัณฑ์ฆ่าแมลง มีการนำนาโนเทคโนโลยีมาใช้ เพื่อเพิ่มความเจาะจงต่อแมลงเป้าหมายและ ลดการปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม (ณยา วงษ์พูน และ ใจพร พุ่มคำ. 2557) สามารถกล่าวได้ว่านาโนเทคโนโลยีมีศักยภาพในการใช้งานในวงกว้าง ทั้งการใช้งานในด้านการรักษาโรคทางชีวภาพ การจัดการศัตรูพืชและ ปฐพีวิทยา (Pavela, R. et al. 2017)

การนำน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่งตะไคร้บ้านและจันทร์แปดกลีบ ที่ได้ที่ได้มีรายงานเบื้องต้นว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและการนำนาโนเทคโนโลยี มาใช้เพื่อพัฒนาเป็นสูตรน้ำมันหอมระเหยนานาในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นวิธีการที่น่าสนใจ เพื่อการนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงนาข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนานาจากตะไคร้บ้านและจันทร์แปดกลีบ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ในห้องปฏิบัติการ

1.2.2 เพื่อทดสอบสูตรน้ำมันหอมระเหยนานาจากตะไคร้บ้านและจันทร์แปดกลีบ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ในสภาพโรงเรือนทดลอง และสภาพแปลงทดลอง

1.3 ขอบเขตการศึกษา

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิจัยเพื่อศึกษาประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยโดยทำให้เป็นอนุภาคนาโนจากตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบ ในรูปสูตรของน้ำมันหอมระเหย เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในรูปของสารฆ่าและสารไล่ในห้องปฏิบัติการ และอย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อนำมาทดสอบต่อในสภาพโรงเรือนทดลองและแปลงนาข้าวของจังหวัดอ่างทอง เป็นการเพิ่มศักยภาพของสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโน เพื่อการบริหารจัดการเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลรวมถึงแมลงศัตรูข้าวอื่น ๆ และแมลงศัตรูธรรมชาติต่อไป

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบถึงประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ในระดับห้องปฏิบัติการ

1.4.2 ได้ทราบถึงประสิทธิภาพของสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ในสภาพโรงเรือนทดลอง และในสภาพแปลงทดสอบ

1.4.3 ได้ทราบการเตรียมสูตรความเข้มข้น และอัตราการใช้ในสภาพแปลง

1.4.4 ได้ผลิตภัณฑ์สูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์ข้าวไทย

ประเทศไทยเป็นผู้นำด้านการผลิต และการส่งออกข้าวที่สำคัญของโลก โดยข้าวไทยส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 36 รองลงมาคือ เวียดนาม ร้อยละ 20 อินเดีย ร้อยละ 18 สหรัฐอเมริกา ร้อยละ 14 ปากีสถาน ร้อยละ 12 ตามลำดับ (อาทิตย์ โชติวิริยวานิชย์, 2550) ซึ่งในอนาคตความต้องการข้าวจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องมาจากจำนวนประชากรของโลกที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะทำให้อาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลก จากข้อมูลสถิติการส่งออกข้าวในปี 2542-2551 พบว่า ไทยส่งออกข้าวไปยังตลาดต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี โดยในปี พ.ศ. 2551 มีปริมาณการส่งข้าวออกไปต่างประเทศ 10.01 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 200,507 ล้านบาท (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร, 2552) ราคาส่งออกข้าวไทยในปี 2559 (ช่วงเดือนมกราคม – ตุลาคม) ลดลง อย่างมากเมื่อเทียบกับช่วงเดียวกันของปี 2558 เนื่องจากตลาดชะลอตัว แต่เมื่อเปรียบเทียบกับประเทศคู่แข่ง ราคาข้าวไทยยังคงสูงกว่ามาก (กรมการข้าว, 2559) การทำนาข้าวของเกษตรกรสามารถทำได้เกือบตลอดทั้งปี โดยเฉพาะนาข้าวในเขตชลประทาน ปัญหาหลักของการปลูกข้าว คือการเข้าทำลายของแมลงศัตรูข้าวโดยชาวนาส่วนใหญ่คิดว่ามีความจำเป็นต้องฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อป้องกันความสูญเสียจากการเข้าทำลายของศัตรูพืชเป็นประจำ จึงปฏิบัติสืบทอดกันมาจนเกิดความเคยชิน และมีค่านิยมหรือความเชื่อว่าการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นกิจกรรมที่สำคัญอย่างหนึ่งในขบวนการทำนาที่ขาดเสียไม่ได้ (สมคิด คิสถาพร, 2543) โดยมิได้คำนึงถึงความคุ้มค่าทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ที่นับเป็นความสูญเสียอย่างร้ายแรงในด้านต่าง ๆ เช่น สุขภาพของผู้ผลิต และผู้บริโภค การทำลายแมลงที่เป็นประโยชน์ ได้แก่ แมลงศัตรูธรรมชาติควบคุมแมลงศัตรูพืช การปนเปื้อนของสารเคมีที่เป็นอันตรายในห่วงโซ่อาหารของสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย มีการสะสมสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่นสารเคมีในกลุ่ม Organochlorine หลายชนิดมีฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองเป็นต้น การปนเปื้อนในดิน และในน้ำ โดยเฉพาะสารเคมีกลุ่ม Organochlorine, Organophosphorus, Pyrethroid และ Carbamate (สุภาณี พิมพ์สมาน, 2540) และที่สำคัญยิ่งอาจส่งผลกระทบต่อปัญหาภาวะโลกร้อน (global warming) หรือปัญหาสภาพภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง (climate change) เนื่องจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงนั้น ปัจจุบันมีการใช้กันอย่างกว้างขวาง ซึ่งอาจส่งผลเสียหลายประการ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์

วัตถุมิพิชหลายชนิดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ต่ำกว่ามาตรฐาน (โยธิน สุริยพงศ์, 2542) แต่อย่างไรก็ตามมีแมลงศัตรูพืชบางชนิดที่สามารถมีการปรับตัวต่อสภาพธรรมชาติที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการดำรงชีวิต โดยเฉพาะแมลงในกลุ่มปากแทงดูด และปากดูดที่สำคัญ ได้แก่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ภาพที่ 2.1 และ 2.2) สามารถสร้างหรือพัฒนาให้มีการสร้างปีกได้เมื่อสภาพอาหารและที่อยู่อาศัยไม่เหมาะสมจึงต้องมีการย้ายถิ่นอาศัยหรือเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการเพิ่มจำนวนประชากรอย่างรวดเร็วจนระบาดขึ้นรุนแรงเนื่องจากสภาพภูมิอากาศที่สูงขึ้นมากกว่าเดิมซึ่งมีผลให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหรือเพลี้ยไฟบางชนิดมีวงจรชีวิตที่สั้นลง ทำให้แมลงมีการพัฒนาการเปลี่ยนวัยที่รวดเร็วขึ้นกว่าเดิมเป็นต้น ในพื้นที่ที่ปลูกข้าวติดต่อกันมานานมักหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่จะต้องประสบปัญหาแมลงศัตรูพืชเสมอๆ โดยเฉพาะพื้นที่นาปรัง มักมีการระบาดอย่างต่อเนื่อง โดยแมลงที่พบในนาข้าวมีประมาณ 50 ชนิด แต่ที่เป็นปัญหาในการระบาดทำลายข้าวมากที่สุดมีประมาณ 20 ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ หนอนกอข้าว เพลี้ยไฟ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แมลงบั่ว หนอนห่อใบข้าว แมลงห้ำ หนอนกระทู้กล้า หรือหนอนกระทู้ทรายพระอินทร์ หนอนปลอก และแมลงสิง เป็นต้น (วันทนา และคณะ, 2550) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงศัตรูข้าวประเภทปากดูด อยู่ในอันดับ โฮมอพเทอรา (Homoptera) มีความเฉพาะเจาะจงต่อพืชอาหารเพียงชนิดเดียวคือข้าวเท่านั้น (สุเทพ สหทยา, 2554) ตัวเต็มวัยมีรูปร่าง 2 ลักษณะ คือ ชนิดปีกยาว (macropterous form) และชนิดปีกสั้น (bracrypterous form) ชนิดมีปีกยาวสามารถเคลื่อนย้ายและอพยพไปในระยะทางไกลและไกล โดยอาศัยกระแสลมช่วย ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่วางไข่ที่กาบใบข้าว หรือเส้นกลางใบ โดยวางไข่เป็นกลุ่ม เรียงแถวตามแนวตั้งฉากกับกาบใบข้าว บริเวณที่วางไข่จะมีรอยซ้ำเป็นสีน้ำตาล ไข่มีลักษณะรูปกระสวย โคนคล้ายกล้วยหอม มีสีขาวขุ่น ตัวอ่อนมี 5 ระยะ ระยะตัวอ่อน 16-17 วัน ตัวเต็มวัยเพศเมียชนิดปีกยาวมีขนาด 4-4.5 มิลลิเมตร วางไข่ประมาณ 100 ฟอง เพศผู้มีขนาด 3.5-4 มิลลิเมตร เพศเมียชนิดปีกสั้นวางไข่ประมาณ 300 ฟอง ตัวเต็มวัยมีชีวิตประมาณ 2 สัปดาห์ ในหนึ่งฤดูปลูกข้าวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2-3 อายุขัย (generation) (วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, 2553) นอกจากนี้ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยังเป็นปัญหาต่อการปลูกข้าวในหลายประเทศ ได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ ลาว เวียดนาม จีน ญี่ปุ่น เป็นต้น จะสังเกตได้ว่าส่วนใหญ่เป็นประเทศที่อยู่ในแถบเอเชีย (Heong, 2009) มีการศึกษาโดยใช้กับดักแสงไฟล่อแมลงศัตรูข้าวในประเทศไทย พบว่าจำนวนประชากรของเพลี้ยกระโดดค่อนข้างต่ำ ในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา และพบว่าประเทศไทยมีการใช้สารกำจัดแมลงสำหรับการจัดการเพลี้ยกระโดดจำนวนมาก ในบรรดาสารกำจัดแมลงที่พบได้ทั่วไปในประเทศไทย คือ สาร imidacloprid แต่ถึงอย่างไรพบว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความต้านทานต่อสารกำจัดแมลงชนิดนี้แล้ว (Harris, 2006) จากผลกระทบของการใช้สารเคมีสังเคราะห์

ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวเป็นจำนวนมากในปัจจุบัน ทำให้แมลงศัตรูข้าว โดยเฉพาะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการสร้างความต้านทานต่อสารเคมีอย่างเด่นชัด และส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อใช้ในระยะเวลาเวลายาว ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันปัญหาเหล่านี้ การใช้มันหอมระเหยจากพืชในการควบคุมแมลงศัตรูพืชจึงเป็นที่น่าสนใจเพื่อการพัฒนาปรับใช้ได้ต่อไปต้องใช้วิธีการทางเลือก



ภาพที่ 2.1 ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แบบปีกสั้น



ภาพที่ 2.2 ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แบบปีกยาว

2.2 การใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

พืชสมุนไพรในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหมายถึง พืชที่มีคุณสมบัติที่มีสารออกฤทธิ์ต่อแมลงศัตรูพืชทั้งทางตรงและทางอ้อม พืชทางตรง คือ เมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชแล้วตายทันที (นิรนาม. 2547) โดยสารสกัดจากพืชดังกล่าวจะมีผลต่อระบบประสาทและระบบหายใจของแมลง

เช่น ยาสูบ หางไหล เป็นต้น ส่วนพืชทางอ้อมนั้น คือ เมื่อแมลงได้รับสารสมุนไพรแล้วจะยังไม่ตายทันที แต่จะมีผลกระทบต่อระบบสรีระวิทยาของแมลง และมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลง เช่น ผลในการยับยั้งการกินอาหาร (ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2540) สารสกัดจากพืชสามารถนำมาใช้เป็นทางเลือกที่ปลอดภัย ซึ่งอันที่จริงแล้ว มีรายงานว่าสารสกัดจากพืชหลายชนิดมีสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อศัตรูพืช หนึ่งในพืชที่มักถูกนำมาใช้กันก็คือพืชในวงศ์ Meliaceae โดยเฉพาะสะเดา (*Azadirachta indica*) เป็นชนิดที่นิยมใช้กันมากที่สุด (Isman, 2005) สะเดามีมากกว่า 600 สายพันธุ์ เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถเจริญเติบโตได้ในหลายประเทศทั่วโลก ลักษณะเป็นพืชรัดต้น ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ มีเขตแพร่กระจายทั่วไปในเขตร้อน สะเดาเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีรายงานว่าทุกส่วนของต้นสะเดาสามารถใช้ป้องกันกำจัดแมลงได้ (ชัยวัฒน์ ธรรมจารี, 2539) สารออกฤทธิ์ซึ่งเป็นสารเคมีธรรมชาติที่มีอยู่ในสะเดาและให้ผลในการป้องกันกำจัดแมลงได้นั้นเป็นคละชนิดกับสารที่ทำให้มีรสขม ในสะเดาไทยพบว่า นิมโบไลด์ (nimbolide) เป็นสารสำคัญในการทำให้มีรสขม (สุภาณี พิมพ์สมาน, 2537) เมล็ดสะเดาไทยและสะเดาอินเดียมีอินทรีย์สารมากกว่า 40 ชนิด ซึ่งได้รับการพิสูจน์เอกลักษณ์แล้ว ประเภทของอินทรีย์สารที่พบมากที่สุดคือ triterpene ที่เป็นพวก limonoides (หรือเรียก tetranortriterpenoids) สาร limonoides ที่เป็นพิษต่อแมลงมีหลายชนิดเช่น azadirachtin, salannin, meliantriol และ nimbin เป็นต้น (สุภาณี พิมพ์สมาน, 2540) สำหรับกรณีของการใช้สารสกัดหรือน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้น มีรายงานก่อนหน้านี้หลายฉบับ ที่พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืช และสารสกัดจากพืชหลายชนิด มีประสิทธิภาพต่อการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้แก่ Sainath. (2016) ได้ศึกษาเรื่องประสิทธิภาพทางชีวภาพของน้ำมันหอมระเหยจากเมล็ด และลำต้นของพืชสมุนไพรต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าประสิทธิภาพการไล่ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชชนิดอื่นๆ เช่น ยูคาลิปตัส และ ตะไคร้บ้าน เมื่อทดสอบกับ six-way olfactometer ที่ความเข้มข้น 10 μ l มีประสิทธิภาพสูงสุดต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมีย อักษร จันท์เทวี และคณะ (2556) ได้ศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรจากพืชต่อตัวเต็มวัยและตัวอ่อนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้วิธีการฉีดพ่นโดยตรง พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเทียนข้าวเปลือก จันท์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.3% มีอัตราการตายมากกว่า 90-100% รวมทั้ง Chantawee, A. et al. (2012) ได้ศึกษาเรื่องประสิทธิผลของน้ำมันหอมระเหยของพืชสมุนไพรต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าสารกำจัดแมลงจากพืชบางชนิดที่สำคัญต่อตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ได้รับทดลองโดยใช้วิธีฉีดพ่นโดยตรง น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านและจันท์แปดกลีบที่ความเข้มข้น 0.2% ที่มีน้ำมันปีโตรเลียมมีเป็นอัตราการฆ่ามากที่สุดต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

มากกว่า 68% การศึกษาเปรียบเทียบพบว่าสารกำจัดแมลง (imidacloprid) ในอัตราที่แนะนำและอัตราสองเท่าก่อให้เกิดความตายเพียงประมาณ 50% เท่านั้น นอกจากนี้ อักษร จันท์เทวี และคณะ (2556) ได้ศึกษาเรื่องประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าจากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพร 3 ชนิด ที่ใช้ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม คือเทียนข้าวเปลือก จันท์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลง (Imidacloprid) และน้ำมันปิโตรเลียมสูตรการค้า ในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) ในโรงเรือนปฏิบัติการพบว่า น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรทุกชนิดที่ใช้ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมมีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหรือสามารถลดจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงสุด 81.3-91.5% Hong, X.X. et al. (2015) ได้ศึกษาเรื่องฤทธิ์ทางชีวภาพ methyl eugenol ในการเป็นสารกำจัดแมลงจากพืชต่อแมลงศัตรูพืชที่สำคัญและศัตรูธรรมชาติในข้าว พบว่า methyl eugenol มีฤทธิ์ในการไล่ และสัมผัสตาย ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อัตราการตายของตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับ ความเข้มข้นของ methyl eugenol นอกจากนี้ Bhimrao. (2005) ได้ศึกษาเรื่องความสัมพันธ์ของความเสียหายจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อสายพันธุ์ข้าวและการจัดการแมลงศัตรูข้าว โดยใช้องค์ประกอบทางเคมีของพืช พบว่าการทดสอบองค์ประกอบทางเคมีของพืชชนิดต่าง ๆ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าสารองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสะเดา ที่ความเข้มข้น 2% มีประสิทธิภาพในการไล่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงสุดที่ 90% ของจำนวนแมลงที่ได้รับการทดสอบในแปลงทดสอบ

2.2.1 จันท์แปดกลีบ

จันท์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook.f.)) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ จันท์แปดกลีบ เป็นพืชยืนต้นที่มีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก โดยมีอายุประมาณ 80-100 ปี ใบเดี่ยวรูปไข่ ปลายใบ และในใบแหลม ขอบใบเรียว ใบเขียวตลอดปี ออกดอกเป็นดอกเดี่ยวสีขาวหรือสีแดง ผลเป็นรูปดาว ผลมีพู 5-13 พูแต่ส่วนมากมักจะมี 8 พู (ภาพที่ 2.3) เมล็ดรูปไข่แบน มีสีน้ำตาลเป็นเงาเรียบ แต่ละพูมี 1 เมล็ด ผลของจันท์แปดกลีบญี่ปุ่นมีสีและขนาดเล็กกว่าจันท์แปดกลีบจีน รสเปรี้ยวและมีพิษมาก มีสรรพคุณ โดยมีฤทธิ์ขับลม ขับเสมหะ เป็นส่วนผสมของยาแก้ไอและยาอม methyl eugenol ที่สกัดได้จากใบเบย์ และ West Indian Bay มีฤทธิ์ระงับความเจ็บปวด และก่อให้เกิดการเสพติดในหนู น้ำมันหอมระเหยออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ และเชื้อรา ทำให้หัวใจเต้นช้าและความดันโลหิตในสัตว์ทดลองต่ำ ยาพื้นบ้านใช้เป็นยาขับน้ำดี ขับลมและเหงื่อ ประโยชน์อื่น ๆ คือ เป็นเครื่องเทศแต่งกลิ่นอาหารโดยเฉพาะพะโล้ ใช้กลบกลิ่นยาและเครื่องสำอาง แต่งกลิ่นยาสีพื้น

เครื่องหอม สบู่ ครีม เป็นต้น โดยมีสาระสำคัญ พบในจันทน์แปดกลีบ ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 5 เป็นสาร *t*-anethole, estragole, cineole และอื่น ๆ (วันทนีย์ สว่างอารมณ์. 2542)



ภาพที่ 2.3 จันทน์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook.f.))

2.2.2 ตะไคร้บ้าน

ตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus* (Dc.ex.Nees)) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ ตะไคร้บ้านเป็นพืชล้มลุกจำพวกหญ้า ขนาดสูงประมาณ 60 เซนติเมตร ใบแตกออกเป็นกอขาวแคบและคาย (ภาพที่ 2.4) ใบมีกลิ่นหอม ลำต้นส่วนที่อ่อนจะมีใบเรียงซ้อนสลับกันแน่นมาก ใบมีกาบ ใบเป็นแผ่นยาวโอบซ้อนกันจนดูแข็ง คล้ายลำต้น ดอกเป็นช่อยาวมาก ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ ๆ ใบแต่ละคู่จะมีใบประดับรองรับ ซึ่งจะเห็นดอกตะไคร้บ้านยากมาก เพราะขยายกันโดยการแตกหน่อ มีสรรพคุณ ทั้งต้นรักษาโรคหืด แก้ปวดท้อง ขับปัสสาวะ บำรุงธาตุ ขับเหงื่อ หัวรักษาเกื้อน แก้ท้องอืด เพื่อ นีว ลดความดัน ใบสดช่วยลดความดันสูง แก้ไข้ รากแก้ปวดท้อง ท้องเสีย ต้นขับลม ช่วยทำให้เจริญอาหาร โรคทางเดินปัสสาวะ และช่วยดับกลิ่นคาวอาหาร โดยมีสารสำคัญ ในน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเรียกว่า Lemon glass oil จะประกอบไปด้วยสาร citral ประมาณ 80 % และพบ

myrcene, terpineol, geraneol, Nerol, farnesol, citronellol, linolool, citronellal (สมสุข มิจฉาชีพ. 2534; นิจสิริ เรื่องรังสี และ พะยอม ตันติวัฒน์. 2552)



ภาพที่ 2.4 ตะไคร้บ้าน (*Cymbopogon citratus* (Dc.ex.Nees))

2.3 การใช้พืชสมุนไพรในการป้องกันกำจัดแมลง

น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดจากพืชสมุนไพรมีความนิยมอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลง เนื่องจากความนิยมในการปลูกพืชอินทรีย์และผู้บริโภคเริ่มใส่ใจต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น โดยน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์เป็นสารไล่ ฆ่า ยับยั้งการกิน ยับยั้งการเจริญเติบโต ยับยั้งการวางไข่ ยับยั้งการสืบพันธุ์ ลดการเจริญเติบโตต่อแมลงหลากหลายชนิด (Don-Perdo. 1996; Elzen and Hardee. 2003; Koshier and Sedy. 2001; Lu. 1995; Pereira, S.G. et al., 2006; Regnault-Roger, C. et al., 2012; Shelton, A.M. et al., 2002; Sithisut, D. et al., 2011; Tripathi, A.K. et al. 2003). น้ำมันหอมระเหยมีความน่าสนใจเพราะมีผลต่อระยะตัวอ่อนเช่น ผีเสื้อยิปซี *Lymantria dispar* (Lepi-doptera: Lymantridae, gypsy moth) (Moretti, M.D.L. et al. 2000) ออกฤทธิ์เป็นสารกำจัด

แมลง สารไล่ ต่อตัวอ่อนของ มด แมลงสาบ ตัวเรือด เหามนุษย์ แมลงวัน ผีเสื้อ และมีพิษต่อปลวก อีกด้วย น้ำมันหอมระเหยของมินต์ (*Mentha piperita*) มีฤทธิ์ในการไล่ มด แมลงวัน เหา ผีเสื้อ และมีฤทธิ์ในการฆ่า ค้างคาวเขียว (*Callosobruchus maculatus*) และ มอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) (Kordali, S. et al. 2005) น้ำมันหอมระเหยจากผักชี (*Trachyspermum sp.*) มีฤทธิ์ในการกำจัดตัวอ่อนของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) และ ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) (Tripathi, A.K. et al. 2000) Nepetalactone เป็นสารออกฤทธิ์ที่ได้จากน้ำมันหอมระเหยจากกัญชาแมว (*Nepeta cataria*) มีประสิทธิภาพสูงในการไล่ ยุง ผี และแมลงจำพวกแมลงวัน พบว่ามีฤทธิ์ในการไล่มากกว่าสารเคมีกำจัดแมลง DEET มีประสิทธิภาพมากกว่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อ ยุงลายบ้าน (*A. aegypti*) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคไวรัสไข้เหลือง น้ำมันหอมระเหยจาก *Zingiber officinale* rhizomes และ *Piper cubeba* berries สกัดผลแบบสารกำจัดแมลง ในรูปของสารยับยั้งการกินต่อมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) และ ค้างคาวข้าว (*Sitophilus oryzae*) (Chaubey. 2012a, 2012b) น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลดาวเรือง มีฤทธิ์ต้านแมลง ต่อ *Ceratitis capitata* และ *Triatoma infestans* (Lopez, S.B. et al. 2011) น้ำมันหอมระเหยจากทีทรี (*Melaleuca alternifolia*) มีฤทธิ์ในการรม และมีความเป็นพิษต่อค้างคาวข้าวโพด (*Sitophilus zeamais*) โดยที่ความเข้มข้นที่ 9.56 mg/L air ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีอัตราการตายของค้างคาวข้าวโพดมากกว่า 60 % (Min, L. et al. 2016) มีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากโรสแมรี่, ออริกาโน, ยาร์โรว์, ยูคาลิปตัส และ สะระแหน่ เพราะมีความปลอดภัยสำหรับการใช้แบบปกติหรือวิธีการรมสารต่อการป้องกันกำจัดแมลงสาบ น้ำมันหอมระเหยจากโอริกาโนมีคุณสมบัติเป็นสารขับไล่ที่มีประสิทธิภาพต่อแมลงสาบแถบสีน้ำตาล (*Supella longipalpa*) (Sharififard, M. et al. 2016). Kanat, M. et al. (2003) ได้ทำการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชหลายชนิดมีความเป็นสารกำจัดแมลงต่อตัวอ่อนของ pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยของไบเบย์ (*Laurus nobilis*) มีความเป็นพิษต่อ มอดหัวป้อม (*Rhyzopertha Dominica*) และมอดแป้ง (*T. castaneum*) (Ben Jemba, J.M. et al. 2012) อีกด้วย น้ำมันหอมระเหยจากลาเวนเดอร์ (*Lavandula hybrida*) โรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) และยูคาลิปตัส (*Eucalyptus Globulus*) มีฤทธิ์เป็นสารกำจัดแมลงต่อตัวเต็มวัยค้างคาวแดง (*Acanthoscelides obtectus*) (Papachristos, D.P. et al. 2004) นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยจาก *Tagetes minuta* มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อ *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae) อีกทั้งยังเป็นสารกำจัดไร และสารไล่อีกด้วย (Chaaban, A. et al 2017) eugenol เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำมันหอมระเหยจากโหระพามีฤทธิ์ในการไล่ยุงได้ดี และ linalool ที่อยู่ในน้ำมันหอมระเหยจากโหระพา มีความเป็นพิษต่อ *Bruchid zabrotes sub fasciatus* และแมลงศัตรูในโรงเก็บชนิดอื่น ๆ (Chogo and Crank.

1981; Weaver, D.K. et al.1991) น้ำมันหอมระเหยจากกระตือป้า (*Zingiber zerumbet*) มีฤทธิ์ในการไล่มอดคยาสูบ (*Lasioderma serricorne*) โดยมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 48.3 µg/adult (Wu et al., 2017) น้ำมันหอมระเหยจาก *Juniperus procera* ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการไล่ยุงก้นปล้อง (*Anopheles arabiensis*) ซึ่งเป็นพาหะของโรคมาลาเรีย (Karunamoorthi, K. et al. 2014) สาร Terpinen-4-ol; 1,8-cineol; verbenone และ camphorin เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่ได้จากน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส มีฤทธิ์ในการฆ่าตัวแมลง (*A. obtectus*) (Tholl. 2006) อีกทั้งยังมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินต่อแมลงจำพวกกั๊กกิน และเป็นสารป้องกันกำจัดแมลงจำพวกยุง (Bakkali, F. et al. 2008; Batish, D.R. et al. 2008; Fradin and Day. 2002; Isman and Machial. 2006) แต่มีรายงานจาก Lucia, A. et al. (2007) ได้กล่าวไว้ว่า น้ำมันสน (turpentine) มีประสิทธิภาพในการฆ่าได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยจากยูคาลิปตัส (*Eucalyptus globules*) โดยมีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงลาย (*Aegypti larvae*) โดยมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 14.7, 32.4 ppm ตามลำดับ Seyoum, A. et al. (2003) ได้รายงานไว้ว่ามีการเผาใบยูคาลิปตัส (*Eucalyptus citriodora*) เพื่อใช้ในการป้องกันกำจัดยุงในแอฟริกา นอกจากนี้ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรค (Center for Disease Control and Prevention (CDC), USA) แนะนำให้ใช้น้ำมันหอมระเหยจากมะนาวและยูคาลิปตัส (ที่มี p-menthane-3,8-diol, PMD เป็นสารออกฤทธิ์) เพื่อป้องกันโรคไข้สมองอักเสบจากเชื้อไวรัสเวสต์ไนล์ ที่ส่งผลกระทบต่อทางระบบประสาทหรืออาจทำให้ตายได้ โดยที่มียุงเป็นพาหะ (CDC. 2005)

2.4 การใช้พืชสมุนไพรในรูปแบบของสารนาโนในการป้องกันกำจัดแมลง

ในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมาได้มีการวิจัยอย่างกว้างขวางเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากอนุภาคนาโน สำหรับสูตรที่ใช้ทำในตอนนี้ที่ได้รับความนิยมอย่างมากคือการใช้ไมโครอิมัลชันและนาโนอิมัลชัน แม้อาจดูเหมือนว่าจะได้รับการยอมรับและใช้อย่างแพร่หลาย แต่พบว่ายังมีข้อจำกัดอื่น ๆ เช่น ความเสถียรของสาร กระบวนการขึ้นตอนในการผลิต และแหล่งที่มาของสาร (Anton, N. et al., 2008; Sharma, N. et al., 2010) คำว่า ไมโครอิมัลชัน สามารถนิยามได้ว่า การที่นำสารสองสารที่ไม่สามารถผสมกันได้นำมาทำให้สามารถกระจายและเป็นเนื้อเดียวกัน มีเสถียรภาพทางอุณหพลศาสตร์ ของเหลวที่มีความเสถียรนี้จะถูกเคลือบด้วยสารลดแรงตึงผิว อาจมีขนาดอนุภาคมากกว่า 500 nm และต้องการพลังงานน้อยกว่ามากในการผสมอิมัลชัน เนื่องจากมันจะเกิดปฏิกิริยาขึ้นเองเมื่อนำส่วนประกอบของน้ำ น้ำมัน และ amphiphilic มาผสมกัน นอกจากนี้ยังมีต้นทุนการผลิตที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารนาโนอิมัลชัน แต่ข้อเสียอย่างหนึ่งที่สำคัญของสารไมโครอิมัลชันคือ

การก่อตัวนั้นต้องใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่สูง ซึ่งอาจก่อให้เกิดพิษได้เมื่อใช้ในทางเกษตรกรรม ในทางตรงกันข้ามสารนาโนอิมัลชันนั้นมีการใช้ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวที่ต่ำกว่ามาก (Ghosh, V. et al., 2012; Peng, L.C. et al., 2010; Tadros, T. et al., 2004) ในปัจจุบันมีการให้ความสนใจเกี่ยวกับการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชในรูปของสารนาโน (Duarte, J.L. et al., 2015; Li and Lu, 2016; Donsi and Ferrari, 2016) โดยสารนาโนอิมัลชันอยู่ในรูปของ ไอโซโทรปิกที่มีความเสถียร มีส่วนผสมที่ประกอบด้วยน้ำมัน สารลดแรงตึงผิว และน้ำ มีขนาดของอนุภาคอยู่ในช่วง 10-100 นาโนเมตร (Shafiq, S. et al., 2007; Mei, Z. et al., 2003) แม้ว่างานวิจัยเกี่ยวกับนาโนอิมัลชันมีการพัฒนาอย่างมาก แต่มีรายงานว่ามิศึกษาโดยใช้พืชน้อยมากเนื่องจากสารจากพืชไม่ละลายในน้ำ ข้อจำกัดดังกล่าวสามารถทำได้โดยการเคลือบน้ำมันเหล่านี้ในรูปของนาโนอิมัลชันหรือ ในน้ำมันกับน้ำได้เช่นกัน (Chang, Y.H. et al., 2012; Ziani, K. et al., 2011) มีรายงานว่าสามารถเกิดอิมัลชันที่เกิดขึ้นเองของน้ำมันหอมระเหยให้เป็นอิมัลชันนาโนที่ง่ายและคุ้มค่า (Chang, Y.H. et al., 2013) สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความผันผวนและมีความไวต่อการย่อยสลาย และมีความเหมาะสมกับนาโนอิมัลชัน (Jhones, L.D.O. et al., 2014) ตัวอย่างของการศึกษาการใช้สารจากพืชนาโนในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชชนิดอื่น ๆ Sabbour and El- Aziz. (2016) ได้ศึกษาเรื่องผลกระทบการเคลือบน้ำมันหอมระเหยธรรมชาติและนาโนจากพืชเพื่อกำจัด *Ephestia cautella* (Lepidoptera-Pyralidae) ในห้องปฏิบัติการและร้านค้าที่พบแมลง พบว่างานวิจัยนี้ใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นสารทดสอบ (กลุ่มควบคุมและอนุภาคนาโน) ของคุณนายต้นสาย มัสตาร์ด และละหุ่ง ในรูปของการยับยั้งรังไข่และการฆ่าตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของหนอน *E. cautella* ภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการและสภาพพื้นที่จริงที่ พบว่าน้ำมันที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยจากต้นคุณนายต้นสาย (กลุ่มควบคุมและอนุภาคนาโน) ตามมาด้วยมัสตาร์ดและละหุ่งในการฆ่าตัวอ่อนของ *E. cautella* ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น นอกจากนี้ Ali, E. et al. (2017) ได้ศึกษาเรื่องฤทธิ์ของสูตรผสมน้ำมันหอมระเหยนานาโนจากตะไคร้หอม และสะเดา ต่อโรคพืช *Rhizoctonia solani* และ *Sclerotium rolfsii* พบว่าน้ำมันหอมระเหยนานาโนสูตรผสมระหว่างตะไคร้หอม และสะเดา มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อโรคพืชได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยปกติ ต่อโรคพืชทั้งสองชนิด

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ในการดำเนินงานวิจัย

3.1.1 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช

1. เครื่อง High Pressure Homogenizer รุ่น M-110P Microfluidizer (บริษัท MicroFluidics)
2. สารลดแรงตึงผิวหลัก (surfactant) คือ Tween 60 (HLB=15) Tween 20 (HLB=16.7)
3. สารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) ethylene glycol 400 (PEG 400) (HLB=13)
4. ผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยสำเร็จรูป จากบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด ที่ได้รับการรับรอง HACCP พืชสมุนไพรที่สั่งซื้อคือ น้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ
5. เครื่อง Nano plus Zeta/Nano Particle Analyzer (บริษัท Particulate Systems)
6. ออโตปิเปต (autopipette)
 - ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 10 ml
 - ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 5 ml
 - ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 1000 μ l
7. บีกเกอร์
8. แท่งแก้ว
9. ขวดเก็บน้ำมันหอมระเหย ขนาด 1 L

3.1.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในจานเพาะเชื้อ

1. เชื้อแบคทีเรียชนิดปีกล้วน ก: ตัวเต็มวัย; ข: ตัวอ่อน
2. ขี้วัวพันธุ์หอมมะลิ 105
3. กรงเพาะเลี้ยงแมลงขนาด 50x100x50 cm
4. กล่องเพาะข้าวขนาด 13x18 cm
5. เครื่องดูดแมลง (aspirator)

3.1.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเชื้อแบคทีเรีย

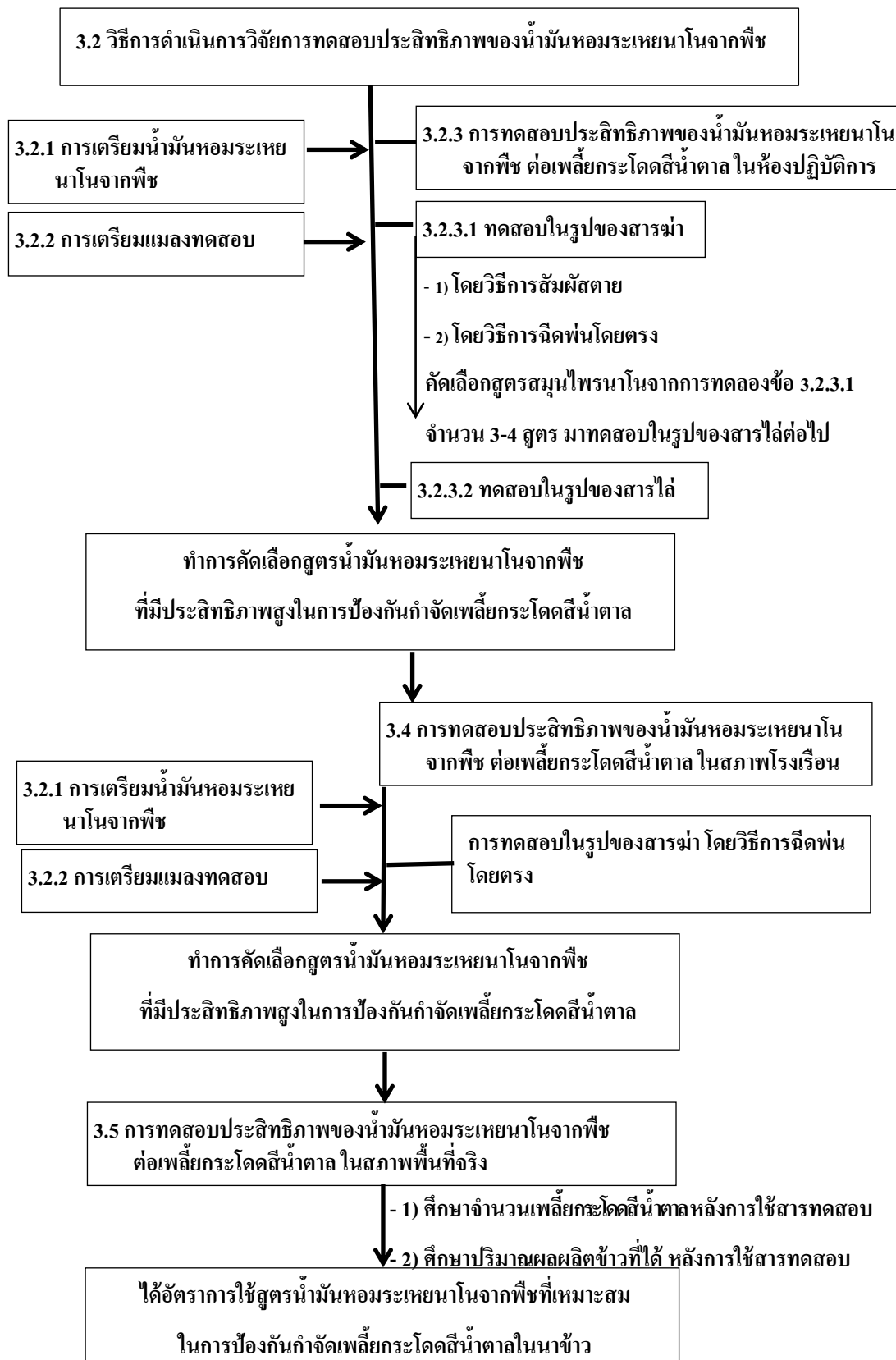
น้ำตา

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. ทรายกรองเบอร์ 1
3. ออโตปิเปต (autopipette)

- ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 10 ml
 - ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 5 ml
 - ออโตปิเปต (autopipette) ขนาด 1000 μ l
4. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น สมุด ดินสอ ปากกา เครื่องนับแมลง
 5. ต้นข้าวทดสอบอายุ 35-45 วัน
 6. กระจ่างปลูกข้าวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 cm สูง 21 cm
 7. กรงเพาะเลี้ยงแมลงขนาด 50x50x50 cm
 8. เครื่องฉีดพ่น Potter's spray tower ยี่ห้อ LabHEAT ขนาด 5 L (ภาพที่ 3.5)
 9. พาราฟิล์ม
 10. กระดาษเรเบล หรือ ป้ายแสดงทริตเมนต์
 11. เครื่องดูดแมลง (aspirator)
 12. กรงทดสอบแมลงขนาด 40x80x100 cm
 13. ผ้าพลาสติก
 14. สวิง โคมแมลง
 15. เครื่องฉีดพ่นสารแบบมาตรฐาน ขนาด 30 L
 16. สารกำจัดแมลง imidacloprid 0.5%
 17. อุปกรณ์สำหรับตรวจนับแมลงเช่น พู่กัน แวนชยาย เข็มเขี่ยแมลง
 18. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างแมลง ขวดใสขนาด 100 ml
 19. สารนอคมแมลง ethyl acetate
 20. กล้องทดสอบแมลงขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 17 cm สูง 30 cm
 21. ขวดสเปรย์ขนาด 50 ml
 22. cylinder ขนาด 500 ml
 23. ขวดสีชา (amber vial)

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรือนทดลอง และสภาพแปลงพื้นที่จริง ดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 แผนการดำเนินงานการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทั้งในห้องปฏิบัติการ สภาพโรงเรียนทดลอง และสภาพแปลง

3.2.1 การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช

การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชสมุนไพร การเตรียมน้ำมันหอมระเหยนาโน ตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบที่ใช้ในการทดลอง ที่ได้จากผลิตภัณฑ์น้ำมันหอมระเหยสำเร็จรูป จากบริษัทอุตสาหกรรมเครื่องหอมไทย-จีน จำกัด นำน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบที่มีอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ผสมกับ สารลดแรงตึงผิวหลัก (surfactant) คือ tween 60 (HLB=15) tween 20 (HLB=16.7) และสารลดแรงตึงผิวร่วม (co-surfactant) ethylene glycol 400 (PEG400) (HLB=13) จากนั้นนำ surfactant และ co-surfactant ข้างต้นมาจับคู่กัน ด้วยอัตราส่วนผสมต่าง ๆ เรียกว่า S_{mix} หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และทำการลดขนาดอนุภาคโดยมีขั้นตอนดังนี้

1) การลดขนาดอนุภาคสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืช โดยนำสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืช ที่อยู่ในรูปของอิมัลชันน้ำมันหอมระเหย มาลดขนาดด้วยเครื่อง High Pressure Homogenizer รุ่น M-110P Microfluidizer (บริษัท MicroFluidics) (ภาพที่3.2) ที่ระดับความดัน 15,000 – 30,000 psi จำนวน 1-3 รอบ

2) วิเคราะห์ขนาดอนุภาคสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชเฉลี่ย โดยทำการเจือจางอิมัลชัน โดยใช้ น้ำกลั่น ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำตัวอย่างที่เตรียมได้มาวัดขนาดอนุภาคด้วยเครื่อง Nano plus Zeta/Nano Particle Analyzer (บริษัท Particulate Systems) (ภาพที่3.3) ทำการวัดที่อุณหภูมิ 25 °C โดยวิเคราะห์หาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยของอนุภาคโดยใช้หลักการกระเจิงของแสงแบบ พลวัต (dynamic light scattering) ขนาดของอนุภาคมีความสัมพันธ์กับความเร็วในการเคลื่อนที่แบบบราวน์เนียน

3) การวัดประจุ Zeta Potential ของอิมัลชันสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืช ด้วยเครื่อง Nano plus Zeta/Nano Particle Analyzer (บริษัท Particulate Systems)

4) การตรวจสอบการคงตัว โดยนำตัวอย่างที่เตรียมได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องโดยประเมิน จากระยะเวลาที่เกิดการแยกชั้น รายงานเป็นค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลาง จะได้ค่า Diameter (D), Polydispersity (P) และ Zeta Potential (Z) ซึ่งอัตราส่วนผสมและค่า D, P และ Z เป็นดังนี้

อัตราส่วนผสมของ C (ตะไคร้บ้าน): tween 20 : PEG 400 = 1 : 4 : 2.5 เรียกว่า nC

ค่า D = 34.5, P = 0.191, Z = -6.75

อัตราส่วนผสมของ I (จันทน์แปดกลีบ): tween 60 : PEG 400 = 1 : 4.5 : 1.5 เรียกว่า nI

ค่า D = 92.83, P = 0.206, Z = -2.92

นำน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโนแต่ละชนิด (nC และ nI) มาผสมเป็นสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน จำนวน 2 สูตร ดังนี้

nI : nC = 1 : 3 และ nI : nC = 2 : 2 ได้สูตร nI1C3 และ nI2C2 ตามลำดับ

นำสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนที่ได้ ไปทดสอบกับแมลงศัตรูชนิดต่าง ๆ ต่อไป โดยเปรียบเทียบกับสูตรพื้นฐานก่อนทำการลดอนุภาค ในห้องปฏิบัติการและสภาพจริงต่อไป



ภาพที่ 3.2 เครื่อง High pressure homogenizer รุ่น M – 110P



ภาพที่ 3.3 เครื่อง Nano plus zeta / Nano particle analyzer

3.2.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยการข้าว จังหวัดปทุมธานี นำมาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณ โดยใช้ข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105 ในถาดเพาะข้าวขนาด 13x18 cm (ภาพที่ 3.4) ให้สูงประมาณ 10 cm จากนั้นนำเครื่องดูดแมลง (aspirators) ดูดตัวเต็มวัยของเชื้อแบคทีเรียตกลงไปในต้นกล้าข้าว ทำการเพาะเลี้ยงภายในโรงเพาะเลี้ยงแมลงขนาด 50x100x50 cm (ภาพที่ 3.5) หลังจากนั้นเมื่อต้นข้าวมีลักษณะใบเหลืองและเหี่ยว ทำการเปลี่ยนต้นกล้าข้าวต้นใหม่แทนต้นเดิม และทำการย้ายแมลงโดยการเคาะแมลงจากถาดเพาะข้าวเดิมใส่ลงในถาดเพาะข้าวใหม่ปล่อยทิ้งไว้ 2-3 วัน เพื่อให้แมลงทำการวางไข่ จากนั้นนำถาดเพาะข้าวที่มีแมลงวางไข่มาเคาะเอา

ตัวเต็มวัยออกไปเลี้ยงในกรงอื่น ทั้งไว้ 6-7 วัน ไข่จะฟักเป็นตัวอ่อน ในการเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำการเลี้ยงภายในโรงเรือนห้องปฏิบัติการ ของภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยนำตัวอ่อน และตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลรุ่นที่ 2-3 มาใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 3.4 กล่องเพาะข้าวเพื่อเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล



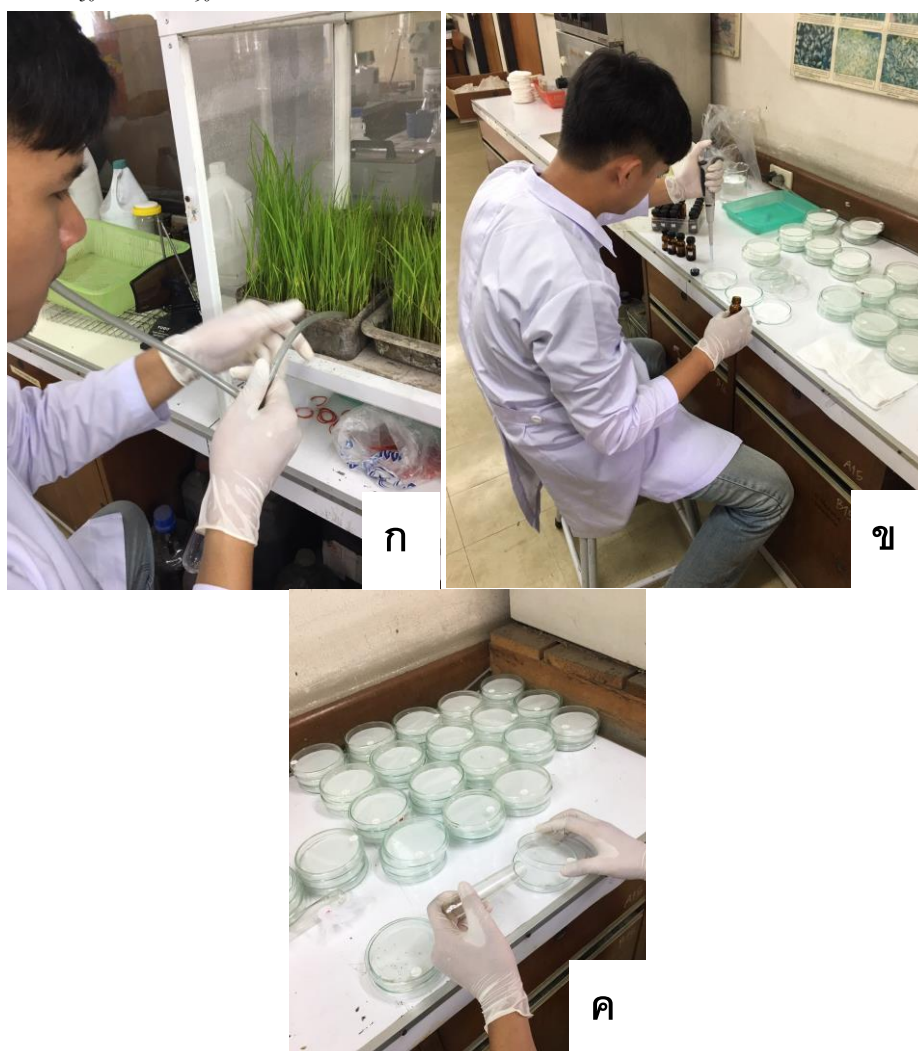
ภาพที่ 3.5 กรงเพาะเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ขนาด 50x100x50 cm

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน และ จันทน์แปดกลีบ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ

3.2.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในรูปแบบสารฆ่า

1) การทดสอบ โดยวิธีการสัมผัส (Residual contact method)

ทำการทดลองประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช (ตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบ) โดยใช้วิธีการสัมผัสตาย ใช้สารทดสอบปริมาตร 1 มิลลิลิตรที่ความเข้มข้น 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1% ลงบนกระดาษกรอง จากนั้นฝังให้แห้งในที่ร่มเป็นเวลา 10 นาที วางไว้ในจานเพาะเชื้อ (เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 cm สูง 1.2 cm) จากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 20 ตัว ลงไปยังแต่ละการทดลอง (ภาพที่ 3.6) ตรวจนับเปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง คำนวณอัตราการตายที่เกิดขึ้นจริงโดยใช้สูตรของ Abbott (Abbott, 1987) การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และคำนวณค่า LC_{50} และ LC_{90} โดยใช้โปรแกรมสำหรับการคำนวณ probit analysis



ภาพที่ 3.6 ก: ใช้ aspirator ดูดตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อใช้ในการทดลอง ข: ใช้ข้อโตะเปิดขนาด 1 ml ดูดสารหยดลงบนกระดาษกรองที่อยู่ภายในจานเพาะเชื้อ ค: ปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงไปในการเพาะเชื้อ

2) การทดสอบ โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง (Direct spray method)

ทำการสูบลำตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วยหลอดดูดแมลง (Aspirator) จำนวน 20 ตัว ทำให้สลบด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 5 วินาที จากนั้นย้ายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงในจานเพาะเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ที่มีกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ทำการทดสอบโดยใช้น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรที่อัตราความเข้มข้น 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 และ 0.6 % ประกอบด้วย

1. กลุ่มควบคุม
2. น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ อัตราความเข้มข้นต่างๆ
3. น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน ตามอัตราความเข้มข้นต่างๆ
4. น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ ตามอัตราความเข้มข้นต่างๆ
5. น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน ตามอัตราความเข้มข้นต่างๆ

โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ปริมาณ 5 ml ด้วยเครื่อง Potter's spray tower (ภาพที่ 3.7) ที่ความดัน 10 psi ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ และทำการตรวจนับหาอัตราการตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ 12 และ 24 ชั่วโมง คำนวณอัตราการตายที่เกิดขึ้นจริง โดยใช้สูตรของ Abbott (Abbott, 1987) การทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และคำนวณค่า LC_{50} และ LC_{90} โดยใช้โปรแกรมสำหรับการคำนวณ probit analysis

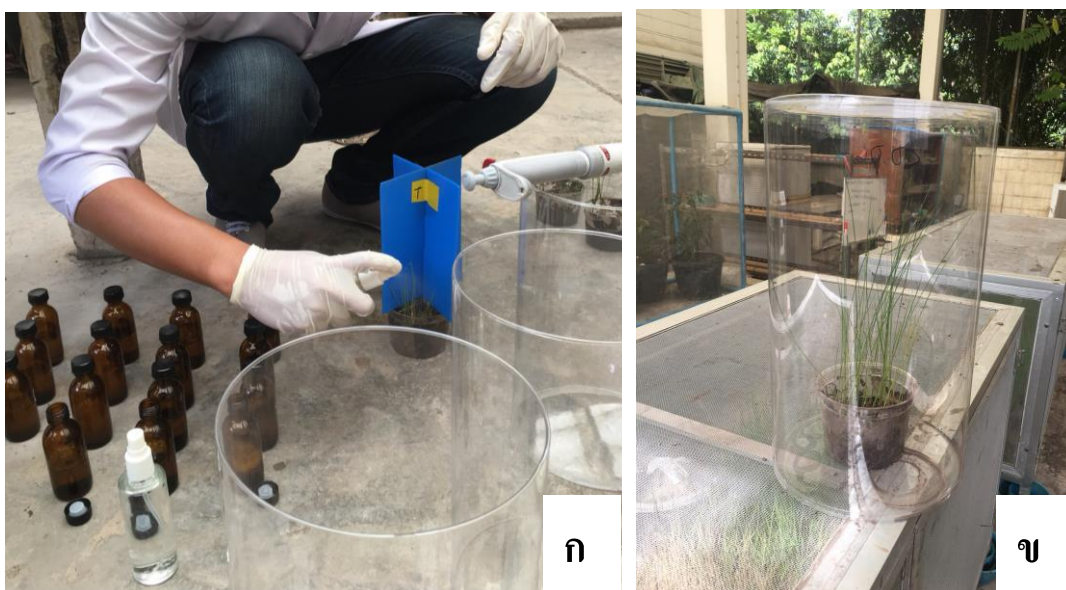


ภาพที่ 3.7 เครื่อง Potter's spray tower

3.2.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืช ในรูปแบบสารไล่

ทำการทดลองประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชในรูปแบบของสารไล่เป็นการทดลองแบบมีทางเลือก (choice test) โดยใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 10 วัน ที่เพาะเลี้ยงในกระถางภายในกล่องทดสอบ โดย 1 กล่องทดสอบ ประกอบด้วยต้นข้าวจำนวน 4 กอ คือกอที่เป็นชุดควบคุมและกอที่ฉีดพ่นสาร จากนั้นทำการปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 20 ตัวต่อกล่องทดสอบ นับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลก่อน จึงทำการฉีดพ่นสารทดสอบที่คัดเลือกมาจากข้อ 3.2.3.1 จำนวน 3-4 สาร นั่นก็คือน้ำมันหอมระเหยนาโน และ น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ และ ตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.02, 0.06 และ 0.1 % ส่วนชุดควบคุมนั้นทำการฉีดพ่นน้ำผสม tween ในอัตราสองเท่าของสารทดสอบ (ภาพที่ 3.8)

จากนั้นให้ตรวจนับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่อยู่ตามชุดของทริตเมนต์ที่เวลา 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง แผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 4 ซ้ำ และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่ ดัชนีการไล่ (%repellent index; %RI) ที่ 12, 24, 36, 48 ชั่วโมง โดยใช้สูตร $\%RI = [(C-T)/(C+T)] \times 100$ (เมื่อ C คือเปอร์เซ็นต์การกินในชุดควบคุม และ T คือเปอร์เซ็นต์การกินในชุดทดลอง) (Pascual-Villalobos and Robledo, 1998).



ภาพที่ 3.8 ก: ฉีดพ่นสารทดสอบบริเวณกอข้าวตามทริตเมนต์ ข: กล่องทดสอบทรงกระบอก

3.2.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง

ทำการทดสอบกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 อายุ 45 วัน (ภาพที่ 3.9) ที่เพาะเลี้ยงไว้ในกระถางคลุมด้วยกรงทดสอบตาข่ายขนาด 40x40x100 cm (ภาพที่ 3.10) ทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จำนวน 20 ตัว ต่อ 1 ครงทดสอบ นับจำนวนอัตราเฉลี่ยกระโดดสีน้ำตาล หลังจากนั้น 1 วัน จึงทำการฉีดพ่นสาร สารถดสอบที่ได้คัดเลือกมาจากข้อ 7.3 จำนวน 2 สูตร โดยใช้ปริมาตร 10 ml ต่อ 1 ครงถาง ประกอบด้วย

1. กลุ่มควบคุม (น้ำผสมกับ tween ในอัตราสองเท่าของสารถดสอบ)
2. น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) สูตร nI1C3 (อัตรา 1:3) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5%
3. น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) สูตร nI2C2 (อัตรา 2:2) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5%

จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยเฉลี่ยกระโดดสีน้ำตาลก่อนการฉีดพ่นสาร และตรวจนับจำนวนเฉลี่ยกระโดดสีน้ำตาลวันที่ 1, 3, 5 และ 7 ตามแผนการทดลองแบบ RCBD ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ



ภาพที่ 3.9 ต้นข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อายุ 45 วัน



ภาพที่ 3.10 กรงทดสอบตาข่ายขนาด 40x40x100 cm

3.2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง

ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลง ทำการทดสอบในพื้นที่เพาะปลูกข้าว ตำบลห้วยคันเหลวน อำเภอวิเศษชัยชาญ จังหวัดอ่างทอง จำนวน 2 แปลง ซึ่งแต่ละแปลงใช้พื้นที่ทดลอง 1 งาน ซึ่งประกอบด้วยแปลงย่อย ขนาด 3x3 m จำนวน 16 แปลงย่อย ซึ่งมีระยะห่างระหว่างแปลง 50 cm มีการวางแผนแบบ RCBD แบบสุ่มประกอบด้วย 4 การทดลอง มี 4 ซ้ำการทดลอง การปลูกข้าวจะดำเนินการปลูกแบบนาดำ โดยเริ่มต้นจากการเพาะกล้าข้าวพันธุ์ กข 41 และเมื่อข้าวอายุได้ 30 วัน ถอนกล้าเพื่อนำมาปลูกในแปลงทดลองแบบนาดำ เมื่อข้าวอายุได้ 45 วัน หลังจากทำการดำนาข้าวแล้ว จึงดำเนินการทดลองต่อไป ทำการฉีดพ่น 2 ครั้ง คือ ฉีดพ่นครั้งแรก เมื่อข้าวมีระยะแตกกอ (45 วัน) และทำการทดสอบสารฉีดพ่นอีก 1 ครั้งในระยะข้าวออกรวง (90 วัน) ดำเนินการตรวจนับแมลงเช่นเดียวกับฉีดพ่นครั้งแรก ขั้นตอนในการฉีดพ่นมีดังนี้ ทำการตรวจนับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงทดสอบ 1 วัน ก่อนฉีดพ่นสารทดสอบ จากนั้นทำการฉีดพ่นสารทดสอบสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช สูตร n1C3 และ n12C2 ที่ความเข้มข้น 0.25% สารกำจัดแมลง imidacloprid 0.5% ต่อ น้ำ 20 L/rai ขณะที่ฉีดพ่นสารทดสอบใช้ผ้าพลาสติกกัน (ภาพที่ 3.11) เพื่อป้องกันละอองปนเปื้อนต่อแปลงทดสอบข้างเคียง และกลุ่มควบคุม (control) ไม่ทำการฉีดพ่นสารใด ๆ ตรวจนับจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงทดสอบอีกครั้งในวันที่ 1,3,5 และ 7 หลังการฉีดพ่นสารทดสอบ หลังจากได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชสมุนไพรทั้งสองชนิดแล้วเมื่อถึงฤดูเก็บเกี่ยว ได้ทำการเก็บผลผลิตข้าวที่ได้จากในแปลงทดสอบแต่ละแปลงนำมา

อบที่อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 7 วัน จะได้น้ำหนักข้าวเปลือกของแต่ละแปลงการทดสอบ โดยทำการคำนวณให้การให้ผลผลิตจากแปลงทดสอบต่อไร่ ดังนี้ $\frac{\text{น้ำหนักข้าวเปลือก} \times 1600 \text{ ตารางเมตร (ไร่)}}{36 \text{ ตารางเมตร (เนื้อที่ของแปลงทดสอบจำนวน 4 แปลง)}}$

วิธีการตรวจนับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีวิธีการ 2 วิธีด้วยกัน คือ ใช้วิธีโอบด้วยสวิง และวิธีตรวจนับด้วยสายตาเปล่า โดยการโอบสวิงแบบสลับฟันปลาจำนวน 15 ครั้งต่อ 1 แปลงย่อย และวิธีตรวจนับด้วยสายตาเปล่า โดยทำการสุ่มตรวจนับกอข้าวในแปลงย่อยจำนวน 15 กอ ในแนวทแยง หลังจากได้ตัวอย่างเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแล้ว จะดำเนินการตรวจนับ คัดแยก และนับปริมาณแมลงในห้องปฏิบัติการ (ภาพที่ 3.12)



ภาพที่ 3.11 วิธีการฉีดพ่นสารทดสอบ โดยใช้ผ้าใบตาข่ายกั้นละอองสาร



ภาพที่ 3.12 ก: วิธีโอบด้วยสวิง ข: วิธีตรวจนับด้วยสายตาเปล่า

3.2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) และ RCBD (randomized complete block design) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาหาค่าอัตราการตายที่แท้จริง (Abbott, 1987) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (statistical analysis system) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($P < 0.05$) หาค่า LC_{50} และ LC_{90} (50% and 90% lethal concentration) ของน้ำมันหอมระเหยจาก จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Probit analysis

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การหาสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช

จากการทดลองสารลดแรงตึงผิวทั้งหมด 12 ชนิด ในการเตรียมสารอิมัลชันเพื่อการลดอนุภาคน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน เป็นอนุภาคนาโน ในเบื้องต้นพบว่า สารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB ระหว่าง 13.0-16.7 ในอัตราส่วนต่าง ๆ สามารถละลายได้ดีและไม่ตกตะกอนในที่นี้ พบว่าจันท์แปดกลีบ ผสม tween 20, tween 40, tween 60 และ tween 80 ในอัตราส่วนต่าง ๆ สามารถละลายและผสมได้ดี ส่วนตะไคร้บ้านผสม tween 60 และ tween 80 อัตราส่วน 1:4.5 และ 1:3.5 รวมถึงตะไคร้บ้านผสม Neopelex ที่อัตราส่วน 1:2.5 สามารถละลายได้ดีและไม่ตกตะกอน ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน กับสารลดแรงตึงผิวอื่น ๆ จะเกิดการตกตะกอน ซึ่งจะเป็นการยากที่จะทำให้เป็นอนุภาคนาโน เมื่อทำการคัดเลือกสารลดแรงตึงผิวที่เหมาะสมกับน้ำมันหอมระเหยจากพืชแต่ละชนิดแล้วจึงทำการศึกษาระหว่างน้ำมันหอมระเหยและสารลดแรงตึงผิวนั้น ๆ พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ สามารถละลายได้ดีโดยใช้ tween 20 และ 40 ในอัตราส่วน 1:2, 1:3 และ tween 60 และ 80 ในอัตราส่วน 1:4 ขณะที่น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านละลายได้ดีใน tween 60 และ 80 ที่อัตราส่วน 1:4.5 และ 1:3.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1) จากนั้นจึงนำไปวัดอนุภาคและลดขนาดอนุภาคต่อไป

ตารางที่ 4.1 การทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิว 12 ชนิด กับน้ำมันหอมระเหยจาก จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ

น้ำมันหอมระเหย	อัตราส่วนที่ผสมได้ดี	สารลดแรงตึงผิว											
		Tween 20	Tween 40	Tween 60	Tween 80	Span 20	Span 80	Span 83	Span 85	PEG 400	Neopelex	Sunsoil 1	Acacia
Control	1:1	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✗	✗	✓
	1:2	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✗	✗	✓
	1:3	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	✗	✗
	1:4	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✓	✗	✗
จันทน์แปดกลีบ	1:2	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
	1:3	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
	1:4	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
ตะไคร้บ้าน	1:2.5	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✗	✗
	1:3.5	✗	✗	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗
	1:4.5	✗	✗	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗	✗

✓ : ไม่ตกตะกอน HLB=13.0-17.6, ✗ : ตกตะกอน

ตารางที่ 4.2 สูตรการทดสอบประสิทธิภาพสารลดแรงตึงผิวที่ไม่ตกตะกอนแล้วมาผสมกับน้ำมันหอมระเหยจาก จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่อัตราส่วนต่าง ๆ กัน

น้ำมันหอมระเหย	สารลดแรงตึงผิว	อัตราส่วนที่ผสมได้ดี
จันทน์แปดกลีบ	Tween 20	(1:2), (1:3), (1:4)
	Tween 40	(1:2), (1:3), (1:4)
	Tween 60	(1:4)
	Tween 80	(1:3), (1:4)
ตะไคร้บ้าน	Tween 60	(1:4.5)
	Tween 80	(1:3.5)
	Neopelex	(1:2.5)

เมื่อสูตรน้ำมันหอมระเหยที่ละลายน้ำได้ดีทั้ง 28 สูตร ข้างต้นไปวัดขนาดอนุภาคพบว่า มีอนุภาคระหว่าง 8.9-926.7 nm โดยที่ส่วนใหญ่จะมีขนาดอนุภาคมากกว่า 100 nm ดังนั้นจึงได้ทำการคัดเลือกสูตรน้ำมันหอมระเหยที่เป็นอนุภาคนาโนหรือใกล้เคียงอนุภาคนาโน 12 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4.2) มาทำการลดขนาดที่ 15,000 psi หรือใช้ความดันที่มากกว่านั้นต่อไป ซึ่งจากการทดลองพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด สามารถใช้ร่วมกับ tween 20 หรือ tween 60 ในอัตราส่วนต่าง ๆ และนำไปลดขนาดอนุภาคจนเป็นอนุภาคนาโนได้คือ น้ำมันหอมระเหยจันทน์แปดกลีบผสม tween 20 ในอัตราส่วน 1:4 ลดอนุภาคด้วยความดัน 15,000 psi มีขนาดอนุภาค 74.27 ± 0.12 nm มีการกระจายตัวที่ดี (Polydispersity Index) แต่ยังมีค่าเสถียรไม่มากนักคือ -9.72 ± 1.70 ซึ่งควรจะมีค่ามากกว่า 30 หรือน้อยกว่า -30 ในส่วนน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้านผสมกับ tween 60 ในอัตรา 1:4.5 เมื่อใช้ลดขนาดอนุภาคด้วยความดัน 20,000 psi มีขนาด 10.77 ± 0.85 nm (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 การนำสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนไปวัดขนาดอนุภาคนาโนและทำการลดขนาดอนุภาคจากพืชสมุนไพร จันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน ในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาตร 100ml

น้ำมันหอมระเหย	สารลดแรงตึงผิว/อัตราส่วน	ค่า	ความดันที่ 15,000 psi		ความดันที่ 20,000 psi	
			ก่อนลดขนาด	หลังลดขนาด	ก่อนลดขนาด	หลังลดขนาด
จันทน์แปดกลีบ	Tween20 1:4	Diameter	102.93±2.12	74.27±0.12	-	-
		Polydispersity Index	0.12±0.02	0.18±0.01	-	-
		Zeta Potential	-3.56±1.85	-9.72±1.70	-	-
ตะไคร้บ้าน	Tween60 1:4.5	Diameter	223.50±44.04-	173.73±23.44	122.87±17.26	10.77±0.85
		Polydispersity Index	0.15±0.03	0.13±0.01	0.09±0.01	0.17±0.04
		Zeta Potential	-8.80±3.92	-15.45±0.61	-3.20±1.05	-16.85±0.63

นอกจากนี้ได้ทำการทดลองปรับปรุงสูตรอนุภาคนาโน โดยเพิ่ม PEG400 (poly ethylene glycol) ร่วมด้วย จนได้อัตราส่วนต่าง ๆ โดยเฉพาะของจันทน์แปดกลีบที่อัตราส่วน 1.5 ทำให้อนุภาคนาโนของจันทน์แปดกลีบ ที่ผ่านความดัน 15,000 psi อยู่ที่ 90.73 nm ขณะที่ของตะไคร้บ้านเพิ่ม PEG400 อัตราส่วน 2.5 ไม่ต้องผ่านความดันได้ขนาด 12.63 nm (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 การนำสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนไปวัดขนาดอนุภาคนาโนและทำการลดขนาดอนุภาคจากพืชสมุนไพร จันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ในอัตราส่วนต่าง ๆ ปริมาตร 100 ml โดยใช้ PEG400 เป็น Co-surfactant

น้ำมันหอมระเหย	อัตราส่วน/สารลดแรงตึงผิว	อัตราส่วนสารลดแรงตึงผิวรวม	ค่า	ความดันที่ 15,000 psi	
				ก่อนลดขนาด	หลังลดขนาด
จันทน์แปดกลีบ	Tween20 1:4	PEG400 1.5	Diameter	100.63±0.61	90.73±1.33
			Polydispersity Index	0.11±0.03	0.16±0.02
			Zeta Potential	-7.82±0.19	-2.92±0.97
ตะไคร้บ้าน	Tween60 1:4.5	PEG400 2.5	Diameter	12.63±0.06-	
			Polydispersity Index	0.03±0.01	
			Zeta Potential	-6.75±0.95	

ดังนั้นจึงนำน้ำมันหอมระเหยจันทน์แปดกลีบผสม tween 20 ในอัตราส่วน 1:4 และสารลดแรงตึงผิวรวม PEG400 อัตราส่วน 1.5 ทำการลดขนาดอนุภาคเพื่อให้มีขนาดอนุภาคเป็นสารนาโน โดยใช้เครื่องลดขนาดอนุภาค High pressure homogenizer ที่ผ่านความดัน 15,000 psi ได้ขนาดอนุภาคเป็นสารนาโนเท่ากับ 90.73 nm และน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้านผสม tween 60 ใน

อัตราส่วน 1:4.5 และสารลดแรงตึงผิวร่วม เมื่อนำไปวัดขนาดอนุภาคสารมีคุณสมบัติเป็นสารนาโน โดยมีอนุภาคเท่ากับ 12.63 nm โดยไม่ต้องผ่านความดันด้วยเครื่อง High pressure homogenizer จากนั้นจะนำสารที่เป็นนาโนแล้วไปใช้ในการทดสอบต่อไป

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพ็ชร์กระโดดสีน้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ

4.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพ็ชร์กระโดดสีน้ำตาล ในรูปแบบสารฆ่า

4.1.1.1 การทดสอบ โดยวิธีการสัมผัส (Residual contact method)

การทดสอบโดยวิธีการสัมผัสตาย ด้วยน้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า (EO2T) และ น้ำมันหอมระเหยนาโน (nEO) มีประสิทธิภาพต่อตัวเต็มวัยเพ็ชร์กระโดดสีน้ำตาลที่เวลา 12 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากจันทน์แปดกลีบที่ความเข้มข้น 0.1% มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยมีอัตราการตายของตัวเต็มวัยเพ็ชร์กระโดดสีน้ำตาลเท่ากับ 100% และมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.028% สารที่มีประสิทธิภาพในการฆ่ารองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้าน และ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.032, 0.042 และ 0.044% ตามลำดับ สำหรับความเป็นพิษที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้งที่เป็น น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่า และ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน มีประสิทธิภาพในการฆ่าตัวเต็มวัยเพ็ชร์กระโดดสีน้ำตาลอย่างมาก โดย น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่า และ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.025, 0.031, 0.037 และ 0.041% ตามลำดับ พบว่าทั้งเวลาที่ 12 และ 24 ชั่วโมง นั้น น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่า และ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.08 และ 0.1% ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ที่เกิดจากน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 12 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการต้มผัด

เวลา	น้ำมันหอมระเหย	เปอร์เซ็นต์การตาย ¹ (Mean±SD)						P	%CV	LC ₅₀	Slope	SE
		ความเข้มข้น (%)										
		0.0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1					
12 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	1.9±3.2 ^{Ac}	14.2±10.3 ^{Ab}	91.3±12.3 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	9.88	0.028	102.30	9.31
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	2.2±3.8 ^{Ac}	8.8±4.3 ^{Ac}	45.0±22.3 ^{Bb}	94.2±6.3 ^{Aa}	96.7±5.8 ^{Aa}	97.5±4.3 ^{Aa}	<.0001	17.74	0.042	51.00	3.43
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	0.0±0.0 ^{Ad}	9.8±4.1 ^{Ac}	78.5±8.7 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	6.08	0.032	106.36	10.21
	nEO จากตะไคร้บ้าน	1.1±1.9 ^{Ac}	20.5±14.5 ^{Ad}	35.2±10.2 ^{Bc}	70.6±7.4 ^{Bb}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	14.44	0.044	47.45	3.28
	%CV	207.28	70.49	23.06	5.32	2.91	2.14					
24 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	8.0±2.6 ^{Ac}	22.4±4.5 ^{Ab}	91.2±12.3 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	7.79	0.025	74.24	6.08
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	4.3±5.2 ^{ABc}	16.5±6.3 ^{Ac}	48.6±20.2 ^{Bb}	95.8±7.2 ^{Aa}	96.6±5.8 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	16.03	0.037	51.89	3.63
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	1.1±1.9 ^{Bd}	12.9±3.7 ^{Ac}	82.1±6.2 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	4.60	0.031	95.04	8.64
	nEO จากตะไคร้บ้าน	8.8±3.1 ^{Ad}	20.5±14.5 ^{Ad}	37.6±10.2 ^{Bc}	73.2±8 ^{Bb}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	<.0001	14.15	0.041	41.20	2.78
	%CV	61.14	46.55	20.44	5.83	2.91	0.0					

ค่าเฉลี่ยตามตัวอักษรตัวพิมพ์ใหญ่แนวตั้งและอักษรตัวพิมพ์เล็กแนวนอนที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดย DMRT (P<0.05)

EO2T = น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า

nEO = น้ำมันหอมระเหยนาโน

4.1.1.2 การทดสอบ โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง (Direct spray method)

ในการทดลองวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ผลการทดลองพบว่าที่เวลา 6 ชั่วโมง ของน้ำมันหอมระเหยทุก ๆ สาร ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.4 % ขึ้นไป ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีอัตราการตายประมาณ 50% โดย น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.6% สามารถฆ่าตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ได้ถึง 100% แต่เมื่อสังเกตค่า LC_{50} ของช่วงเวลา 6 ชั่วโมงพบว่า น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน มีค่า LC_{50} และค่า LC_{90} ดีที่สุด เท่ากับ 0.285 และ 0.492% ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ส่วนใหญ่แล้วทำให้เกิดการตายที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นที่ความเข้มข้นที่ 0.2% ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เวลา 12 ชั่วโมง ผลการทดลองค่อนข้างเหมือนกันกับเวลา 6 ชั่วโมง แต่พบว่าที่ความเข้มข้น 0.2 และ 0.6% นั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สารที่มีค่า LC_{50} ดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ โดยมีค่าเท่ากับ 0.152 และมีค่า LC_{90} เท่ากับ 0.394 ที่เวลา 18 ชั่วโมง ตั้งแต่ความเข้มข้น 0.3 – 0.6% มีอัตราการตายของตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และที่ความเข้มข้น 0.6% พบว่าน้ำมันหอมระเหยทุกสาร สามารถฆ่าตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ได้ถึง 100% ในช่วงเวลานี้ค่า LC_{50} ที่ดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ ได้เท่ากับ 0.108 ส่วนค่า LC_{90} ที่ดีที่สุดคือน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน มีค่าเท่ากับ 0.361 สุดท้ายที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่า น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน พบว่ามีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่าตั้งแต่ความเข้มข้น 0.3 – 0.6 % มีอัตราการตายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นน้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.4 และ 0.5 % เมื่อดูค่า LC_{50} พบว่าสารที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากจันทน์แปดกลีบ และ น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้าน มีค่าเท่ากับ 0.032, 0.049, 0.090 และ 0.144% ตามลำดับ สอดคล้องกับค่าของ LC_{90} ที่มีค่าเท่ากับ 0.212, 0.283, 0.321 และ 0.447% ตามลำดับ ในส่วนของชุดควบคุม พบว่าจะมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นสูงขึ้นตามเวลาที่ทดสอบ อาจเนื่องมาจากระดับของความชื้นที่ลดลงและการอดอาหาร (ตารางที่ 4.6 และ 4.7)

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์การตายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) หลังจากทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืชผสม tween 2 เท่า และน้ำมันหอมระเหยนาโนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง

เวลา	น้ำมันหอมระเหย	เปอร์เซ็นต์การตาย ¹ (Mean±SD)							%CV
		ความเข้มข้น (%)							
		0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	
6 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	11.8±5.4 ^{Aa}	8.3±7.7 ^{Aa}	34.2±13.4 ^{Ba}	40.9±15.7 ^{Bb}	79.9±12.4 ^{Aa}	89.5±13.8 ^{Aa}	95.9±3.6 ^{Aa}	21.67
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	7.6±13.1 ^{Ac}	6.0±6.3 ^{Ac}	12.7±4.7 ^{Bc}	76.1±18.7 ^{Ab}	72.1±19.7 ^{Ab}	89.6±10.5 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	23.89
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	8.9±7.8 ^{Ac}	1.9±3.2 ^{Ac}	60.3±17.7 ^{Ab}	38.6±18.8 ^{Bb}	53.3±26.5 ^{Ab}	88.2±11.5 ^{Aa}	93.3±5.8 ^{Aa}	30.74
	nEO จากตะไคร้บ้าน	8.8±15.2 ^{Ad}	5.8±5.6 ^{Ad}	33.2±9.6 ^{Bc}	51.7±4.9 ^{ABb}	67.2±15.2 ^{Ab}	97.4±2.3 ^{Aa}	98.0±3.4 ^{Aa}	18.27
	%CV	119.86	107.51	35.11	30.13	28.14	11.48	3.92	
12 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	24.8±9.6 ^{Ad}	18.2±14.3 ^{Ad}	61.7±10.8 ^{Ac}	77.3±7.9 ^{Ab}	93.4±5.8 ^{Aa}	93.9±6.6 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	13.24
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	10.8±10.4 ^{Ac}	14.4±9.4 ^{Ac}	22.4±6.5 ^{Bc}	76.1±18.7 ^{Ab}	75.7±22.2 ^{Ab}	93.2±5.9 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	22.54
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	24.8±6.5 ^{Ac}	21.1±6.3 ^{Ac}	73.9±13.0 ^{Ab}	84.0±6.6 ^{Aab}	87.0±17.9 ^{Aab}	97.9±3.6 ^{Aa}	97.2±2.5 ^{Ba}	13.71
	nEO จากตะไคร้บ้าน	17.0±17.3 ^{Ac}	19.9±13.5 ^{Ac}	62.5±12.5 ^{Ab}	67.0±17.9 ^{Ab}	93.8±2.5 ^{Aa}	98.7±2.3 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	17.96
	%CV	60.13	61.67	20.01	18.32	16.69	5.10	1.28	
18 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	40.5±10.4 ^{Ad}	32.3±20.9 ^{Ad}	65.3±8.0 ^{Ac}	77.3±13.5 ^{Abc}	93.4±5.8 ^{Aab}	95.3±4.4 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	14.12
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	17.0±9.2 ^{Ac}	22.9±1.9 ^{Ac}	27.3±6.4 ^{Bc}	79.2±13.5 ^{Ab}	77.1±18.0 ^{Ab}	93.2±5.9 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	16.43
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	30.5±11.5 ^{Ac}	39.7±12.9 ^{Ac}	79.7±2.9 ^{Ab}	84.0±6.6 ^{Aab}	87.0±17.9 ^{Aab}	97.9±3.6 ^{Aab}	100±0.0 ^{Aa}	13.30
	nEO จากตะไคร้บ้าน	28.5±16.4 ^{Ac}	30.7±10.9 ^{Ac}	64.6±13.0 ^{Ab}	74.9±10.4 ^{Ab}	95.8±1.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	13.78
	%CV	41.83	42.82	14.15	12.61	14.73	4.24	0.0	
24 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	61.3±11.0 ^{Ab}	42.0±19.6 ^{ABc}	70.4±7.4 ^{ABb}	87.9±9.5 ^{Aa}	98.1±3.2 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	12.15
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	37.6±12.9 ^{Ab}	35.3±3.8 ^{Bb}	49.7±21.6 ^{Bb}	82.2±6.6 ^{Aa}	79.2±14.4 ^{Ba}	94.9±5.0 ^{Ba}	100±0.0 ^{Aa}	18.78
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	39.2±15.8 ^{Ab}	59.0±26.7 ^{ABb}	86.4±4.1 ^{Aa}	87.3±9.3 ^{Aa}	96.6±3.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	15.29
	nEO จากตะไคร้บ้าน	41.1±6.2 ^{Ab}	70.1±4.3 ^{Ac}	86.1±3.7 ^{Ab}	97.3±2.5 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	3.90
	%CV	26.81	32.60	16.05	12.07	8.07	2.53	0.0	

¹ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่แนวตั้งและอักษรตัวพิมพ์เล็กแนวนอนที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเปรียบเทียบ โดย DMRT (P<0.05)

EO2T = น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า

nEO = น้ำมันหอมระเหยนาโน

ตารางที่ 4.7 ค่า LC₅₀ และ LC₉₀ ของน้ำมันหอมระเหยจากพืชผสม tween 2 เท่า และน้ำมันหอมระเหยนาโนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) ที่เวลา 6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง

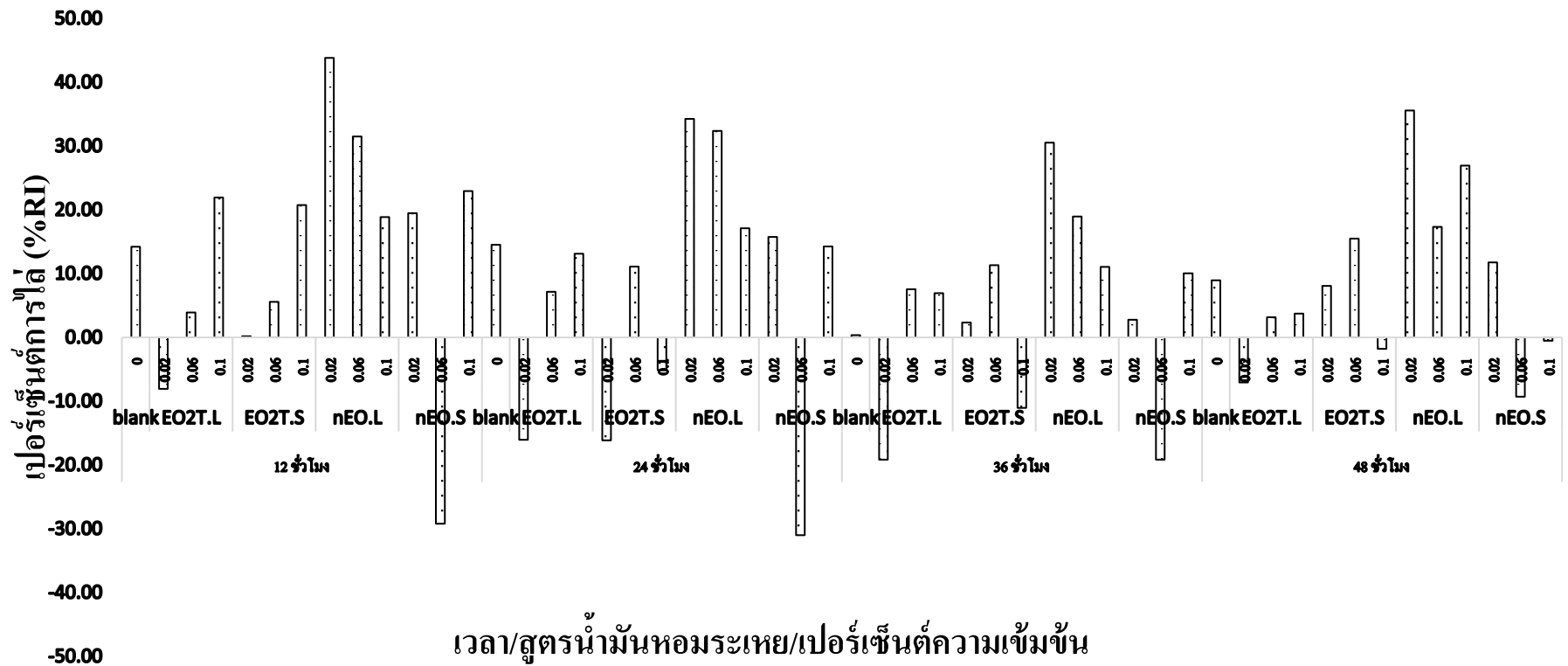
เวลา	น้ำมันหอมระเหย	Regression equation	Chi-square	LC ₅₀ (Low-Up)	LC ₉₀ (Low-Up)
6 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -1.579+5.502x	19.054	0.287 (0.232-0.342)	0.520 (0.448-0.642)
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	Y= -2.044+6.694x	27.131	0.305 (0.247-0.366)	0.497 (0.425-0.627)
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -1.514+5.229x	28.978	0.290 (0.215-0.361)	0.535 (0.445-0.712)
	nEO จากตะไคร้บ้าน	Y= -1.772+6.212x	21.250	0.285 (0.231-0.339)	0.492 (0.423-0.609)
12 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -1.060+5.919x	18.505	0.179 (0.119-0.230)	0.396 (0.332-0.503)
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	Y= -1.578+6.199x	27.572	0.255 (0.190-0.316)	0.461 (0.387-0.600)
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -0.802+5.282x	30.447	0.152 (0.049-0.224)	0.394 (0.311-0.568)
	nEO จากตะไคร้บ้าน	Y= -1.186+6.387x	16.792	0.186 (0.134-0.232)	0.386 (0.328-0.483)
18 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -0.707+5.105x	9.323	0.138 (0.087-0.180)	0.389 (0.337-0.468)
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	Y= -1.244+5.475x	28.242	0.227 (0.152-0.294)	0.461 (0.379-0.623)
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -0.537+4.983x	15.422	0.108 (0.027-0.164)	0.365 (0.299-0.478)
	nEO จากตะไคร้บ้าน	Y= -0.842+5.877x	14.907	0.143 (0.086-0.190)	0.361 (0.302-0.460)
24 ชั่วโมง	EO2T จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -0.518+5.760x	11.506	0.090 (0.029-0.135)	0.312 (0.259-0.399)
	EO2T จากตะไคร้บ้าน	Y= -0.607+4.220x	21.715	0.144 (0.037-0.215)	0.447 (0.358-0.628)
	nEO จากจันทน์แปดกลีบ	Y= -0.266+5.474x	6.349	0.049 (0.014-0.076)	0.283 (0.253-0.320)
	nEO จากตะไคร้บ้าน	Y= -0.231+7.146x	1.136	0.032 (0.003-0.055)	0.212 (0.186-0.245)

EO2T = น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า

nEO = น้ำมันหอมระเหยนาโน

4.1.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช ในรูปแบบสารไล่

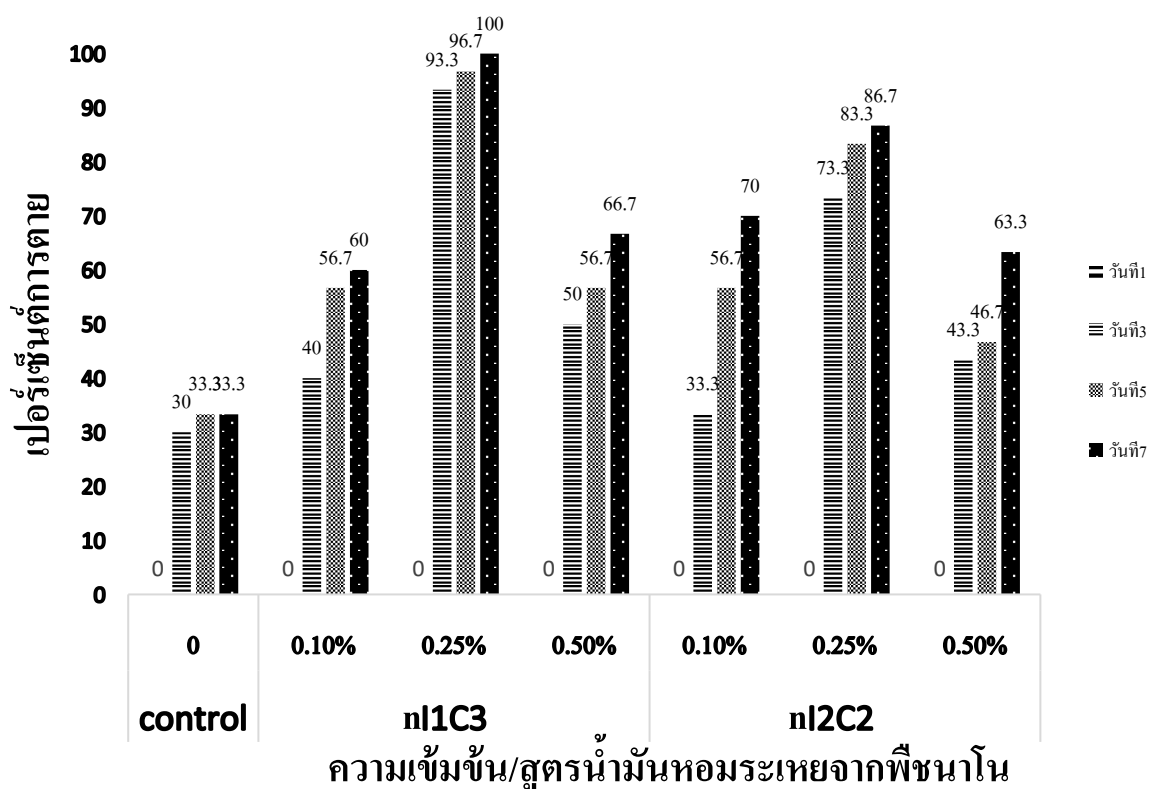
ผลการทดลองแบบมีทางเลือกพบว่า เปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่ (%RI) แสดงให้เห็นว่าที่เวลา 12 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.02% มีประสิทธิภาพในการไล่ได้ดีที่สุดต่อตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่ เท่ากับ 43.8% ตามด้วย น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ ที่ความเข้มข้น 0.02% น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากตะไคร้บ้านและ น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นอัตราสองเท่าจากจันทน์แปดกลีบ ที่ความเข้มข้น 0.1% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่ เท่ากับ 23.0, 21.9 และ 20.8% ตามลำดับ เพราะต่อมาที่เวลา 24 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.02% มีประสิทธิภาพในการไล่มากที่สุดต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยมีเปอร์เซ็นต์การไล่เท่ากับ 34.3% ตามด้วย น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 0.1% น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบที่ความเข้มข้น 0.02% และที่ความเข้มข้น 0.1% มีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่เท่ากับ 17.1, 15.17 และ 14.2% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 เปอร์เซนต์ดัชนีการไล้ (%RI) ของสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชสูตรปรับปรุง (2 tween20) และสูตรนาโน ต่อเปลือกกระโดดสีน้ำตาล ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากการทดสอบด้วยวิธีการฉีดพ่น ที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง (EO2T.L=น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน, EO2T.S = น้ำมันหอมระเหยจากจันทร์แปดกลีบ, nEO.L = น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน, nEO.S=น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทร์แปดกลีบ)

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากตะไคร้บ้าน และ จันทน์แปดกลีบ ในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง

สำหรับการทดสอบสูตรผสมน้ำมันหอมระเหยนานาจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) สูตร nI1C3 และ nI2C2 ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5% ในสภาพโรงเรือน โดยตรวจนับอัตราการตายของจำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลังการฉีดพ่นสารที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน ก่อนการทดสอบการนำไปใช้ในสภาพแปลงนั้น ผลการทดลองนั้นเป็นที่น่าสังเกตว่า ที่ความเข้มข้น 0.25% ของน้ำมันหอมระเหยนานาทั้งสองสูตร มีประสิทธิภาพในการฆ่าสูงที่สุดตั้งแต่วันที่ 1 เป็นต้นไป มีอัตราการตายมากกว่า 70% โดยสูตร nI1C3 ที่ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพสูงสุด โดยสามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน เท่ากับ 0, 93.3, 96.7 และ 100% ตามลำดับ ส่วนสูตร nI2C2 ที่ความเข้มข้น 0.25% นั้นมีอัตราการตายของตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน เท่ากับ 0, 73.3, 83.3 และ 86.7% ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การตายตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) หลังจากการทดสอบด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืช ที่ความเข้มข้น 0.10, 0.5 และ 0.50% โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ตรวจนับอัตราการตายที่ 1, 3, 5 และ 7 วัน (น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) สูตร nI1C3 (อัตรา 1:3) สูตร nI2C2 (อัตรา 2:2) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5%)

4.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง

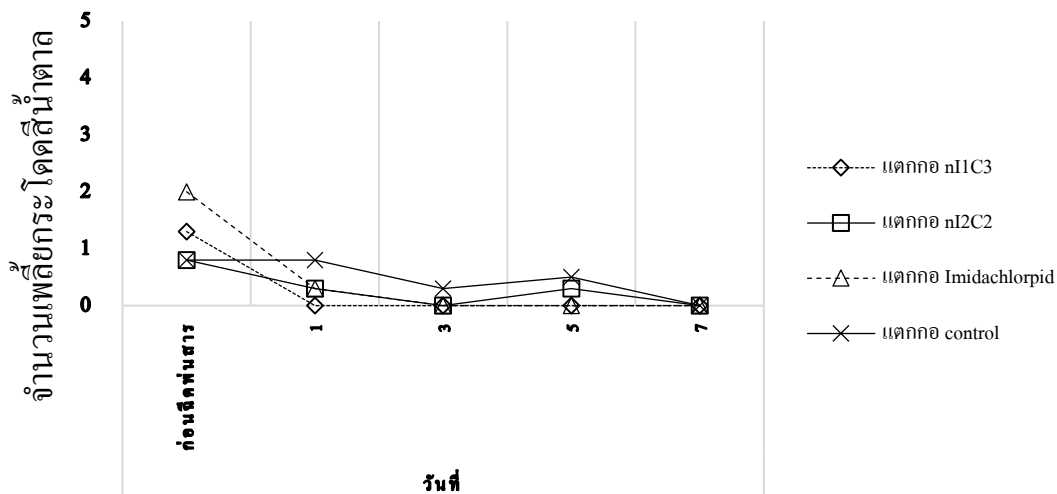
4.4.1 ศึกษาจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หลังการใช้สารทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) ในรูปแบบสารนาโนต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในแปลงทดสอบ 2 สูตรคือ nI1C3 และ nI2C2 ในความเข้มข้น 0.25 % โดยใช้อัตราส่วน I : C เท่ากับ 1 : 3, 2 : 2 ตามลำดับ โดยทำการทดสอบแล้วนำไปเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลง imidacloprid อัตราที่แนะนำ และชุดควบคุมที่ไม่ทำการฉีดพ่นสารใด ๆ ด้วยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง โดยวิธีการโรบด้วยสวิงแนวทแยงไปกลับ พบว่าการสำรวจแมลงในวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ของข้าวในระยะแตกกอและตั้งท้อง โดยวิธีการโรบด้วยสวิงนั้นพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลน้อยมาก แต่มีข้อสังเกตว่า ในช่วงวันของข้าวในระยะแตกกอก่อนการฉีดพ่นสารทดสอบนั้น พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่บ้างของทุก ๆ แปลงที่ทำการทดสอบสาร แต่เมื่อวันที่ 7 ของการทดสอบกลับไม่พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเลยทุก ๆ แปลงทดสอบ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนในข้าวระยะตั้งท้องแทบไม่พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเลยในทุก ๆ แปลงทดสอบ (ตารางที่ 4.8), (ภาพที่ 4.3 และ 4.4)

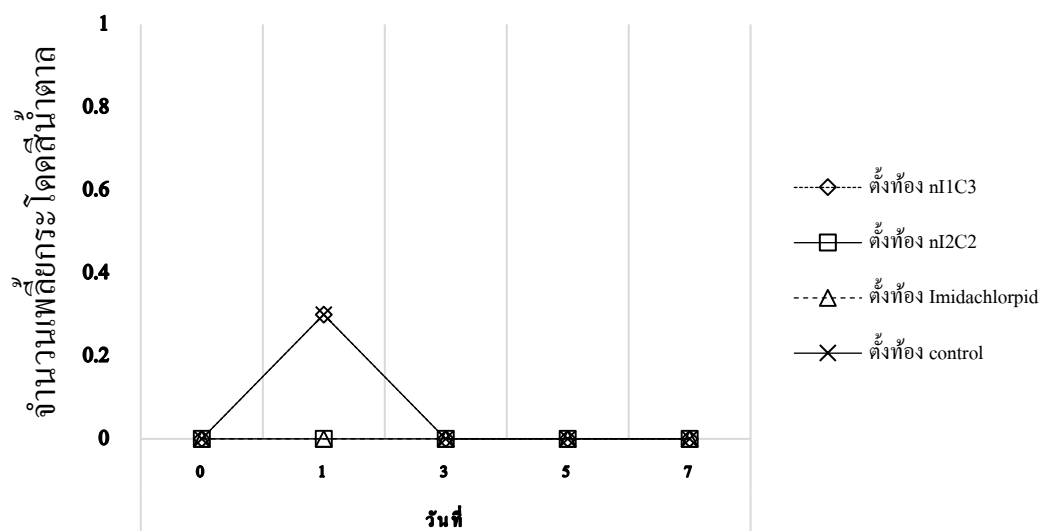
ตารางที่ 4.8 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่พบในแปลงทดสอบในจังหวัดอ่างทอง ช่วงระยะข้าวแตกกอ และตั้งท้อง โดยวิธีการโรบแบบไป-กลับ 20 ครั้ง/ไร่ 1 (ค่าเฉลี่ย 4 ชั่วโมง)

ผลการสำรวจเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยวิธีการโรบ							
ระยะต้นข้าว	สารทดสอบ	ก่อนฉีดพ่น	หลังฉีดพ่น				%CV
			วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	
แตกกอ	nI1C3	1.3±1.9 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	338.62
	nI2C2	0.8±1.0 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	212.91
	Imidacloprid	2.0±1.8 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Ab}	0.0±0.0 ^{Ab}	0.0±0.0 ^{Ab}	0.0±0.0 ^{Ab}	237.17
	control	0.8±1.0 ^{Aa}	0.8±1.0 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	0.5±1.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	170.50
	%CV	124.54	190.43	400.00	298.14	0	
ตั้งท้อง	nI1C3	0.0±0.0 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	447.21
	nI2C2	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0
	Imidacloprid	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0
	control	0.3±0.5 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Aa}	447.21
	%CV	0	400.00	0	0	0	

ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่แนวตั้งและอักษรตัวพิมพ์เล็กแนวนอนที่เหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดย DMRT (P<0.05)



ภาพที่ 4.3 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อกอที่ตรวจพบบนกอลำโดยวิธีการโอบ หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nIIC3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวแตกกอ (I= จันทน์แปดกลีบ และ C=ตะไคร้บ้าน)



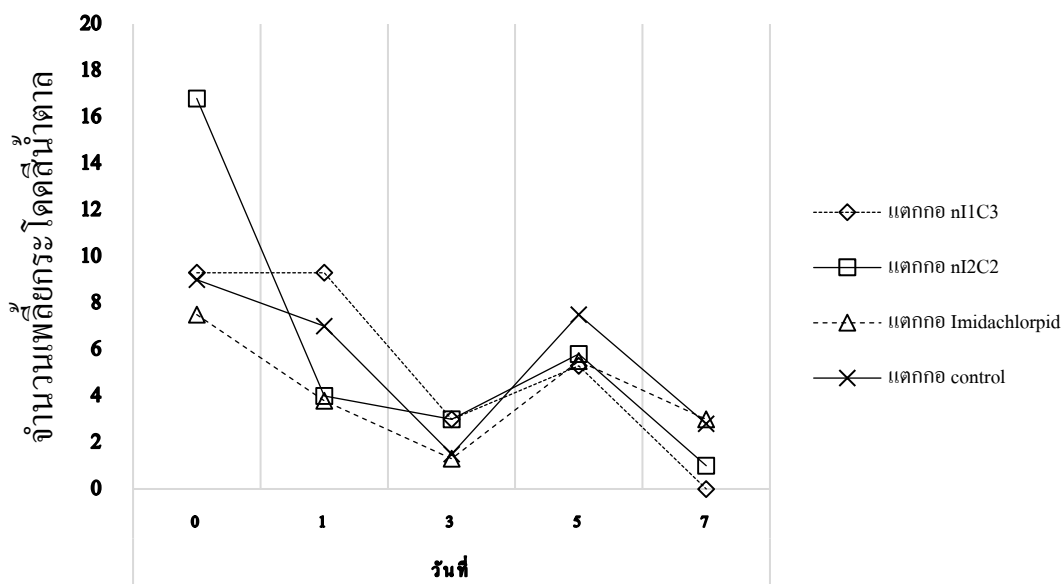
ภาพที่ 4.4 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อกอที่ตรวจพบบนกอลำโดยวิธีการโอบ หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nIIC3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวตั้งท้อง (I= จันทน์แปดกลีบ และ C=ตะไคร้บ้าน)

ส่วนวิธีการตรวจนับด้วยตาเปล่าแบบสุ่มทแยงมุม พบว่าการสำรวจแมลง ในวันที่ 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน ของข้าวในระยะแตกกอ แปลงที่ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 มีประสิทธิภาพอย่างมากในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยในวันที่ 7 ของการเก็บผลการทดลองนั้น ไม่พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเลย เช่นเดียวกับแปลงที่ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI2C2 ที่พบว่าหลังจากทำการฉีดพ่นสารแล้วจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดจำนวนลงไป เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ทำการฉีดพ่นสารกำจัดแมลง imidacloprid ที่ยังพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่ในแปลงในอัตราเพิ่มขึ้นในวันที่ 5 และแปลงที่เป็นชุดควบคุมนั้นพบว่ามีกรพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างสม่ำเสมอ ส่วนในระยะข้าวตั้งท้องแปลงที่ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 ก็ยังมีประสิทธิภาพที่ดีในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยในแปลงทดสอบของทุก ๆ สารนั้น ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 4.9), (ภาพที่ 4.5 และ 4.6)

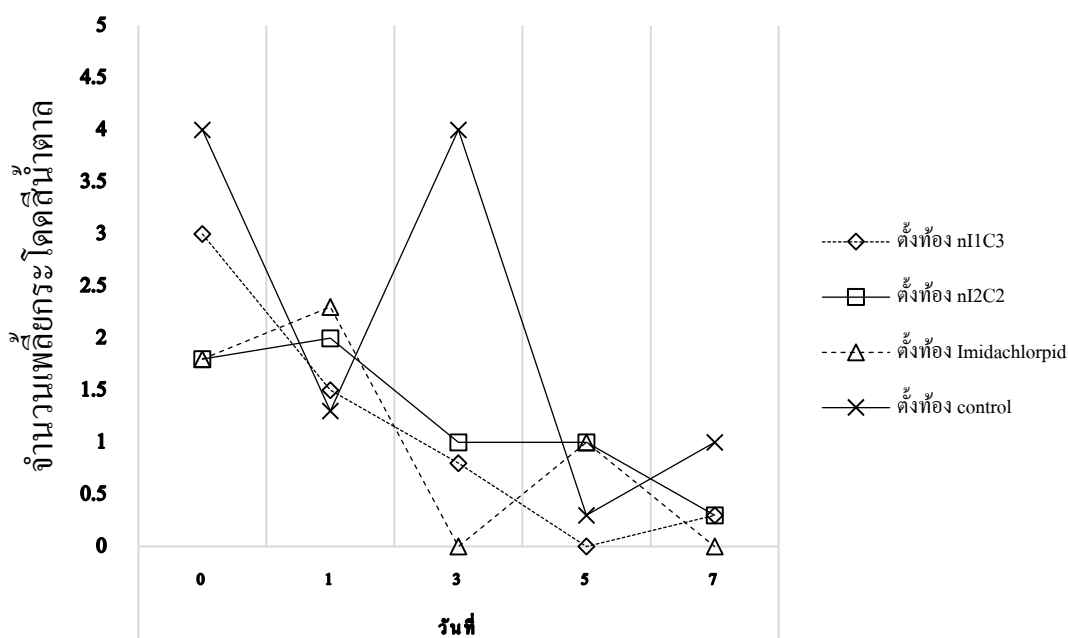
ตารางที่ 4.9 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวที่พบในแปลงทดสอบในจังหวัดอ่างทอง ช่วงระยะข้าวแตกกอ และตั้งท้อง โดยวิธีการสุ่มนับด้วยตาเปล่าแบบทแยงมุม 15 กอ (ค่าเฉลี่ย 4 ซ้ำ)

ผลการสำรวจเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยวิธีการสุ่มนับด้วยตาเปล่าแบบทแยงมุม							
ระยะต้นข้าว	สารทดลอง	ก่อนฉีดพ่น	หลังฉีดพ่น				%CV
			วันที่ 1	วันที่ 3	วันที่ 5	วันที่ 7	
แตกกอ	nI1C3	9.3±3.8 ^{Aa}	9.3±6.6 ^{Aa}	3.0±0.0 ^{Aab}	5.3±4.3 ^{Aab}	0.0±0.0 ^{Ab}	72.59
	nI2C2	16.8±13.1 ^{Aa}	4.0±2.7 ^{Ab}	3.0±2.6 ^{Ab}	5.8±2.2 ^{Ab}	1.0±2.0 ^{Ab}	102.40
	Imidacloprid	7.5±4.4 ^{Aa}	3.8±2.6 ^{Aab}	1.3±1.9 ^{Ab}	5.5±4.9 ^{Aab}	3.0±3.6 ^{Aab}	87.26
	Control	9.0±8.1 ^{Aa}	7.0±5.5 ^{Aa}	1.5±0.6 ^{Aa}	7.5±1.9 ^{Aa}	2.8±3.2 ^{Aa}	82.53
	%CV	77.63	75.38	74.35	59.60	153.72	
ตั้งท้อง	nI1C3	3.0±1.2 ^{Aa}	1.5±1.0 ^{Ab}	0.8±1.0 ^{Abc}	0.0±0.0 ^{Ac}	0.3±0.5 ^{Abc}	76.06
	nI2C2	1.8±1.3 ^{Aa}	2.0±1.8 ^{Aa}	1.0±2.0 ^{Aa}	1.0±1.4 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	124.53
	Imidacloprid	1.8±0.5 ^{Aab}	2.3±2.6 ^{Aa}	0.0±0.0 ^{Ab}	1.0±0.8 ^{Aab}	0.0±0.0 ^{Ab}	125.16
	Control	4.0±2.4 ^{Aa}	1.3±2.5 ^{Aa}	4.0±4.6 ^{Aa}	0.3±0.5 ^{Aa}	1.0±0.5 ^{Aa}	127.47
	%CV	57.66	119.52	178.20	151.80	210.81	

ค่าเฉลี่ยตามด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่แนวตั้งและอักษรตัวพิมพ์เล็กแนวนอนที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเปรียบเทียบโดย DMRT (P<0.05)



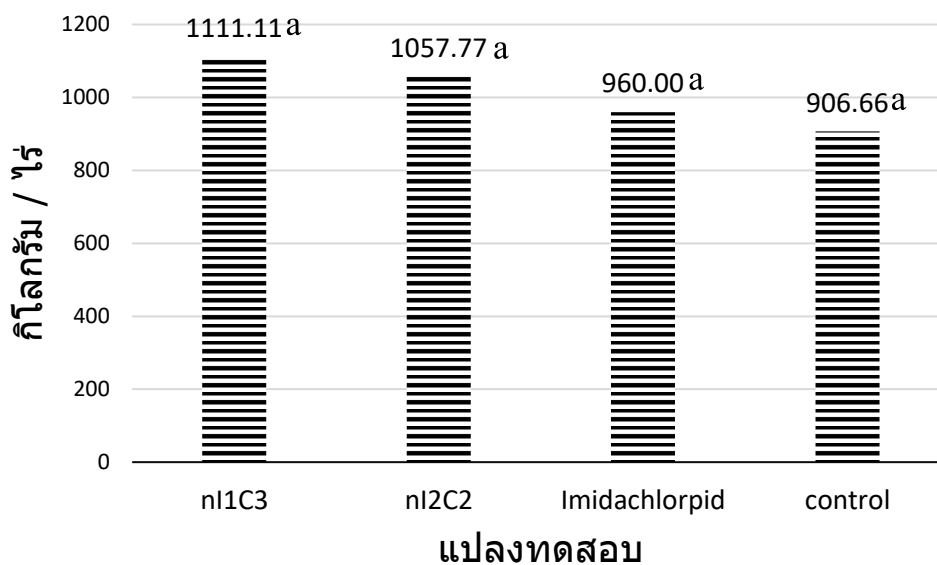
ภาพที่ 4.5 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อกอที่ตรวจพบบนกอข้าวโดยวิธีการสุ่มนับด้วยตาเปล่า หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nIIC3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวแตกกอ (I= จันทร์แปดกลีบ และ C= ตะไคร้บ้าน)



ภาพที่ 4.6 จำนวนตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อกอที่ตรวจพบบนกอข้าวโดยวิธีการสุ่มนับด้วยตาเปล่า หลังการฉีดพ่นด้วยสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนาโน nIIC3 และ nI2C2 ความเข้มข้น 0.25 % ในสภาพแปลง ในระยะข้าวตั้งท้อง (I= จันทร์แปดกลีบ และ C= ตะไคร้บ้าน)

4.4.2 ศึกษาปริมาณผลผลิตข้าวที่ได้ หลังการใช้สารทดสอบ

หลังจากได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชสมุนไพรทั้งสองชนิด ได้ทำการเก็บผลผลิตข้าวที่ได้จากในแปลงทดสอบนำมาอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน จึงได้น้ำหนักข้าวเปลือกของแต่ละแปลงการทดสอบ โดยทำการคำนวณให้ค่าการให้ผลผลิตจากแปลงทดสอบต่อไร่ ดังนี้
$$\frac{\text{น้ำหนักข้าวเปลือก} \times 1600 \text{ ตารางเมตร (ไร่)}}{36 \text{ ตารางเมตร (เนื้อที่ของแปลงทดสอบจำนวน 4 แปลง)}}$$
 พบว่าแปลงที่ได้ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนานอสสูตร nI1C3 ได้ผลผลิตข้าวเท่ากับ 1,111.11 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนแปลงที่ได้ทำการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนานอสสูตร nI2C2 ได้ผลผลิตข้าวเท่ากับ 1,057.77 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อเปรียบเทียบการแปลงที่ได้ทำการฉีดพ่นสารกำจัดแมลง imidachlorpid 0.5% ได้ผลผลิตเท่ากับ 960.00 กิโลกรัม/ไร่ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนแปลงที่เป็นแปลงควบคุมผลผลิตข้าวเปลือกที่ได้เท่ากับ 906.66 กิโลกรัม/ไร่ (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 จำนวนข้าวเปลือกที่ได้ในแต่ละแปลงทดสอบเมื่อนำมาคำนวณเป็นปริมาณต่อไร่

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 การหาสูตรน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช

ในการเตรียมสารอิมัลชันเพื่อการลดอนุภาคน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ และ ตะไคร้บ้าน เป็นอนุภาคนาโน ในเบื้องต้นพบว่าสารลดแรงตึงผิวที่มีค่า HLB ระหว่าง 13.0-16.7 ในอัตราส่วนต่าง ๆ สามารถละลายได้ดีและไม่ตกตะกอน ในที่นี้ พบว่าจันทน์แปดกลีบ ผสม tween 20, tween 40, tween 60 และ tween 80 ในอัตราส่วนต่าง ๆ สามารถละลายและผสมได้ดี ส่วนตะไคร้บ้านผสม tween 60 และ tween 80 อัตราส่วน 1:4.5 และ 1:3.5 รวมถึงตะไคร้บ้านผสม Neopelex ที่อัตราส่วน 1:1.5 สามารถละลายได้ดีและไม่ตกตะกอน สอดคล้องกับ Speranza, A. et al. (2013) ที่มีการรายงานว่าได้ใช้สารลดแรงตึงผิวแบบไม่มีประจุคือ tween 20, tween 40, tween 60, span 20, span 60, และ span 80 ในการทำให้สารเป็นนาโนอิมัลชัน โดยมีค่า HLB ดังนี้ tween 20 มีค่าเท่ากับ 16.7 tween 40 มีค่าเท่ากับ 15.6 และ tween 60 มีค่าเท่ากับ 14.9 อีกทั้งยังพบว่าสารลดแรงตึงผิวที่กล่าวมาข้างต้นนั้นมีคุณสมบัติที่ดีที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยแตกตัวและจับกับอนุภาคนาโน และยังมีคุณสมบัติช่วยลดอัตราการสลายตัวของน้ำมันที่แตกตัวอยู่ในน้ำอีกด้วย

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพร็ลิกกระโดดสีน้ำตาล ในห้องปฏิบัติการ

5.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชต่อเพร็ลิกกระโดดสีน้ำตาล ในรูปแบบสารฆ่า

5.2.1.1 การทดสอบ โดยวิธีการสัมผัส (Residual contact method)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า (EO2T) และ น้ำมันหอมระเหยนาโน (nEO) จากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ต่อตัวเต็มวัยเพร็ลิกกระโดดสีน้ำตาล โดยวิธีการสัมผัสตาย พบว่ามีประสิทธิภาพอย่างมากในการฆ่าตัวเต็มวัยของเพร็ลิกกระโดดสีน้ำตาล โดยน้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจาก

จันทน์แปดกลีบ ที่ความเข้มข้น 0.1% มีประสิทธิภาพในการฆ่าตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างมากถึง 100% ตามด้วย น้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจากตะไคร้บ้าน และน้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน ตามลำดับ โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Insung, A. et al. (2014) ที่ได้รายงานว่ น้ำมันหอมระเหยจาก ตะไคร้บ้าน จันทน์แปดกลีบ และเทียนข้าวเปลือก ผสมกับน้ำมันปิโตรเลียม ที่ความเข้มข้น 0.5% มีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดแมลงอย่างมากโดยมีความเป็นพิษต่อ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง เช่นเดียวกับ Chantawee, A. et al. (2012) ได้รายงานคุณสมบัติของน้ำมันหอมระเหยจากพืชบางชนิดในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ที่ความเข้มข้น 0.2% ที่มีส่วนผสมของน้ำมันปิโตรเลียม มีความเป็นพิษสูงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ถึง 68% โดยเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลง imidacloprid ตามอัตราคำแนะนำ และสองเท่าของอัตราคำแนะนำ สามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เพียง 50% เท่านั้น

5.2.1.2 การทดสอบ โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง (Direct spray method)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า (EO2T) และ น้ำมันหอมระเหยนาโน (nEO) จากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง พบว่าน้ำมันหอมระเหยมีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจากตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 0.6 % ที่เวลา 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การตายที่สูงที่สุดเท่ากับ 100% แต่พบว่าน้ำมันหอมระเหยนาโนตะไคร้บ้านมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.285% และค่า LC_{90} เท่ากับ 0.492% ตามด้วย น้ำมันหอมระเหยมีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจากจันทน์แปดกลีบ และน้ำมันหอมระเหยนาโนจากจันทน์แปดกลีบ มีค่าเปอร์เซ็นต์การตายเท่ากับ 98.0, 95.9 และ 93.3% ตามลำดับ ที่ความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากกว่า 88.2% ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Lakyat, A. et al. (2017) ผลการศึกษาพบว่าการทดสอบการฆ่าโดยวิธีการสัมผัส ที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยที่ใช้ tween เป็นสองเท่าของความเข้มข้นและน้ำมันหอมระเหยนาโนของ ตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ที่มีความเข้มข้น 0.08 และ 0.1% มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ส่วนรายงานอื่น ๆ เกี่ยวกับการใช้น้ำมันหอมระเหยนาโนเพื่อควบคุมศัตรูพืช Doungnapa, T. et al. (2017) พบว่าน้ำมันหอมระเหยนาโนจากขมิ้นที่ความเข้มข้น 1% มีคุณสมบัติเป็นพิษสูงมีอัตราการตาย 95.5% และมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.39% ขณะที่ความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวแตกต่างกัน ค่า LC_{50} เท่ากับ 0.49% อย่างไรก็ตามผลการวิจัยพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีรายงานมากมายเกี่ยวกับการใช้น้ำมันหอมระเหยเพื่อควบคุมศัตรูพืช เช่น Park, C.G. et al. (2016) ได้รายงานไว้ว่าใช้วิธีการรม

ของน้ำมันหอมระเหยจากพืช 20 ชนิด ต่อด้วยถั่วเหลืองและพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบมีประสิทธิภาพสูงในการฆ่าโดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 3.14 mg / L. Pinto, Z.T. et al. (2015) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้านมีฤทธิ์เป็นพิษต่อการพัฒนาของตัวอ่อนของแมลงวันหัวเขียวที่ถูกทดสอบทั้งหมด ในขณะที่มีอัตราการตายของแมลงวันหัวเขียว ถึง 80% ของแมลงวันที่รับการทดสอบด้วยน้ำมันหอมระเหยและมีค่า LC_{50} ต่ำกว่า 50% นอกจากนี้ Sumiartha and Sudiarta. (2011) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 1% พบว่ามีประสิทธิภาพอย่างมากในการฆ่าหนอนบู่ การหาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 1% พบว่าความเข้มข้น 0.50% หนอนบู่มีอัตราการตายที่ 90% ในขณะที่ความเข้มข้น 0.25% นั้นมีประสิทธิภาพปกติ (50%) ในทำนองเดียวกัน Lima, R.K. et al. (2008) ได้รายงานที่น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ (*Illicium verum* (Hook. f.)) และตะไคร้บ้าน, (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) มีฤทธิ์ในการขับไล่ และฆ่าต่อเพลี้ยอ่อนกะหล่ำปลี *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) Chantawee, A. et al. (2012) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบผสมกับน้ำมันปิโตรเลียมที่ความเข้มข้น 0.5% มีประสิทธิภาพสูงต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ความเข้มข้น 0.3 – 0.6% ของการศึกษานี้ ในส่วนขององค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน พบว่ามีสารประกอบทั้งหมด 18 ชนิดที่ได้จากน้ำมันจันทน์แปดกลีบ สารองค์ประกอบที่มีมากที่สุดคือ trans-anethole และ limonene ส่วนสารองค์ประกอบอื่น ๆ มีค่าต่ำกว่า 1% (Park, C.G. et al., 2016) สารองค์ประกอบทางเคมีที่มีปริมาณมากในน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้าน ได้แก่ neral, geranial และ myrcene (Carlson, L.H.C. et al., 2001) สารองค์ประกอบที่มีมากที่สุดนั้นค่อนข้างจะเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

5.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืช ในรูปแบบสารไล่

การทดสอบประสิทธิภาพในการไล่ พบว่า น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.02% แสดงให้เห็นว่ามีฤทธิ์ในการไล่ตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด ที่เวลา 6 และ 24 ชั่วโมง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Musa, A.R. et al. (2015) ได้รายงานว่าตะไคร้บ้านเป็นพืชที่มีสารในการไล่แมลงที่ปลอดภัย และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งประสิทธิภาพใกล้เคียงกับสารเคมีกำจัดแมลง Olivero-Verbel, J. et al. (2010) รายงานว่า องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านมีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น ต่อมอดแป้งข้าวสาลี (*Tribolium castaneum*) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านเป็นตัวเลือกที่ดีในการเลือกมาใช้เป็นสารไล่มอดแป้งข้าวสาลี *Tribolium castaneum*

5.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชในรูปของสารฆ่า โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช โดยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในสภาพโรงเรือนทดลอง พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.25% ของน้ำมันหอมระเหยนานอสสูตร m1C3 และ m2C2 มีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยสามารถกำจัดตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ใน 7 วัน เท่ากับ 100% และ 86.7% ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumnuan and Insung. (2017) ที่ได้ทำการทดสอบหาประสิทธิภาพของสูตรน้ำมันหอมระเหยในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากงานวิจัยนี้พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีการผสมกันระหว่างจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้านที่อัตราส่วน 3 : 1 และ 2 : 2 มีประสิทธิภาพในการฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่เวลา 12 ชั่วโมง ถึง 100% โดยวิธีการทดสอบแบบฉีดพ่นโดยตรง อีกทั้งยังมีงานวิจัยของ Jawsuwanwong, K. et al. (2014) ที่ได้รายงานไว้ว่า น้ำมันหอมระเหยสูตรผสมระหว่าง จันทน์แปดกลีบ และเทียนข้าวเปลือก มีประสิทธิภาพในการไล่สูง ต่อมอดแป้ง และมอดพื้นเลื้อย อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการวางไข่ของมอดแป้งอีกด้วย เหตุผลที่น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช ที่ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพดีกว่า 0.50% อาจเป็นเพราะว่า surfactant และ co-surfactant ที่ความเข้มข้น 0.25% มีมากกว่าจึงช่วยในการกระจายตัวของอนุภาคนาโนได้ดีกว่า และช่วยในการเก็บรักษาประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ได้นานกว่า นอกจากนี้ surfactant ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารเคลือบ อาจเกิดการอุดรูหายใจของแมลง ทำให้แมลงอ่อนแอ และเสียชีวิตได้ง่ายขึ้น

5.4 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชจากจันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในสภาพแปลงพื้นที่จริง

5.4.1 ศึกษาจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หลังการใช้สารทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ (I) และตะไคร้บ้าน (C) ในรูปแบบสารนาโนต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในแปลงทดสอบ 2 สูตรคือ m1C3 และ m2C2 ในความเข้มข้น 0.25 % โดยใช้อัตราส่วน I : C เท่ากับ 1 : 3, 2 : 2 ตามลำดับ โดยทำการทดสอบแล้วนำไปเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลง imidacloprid อัตราที่แนะนำ และชุดควบคุมที่ไม่ทำการฉีดพ่นสารใด ๆ ด้วยวิธีการฉีดพ่นโดยตรง ในวิธีการตรวจนับแบบสุ่มนับทแยงมุมนั้น สามารถพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการตรวจนับแบบการโฉบ เพราะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นเป็นแมลงที่อาศัยอยู่บริเวณโคนต้นและกาบใบข้าว ซึ่งยากแก่การ

โอบสวงหา จากการทดสอบที่กล่าวมาข้างต้นพบว่า แปลงที่มีการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI2C2 สารกำจัดแมลง imidacloprid และชุดควบคุม แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pumnuan and Insung. (2017) ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่มีการผสมกันระหว่างจันทร์แปดกลีบ และตะไคร้บ้านที่อัตราส่วน 3 : 1 และ 2 : 2 ที่เวลา 24 ชั่วโมง สามารถฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ถึง 100 และ 97.7% ตามลำดับ และ Koul, O. et al. (2008) ได้รายงานไว้ว่าสารองค์ประกอบหลัก anethole ที่ได้จากจันทร์แปดกลีบมีฤทธิ์ในการฆ่ามอดแป้ง โดยใช้ในปริมาณที่น้อยมาก

5.4.2 ศึกษาปริมาณผลผลิตข้าวที่ได้ หลังการใช้สารทดสอบ

หลังจากได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชสมุนไพรทั้งสองชนิด ได้ทำการเก็บข้าวเปลือกของแต่ละแปลงทดสอบ พบว่าแปลงที่มีการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI1C3 น้ำมันหอมระเหยนาโนสูตร nI2C2 และสารกำจัดแมลง imidacloprid มีอัตราการให้ข้าวเปลือก แตกต่างจากแปลงที่เป็นชุดควบคุมที่ให้ผลผลิตต่ำกว่า แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ อาจจะมาจกสาเหตุเพราะว่าบริเวณใกล้เคียงนั้นมีการบริหารและจัดการนาข้าวอย่างถูกวิธี และสม่ำเสมอ จึงทำให้ผลผลิตข้าวเปลือกที่ได้ไม่แตกต่างกันมากในการทดลองครั้งนี้

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการวิจัย

จากการหาสูตรน้ำมันหอมระเหยจากพืชนั้น พบว่า tween 20, tween 40, ween 60 และ tween 80 เป็นสารลดแรงตึงผิวที่คุณสมบัติทำให้น้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบอยู่ในรูปของนาโนอิมัลชัน ส่วน tween 60 และ tween 80 และ Neopelex เป็นสารลดแรงตึงผิวที่คุณสมบัติทำให้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านอยู่ในรูปของนาโนอิมัลชันได้ดีและไม่ตกตะกอน แต่เมื่อใช้สารลดแรงตึงผิวชนิดอื่นนั้น ในน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านพบว่าการตกตะกอนแล้วไม่ได้อนุภาคที่เป็นขนาดนาโน ในส่วนของการปรับปรุงสูตรน้ำมันหอมระเหยนานา น้ำมันหอมระเหยจันทน์แปดกลีบ ที่มีอัตราการใช้สารลดแรงตึงผิวหลัก tween 20 อัตราส่วน 1:4 และ สารลดแรงตึงผิวร่วม PEG400 อัตราส่วน 1.5 เมื่อนำเข้าเครื่องลดขนาดอนุภาค High pressure homogenizer โดยใช้ความดันที่ 15,000 psi พบว่า น้ำมันหอมระเหยจันทน์แปดกลีบมีขนาดเป็นอนุภาคนาโน ที่ขนาด 90.73 nm ส่วนน้ำมันหอมระเหยตะไคร้บ้านนั้นมีการใช้สารลดแรงตึงผิว tween 60 อัตราส่วน 1:4.5 และสารลดแรงตึงผิวร่วม PEG400 อัตราส่วน 2.5 โดยไม่ต้องนำเข้าเครื่องลดขนาดอนุภาค High pressure homogenizer พบว่าสามารถทำให้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้บ้านมีขนาดเป็นอนุภาคนาโนได้ โดยมีขนาดอนุภาค 12.63 nm

จากการทดสอบโดยวิธีสัมผัสดายของน้ำมันหอมระเหยนานาจากตะไคร้บ้าน และจันทน์แปดกลีบ ผลการทดลองพบว่าที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า และ น้ำมันหอมระเหยนานาของจันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.08 และ 0.1% มีประสิทธิภาพสูงในการฆ่า ต่อตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยนานา (nEO) จากจันทน์แปดกลีบและตะไคร้บ้าน และน้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่า (EO2T) ต่อตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่อง Potter's spray tower ในการฉีดพ่นโดยตรง ผลการทดลองพบว่าความเป็นพิษที่เวลา 12 ชั่วโมงขึ้นไป น้ำมันหอมระเหยนานา และ น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ที่ความเข้มข้น 0.3- 0.6% มีความเป็นพิษอย่างมากต่อตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง น้ำมันหอมระเหยนานา จากตะไคร้บ้านที่ความเข้มข้น 0.4% สามารถฆ่า

ตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าค่า LC_{50} ที่ดีที่สุดเท่ากับ 0.032% ที่เวลา 24 ชั่วโมง นั้นพบว่า น้ำมันหอมระเหยที่มีอัตราการใช้ tween เป็นสองเท่าจากตะไคร้บ้านมีผลค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับการฉีดพ่นด้วยน้ำมันหอมระเหยชนิดอื่น ๆ สำหรับการทดสอบแบบมีทางเลือกโดยวิธีการไล่นั้น พบว่า น้ำมันหอมระเหยนาโนจากตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบ ที่ความเข้มข้น 0.02% มีประสิทธิภาพในการไล่ตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด ที่เวลา 12 และ 24 ชั่วโมง โดยมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการไล่เท่ากับ 43.83 และ 32.27% ตามลำดับ

สำหรับการทดสอบน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจาก ตะไคร้บ้านและจันทน์แปดกลีบ ในสภาพโรงเรือนทดลองพบว่า น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน nI1C3 ที่ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพดีที่สุดในสามารถกำจัดตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ 100% ภายในเวลา 7 วัน รองลงมาคือ น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน nI2C2 ที่ความเข้มข้น 0.25% สามารถฆ่าตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลภายใน 7 วัน ได้ถึง 86.7%

ในการสำรวจเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแปลงทดสอบที่ได้ทำการปลูกข้าวพันธุ์ กข 41 โดยทำการตรวจนับแมลงในระยะแตกกอ และระยะตั้งท้อง พบว่าน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน nI1C3 ที่ความเข้มข้น 0.25% มีประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างมาก โดยสามารถลดจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ภายใน 7 วัน ส่วนน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโน nI2C2 มีประสิทธิภาพรองลงมาแต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการเก็บผลผลิตข้าวเปลือกในสภาพแปลงนั้นพบว่า แปลงที่มีการฉีดพ่นน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากจันทน์แปดกลีบ และ ตะไคร้บ้าน และแปลงที่ฉีดพ่นสารกำจัดแมลง imidacloprid ตามอัตราคำแนะนำ ให้ผลผลิตที่ค่อนข้างสูงแตกต่างจากแปลงที่ไม่มีการฉีดพ่นสารใด ๆ เลย จึงอาจสรุปได้ว่าผลผลิตที่ได้ในแปลงที่เป็นชุดความคุ่มนั้นอาจมีแนวโน้มมาจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูข้าวจึงทำให้ได้ผลผลิตข้าวเปลือกน้อยกว่าแปลงอื่น ๆ

6.2 ข้อเสนอแนะในการนำสูตรน้ำมันหอมระเหยจากจันทน์แปดกลีบ และตะไคร้บ้าน ไปใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

- 1) ต้นทุนในการผลิตน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชยังมีราคาที่สูงกว่าแพงอยู่ จึงควรหาวิธีการที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยเป็นสารนาโนได้และมีราคาถูกกว่าเดิม
- 2) เมื่อเป็นน้ำมันหอมระเหยนาโนแล้วพบว่าน้ำมันหอมระเหยนาโนจากพืชมีระยะเวลาในการออกฤทธิ์สั้นกว่าสารเคมีโดยสังเกตจากการมีประสิทธิภาพต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีในช่วงแรกๆ จึงควรปรับปรุงสูตรให้มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ในแปลงข้าวพื้นที่จริง

3) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชที่ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการมีประสิทธิภาพในการกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีมาก แต่เมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงทดสอบ พบว่าน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชสามารถกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีแต่ไม่คงทนต่อสภาพแวดล้อมเมื่อเก็บผลการทดลองในระยะเวลาหลายวัน

4) ทำการศึกษาประสิทธิภาพการไล่ของน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพพื้นที่จริง เพื่อทดสอบว่าน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชมีประสิทธิภาพต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

5) ควรมีการเผยแพร่ให้ความรู้แก่ชาวบ้านและเกษตรกรในการกระบวนการผลิตเพื่อลดต้นทุนการซื้อสารกำจัดแมลง และน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชนี้ยังช่วยในการชะลอความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้

6.3 ข้อเสนอแนะในการทำวิจัยต่อไป

1) ควรหาวิธีการที่ทำให้น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชมีประสิทธิภาพในการคงอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นานขึ้น

2) อาจจะมีการทดสอบเพิ่มเติมเพื่อหาสารลดแรงตึงผิวที่ใช้ทำสารนาโนอิมัลชันให้มีความเหมาะสมต่อตัวน้ำมันหอมระเหย โดยมีคุณสมบัติเพิ่มประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของน้ำมันหอมระเหยที่อยู่ในรูปของสารนาโนมากขึ้น และควรมีราคาไม่แพงเพื่อที่จะสามารถทำออกมาในรูปแบบผลิตภัณฑ์ในการค้าเพื่อใช้กำจัดแมลงต่อไป

3) ควรนำน้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืชที่ได้ไปทดสอบกับแมลงศัตรูข้าวชนิดอื่น ๆ เพื่อศึกษาการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าวโดยใช้น้ำมันหอมระเหยสูตรนาโนจากพืช และศึกษาถึงความเป็นพิษต่อสัตว์ศัตรูธรรมชาติภายในแปลงนาข้าว

บรรณานุกรม

- กรมการข้าว. 2553. คู่มือการดำเนินงานเพื่อยุติการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โรคเขียวเตี้ย และโรคใบหงิก ตามมติ คณะรัฐมนตรี 9 กุมภาพันธ์ 2553.
- กรมการข้าว. 2559. รายงานสถานการณ์ข้าวในประเทศ และ ต่างประเทศ ปี 59 และ ปี 60. [Online]. Available : http://www.ricethailand.go.th/rice_report/images/PDF/inout59-60.pdf. 20 สิงหาคม 2561
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 2553. สารฆ่าศัตรูพืชและสัตว์ธรรมชาติจากน้ำมันหอมระเหยของพืช (Natural pesticides from essential oils of plant). 1-5.
- กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 2558. สหสัมพันธ์ของสภาพแวดล้อมกับแมลงศัตรูข้าว และแมลงศัตรูธรรมชาติในศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์. อ. เมือง, สุรินทร์. 160.
- ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2540. สะเดามีดีใหม่ของการป้องกันและกำจัดแมลง. พิมพ์ครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ชัยวัฒน์ ธรรมจारी. 2539. ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดจากสะเดาให้ได้ผล. วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา. 18(1): 55-60.
- ชัยรัตน์ จันทร์หนู และ นริศรา จำรูญวงษ์. 2557. การคาดการณ์การเคลื่อนย้ายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้อมูลการระบาด ในจังหวัดชัยนาท. ม.ป.ท :กรมการข้าว สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว.
- ณยา วงษ์พูน และ ใจพร พุ่มคำ. 2557. การประยุกต์ใช้นาโนเทคโนโลยี ในผลิตภัณฑ์สุขภาพ. วารสารอาหารและยา ฉบับเดือนกันยายน-ธันวาคม 2557. 9-13.
- นิจศิริ เรืองรังสี และ พะยอม ต้นดิวัฒน์. 2552. พืชสมุนไพร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ. 243 หน้า.
- นิรนาม. 2547. สมุนไพรกำจัดศัตรูพืช. เกษตรก้าวหน้า 17(1-3): 59-67.
- โยธิน สุริยพงศ์. 2542. พื้นฐานทางวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม. โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏนครราชสีมา. 294.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ เรวัต ภัทรสุทธิ นลินี เจียววรรณนะ เพชรหทัย ปฎิรูปานุสร ถนอมจิตร ฤทธิมนตรี และเพชร เช่งซิม. 2550. แมลง-ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์ สุกัญญา อรัญมิตร และ จินตนา ไชยวงศ์. 2554. สถานการณ์ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย. หน้า 209 –225. ใน การประชุมวิชาการข้าวและข้าวโพด เมืองหนาว เนื่องในโอกาสวันข้าวและชาวนาแห่งชาติ ครั้งที่ 2 ปี 2554 เฉลิมพระเกียรติ 84

- พรรษา ด้วยงานวิจัยข้าวไทย. วันที่ 3 – 4 มิถุนายน 2554. โรงแรมอมารี แอร์พอร์ต คอนเมือง , กรุงเทพฯ.
- วันทนา ศรีรัตนศักดิ์. 2553. เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูตัวร้ายของชาวนาในพื้นที่ชลประทาน. **วารสารเกษตรก้าวหน้า**. 23(2). เดือนพฤษภาคม มิถุนายน กรกฎาคม สิงหาคม. 2553: 20-32.
- วันที สว่างอารมณ์. 2542. เอกสารคำสอนรายวิชาพืชเครื่องเทศและสมุนไพร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สถาบันราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา. 341 หน้า.
- สมคิด ดิสถาพร. 2543. การจัดการศัตรูข้าว. **ไร่เขียว**, กรุงเทพฯ. 131-139.
- สมสุข มิจฉาชีพ. 2534. **พืชสมุนไพร**. ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา. สำนักพิมพ์แพร่พิทยา. กรุงเทพฯ. 315 หน้า.
- สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตร. 2552. **สรุปปริมาณการส่งออกข้าวออกไปต่างประเทศรายเดือน**. [Online]. Available : [http://agri.dit.go.th/web_dit_sec2/admin/uploadfiles/upload_files/EXP0011\(Jan2009\).pdf](http://agri.dit.go.th/web_dit_sec2/admin/uploadfiles/upload_files/EXP0011(Jan2009).pdf). 5 สิงหาคม 2552.
- สุเทพ สหยา. 2554. การจัดการเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างยั่งยืน. **วารสารเกษตรเกษตร**. 35(8) :131-134.
- สุภาณี พิมพ์สมาน. 2537. **สารฆ่าแมลงจากสะเดา**. ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 135-143.
- สุภาณี พิมพ์สมาน. 2540. **สารฆ่าแมลง**. พิมพ์ครั้งที่ 2: ขอนแก่น. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- อักษร จันท์เทวี จรงค์ศักดิ์ พุมนวน และอำร อินทร์สังข์. 2556. ประสิทธิภาพน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรต่อตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)). ใน **การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 12. ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค** กรุงเทพฯ. วันที่ 9-12 พฤศจิกายน 2556, กรุงเทพฯ.
- อักษร จันท์เทวี จรงค์ศักดิ์ พุมนวน และอำร อินทร์สังข์. 2556. ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). หน้า 935-942. ใน **การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 11. ณ โรงแรมเซ็นทาราคอนเวนชันเซ็นเตอร์** ขอนแก่น. วันที่ 26-28 พฤศจิกายน 2556, จังหวัดขอนแก่น.
- อาทิตย์ โชติวิริยวาณิชย์. 2550. ข้าวไทยอย่างก้าวหน้าพัฒนาสร้างไทยเป็นศูนย์กลางข้าวโลก. **เทคโนโลยีชาวบ้าน**. 19(408): 54-62.
- Abbott, W.S. 1987. A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. **Journal of the American Mosquito Control Association** 3:302-303.
- Ali, E. O. M., Shakil, N. A., Rana, V. S., Sarkar, D. J., Majumder, S., Kaushik, P., Singh, B. B. and Kumar, J. 2017. Antifungal activity of nano emulsions of neem and citronella oils against

- phytopathogenic fungi, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii*. **Industrial Crops and Products**. **108** (2017) 379-387.
- Anton, N., Benoit, J.P. and Saulnier, P. 2008. Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—A review. **Journal of Controlled Release**. **128**, 185-199.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils—A review. **Food and Chemical Toxicology**. **46** : 446–475. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Batish, D. R. , Singh, H. P. , Kohli, R. K. and Kaur, S. 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. **Forest Ecology and Management**. **256** : 2166–2174. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.08.008>
- Ben Jemba, J. M. , Tersim, N. , Toudert, K. T. and Khouja, M. L. 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. **Journal of Stored Products Research**. **48** : 97–104.
- Bhimrao, K.G. 2005. Studies on the relative degree of damage by brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal.) on rice genotypes and its management through plant derivatives. M.Sc. (Ag.) Thesis, Department of Entomology, I.G.K.V., Raipur, 87.
- Carlson, L.H.C., Machado, R.A.F., Spricigo, C.B., Pereira, L.K. and Bolzan, A. (2001). Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**. **21** (2001) 33–39.
- CDC (Center for Disease Control and Prevention, USA). 2005. CDC adopts new repellent guidance for upcoming mosquito season. [Online]. Available : [http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/Repellent Updates.htm](http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/RepellentUpdates.htm)
- Chaaban, A., de Souza, A.L.F., Martins, C.E.N., Bertoldi, F.C. and Molento, M.B. 2017. Chemical composition of the essential oil of *Tagetes minuta* and its activity against *Cochliomyia macellaria* (Diptera: Calliphoridae). **European Journal of Medicinal Plants**. **18**(1), 1–10.
- Chang, Y.H., McSborough, L. and McClements, D.J. 2012. Physical properties and antimicrobial efficacy of thyme oil nano emulsions: influence of ripening inhibitors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **60**, 12056–12063.
- Chang, Y.H., McSborough, L. and McClements, D.J. 2013. Physicochemical properties and antimicrobial efficacy of carvacrol nano emulsions formed by spontaneous emulsification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. **61**, 8906–8913.

- Chantawee, A., Pumnuan, J. and Insung, A. 2012. Effectiveness of Essential Oils of Medicinal Plants against Brown Planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)). p. 54-58. in **10th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (10th ISBB2012)**. 27-30, Dec. 2012, Harbin Institute of Technology, Harbin, P.R.China.
- Chaubey, M.K. 2012a. Responses of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) against essential oils and pure compounds. **Herba Polonica**. 58(3), 33–45.
- Chaubey, M.K. 2012b. Biological effects of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Essential Oil Bearing Plants**. 15, 809–815. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644124>
- Chogo, J.B. and Crank, G. 1981. Chemical composition and biological activity of the Tanzanian plant *Ocimum suave*. **Journal of Natural Products**. 44, 308–311. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/np50015a012>
- Don-Perdo, K.M. 1996. Investigation of single and joint fumigant insecticidal action of citrus peel oil components. **Journal of Pest Science**. 46, 79–84.
- Donsì, F. and Ferrari, G. 2016. Essential oil nano emulsions as antimicrobial agents in food. **Journal of Biotechnology**. 233, 106–120.
- Dounghana, T., Pumnuan, J. and Insung, A. 2017. Effectiveness of nano turmeric essential oil against the African red mite [*Eutetranychus africanus* (Tucker)]. In. **International Journal of Agricultural Technology 2017** Vol. 13(7.2), 1659-1667.
- Duarte, J.L., Amado, J.R., Oliveira, A.E., Cruz, R.A., Ferreira, A.M., Souto, R.N., Falcão, D.Q., Carvalho, J.C.T. and Fernandes, C.P. 2015. Evaluation of larvicidal activity of a nano emulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 25 (2), 189–192.
- Elzen, G.W. and Hardee, D.D. 2003. United state department of agricultural-agricultural research on managing insect resistance to insecticides. **Pest Management Science**. 59, 770–776.
- Fradin, M.S. and Day, J.F. 2002. Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. **The New England Journal of Medicine**. 347, 13– 18. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1056/NEJMoa011699>
- Ghosh, V., Mukherjee, A. and Chandrasekaran, N. 2012. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and Evaluation of its bactericidal activity. **Ultrasonics Sonochemistry**. 4, 497-500.

- Harris, R. 2006. Monitoring of neonicotinoid resistance in *Nilaparvata lugens* and subsequent management strategies in Asia Pacific. **Proceedings of the International Workshop on Ecology and Management of Rice Planthoppers**. 16-19 May 2006. Zhejiang University, Hangzhou, China. 2.
- Heong, K.L. 2009. Assessing BPH outbreak risks of commonly used insecticides. **International Rice Research Institute**, Los Banos, Philippines.
- Hong, X.X., Xu, S.Z., Ya, J.Y., Jun, C.T., Yan, H.L., Keng, H.T., Kong, L.H. and Zhong, X.L. 2015. Methyl eugenol bioactivities as a new potential botanical insecticide against major insect pest and their natural enemies in rice. (*Oryza sativa*), Hangzhou, China. **Crop Protection**. pp 144-149.
- Insung, A., **Pumnuan, J.** and Chantawee, A. 2014. Effect of plant essential oils on survival of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) by direct spray in insectary. *in: 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (12th ISBB2014)*, Novotel Chumphon Beach Resort and Golf, December 11-13, 2014, Chumphon Thailand.
- Isman, M.B. 2005. Tropical forests as source of natural insecticides. In: Arnason, J.T., M. Abou-Zaid and J.T. Romeo (eds.) **Advances in Phytochemistry**. Volume 39 (Chemical Ecology and Phytochemistry of Forests and Forest Ecosystems). Elsevier, Amsterdam.
- Isman, M.B. and Machial, C.M. 2006. Pesticides based on plant essential oils: From traditional practice to commercialization. In: Rai, M., Carpinella, M.C. (Eds.), naturally occurring bioactive compounds. **Advances in Phytomedicine**. 3, 29–44. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S1572-557X\(06\)03002-9](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(06)03002-9)
- Jawsuwanwong, K., **Pumnuan, J.** and Insung, A. 2014. Repellent and ovipositional inhibition properties of essential oil formulas from star anise (*Illicium verum*) and dill (*Anethum graveolens*) against stored product insects *in 11th International Working Conference on Stored Product Protection (11th IWCSPP 2014)*, November 24-28, 2014, **The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand**.
- Jhones, L.D.O., Estefania, V.R.C., Mansi, B.P.C.A. and Leonardo, F.F. 2014. Application of nano technology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. **Biotechnology Advances**. 32, 1550–1561.
- Kanat, M., Hakk, M. and Alma, M. 2003. Insecticidal effects of essential oils from various plants against larvae of pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae). **Pest Management Science**. 60, 173–177.

- Karunamoorthi, K., Girmay, A. and Hayleeyesus, S. F. 2014. Mosquito repellent activity of essential oil of Ethiopian ethnomedicinal plant against Afro-tropical malarial vector *Anopheles arabiensis*. **Journal of King Saud University of Science**. 26, 305–310. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2014.01.001>
- Karunamoorthi, K., Ilango, K. and Murugan, K. 2010 Laboratory evaluation of traditionally used plant-based insect repellent against the malaria vector *Anopheles arabiensis* Patton (Diptera: Culicidae). **Parasitology Research**. 106:1217-23.
- Kordali, S. , Cakir, A. , Mavi, A. , Kilic, H. and Yildirim, A. 2005. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish artemisia species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53, 1408–1416. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/jf048429n>
- Koshier, E.L. and Sedy, K.A. 2001. Effect of plant volatiles on the feeding and oviposition of Thripstabaci. In R. Marullo, & L. Kound (Eds.), **Thrips and Tospoviruses** (pp. 185–187). Australia: CSIRO
- Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G.S. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopesticides International**. 4(1): 63 - 84
- Lakyat, A., Pumnuan, J. and Insung A. 2017. Effectiveness of nano plant essential oils against brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). in **International Journal of Agricultural Technology 2017**. Vol. 13(7.2): 1537-1546.
- Li, P.H. and Lu, W.C. 2016. Effects of storage conditions on the physical stability of D-limonene nano emulsion. **Food Hydrocolloid**. 53, 218–224.
- Lima, R.K., Cardoso, M.G., Moraes, J.C., Vieira, S.S., Melo, B.A. and Filgueiras, C.C. 2008. Composition of the essential oils from the Japanese star Anise, *Illicium verum* L. and lemon grass *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Evaluation of their repellent effects on *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). **Bioassay 2008**; 3: 1-6.
- López, S.B., López, M.L., Aragón, L.M., Tereschuk, M.L., Slanis, A.C., Feresin, G.E. and Tapia, A. A. 2011. Composition and anti-insect activity of essential oils from *Tagetes* Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 59(10), 5286–5292. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/jf104966b>

- Lu, F.C. 1995. A review of the acceptable daily intakes of pesticides assessed by the world health organization. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**. 21, 351–364.
- Lucia, A., Audino, P. G., Seccacini, E., Licastro, S., Zerba, E. and Masuh, H. 2007. Larvicidal effect of *Eucalyptus grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes aegypti* larvae. **Journal of the American Mosquito Control Association**. 23, 299–303. [Online]. Available : [https://doi.org/10.2987/8756-971X\(2007\)23\[299:LEOEGE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2987/8756-971X(2007)23[299:LEOEGE]2.0.CO;2)
- Mei, Z., Chen, H., Weng, T. and Yang, Y. 2003. Solid lipid nanoparticle and micro emulsion for topical delivery of triptolide. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 56, 189–196.
- Min, L., Jin-Jing, X., Li-Jun, Z., Liu, Y., Xiang-Wei, W., Ri-Mao, H. and Hai-Qun, C. 2016. Insecticidal activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and RNA-seq analysis of *Sitophilus zeamais* transcriptome in response to oil fumigation. **PLoS One**. 11(12), e0167748.
- Mishra, B.B., Tripathi, S.P. and Tripathi, C.P.M. 2012. Repellent effect of leaves essential oils from *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) and *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) against two major stored grain insect pests of Coleopterans. **Nature and Science**. 10(2): 50-53.
- Mohamed, F., Mohamed H. M. Ahmedb, H. Y., Adel, A.H. and Rahman, A. 2010. Repellent and insecticidal activities of *Melia azedarach* L. against cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) Z. **Naturforsch**. 66: 129 – 135.
- Moretti, M.D.L., Sanna-Passino, G., Demontis, S. and Bazzoni, E. 2000. Essential oil formulations useful as a new tool for insect pest control. **AAPS Pharmaceutical Science and Technology**. 3(2), 13.
- Musa, A.R., Aleiro, B.L., Shehu, M.M., Aisha, U. and Yusuf, A. 2015. Larvicidal and insecticidal effect of *Cymbopogon citratus* (Lemongrass) on *Anopholes mosquitoes* in Sokoto State, Nigeria. **Journal of Zoological and Bioscience Research**. 1(2):4-6.
- Olivero-Verbel, J., Nerio, L.S. and Stashenko, E.E. 2010. Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. **Pest Management Science**. 66:664-668.
- Papachristos, D.P., Karamanoli, K., Stamopoulos, D.C. and Menkissoglu-Spiroudi, U. 2004. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal

- activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). **Pest Management Science**. 60, 514–520.
[Online].Available : [https://doi.org/10.1002/\(ISSN\)1526-4998](https://doi.org/10.1002/(ISSN)1526-4998)
- Park, C.G., Shin, E. and Kim, J. 2016. Insecticidal activities of essential oils, *Gaultheria fragrantissima* and *illicium verum* their components and analogs against *Callosobruchus chinensis* adults. **Journal of Asia Pacific Entomology**. 19 (2016): 269- 273.
- Pascual-Villalobos, M.S. and Robledo, A. 1998. Screening for anti-insect activity in mediteranean plant. **Journal Industrial Crops and Products**. 8 (3), 183-194.
- Pathak, M.D. and Khan, Z.R. 1994. **Insect Pest of Rice**. Manila. IRRI
- Pavelaa, R., Muruganb, K., Canalec, A. and Benelli, G. 2017. *Saponaria officinalis*-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch. **Industrial Crops and Products**. 97 (2017), 338–344.
- Peng, L.C., Liu, C.H., Kwan, C.C., Huang, K.F. 2010. Optimization of water-in-oil nanoemulsions by mixed surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 370, 136-142.
- Pereira, S. G. , Sanaveerappanavar, V. T. and Murthy, M. S. 2006. Geographical variation in the susceptibility of the diamond back moth *Ptlutella xylostella* L. to *Bacillus thuringiensis* products and acylurea compounds. **Pest Management**. 15, 26–26.
- Pingali, P.L. and Hossain, M. 1998. Rice research technological progress and impact on productivity and poverty an overview. Proc. of **the International Conference on the Impact of Rice Research**. Bangkok. 1-25.
- Pinto, Z.T., Sánchez, F.F., Santos, A.R., Amaral, A.C.F., Ferreira, J.P., Arranz, J.C.E. and Queiroz, M.M.C. 2015. Effect of *Cymbopogon citrates* (Poaceae) oil and citral on post-embryonic time of blowflies. **Journal of Entomology and Nematology**. 7(6), 54-64.
- Pumnuan, J.** and Insung, A. 2017. The effectiveness of some plant essential oil formulas to control brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in. 15th **International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (ISBB 2017)**, 114 - 119 Hurghada, Egypt.
- Regnault-Roger, C., Vincent, C. and Arnason, J. T. 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high- stakes world. **Annual Review of Entomology**. 57, 405– 424.
[Online].Available : <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100554>
- Sabbour, M.M. and El- Aziz, S. E. A. 2016. Roll of three essential oils and their nano against *Ephestia cautella* (Lepidoptera-Pyralidae) under laboratory and store conditions. **International Journal of Pharm Tech Research**. 9 (10): 194-200.

- Sainath, G. 2016. Bio-efficacy of tree seed oils and essential oils against brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal.). **Journal of Agricultural Science**.
- Seyoum, A., Killeen, G.F., Kabiru, E.W., Knols, B.G.I. and Hassanali, A. 2003. Field efficacy of thermally expelled or live potted repellent plants against African malaria vectors in western Kenya. **Tropical Medicine & International Health**. 8, 1005–1011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1046/j.1360-2276.2003.01125.x>
- Shafiq, S., Faiyaz, S., Sushma, T., Ahmad, F. J., Khar, R. K. and Ali, M., 2007. Development and bioavailability assessment of ramipril nano emulsion formulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. 66, 227–243.
- Sharififard, M., Safdari, F., Siahpoush, A., Hamid, H. and Kassiri, H. 2016. Evaluation of some plant essential oils against the brown-banded cockroach, *Supella longipalpa* (Blattaria: Ectobiidae): A mechanical vector of human pathogens. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**. 10(4), 528–537.
- Sharma, N., Bansal, M., Visht, S., Sharma, P. and Kulkarni, G. 2010. Nanoemulsion: A new concept of delivery system. **Chronicles of Young Scientists**. 1, 2-6.
- Shelton, A.M., Zhao, J.Z. and Roush, R.T. 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of B-transgenic plants. **Annual Review of Entomology**. 47, 845–881. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145309>
- Shukla, J., Tripathi, S.P. and Chaubey, M.K. 2009. Toxicity of *Myristica fragrans* and *Illicium verum* essential oils against flour beetle *Tribolium castaneum* herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Electronic journal of environmental. **Agriculture and Food Chemistry**. 8(6), 403-407.
- Sithisut, D., Fields, P. G. and Chandrapathya, A. 2011. 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*. **The Journal of Stored Products**. 104, 1445–1454.
- Speranza, A., Corradini, M.G., Hartman, T.G., Ribnicky, D., Oren, A. and Rogers, M. A. 2013. Influence of emulsifier structure on lipid bioaccessibility in oil–water nanoemulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 61, 6505–6515.
- Sumiartha, K. and Sudiarta, I.P. 2011. Efficacy of some essential oil extracted from tropical plants to hairy caterpillar. Faculty of Agriculture, Udayana University, Denpasar; Indonesia.
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. and Solans, C. 2004. Formation and stability of nano-emulsions. **Advances in Colloid and Interface Science**. 108,303-318.

- Tholl, D. 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**. 9, 297–304. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.014>
- Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Kumar, S., Kukreja, A.K., Dwivedi, S. and Singh, A.K. 2000. Effects of volatile oil constituents of *Mentha* species against stored grain pests, *Callosobruchus maculatus* and *Tribolium castaneum*. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**. 22, 549–556.
- Tripathi, A.K., Prajapati, V., Khanuja, S.P.S. and Kumar, S. 2003. Effect of d-limonene on three stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology**. 96, 990 – 995. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1093/jee/96.3.990>
- Verbel, J.O., Nerio, L.S. and Stashenko, E.E. 2010 Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. **Pest Management Science**. 66(6), 664-8.
- Weaver, D.K., Dunkel, F.V., Ntezurubanza, L., Jackson, L.L. and Stock, D.T. 1991. The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product Coleoptera. **Journal of Stored Products Research**. 27, 213– 220. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(91\)90003-U](https://doi.org/10.1016/0022-474X(91)90003-U)
- Wu, Y., Guo, S., Huang, D., Wang, C., Wei, J., Li, Z. and Du, S. 2017. Contact and repellent activities of zerbubone and its analogues from the essential oil of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith against *Lasioderma serricorne*. **Journal of Oleo Science**. 66 (4), 399– 405. [Online]. Available : <https://doi.org/10.5650/jos.ess16166>
- Ziani, K., Chang, Y.H., McSborough, L. and McClements, D.J. 2011. Influence of surfactant charge on antimicrobial efficacy of surfactant stabilized thyme oil nano emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 59, 6247–6255.

ภาคผนวก

ICEAS-0122**Effectiveness of Nano Plant Essential Oils against Adult of Brown Planthopper,
Nilaparvata lugens (Stål) by Direct Spray Method****Anuwat Lakyat^a, Jarongsak Pumnuan^b and Ammorn Insung^{c,*}**

^a Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

E-mail address: anuwatraky@gmail.com

^b Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

E-mail address: jarongsak.pu@kmitl.ac.th

^c Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

*Corresponding author, E-mail address: kiammorn@gmail.com

Abstract

The brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål) is the most economically important insect pest of rice in Thailand. This research study objective was to compare the effectiveness of nano

essential oils (nEO) from star anise, (*Illicium vercum* (Hook.f.)) and lemon grass (*Cymbopogon citratus* (Dc. exNees)) and those plant essential oils mixed with tween as surfactant at doubling concentration of essential oil used (EO2T) against adult of BPH. Nano particle of essential oils were prepared by using High Pressure Homogenizer and measured by Nano Particle Analyzer. Then, 20 BPH adults were transferred to filter paper put in Petri dishes (5 cm diameter, 1.2 cm height). Insects were employed with CO₂ fumigation for 30 seconds to be asphyxiation after that they were directly sprayed with 5 ml of each nEO or EO2T treatment at 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 and 0.6 % concentrations under spray tower. The insect mortality was observed at 6, 12, 18 and 24 hours. The results revealed that at 6 hours of 0.6 % concentration, EO2T of lemon grass showed the highest effectiveness caused 100 %mortality, followed by nEO of lemon grass, EO2T of star anise and nEO of star anise, which gave %mortality at 98.0, 95.9 and 93.3 %, respectively. As for the toxicity from 12 hours henceforth, nEO and EO2T of all essential oils at 0.3- 0.6% concentrations were mostly extremely toxic to BPH adult, particularly nEO of lemon grass at 0.4 % concentration could completely kill BPH adult within 24 hours. It also showed the best LC₅₀ of 0.032 at 24 hours. When EO2T of lemon grass showed relatively lower effect when compared to other treatments, with sometime statistically significant difference at the observation time.

Keywords: rice, essential oil, nano essential oil, brown planthopper, direct spray method

1. Introduction

The brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål), is one of the most serious insect pests of rice. The damage caused by BPH feeding has the highest effect on the growth and crop yield of the susceptible rice plant through the removal of assimilates and the reduction in photosynthetic rate of leaves. Plant outcome can occur if the amount of energy supplied is less than that required for tissue maintenance. (Watanabe and Kitagawa, 2000; Yuan *et al.*, 2005). This monophagous pest causes severe damage to rice plants through direct sucking, ovipositing and virus disease transmission. Because of its highly adaptive capacity to changing cultural practices and high reproductive potential, frequent

chemical treatments to every generation are necessary to bring the insect populations under control. (Ding and Su, 2002; Chen *et al.*, 1978). Biopesticides by different modes of action may minimize insecticide resistance and pest resurgence problems while being safe and ecologically acceptable (Matthews, 1999; Copping and Menn, 2000; Senthil Nathan *et al.*, 2006a, b) Thereby, multiple worldwide efforts to use botanical products to control insect vectors and pests appeared in the latest years. Biopesticides offer an alternative to insect control in which the effect to the environment is minimized, reaching only target organisms, with a minimal residual activity against predators, parasites and pollinator insects (Llu *et al.*, 2000). Plants and their natural enemies (insects, bacteria or viruses) have undergone a co-evolution process in which a new plant resistance character that reduces enemy attack is developed. The essential oils are a type of metabolite with this function, characterized by complex mixtures of monoterpenoids and sesquiterpenoids as major metabolites. The number and quantities of compounds in the essential oil produced by a single plant can change with the environment characteristic, place of collection, plant age and other conditions, but in general, the major compounds remain as a significative chemical marker. Due to the volatile, odorous and lipophylic characteristics of the essential oils, they can be toxic to insects, induce behavioral modifications, provoke direct disruption of specific physiological routes related to neuroendocrine system and in their reproduction (Prates and Santos, 2002; Garcia and Azambuja, 2004). While Thanaporn *et al.* (2017) reported effectiveness in terms of toxicity and repellent properties of nano essential oil of turmeric (*Curcuma longa* (Linn.)) against the African red mite (*Eutetranychus africanus* (Tucker)) and showed that nano turmeric essential oil at 1% concentration had a high toxic property, showed 95.5% mortality with LC_{50} and LC_{90} values at 0.39 and 0.74%, respectively, whereas different concentrations of surfactant also showed high toxic effect to the mite with LC_{50} and LC_{90} values at 0.49 and 0.98%, respectively. Anyhow, there was no significant difference among them. In addition, nano turmeric essential oil at 0.1% showed extremely the repellent property to the African red mite, presented 90%RI at 24 hour.

Therefore, the objective of this study was to evaluate effectiveness of nano plant essential oils against brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) by using direct spray method

2. Materials and methods

2.1 Insect cultures

An adult colony of brown planthopper (BPH) (*Nilaparvata lugens*) was obtained from Pathumtani Rice Research Center, Pathumtani province. The insects were cultured on Khao Dawk Mali 105 rice in insectary at Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Thailand.

2.2 Essential oil and nano essential oil preparation

Essential oils (EOs) from star anise and lemon grass used in the experiments were purchased from Thailand – China Flavours and Fragrances Industry Co., Ltd. The essential oils were diluted with distilled water to get 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 and 0.6% solutions which Tween-20 at doubling concentrations was added as an emulsifier. To prepare nano plant essential oils, each EO was diluted in water when primary surfactant was tween20 (HLB = 16.7), and co-surfactant was ethylene glycol 400 (PEG400) (HLB = 13). The previous surfactant matches with the ingredients called Smix. Each couple would have ratios of 1: 1, 1: 1.5 to 1: 2, 1: 2.5, 1: 3, 1: 3.5, 1: 4 and 1: 4.5 and after that filled with distilled water for 10 ml, then essential oils of star anise and lemon grass, mixed with Smix ratios of 1: 1, 1: 1.5 to 1: 2, 1: 2.5, 1: 3, 1: 3.5, 1: 4 and 1: 4.5, set aside at room temperature. Reduction of particle size of plant essential oil was done by using High Pressure Homogenizer. Beside, the satiability refers as zeta Potential Charge of nano plant essential oils was measured by Nano plus Zeta / Nano Particle Analyzer.

2.3 Direct spray method

The efficiency of essential oils from star anise and lemon grass, diluted in water mixed with tween at doubling time and nano essential oils on BPH was evaluated using the direct spray method. Amount of 15 BPH adults were transferred to each Petri dishes (5 cm diameter, 1.2 cm height). Insects

were employed with CO₂ fumigation for 30 seconds to be asphyxiation, after that they were directly sprayed with 5 ml of each nEO or EO2T treatment at 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 and 0.6 % concentrations under spray tower. The insect mortality was observed at 6, 12, 18 and 24 hours. Abbott's formula was used to calculate the actual death rates (Abbott, 1987). The lethal concentration (LC₅₀ and LC₉₀) of the different plant essential oils were calculated using SPSS statistic package (version 11.0).

2.4 Statistical analysis

The experiment was a completely randomized design with three replicates. The actual death rates were calculated using Abbot's formula (Abbott, 1987). The data were processed using the applying analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range tests (DMRT) in SAS. Then, the statistical outputs were presented. The lethal concentration (LC₅₀ and LC₉₀) was calculated by the probit analysis in SPSS.

3. Results and Discussion

Obtained result showed that at 6 hours, essential oils with tween used at doubling time (EO2T) and nano essential oil at 0.3% concentration caused 40.9 – 59.7 % mortality of brown planthopper (BPH). EO2T of lemon grass at a concentration of 0.6% could remarkably kill BPH by 100%. However, the LC₅₀ nEO of lemon grass gave the best LC₅₀ and LC₉₀ values at 0.285 and 0.492%, respectively. Within this period, the mortality percentage of BPH caused by different essential oils at the same concentration were non-statistically different, except for 0.2% concentration (Table 1 and 2). The toxicity of the essential oils (EOs) at 12 hours was quite similar to those of the 6 hours, but among them, EO2T of lemon grass at 0.2 and 0.6% concentrations were lower significantly different. The the best LC₅₀ values was found on nEO of star anise with 0.152%. Similar result was also obtained at 18 hours, when the higher EO concentration caused the higher mortality. Remarkably, 0.6% concentration, all EOs could completely kill BPH. The nEO of star anise still showed the highest activity to BPH with

LC₅₀ at 0.108%. Finally, at 24 hours, nEO of lemon grass surprisingly presented the highest effectiveness against BPH. Even if only 0.1% concentration caused BPH mortality of 70.1%, but with non-significant difference when compared to nEO of star anise. On contrarily, EO2T of lemon grass normally showed lower

activity when compared with other EOs. The LC₅₀ obtained revealed that the most effective EO formula was nEO of lemon grass, followed by nEO of star anise, EO2T of star anise and EO2T of lemon grass with the LC₅₀ values at 0.032, 0.049, 0.090 and 0.144%, respectively. The LC₉₀ values of those EOs were also obtained with highly contemporary toxicity. However, control showed to have increased mortality rates higher by the time test. It may due to the conditions of food and low humid

Table 1. Mortality percentage of brown planthopper, *Nilaparvata lugens*) Stål (after exposed to essential oils with tween and nano essential oils.

Time	Essential oils	Mortality (%) (Mean±SD)							%C V
		Concentration (%)							
		Control (Surfactant)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	
6 hours	EO2T of star anise	11.8±5.4 ^{Aa}	8.3±7.7 ^{Aa}	34.2±13.4 ^{Aa}	40.9±15.7 ^{Ab}	79.9±12.4 ^{Aa}	89.5±13.8 ^{Aa}	95.9±3.6 ^{Aa}	21.67
	EO2T of lemon grass	7.6±13.1 ^{Ad}	6.0±6.3 ^{Ad}	12.7±4.7 ^{Bd}	54.2±8.5 ^{Ac}	72.1±19.7 ^{Abc}	89.6±10.5 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	21.90
	nEO of star anise	8.9±7.8 ^{Ad}	1.9±3.2 ^{Ad}	44.7±3.3 ^{Ac}	59.7±9.6 ^{Ab}	64.4±9.4 ^{Ab}	88.2±11.5 ^{Aa}	93.3±5.8 ^{Aa}	15.14
	nEO of lemon grass	8.8±15.2 ^{Ad}	5.8±5.6 ^{Ad}	33.2±9.6 ^{Ac}	51.7±4.9 ^{Ab}	67.2±15.2 ^{Ab}	97.4±2.3 ^{Aa}	98.0±3.4 ^{Aa}	18.27
	%CV	119.86	107.51	27.94	20.24	20.65	11.48	3.92	
12 hours	EO2T of star anise	20.0±2.1 ^{Ad}	18.2±14.3 ^{Ad}	61.7±10.8 ^{Ac}	77.3±7.9 ^{Ab}	93.4±5.8 ^{Aa}	93.9±6.6 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	12.26
	EO2T of lemon grass	10.8±10.4 ^{Ac}	14.4±9.4 ^{Ac}	22.4±6.5 ^{Bc}	76.1±18.7 ^{Ab}	75.7±22.2 ^{Ab}	93.2±5.9 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	22.54
	nEO of star anise	24.8±6.5 ^{Ac}	21.1±6.3 ^{Ac}	73.9±13.0 ^{Ab}	84.0±6.6 ^{Ab}	87.0±17.9 ^{Ab}	97.9±3.6 ^{Aa}	97.2±2.5 ^{Ba}	13.71
	nEO of lemon grass	17.0±17.3 ^{Ac}	19.9±13.5 ^{Ac}	62.5±12.5 ^{Ab}	67.0±17.9 ^{Ab}	93.8±2.5 ^{Aa}	98.7±2.3 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	17.96
	%CV	58.66	61.67	20.01	18.32	16.69	5.10	1.28	
18 hours	EO2T of star anise	30.4±4.8 ^{Ad}	32.3±20.9 ^{Ad}	65.3±8.0 ^{Ac}	77.3±13.5 ^{Abc}	93.4±5.8 ^{Ab}	95.3±4.4 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	13.54
	EO2T of lemon grass	17.0±9.2 ^{Ac}	22.9±1.9 ^{Ac}	27.3±6.4 ^{Bc}	79.2±13.5 ^{Ab}	77.1±18.0 ^{Ab}	93.2±5.9 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	16.43
	nEO of star anise	30.5±11.5 ^{Ac}	39.7±12.9 ^{Ac}	79.7±2.9 ^{Ab}	84.0±6.6 ^{Ab}	87.0±17.9 ^{Ab}	97.9±3.6 ^{Ab}	100±0.0 ^{Aa}	13.30
	nEO of lemon grass	28.5±16.4 ^{Ac}	30.7±10.9 ^{Ac}	64.6±13.0 ^{Ab}	74.9±10.4 ^{Ab}	95.8±1.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	13.78
	%CV	42.37	42.82	14.15	12.61	14.73	4.24	0.0	
24 hours	EO2T of star anise	40.1±4.2 ^{Ac}	42.0±19.6 ^{ABc}	70.4±7.4 ^{ABb}	87.9±9.5 ^{Aa}	98.1±3.2 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	11.59
	EO2T of lemon grass	37.6±12.9 ^{Ab}	35.3±3.8 ^{Bb}	49.7±21.6 ^{Bb}	82.2±6.6 ^{Aa}	79.2±14.4 ^{Ba}	94.9±5.0 ^{Ba}	100±0.0 ^{Aa}	18.78
	nEO of star anise	39.2±15.8 ^{Ab}	59.0±26.7 ^{ABb}	86.4±4.1 ^{Aa}	87.3±9.3 ^{Aa}	96.6±3.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	15.29
	nEO of lemon grass	41.1±6.2 ^{Ab}	70.1±4.3 ^{Ac}	86.1±3.7 ^{Ab}	97.3±2.5 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	100±0.0 ^{Aa}	3.90
	%CV	27.54	32.60	16.05	12.07	8.07	2.53	0.0	

EO2T =essential oil with tween used as surfactant at doubling concentration.

nEO = nano essential oils.

Means in column within the period followed by different capital letter indicate significant differences between the substances.

Means in row followed by different common letter indicate significant differences between the substances at $P \geq 0.05$ (one-way ANOVA)

Table 2. LC₅₀ and LC₉₀ of essential oils with tween and nano essential oils against brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)

Time	Essential oils	Regression equation	Chi-square	LC ₅₀ (Low-Up)	LC ₉₀ (Low-Up)
6 hours	EO2T of star anise	Y= -1.579+5.502x	19.054	0.287 (0.232-0.342)	0.520 (0.448-0.642)
	EO2T of lemon grass	Y= -2.044+6.694x	27.131	0.305 (0.247-0.366)	0.497 (0.425-0.627)
	nEO of star anise	Y= -1.514+5.229x	28.978	0.290 (0.215-0.361)	0.535 (0.445-0.712)
	nEO of lemon grass	Y= -1.772+6.212x	21.250	0.285 (0.231-0.339)	0.492 (0.423-0.609)
12 hours	EO2T of star anise	Y= -1.060+5.919x	18.505	0.179 (0.119-0.230)	0.396 (0.332-0.503)
	EO2T of lemon grass	Y= -1.578+6.199x	27.572	0.255 (0.190-0.316)	0.461 (0.387-0.600)
	nEO of star anise	Y= -0.802+5.282x	30.447	0.152 (0.049-0.224)	0.394 (0.311-0.568)
	nEO of lemon grass	Y= -1.186+6.387x	16.792	0.186 (0.134-0.232)	0.386 (0.328-0.483)
18 hours	EO2T of star anise	Y= -0.707+5.105x	9.323	0.138 (0.087-0.180)	0.389 (0.337-0.468)
	EO2T of lemon grass	Y= -1.244+5.475x	28.242	0.227 (0.152-0.294)	0.461 (0.379-0.623)
	nEO of star anise	Y= -0.537+4.983x	15.422	0.108 (0.027-0.164)	0.365 (0.299-0.478)
	nEO of lemon grass	Y= -0.842+5.877x	14.907	0.143 (0.086-0.190)	0.361 (0.302-0.460)
24 hours	EO2T of star anise	Y= -0.518+5.760x	11.506	0.090 (0.029-0.135)	0.312 (0.259-0.399)
	EO2T of lemon grass	Y= -0.607+4.220x	21.715	0.144 (0.037-0.215)	0.447 (0.358-0.628)
	nEO of star anise	Y= -0.266+5.474x	6.349	0.049 (0.014-0.076)	0.283 (0.253-0.320)
	nEO of lemon grass	Y= -0.231+7.146x	1.136	0.032 (0.003-0.055)	0.212 (0.186-0.245)

EO2T =essential oil with tween used as surfactant at doubling concentration.

nEO =nano essential oils.

According to the report of Lakyat *et al.* (2017) revealed that star anise and lemon grass EOs mixed with tween used as surfactant at doubling concentration and nano essential oils of those at 0.08 and 0.1% concentrations were highly effective in killing BPH adult by residual exposure method. As for the other reports dealing with using nano essential oil to control pest as Doungnapa *et al.* (2017)

found that nEO of turmeric at 1% concentration had a high toxic property, showed 95.5% mortality of African red mite, *Eutetranychus africanus* (Tucker) and gave the LC_{50} value at 0.39 %. Beside, different concentrations of surfactant also showed high toxic effect to the mite with LC_{50} value at 0.49 %. Anyhow, there was no significant difference among them. There were many reports regarding using essential oil to control pest. Park *et al.* (2016) revealed the fumigation of 20 essential oils on cowpea weevil and found that star anise oil was highly effective in killing, with an LC_{50} of 3.14 mg / L. Pinto *et al.* (2015) reported lemon grass oils had toxic effect on post-embryonic development of all tested blowflies. While the mortality for *Chrysomya megacephala* reached 80% of the flies treated with essential oil, and values under 50% for the LC_{50} ; *Chrysomya putoria* had the highest ratio of deformities. Also, Sumiartha and Sudiarta (2011) reported the essential oil at 1% concentration of lemon grass was found extremely effective to kill hairy caterpillar. The examination for lemon grass below 1% concentration were successively. From those experimentation, below concentration of 0.50%, the hairy caterpillar was killed 90%, whilst the concentration of 0.25% was normal effective (50%). Likewise, Lima *et al.* (2008) reported essential oils of the Japanese star anise, *Illicium verum* Hook and lemon grass, *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf presented repellent/deterrent effects to the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). Chantawee *et al.* (2012) reported the essential oils of lemon grass and star anise incorporated with petroleum oil at the concentration of 0.5% showed high effectiveness to brown planthopper compared to 0.3 – 0.6% concentration of this study. In the part of chemical compounds of star anise and lemon grass essential oils was reported. It was found that total of 18 compounds were identified from star anise oil. The most abundant compound was trans-anethole followed by limonene when the other compounds were comprised below 1% (Park *et al.*, 2016). The compounds presented in larger quantities in the lemon grass essential oil were neral, geranial and myrcene (Carlson *et al.*, 2001). The most abundant compounds were relatively subjected to be the most effective compounds.

4. Conclusion

The effectiveness of nano essential oils (nEO) from star anise, (*Illicium vercum* (Hook.f.)) and lemon grass (*Cymbopogon citratus* (Dc.exNees)) and those plant essential oils mixed with tween as surfactant at doubling concentration of essential oil used (EO2T) against adult of brown planthopper (BPH) was performed under spray tower. The nano particle of essential oils were prepared by using High Pressure Homogenizer and measured by Nano Particle Analyzer. The results revealed that the toxicity from 12 hours henceforth, nEO and EO2T of all essential oils at 0.3- 0.6 concentrations were mostly extremely toxic to BPH adult, particularly nEO of lemon grass at 0.4 % concentration could completely kill BPH adult within 24 hours. It also showed the best LC_{50} of 0.032 at 24 hours. When EO2T of lemon grass showed relatively lower effect when compared to other treatments.

5. Acknowledgement

This work was supported by the Thailand Research Fund (TRF) under the research project of development of essential oils from plants to control BPH and bedbug using nanotechnology, project No. RDG5950159.

6. References

- Abbott, WS. (1987). A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. Journal of the American Mosquito Control Association 3:302-303.
- Carlson, L.H.C., Machado, R.A.F., Spricigo, C.B., Pereira, L.K. and Bolzan, A. (2001). Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. Journal of Supercritical Fluids 21 (2001) 33–39.
- Chantawee, A., Pumnuan, J. and Insung, A. (2012). Effectiveness of plant essential oils incorporated with petroleum oil to control Brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål). In: 11th National

Plant Production Conference. November 26-28, 2012, Centara Hotel & Convention Centre, Khon kaen, Thailand.

Chen, C.C., Ku, W.H. and Chiu, R.J. (1978). Rice wilted stunt and its transmission by the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal). ° Plant Prot Bull Taiwan 20:376.

Copping, L.G. and Menn, J.J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. Pest Manage. Sci. 56, 551–576.

Ding, J.H. and Su, J.Y. (2002). Agricultural Entomology (in Chinese). China Agricultural Press, Beijing, China, 163–169.

Doungnapa, T., Pumnuan, J. and Insung, A. (2017). Effectiveness of nano turmeric essential oil against the African red mite [*Eutetranychus africanus* (Tucker)]. International Journal of Agricultural Technology 2017 Vol. 13(7.2), 1659-1667.

Garcia, E.S. and Azambuja, P. (2004). Lignoids in insects: chemical probes for the study of ecdysis, excretion and - triatomine interactions. *Trypanosoma cruzi* Toxicon 2004; 44(4): 431-440. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxicon.05.007>. PMID: 15302525.

Lakyat, A., Pumnuan, J. and Insung A. (2017). Effectiveness of nano plant essential oils against brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). International Journal of Agricultural Technology 2017 Vol. 13(7.2): 1537-1546.

Lima, R.K., Cardoso, M.G., Moraes, J.C., Vieira, S.S., Melo, B.A. and Filgueiras, C.C. (2008). Composition of the essential oils from the Japanese star Anise *Illicium verum* L. and lemon grass *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Evaluation of their repellent effects on *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae). Bioassay 2008; 3: 1-6.

Liu, S.Q., Shi, J.J., Cao, H., Jia, F.B., Liu, X.Q., and Shi, G.L. (2000). Survey of pesticidal components in plant. In: Benjing. Entomology in China in 21 st Century. China: Science & Technique Press; 1098-1104.

- Matthews, G.A. (1999). Pesticides, IPM and training. *Phytoparasitica* 27, 253–256.
- Park, C.G., Shin, E. and Kim, J. (2016). Insecticidal activities of essential oils, *Gaultheria fragrantissima* and *illicium verum* their components and analogs against *Callosobruchus chinensis* adults. *Journal of Asia pacific entomology* 19 (2016): 269- 273.
- Pinto, Z.T., Sánchez, F.F., Santos, A.R., Amaral, A.C.F., Ferreira, J.P., Arranz, J.C.E. and Queiroz, M.M.C. (2015). Effect of *Cymbopogon citrates* (Poaceae) oil and citral on post-embryonic time of blowflies. *Journal of Entomology and Nematology*. Vol. 7(6): 54-64.
- Prates, H.T. and Santos, J.P. (2002). Óleos essenciais no controle de pragas de grãos armazenados. In: Lorini I, Miike LH, Scussel VM, editores. *Armazenagem de grãos*. Campinas: Instituto Bio Geneziz; 443-461.
- Senthil N.S., Chung, P.G. and Murugan, K. (2006(a)). Combined effect of biopesticides on the digestive enzymatic profiles of *Cnaphalocrocis medinalis* (Guene'e) (rice leaffolder) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 64, 382–389.
- Senthil, N.S., Kalaivani, K. and Murugan, K. (2006(b)). Effect of biopesticides on the lactate dehydrogenase (LDH) of the rice leaffolder, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guene'e) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65, 102–107.
- Sumiarta, K. and Sudiarta, I.P. (2011). Efficacy of Some Essential Oil Extracted From Tropical Plants to Hairy Caterpillar. Faculty of Agriculture, Udayana University, Denpasar; Indonesia.
- Watanabe, T. and Kitagawa, H. (2000). Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). *J Econ Entomol* 93:1192–1198.
- Yuan, H., Chen, X., Zhu, L. and He, G. (2005). Identification of genes responsive to brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Homoptera: Delphacidae) feeding in rice. *Planta* 221:105–112.

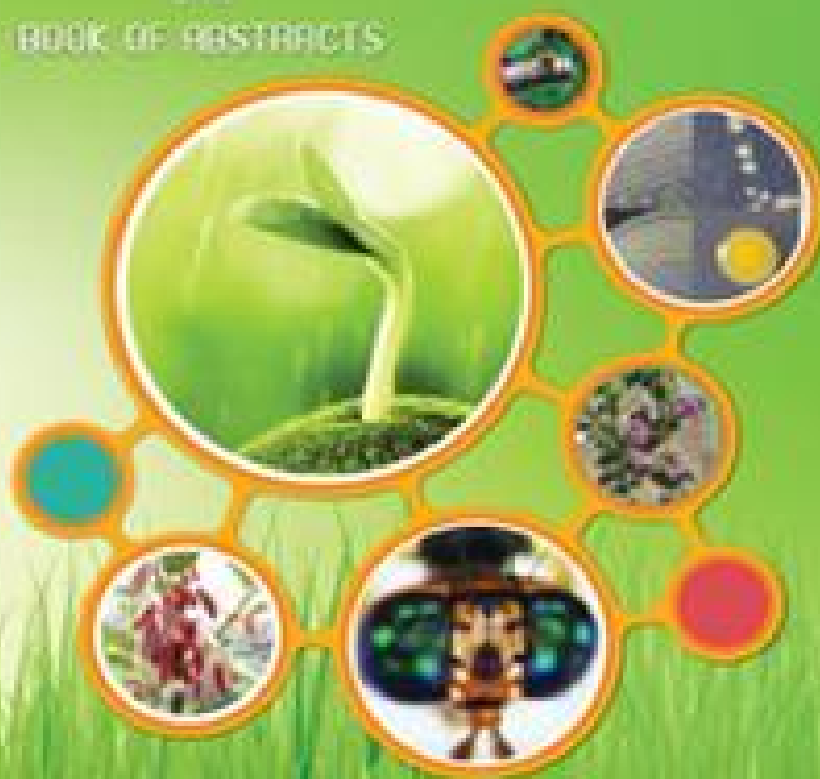
the Sixth International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development 2017



IAITSDI Annual Meeting

SCIENTIFIC PROGRAM
and
BOOK OF ABSTRACTS

(6th IAITSDI 2017)



Hotel Supreme and Convention Plaza, Baguio City, Philippines
November 24-26, 2017

Effectiveness of Nano Plant Essential Oils against Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)

Anuwat Lakyat, Jarongsak Pumnuan and Ammorn Insung*

Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

Authors (YEAR). Title of publication. International Journal of Agricultural Technology x(x): xxx-xxx.

Abstract

Brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål) is an economically important insect pest of rice. This research study aimed to compare the efficiency of essential oil (EO) and nano essential oils (nEO) of star anise, (*Illicium vercum* (Hook.f.)) and lemon glass (*Cymbopogon citratus* (Dc.exNees)) against BPH and compared to essential oil mixed with tween used as surfactant at doubling concentration (EO2T). Contact toxicity was performed by applying the EOs at 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 and 0.1% concentrations into the plate which released 20 BPH adult. Then the insect mortality was observed at 12 and 24 hours. As for repellent activity, choice test was used when EOs at 0.02, 0.06 and 0.1% concentrations were applied to 20 BPH released in rice cage and compared with control surfactant. The results revealed that at 12 hours, both EO2T and nEO of plants were highly effective in killing BPH adult. EO2T of star anise showed the highest effective caused 100% mortality at 0.1% concentration with LC₅₀ at 0.028%, followed by nEO of star anise, EO2T of lemon glass and nEO of lemon glass, which gave LC₅₀ at 0.032, 0.042 and 0.044%, respectively. For the repellent efficiency test, 0.02% nEO of lemon glass showed the most repellent effect to adult, with 43.83 %RI. As for the toxicity at 24 hours, all EOs and nEOs had extremely effective in killing BPH adults. Those EO2T and nEO of star anise presented LC₅₀ values at 0.025 and 0.031%, respectively. The nEO of lemon glass with 0.02% concentration, showed the most repellent effect to BPH adults, gave their %RI at 32.27%.

Keywords: brown planthopper, nano essential oil, residual exposure method, repellent efficiency test

* **Coessponding Author:** Ammorn Insung; **E-mail address:** kiammorn@gmail.com

Introduction

Rice is cultivated extensively in the most diverse ecosystems of tropical and sub-tropical regions of the world. It is the staple food for people in 39 countries, which include 2.70 billion people in Asia alone. Among various biotic constraints of rice production, the insect pests are of prime importance and warm humid environment of the crop is also conducive for their survival and proliferation. Among them, brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens* (Stål) is a tropical phloem sap feeder and one of the most serious and destructive pests of rice throughout Asia. (Normile, 2008; Heong and Hardy, 2009) The BPH is the most serious rice insect pest worldwide with severe outbreaks in many countries of Asia (Dyck and Thomas, 1979; Pathak and Khan, 1994) including Thailand (Escalada et al., 2012; Sriratanasak et al., 2011) BPH feeds on rice stems directly and it can transmit viral diseases to rice including rice grassy stunt or rice ragged stunt disease (Dale, 1994). Symptoms of rice infestation by BPH include: 1) fewer panicles and grains; 2) lower percentages of ripened grains and grain weight; and 3) high-yield loss from “hopperburn” (Sogawa and Cheng, 1979) Controlling BPH by integrated pest management includes cultural control (Oka, 1979), biological control (Chiu, 1979), chemical control (Heinrichs, 1979) and varietal resistance (Khush, 1979; Pathak and Khush, 1979; Wei et al., 2009), which might be the best choice for BPH control (Plantwise Knowledge Bank, 2014) though an insecticidal control method has been most common. However, repeated application of insecticides can cause BPH to develop resistance to insecticides with additional outbreaks (Basanth et al., 2013) consequently, an intensive effort has been made to find alternative methods of pest control. Botanical insecticides and microbial pesticides are highly effective, safe, and ecologically acceptable (Matthews, 1999). Also, botanical insecticides make existing integrated pest management programs (IPM) more effective and sustainable, while decreasing the reliance on synthetic insecticides (Ma et al., 2000; Zabel et al., 2002) The increasing amount of studies on plant-insect chemical interactions in the last few decades has unveiled the potential of utilising botanical insecticides in the form of secondary plant metabolites, or allelochemicals, as pest control agents. This interest in natural pesticides from the leaves or seed is providing an alternative in pest management programmes to the synthetic insecticides (Whitten, 1992; Martinez and van Emden, 2001)

Materials and methods

Insect cultures

An adult colony of brown planthopper (BPH) (*Nilaparvata lugens*) was obtained from Pathumtani Rice Research Center, Pathumtani province the insects were cultured on Khao Dawk Mali 105 rice in Insectary at Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL), Thailand.

Essential oil and nano essential oil preparation

Essential oils (EOs) of star anise and lemongrass used in the experiments were purchased from Thailand – China Flavours and Fragrances Industry Co., Ltd. The essential oils were diluted with distilled water to get 0.0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 and 0.1% solutions which Tween-20 at doubling concentrations was added as an emulsifier.

To prepare nano plant essential oils, each EO was diluted in water when primary surfactant (surfactant) was tween20 (HLB = 16.7), and co-surfactant was ethylene glycol 400 (PEG400) (HLB = 13). The previous surfactant matches with the ingredients called Smix. Each couple would have ratios of 1: 1, 1: 1.5 to 1: 2, 1: 2.5, 1: 3, 1: 3.5, 1: 4 and 1: 4.5 and after that filled with distilled water for 10 ml, then essential oils of star anise and lemon grass, mixed with Smix ratios of 1: 1, 1: 1.5 to 1: 2, 1: 2.5, 1: 3, 1: 3.5, 1: 4 and 1: 4.5, set aside at room temperature. Reduction of particle size of plant essential oil was done by using High Pressure Homogenizer. Beside the satiability refers as zeta Potential Charge of nano plant essential oils was measured by Nano plus Zeta / Nano Particle Analyzer.

Residual exposure method

The efficiency of essential oils from star anise and lemon grass, diluted in water mixed with tween at doubling time and nano essential oils on BPH was evaluated using the residual exposure method. Amount of 1 ml of each treatment was poured onto filter paper, air dried for 10 min and placed within Petri dishes (5 cm diameter, 1.2 cm height). Then 20 BPH adults were transferred to each Petri dishes and BPH mortality was checked after 12 and 24 hrs. Abbott's formula was used to calculate the actual death rates (Abbott, 1987). The experiment was designed in three completely randomized replicates, and the median lethal concentration (LC₅₀) of the different plant essential oils were calculated using SPSS statistic package (version 11.0).

Repellent efficiency test

The bioassay as choice test was performed when two clumps of rice were sprayed with various essential oils concentrations (T) and other two clumps of rice sprayed with water mixed with tween-20 used as surfactant at doubling concentration as a control (C). Twenty adults of BPH were released in the center of pot. Treated rice was covered with nylon net cloth. Observation was conducted at 12 and 24 hours after treatment. The repellent index (%RI) was calculated by the following formula: $\%RI = [(C-T)/C+T] \times 100$ (Pascual-Villalobos and Robledo, 1998). Positive and negative values indicate repellent and attractant effects, respectively

Statistical analysis

The experiment was a completely randomized design with three replicates. The actual death rates were calculated using Abbot's formula (Abbott, 1987). The data was processed using the applying analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range tests (DMRT) in SAS. Then, the statistical outputs were presented. The median lethal concentration (LC₅₀) was calculated by the probit analysis in SPSS.

Results

The residual exposure method

The results of residual exposure method shown in Table 1 that how essential oils with tween used at doubling rate (EO2T) and nano essential oils (nEO) effect to the BPH at 12 hours, EO2T of star anise showed the highest effective caused 100% mortality at 0.1% concentration with value of LC₅₀ at 0.028%, followed by nEO of star anise, EO2Ts of lemon glass and nEOs of lemon glass, which gave LC₅₀ at 0.032, 0.042 and 0.044, respectively. As for the toxicity at 24 hours, all EO2Ts and nEOs were extremely effective in killing BPH adults. Those EO2Ts of star anise, nEOs of star anise, EO2Ts of lemon glass and nEOs of lemon glass, presented LC₅₀ values at 0.025, 0.031, 0.037 and 0.041, respectively. Everytimes, all EO2Ts and nEOs at 0.08 and 0.1% concentrations were not significantly different at 0.02, 0.04 and 0.06% concentrations.

Repellent efficiency test

The results of the choice test are shown in Figure 1. The repellent index (%RI) showed that at the 12 hours, nEO of lemon glass with 0.02% concentration showed the most repellent effect to adult, with 43.8 %RI, followed by nEO of star anise 0.02%, EO2Ts of lemon glass 0.1% and EO2Ts of star anise 0.1%, which gave % RI at 23.0, 21.9 and 20.8%, respectively. Later on, 24 hours. The nEO of lemongrass with 0.02% concentration showed the most repellent effect to BPH adult, gave their % RI at 34.3%, followed by nEO of lemon glass 0.1%, nEO of star anise 0.02% and nEO of star anise 0.1%, which gave % RI at 17.1, 15.7 and 14.2%, respectively.

Table 1. Mortality percentage of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) after exposed to essential oils with tween and nano essential oils

EO2T = tween used as surfactant at doubling concentration.

Time	Essential oils	Mortality (%) (Mean±SD)						Pr > F	%CV	LC ₅₀	Slope	Standard Error
		Concentration (%)										
		0.0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1					
12 hours	EO2T of Star anise	1.9±3.2Ac	14.2±10.3Ab	91.3±12.3Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	9.88	0.028	102.30	9.31
	EO2T of Lemon glass	2.2±3.8Ac	8.8±4.3Ac	45.0±22.3Bb	94.2±6.3Aa	96.7±5.8Aa	97.5±4.3Aa	<.0001	17.74	0.042	51.00	3.43
	nEO of Star anise	0.0±0.0Ad	9.8±4.1Ac	78.5±8.7Ab	100±0.0Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	6.08	0.032	106.36	10.21
	nEO of Lemon glass	1.1±1.9Ae	20.5±14.5Ad	35.2±10.2Bc	70.6±7.4Bb	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	14.44	0.044	47.45	3.28
	%CV	207.28	70.49	23.06	5.32	2.91	2.14					
24 hours	EO2T Star anise	8.0±2.6Ac	22.4±4.5Ab	91.2±12.3Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	7.79	0.025	74.24	6.08
	EO2T of Lemon glass	4.3±5.2ABc	16.5±6.3Ac	48.6±20.2Bb	95.8±7.2Aa	96.6±5.8Aa	100±0.0Aa	<.0001	16.03	0.037	51.89	3.63
	nEO of Star anise	1.1±1.9Bd	12.9±3.7Ac	82.1±6.2Ab	100±0.0Aa	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	4.60	0.031	95.04	8.64
	nEO of Lemon glass	8.8±3.1Ad	20.5±14.5Ad	37.6±10.2Bc	73.2±8Bb	100±0.0Aa	100±0.0Aa	<.0001	14.15	0.041	41.20	2.78
	%CV	61.14	46.55	20.44	5.83	2.91	0.0					

nEO = nano essential oils.

Means in column followed by different capital letter indicate significant differences between the substances.

Means in row followed by different common letter indicate significant differences between the substances at ($P \leq 0.05$) (one-way ANOVA).

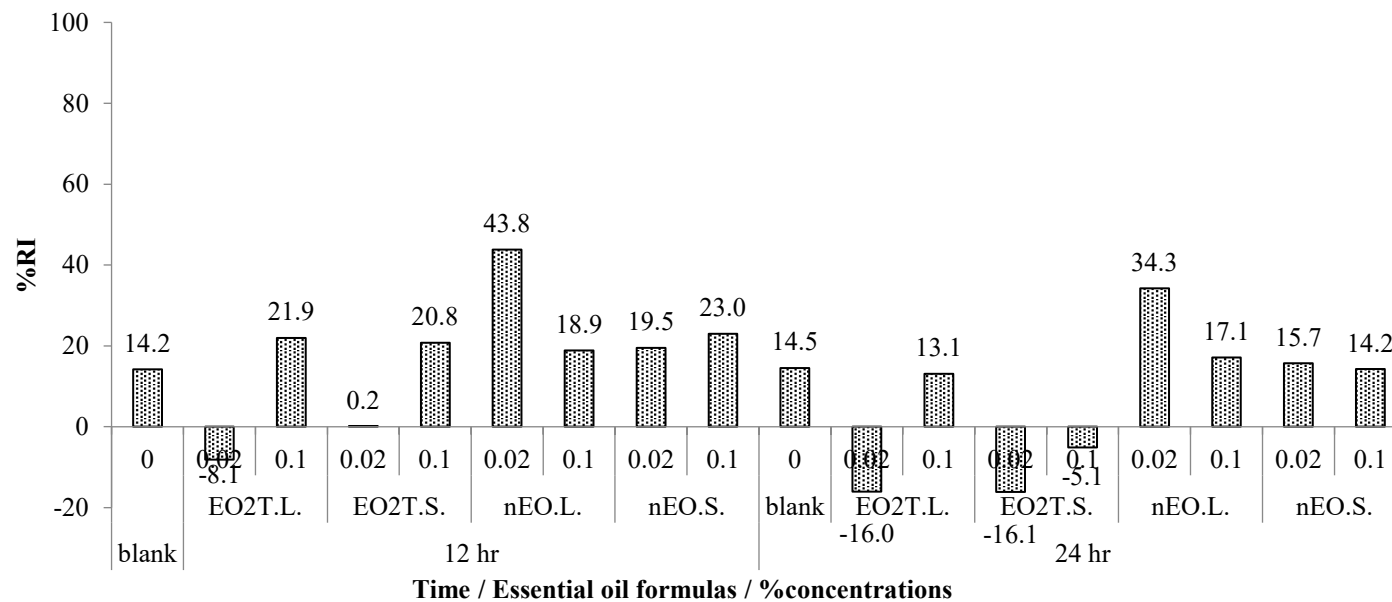


Figure 1. Repellent index (%RI) of essential oils with tween and nano essential oils to adult stages of *Nilaparvata lugens* (Stål) as determined in a choice test bioassay after 12 and 24 hours.

Discussions

The results showed that the essential oil with tween at doubling concentrations (EO2T) and nano essential oils (nEO) of star anise and lemon grass were extremely effective in killing BPH adult, whereas EO2T of star anise showed the highest effectiveness caused 100% mortality at 0.1% concentration, followed by nEO of star anise, EO2T of lemon grass and nEO of lemon grass. Likewise, Insung et al. (2014) reported lemon grass, star anise and dill EOs (0.5%) mixed with petroleum oil (0.5%) in water showed high insecticidal properties against BPH by direct spray method in insectary. Chantawee et al. (2012) reported Insecticidal property of some plants essential oils against adult of BPH by using direct spray method. The essential oils of lemon grass and star anise at 0.2% concentration in corporate with petroleum oil were the most toxic to the BPH, caused more than 68% mortality. The comparative study presented that the insecticide (imidacloprid) at recommendation rate and double rate caused only about 50% mortality

For the repellent efficiency test, 0.02% nano essential oils of lemon grass showed the most repellent effect to BPH adult at the time, 12 and 24 hours. Likewise, Musa et al. (2015) reported that lemongrass was a safe and natural insect repellants that was just as effective as the commercial chemical product. Olivero-Verbel et al. (2010) reported these compounds could be responsible for higher bio activity of lemon grass essential oil against *Tribolium castaneum*. The, results presented that the essential oils of lemon grass was good candidate for use as repellent against *Tribolium castaneum*.

Conclusion

The results revealed that at 12 and 24 hours, all tween used as surfactant at doubling concentration and nano essential oils at 0.08 and 0.1% concentrations were highly effective in killing BPH adult. For the repellent efficiency test, 0.02% nano essential oils of lemon grass showed the most repellent effect to BPH adult with 43.83, 32.27 %RI at 12 and 24 hours, respectively.

Acknowledgement

This work was supported by the Thailand Research Fund (TRF) under the research project of development of essential oils from plants to control BPH and bedbug using nanotechnology, project No. RDG5950159.

References

- Abbott, WS. (1987). A method of computing the effectiveness of an insecticide. 1925. Journal of the American Mosquito Control Association 3:302-303.
- Basanth, YS., Sannaveerappanavar VP., and Gowda, DKS. (2013). Susceptibility of populations of *Nilaparvata lugens* from major rice growing areas of Karnataka, India to different groups of insecticides. Rice Science 20:371-378.
- Chantawee, A., Pumnuan, J. and Insung, A. (2012). Effectiveness of essential oils of medicinal plants against brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)). pp. 54-58. In: Proceedings of 10th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (10th ISBB2012). 27-30 Dec. 2012, Harbin Institute of Technology, Harbin, P.R. China.
- Chiu, SC. (1979). Biological control of the brown planthopper. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 335-355.
- Dale, D. (1994). Insect pests of rice plant-their biology and ecology in Henrichs E.A. (Ed.), Biology and Management of Rice Insects, International Rice Research Institute, New Delhi, India. 421-428.
- Dyck, VA. and Thomas, B. (1979). The brown planthopper problem. Threat to rice production in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 3-17.

- Escalada, MM., Heong, KL. and Luecha, M. (2012). Farmer's Response to Brown Planthopper/ Virus Outbreaks in Central Thailand. [Online]. Available: <http://ricehoppers.net/wp-content/uploads/2010/01/report-fgd-bph-in-central-thailand.pdf>. 1 November 2012.
- Heinrichs, EA. (1979). Chemical control of the brown planthopper. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 145-167.
- Heong, K.L., and B. Hardy. (2009). Planthoppers: New threats to the sustainability of intensive rice production systems in Asia. International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 1-460.
- Insung, A., Pumnuan, J. and Chantawee, A. (2014). Effect of plant essential oils on survival of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* (Stål)) by direct spray in insectary. In: Proceedings of 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (12th ISBB2014), Novotel Chumphon Beach Resort and Golf, December 11-13, 2014, Chumphon Thailand.
- Khush, GS. (1979). Genetics of and breeding for resistance to the brown planthopper. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 321-332.
- Ma, DL., Gordh, G. and Zalucki, MP. (2000). Survival and development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) on neem (*Azadirachta indica* A Juss) leaves. Australian Journal of Entomology 39:208-211.
- Martinez, SS., van Emden, HF. (2001). Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. Neotropical Entomology 30:113-125.
- Matthews, GA. (1999). Pesticides, IPM and training. Phytoparasitica, 27:253-256.
- Musa, AR., Aleiro, BL., Shehu, MM., Aisha, U. and Yusuf, A. (2015). Larvicidal and insecticidal effect of *Cymbopogon citratus* (Lemongrass) on *Anopholes mosquitoes* in Sokoto State, Nigeria. Journal of Zoological and Bioscience Research 1(2):4-6.
- Normile, D. (2008). Reinventing rice to feed the world. Science 321:330-333.

- Oka, IN. (1979). Cultural control of the Brown planthopper. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 357-369.
- Olivero-Verbel, J., Nerio, LS. and Stashenko, EE. (2010). Bioactivity against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) of *Cymbopogon citratus* and *Eucalyptus citriodora* essential oils grown in Colombia. Pest Management Science 66:664-668.
- Pascual-Villalobos, MJ., and Robledo, A. (1998). Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. Industrial Crops and Products 8:183-194.
- Pathak, M.D. and Khush, G.S. (1979). Studies of varietal resistance in the rice to the Brown planthopper at the International Rice Research Institute. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 285-301.
- Pathak, MD. and Khan, ZR. (1994). Insect Pests of Rice. International Rice Research Institute, Manila, The Philippines.
- Plantwise Knowledge Bank. (2014). Plantwise Technical Factsheet; Brown plathopper (*Nilaparvata lugens*). (Available Source): <http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid%436301>, 27 June 2014.
- Sogawa, K. and Cheng, CH. (1979). Economic thresholds, nature of damage, and losses caused by the brown planthopper. Threat to rice production in Asia, International Rice Research Institute, Los Baños, The Philippines pp. 125-139.
- Sriratanasak, W., Arunmit, S. and Chaiwong, J. (2011). Brown planthopper outbreaks situation in Thailand. Thai Rice Research Journal 5:79-89.
- Wei, Z., Hu, W., Lin, Q., Cheng, X., Tong, M., Zhu, L., Chen, R. and He, G. (2009). Understanding rice plant resistance to the Brown planthopper (*Nilaparvata lugens*): a proteomic approach Proteomics 9:2798-2808.

Whitten, M.J. (1992). Pest management in 2000: what we might learn from the twentieth century In: Kadir, A.A.S.A. (Ed.), Pest Management and the Environment in 2000. C.A.B.I., Wallingford, pp. 9-44.

Zabel, A., Manojlovic, B., Rajkovic, S., Stankovic, S. and Kostic, M. (2002). Effect of neem extract on *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) and *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Pest Science 75:19-25.

(Received 19 October 2017, accepted 25 November 2017)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายอนุวัฒน์ รัถญาติ
วัน เดือน ปีเกิด	02 เมษายน 2538
ที่อยู่	บ้านเลขที่ 224 หมู่ 8 ตำบลหมากแข้ง อำเภอเมืองอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี รหัสไปรษณีย์ 41000
เบอร์โทรศัพท์	092-2807145
ประวัติการศึกษา	<p>- พ.ศ. 2550-2553 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนอุดรพิทยานุกูล</p> <p>- พ.ศ. 2553-2555 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนอุดรพัฒนาการ</p> <p>- พ.ศ. 2556-2559 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์) ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520</p> <p>- พ.ศ. 2560-2562 สำเร็จการศึกษา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง แขวงลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520</p>