

ประสิทธิภาพสารสกัดหยาบแห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) ในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)) ในสภาพห้องปฏิบัติการ

Efficiency of *Cyperus rotundus* L. Crude Extract for Control *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in Laboratory Conditions

ศิษฐ์ ปัจฉิมนันท์¹ วันชัย ปลื้มภานุภักตร์² ลลิตา พิมสว้าง² และ วสกร บัลลังก์โพธิ์^{1,*}

Karit Pudchimnunt¹, Wanchai Pluempunapat², Lalita Pimsawang² and Vasakorn Bullangpoti^{1,*}

¹ หน่วยปฏิบัติการวิจัยเชี่ยวชาญเฉพาะด้านทางพิษวิทยาและสรีรวิทยาของสัตว์ ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

² ภาควิชาเคมี และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹ Animal Toxicology Specialty Research Unit, Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

² Department of Chemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900

รับเรื่อง: 13 มิถุนายน 2566 Received: 13 June 2023

ปรับปรุงแก้ไข: 13 สิงหาคม 2566 Revised: 13 August 2023

รับตีพิมพ์: 15 สิงหาคม 2566 Accepted: 15 August 2023

* Corresponding author: fscivkb@ku.ac.th

บทคัดย่อ

ความเป็นมาและวัตถุประสงค์: หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)) เป็นแมลงอยู่ในวงศ์ Noctuidae ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญ เนื่องจากสามารถกินพืชอาหารได้หลากหลายชนิด จึงสร้างความเสียหายกับผลผลิตทางการเกษตรได้หลากหลาย ทั้งนี้ การใช้สารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมนิยมใช้เป็นวิธีหลักในการควบคุมหนอนชนิดนี้ ปัจจุบันพบปัญหาหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดพัฒนาเพื่อต้านทานต่อสารกำจัดแมลงมากมาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมูและศึกษาผลกระทบต่อการพัฒนาในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในห้องปฏิบัติการ

วิธีดำเนินการวิจัย: สารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมูถูกสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอธิลอะซิเตต และเมทานอล ตามลำดับ จากนั้น นำมาศึกษาความเป็นพิษและศึกษาผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัย 2 ในห้องปฏิบัติการเมื่อรับสารโดยวิธีสัมผัสจากด้านบน

ผลการวิจัย: สารสกัดหยาบจากไดคลอโรมีเทนมีฤทธิ์การออกฤทธิ์ในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดดีที่สุด โดยมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 4.58 ไมโครกรัมต่อตัว และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดมากที่สุด โดยสามารถทำให้เกิดความผิดปกติของการพัฒนาการเพื่อเป็นตัวเต็มวัยได้ โดยหนอนที่รับสารจะไม่สามารถหัดตัวและลอกคราบกลายเป็นดักแด้

สรุป: สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีประสิทธิภาพที่สามารถควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในห้องปฏิบัติการได้และอาจนำมาใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมหนอนชนิดนี้ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: การควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด, สารสกัดจากพืช, เกษตรอินทรีย์, สารกำจัดแมลงจากธรรมชาติ

ABSTRACT

Background and Objectives: Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)) is a polyphagous pest that causes damage to economically important crops. The primary method traditionally used to control this pest is chemical insecticides. However, fall armyworms often develop resistance to many insecticides. Our present study aimed to evaluate the insecticidal efficacy and the effects on development of *S. frugiperda* second instar larvae after being treated with *Cyperus rotundus* L. crude extracts under laboratory conditions.

Methodology: *C. rotundus* bulbs were dried and ground into powder, then extracted using hexane, dichloromethane, ethyl acetate, and methanol, respectively. The extracts were then tested on second instar *S. frugiperda* larvae to observe toxicity values and assess the impact on metamorphosis using topical application under laboratory conditions.

Main Results: The dichloromethane crude extract of *C. rotundus* exhibited the highest toxicity ($LD_{50} = 4.58 \mu\text{g/larvae}$) and influenced the metamorphosis of treated larvae, leading to abnormal pupation.

Conclusions: *C. rotundus* crude extracts demonstrated control over *S. frugiperda* in laboratory conditions and may serve as an alternative method for managing this pest in the future.

Keyword: *Spodoptera frugiperda* control, plant extracts, organic farming, natural pesticide

Agric. Sci. Innov. J. (2024) Vol. 55(1): 51–62

ว. วิทย. นวัตกรรม. กษ. (2567) 55(1): 51–62

บทนำ

ผีเสื้อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*Spodoptera frugiperda* (J.E. smith)) เป็นแมลงที่กินพืชได้หลากหลายชนิด (Polyphagus) โดยมีพืชอาหาร 76 วงศ์ (Montezano *et al.*, 2018) ส่วนมากพบเข้าทำลายพืชวงศ์หญ้า (Poaceae) เป็นหลัก ตัวอย่างพืชในวงศ์หญ้าที่เข้าทำลายเป็นหลัก เช่น ข้าวโพด ข้าว และข้าวฟ่าง เป็นต้น นอกจากนี้ ยังเข้าทำลายพืชวงศ์ทานตะวัน (Asteraceae) และพืชวงศ์ถั่ว (Fabaceae) ฯลฯ ศัตรูพืชชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาและเป็นศัตรูพืชที่พบได้ตั้งแต่สหรัฐอเมริกาจนถึงสาธารณรัฐอาร์เจนตินา ต่อมาได้มีการระบาดเข้าสู่ทวีปแอฟริกาและทวีปเอเชีย ที่แรก คือ รัฐคาร์นา

ตากา ซึ่งอยู่ทางตะวันตกของประเทศอินเดีย (Sharanabasappa *et al.*, 2018) และการระบาดได้ขยายตัวจากสาธารณรัฐอินเดียสู่สาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาและเข้ามาประเทศไทยในที่สุด โดยพบในประเทศไทยครั้งแรก บริเวณชายแดนประเทศไทย-สาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมา ที่จังหวัดตากและแม่ฮ่องสอน (International Plant Protection Convention, 2018) ศัตรูพืชชนิดนี้ระบาดรุนแรงในแปลงข้าวโพดช่วงฤดูหนาวจนถึงฤดูร้อน ประมาณเดือนธันวาคม-เมษายน ตัวเต็มวัยเริ่มวางไข่บนต้นข้าวโพด ตั้งแต่ข้าวโพดงอก อายุ 3–4 วัน โดยพบกลุ่มไข่ทั้งด้านบนใบ ใต้ใบ และที่ลำต้น หลังจากหนอนฟักจากไข่ หนอนขนาดเล็กจะรวมกลุ่มกัดกินผิวใบ รอยการทำลายมีลักษณะเป็นแทบสีขาวที่ผิวใบ เมื่อข้าวโพด

อายุ 6-7 วัน หนอนวัยที่ 1-2 สามารถกระจายไปยังต้นข้างเคียงโดยอาศัยการปลิวลม และการสร้างเส้นใยห้อยตัวลงมาจากใต้ใบ (Capinera, 2001) หนอนวัย 3-6 เป็นวัยที่สร้างความเสียหายมาก โดยกัดกินอยู่ในยอดและลำต้นข้าวโพด ทำให้ใบขาดเป็นรู เว้าแหว่ง ยอดกุด ในช่วงฤดูร้อนหนอนมักจะเคลื่อนตัวอาศัยบริเวณใต้ดินและกัดกินลำต้นส่วนล่างและรากทำให้ข้าวโพดยอดเหี่ยว (Dead heart) และยืนต้นตายเกิดความเสียหายอย่างมากกับผลผลิตและยากต่อการควบคุมกำจัดศัตรูพืชชนิดนี้ (Capinera, 2001) เกษตรกรส่วนใหญ่จึงนิยมใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นหลักในการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดเพื่อควบคุมการระบาดไม่ให้เกิดความเสียหาย

ปัญหาการใช้สารเคมีกำจัดแมลงมาจากการใช้สารเคมีมากเกินไปจนเกิดความจำเป็นและไม่ใช้วิธีการควบคุมศัตรูพืชแบบอื่นส่งผลให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการควบคุมกำจัดและเป็นปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การตกค้างของสารเคมีในระบบนิเวศที่ส่งผลกระทบต่อสัตว์หรือพืชในธรรมชาตินอกเป้าหมาย หรือรบกวนและทำลายสมดุลของห่วงโซ่อาหาร นอกจากนี้ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชยังมีอันตรายที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของเกษตรกร ผู้บริโภคผลผลิต รวมถึงสัตว์เลี้ยงในครัวเรือนและปศุสัตว์ (Laohaudomchok *et al.*, 2020) ดังนั้น จึงมีการศึกษาทางเลือกในการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยการใช้สารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของมนุษย์

แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) เป็นวัชพืชที่พบในทั่วโลก เจริญเติบโตได้ดีในดินเกือบทุกชนิด ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดหรือการใช้หัวหรือไหลใต้ดิน นอกจากนี้ แห้วหมูยังเป็นสมุนไพรสำคัญที่มีงานศึกษาทางเภสัชกรรมค่อนข้างมาก โดยเฉพาะส่วนหัวใต้ดินและรากที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ โดยมีคุณสมบัติช่วยลดอาการปวดประจำเดือน รักษาโรคกระเพาะอาหารอักเสบ ช่วยขับปัสสาวะ ช่วยบำรุงโลหิต บำรุงหัวใจ กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต และกระตุ้นระบบหายใจได้ (Disthai, 2020) อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยที่

เกี่ยวข้องกับการควบคุมแมลงศัตรูพืช เช่น งานวิจัยของ Visetson *et al.* (2001) พบว่า น้ำมันหอมระเหยแห้วหมูสามารถควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) และพบว่าสารสำคัญ คือ α -Cyperone หรือ 4,11-Selinadien-3-one เป็นสารสำคัญในการควบคุมหนอนใยผัก โดยพบว่าสารหญ้าแห้วหมูสามารถยับยั้งเอนไซม์ monooxygenase, esterase และ glutathione-S-transferase ได้ หรืองานวิจัยของ Singh and Bapatla (2022) ที่รายงานว่าแห้วหมูสามารถควบคุมหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) ได้ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะมีรายงานการนำแห้วหมูไปใช้ในทางภูมิปัญญาชาวบ้าน การทดสอบทางเภสัชกรรม และมีงานวิจัยเกี่ยวกับการนำสารสกัดของหญ้าแห้วหมูนำมาควบคุมแมลงกลุ่มหนอนใยผักหรือหนอนกระทู้ผัก แต่ยังไม่มียางานการใช้สารสกัดชนิดนี้ในกลุ่มหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาความเป็นไปได้ถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูต่อการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาวิธีการจัดการหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดและลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลง

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนการเลี้ยงและเพิ่มปริมาณหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

ไข่หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด (*S. frugiperda*) นำมาจากศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และทำการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณเพื่อนำมาทดลองภายในตู้เลี้ยงแมลงของภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทั้งนี้ หนอนทุกวัยจะเลี้ยงในอาหารเทียมสูตรเฉพาะที่พัฒนาจากสูตรอาหารของหน่วยปฏิบัติการเชี่ยวชาญเฉพาะด้านทางพิษวิทยาและสรีรวิทยาของสัตว์ (Animal Toxicology and Physiology Specialty Research Unit, ATPSU) ภาควิชา

สัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งมีส่วนผสมที่ดัดแปลงจาก Pinto *et al.* (2019) โดยอาหารเทียมจะนำไปใส่กล่องเก็บอาหาร ใช้ฟิล์มถนอมอาหารปิดบนหน้าของอาหารเพื่อลดการสูญเสียความชื้น จัดบันทึกวันที่ผลิตอาหารและแช่เย็นในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ขั้นตอนการเลี้ยงหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดดัดแปลงมาจาก Bullangpoti *et al.* (2012) โดยนำไข่ของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 16 × 21 × 16 เซนติเมตร ที่เจาะฝาเป็นรูและติดด้วยลวดตาข่าย พร้อมใส่อาหารเทียม 50 กรัม นำไปเลี้ยงภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง (Panasonic รุ่น MLR-325H) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ และช่วงแสงที่ 16:8 (L:N) ไข่จะฟักเป็นหนอนวัยที่ 1 ประมาณ 2-4 วัน ทำการเปลี่ยนอาหารเทียมทุก 3 วัน หรือเมื่ออาหารเปลี่ยนสีเพื่อป้องกันการติดเชื้อ เมื่อหนอนเข้าสู่วัยที่ 4 จึงย้ายหนอนใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 27 ช่อง ขนาดด้านนอก 16.7 × 32.5 × 2.5 เซนติเมตร และขนาดช่อง 5.2 × 3.5 × 1.7 เซนติเมตร โดยแยกช่องละ 1 ตัว เลี้ยงจนเข้าสู่ระยะดักแด้ นำดักแด้มาทำความสะอาดด้วย 40% Formaldehyde เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ 10 นาที เพื่อป้องกันการติดเชื้อภายใน จากนั้น ปล่อยให้แห้งในอากาศ และนำไปใส่กล่องพลาสติกใสสำหรับเลี้ยงผีเสื้อ ขนาด 16 × 21 × 16 เซนติเมตร ที่บุด้วยกระดาษไขช้อนรอบกล่อง ฝากล่องเจาะรูและติดด้วยลวดตาข่ายเพื่อระบายอากาศ เลี้ยงตัวเต็มวัยด้วยสารละลายน้ำผึ้ง 15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตัวเต็มวัยวางไข่บนกระดาษไขช้อน นำไข่ที่ได้มาเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป ทั้งนี้ทำการเมตาตาตามแมลงหลังการทดสอบด้วยวิธีการแช่เย็น (Freezer) ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส โดยขั้นตอนการเลี้ยงได้รับอนุมัติการขออนุญาตเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์จากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ACKU64-SCI-020)

การสกัดสารสกัดจากเห็ดหลิน

ดัดแปลงวิธีการสกัดจาก Bae (2007) โดยนำเห็ดเห็ดหลิน (3.6 กิโลกรัม) ที่มีอายุ 30 วัน มาจากพื้นที่ในจังหวัดเชียงใหม่ เก็บเกี่ยวเมื่อเดือนธันวาคมถึงเดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2565 มาตากแห้ง จากนั้น บดเป็นผงและนำมาสกัดด้วยวิธีการสกัดเย็นโดยใช้ตัวทำละลายคือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล ปริมาตร 5 ลิตรต่อชนิด เป็นเวลา 7 วัน ตามลำดับ จากนั้น นำสารสกัดหยดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้ง (Rotary evaporator) แล้วใช้เครื่อง freeze dryer ทำให้สารสกัดหยดแห้งมากขึ้น และนำสารสกัดไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนทำการทดลอง

การศึกษาระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากต้นเห็ดหลินต่ออัตราการตายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

การศึกษาความเป็นพิษโดยการรับสารโดยตรงใช้วิธีการหยดสารบนหลัง (Topical application) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) กับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัยที่ 2 อายุ 7-10 วัน หลังจากฟักออกจากไข่ ที่ความเข้มข้น 78.125-10,000 ไมโครกรัมต่อตัว เป็นจำนวน 8 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 6 ซ้ำต่อความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 30 ตัว โดยทดสอบสารสกัดหยดทั้ง 4 ชนิด ที่ละลายด้วยอะซิโตนกับ 5% Dimethyl sulfoxide (DMSO) โดยมีกลุ่มควบคุม คือ อะซิโตนกับ 5% DMSO

การทดสอบทำโดยใช้สารแต่ละความเข้มข้นหยดลงบนส่วนอก (Thorax) ของหนอนวัยที่ 2 ปริมาณ 1 ไมโครลิตร แล้วนำหนอนหลังจากทดสอบใส่ในถ้วยพลาสติกขนาด 3 ออนซ์ ที่ผาด้วยกระดาษและปิดด้วยผ้าขาวบางเพื่อระบายอากาศ พร้อมใส่อาหารเทียมลงไป จากนั้น นำหนอนไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น และแสงสว่าง บันทึกการตายที่เกิดขึ้นในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้น

นำมาคำนวณค่าปริมาณของสารเคมีที่ให้กับสัตว์ทดลองทำให้สัตว์ทดลองตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (Median lethal dose; LD₅₀) โดยใช้การคำนวณวิธีโพรบิท (Probit analysis methods) ด้วยโปรแกรม Statplus นอกจากนี้ นำผลวิเคราะห์จากสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาเปรียบเทียบกับความเป็นพิษต่อหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดกับสารเคมี cypermethrin (35% EC) เป็นสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่ม 3A หรือกลุ่มไพเรทรอยด์ (Pyrethroid) มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมนุษย์น้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับสารกำจัดแมลงกลุ่มอื่น และส่งผลต่อแมลงได้ดี จึงนำมาเปรียบเทียบกับความเข้มข้น 0.0025–200 ไมโครกรัมต่อตัว เป็นจำนวน 6 ชั่วโมงต่อความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 30 ตัว เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมจากสารสกัดจากเห็บหมัดในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 27 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ และช่วงแสงที่ 16:8 (L:N)

การศึกษาผลของสารสกัดจากต้นเห็บหมัดต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

นำหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัยที่ 2 มาทดสอบกับสารสกัดหยาบเห็บหมัดโดยตรงด้วยวิธีการหยด ที่ความเข้มข้น LD₅₀ ซึ่งละลายด้วยอะซิโตนกับ 5% DMSO การทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design) โดยกับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดวัยที่ 2 จำนวน 4 ทรีตเมนต์ ความเข้มข้นละ 30 ตัว จำนวน 6 ชั่วโมง จดบันทึกเปอร์เซ็นต์หนอนที่รอดชีวิตหลังผ่านไป 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมง นำมาเลี้ยงต่อที่ห้องเลี้ยงแมลง บันทึกเปอร์เซ็นต์หนอนที่เข้าดักแด้ น้ำหนักของดักแด้ด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น XP105DR) เปอร์เซ็นต์ของตัวเต็มวัย เปอร์เซ็นต์ของระยะก่อนเข้าดักแด้ที่มีความผิดปกติ เช่น การหดตัวมากเกินไปจนไม่สามารถเป็นดักแด้ได้ การมีคิวติเคิลมีสีเข้มกว่าปกติ การสร้าง

เปลือกหุ้มดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์ และความผิดปกติของตัวเต็มวัย ได้แก่ ปีกขยายออกไม่เต็มที่ หรือลอกคราบจากดักแด้ไม่สมบูรณ์ (Alves *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2018; Gustianingtyas *et al.*, 2020; Rashwan and Hammad, 2020) บันทึกภาพระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (ยี่ห้อ Ziess รุ่น Stemi 508) โดยใช้โปรแกรม ZEN 2 core image software ทั้งนี้ ขั้นตอนการทดสอบทางพิษวิทยาได้รับอนุมัติการขออนุญาตเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์จากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ACKU64-SCI-020)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การประเมินค่าความเป็นพิษ (Median lethal dose; LD₅₀) คำนวณโดยวิธีโพรบิท (Probit analysis methods) และนำมาวิเคราะห์โดยใช้สถิติ Turker's honestly significant difference test (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ (P < 0.05) ด้วยโปรแกรม Statplus v.23.0

ผลการทดลองและวิจารณ์

ปริมาณสารสกัดหยาบเห็บหมัด

จากการสกัดสารสกัดหยาบเห็บหมัดจากตัวทำละลายเฮกเซน ไคคลอโรมีเทน เอทิลอะซิเตท และเมทานอล และทำการระเหยตัวทำละลายออก พบว่าสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณที่มากที่สุด คือ 157.47 กรัม คิดเป็น 4.37 %W/W จากการสกัดสารสกัดหยาบจากเห็บหมัด ในขณะที่ สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมีปริมาณ 43.52 กรัม คิดเป็น 1.21 %W/W สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยไคคลอโรมีเทนมีปริมาณ 13.91 กรัม คิดเป็น 0.37 %W/W และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเฮกเซนมีปริมาณ 6.55 กรัม คิดเป็น 0.18 %W/W

ระดับความเป็นพิษของสารสกัดจากต้นแห้วหมูต่อ อัตราการตายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

เมื่อนำสารสกัดหยาบแห้วหมูมาทดสอบการ ก่อการตายในหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดด้วยวิธีหยด ทางด้านบน พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น ส่งผลให้อัตราการตายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เพิ่มขึ้นมากด้วยเช่นกัน โดยหลังทดสอบที่ 24 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดหยาบแห้วหมูที่สกัดจากตัวทำละลาย ไดคลอโรมีเทนให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดที่ 92.33 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 4.58 ± 0.72 ไมโครกรัมต่อตัว รองลงมาคือ สารสกัดแห้วหมูที่สกัด ด้วยตัวทำละลายเมทานอลให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตาย สูงสุดที่ 81.33 เปอร์เซ็นต์ (ค่า LD_{50} เท่ากับ 5.83 ± 1.23 ไมโครกรัมต่อตัว) สารสกัดแห้วหมูที่สกัดด้วยตัว ทำละลายเฮกเซนให้ค่าเปอร์เซ็นต์การตายสูงสุดที่ 79.15 เปอร์เซ็นต์ (ค่า LD_{50} เท่ากับ 6.49 ± 1.41 ไมโครกรัมต่อตัว) และเอทิลอะซิเตทให้ค่าเปอร์เซ็นต์ การตายสูงสุดที่ 45.50 เปอร์เซ็นต์ (ค่า LD_{50} เท่ากับ 13.95 ± 5.01 ไมโครกรัมต่อตัว) ตามลำดับ (Table 1) ทั้งนี้ อัตราการตายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดหลัง รับสารสกัดหยาบแห้วหมูเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า มี ความสัมพันธ์กับอัตราการตายที่ 24 ชั่วโมง คือ ระดับ ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับอัตราการตายที่เพิ่ม ขึ้น และยังมีการรับสารมากขึ้น จะทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์ การตายเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้ สารสกัดหยาบแห้วหมูที่สกัด จากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนให้ค่าเปอร์เซ็นต์การ ตายสูงสุด โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 4.04 ± 0.08 ไมโครกรัมต่อตัว รองลงมาคือ สารสกัดแห้วหมูที่สกัด ด้วยตัวทำละลายเมทานอล เฮกเซน และเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ เช่นเดียวกับที่ 24 ชั่วโมงหลังรับสารสกัด ทั้งนี้ ชุดควบคุม (Acetone AR grade) และชุดควบคุม แบบไม่มีตัวทำละลาย ไม่พบอัตราการตายของหนอน

กระทู้ข้าวโพดลายจุด ในส่วนของชุดการทดลองจาก สารเคมี cypermethrin (35% EC) เพื่อเปรียบเทียบ พบว่า หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดตายอยู่ที่ 98.91 เปอร์เซ็นต์ ที่ 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อตัว ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่า LD_{50} พบว่า มีค่าความเป็นพิษสูงกว่าสารสกัดหยาบหญา แห้วหมูในทุกตัวทำละลาย

การทดสอบในงานวิจัยนี้ ทดสอบด้วยวิธี topical application ซึ่งเป็นการหยดสารลงบนตัว หนอนบริเวณ thoracic region โดยตรง ถือเป็นการ บังคับให้หนอนทุกตัวได้รับสารอย่างทั่วถึง จึงมีผลกับ หนอนอย่างเห็นได้ชัด หลังจากหนอนได้รับสารโดยตรง จะมีการเคลื่อนไหวตัวไปมาแบบผิดปกติ แล้วหยุดนิ่ง เมื่อเปรียบเทียบการทดสอบที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่า อัตราการตายของหนอนไม่มีความแตกต่างกัน มากนักระหว่างสองช่วงเวลานี้ กล่าวคือ สารสกัดหยาบ จากหญาแห้วหมูมีฤทธิ์ความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน (Acute toxicity) การใช้ตามความเข้มข้นที่ทดลองดัง กล่าว เพียง 24 ชั่วโมง สามารถควบคุมประชากรของ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ สอดคล้องกับ การทดลองของ Singh and Bapatla (2022) โดยนำ เหน้าแห้วหมุบดละเอียดสกัดด้วยวิธีแช่ในตัวทำละลาย เมทานอล และนำสารสกัดแห้วหมูหยาบจากเมทานอล ทดสอบกับหนอนกระทู้ผัก (*Spodoptera litura*) พบว่า สามารถควบคุมหนอนกระทู้ผักได้ ซึ่งทำให้ ประชากรก่อนตาย 60 เปอร์เซ็นต์โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 5.17 ไมโครกรัมต่อตัว นอกจากนี้ ยังพบสารสำคัญใน กลุ่ม alkaloid flavonoid phenol และ terpenoids และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Visetson *et al.* (2001) ที่พบว่า น้ำมันหอมระเหยหญาแห้วหมูสามารถควบคุม หนอนใยผักได้

Table 1 Toxicity value (LD_{50} ; $\mu\text{g/larvae}$) of *Spodoptera frugiperda* after treated with *Cyperus roduntus* crude extract at 24 and 48 hours

Extracts	24 hours after exposure				48 hours after exposure			
	LD ₅₀	LCL-UCL	Chi-square	P-value	LD ₅₀	LCL-UCL	Chi-square	P-value
Hexane	6.49 ± 1.41 ^b	5.78–7.19	2.74	0.250	5.11 ± 1.83 ^b	4.69–5.53	3.30	0.190
Dichloromethane	4.58 ± 0.72 ^b	1.79–7.37	8.19	0.020	4.04 ± 0.08 ^b	3.32–4.76	12.94	0.002
Methanol	5.83 ± 1.23 ^b	5.22–6.45	9.14	0.010	5.67 ± 0.18 ^b	5.49–5.85	7.56	0.020
Ethyl acetate	13.95 ± 5.01 ^c	8.84–19.06	9.14	0.010	11.96 ± 2.76 ^c	9.20–14.73	6.25	0.040
Cypermethrin	0.01 ± 0.14 ^a	0.005–0.01	3.15	0.001	0.002 ± 0.14 ^a	0.001–0.004	2.19	0.001

LD_{50} = lethal dose at which half the population is killed, and the active ingredient concentration is expressed in parts per million (ppm). LCL = lower confidence limit, UCL = upper confidence limit.

^{a,b,c} Means followed by the same letter in a columns are not significantly different according to Tukey's multiple range test ($P > 0.05$).

ดังนั้น สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูมีสารสำคัญ คือ 4, 11-Selinnadien-3-one หรือ α -Cyperone อยู่ในกลุ่ม sesquiterpenes นอกจากนี้ ยังมีสารจำพวก sesquiterpenes 5 ชนิด ได้แก่ cyperotundone, caryophyllene, β -caryophyllene oxide, cyperene และ α -selinene ยังพบสารประกอบต่าง ๆ ที่สามารถช่วยควบคุมแมลงกลุ่มหนอนผีเสื้อกลางคืนได้ ซึ่งคาดว่าเป็นสารสำคัญที่พบในสารสกัดหยาบแห้วหมูจากตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนที่ใช้ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ ในส่วนของสารสกัดหยาบแห้วหมูจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่ามีผลต่อการควบคุมได้ หนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้น้อยที่สุดจากการทดสอบ เนื่องจากอาจมีสารประกอบส่วนใหญ่ที่ควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้น้อย สอดคล้องกับการทดลองแยกองค์ประกอบทางเคมีของ Masfria and Metri Permata (2018) ที่พบว่า องค์ประกอบในสารสกัดแห้วหมูจากตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทมีเพียงสารประกอบ flavonoids และ anthraquinone glycosides เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งรายงานน้อยมากกว่าสารประกอบส่งผลต่อการการควบคุมกำจัดแมลง

ผลของสารสกัดจากต้นแห้วหมูต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด

เมื่อนำหนอนที่รอดชีวิตชีวิตหลังผ่าน 48 ชั่วโมง มาเลี้ยงต่อที่ห้องเลี้ยงแมลง พบว่า สารสกัดแห้วหมูมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ โดยสารสกัดหญ้าแห้วหมูที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนเหนียวทำให้เกิดการพัฒนาที่ผิดปกติมากที่สุด (Table 2) โดยหนอนกระทู้ข้าวโพดมีการตายเพิ่มมากขึ้นเมื่อหนอนเข้าสู่วัยที่ 6 และสามารถพัฒนาเป็นดักแด้สมบูรณ์ได้เพียง 7 เปอร์เซ็นต์ ดักแด้ที่มีความผิดปกติซึ่งไม่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยต่อไปอยู่ที่ 12 เปอร์เซ็นต์ และตาย 81 เปอร์เซ็นต์ จากประชากรชุดทดลองเริ่มต้น โดยลักษณะที่ผิดปกติที่เกิดขึ้นคือ การหดตัวมากเกินไปจนไม่สามารถเป็นดักแด้ได้ การที่หนอนไม่สามารถสร้างเปลือกหุ้มลำตัวให้เป็นดักแด้ได้ คิวติเคิลมีสีเข้มกว่าปกติ การสร้างเปลือกหุ้มดักแด้ที่ไม่สมบูรณ์ และตายในที่สุด ดังแสดงใน Figure 1 โดยหนอนที่เข้าดักแด้ได้ปกติมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 273.81 มิลลิกรัม ซึ่งมีน้ำหนักน้อยกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้ ไม่พบความผิดปกติของการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของหนอนที่สามารถเข้าดักแด้ได้ปกติ

Table 2 Growth development effects on larval and pupal stages of *Spodoptera frugiperda* after treated with *Cyperus rotundus* crude extract

Extracts	% Normal pupae	Pupal weight (mg)	% Abnormal metamorphosis larvae	% Abnormal adults
Hexane	15.00 $\pm$ 3.87 ^c	286.85 $\pm$ 2.18 ^e	9.00 $\pm$ 1.87 ^c	0.00 $\pm$ 0.00
Dichloromethane	7.00 $\pm$ 5.45 ^c	273.81 $\pm$ 9.61 ^d	12.00 $\pm$ 4.87 ^b	0.00 $\pm$ 0.00
Methanol	9.00 $\pm$ 2.40 ^c	272.79 $\pm$ 2.38 ^c	21.00 $\pm$ 8.97 ^a	0.00 $\pm$ 0.00
Ethyl acetate	44.00 $\pm$ 2.90 ^b	304.11 $\pm$ 1.03 ^b	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00
Control	100.00 $\pm$ 0.00 ^a	324.71 $\pm$ 0.96 ^a	0.00 $\pm$ 0.00 ^d	0.00 $\pm$ 0.00

a,b,c,d,e Means followed by the same letter in a column are not significantly different according to Tukey's multiple range test (P > 0.05).

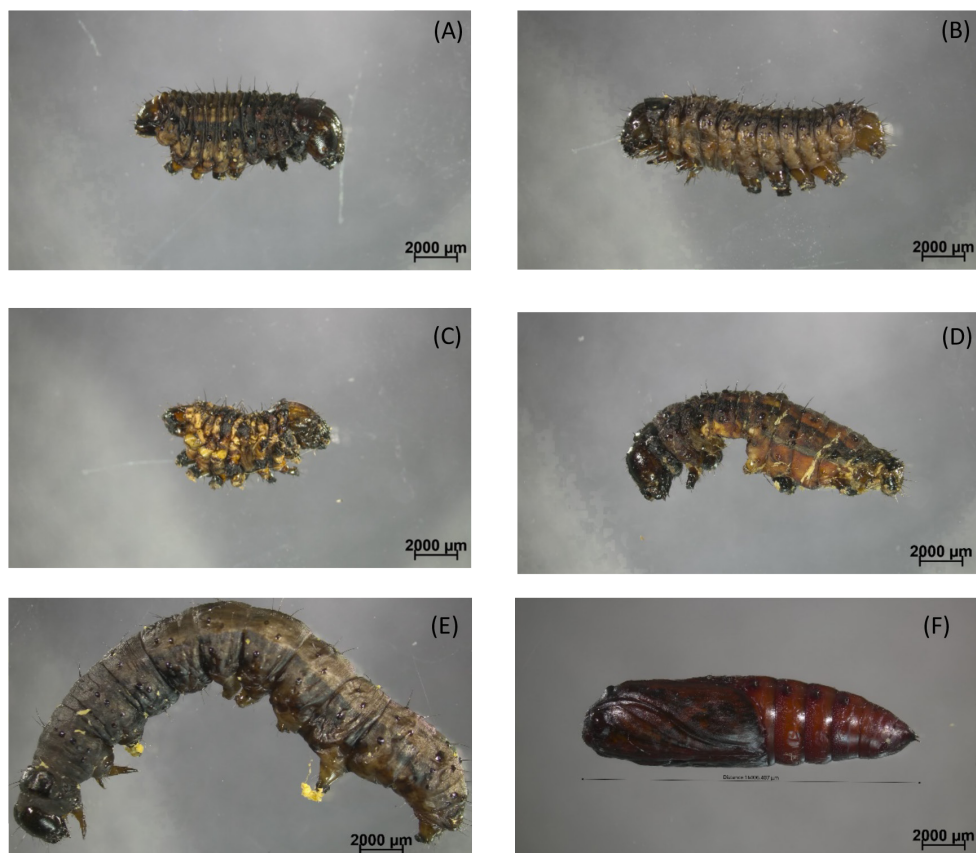


Figure 1 Abnormal metamorphosis characteristic of *Spodoptera frugiperda* after treated with *Cyperus rotundus* crude extract. (A) Abnormal pupa, (B) and (C) abnormal metamorphosis during larval stage, (D) larva dead during metamorphosis, (E) 6th stage normal larval, (F) normal pupa.

จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากหญ้าแห้วหมูสามารถออกฤทธิ์ฆ่าและยับยั้งการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ โดยมีผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Shu *et al.* (2022) ซึ่งทดสอบสาร azadirachtin ซึ่งเป็นสารสำคัญของสะเดากับหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด โดยพบฤทธิ์การควบคุมและยับยั้งการเจริญเติบโตในหนอน โดยสาร azadirachtin จะส่งผลกระทบต่อโครงสร้างอวัยวะภายในของหนอนกระทู้ข้าวโพดในบริเวณ midgut ทำให้ epithelial cell บริเวณเยื่อชั้นในของ midgut เกิดการสลายตัวและทำให้เซลล์ฝ่อเฉพาะจุด

(Necrosis) และยังมีผลการยับยั้งการทำงานของ cytochrome P450 monooxygenases, glutathione-S-transferases และ carboxylesterase นอกจากนี้ ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Shu *et al.* (2021) พบว่า สาร camptothecin ซึ่งเป็นสารสำคัญจาก *Camptotheca acuminata* มีผลต่อกระบวนการสำคัญในการเจริญเติบโตของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด เช่น รบกวนการสร้างไคตินของหนอน ยับยั้งกระบวนการสร้างฮอร์โมนใน fat body ของแมลง และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษของแมลงอีกด้วย ต่างจากการทดลองของกลุ่มสารเคมี

cypermethrin (35% EC) หรือ กลุ่มสารกำจัดแมลงกลุ่ม 3A ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ เกิดพิษที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของ sodium channel โดยรบกวนกระบวนการเปิดและปิด มีผลให้การเปิดและปิดของ sodium channel เกิดขึ้นช้าลง ทำให้เซลล์ถูกกระตุ้นเกิด hyperexcitability ของเซลล์ อาการของแมลงนั้นเมื่อได้รับสารอาการที่พบจากการได้รับสารพิษทั้งสองกลุ่มจะมีลักษณะแบบเดียวกัน ได้แก่ กล้ามเนื้อสั่น การทำงานของกล้ามเนื้อไม่สัมพันธ์กัน อ่อนแรง ล้มนอนและตายในที่สุด เห็นได้ว่าสารสกัดจากแห้วหมูกับ cypermethrin (35% EC) หรือกลุ่มสารกำจัดแมลงกลุ่ม 3A มีกลไกการออกฤทธิ์ที่ต่างกัน และสารสกัดจากพืชนั้นไม่สามารถจัดหมวดหมู่ตามกลไกการออกฤทธิ์ตาม Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) ได้อย่างชัดเจน เนื่องจากมีกลไกการออกฤทธิ์ที่เข้าทำลายแมลงได้หลายส่วน จึงเห็นควรให้หาสารสำคัญจากแห้วหมูที่มีผลต่อแมลง เพื่อไปเป็นแหล่งข้อมูลในการตัดสินใจไปใช้พัฒนาเป็นสารเสริมฤทธิ์ และนำข้อมูลไปส่งเสริมให้เกษตรกรร่นาพืชสมุนไพรใกล้ตัวมาใช้ทดแทนสารเคมีทางการเกษตรและพัฒนาประสิทธิภาพของสารสกัดจากพืชต่อไป ซึ่งช่วยลดต้นทุนทางการเกษตรต่อเกษตรกร และปลอดภัยต่อเกษตรกร สิ่งแวดล้อม จนถึงผู้บริโภคผลผลิตอีกด้วย

สรุป

สารสกัดหยาบจากหญ้าแห้วหมูที่สกัดจากตัวทำลายทั้ง 4 ตัวทำลายเหล่านั้นมีผลต่อการควบคุมหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในห้องปฏิบัติการได้

โดยสารสกัดหยาบจากไคคโลโรมีเทนมีฤทธิ์การออกฤทธิ์ในการกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดดีที่สุด โดยมีค่า LD_{50} เท่ากับ 4.58 ไมโครกรัมต่อแมลง และสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความผิดปกติของการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ดีที่สุด ดังนั้น สารสกัดจากแห้วหมูจึงอาจเป็นพืชที่นำมาใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดได้ในอนาคต ในปัจจุบันสารสกัดจากหญ้าแห้วหมูยังไม่นิยมมาใช้ทางการเกษตร เนื่องจากยังไม่ทราบกลไกและตัวทำลายหลายในการดึงสารออกฤทธิ์หลักที่ดีที่สุด งานวิจัยครั้งนี้ แม้ว่าจะเป็นการศึกษาประสิทธิภาพจากสารสกัดหยาบแห้วหมูเท่านั้น แต่ผลการทดลองสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลที่น่าไปสู่การนำไปศึกษาในเชิงละเอียด กล่าวคือทราบตัวทำลายในการสกัดที่ดีที่สุดเพื่อนำมาพัฒนาประสิทธิภาพหรือค้นหาสารสำคัญของหญ้าแห้วหมูที่มาจากตัวทำลายที่ดีที่สุดเพื่อกำหนดมาตรฐานการผลิต รวมทั้งดัดแปลงเพื่อนำไปใช้ในการเกษตรเชิงท้องถิ่นหรือทำเกษตรแบบปลอดภัยเพื่อทดแทนสารเคมีทางการเกษตรต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากภาควิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนววน.): กลุ่มเรื่อง การพัฒนาศักยภาพบุคลากรภาคการเกษตรโดยใช้วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปี 2566

เอกสารอ้างอิง

- Alves, D.S., G.A. Carvalho, D.F. Oliveira, R.R. Sâmia, M.A. Villas-Boas, G.A. Carvalho and A.D. Côrrea. 2012. Toxicity of copaiba extracts to armyworm (*Spodoptera frugiperda*). *Afr. J. Biotechnol.* 11(24): 6578–6591. <https://doi.org/10.5897/AJB11.196>.
- Bae, S.S. 2007. A HPLC/ESI-MS Method Developed and Validated to Evaluate the Quantity, Identity, and Stability of the Alkylamides in Ethanolic Extracts of *Spilanthes acmella*. MS Thesis, University of North Carolina, Greensboro.
- Bullangpoti, V., E. Wajnberg, P. Audant and R. Feyereisen. 2012. Antifeedant activity of *Jatropha gossypifolia* and *Melia azedarach* senescent leaf extracts on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and their potential use as synergists. *Pest Manag. Sci.* 68(9): 1255–1264. <https://doi.org/10.1002/ps.3291>.
- Capinera, J.L. 2001. Handbook of Vegetable Pests. Academic Press.
- Disthai. 2020. Purple nut sedge and its benefits, outstanding properties, and research information. Available Source: <https://www.disthai.com/16488293/%E0%B9%81%E0%B8%AB%E0%B9%89%E0%B8%A7%E0%B8%AB%E0%B8%A1%E0%B8%B9>, December 21, 2020. (In Thai)
- Gustianingtyas, M., S. Herlinda, Suwandi, Suparman, H. Hamidson, Hasbi, A. Setiawan, M. Verawaty, Elfita and Arsi. 2020. Toxicity of entomopathogenic fungal culture filtrate of lowland and highland soil of South Sumatra (Indonesia) against *Spodoptera litura* larvae. *Biodiversitas.* 21(5): 1839–1849. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210510>.
- International Plant Protection Convention. 2018. First detection of Fall Armyworm on the border of Thailand. Available Source: <https://www.ippc.int/en/countries/thailand/pestreports/2018/12/first-detection-of-fall-army-worm-on-the-border-of-thailand/>, December 24, 2020.
- Laohaudomchok, W., N. Nankongnab, S. Siriruttanapruk, P. Klaimala, W. Lianchamroon, P. Ousap, M. Jatiket, P. Kajitvichyanukul, N. Kitana, W. Siri Wong, T. Hemachudhah, J. Satayavivad, M. Robson, L. Jaacks, D.B. Barr, P. Kongtip and S. Woskie. 2020. Pesticide use in Thailand: current situation, health risks, and gaps in research and policy. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 27(5): 1147–1169. <https://doi.org/10.1080/10807039.2020.1808777>.
- Liu, D., Z.Q. Jia, Y.C. Peng, C.W. Sheng, T. Tang, L. Xu, Z.J. Han and C.Q. Zhao. 2018. Toxicity and sublethal effects of fluralaner on *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *Pestic. Biochem. Physiol.* 152: 8–16. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2018.08.004>.

- Masfria and Y.M. Permata. 2018. Total phenolic content and antibacterial activity of nut grass (*Cyperus rotundus* L.) extract. Indonesian J. Pharm. Clin. Res. 1(1): 28–36. <https://doi.org/10.32734/idxpcr.v1i1.202>.
- Montezano, D.G., A. Specht, D.R. Sosa-Gómez, V.F. Roque-Specht, J.C. Sousa-Silva, S.V. Paula-Moraes, J.A. Peterson and T.E. Hunt. 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. Afr. Entomol. 26(2): 286–300. <https://doi.org/10.4001/003.026.0286>.
- Pinto, J.R.L., A.F. Torres, C.C. Truzzi, N.F. Vieira, A.M. Vacari and S.A. De Bortoli. 2019. Artificial corn-based diet for rearing *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Insect Sci. 19(4): 2. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez052>.
- Rashwan, R.S. and D.M. Hammad. 2020. Toxic effect of *Spirulina platensis* and *Sargassum vulgar* as natural pesticides on survival and biological characteristics of cotton leaf worm *Spodoptera littoralis*. Sci. Afr. 8: e00323. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00323>.
- Sharanabasappa, C.M. Kalleshwaraswamy, R. Asokan, H.M. Mahadeva Swamv, M.S. Maruthi, H.B. Pavithra, K. Hegde, S. Navi, S.T. Prabhu and G. Goergen. 2018. First report of the Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), an alien invasive pest on maize in India. Pest Manag. Hortic. Ecosyst. 24(1). 23–29.
- Shu, B., X. Yang, J. Dai, H. Yu, J. Yu, X. Li, L. Cao and J. Lin. 2021. Effects of camptothecin on histological structures and gene expression profiles of fat bodies in *Spodoptera frugiperda*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 228: 112968. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112968>.
- Shu, B., Y. Lin, G. Qian, X. Cai, L. Liu and J. Lin. 2022. Integrated miRNA and transcriptome profiling to explore the molecular mechanism of *Spodoptera frugiperda* larval midgut in response to azadirachtin exposure. Pestic. Biochem. Physiol. 187: 105192. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2022.105192>.
- Singh, D. and K.G. Bapatla. 2022. Toxicity and lethal effects of herbaceous plant crude extracts against *Spodoptera litura*. J. Basic Appl. Zool. 83: 8. <https://doi.org/10.1186/s41936-022-00270-1>
- Visetson, S., M. Milne and J. Milne. 2001. Toxicity of 4, 11-selinnadien-3-one from nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) tuber extracts to diamondback moth larvae (*Plutella xylostella* L.), detoxification mechanisms and toxicity to non target species. Kasetsart J. (Nat. Sci). 35(3): 284–292.