ประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่า *Oryza officinalis* Wall และ *O. punctata* Kotschy ต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* (Stål)

Efficacy of Wild Rice Extracts, *Oryza officinalis* Wall and *O. punctata* Kotschy for Controlling Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)

รัตติกาล อินทมา[1),*] รัตนวรรณ จันทร์ศศิธร[1)] ผกามาศ วงค์เตย์[1)] สุภาพร มีประเสริฐ[1)] กมลวรรณ แย้มบุญทับ[1)]
ปนัดดา มาเพ้า[1)] พีรพล ม่วงงาม[2)] กนกอร วุฒิวงศ์[2)] กุลชนา ดาร์เวล[3)]
Rattigan Intama[1),*] Rattanawan Jansasithorn[1)] Pakamas Wongtay[1)] Supaporn Meeprasert[1)] Kamonwan Yamboontab[1)]
Panadda MaPhao[1)] Peerapon Moung-ngam[2)] Kanok-on Wuttiwong[2)] Kulchana Darwell[3)]

Abstract

The National Rice Seed Storage Laboratory for Genetic Resources, Rice Department has collected wild rice varieties in Thailand, as a database collection for increasing productivity and utilization. The wild rice leaves contain bioactive compounds that can affect brown planthopper (BPH), an important rice insect pest in paddy fields. This research aimed to analyze of wild rice extract bioactive compound and to test the efficacy of wild rice extract for preventing and eliminating BPH i.e., repellent efficacy test, effects on inhibiting food intake, effects on the number of BPH nymph. In addition, the study of appropriate timing and concentration rate of wild rice extract were also observed. The results showed that some chemicals have been reported as larvicidal activity such as acetic neophytadiene, phytol, stigmasterol and dibutyl phthalate. Testing the efficacy of wild rice extract of *Oryza officinalis* had the highest repellent efficiency at 72.50 and 68.75% after 24 and 48 hours of spraying treatment respectively. The wild rice extract of *O. punctata* was able to inhibit BPH feeding and the amount of honeydew was 9.67 mg. Spraying both varieties of wild rice extracts on different rice varieties had different effects on the increasing of BPH nymph compared with distilled water treatment, especially when spraying wild rice extracts on PTB33 and Pathum Thani 1 (PTT1) which found lower number of BPH nymphs when compared to spraying on Taichung Native 1 and RD43. The optimum spraying period was every 15 days with 10% concentration rate. This study can be concluded that wild rice extract can be used as an alternative safe method for preventing and eliminating BPH, reducing the use of chemicals, and increasing value addition on wild rice varieties found in Thailand.

Keyword: wild rice, *Oryza officinalis*, *Oryza punctata*, plant extract, brown planthopper, insect control

Received: February 24, 2024/ Revised: July 27, 2024/ Accepted: July 27, 2024

* corresponding author E-mail: rattigan.in@rice.mail.go.th

[1)] สถาบันวิทยาศาสตร์ข้าวแห่งชาติ อ.เมือง จ.สุพรรณบุรี 72000 โทร. 0-3555-5340
Thailand Rice Science Institute, Mueang, Suphanburi 72000 Tel: 0-3555-5340

[2)] ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110 โทร. 0-2577-1688
Pathum Thani Rice Research Center, Thanyaburi, Pathum Thani 12110 Tel. 0-2577-1688

[3)] ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ อ.เมือง จ.แพร่ 54000 โทร. 0-5464-6033-5
Phrae Rice Research Center, Mueang, Phrae 54000 Tel. 0-5464-6033-5

บทคัดย่อ

การรวบรวมอนุรักษ์พันธุ์ข้าวป่าที่สำรวจพบในประเทศไทยโดยศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ กรมการข้าว เพื่อเป็นฐานทรัพยากรข้าวป่าสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและนวัตกรรม โดยข้าวป่า *O. officinalis* ที่รวบรวมจากจังหวัดชุมพร เชียงราย สระบุรี นนทบุรี และกรุงเทพฯ มีรายงานการศึกษา พบว่า มีปฏิกิริยาต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์สารชีวเคมีในสารสกัดข้าวป่า และทดสอบประสิทธิภาพการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การออกฤทธิ์เป็นสารไล่ ยับยั้งการกินอาหาร ระยะเวลาและอัตราที่เหมาะสม ดำเนินการภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 เปอร์เซ็นต์ และสภาพโรงเรือนทดลองอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-45 เปอร์เซ็นต์ ณ สถาบันวิทยาศาสตร์ข้าวแห่งชาติ และศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2563-กันยายน 2566 ผลการศึกษา พบว่า สารชีวเคมีที่ได้จากข้าวป่า และมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง ได้แก่ สาร neophytadiene, phytol, stigmasterol และ dibutyl สารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* มีประสิทธิภาพการไล่ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุดร้อยละ 72.50 ในเวลา 24 ชั่วโมง หลังได้รับสาร และร้อยละ 68.75 ในเวลา 48 ชั่วโมง สารสกัดข้าวป่า *O. punctata* สามารถยับยั้งการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากที่สุด การพ่นสารสกัดข้าวป่าลงบนพันธุ์ข้าว PTB33 และปทุมธานี 1 พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลน้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ ไทชุงเนทีฟ 1 และ กข43 และระยะเวลาการพ่นที่เหมาะสมคือทุก 15 วัน ด้วยความเข้มข้นของสาร 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากผลการศึกษานี้เป็นแนวทางนำสารสกัดข้าวป่ามาพัฒนาต่อยอดในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อการผลิตข้าวอย่างปลอดภัย ลดการใช้สารเคมี และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพันธุ์ข้าวป่าต่อไป

คำสำคัญ: ข้าวป่า *Oryza officinalis Oryza punctata* สารสกัดจากพืช เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การควบคุมแมลง

คำนำ

ประเทศไทยพบการแพร่กระจายของข้าวป่าจำนวนอย่างน้อย 5 ชนิด *Oryza rufipogon* (L.), *O. nivara* Sharma, *O. officinalis* Wall, *O. ridleyi* Hook และ *O. granulate* Nees ในแหล่งที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ เช่น หนองน้ำ คูน้ำ บริเวณใกล้น้ำตกในอุทยานหรือเขตป่าสงวน และในพื้นที่นาข้าวปลูก เป็นต้น (สงกรานต์, 2543) โดยศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ กรมการข้าว ได้รวบรวมอนุรักษ์พันธุ์ข้าวป่าทั้ง 5 ชนิดไว้ เพื่อเป็นฐานทรัพยากรข้าวป่า สำหรับนำไปศึกษาวิจัย และใช้ประโยชน์เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและนวัตกรรม อันจะก่อให้เกิดมูลค่าทางเศรษฐกิจในอนาคต เนื่องจากข้าวป่าสามารถปรับตัวเข้ากับสถาพแวดล้อมได้ดีและมีความต้านทานต่อแมลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper (BPH)) *Nilaparvata lugens* (Stål) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูข้าวที่ทำความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวในพื้นที่นาชลประทานภาคกลางของประเทศไทย (ฐานัฏ และวิภา, 2560) และทั่วภูมิภาคเอเชีย (Nanthakumar *et al*., 2012)

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในประเทศไทย เป็นแมลงจำพวกปากดูด จัดอยู่ในวงศ์ Delphacidae อันดับ Hemiptera ตัวเต็มวัยมีลำตัวสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลปนดำ มีรูปร่าง 2 ลักษณะ คือ ชนิดปีกยาว (macropterous form) และชนิดปีกสั้น (bracrypterous form) ตัวเต็มวัยเพศเมียชนิดปีกยาวมีขนาด 4.0-4.5 มิลลิเมตร เพศผู้มีขนาด 3.5-4.0 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่เป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่วางไข่ที่กาบใบข้าว หรือเส้นกลางใบ เรียงแถวตามแนวตั้งฉากกับกาบใบข้าว บริเวณที่วางไข่จะมีรอยช้ำเป็นสีน้ำตาล ไข่มีลักษณะรูปกระสวยโค้งคล้ายกล้วยหอม มีสีขาวขุ่น ระยะไข่นาน 7-8 วัน ตัวอ่อนมี 5 ระยะ ระยะตัวอ่อน 16-17 วัน เพศเมียวางไข่ประมาณ 40-300 ฟอง ตัวเต็มวัยมีชีวิตประมาณ 2 สัปดาห์ ในหนึ่งฤดูปลูกข้าวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2-3 ชั่วอายุ (generation) ตัวอ่อนอาศัยดูดกินบนต้นข้าวต้นเดิมที่ฟักออกจากไข่ ตัวอ่อนมีตั้งแต่สีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลดำขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประชากรขณะนั้น หากประชากรเบาบางลำตัวแมลงจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน แต่หากประชากรหนาแน่นมากจะเป็นสีน้ำตาลดำ ลักษณะการ

ทำลายข้าวทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์ท่ออาหารบริเวณโคนต้นข้าวระดับเหนือผิวน้ำ ทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลือง แห้ง ลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวก และแห้งตายเป็นหย่อมๆ เรียก อาการไหม้ (hopper burn) นอกจากทำลายข้าวแล้ว แมลงชนิดนี้ยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสของโรคใบหงิก และโรคเขียวเตี้ยอีกด้วย (วันทนา และคณะ, 2562)

สงกรานต์ (2537) พบว่าข้าวป่า *O. officinalis* ที่รวบรวมจากประเทศไทย แหล่งจังหวัดชุมพร เชียงราย สระบุรี นนทบุรี และกรุงเทพมหานคร แสดงปฏิกิริยาต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ถึงร้อยละ 100 นอกจากนี้ ข้าวป่า *O. officinalis* ยังมีลักษณะที่ต้านทานต่อหนอนกอและเพลี้ยกระโดดหลังขาวอีกด้วย ซึ่งในใบข้าวป่าพบว่ามีสาร silicic acid และสาร oxalic acid สามารถยับยั้งการกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ (Yoshihara *et al*., 1980) สารทั้งสองชนิดดังกล่าวถือเป็นสาร allelochemical โดยมีองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ essential oil, terpenoids, alcohols, aldehydes, fatty acids และ esters wax ที่ใบข้าวป่าปล่อยออกมา มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อพืชหรือสามารถส่งผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอ่อนแอต่อพันธุ์ข้าวนั้นๆ นอกจากนี้ สารระเหยของใบข้าวป่า ยังพบสาร allomones หรือ kairomones ซึ่งส่งผลต้านทานต่อการกินหรืออ่อนแอต่อการกินของแมลงได้อีกด้วย (Khan and Saxena, 1986)

การนำข้าวป่ามาใช้ประโยชน์ทางด้านการอารักขาข้าว ประเทศจีน ญี่ปุ่น และไทย มีการนำสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* มาใช้ป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และหนอนห่อใบข้าว เนื่องจากปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ผลจากการฉีดพ่นสารสกัดจากใบข้าวป่า *O. officinalis* พบว่า การฟักออกจากไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีจำนวนลดลง (เฉลิมขวัญ และคณะ, 2562) และสารสกัดจากใบข้าวป่า *O. punctata* มีพิษต่อหนอนห่อใบข้าววัยที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Velusamy *et al*., 1990)

คุณสมบัติของใบข้าวป่าและงานวิจัยที่ผ่านมาข้างต้น แสดงให้เห็นว่าข้าวป่าสามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ทางด้านการอารักขาข้าวได้ เนื่องจากมีสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่งผลในการยับยั้งการกิน อีกทั้งยังสามารถยับยั้งการฟักออกจากไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ แต่ในงานวิจัยที่ผ่านมา ยังขาดข้อมูลสำคัญบางประการของข้าวป่าในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัย คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วน สมบูรณ์ สำหรับนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการอารักขาข้าว ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล กรณีที่เกษตรกรต้องการผลิตข้าวแบบปลอดภัย ลดการใช้สารเคมี และเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับพันธุ์ข้าวป่าที่พบในประเทศไทยในลำดับต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมสารสกัดข้าวป่า *Oryza officinalis* และ *O. punctata*

เตรียมตัวอย่างสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* ด้วยวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง (soxhlet method) โดยการนำใบข้าวป่าอายุ 90 วัน มาทำความสะอาดและนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนกระทั่งใบข้าวแห้ง จึงนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กขนาด 5 มิลลิเมตร ก่อนนำไปสกัดด้วยเครื่องสกัดสารชนิด soxhlet apparatus ใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย อัตราส่วนตัวอย่างข้าวต่อตัวทำละลาย คือ 10 กรัม ต่อ 600 มิลลิลิตร ทำการสกัดจนกระทั่งสารละลายที่ผ่านตัวอย่างข้าวไม่มีสี

นำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออก โดยใช้เครื่องระเหยระบบสุญญากาศ (rotary vacuum evaporator) จนแห้ง และทำการละลายสารสกัดด้วยอะซิโตน ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ซึ่งความเข้มข้นสุทธิของสารสกัด เท่ากับ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อนำไปใช้ทดสอบต่อไป

2. การเลี้ยงเพิ่มจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper (BPH)) ***Nilaparvata lugens*** (Stål)

ปลูกข้าวพันธุ์ กข7 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวใส่ในถุงตาข่ายสีฟ้า แช่ในน้ำเป็นเวลา 1 คืน จากนั้นเทน้ำทิ้ง แล้วห่อเมล็ดข้าวด้วยกระสอบป่าน นำไปบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 วัน จนเมล็ดข้าวเริ่มงอกยาว จึงนำเมล็ดข้าวไปหว่านในกระถางปลูกข้าวขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร รอจนกระทั่งต้นข้าวมีอายุ 15 วัน

นำตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บจากนาข้าวจังหวัดสุพรรณบุรีมาปล่อยในกระถางข้าวที่ปลูกไว้ในกรงตาข่ายผ้าไนลอน ขนาด 50x80x150 เซนติเมตร กระถางละ 50 คู่ คอยดูแลเติมน้ำในกระถางข้าวและเปลี่ยนกระถางข้าวเมื่อต้นข้าวเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทุกสัปดาห์ จนกระทั่งเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนเพียงพอสำหรับไปใช้ในการทดสอบต่อไป

3. การวิเคราะห์สารชีวเคมีที่มีผลต่อกลไกความต้านทานของน้ำสกัดข้าวป่าต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตามวิธีการของ Oyetunji และคณะ (2014)

เตรียมตัวอย่างใบข้าวป่า *O. punctata* และ *O. officinalis* และใบข้าวพันธุ์ กข43 (ตัวอย่างควบคุม) นำใบข้าวที่ได้จากระยะแตกกอสูงสุดมาทำความสะอาด และนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จนใบข้าวแห้ง จึงนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กขนาด 5 มิลลิเมตร ก่อนนำไปสกัด ดังนี้

3.1 การสกัดสารแบบต่อเนื่อง สกัดตัวอย่างใบข้าวด้วยเครื่องสกัดชนิด soxhlet apparatus โดยใช้เมทิลแอลกอฮอล์เป็นตัวทำละลาย ใช้อัตราส่วนของตัวอย่างข้าว 5 กรัมต่อตัวทำละลาย 250 มิลลิลิตร ทำการสกัดจนกระทั่งสารละลายที่ผ่านตัวอย่างข้าวไม่มีสี นำสารสกัดที่ได้ไปเติมเมทิลแอลกอฮอล์ แล้วนำไปเข้าเครื่อง ultrasonicator รอบละ 20 นาที จำนวน 5 รอบ ปรับปริมาตรสารสกัดโดยใช้เมทิลแอลกอฮอล์ให้เป็น 450 มิลลิลิตร แบ่งสารสกัดมา 10 มิลลิลิตร ทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบไนโตรเจน (nitrogen evaporator) จนแห้ง และทำการละลายสารสกัดด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

3.2 การสกัดสารโดยใช้สารละลาย ชั่งใบข้าว 0.5 กรัม เติมเมทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร เขย่าที่ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,400 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสเก็บไว้แล้วนำส่วนกากมาเติมเมทิลแอลกอฮอล์ 10 มิลลิลิตร แล้วสกัดซ้ำจนกระทั่งตัวอย่างใบข้าวไม่มีสี จากนั้นระเหยเอาตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสารแบบไนโตรเจนจนแห้ง และทำการละลายกลับอีกครั้งด้วยเมทิลแอลกอฮอล์ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

วิเคราะห์หาองค์ประกอบของสารสกัด โดยการนำสารสกัดจากใบข้าวที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GCxGC-TOFMS (คอลัมน์ Rxi-5silMS และคอลัมน์ Rxi-17silMS) ในสภาวะของเครื่องดังนี้ ฉีดตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร split ratio 30:1 อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิที่อัตรา 7 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส เพิ่มอุณหภูมิที่อัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาที จนกระทั่ง 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที โดยมีอุณหภูมิ front inlet และ transfer line ที่ 300 องศาเซลเซียส

4. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าในการออกฤทธิ์เป็นสารไล่ (repellent poison) ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลอง completely randomized design (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ ซ้ำละ 2 petri dish กรรมวิธีทดสอบ จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ใบข้าวชุบด้วยสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis*

กรรมวิธีที่ 2 ใบข้าวชุบด้วยสารสกัดข้าวป่า *O. punctata*

กรรมวิธีที่ 3 ใบข้าวชุบด้วยอะซิโตน

กรรมวิธีที่ 4 ใบข้าวชุบด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

วิธีการศึกษาปรับจากวิธีการของ Wan และคณะ (2006) โดยเจือจางสารสกัดข้าวป่าจากการสกัดสารแบบต่อเนื่อง ที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยน้ำกลั่นให้มีอัตราความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำใบข้าวพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (TN1) ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีความกว้างของใบประมาณ 1 เซนติเมตร โดยแบ่งใบข้าวตามความยาวของใบออกเป็นสองด้านเท่าๆ กัน นำด้านหนึ่งของใบข้าวจุ่มสารตามกรรมวิธีทดสอบเป็นเวลา 3 วินาที และด้านที่เหลือนำมาจุ่มน้ำกลั่นเพื่อเป็นชุดควบคุม รอจนกระทั่งใบข้าวแห้งนำไปวางบน petri dish ซึ่งมีกระดาษกรองบรรจุไว้ และใส่น้ำบนกระดาษกรองเพื่อรักษาความชื้น

นำ petri dish มาวางลงในกล่องพลาสติก ปล่อย

ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมียอายุ 1 วัน ลงใน petri dish จำนวน 20 ตัวต่อซ้ำ เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ทำการตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนใบข้าวด้านที่มีการจุ่มสารตามกรรมวิธีทดสอบและด้านที่จุ่มน้ำกลั่น ข้อมูลที่ได้นำมาคำนวณหาฤทธิ์การไล่ (repellent poison) ของสารตามสมการของ McDonald และคณะ (1970) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการไล่ของสาร โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 19

$$\text{ฤทธิ์ในการไล่ (\%)} = \frac{NS_C - NS_T}{NS_C} \times 100$$

เมื่อ NS_C = จำนวนแมลงในชุดควบคุม

NS_T = จำนวนแมลงในชุดทดสอบ

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อการดูดกินอาหาร (stomach poison) ของตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลองแบบ spilt plot ที่จัด main plot ในรูป randomized complete block (RCB) จำนวน 6 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กระถาง โดยปัจจัยหลัก คือ สารสกัดข้าวป่า *O. officinalis, O. punctata* และน้ำกลั่น ปัจจัยรอง คือ พันธุ์ข้าว จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 กข43 ไทชุงเนทีฟ 1 (พันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) และ PTB33 (พันธุ์ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) วิธีการศึกษาปรับจากวิธีการของ Nathan และคณะ (2009) โดยการปลูกข้าวทดสอบในกระถางดินเผารูปทรงกระบอกก้นตันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร เมื่อข้าวอายุ 45 วัน ทำการพ่นสารตามกรรมวิธีทดสอบ โดยนำสารสกัดข้าวป่าเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้มีอัตราความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสารสกัดข้าวป่าปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระบอกฉีดน้ำแบบพ่นละอองฝอยที่มีหัวฉีดพ่นแบบปรับความละเอียดของละอองฝอยได้ ปริมาตรของกระบอกฉีด 500 มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวให้ทั่ว

ประเมินผลการกินอาหารโดยการวัดปริมาณการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมีย โดยใช้เทคนิคซองพาราฟิล์ม (parafilm sachet) ดังนี้ นำแผ่นพาราฟิล์มที่พับเป็นรูปซองขนาด 2x4 เซนติเมตร ชั่งน้ำหนักก่อนนำไปติดบริเวณกาบใบข้าวที่พ่นสารสกัดตามกรรมวิธีต่างๆ ปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมียอายุ 1 วัน ลงไปในซองพาราฟิล์มซองละ 1 ตัว ปิดปากซองไม่ให้แมลงออก นำต้นข้าวที่ติดซองพาราฟิล์มเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ในสภาพให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

นำซองพาราฟิล์มที่บรรจุมูลหวาน (honeydew) ของแมลง จำนวน 1 ตัวต่อซอง ไปชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณมูลหวาน โดยวัดจากความแตกต่างของน้ำหนักซองพาราฟิล์มก่อนและหลังการปล่อย นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 19 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลองแบบ spilt plot ที่จัด main plot ในรูป RCB จำนวน 6 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กระถาง โดยปัจจัยหลัก คือ สารสกัดข้าวป่า *O. officinalis, O. punctata* และน้ำกลั่น ปัจจัยรอง คือ พันธุ์ข้าว จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 กข43 พันธุ์อ่อนแอไทชุงเนทีฟ 1 และพันธุ์ต้านทาน PTB33 วิธีการศึกษาปรับจากวิธีการของ Nathan และคณะ (2009) โดยทำการปลูกข้าวทดสอบในกระถางดินเผารูปทรงกระบอกก้นตันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร เมื่อข้าวอายุ 45 วัน จึงตัดต้นข้าวในแต่ละกระถางให้มีจำนวนต้นข้าว 10 ต้น ครอบต้นข้าวด้วยพลาสติกแข็งใสรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 80 เซนติเมตร

พ่นสารตามกรรมวิธีทดสอบ โดยนำสารสกัดข้าวป่าเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำสารสกัดข้าวป่าปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระบอกฉีดน้ำแบบพ่นละอองฝอยที่มีหัวฉีดพ่นแบบปรับความละเอียดของละอองฝอยได้ ปริมาตรของกระบอกฉีด 500 มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวให้ทั่วเพียงครั้งเดียว รอจนกระทั่งสารที่พ่นในแต่ละกรรมวิธีทดสอบแห้ง ปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งเพศผู้และเพศเมียอายุ 1 วัน อัตรา 5 คู่ต่อกระถาง หลังจากปล่อยตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

30 วัน ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนต้นข้าวหลังจากพบตัวอ่อนฟักออกมาเป็นเวลา 7 วัน นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 19 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูล โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.4 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของการพ่นสารสกัดข้าวป่าต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลองแบบ spilt plot ที่จัด main plot ในรูป RCB จำนวน 6 ซ้ำ ซ้ำละ 2 กระถาง โดยปัจจัยหลัก คือ สารสกัดข้าวป่า *O. officinalis, O. punctata* และน้ำกลั่น ปัจจัยรอง คือ ระยะเวลาของการฉีดพ่นสารสกัดข้าวป่า จำนวน 3 ระยะ ได้แก่ ฉีดพ่นจำนวน 1 ครั้ง ฉีดพ่นทุกๆ 7 วัน และฉีดพ่นทุกๆ 15 วัน วิธีการศึกษา การบันทึกผล และการวิเคราะห์ข้อมูล ดำเนินการเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อตัวอ่อนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

4.5 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดข้าวป่า O. officinalis ต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลอง randomized complete block design จำนวน 6 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำดำเนินการศึกษาใช้พันธุ์ข้าวไทชุงเนทีฟ 1 (TN1) ซ้ำละ 2 กระถาง โดยมีกรรมวิธีการศึกษาอัตราความเข้มข้นของสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* 5 อัตรา คือ 0 1 5 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

วิธีการศึกษาโดยการปลูกข้าวพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 ในกระถางดินเผารูปทรงกระบอกก้นตันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร เมื่อข้าวอายุ 45 วัน ตัดต้นข้าวในแต่ละกระถางให้มีจำนวนต้นข้าว 10 ต้น ครอบต้นข้าวด้วยพลาสติกแข็งใสรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร สูง 80 เซนติเมตร

การพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* โดยนำสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* เข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้มีความเข้มข้นตามกรรมวิธีทดสอบต่างๆ จากนั้นนำสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงในกระบอกฉีดน้ำแบบพ่นละอองฝอยที่มีหัวฉีดพ่นแบบปรับความละเอียดของละอองฝอยได้ ปริมาตรของกระบอกฉีด 500 มิลลิลิตร พ่นลงบนต้นข้าวให้ทั่วเพียงครั้งเดียว เมื่อน้ำสกัดข้าวป่าที่พ่นแห้งแล้วทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมียอายุ 1 วัน อัตรา 5 คู่ต่อกระถาง หลังจากปล่อยแมลง 30 วัน ตรวจนับจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนต้นข้าวหลังจากพบตัวอ่อนฟักออกมาเป็นเวลา 7 วัน ในแต่ละกรรมวิธี นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 19 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4.6 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดข้าวป่า O. punctata ต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

วางแผนการทดลอง randomized complete block design จำนวน 6 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำดำเนินการศึกษาโดยใช้พันธุ์ข้าวไทชุงเนทีฟ 1 ซ้ำละ 2 กระถาง โดยมีกรรมวิธีการศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* 5 อัตรา คือ 0, 1, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (v/v) วิธีการศึกษา การบันทึกผล และการวิเคราะห์ข้อมูล ดำเนินการเช่นเดียวกับหัวข้อ 4.5 การศึกษาอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* ต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ดำเนินการวิจัยภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการควบคุมอุณหภูมิ 27±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70 เปอร์เซ็นต์ และสภาพโรงเรือนทดลองอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 40-45 เปอร์เซ็นต์ ณ สถาบันวิทยาศาสตร์ข้าวแห่งชาติ และศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ระยะเวลา 3 ปี (ตุลาคม 2563-กันยายน 2566)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การวิเคราะห์หาสารชีวเคมีที่มีผลต่อกลไกความต้านทานของน้ำสกัดข้าวป่าต่อการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตามวิธีการของ Oyetunji และคณะ (2014)

การสกัดสารแบบต่อเนื่อง พบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบข้าวป่าพันธุ์ *O. officinalis* และ *O. punctata* เปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบข้าวพันธุ์ กข43 ซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม จำนวน 37 39 และ 27 สาร ตามลำดับ ซึ่งเป็นสารประกอบประเภท น้ำตาล กรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ วิตามินอี สเตอรอล เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ และมีรายงานว่า

มีความเกี่ยวข้องกับกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง ได้แก่ สาร neophytadiene, phytol และ dibutyl phthalate โดยพบว่าสารสกัดจากใบข้าวป่าพันธุ์ *O. punctata* มีสารทั้ง 3 ชนิด ในปริมาณมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบข้าวพันธุ์ *O. officinalis* และสารสกัดจากใบข้าวพันธุ์ กข43 (Table 1, Fig. 1)

การสกัดโดยใช้สารละลาย พบองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบข้าวป่าพันธุ์ *O. officinalis* และ *O. punctata* เปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบข้าวพันธุ์ กข43 ซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม จำนวน 27 28 และ 17 สาร ตามลำดับ โดยองค์ประกอบที่สำคัญ ได้แก่ neophytadiene, phytol และ stigmasterol พบมากในสารสกัดจากใบข้าวป่าทั้งสองชนิดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากใบข้าวพันธุ์ กข43 โดยพบสาร neophytadiene และ stigmasterol มากที่สุดในสารสกัดจากใบข้าวป่า *O. punctata* และพบสาร phytol มากที่สุดในสารสกัดจากใบข้าวป่า *O. officinalis* (Table 1, Fig. 2)

2. การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

2.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าในการออกฤทธิ์เป็นสารไล่ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การทดสอบสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 ชนิด พบประสิทธิภาพการไล่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับการพ่นด้วยน้ำกลั่น แต่ไม่แตกต่างกันทาง

Table 1 Area of bioactive compound of wild rice extracts with soxhlet extraction and solution extraction and analysis by using GCxGC-TOFMS

Compound	*O. officinalis*		*O. puntata*		RD43	
	Soxhlet extraction	Solution extraction	Soxhlet extraction	Solution extraction	Soxhlet extraction	Solution extraction
Neophytadiene	574,119	880,739	737,926	1,394,590	286,824	442,521
Phytol	828,913	569,769	1,021,065	447,221	500,834	327,002
Dibutyl phthalate	43,128	-	43,163	-	39,504	-
Stigmasterol	-	-	-	186,720	-	-

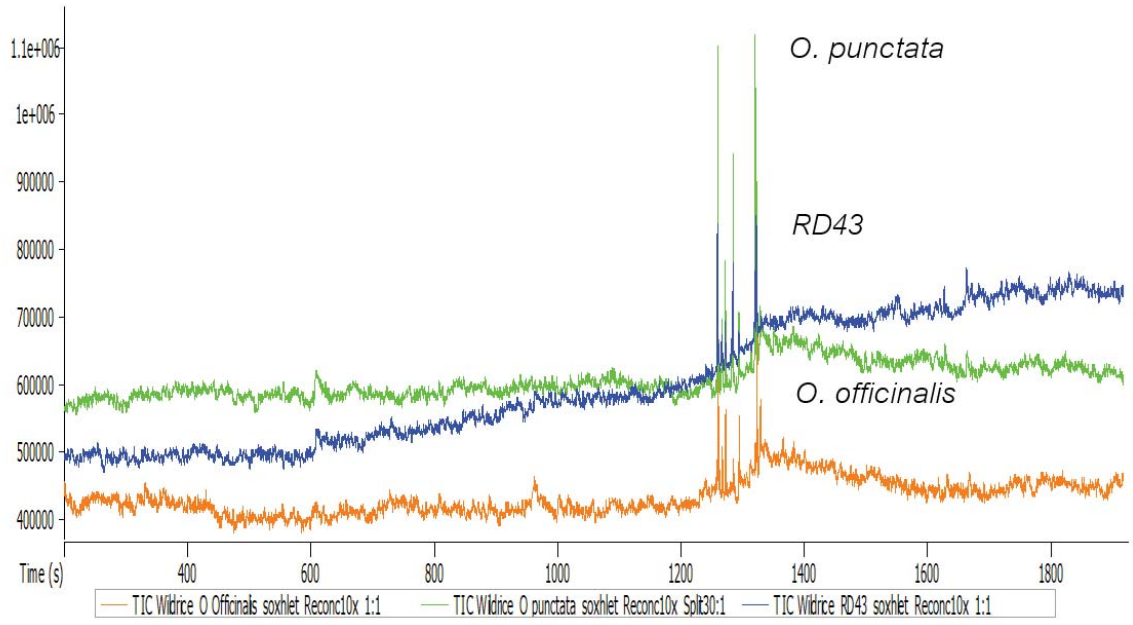

Fig. 1 Chromatogram of wild rice extracts of *O. officinalis, O. punctata* and RD43 with soxhlet extraction and analysis by using GCxGC-TOFMS

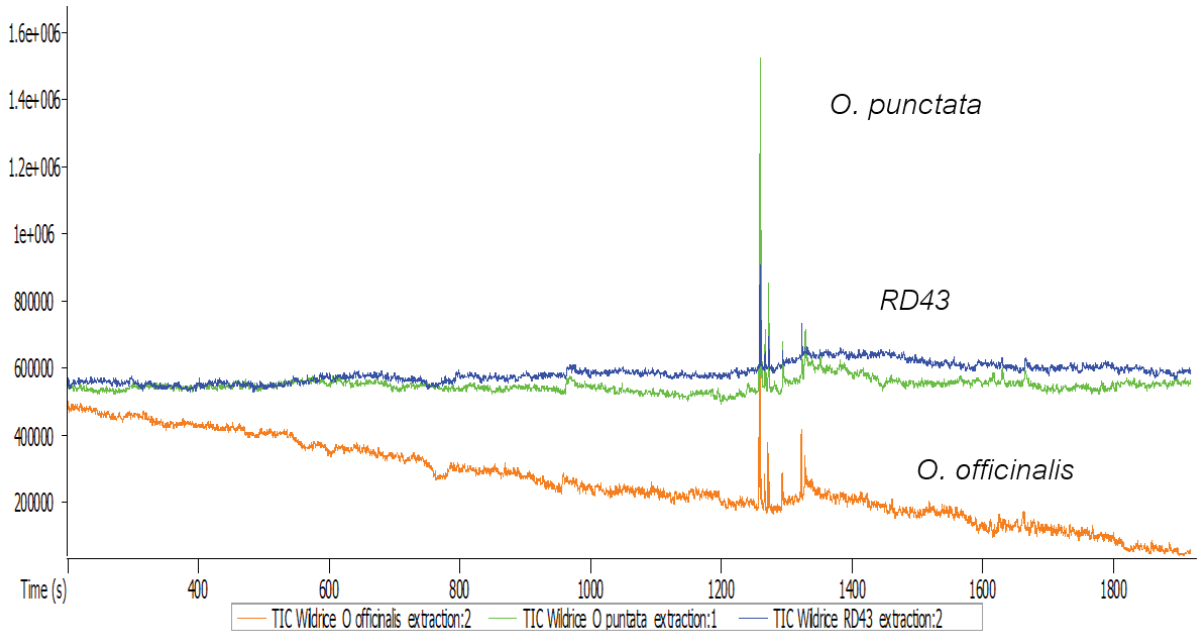

Fig. 2 Chromatogram of wild rice extracts of *O. officinalis*, *O. punctata* and RD43 with solution extraction and analysis by using GCxGC-TOFMS

สถิติกับการพ่นด้วยสารอะซีโตน โดยสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* มีประสิทธิภาพการไล่มากที่สุดร้อยละ 72.50 เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และประสิทธิภาพการไล่ลดลงเหลือร้อยละ 68.75 เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับในสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* และสารอะซีโตน ที่มีประสิทธิภาพการไล่ร้อยละ 69.16 และ 62.08 ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และร้อยละ 68.75 และ 60.00 ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง (Table 2)

2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อการดูดกินอาหารของตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการทดสอบ พบว่า พันธุ์ข้าวมีปฏิสัมพันธ์กับการพ่นสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 พันธุ์ และน้ำกลั่น โดยการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* บนพันธุ์ข้าว PTB33 พบการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากปริมาณมูลหวานได้น้อยที่สุด 1.94 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (12.53 มิลลิกรัม) ปทุมธานี 1 (6.24 มิลลิกรัม) และ กข43 (17.86 มิลลิกรัม) เช่นเดียวกับการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* ลงบนพันธุ์ข้าว PTB33 พบการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จาก

Table 2 Repellent percentage of both varieties of wild rice extracts by 1% (v/v) concentration rate compared with distilled water and acetone treatments to brown planthopper

Material	Repellent (%) to brown planthopper (mean)[1)]	
	24 h	48 h
O. officinalis	72.50 a	68.75 a
O. punctata	69.16 a	68.75 a
Distilled water	0.00 b	0.00 b
Acetone	62.08 a	60.00 a
CV (%)	16.70	17.51

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ปริมาณมูลหวานได้น้อยที่สุด 6.78 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (16.44 มิลลิกรัม) ปทุมธานี 1 (13.48 มิลลิกรัม) และ กข43 (22.44 มิลลิกรัม) และการพ่นด้วยน้ำกลั่นลงบนพันธุ์ข้าว PTB33 พบการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากปริมาณมูลหวาน 11.73 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ไทชุงเนทีฟ 1 (19.97 มิลลิกรัม) ปทุมธานี 1 (16.71 มิลลิกรัม) และ กข43 (22.90 มิลลิกรัม)

เมื่อพิจารณาการพ่นสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 ชนิด เปรียบเทียบกับการพ่นน้ำกลั่นลงบนพันธุ์ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ พบว่า มีผลต่อการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* ลงบนพันธุ์ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ สามารถยับยั้งการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยให้ปริมาณมูลหวานน้อยที่สุด (Table 3)

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการทดสอบการพ่นสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 ชนิด บนพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ พบว่า ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่างพันธุ์ข้าวกับสารสกัดข้าวป่าต่อจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนต้นข้าว โดยการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนต้นข้าว 262.50 ตัวต่อกระถาง ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* (269.29 ตัวต่อกระถาง) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) กับการพ่นด้วยน้ำกลั่น (352.25 ตัวต่อกระถาง) (Table 4)

สำหรับพันธุ์ข้าว พบว่า จำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนต้นข้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยพันธุ์ต้านทาน PTB33 มีจำนวนตัวอ่อน 208.38 ตัวต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ปทุมธานี 1 (277.55 ตัวต่อกระถาง) พันธุ์อ่อนแอไทชุงเนทีฟ 1 (310.83 ตัวต่อกระถาง) และพันธุ์ กข43 (381.94 ตัวต่อกระถาง) (Table 4)

2.4 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของการพ่นสารสกัดข้าวป่าต่อตัวอ่อนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ผลการศึกษา พบว่า ระยะเวลาการพ่นสารมีปฏิสัมพันธ์กับการพ่นสารสกัดข้าวป่าและน้ำกลั่น โดยการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* ทุก 7 และ 15 วัน มีผลต่อจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบบนต้นข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับการพ่นเพียงครั้งเดียว โดยการพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* และ *O. officinalis* ทุก 15 วัน พบจำนวนตัวอ่อนบนต้นข้าวน้อยที่สุด 6.50 และ 8.50 ตัวต่อกระถาง ตามลำดับ รองลงมา คือ การพ่นสาร

Table 3 Amount of honeydew excreted by brown planthopper in parafilm sachet (mg), after spraying wild rice extracts of *Oryza officinalis* and *O. punctata* by 1% (v/v) concentration rate compared with distilled water treatment on different rice varieties for 48 hours

Variety	Extracts			Variety-mean
	O. officinalis	*O. punctata*	Distilled water	
PTT1	13.48 bcB	6.24 bcA	16.71 bcC	12.14
RD43	22.44 dB	17.86 A	22.90 dB	21.07
TN1 (suscept. ck.)	16.44 cB	12.53 cdA	19.97 cC	16.31
PTB33 (resist. ck.)	6.78 aB	1.94 aA	11.73 aC	6.82
Extract-mean[1)]	14.79	9.64	17.33	
CV (%) (a) = 6.55		CV (%) (b) = 6.42		

[1)] Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

- Differences between variety followed by a, b, c, d
- Differences between extract followed by A, B, C

Table 4 Number of brown planthopper nymphs on different rice varieties (per plant pot), after spraying wild rice extracts of *O. officinalis* and *O. punctata* by 1% (v/v) concentration rate compared with distilled water treatment for 30 days

Variety	No. of brown planthopper nymphs/plant pot			Variety-mean
	O. officinalis	*O. punctata*	Distilled water	
PTT1	284.33	241.50	306.83	277.55 ab
RD43	334.67	367.50	443.67	381.94 c
TN1 (suscept. ck.)	258.33	265.17	409.00	310.83 bc
PTB33 (resist. ck.)	172.67	203.00	249.50	208.38 a
Extract-mean	262.50 a	269.29 a	352.25 b	
	CV(%) (a) = 15.27		CV (%) (b) = 17.31	

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Table 5 Average number of brown planthopper nymphs (per plant pot) on different number of extracts spraying, after spraying wild rice extracts of *O. officinalis* and *O. punctata* by 1% (v/v) concentration rate compared with distilled water treatment for 30 days

No. of extracts spraying	Extracts[1)]			Time - mean
	O. officinalis	*O. punctata*	Distilled water	
Once	259.67 cA	269.50 cA	445.17 bcB	324.78
Every 7 days	9.50 abA	9.16 abA	435.33 bB	151.34
Every 15 days	8.50 aA	6.50 aA	409.00 aB	141.33
Extract-mean[1)]	95.05	92.56	429.83	
	CV (%) (a) = 44.43		CV (%) (b) = 23.62	

[1)] Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

- Differences between number of extracts spraying followed by a, b, c
- Differences between extracts followed by A, B

ทุก 7 วัน พบจำนวนตัวอ่อนที่พบบนต้นข้าว 9.16 และ 9.50 ตัวต่อกระถาง ตามลำดับ ในขณะที่การพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* เพียงครั้งเดียว พบจำนวนตัวอ่อนบนต้นข้าว 259.67 และ 269.50 ตัวต่อกระถาง ตามลำดับ (Table 5)

การพ่นน้ำกลั่น ทุก 15 วัน จำนวนตัวอ่อนที่พบบนต้นข้าวน้อยที่สุด 409.00 ตัวต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการพ่นทุก 7 วัน (435.33 ตัวต่อกระถาง) และการพ่นเพียงครั้งเดียว (445.17 ตัวต่อกระถาง) (Table 5)

2.5 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดข้าวป่า O. officinalis ต่อตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* แต่ละความเข้มข้นเป็นเวลา 30 วัน มีผลต่อจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการพ่นด้วยความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนต้นข้าวน้อยที่สุด 231.08 ตัว

Table 6 Average number of brown planthopper nymphs on rice per plant pot, after spraying wild rice extracts of *O. officinalis* followed by concentration rate for 30 days

Concentration (%) of wild rice extract, *O. officinalis* (v/v)	No. of brown planthopper nymphs on rice per plant pot[1)]
0	644.33 c
1	351.41 b
5	302.16 ab
10	284.00 ab
20	231.08 a
CV (%)	18.43

[1)] Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

Table 7 Average number of brown planthopper nymphs on rice per plant pot, after spraying wild rice extracts of *O. punctata* followed by concentration rate for 30 days

Concentration (%) of wild rice extract, *O. punctata* (v/v)	No. of brown planthopper nymphs on rice per plant pot[1)]
0	640.33 d
1	343.75 c
5	223.91 b
10	86.16 a
20	51.83 a
CV (%)	16.23

[1)] Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ต่อกระถาง แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (284.00 ตัวต่อกระถาง) และความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (302.16 ตัวต่อกระถาง) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (351.41 ตัวต่อกระถาง) ในขณะที่อัตราความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด 644.33 ตัวต่อกระถาง (Table 6)

2.6 การศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดข้าวป่า O. punctata ต่อตัวอ่อนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การพ่นสารสกัดข้าวป่า *O. punctata* แต่ละความเข้มข้นเป็นเวลา 30 วัน มีผลต่อจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยการพ่นด้วยความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนต้นข้าวน้อยที่สุด 51.83 ตัวต่อกระถาง แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (86.16 ตัวต่อกระถาง) ในขณะที่อัตราความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ พบจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด 640.33 ตัวต่อกระถาง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (223.91 ตัวต่อกระถาง) และความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (343.75 ตัวต่อกระถาง) (Table 7)

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดข้าวป่าที่มีผลหรือมีฤทธิ์ต่อการป้องกันกำจัดแมลง Wan และคณะ (2004) รายงานว่า มีการศึกษาถึงกลไกความต้านทานที่

เกิดขึ้นเมื่อข้าวมีการเข้าทำลายของแมลงบั่ว โดยข้าวจะสร้างสารเมแทบอไลต์ที่คาดว่าน่าจะมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างความต้านทาน ได้แก่ สารในกลุ่ม salicylic acid, terpenoids, phenol และ monoterpenoids เป็นต้น (Oyetunji *et al*., 2014) ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีรายงานว่ามีคุณสมบัติเป็น antimicrobial, anti-cancer, anti-inflammatory, antidiuretic, immunostimulatory, anti-diabetic, antioxidant และradical scavenging activity เป็นต้น (Venkata *et al*., 2012) สำหรับสารสำคัญที่พบในกลุ่ม terpenoids ได้แก่ neophytadiene, dibutyl phthalate, stigmasterol และ phytol เมื่อข้าวถูกทำลายโดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบสารในกลุ่ม neophytadiene, dibutyl phthalate และ stigmasterol ในข้าวกลุ่มควบคุม ในขณะที่พบสารกลุ่ม phytol ในข้าวกลุ่มที่ถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย (Jannoey *et al*., 2016) นอกจากนี้มีงานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับสาร stigmasterol ในสารสกัดจากดอกไม้ป่า (*Inula britannica*) ว่ามีคุณสมบัติในการฆ่าไรระยะตัวเต็มวัย โดยพบการตายมากกว่าร้อยละ 50 ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Cheng *et al*., 2012) รวมถึงคุณสมบัติในการฆ่ายุงด้วย (Gade *et al*., 2016)

การนำสารสกัดข้าวป่ามาใช้ในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช จากงานวิจัยของ Velusamy และคณะ (1990) พบสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมหนอนห่อใบข้าววัยที่ 1 เช่นเดียวกับ Wan และคณะ (2006) ศึกษาพบสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* (ecophenotype E15-8) ที่ความเข้มข้น $5x10^4$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ไล่ไร *Panonychus citri* และเพลี้ยอ่อน *Aphis citricola* ร้อยละ 83.3 และ 87.9 ตามลำดับ เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และ ร้อยละ 87.9 และ 82.5 ตามลำดับที่เวลา 48 ชั่วโมง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวป่าในการออกฤทธิ์เป็นสารไล่ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลครั้งนี้ ประสิทธิภาพการไล่มีค่าเฉลี่ยตั้งแต่ร้อยละ 68.75-72.50 ซึ่งน้อยกว่างานวิจัยของ Wan และคณะ (2006) อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้แตกต่างกัน และใช้กับแมลงต่างชนิดกัน อาจส่งผลทำให้ประสิทธิภาพในการไล่แตกต่างกันไปด้วย ซึ่งความเข้มข้นของสารเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งในการส่งเสริมประสิทธิภาพของการใช้สารสกัดจากพืชให้มีประสิทธิภาพสูง (Fabrick *et al.,* 2020; Majeed *et al*., 2018)

เมื่อพิจารณาผลของสารสกัดข้าวป่าต่อการกินอาหารของตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากการทดสอบครั้งนี้การพ่นสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 ชนิดสามารถยับยั้งการกินอาหารได้ โดยมีผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดูดกินอาหารจากต้นข้าวได้ปริมาณน้อยลงที่เป็นเช่นนี้เนื่องมาจากสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการเป็นสารฆ่า (insecticidal) และสารไล่ (repellent) แมลงศัตรูพืช (Azad *et al*., 2012) สำหรับในข้าวป่าส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการควบคุมแตกต่างกัน ดังเช่นข้าวป่า *O. grandiglumis* มีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนกระทู้มากที่สุด เป็นต้น (Wan *et al*., 2004)

สรุปผลการทดลอง

สารชีวเคมีของสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* และ *O. punctata* พบว่า วิธีการสกัดแบบต่อเนื่องและแบบสารละลาย วิเคราะห์พบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการยับยั้งการเจริญเติบโตของแมลง ได้แก่ สาร neophytadiene, phytol, stigmasterol และ dibutyl phthalate ซึ่งการสกัดแต่ละชนิดสามารถสกัดสารได้แตกต่างกัน หรือมีประสิทธิภาพในการสกัดสารแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ดังนั้น ในการเลือกวิธีสกัดจึงต้องพิจารณาถึงองค์ประกอบของสารที่สนใจ และเลือกวิธีสกัดที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพสูงที่สุด

เมื่อนำสารสกัดข้าวป่าจากการสกัดแบบต่อเนื่องมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าสารสกัดข้าวป่า *O. officinalis* มีประสิทธิภาพออกฤทธิ์ไล่ตัวเต็มวัยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี ในขณะที่สารสกัดข้าวป่า *O. punctata* สามารถยับยั้งการดูดกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากที่สุด สำหรับรูปแบบการพ่นสารสกัดข้าวป่าทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ทุก 15 วัน ส่งผลต่อจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรมและสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ส่งเสริมและสนับสนุนงบประมาณประจำปี พ.ศ. 2564-2566 ให้กับแผนงานวิจัยการวิจัยและพัฒนาการอนุรักษ์และการศึกษาคุณสมบัติพื้นฐานของทรัพยากรพันธุกรรมข้าว แผนงานวิจัยย่อยการประเมินคุณค่าทางโภชนาการ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และการใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมข้าว โครงการการใช้ประโยชน์จากเชื้อพันธุกรรมข้าว รหัสโครงการ 1523817 และขอขอบคุณทีมงานนักวิจัยทุกท่านที่ทำให้งานวิจัยชิ้นนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เฉลิมขวัญ ฉิมวัย, พีระพล ม่วงงาม, ขวัญชนก ปฏิสนธิ์ และประจักษ์ เหล็งบำรุง. 2562. ความสัมพันธ์ระหว่างกลไกความต้านทานและสารสกัดที่ได้จากใบข้าวป่าต่อการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาวในเขตภาคเหนือตอนบน. รายงานฉบับสมบูรณ์. กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 81 หน้า.

ฐานัฏ ณ พัทลุง และวิภา ตังคนานนท์. 2560. พฤติกรรมการทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่นาชลประทานภาคกลางของประเทศไทย. Thai Journal of Science and Technology. 6(4) ฉบับเสริม: 369-391.

วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, จินตนา ไชยวงศ์, กัลยา บุญสง่า, พลอยไพลิน ธนิกกุล, พยอม โคเบลลี่, ศุภลักษณา หล่าจันทึก, วันพร เข็มมุก, สุกัญญา อรัญมิตร และอริษา จิตรติกรกุล. 2562. ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. กองวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว. กรุงเทพมหานคร. 220 หน้า.

สงกรานต์ จิตรากร. 2537. ข้าว: ทรัพยากรพันธุกรรม. ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ลักษณ์, กรุงเทพมหานคร. 74 หน้า.

สงกรานต์ จิตรากร. 2543. ความหลากหลายทางชีวภาพของข้าวป่าในประเทศไทย. เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาทางวิชาการข้าวแห่งชาติ: การวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ. 31 สิงหาคม-1 กันยายน 2543. โรงแรมสีดารีสอร์ท, จ.นครนายก. 10 หน้า.

Azad, M.A.K. 2012. Effect of botanical extract on pest control in Brinjal field. Journal of Environmental Sciences & Natural Resources 5(2): 173-176.

Fabrick, J.A., A.J. Yool and D.W. Spurgeon. 2020. Insecticidal activity of marigold *Tagetes patula* plants and foliar extracts against the hemipteran pests, *Lygus hesperus* and *Bemisia tabaci*. PLoS ONE 15(5): e0233511.

Cheng, J., D.D. Duan, Y.N. Wang, L.Q. Ma, Y.B. Liu and G.I. Shi. 2012. Acaricidal Activity of Stigmasterol from Inula Britannica against *Tetranychus cinnabarinus*. *In*: Zhu, E., S. Sambath, (eds) Information Technology and Agricultural Engineering. Advances in Intelligent and Soft Computing, vol 134. Springer, Berlin, Heidelberg.

Gade, S., M. Rajamanikyam, V. Vadlapudi, K. Nukala, R. Aluvala, C. Giddigari, N. Karanam, N. Barua, R. Pandey, V. Upadhyayula, S. Prabhakar, R. Amanchy and S. Upadhyayula. 2016. Acetylcholinesterase inhibitory activity of stigmasterol & hexacosanol is responsible for larvicidal and repellent properties of *Chromolaena odorata*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. 1861.

Jannoey, P., D. Channei, J. Kotcharerk, W. Pongprasert and T. Sutt. 2016. Identification of some volatile compounds in rice infestation with brown planthopper (BPH). NU. International Journal of Science 13(2): 49-61.

Khan, Z.R. and R.C. Saxena. 1986. Effect of steam distillate extracts of resistant and susceptible rice cultivars on behavior of *Sogatella furcifura* (Homoptera: Delphacidae). Journal of Economic Entomology 79: 928-935.

Majeed, M.Z., M.I. Nawaz, R.R. Khan, U. Frooq and C.S. Ma. 2018. Insecticidal effects of acetone, ethanol and aqueous extracts of *Azadirachta indica* (A. Juss), *Citrus aurantium* (L.), *Citrus sinensis* (L.) and *Eucalyptus camaldulensis* (Dehnh.) against mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae). Tropical and Subtropical Agroecosystems 21:

421-430.

McDonald, L.L., R.H. Guy and R.D. Speirs. 1970. Preliminary evaluation of new candidate materials as toxicants, repellents, and attractants against stored-product insects. 1. USDA Marketing Res. Report 882. Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, DC.

Nanthakumar, M., V.J. Lakshmi, V.B. Shashi, S.M. Balachandran and M. Mohan. 2012. Decrease of rice plant resistance and induction of hormesis and carboxylesterase titre in brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) by xenobiotics. Pesticide Biochemistry and Physiology 102: 146-152.

Nathan, S.S., K. Kandaswamy, M.Y. Choi and C.H. Paik. 2009. Effect of jasmonic acid-induced resistance in rice on the plant brownhopper *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae). Pesticide biochemistry and Physiology 95: 77-84.

Oyetunji, O.E., F. Nwilene, A. Togola and K.A. Adebayo. 2014. Antixenotic and Antibiotic Mechanisms of Resistance to African Rice Gall Midge in Nigeria. Trends in Applied Sciences Research 9: 174-186.

Velusamy, R., B. Thayumanavan and S. Sadasivam. 1990. Effect of steam distillate extracts of resistant wild rice *Oryza officinalis* on behavior of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal) (Homoptera: Delphacidae). Journal of Chemical Ecology 16(3): 809-817.

Venkata, R.B., L.A. Samuel, S.M. Pardha, R.B. Narashimha, V.K. Naga, M. Sudhakar and T.M. Radhakrishnan. 2012. Antibacterial, antioxidant activity and GC-MS analysis of Eupatorium odoratum. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 5(2): 99-106.

Wan, S.Q., G.Z. Feng, D.J. Pan, L. Qing and J.C. Deng. 2004. Anti-Feedant Activity of the Extracts from Six Species of Wild Rice Against *Spodoptera litura*. Rice Science 11(5-6): 313-316.

Wan, S.Q., X.F. Liu, G.Z. Feng and D.J. Pan. 2006. Repellent activity of Extracts of wild rice species against *Panonychus citri* and *Aphis citricola* in Associated with esterase isoenzyme in insects. Rice Science 13(2): 146-148.

Yoshihara, T., K. Sogawa, M.D. Pathak, B.O. Juliano and S. Sakamura. 1980. Oxalic acid as a sucking inhibitor of the brown planthopper in rice. (*Delphacidae: Homoptera*). Entomologia Experimentalis Applicata 27: 149-155.