บทที่ 2

บทสืบสวนเอกสาร

นิเวศวิทยาของด้วงถั่ว

ชื่อสามัญ	:	ด้วงถั่วเขียว
ชื่อวิทยาศาสตร์	:	*Callosobruchus maculatus* F.
อันดับ	:	Coleoptera
วงศ์	:	Bruchidae
พืชอาศัย	:	ถั่วเขียว

รูปร่างลักษณะ

ตัวเต็มวัยสีดำหรือสีน้ำตาลปนเทา ปล้องท้องปล้องสุดท้ายมีขนาดใหญ่มองเห็นได้ชัดปีกสั้นหุ้มส่วนท้องไม่มิด มีแถบหรือจุดสีน้ำตาลแก่บนปีกทั้งสองข้าง ลำตัวเรียวแคบไปทางส่วนหน้าทำให้หัวเล็กและงุ้มเข้าหาส่วนอกตามีขนาดใหญ่ หนวดเป็นแบบฟันเลื่อย (subserrate) ปลายปีกมีสีดำ ขนาดของลำตัวยาวประมาณ 3.0-4.5 มิลลิเมตร (รูปที่ 2) ตัวเมียจะวางไข่สีเหลืองเป็นมันบนผิวเมล็ดถั่ว ซึ่งมียางเหนียวติดเชื่อมไว้อย่างดี ปกติจะวางไข่ได้ถึง 100 ฟอง หรือมากกว่านั้น (เฉลี่ยประมาณ 50-78 ฟอง) หลังจากฟักไข่แล้วหนอนจะเจาะเข้าไปในผิวเมล็ดกัดกินและอาศัยอยู่ภายในเมล็ดจนโตเต็มที่แล้วเข้าดักแด้อยู่ภายในโพรงที่เจาะกิน จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยเจาะเมล็ดออกมา ระยะไข่ประมาณ 3-6 วัน ระยะหนอนประมาณ 13-20 วัน ส่วนระยะดักแด้ประมาณ 3-7 วัน ตัวเต็มวัยจะมีชีวิตประมาณ 7-9 วัน แต่ไม่เกิน 12 วัน ครบวงชีวิตจะใช้เวลาประมาณ 19-33 วัน (ชุมพล กันทะ, 2533 . และ วัชโรบล รัตนสิงห์, 2519) (ดังรูปที่ 3) Raina (1970) พบว่า ในการผสมพันธุ์ของด้วงถั่วเมื่อตัวเต็มวัยออกจากเมล็ดถั่วเขียว จะพักอยู่ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วจึงทำการผสมพันธุ์โดยใช้

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เวลาในการผสมพันธุ์ 3-5 นาที ผสมได้หลายครั้ง และการวางไข่ตัวเมียชอบวางไข่บนเมล็ดถั่วเขียวผิวเรียบมากกว่าผิวขรุขระ แต่จากการรายงานของ ชูวิทย์ ศุขปราการ และบุษรา พรหมสถิต ปี 2527 พบว่า ด้วงถั่วเขียวตัวเมียตลอดชั่วอายุสามารถวางไข่ได้ 40-100 ฟอง ในการวางไข่ตัวเมียจะกลั่นสารที่เป็นของเหลวออกมาทางอวัยวะวางไข่ ซึ่งสารนี้ช่วยให้ไข่ติดกับเมล็ด (Bellow, 1982)

Mitchell (1975) พบว่า เมื่อตัวเต็มวัยออกจากเมล็ดแล้ว แม้จะไม่ได้รับน้ำและอาหารก็สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ แต่ถ้าให้น้ำและน้ำเชื่อมแก่ตัวเต็มวัยจะทำให้แมลงชนิดนี้มีชีวิตอยู่ได้นานกว่าเดิม

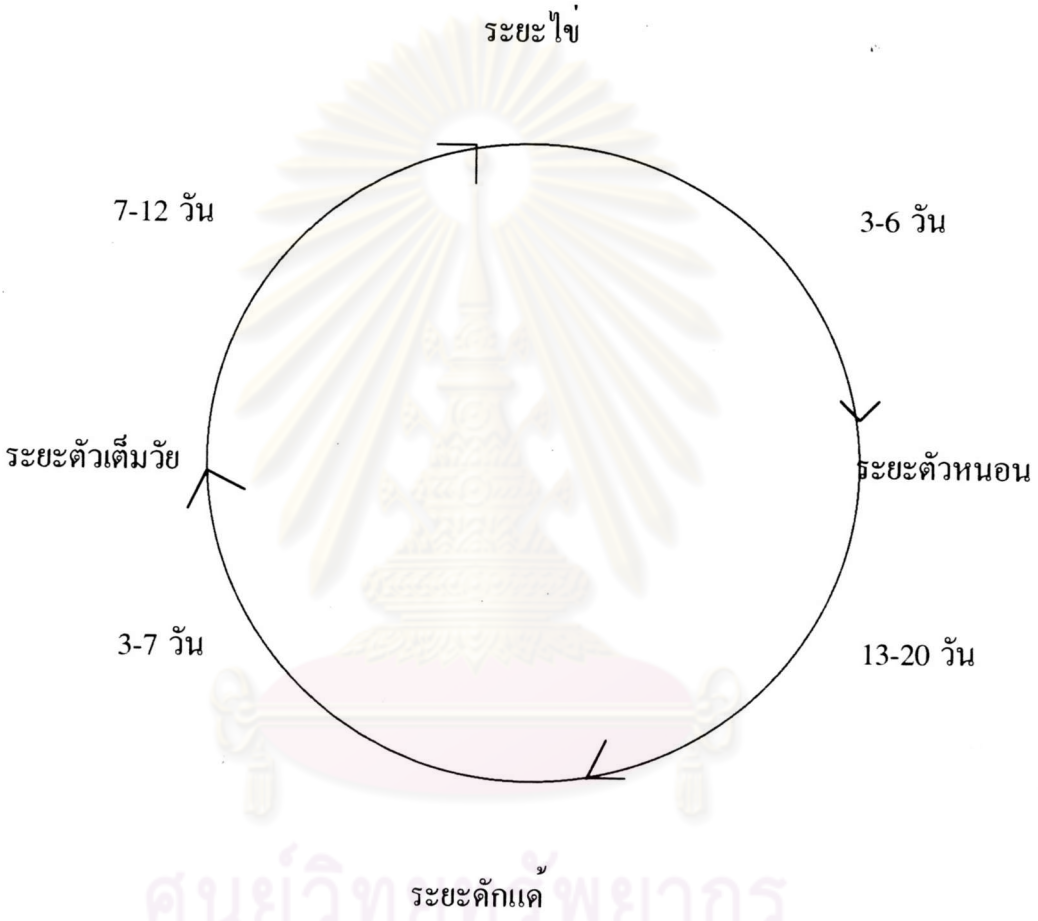
มยุรา ภูริพันธุ์ภิญโญ (2532) พบว่าวงชีวิตของด้วงถั่วเขียวเฉลี่ยจากสั้นที่สุดถึงยาวที่สุด คือ เดือนมีนาคม ถึงมิถุนายน กรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม และพฤศจิกายน ถึงเดือนกุมภาพันธ์ ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ รายงานถึงเปอร์เซ็นต์การตายของด้วงถั่วเขียว ไว้ดังนี้ ระยะไข่ 0.29 เปอร์เซ็นต์ ระยะตัวหนอน 0.11 เปอร์เซ็นต์ ระยะดักแด้ 0.05 เปอร์เซ็นต์ และสัดส่วนตัวเต็มวัยตัวผู้ต่อตัวเมีย 1:1

ชูวิทย์ ศุขปราการ และบุษรา พรหมสถิต (2527) รายงานว่า ด้วงถั่วเขียวทำลายเมล็ดถั่วได้ทุกชนิด เช่น ถั่วเขียว ถั่วพุ่ม ถั่วฝักยาว ยกเว้นถั่วเหลือง ส่วน Strong et al. (1968) รายงานว่า ทำลายถั่วแขกได้ Raina (1970) พบว่า สามารถทำลายถั่วหัวช้าง ถั่วแระ ถั่วแดง และถั่วลันเตา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 2 ลักษณะตัวเต็มวัยของด้วงถั่ว *Callosobruchus maculatus* F.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3 วงชีวิตของด้วงถั่ว *Callosobruchus maculatus* F.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 4 ลักษณะการทำลายของด้วงถั่ว ***Callosobruchus maculatus*** **F.**

การป้องกันกำจัดด้วงถั่ว

เนื่องจากด้วงถั่วเขียวเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญที่สุดในการเข้าทำลายเมล็ดถั่วเขียว ฉะนั้นจึงได้หาทางป้องกันกำจัดกันมากมายหลายวิธี เช่น

พรทิพย์ วิสารทานนท์ และบุษรา พรหมสถิต (2532) ได้ทดลองหาประสิทธิภาพของสารดูดอ๊อกซิเจนกับด้วงถั่วเขียว โดยใช้สารดูดอ๊อกซิเจนชนิด Z 100 และ Z 200 ใส่ในถุงพลาสติกบรรจุเมล็ดถั่วเขียว 500 กรัม ในเวลา 3 เดือน พบว่า ด้วงถั่วเขียวไม่สามารถเจริญเติบโตและขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนได้เลย และมีการใช้สารฆ่าแมลงพวก pirimiphos , fenitrothion และ alphamethrin ซึ่งสามารถป้องกันด้วงถั่วเขียวได้นานถึง 9 เดือน 3 เดือน และ 2 เดือน ตามลำดับ (พรทิพย์ วิสารทานนท์ และชูวิทย์ ศุขปราการ, 2532)

ต่อมา Peng W.K (1990) ได้ทดลองใช้ carbon dioxide ในการป้องกันกำจัดด้วงถั่วเขียว พบว่า 100% CO_2 สามารถป้องกันด้วงไม่ให้เป็นตัวเต็มวัยได้นานถึง 33 วัน

Dawson (1995) พบว่าในการป้องกันกำจัดแมลงโดยใช้ CO_2 100% ตั้งแต่เวลา 0.5 นาที - 32 นาที และดูอัตราการวางไข่ภายใน 40 ชั่วโมง พบว่า อัตราการวางไข่จะน้อยลงตั้งแต่พ่น CO_2 2 นาทีขึ้นไป แตกต่างจาก control ที่ไม่ได้พ่น CO_2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในบังคลาเทศ Rahman (1988) ได้ทดลองใช้สารเคมี สารสกัดจากพืช และความร้อนความเย็น ในการควบคุมด้วงถั่วเขียว พบว่า การใช้ความร้อนมีผลในการควบคุมด้วงถั่วได้ถึง 100% รองลงมาคือ สารสกัดจากพืช คือ neem oil 95.19% และสารเคมี sevin เป็นอันดับสุดท้าย คือ 89.88% ตามลำดับ

ปัจจุบันการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารธรรมชาติในพืช หรือการใช้ส่วนของพืชกันมาก โดยเฉพาะการนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืช เพื่อลดการใช้สารเคมี เช่น การใช้เปลือกส้ม (citrus peel) เป็น ovicide ช่วยป้องกันและลดการวางไข่ของด้วงถั่วเขียวโดยใช้ในอัตรา 0.2 กรัมต่อ 50 เมล็ด และใบพริกไทยแห้ง นำมาบดคลุกกับเมล็ดถั่วเขียว อัตรา 0.1 กรัม ต่อ 50 เมล็ด ทำให้อัตราการตายของด้วงถั่วเขียวในระยะตัวเต็มวัยสูงมาก (Rajapakse, 1989) นอกจากนี้การใช้ใบยาสูบแห้งบดละเอียด คลุกเมล็ดถั่วเขียว ช่วยลดการวางไข่ของด้วงถั่วเขียวได้ (Ofuya, 1989)

การใช้สารสกัดจากพืชบางชนิด ช่วยในการป้องกันและลดการทำลายจากด้วงถั่วเขียวได้ Mueke (1989) ทำการศึกษาทดลองพบว่า การใช้น้ำมันพืชมีผลต่อการตายในระยะตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียว และสารพวกน้ำมันทำให้ไข่ไม่เกาะติดกับเมล็ด วิโรจน์ และคณะ (2532) พบว่า สารสกัดจากสะเดา น้ำมันฟอลย์ และน้ำมันถั่วเหลือง คลุกเมล็ดถั่วเขียว มีผลทำให้ด้วงถั่วเขียวไม่ชอบวางไข่ และในเมล็ดที่คลุกด้วยน้ำมันถั่วเหลือง ถ้ามีการวางไข่ก็จะไม่ติดกับเมล็ด Pandy et al. (1981) พบว่า น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดฝ้ายคลุกกับเมล็ดถั่วเขียวในอัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ช่วยป้องกันการเข้าทำลายของด้วงถั่วเขียวได้นาน หรือการใช้น้ำมันถั่วลิสง คลุกเมล็ดถั่วเขียว อัตรา 5 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม มีผลทำให้ตัวอ่อนในเมล็ดตายทันที เนื่องจากน้ำมันซึมเข้าไปในเมล็ดผ่านทาง micropyle แต่ไม่มีผลต่อการวางไข่ หรือการตายของตัวเต็มวัย

จากผลการทดลองที่กล่าวมาจะเห็นว่า ในปัจจุบันมีการใช้สารสกัดจากพืชกันอย่างแพร่หลายเพื่อต้องการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่เป็นสารสังเคราะห์ เพราะสาร สกัดจากพืชนอกจากมีคุณสมบัติในการกำจัดแมลงแล้วส่วนใหญ่ยังไม่มีพิษตกค้างในผลผลิตและไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม (ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2536)

สารสกัดจากพืชในปัจจุบันที่ใช้กันมีมากมายหลายชนิด เช่น สะเดา ตะไคร้หอม ข่า ขมิ้นชัน แต่ที่ได้มีการวิจัยถึงประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ดีเป็นที่ยอมรับทั่วไป และทำการส่งเสริมให้เกษตรกรใช้อยู่ในปัจจุบันคือสารสกัดจากสะเดา

สะเดา

สะเดาเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในประเทศไทย อยู่ใน family Meliaceae พบมี 3 ชนิด คือ สะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica A* . Juse) มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียและมีการกระจายทั่วไปตั้งแต่ Bom Bay ถึง Deli สะเดาไทย (*Azadirachta indica* var. siamensis (Valeton) และ สะเดาช้าง (ต้นเทียม) (*Azadirachta excelsa*) พบมากทางภาคใต้ เช่น ตรัง, ภูเก็ต สารสกัดจากสะเดาสามารถใช้เป็นสารฆ่าแมลงได้กับแมลงหลายชนิด ซึ่งสามารถพัฒนาในเชิงอุตสาหกรรมได้มีการค้นคว้าและวิจัยเกี่ยวกับสะเดากันอย่างแพร่หลายทั้งในประเทศ และต่างประเทศ ประเทศที่มีการผลิตสารสกัดสะเดาออกมาในเชิงอุตสาหกรรมได้แก่ อินเดีย สาธารณรัฐเยอรมัน ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา พม่า (Radwanski, 1981)

สะเดาเป็นพืชเมืองร้อน เขตแพร่หลายของสะเดาจะอยู่ในกลุ่มประเทศแถบเอเชียและแอฟริกา สะเดาไทยเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางมีใบเขียวตลอดปี ใบเล็กยาว ออกผลปีละครั้ง สะเดาอินเดียที่เห็นได้ชัดจากลักษณะภายนอก คือ สะเดาอินเดีย มีขอบใบหยักชัดเจนกว่าและปลายแหลม ผลเล็กกว่าสะเดาไทย ส่วนสะเดาไทย ใบจะโตกว่า ขอบใบเป็นฟันเลื่อยแต่ปลายฟันเลื่อยทู่ โคนใบเบี้ยว ฐานเยื้องกันเล็กน้อย ปลายใบแหลม เปลือกลำต้นแยกเป็นร่องค่อนข้างหนา ออกดอกเดือนธันวาคม-มกราคม คนไทยนิยมนำดอกและยอดสะเดามารับประทานในช่วงนี้ ส่วนผลจะสุกราวเดือนมีนาคม-เมษายน

ผลสะเดาเป็นส่วนสำคัญที่มีผลต่อแมลงมากที่สุด ผลสะเดามีรูปทรงไข่ขนาดยาว 1.4-2.4 เซนติเมตร เมื่อสุกเนื้อของผลจะมีสีเหลืองรสหวาน หุ้มเมล็ดสีน้ำตาลมีเปลือกแข็งสีขาว สะเดาต้นหนึ่งจะให้น้ำหนักผลโดยรวม 10-12 กิโลกรัม เมื่ออายุประมาณ 3-8 ปี แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม เช่น ปริมาณน้ำฝน , ดิน เป็นต้น สะเดาเป็นไม้โตเร็วสามารถเจริญเติบโตได้ในเกือบทุกสภาพภูมิอากาศ และสภาพดิน เช่น ในสภาพกึ่งแห้งแล้งจนถึงชื้น ดินที่มีความสมบูรณ์ต่ำหรือเป็นดินทรายเจริญได้แม้ที่มีปริมาณน้ำฝนน้อยกว่า500 มิลลิเมตรต่อปี ซึ่งปริมาณน้ำฝนที่สะเดาต้องการอยู่ระหว่าง 250-2,000 มิลลิเมตรต่อปี อย่างไรก็ตาม สะเดาไม่ชอบสภาพดินที่มีความชื้นสูงมากและอากาศเย็น ดินที่ปลูกก็ปลูกได้ทั้งในดินปานกลางไปจนถึงดินขาดความสมบูรณ์ , ดินตื้น , ดินทราย หรือบริเวณที่มีหินโผล่ (ภัทราภรณ์ โสมนัส, 2536)

เมล็ดสะเดา เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศเพื่อนำไปผลิตเป็นสารฆ่าแมลง ประเภทของสารอินทรีย์ที่พบมากที่สุดในเมล็ดสะเดา คือ สารประเภท triterprne ที่เป็นพวก limonoids (หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า tetranortriterpenoids) สารประกอบ limonoids ที่พบว่ามีฤทธิ์ว่องไวในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลงได้แก่ azadirachtin , salannin , meloantriol , nimbin และ nimbidin และอนุพันธ์ของ salannin คือ 3-desacetylsalannin และ salannaol และพบว่า azadirachtin เป็นสารที่ออกฤทธิ์ว่องไวที่สุด (Schmutterer, 1990) สารสกัดจากเมล็ดสะเดา มีอยู่ 2 รูปแบบ คือ

1. ชนิดที่เป็นน้ำมัน (neem oil)

2. ชนิดที่เป็นสารสกัด (neem extract)

น้ำมันสะเดา (neem oil) สามารถป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชบางชนิด เช่น เพลี้ยจั๊กจั่น หนอนกินใบพืช และตั๊กแตน การสกัดน้ำมันทำได้หลายวิธี เช่น ใช้ตัวทำลาย ใช้ไอน้ำร้อน น้ำมันที่ได้จากการใช้แรงอัดจะให้ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงสูงกว่า

สารสกัดสะเดา (neem extract) สารสกัดสะเดาโดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงสูงกว่าน้ำมันสะเดา วิธีการสกัดสามารถใช้ตัวทำลายต่าง ๆ เช่น น้ำ สารเคมีหลายชนิด ได้แก่ เอทธิล แอลกอฮอล์ (ethyl alcohol (EtoH), เมทธิลแอลกอฮอล์ (methyalcohol (meolt), เฮก-เซน (hexane), อะซิโตน (ecetone) อีเทอร์ (ether), ปิโตรเลียม อีเทอร์ (petroleumether) เป็นต้น (ถาวร ท้วมเจริญ, 2534) ส่วนใหญ่ใช้แอลกอออล์สกัด หรืออาจใช้น้ำก็ได้ แต่จะได้สาร azadirachtin ต่ำกว่าใช้แอลกอฮอล์สกัด สะเดาที่นำมาสกัดอาจได้มาจากกากสะเดาที่เราสกัดเอาน้ำมันออกแล้ว หรืออาจสกัดได้จากเมล็ดสะเดาแห้งป่น รวมทั้ง seed coat หรือทั้งผลก็ได้ สารสกัดที่ได้ทำให้เข้มข้นสูงขึ้น และเวลาจะใช้ก็ผสมน้ำและใส่สารจับใบลงไป (ขวัญชัย สมบัติศิริ 2532)

สารสกัดที่ได้จากการสกัดนี้จะมีสารมากกว่า 32 ชนิด ราโอ และ บีเอส (Rao and B.S. 1984: 39-46 อ้างโดย ขวัญชัย สมบัติศิริ 2532) สารออกฤทธิ์ที่สำคัญที่สุด คือ azadirachtin ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารประเภทดูดซึม โดยประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่แสดงผลต่อแมลงทั้งชนิดปากกัด และปากดูด มีหลายลักษณะ ซึ่งจากรายงานผลการค้นคว้าวิจัยที่มีการศึกษาไว้ พบคุณสมบัติต่าง ๆ ได้แก่

- เป็นสารยับยั้งการกินอาหารของแมลง (antifeedant) สารสกัดจากสะเดามีผลทำให้แมลงกินอาหารลดลงและตายในที่สุด ซึ่งตัวอย่างแมลง เช่น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown plant hopper) เพลี้ยจักจั่นสีเขียว (greenrice leafhopper) สารสกัดจากเมล็ด 0.5% ที่สกัดด้วย เอทธิลแอลกอฮอล์ จะยับยั้งการกินพืชอาหารของด้วงเต่าแดง (striped cucumber beetle) สารสกัดจากเมล็ดที่บีบน้ำมันออกแล้ว 0.006% และ 0.003% ที่สกัดด้วยน้ำ และเอทธิลแอลกอฮอล์จะยับยั้งการกินอาหารของตั๊กแตนบางชนิด (Schmutterer, 1990)

-เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (growth and metamor phosis disruption) สารสกัดจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงตั้งแต่ระยะไข่ไปจนถึงระยะตัวเต็มวัย ซึ่งการยับยั้งการเจริญเติบโตได้มีการศึกษาในสารสกัดจากสะเดากับผีเสื้อบางชนิดปรากฏว่า มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตทั้งในช่วงของตัวหนอน (Ruscoe, 1972) และนอกจากนั้นยังมีการศึกษาใน เพลี้ยกระโดด (planthopper) และเพลี้ยจั๊กจั่น (leafhopper) หยุดการเจริญเติบโตไม่พัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัย (Schmutterer, 1990) นอกจากนั้นมีการศึกษาถึง

สารสกัดจากสะเดากับพวกตั๊กแตนบางชนิด *Locusta migratoria* พบว่าสามารถควบคุมกระบวนการลอกคราบได้ (Sieber, 1983)

- เป็นสารที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์ (reproduction) สารสกัดจากสะเดามีผลต่อการลดการวางไข่ของพวกแมลงศัตรูในโรงเก็บ พวกด้วงถั่วเขียว *Callosobruchus maculatus* เป็นเวลาหลายเดือน (Yadav, 1985) นอกจากนั้น สารสกัดจากสะเดาที่มีความเข้มข้น 0.25 ถึง 5% สารสกัดจากสะเดาทำให้หนอนกระทู้ (*Spodoptera* sp.) วางไข่น้อยลง ตัวเต็มวัยอายุสั้น มีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนภายหลังการฟักลดลงด้วย นอกจากนั้นพบว่า สารสะกัดจากสะเดาจะมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของแมลงหลายชนิด โดยมีผลทำให้แมลงเป็นหมัน วางไข่ลดลง ฟักเป็นตัวน้อยลง ไข่มีเปลือกบาง

- เป็นสารฆ่าแมลง (insecticide) สารสกัดจากสะเดาที่มีความเข้มข้นสูงเท่านั้นจึงจะมีผลเป็นสารฆ่าแมลงได้ดี สารสกัดจากสะเดาที่สกัดด้วยตัวทำละลายเคมีต่าง ๆ สามารถใช้เป็นสารฆ่าแมลงได้ดี เช่น สาร azadirachtin จะมีฤทธิ์เป็นสารฆ่าเพลี้ยจั๊กจั่นฝ้าย, หนอนใยผัก, หนอนกระทู้

เนื่องจากสารสกัดจากสะเดามีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงได้กว้างขวาง จึงนิยมใช้สารสกัดมาป้องกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บ (Schmutterer, 1990) เช่น ด้วงถั่วเขียวในประเทศไนจีเรียในปี 1989 Makanjuola พบว่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาสามารถที่จะลดอัตราการวางไข่ เปอร์เซ็นต์ไข่ที่จะเจริญไปเป็นตัวอ่อน และลดเปอร์เซ็นต์การเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้เป็นเวลาถึง 5 เดือน ในโรงเก็บ ในปี 1990 Ivbijara พบว่า น้ำมันสะเดา (neem seed oil) สามารถฆ่าด้วงถั่วเขียวได้ภายใน 3-5 วัน ได้ถึง 65-100% ซึ่งลดการทำลายของด้วงถั่วต่อถั่วเขียวได้ถึง 94.67% ซึ่งจะมีทั้งลักษณะของการไล่ , ฆ่าและยับยั้งการวางไข่ ซึ่งสามารถป้องกันได้เป็นเวลาหลายเดือน สำหรับการยับยั้งการวางไข่ใช้กันมากในพวกด้วงถั่วเขียว (Yadav, 1985) คือจะเป็นลักษณะทั้งยับยั้งการกินไปด้วยในเวลาเดียวกัน นอกจากนั้น ยังมีการทดลองใช้น้ำมันสะเดา ความเข้มข้น 5 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมเมล็ด พบว่าสามารถป้องกันด้วงถั่วเขียว *Callosobruchus maculatus* F. เป็นเวลาหลายเดือนเช่นกันกับการทดลองที่ทำในแอฟริกาตะวันตก (Schmutterer, 1990)

ในประเทศไทยก็มีการใช้สารสกัดจากสะเดามาป้องกันกำจัดแมลงศัตรูถั่วเขียว *Callosobruchus maculatus* F. เช่นกัน โดยการใช้เมล็ดสะเดาไทย มาตากแห้งแล้วบดให้ละเอียด คลุกเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวอัตราต่าง ๆ กัน 6 ระดับ คือ 0, 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 4

เปอร์เซนต์ โดยน้ำหนักถั่วเขียว ซึ่งพบว่า การคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสะเดาป่นที่อัตรา 1-2% จะสามารถป้องกันด้วงถั่วได้ถึง 8 เดือน แตกต่างจากที่ไม่คลุกเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (สุวิมล ถนอมทรัพย์ และคณะ, 2532)

นอกจากประสิทธิภาพต่าง ๆ ของสารสกัดสะเดาที่กล่าวมาแล้วข้างต้น พวก larva หรือตัวอ่อนของพวกด้วงต่าง ๆ (Coleoptera) โดยเฉพาะพวกที่กินพืชเป็นอาหาร จะมีความอ่อนแอต่อสารสกัดจากสะเดามากคือจะไม่มีผลแต่เฉพาะยับยั้งการกินอาหาร (antifeedant) หรือยับยั้งการเจริญเติบโตเท่านั้น แต่การสัมผัสก็มีผลโดยเฉพาะในพวกตัวอ่อน จะเป็นพวกที่มีผิวหนังที่บอบบางมากกว่าตัวเต็มวัย (Schmutterer, 1990) สำหรับด้วงถั่วเขียวช่วงที่มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงเนื่องมาจากสารสะเดา คือช่วงหลังออกจากไข่ จะไปเป็นตัวหนอนระยะแรกที่จะเข้าไปอยู่ในเมล็ด ซึ่งเป็นช่วงต่อระหว่างไข่กับตัวหนอนวัยที่ 1 ซึ่งช่วงนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์การตายของไข่จากสารสกัดสะเดา 5% และเปอร์เซ็นต์การตายเนื่องจากหนอนวัยที่ 1 เท่ากับ 95% (Ali et al., 1983) ประกอบกับ พบว่าสารออกฤทธิ์ ของผงสะเดาเป็นสารประเภทดูดซึม สามารถซึมเข้าได้ในพืชหลายชนิด

สุรพล วิเศษสรรค์ (2534) กล่าวว่า สารสกัดจากสะเดาแม้จะใช้ในการควบคุมแมลงได้อย่างกว้างขวาง แต่ก็ยังมีคำถามเกี่ยวกับความไม่แน่ใจในการใช้สารสกัดจากสะเดาเพื่อควบคุมปริมาณของแมลง คำถามในด้านต่าง ๆ พอจะสรุปได้ดังนี้

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสม และจำนวนครั้งในการใช้ ที่มีผลในการป้องกันกำจัดแมลงแต่ละชนิด

2. ประเภทของแมลง

3. ความเป็นพิษของสารสกัดจากสะเดา

4. ความคงทนในสภาวะธรรมชาติ

5. แนวโน้มในการสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากสะเดาในอนาคต

ความสงสัยต่าง ๆ ข้างต้น เป็นความไม่เชื่อมั่นระดับมูลฐาน (basic insignifcant confidence) ที่จำเป็นจะต้องหาข้อมูลประกอบอีกมากมาย ซึ่งในประเทศไทยเราแม้จะมีการศึกษากันมานานแล้ว แต่ก็ยังไม่มีข้อมูลประกอบที่เพียงพอที่จะตอบคำถามได้หมดในทุกๆ ข้อในเวลาเดียวกัน แม้ว่าทั้งกรมวิชาการเกษตรและองค์กรมหาวิทยาลัยจะค้นคว้าวิจัยกันมามากมาย นอกจากนั้นแล้วในต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา , ออสเตรเลีย , เยอรมัน , อินเดีย , ปากีสถาน , และญี่ปุ่น ประชาชนในประเทศเหล่านี้ให้ความเชื่อมั่นในสารสกัดจากสะเดาสูงมาก โดยให้ข้อคิดว่า การใช้สารดังกล่าวไปเป็นระยะหนึ่ง สภาพนิเวศวิทยาดั้งเดิม

ในสภาพธรรมชาติจะบังเกิดขึ้นมาอีกครั้ง (ecosystem regeneration) และระบบที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะเป็นระบบที่คงทนถาวรกว่าระบบที่มีแต่เดิม เมื่อครั้งที่ยังไม่ถูกทำลาย (Brattsten, 1989)

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากพืช เป็นสาร allelochemicals ที่มีผลต่อการปรับตัวของแมลงเมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสม แมลงจะมีการเปลี่ยนแปลงการสร้าง detoxification enzymes เช่น esterase , glutathione S-transferase และ monooxygenase เพื่อต้านทานหรือทำลายสารแปลกปลอมดังกล่าวเพื่อการอยู่รอด (Yu , 1983 , 1984) แมลงที่กินพืชหลายชนิด (polyphagus) จะมีประสิทธิภาพในการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ได้รวดเร็วกว่าแมลงที่กินพืชไม่กี่ชนิด (oligophagus) (Rose, 1985, Rose and Terriere, 1980) คุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกต่อไป ซึ่งจะเป็นผลทำให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารดังกล่าวในที่สุด (Visetson, 1991)

ในการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดจากสะเดา ซึ่งเป็นสารสกัดที่มีผลต่อแมลงในหลายลักษณะ เช่น การฆ่า การไล่ การทำให้ลดการกิน และมีผลต่อการสร้างฮอร์โมน ที่ใช้ในการลอกคราบในแมลงหลายชนิด จึงทำให้อยากทราบว่า ผลของสารสกัดดังกล่าวมีผลอย่างไรต่อระบบชีวเคมีภายในตัวแมลง และจะมีผลหรือแนวโน้มต่อการสร้างความต้านทานหรือไม่โดยการดูการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ขจัดพิษที่สำคัญ 3 ชนิดคือ esterase , glutathione S-transferase และ monooxygenase

ระบบเอ็นไซม์ขจัดพิษในแมลง

ปฏิกริยาต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิตมักต้องมีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง (catalyst) สารซึ่งทำปฏิกริยาโดยมีเอ็นไซม์เป็นตัวเร่ง เรียกว่า สับสเตรท (substrate) คุณสมบัติของเอ็นไซม์แต่ละชนิด รวมทั้งวิธีการทำงานมีปัจจัยต่าง ๆ ควบคุมอยู่ด้วย ตัวอย่างเช่น pH อุณหภูมิ และลักษณะเฉพาะอื่น ๆ ในสภาวะ ที่เอ็นไซม์นั้น ๆ ทำงานอยู่ ถึงแม้ว่าเอ็นไซม์จะเป็นองค์ประกอบสำคัญของสิ่งมีชีวิต แต่ก็มิใช่ว่าจะมีความสามารถเร่งปฏิกริยาเฉพาะในสิ่งมีชีวิต (in vivo) เท่านั้น แต่ยังคงความสามารถนี้อยู่ได้ แม้ได้แยกออกจากสิ่งมีชีวิตแล้ว อย่างไรก็ดี เอ็นไซม์จะทำงานได้ดีในหลอดทดลอง (in vitro) ก็ต่อเมื่อสภาวะแวดล้อม pH และอุณหภูมิ ไม่ต่างไปจากสภาพธรรมชาติ หรือสภาพสรีรวิทยาเดิมมากนัก (สิรินทร์ วิโมกข์สันถว์ และคณะ, 2523)

detoxification เป็นขบวนการทำลายสารพิษ หรือสารแปลกปลอมเข้ามาในร่างกาย โดยวิธีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ไม่ว่าสารพิษนั้นจะเป็นสารอนินทรีย์ หรือสารอินทรีย์ก็ตาม มันจะถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นสารที่มีพิษน้อยลง หรือหมดพิษไป (ไมตรี สุทธิจิตต์, 2530)

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษอินทรีย์เคมีนั้นนอกจากจะทำให้มีคุณสมบัติทั่วไปในการละลายน้ำได้ดีขึ้นแล้ว ยังมีผลต่อสารออกฤทธิ์ของสารพิษชนิดนั้น ๆ ด้วย กล่าวคือ สารพิษบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ได้ด้วยตัวเอง เมื่อถูกเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซึ่งอาจจะมีฤทธิ์น้อยลงหรือไม่มีฤทธิ์เลย (detoxification) แต่สารพิษบางชนิดจำเป็นจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเสียก่อนจึงจะออกฤทธิ์ได้ (toxification) กระบวนการทั้ง 2 แบบนี้ในปัจจุบันรวมเรียกว่าการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษด้วยวิธีการทางชีววิทยาหรือการเมตาบอลิซึมของสารพิษ (ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว , 2539) ในแมลงนั้นเมื่อได้รับการสัมผัสสารเคมีก็จะมีพฤติกรรมในการหลีกเลี่ยงสารเคมีที่มีพิษต่อตัวเองโดยจะต้องทำลายพิษอย่างรวดเร็วก่อนที่จะเข้าสู่เซลล์ ดังนั้นจะต้องใช้ปฏิกริยาที่เร่งด้วยเอ็นไซม์ มาช่วยในการทำลายพิษดังกล่าว

detoxification enzyme system หรือระบบเอ็นไซม์ทำลายพิษหรือขจัดพิษมีลักษณะการทำงานเช่นเดียวกับระบบเอ็นไซม์ทั่วไป เมื่อมีสารแปลกปลอม หรือ xenobiotics จากภายนอกเข้าไปในเซลล์ เอ็นไซม์เหล่านี้จะเข้าไปเป็นตัวเร่งในการที่จะทำให้สารเหล่านั้นมีความสามารถในการละลายน้ำเพิ่มขึ้นหรือทำให้สารดังกล่าวกลายเป็นสารที่มีขั้ว (electrophillic) เพื่อจะได้สามารถกำจัดออกจากร่างกายผ่านระบบขับถ่ายต่าง ๆ ได้มากขึ้น ดังนั้น เอ็นไซม์ดังกล่าวจึงต้องมีความพร้อมที่จะทำงานอย่างสมบูรณ์ทุกเมื่อ ซึ่งควรจะมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1. อยู่ภายในอวัยวะที่มักจะถูกสัมผัส หรือได้รับสารแปลกปลอมอยู่เสมอ เช่น ตับ ปอด ลำไส้ ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง ในเซลล์ไขมัน และลำไส้ของพวกแมลง

2. สามารถเข้าทำปฏิกริยากับสารแปลกปลอมที่มีโครงสร้างหลากหลาย ซึ่งจะต้องทำให้สารดังกล่าวนั้นหมดความเป็นพิษ หรือมีความเป็นพิษน้อยลงจนสามารถขับออกจากเซลล์ของร่างกายได้โดยง่าย

3. สามารถควบคุมระดับความเข้มข้นของเอ็นไซม์ ในแต่ละระยะของวงจรชีวิตและถูกชักนำให้เกิดได้รวดเร็วในกรณีที่ร่างกายได้รับสารแปลกปลอม (Schoknechy and Otto, 1989)

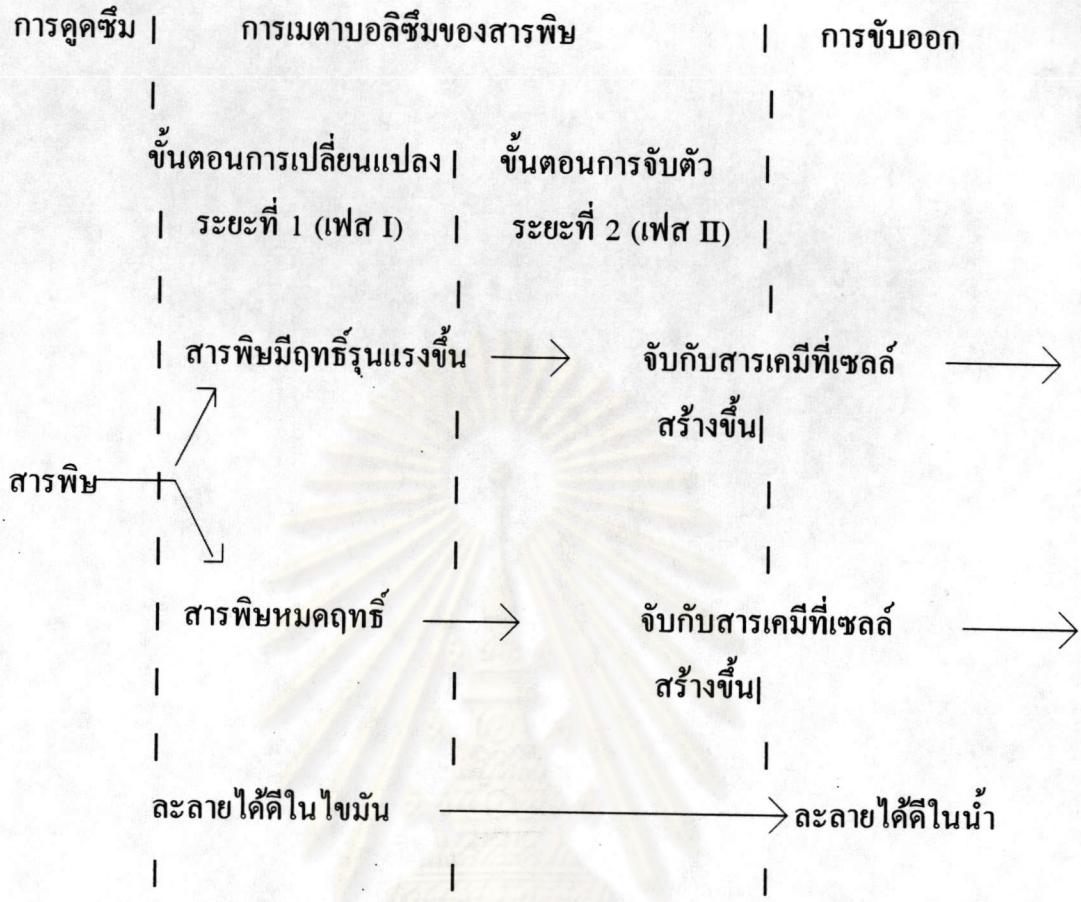
ขบวนการทำลายพิษโดยใช้เอ็นไซม์นี้ จะถูกกระตุ้นให้เกิดได้ทั้งจากสารเคมีสังเคราะห์ และสารพิษจากธรรมชาติ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารพิษที่ได้จากพืช เช่น terpene, alkaloid และ methylenodioxyphenyl compound (Dauterman and Hodgson, 1978)

ขั้นตอนในการทำลายสารพิษ หรือสารแปลกปลอมเหล่านี้ให้หมดความเป็นพิษหรือมีความเป็นพิษน้อยลงจะเป็นปฏิกริยาที่เกิดขึ้นกว้าง ๆ ได้เป็น 2 phase คือ

ปฏิกริยา Phase I :เอ็นไซม์ ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกริยาใน phase นี้ จะทำให้โมเลกุลของสารพิษ หรือสารฆ่าแมลงนั้นมีการแตกตัวเป็นสารที่มีขั้ว และละลายน้ำได้ปฏิกริยาสำคัญที่เกิดขึ้นใน phase นี้ได้แก่ oxidation , reduction และ hydrolysis

ปฏิกริยาPhase II : จะเกิดปฏิกริยาที่เรียกว่า "ปฏิกริยาการรวมตัว" (conjugation reaction) โดย functional groupของ product ที่ได้จากปฏิกริยาใน phase I จะต้องมีการรวมตัวกับสารที่ละลายน้ำได้สูง และมีขนาดโมเลกุลเล็ก เช่น glucose , กรดอะมิโน และ glutathion เพื่อให้ได้ product สุดท้ายที่สามารถขับออกจากร่างกายได้ง่ายยิ่งขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 5 ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารพิษภายในเซลล์

ที่มา : (ชัยวัฒน์ ต่อสกุลแก้ว , 2539)

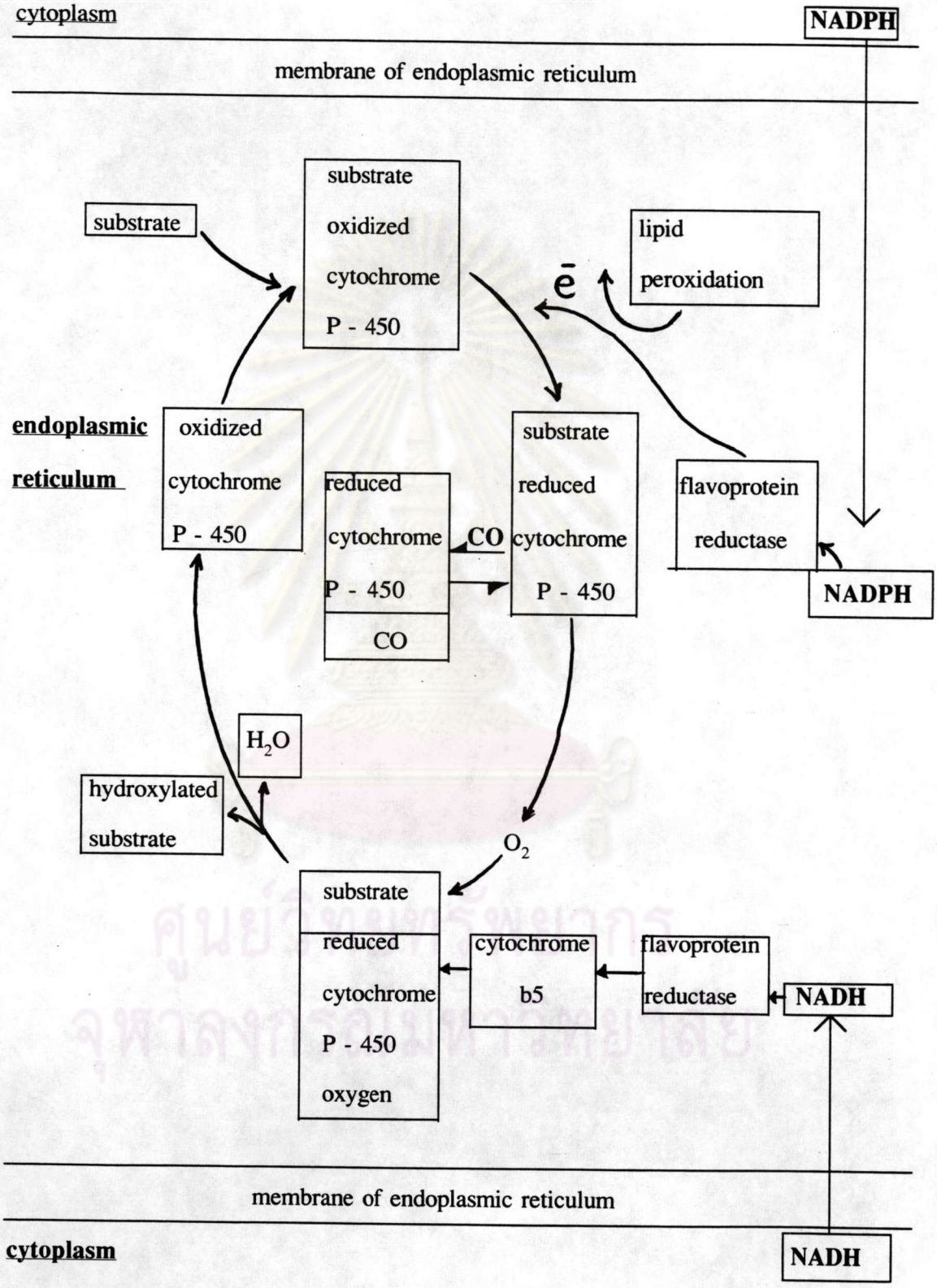
แม้ว่าการขับถ่ายสารแปลกปลอม หรือสารพิษออกจากร่างกายของแมลงจะไม่ค่อยได้ศึกษากันมากนัก แต่ก็เป็นที่สันนิษฐานกันว่า การขับถ่ายสารออกจากร่างกายของแมลงจะผ่านออกทางท่อมัลปิเกียน (malpighian tubule) และลำไส้ส่วนท้าย (hindgut) ยกเว้น product ที่เป็นสารระเหย เช่น isopropanol จะถูกขับออกมาผ่านทางระบบหายใจของแมลง (tracheal system) ในแมลงนั้นมีระบบเอ็นไซม์เพื่อทำลายพิษหรือขจัดพิษที่สำคัญเกี่ยวข้องอยู่ 3 ชนิด ได้แก่ monooxygenase หรือ mixed - function oxidase , glutathione S-transferase และ esterase ซึ่งความสำคัญของเอ็นไซม์แต่ละชนิดมีดังนี้

1.monooxygenase หรือ Mix -function oxidase (MFO)

เป็นกลุ่มของเอ็นไซม์ที่สำคัญที่สุดในการทำลายสารพิษ และสารแปลกปลอมต่าง ๆ จะเกี่ยวข้องกับปฏิกริยา (oxidation , hydroxylation และ reduction ในปฏิกริยา plase I เอ็นไซม์ชนิดนี้จัดเป็นเอนไซม์ที่มีฤทธิ์กว้างขวางไม่เฉพาะเจาะจง (Scott et al. , 1990) สามารถทำปฏิกิริยาได้กับสารพิษแทบทุกชนิดไม่ว่าสารที่มาจากภายในร่างกาย (endogenous) เช่น steroid , กรดน้ำดี , กรดไขมัน , hydrocarbon เป็นต้น หรือสารที่มาจากภายนอกร่างกาย (exogenous) เช่น ยา , สารก่อมะเร็ง , สารฆ่าแมลง เป็นต้น เอนไซม์ชนิดนี้สามารถจะพบในสิ่งมีชีวิต ไม่ว่าจะเป็นแบคทีเรีย , เชื้อรา , พืช ,สัตว์ รวมถึงแมลงด้วย (Hodgson, 1985) เอ็นไซม์ชนิดนี้จะถูกพบใน microsomal membrane และ endoplasmic reticulum ของสิ่งมีชีวิต บางทีเราพบเอนไซม์ชนิดนี้ได้ที่ membrane ของ mitochondria โดยมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ cytochrome P-450 ดังนั้นเอนไซม์ชนิดนี้จึงมีชื่อเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า cytochrome P-450 dependent monooxygenases และในปฏิกริยายังต้องมี NADPH เป็นโคเอ็นไซม์และจะต้องมีออกซิเจนเป็นตัวร่วมในการทำปฏิกริยาด้วย ดังแสดงเป็นสมการได้ดังนี้

$$RH + NADPH + H^{+} + O_2 \xrightarrow{MFO} ROH + NADP^{+} + H_2O$$

จากสมการที่ 1 ดังกล่าว จะมีเอ็นไซม์ MFO มาช่วยในการทำปฏิกริยา oxidation ส่วน NADPH มีหน้าที่เป็นตัวจ่ายอิเลคตรอน โดยผ่านทาง cytochrome b5 ระบบการทำงานของ MFO แสดงได้ดังรูปที่ 6



Source : Danterman, 1978

รูปที่ 6 แสดงระบบการทำงานของเอ็นไซม์ microsomal mixed function oxidase

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กระบวนการเหนี่ยวนำให้เกิดเอ็นไซม์ชนิดนี้ มีดังนี้

(1) สิ่งกระตุ้น (inducer) หรือสารพิษจากภายนอกเข้าสู่เซลล์

(2) สารพิษดังกล่าวเข้าไปจับกับตัวรับ หรือ receptor ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในเซลล์เกิดเป็น inducer - receptor complex

(3) inducer receptor complex นี้จะถูกส่งผ่านเข้าสู่ nucleus ของเซลล์

(4) complex ดังกล่าวจะไปกระตุ้นให้มีการพัฒนา หรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของยีนภายใน nucleus โดยจะเกิดการ transcription และ translation เพื่อสร้าง cytochrome P-450 และ factor ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการเกิดปฏิกริยาและทำลายสารพิษแปลกปลอมที่เข้าไปในเซลล์ให้หมดพิษลง หรือไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ (Nebert et al., 1981)

ชนิดของปฏิกริยาที่สามารถเร่งให้เกิดโดยเอ็นไซม์ MFO มีดังนี้ dehydrogenation, sulfoxidation, dealkylation , dioxolering cleavage N-O- and S-dealkylation, epoxidation , aromatic hydroxylation , aliphatic hydroxylation and desulfuration

ปฏิกริยาส่วนใหญ่เกิดขึ้นในแมลง ซึ่งแมลงที่ได้ทำการศึกษามีมากมายหลายชนิด เช่น ผีเสื้อ ยุง และตัวหนอนของ *Spodoptera* spp. หรือ หนอนเจาะอเมริกัน (Yu, 1988) นอกจากนั้นในแมลงวันบ้าน *Musca domestica* ก็พบโดย (Agosin et al. , 1961) แมลงพวกด้วง 2-3 ชนิด ใน Order Coleoptera ก็มีการศึกษา (Rose and Wallbank, 1986) เกี่ยวกับมอดข้าวสาร *T. castaneum* ก็มีการศึกษาโดย (Cohen, 1982) เอนไซม์ cytochrome P-450 dependent monooxygenase ที่พบในแมลงจะมีความคล้ายคลึงกับในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่มีความแตกต่างกันบ้างในด้านโครงสร้างของ phospholipid ค่า ion strength optimum, antigenic determinant และตำแหน่งของกรดอะมิโน การเกิดและ activity ของเอ็นไซม์ดังกล่าวในแมลงขึ้นอยู่กับ อายุ ช่วงชีวิต เพศ สายพันธุ์ อวัยวะที่เอนไซม์อยู่ และปัจจัยทางด้านอาหาร แต่จะมีตัวยับยั้งภายในตัวแมลงเอง อาทิเช่น การสร้างเอนไซม์ tyrosinase จะมีอิทธิพลต่อ activity ของ monooxygenase ด้วยเช่นกัน

ในบางครั้งจำเป็นต้องใส่สารเคมีที่เป็นบัปเฟอร์ลงไป เช่น DTT , EDTA , BSA หรือ PVP reduced glutathion (GSH) ซึ่งสารเคมีส่วนใหญ่เหล่านี้จะไปช่วยป้องกันไม่ให้ monooxygenase เสียสภาพไป Ray (1967) และ Powis et al., 1977) พบว่า BSA เป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีมากในการป้องกันเอ็นไซม์ monooxygenase ไม่ให้เสียสภาพในขณะที่เราเตรียมเอ็นไซม์ชนิดนี้

Rose (1985) รายงานว่า ปฏิกริยาที่เกิดจากเอนไซม์ดังกล่าวจะมีความสำคัญมากในแมลงที่กินพืชเป็นอาหารซึ่งแมลงเหล่านี้มักจะได้รับสารพิษและสาร allelochemical จากพืชที่มีโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน เช่น สาร steroid , phenol , quinone , alkaloid , terpene , indole , flavones , aldehyde , glucocides เป็นต้น ชนิดของพืชที่สามารถกระตุ้นให้สร้าง MFO ขึ้นในแมลง เช่น สะระแหน่ ข้าวโพด กระหล่ำ ถั่วเหลือง หญ้าเลี้ยงสัตว์ ถั่วมะเขือเทศ แครอท เป็นต้น

นอกจากนี้ ระยะของการเจริญเติบโตก็มีผลต่อปริมาณของ monooxygenase อีกด้วย (Visetson, 1991) จากการศึกษาในด้วงบางชนิด (Mexican bean beetle) พบว่า เอ็นไซม์ monooxygenase จะมีปริมาณมากที่สุดในระยะตัวเต็มวัยโดยจะสูงกว่าระยะตัวอ่อน (larva) ประมาณ 6-8 เท่า (Jesudason et al.,1988) และ (Hodgson, 1985) พบว่าระยะไข่ก็มีปริมาณของเอ็นไซม์ monooxygenase ที่ค่อนข้างน้อย

glutathione S-transferase

glutathione S-transferase จัดเป็น non specific enzyme เช่นเดียวกับ MFO แต่เอ็นไซม์ชนิดนี้จะเกี่ยวกับปฏิกริยาใน phaseII คือจะเร่งการรวมตัวระหว่าง glutathion (GSH) กับ substrate ซึ่งเป็นสาร electrophillic การเกิดปฏิกริยาการรวมตัวนี้ จะทำให้สารแปลกปลอมที่เข้าสู่เซลล์นั้นหมดความเป็นพิษ และเปลี่ยนแปลงโครงสร้างให้ง่ายต่อการขับออกของเซลล์ เอ็นไซม์ชนิดนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับการขจัดทำลายสารแปลกปลอมออกจากร่างกายสัตว์ทุกชนิด และยังเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการสร้างความต้านทานต่อสารแมลงอีกด้วย

เราสามารถพบเอ็นไซม์ชนิดนี้ได้ทั้งสัตว์มีกระดูกสันหลัง แมลง , โปรโตซัว , สาหร่าย , เชื้อรา และแบคทีเรีย (Jakoby, 1978) และแม้กระทั่งพืช (Schroder et al., 1990)

เอ็นไซม์ชนิดนี้มีหลายรูปแบบ (multiple form) ซึ่งตรงกับรายงานของ Clark & Dauterman (1982) ซึ่งเขาได้พบความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลและคุณสมบัติอื่น ๆ ของเอนไซม์ชนิดนี้ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อของแมลงวันบ้าน โดยพบว่า แมลงวันสายพันธุ์ที่ต้านทานจะมี activity ในการรวมตัวกับสาร organophosphate ได้มากกว่าแมลงวันสายพันธุ์ที่ยอมรับหรือไม่สร้างความต้านทาน

การแบ่งเอ็นไซม์ตาม functional group ของ substrate ที่ไปเร่งให้เกิดปฏิกริยาดังสมการดังต่อไปนี้

$(RO)_2$ P(O) OR^1 $\longrightarrow$ $(RO)_2$ P(O) OH + GS-R^1; an aryl S-transferase

$(R^1O)_2$ P(O)OR $\longrightarrow$ HO(RO) P(O) OR + GS-R^1; an alkyl S-transferase

R $\triangle$ R $\longrightarrow$ R(OH) R (GS) ; an epoxy S-transferase

ในแมลงทุกชนิดจะพบ activity ของเอ็นไซม์ชนิดนี้ แมลงบางสายพันธุ์มี activity ในการทำลาย substrate สูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ตัวอย่างเช่น ในการเปรียบเทียบระดับเอ็นไซม์ glutathione S-transferase ในแมลงวันบ้านสายพันธุ์ที่สร้างความต้านทาน 3 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่ไม่สร้างความต้านทาน 2 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ที่สร้างความต้านทานทั้งหมดมีระดับของ alkyl- และ aryl S- transferase สูงกว่าแมลงวันสายพันธุ์ที่ไม่สร้างความต้านทาน

ในแมลงวันสายพันธุ์ที่สร้างความต้านทาน จะพบว่า นอกจากจะมีระดับของเอ็นไซม์ glutathione S-transferase สูงแล้วยังพบระดับของเอ็นไซม์ monooxygenase สูงอีกด้วย ทั้งนี้เนื่องมาจากเอ็นไซม์ทั้งสองถูกควบคุมโดย gene บนโครโมโซมเดียวกันคือ โครโมโซม II

ในปี 1989 Hung และคณะ ได้ทดลองตรวจวัดระดับ detoxification emzymes ในแมลงปากกัด 2 ชนิด และแมลงปากดูด 5 ชนิด ผลการตรวจวัดพบว่า ในแมลงทั้งหมดมีเอ็นไซม์ glutathione S-transferase อยู่ในระดับสูง ส่วนในแมลงปากดูดนั้นมีเพียง 3 ใน 5 ชนิดเท่านั้นที่มีระดับเอ็นไซม์ esterase สูงขึ้น 10-30 เท่า ส่วนในแมลงปากกัดทั้งสองชนิดพบว่ามีระดับ microsomal monooxygenase สูงถึง 50-100 เท่า เมื่อเทียบกับแมลงปากดูดทั้ง 5 ชนิด การที่แมลงปากดูดมีระดับเอ็นไซม์ microsomal monooxygenase ที่ค่อนข้างต่ำอาจเนื่องมาจากแมลงเหล่านี้ได้สัมผัสเพียงสารที่ละลายน้ำในเซลล์พืชเท่านั้น

James et al., (1984) ได้ทำการสกัดเอ็นไซม์ glutathione-S-transferase จากแมลงวันบ้านสายพันธุ์ที่สร้างความต้านทาน สายพันธุ์ที่ไม่แสดงความต้านทานและแมลงวันที่ไม่เคยได้รับสารฆ่าแมลงมาก่อนเลย จากการศึกษา เขาพบว่า แมลงวันบ้านสายพันธุ์ที่แสดงความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงนั้น สาเหตุหนึ่งนั้นเนื่องมาจากแมลงวันสายพันธุ์ดังกล่าว มี

ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงเอ็นไซม์ glutathione-S-transferase ได้เป็นหลาย ๆ รูปแบบ ทำให้สามารถเข้าจับกับสารฆ่าแมลงที่มีโครงสร้างแตกต่างกันได้หลายชนิด

จากการศึกษาในด้วงงวงพวก *T. castaneum* พบว่า ระยะตัวอ่อน และระยะตัวเต็มวัยจะพบ activity เอ็นไซม์ชนิดนี้สูง ขณะที่ในระยะดักแด้จะลดลงและไม่มี activity เลยในระยะไข่ (Cohen, 1985)

esterase

เอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องในการทำลายพิษของสารฆ่าแมลงอีกกลุ่มหนึ่งโดยเกี่ยวข้องกับปฏิกริยา hydrolysis ใน phaseI จึงเรียกเอ็นไซม์นี้ว่า เอนไซม์กลุ่ม hydrolases ซึ่งประกอบด้วยเอ็นไซม์ที่สำคัญ 2 ชนิดคือ phosphotriesterase และ carboxyesterase

esterase จะมีอยู่ 2 กลุ่มคือ phosphotriesterase จะเป็น A-esterase/arylesterase ในขณะที่เอ็นไซม์ carboxyesterase จะเป็น B-esterase ส่วนเอ็นไซม์ในกลุ่ม hydrolases ตัวอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำลายพิษของสารฆ่าแมลง ได้แก่ carboxylamidases และ epoxide hydrolases

จากคุณสมบัติความเฉพาะเจาะจงในการทำปฏิกริยากับสับสเตรทและตัวยับยั้งปฏิกริยา (Inhibitors) สามารถจะแบ่งแยก A และ B-esterase ได้ คือ A-esterase จะสามารถ hydrolyzed p - nitrophenyl phosphate ได้เร็วกว่าการ hydrolyzed p- nitrophenyl butarate แต่ B - esterase จะให้ผลตรงกันข้ามส่วนตัวยับยั้งเอ็นไซม์ A-esterase ได้แก่สาร sulflydryl (เช่น P-chloromercuriberoate), อิออนของโลหะหนัก และสาร EDTA แต่ B-esterase จะถูกยับยั้งโดยสาร organophosphate เนื่องจากสารดังกล่าวจะไปทำให้ปฏิกริยา phosphory lation แบบถาวรขั้นที่ active site ของเอนไซม์ (Dauterman, 1985)

เอ็นไซม์กลุ่มนี้มีความสามารถในการ metabolized สารฆ่าแมลงหรือสารพิษอื่น ๆ ในเซลล์ของแมลงจะสามารถ hydrolyzed สารฆ่าแมลงกลุ่ม carboxyesterase เช่น สารในกลุ่ม Pyrethroid รวมถึงสารในกลุ่ม phosphate และ carbamate

การที่นักวิทยาศาสตร์ได้ทราบว่าเอ็นไซม์ชนิดนี้ มีส่วนทำให้เกิดการต้านทานต่อสารฆ่าแมลงกลุ่ม organophosphate เนื่องจากการค้นพบในแมลงศัตรูพืช 2 ชนิด คือ เพลี้ยมันเทศ (*Myzus persicae*) และยุง (*Culex quinguefasciatus*) ที่มีการสร้างความต้านทานต่อ

สารฆ่าแมลงกลุ่มดังกล่าว โดยทำการสกัดแยกเอ็นไซม์จากแมลงทั้งสองชนิด พบว่าเอนไซม์ที่แยกได้เป็นเอ็นไซม์ในกลุ่ม carboxyesterase ทำให้บ่งชัดได้ว่า เอ็นไซม์ชนิดนี้ก็เป็นส่วนหนึ่งในการทำให้เกิดการต้านทานขึ้นในแมลงได้เช่นกัน

สำหรับบทบาทของเอ็นไซม์ชนิดนี้ในร่างกายทั่วไป คือ การควบคุมปริมาณสารที่ผลิตขึ้นในร่างกาย (endogenous substate) ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมไม่มากเกินไป และยังมีหน้าที่สำคัญในการทำลายพิษสารแปลกปลอม (xenobiotics) ที่เป็นสาร ester หรือสารที่ยึดกันด้วย anhydrid bond

ระดับเอ็นไซม์ esterase ในแมลงจะต่ำกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหลาย และประเภทของ esterase ที่พบส่วนใหญ่จะเป็น B-esterase ชนิดของแมลงที่ตรวจพบเอ็นไซม์ esterase นี้มีหลายชนิด

เอ็นไซม์ esterase ในแมลงพบได้มากใน cytosol , microsomes , mitochondria และ nuclei ของเซลล์ลำไส้ และกล้ามเนื้อส่วนหลัง (thoracic muscles) ซึ่งปริมาณดังกล่าวขึ้นอยู่กับ อายุ ชนิด และสายพันธุ์ของแมลง รวมทั้งจะมีมากน้อยตามเนื้อเยื่อในส่วนที่เรานำมาศึกษาและเอ็นไซม์ชนิดนี้จะถูกควบคุมเองโดยสารธรรมชาติ อาทิเช่น juvenile hormone

ในปี 1983 Mackness และคณะ ได้ทำการศึกษา activity ของเอนไซม์ esterase ของ rust red flour beetle (*Tribolium castaneum*) สายพันธุ์ที่ต้านทาน และ 1 สายพันธุ์ที่ไม่ต้านทานต่อมาลาไธออน ผลการศึกษาพบว่า เอนไซม์ esterase ที่พบเป็นแบบ B-esterase ทั้งหมดโดยไม่พบ A-esterase ในทุกสายพันธุ์ที่ทำการศึกษา และสายพันธุ์ที่ต้านทาน ได้แก่ สายพันธุ์ Kano C. ตรวจพบระดับ esterase เพียงครึ่งหนึ่งของอีก 2 สายพันธุ์ ดังนั้นประเด็นนี้จึงเป็นที่ถกเถียงกันในด้านขบวนการต้านทานของแมลง

เอนไซม์ esterase สามารถสร้างขึ้นได้โดยแมลงได้รับสารสกัดจากพืช (Yu and Hsu, 1985) ซึ่งสารสกัดจากพืชเป็นสาร allelochemicals ที่มีผลต่อการปรับตัวของแมลง เมื่อแมลงได้รับสารสกัดจากพืชเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสม แมลงจะมีการเปลี่ยนแปลงการสร้าง detoxication emzymes เช่น esterase, glutathione-S-transferase และ monooxygenase เพื่อต่อต้านสารแปลกปลอมดังกล่าว เพื่อการอยู่รอด (Yu, 1983 และ 1984) แมลงต่างชนิดกันก็จะมีระดับเอ็นไซม์ที่แตกต่างกัน และแมลงชนิดเดียวกัน แต่กินอาหารมากน้อยชนิดต่างกัน เช่น พวกที่กินพืชหลายชนิด (polyphagus) พวกที่กินพืชไม่กี่ชนิด (oligophagus) และพวกที่กินพืชชนิดเดียว (monophagus) จะมีการเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์แตกต่างกันด้วย (Rose, 1985; Rose and Terriere, 1980) คุณลักษณะในการเปลี่ยนแปลงนี้มีแนวโน้มที่จะถ่ายทอด

ไปยังรุ่นลูกต่อไป ซึ่งจะเป็นผลทำให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารดังกล่าวในที่สุด (Visetson, 1991)

จากการใช้สารสกัดจากสะเดาทดลองในหนอนใยผัก หนอนเจาะสมออเมริกัน ด้วงงวงข้าวและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า หนอนใยผักมีการเปลี่ยนแปลงของระดับเอ็นไซม์ esterase และ glutathione-S-transferase เพียงเล็กน้อยใน 5 ชั่วอายุหลังจากใช้สารสกัดจากสะเดา เมื่อเทียบกับการใช้สารสังเคราะห์พวก malathion และ cyfluthrin ส่วน monooxygenase จะลดลงประมาณ 20 เปอร์เซนต์ ขณะที่ใช้สารสังเคราะห์เพิ่มขึ้นประมาณ 10 เปอร์เซนต์ จากผลการทดลองดังกล่าวทำให้ทราบว่าการใช้สารสกัดสะเดามีฤทธิ์ไปลดการทำงานของ monooxygenase ซึ่งคล้าย ๆ กับผลของสารฆ่าแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟส และสารไพรีทอยด์ ส่วน เอ็นไซม์ esterase และ glutathione-S-transferase จะมีส่วนช่วยให้แมลงสร้างความต้านทานขึ้น (สุรพล วิเศษสรรค์ , 2536)

ในหนอนเจาะสมออเมริกันนั้น detoxication emzymes ทั้งสามมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย หลังจากมีการใช้สารสกัดสะเดาในชั่วอายุที่ 5 ส่วน cyfluthrin และ malathion จะทำให้ esterase และ glutathione-S-transferase มีการเพิ่มสูงขึ้นระหว่าง 1.4-4 เท่า แต่ monooxygenase มีการตอบสนองแปรปรวน การเพิ่มขึ้นอย่างมากของระดับ esterase จากการใช้สารออร์กาโนฟอสเฟต และ cyfluthrin ของแมลงชุดนี้ ทำให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงสูงมากในอนาคต แต่การใช้สารสกัดสะเดาจะไม่ทำให้แมลงสร้างความต้านทานแต่อย่างใด แต่อาจจะสร้างความต้านทานได้จากเอ็นไซม์ monooxygenase ถ้ามีการใช้อย่างไม่ระมัดระวัง อย่างไรก็ตาม อัตราการสร้างความต้านทานยังน้อยกว่าสารฆ่าแมลงสังเคราะห์

แม้ว่าการใช้สารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยเฉพาะแมลงศัตรูจะมีศักยภาพและมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดทัดเทียมและไม่ด้อยไปกว่าการใช้สารเคมีก็ตาม แต่ในการนำเอาสารสกัดจากพืชไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรโดยขาดความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับลักษณะธรรมชาติและข้อจำกัดพื้นฐาน รวมถึงเทคนิคต่าง ๆ ในการนำไปใช้อาจทำให้การป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้น ๆ ไม่สัมฤทธิ์ผลได้เช่นกัน

synergists

ในปัจจุบันได้มีการผสมหรือปรุงแต่งสารสกัดให้ได้สารสกัดที่ดี และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้นนับเป็นสิ่งที่สำคัญเช่นกันการทดลองเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพหรือรักษาเสถียรภาพของสารสกัดด้วยแอลกอฮอล์ในปัจจุบันได้มีการทดลองกันมาก โดยเฉพาะการรักษาเสถียรภาพของสารออกฤทธิ์ azadiractin ในสารสกัดซึ่งสลายตัวได้ง่ายในธรรรมชาติ การหา stabilizer ที่เหมาะสมยังเป็นเพียงการทดลองค้นคว้าในห้องปฏิบัติการ นอกเหนือไปจากการหา stabilizer แล้ว การใส่สารพวก UV filter เพื่อลดการถูกทำลายของสารออกฤทธิ์ด้วยแสงหรือความร้อนจะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยในการรักษาประสิทธิภาพของสารสกัดได้ (อัญชลี สงวนพงษ์ , 2536)

นอกจากนั้นการปรุงแต่งสารสกัดจากสะเดาอาจใช้สารพวก synergists ผสมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ความหมายของ synergists คือ สารซึ่งไม่มีฤทธิ์ในตัวของสารเองแต่จะมีพิษหรือประสิทธิภาพมากขึ้น เมื่อผสมกับสารฆ่าแมลง (Wilkinson, 1976)

ผลของ synergists คือยับยั้งเอ็นไซม์ โดยจะรวมตัวกับ enzymes จะทำให้ enzymes ไม่ active ในขณะที่รวมกับสารฆ่าแมลง ซึ่งจะใช้รวมกันจะเกิดผล จะมี synergists หลายชนิดที่ใช้กันในปัจจุบัน เช่น piperonyl butoxide (PB) , diethyl maleate (DEM) , triphenyl phosphate (TPP) , tricresylphosphate , sesamin , sulfoxide , piperonyl cyclonene , phorone ฯลฯ เป็นต้น (Dyte and Rowland, 1970)

ในการทดลองนี้ใช้ synergists 3 ชนิด คือ piperonyl butoxide(PB) ซึ่งเป็น synergists ที่นิยมใช้ในการยับยั้ง (inhibits) เอ็นไซม์ monooxygenase (Scott et al. , 1986) Diethyl maleate สำหรับนิยมใช้ในการยับยั้งเอ็นไซม์ Glutathione-S-transferase (Lamoreux and Rusness, 1987) triphenyl phosphate เป็น synergists ที่ใช้ยับยั้งเอนไซม์ esterases (Prabhaker et al., 1988)

จำนวนของ synergists ที่จะใช้ในการทดลองขึ้นอยู่กับวิธีการทดลอง หรือสารฆ่าแมลงแต่ละชนิด และวิธีการใช้ (Scott and Georghion, 1986; Prabhaker et al., 1988) สำหรับในด้วงนั้น Collins (1990) ได้ทดลองโดยการผสม synergists ในสารฆ่าแมลงโดยผสม synergists ลงไปประมาณ 10 หรือ 5 เปอร์เซนต์ ในสารฆ่าแมลง

จากการทดลองที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า ไม่ว่าจะเป็นการปรุงแต่งหรือผสมสารสกัดเพื่อรักษาเสถียรภาพของสารสกัดหรือการใช้สาร synergists ผสมลงไปตามจุดประสงค์ก็เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดแมลงให้ได้ผลมากที่สุด

ดังนั้นการวิจัยในครั้งนี้จึงเป็นการทดสอบว่า สารสกัดจากสะเดาจะมีผลอย่างไรในการเปลี่ยนแปลงระดับเอ็นไซม์ขจัดพิษในด้วงถั่วและทดลองผสมสารสกัดสะเดากับ synergists เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์มากน้อยเพียงใด ซึ่งจากผลการทดลองนี้จะเป็นแนวทางในการป้องกันและกำจัดแมลงบางชนิดเมื่อมีการสร้างความต้านทานต่อสารสกัดจากสะเดาในอนาคตต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย