Agricultural Sci. J. 33 : 6 (Suppl.) : 300-304 (2002) **ว. วิทย. กษ. 33 : 6 (พิเศษ) : 300-304 (2545)**

สารสกัดจากพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) ในการควบคุมด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky)

Chili extracts (*Capsicum frutescens* L.) for the control of corn weevil (*Sitophilus zeamais* Motschulsky)

วสกร บัลลังก์โพธิ์[1] จันทรา เป็นสุข[1] พรทิพย์ วิสารทานนท์[2],
พิณทิพย์ กรรณสูตร และ สุรพล วิเศษสรรค์[1]
Vasakorn Bullangpoti[1], Jantra Pensook[1], Porntip Wisarntanon[2],
Pintip Kannasutra and Suraphon Visetson[1]

Abstract

Chilli (*Capsicum frutescens* L.) seeds were extracted by Soxhlet's extraction using ethanol as a solvent system at 70 °C for 8 hours. The extracts was compared with the water stirring soaking method using water as a solvent at 25 ± 2 °C for 24 hours. Both extracts were trailed with adult corn weevils (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) by the impregnated filter paper method against various extract concentrations. The weevils showed LC_{50} (24 hours) ca. 7.38%w/w (Y = 11.44 + 5.22X) for the extracts from ethanolic Soxhlet's compared to 10.33%w/w (Y = 4.11 + 4.44X) for the extracts from with the water stirring soaking method. The *in vitro* enzyme studies showed indicated of 2 folds reduced esterase and glutathione-S-transferase. The inhibition revealed that the two enzyme systems may posses some roles in detoxification mechanisms in this weevil.

บทคัดย่อ

จากการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) จากวิธีการ Soxhlet ที่มีเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการสกัดโดยวิธีปั่นกวนด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 2 °C) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทดสอบอัตราการตายกับตัวเต็มวัยด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) โดยวิธี impregnated filter paper ในอัตราความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าโดยวิธีการแรกจะให้อัตราการตายของด้วงในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LD_{50} เป็น 7.38%w/w (Y = 11.44 + 5.22X) ในขณะที่วิธีสกัดโดยใช้น้ำปั่นกวนจะให้อัตราการตายของด้วงในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LD_{50} เป็น 10.33%w/w (Y = 4.11 + 4.44X) และจากการตรวจสอบเอนไซม์ทำลายพิษในรูปแบบ *in vitro* ในมอดที่รอดจากการใช้สารสกัดทั้งสองการทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่ามอดที่รอดจากการตายจากสารสกัดทั้งสองชนิด จะให้ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไธโอน-เอส-ทรายสเฟอเรสลดลงจากชุดควบคุมถึง 2 เท่า ปฏิกิริยาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้น่าจะเป็นกลไกที่สำคัญที่ทำให้มอดดังกล่าวตายจากสารสกัดพริกขี้หนูทั้งสองการทดลองดังกล่าว

คำนำ

ประเทศไทยมีการนำสารพิษทางการเกษตรเข้ามาในประเทศไม่ต่ำกว่า 40,000 ตันต่อปี คิดเป็นมูลค่าหลายหมื่นล้านบาทต่อปี (Annonemous, 1986) สารพิษทางการเกษตรเหล่านี้ถ้ามีการใช้โดยไม่ถูกต้องตามหลักวิชาการ จะนำมาซึ่งปัญหาต่างๆ มากมายไม่ว่าจะเป็นพิษตกค้างทางการเกษตร การปนเปื้อนต่อสิ่งแวดล้อม การสร้างความต้านทานในแมลงศัตรูพืช รวมถึงการเพิ่มต้นทุนการผลิตของเกษตรกรเอง (ณรรฐพล และสุรพล, 2540) กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ รวมทั้งสถาบันการศึกษาหลายแห่ง ได้ร่วมกันทำการศึกษาแนวโน้มการใช้สารธรรมชาติเพื่อเป็นทางเลือกให้กับเกษตรกร โดยมีการรณรงค์ลดการใช้สารพิษทางการเกษตร ตั้งโรงงานต้นแบบผลิตสารสกัดจากสะเดา รวมทั้งมีการผลิตเชื้อวิสา เชื้อแบคทีเรีย และไส้เดือนฝอยเพื่อนำหลักการทางวิชาการเผยแพร่ต่อเกษตรกร (Banasit, 1993)

แต่อย่างไรก็ตามวิชาการดังกล่าวยังต้องอาศัยข้อมูลพื้นฐานสนับสนุนอีกมาก กว่าที่เกษตรกรจะยอมรับเทคโนโลยีเหล่านี้ ซึ่งจะเห็นได้จากตัวเลขการนำเข้าสารพิษทางเกษตรยังคงมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงหลังจากสถาบันต่างๆได้ทำการรณรงค์ไปแล้วไม่ต่ำกว่า 10 ปี (Visetson and Milne, 2001) และเมื่อเทียบกับการสร้างความต้านทานของศัตรูพืชจากเพียงไม่กี่ชนิดมาเป็นไม่ต่ำกว่า 500 ชนิดในปัจจุบัน (Visetson, 2001) ไม่รวมรายงานการแปดเปื้อนของสารพิษในผลผลิตเกษตรกรรมและสิ่งแวดล้อมที่ประมาณค่ามิได้ (Visetson *et al.,* 2001) ซึ่งผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวเช่นข้าวก็ได้รับผลกระทบทั้งในเรื่องแมลงศัตรูและการปนเปื้อนของสารพิษเช่นเดียวกัน

[1]ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900
Department of Zoology, Faculty of Sciences, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok 10900, Thailand
[2]กลุ่มงานวิจัยศัตรูพืชในผลผลิตการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร บางเขน กรุงเทพฯ 10900
Division of Stored Product Insect Research, Department of Entomology and Zoology, DOA, Bangkhen, Bangkok 10900, Thailand

โดยพบว่าด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) แสดงความต้านทานต่อสาร phosphine และ organophosphates บางชนิด (พรทิพย์, 2541) และยิ่งกว่านี้ยังพบว่าด้วงชนิดนี้ยังแพร่กระจายอย่างกว้างขวางไปยังข้าวโพด ข้าวฟ่าง ข้าวสาลี (Chankaewmanee, 1997) ซึ่งทำให้สารถ่ายทอดทางพันธุกรรมในแมลงที่มีความต้านทานเหล่านี้กระจายออกไปยังด้วงชนิดเดียวกันในพืชอื่นๆ ที่สำคัญของประเทศอีกด้วย ดังนั้นเพื่อเป็นการชะลอการสร้างความต้านทานในแมลงเหล่านี้ จำเป็นต้องลดการใช้สารเคมีร้ายแรงดังกล่าว ซึ่งวิธีการอย่างหนึ่งที่จะลดการใช้สารเคมีคือการใช้สารสกัดจากพืช ซึ่งถือว่าเป็นสารที่มีผลต่อกลไกหลายชนิดในแมลง ซึ่งทำให้แมลงสร้างความต้านทานได้ยาก (Visetson and Chuchouy, 1999)

สำหรับด้วงชนิดนี้พบว่าสารสกัดจากว่านน้ำ และเมล็ดน้อยหน่า (Nawanich, 1999) สามารถกำจัดด้วงชนิดนี้ได้อย่างดี แต่เนื่องจากสารสกัดทั้งสองมีองค์ประกอบของสารพิษ asarone และ annonine ตามลำดับ สารเหล่านี้ทำให้เกิดความเป็นพิษในเยื่อ mucus membrane ในสัตว์เลือดอุ่น ในการวิจัยนี้จึงนำสารสกัดที่มีพิษน้อยกับสัตว์เลือดอุ่น เช่น สารสกัดจากพริกขี้หนู ซึ่งเป็นผลผลิตการเกษตรที่ใช้บริโภคในชีวิตประจำวันที่มีสาร capsaicin ที่มีความเผ็ดร้อน แต่ให้คุณค่าทางโภชนาการ (Sukrasno and Yeoman, 1993) และการต้านอนุมูลอิสละในร่างกาย รวมถึงการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบางชนิด (Cichewich and Thorpe, 1996) นอกจากนี้ยังให้ผลดีในการไล่แมลงในโรงเก็บบางชนิด โดยมีรายงานว่าการใช้พริกขี้หนูแห้งวางไว้บนถุงข้าวสารจะช่วยลดการเข้าทำลายมอดในข้าวสารได้ (สุขสันต์, 2540) ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้มีการหาค่าความเป็นพิษ (LD_{50}) จากการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) ที่มีต่อด้วงงวงข้าวโพด รวมถึงการศึกษาระดับเอนไซม์ทำลายพิษเช่น esterase และ Glutathione-S-transferase ที่เปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาสารสกัดนี้ให้มีคุณภาพสูงต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเลี้ยงด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) ที่ได้จากกองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ที่อุณหภูมิ 25 °C โดยใช้ข้าวสาร100 กรัม ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 cc แล้วใส่ด้วงงวงข้าวโพด 0.5 กรัม ทำการเลี้ยงโดยดัดแปลงวิธีการของ Visetson (1991) ทำการเตรียมพริกขี้หนู และบดละเอียดก่อนแบ่งออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งทำการสกัดแบบแช่น้ำ 24 ชั่วโมง ในขณะที่อีกส่วนหนึ่งทำการสกัดแบบ Ethanolic Soxhlet's extractions ที่ 70 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ก่อนละเหยให้แห้งและ freeze dried ก่อนปรุงแต่งความเข้มข้น โดยดัดแปลงวิธีการของ Leckprayoon และคณะ (1999) จากนั้นนำตัวเต็มวัยด้วงงวงข้าวโพด ทดสอบอัตราการตอบสนอง เพื่อหาค่า LD_{50} โดยวิธีการ impregnated filter paper โดยใช้ด้วงหน่วยสุ่มละ 20 ตัว โดยดัดแปลงวิธีการของ Collins (1987) และ Abbott (1957)

จากนั้นทำการทดลองแยกเพื่อนำด้วงที่รอดตายจากความเข้มข้นต่างๆ ทำการทดสอบปฏิกิริยาของเอนไซม์ทำลายพิษ esterase และ glutathione-S-transferase โดยดัดแปลงวิธีการของ Meckness และคณะ (1978) และ Kotze (1988) ตามลำดับ โดยใช้สารตั้งต้นเป็น Paranitrophenyl acetate (PNPA) และ Chlorodinitrobenzene (CDNB) เพื่อดูการทำงานของขบวนการ hydrolysis ของ esterase ใน phase ที่ 1 และ การ conjugation ของ GSH-S-transferase ใน phase ที่ 2 ตามลำดับ จากนั้นทำการวิเคราะห์ทางสถิติตามคำแนะนำของ Finney (1957)

ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาเมล็ดข้าวที่มีการพัฒนาของด้วงงวงข้าวโพด ใต้กล้อง stereo microscope พบว่าด้วงงวงข้าวโพดจะใช้เวลาในการพัฒนาช่วงชีวิตประมาณ 174.16 วัน ในที่นี้จะใช้เวลาในไข่ประมาณ 4.52 วัน ส่วนในวัยหนอน ซึ่งมีอยู่ 4 ระยะ จะใช้เวลาพัฒนาระยะละประมาณ 5-7 วัน และในดักแด้ประมาณ 5 วัน จากนั้นจะเป็นระยะที่ยาวนานที่สุดคือตัวเต็มวัยซึ่งใช้เวลาประมาณ 139.52 วัน โดยที่ตัวผู้และตัวเมียจะมีความยาวของชั่วอายุที่ไม่แตกต่างกันมากนัก และในประชากรจะมีสัดส่วนของตัวผู้และตัวเมียเป็น 1:1 (Table 1)

จากการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนูสองวิธีการคือสกัดโดยใช้น้ำและการทำ ethanolic Soxhlet's extractions ทดสอบแบบ impregnated filter paper พบว่าสารที่สกัดได้ให้ผลในการกำจัดด้วงงวงดังกล่าวในอัตราที่ต่างกัน โดยที่วิธีการสกัดด้วยน้ำให้ค่า LD_{50} ที่ 12 และ 24 ชั่วโมงเป็น 46.71%w/w (Y = 0.66 + 1.05X) และ 10.33%w/w (Y = 4.11 + 4.44) ตามลำดับในขณะที่ สารสกัดจากวิธีการ ethanolic Soxhlet's extraction ให้ค่า LD_{50} ที่ 12 และ 24 ชั่วโมงเป็น 22.44%w/w (Y = -0.5 + 2.25X) และ 7.38%w/w (Y = 11.45 + 5.22X) ตามลำดับ อัตราความเป็นพิษระดับนี้ให้ค่าความเป็นพิษน้อยกว่าสารสกัดจากสะเดาที่มีต่อด้วงถั่วเขียว ซึ่งแสดงค่า LD_{50} ประมาณ 220 ppm Azadirachtin (Visetson, 2001) แต่มีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดจากเมล็ดน้อยหน่าต่อด้วงงวงข้าวโพด ซึ่งให้ค่าความเป็นพิษที่ประมาณ 10-25%w/v (Nawanich *et al*., 2001) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาจากค่า correlation และ correlation of determination แล้วพบว่าสารสกัดจากวิธีการ ethanolic Soxhlet's extraction จะให้ค่าดังกล่าวไม่แตกต่างจากสารสกัดโดยวิธีการใช้น้ำ (Table 2 และ 3) ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าสาร capsaicin น่าจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากสาร rotenone จากหางไหล (Visetson and Milne, 2001) สาร Azadirachtin จากสะเดา (Visetson, 2001) สาร curcumin และ Eupathalจาก จากข่าและ

สาบเสือ (Visetson *et al,*. 2001) รวมถึงสาร selinadien จากหัวแห้วหมู (Visetson *et al,*. 2002) ซึ่งจะพบว่าสารดังกล่าวเหล่านี้จะให้ประสิทธิภาพสูงขึ้นจากการสกัดโดยวิธีการ Soxhlet's extraction ทำให้รู้ว่าสาร capsaicin เป็นสารที่การละลายไม่มีผลต่ออุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น และอาจจะเป็นไปได้ว่าน่าจะเป็นสารที่ทำ H-bond กับน้ำได้ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำที่อุณหภูมิปกติ

จากการนำด้วงที่รอดจากการใช้สารสกัดแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่แตกต่างกัน ไปหาปฏิกิริยาเอนไซม์ทำลายพิษที่สำคัญคือ esterase และ GSH-S-transferase พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดทั้งสองวิธีการจะเหนี่ยวนำระดับเอนไซม์ในระยะแรกและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารในอัตราที่ใกล้เคียงกัน โดยที่พิจารณาจากการใช้สาร paranitrophenyl acetate พบว่า paranitrophenol ที่ได้จากขบวนการ hydrolysis ของ esterase ลดลงตามความเข้มข้นของสารสกัดจากน้ำและสารที่สกัดได้จาก ethanolic Soxhlet's extraction โดยให้ค่า regression เป็น –0.88 และ –0.62 ตามลำดับ ในขณะที่การให้สาร CDNB จะเกิด conjugated products โดยแสดงค่า regression เป็น –0.7 และ –0.85 ตามลำดับ (Table 4 และ 5) แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าการเพิ่มสารสกัดในอัตราความเข้มข้นที่มากขึ้น จะมีผลทำให้ปฏิกิริยาของเอนไซม์ทั้งสองลดลงเป็นปริมาณถึง 2 เท่า ซึ่งเท่ากับว่าเป็นการลดขบวนการเมแทบอลิซึมของด้วงชนิดนี้ลง และกลไกนี้น่าจะเป็นกลไกที่สำคัญที่ทำให้เกิดการตาย และจากการลดลงของเอนไซม์ทั้งสองนี้เอง กลไกทั้งสองที่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปนี้ ถือว่าเป็นกลไกหลักที่แมลงจะทำการทำลายพิษของสาร alleochemical ซึ่งมักพบเมื่อแมลงได้รับสารแปลกปลอมโดยเฉพาะพืชอาหารที่แมลงทั่วไปไม่คุ้นเคย แต่การที่จะเกิดขบวนการเหนี่ยวนำหรือการยับยั้งนั้นก็ขึ้นกับชนิดของสารและชนิดของแมลงอีกด้วย (Yu, 1983; 1984) ทั้งนี้เพราะขบวนการยับยั้งจะเกิดเมื่อหลังขบวนการเมแทบอลิซึมแล้วสารที่ได้มีพิษสูงขึ้น (activation) ในขณะที่การเหนี่ยวนำจะเกิดเมื่อขบวนการเมแทบอลิซึมของสารแปลกปลอมทำให้สารใหม่ที่ได้มีการละลายได้ดีและมีฤทธิ์ต่ำลง (detoxification) สำหรับสารสกัดจากพริกนี้จะพบว่าในระยะแรกของการเพิ่มสารสกัดจะเกิดขบวนการเหนี่ยวนำขึ้นเล็กน้อย แต่ต่อมาก็จะเกิดขบวนการยับยั้งตามมา แสดงให้เห็นว่าการเกิดสาร intermediate แรกๆ จะมีการ redistribution ได้ดี ในขณะที่ระยะต่อมา intermediate ที่เกิดขึ้นจะเกิดการสะสมมากจนเกิดเป็นสารพิษต่อแมลงเอง โดยที่สาร intermediate นี้อาจจะไปรบกวน allosteric sites ของเอนไซม์ทั้งสอง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดจากพืชแต่ละชนิดก็ให้กลไกนี้แตกต่างกัน เช่นสารสกัดจากสะเดาที่มีต่อด้วงถั่ว จะมีผลในการยับยั้งในระดับแรกๆ และการยับยั้งจะมีสูงขึ้นๆ จนทำให้แมลงตายในที่สุด (Visetson, 2001) ต่อเอนไซม์ทั้งสองเราสามารถที่จะเสริมฤทธิ์โดยใช้ synsergists เช่น Triphenyl phosphate และ diethyl maleate ตามวิธีการของ Raffa และคณะ (1985) เพื่อทำให้เอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นในระดับแรกๆ ของความเข้มข้นนั้นถูกยับยั้งลง ซึ่งจะทำให้สารสกัดที่ใช้มีผลในอัตราความเข้มข้นที่ต่ำลง ซึ่งจะทำให้ค่า LD_{50} ลดลงต่ำกว่า 2%w/w แต่อย่างไรก็ตาม การทดลองเกี่ยวกับ enzyme purification โดยวิธีการ ion exchange chromatography จะเป็นวิธีการที่สามารถพิสูจน์สมมุติฐานนี้ได้ (Visetson and Milne, 2001) นอกจากนี้ข้อมูลเกี่ยวกับความเป็นพิษในหนูทดลอง ก็น่าที่จะดำเนินการในอนาคตต่อไป (Ecobichon, 1992) เพื่อทำให้ผู้บริโภคมั่นใจความปลอดภัยในการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนูนี้

Table1 Developmental of *Sitophilus zeamaise* Motschulsky showing average length ± SD (mm) and ranges (n = 25).

Developmental stage	Average length ± SD	Ranges
Egg	4.52 ± 0.72	4-6
Larvae stage		
1st	6.04 ± 0.34	5-7
2nd	7.08 ± 0.56	6-8
3rd	5.56 ± 0.57	5-7
4th	6.52 ± 0.49	6-7
Pupa	5.36 ± 0.48	5-6
Adult	139.52 ± 12.40	100-148
Life cycle	174.16 ± 12.39	136-182
Sex ratio	-	1:1

Table 2 Linear regression (LC_{50}) showing correlation (r) and correlation of determination [r^2] of adults *Sitophilus zeamaise* Motschulsky against 2 types of chilli extracts after 12 and 24 hours exposure.

Type of extracts [2]	Hours after exposure	
	12	24
Water	Y = 0.66 + 1.05X (46.71b)	Y = 4.11 + 4.44X(10.32a)
	(0.80), [0.64]	(0.83), [0.68]
Ethanolic Soxhlet's	Y = -0.50 + 2.25X (22.44b)	Y = 11.45 + 5.22X(7.38a)
	0.93, 0.88	0.69, 0.48

[1] percentage mortality from 5 replicates each of 20 beetles from impregnated filter method.

[2] percentage yield from original materials.

[3] means followed by the same letter within the same row are not significantly different, P<0.05.

[4] Linear regression equations and correlation coefficient (r) and correlation of determination (r^2) from percentage mortality against chilli concentrations, X stands for percent chilli concentrations, Y for percentage mortality of the beetles

Table 3 Detoxification enzyme activities[1] ± SD of adults *Sitophilus zeamais* Motschulsky against various concentrations of water-chilli extracts after 24 hours exposure.

Extract concentrations (%)	Enzyme activity[3,4] (n mol product/min/mg protein)	
	Paranitrophenol	Glutathione conjugated (x 10^{-6})
Control	18.47 ± 0.23^{ab}	0.40 ± 0.19^{a}
2	31.71 ± 1.88^{d}	2.13 ± 0.35^{c}
4	29.54 ± 2.45^{cd}	1.90 ± 0.29^{bc}
6	23.95 ± 5.30^{bc}	1.77 ± 0.38^{bc}
8	18.66 ± 2.98^{ab}	1.13 ± 0.64^{ab}
10	14.43 ± 3.09^{a}	1.00 ± 0.34^{ab}
Linear regression	Y = 37.29 + 2.27X	Y = 2.50 + 0.75X
R, r^2	-088, 0.77	-0.70, 0.49

[1] means followed by the same letter within the same row are not significantly different, P<0.05.

[2] phosphate buffer pH 7.5 as an homogenizing buffer contaning KH_2PO_4, 1 mM EDTA and 10 mM GSH reduced form. PNPA and CDNB as substrates for esterase and glutathione-S-transferase respectively measuring at 400 and 340 nm, respectively.

[3] Linear regression equations and correlation coefficient (r) and correlation of determination (r^2) from percentage mortality against chilli concentrations, X stands for percent chilli concentrations, Y for enzyme activity.

Table 4 Detoxification enzyme activities [1] ± SD of adults *Sitophilus zeamais* Motschulsky against various concentrations of ethanolic Soxhlet extracts of chilli after 24 hours exposure.

extract concentrations	Detoxification enzyme activity[3,4] (n mol product/min/mg protein)	
	Paranitrophenol product	Glutathione conjugated product(x 10^{-6})
Control	18.86 ± 1.76^{a}	0.77 ± 0.32^{a}
2	42.24 ± 12.32^{b}	2.41 ± 0.17^{d}
4	35.31 ± 10.55^{ab}	2.00 ± 0.32^{cd}
6	31.17 ± 9.18^{ab}	1.77 ± 0.00^{c}
8	27.80 ± 7.49^{ab}	1.50 ± 0.19^{bc}
10	19.43 ± 4.99^{a}	1.04 ± 0.46^{ab}
Linear regression	Y = 47.13 + 2.65X	Y = 2.71 + 0.16X
r, r^2	-0.62, 0.39	-0.85, 0.72

[1] means followed by the same letter within the same row are not significantly different, P<0.05.

[2] phosphate buffer pH 7.5 as an homogenizing buffer contaning KH_2PO_4, 1 mM EDTA and 10 mM GSH reduced form. PNPA and CDNB as substrates for esterase and glutathione-S-transferase respectively measuring at 400 and 340 nm, respectively.

[3] Linear regression equations and correlation coefficient (r) and correlation of determination (r^2) from percentage mortality against chilli concentrations, X stands for percent chilli concentrations, Y for enzyme activity.

สรุป

จากการใช้สารสกัดจากพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* L.) ทดสอบอัตราการตายกับตัวเต็มวัยด้วงงวงข้าวโพด (*Sitophilus zeamais* Motschulsky) โดยวิธี impregnated filter paperในอัตราความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่าโดยวิธีการแรกจะให้อัตราการตายของด้วงในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} เป็น 7.38%w/w ในขณะที่วิธีสกัดโดยใช้น้ำปั่นกวนจะให้อัตราการตายของด้วงในเวลา 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} เป็น 10.33%w/w และจากการตรวจสอบเอนไซม์ทำลายพิษในรูปแบบ *in vitro* พบว่ามอดที่รอดจากการ

ตายจากสารสกัดทั้งสองชนิด จะให้ปฏิกิริยาเอนไซม์เอสเทอเรสและกลูทาไธโอน-เอส-ทรานสเฟอเรส ลดลงจากชุดควบคุมถึง 2 เท่า แต่อย่างไรก็ตามผลการทดลองกับเอนไซม์ที่บริสุทธิ์ จะสามารถทำนายการเพิ่มฤทธิ์จากกลไกทั้งสองในการทำลายสารสกัดจากพริกในด้วงชนิดนี้ได้มากขึ้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูผลผลิตการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา ที่อำนวยความสะดวกอุปกรณ์การทดลอง และตัวอย่างด้วงงวงข้าวโพด และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ที่อำนวยความสะดวกเกี่ยวกับเครื่องมือการวิเคราะห์ต่างๆ

เอกสารอ้างอิง

Anonymous. 1986. Medical herb index in Indonesia. PT, Eisai Indonesia. Indonesia. 398 p.

Banasit, K. 1993. The history of insect control in Thai-vegetables. Entomol. and Zoo. J. 15(1): 58-62. (in Thai).

Collins, P.J. 1985. Induction of the polysubstrate monooxygenase system of the native budworm *Heliothris punctigera* (Wallengren) (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Biochem. 15:551-555.

Chalernpian, M. 1998. The effects of the Siam weed (*Chromolana odonatua* (L.) on the change in detoxification enzymes in the diamondback moth (*Plutella xylostella* L). Masters thesis. Chulalongkorn University. 148 p. (in Thai).

Crankshaw, D.L., K. Hetnarski and C.F. Wilkinson 1981. The functional role of NADPH-cytochrome C reductase in southern armyworm (*Spodoptera eridania*) midgut microsomes. Insect. Biochem. 11: 515-522.

Ecobichon, D.J. 1992. The basis of toxicity testing. RC press. Inc. Boca Raton. 350 p.

Finney, D.J. 1964. Statistical Methods in Biological Assay. 2nd ed. Charles Griffin and Company Limited. London. 365 p.

Hikino, H. and Aota. 1976. Phytochemistry. Tokyo. Japan. 15: 1265.

Kirtikar, K.R. and B.D. Basu. 1991. Indian medical plants. Periodical Experts Book Agency. India. 540 p.

Kotze, A.C. 1988. Glutathione S-transferase enzymes in the Australian sheep blowfly, *Lucillia cuprina* (Weidemann). PhD. Thesis. University of Sydney. Australia.

Lekprayoon, J., S. Visetson and M. Pianjalern. 1999. Effects of the leaf of *Chromolaena odorata* on the detoxification enzyme changes in *Plutella xylostella* L. 3rd BRT-conference, Songkla, Hadyai, 11-14 October, 1999. pp. 870-873. (in Thai).

Mackness, M.L., C.H. Walker, D.G. Lowland and N.R. Price. 1983. Esterase activity in homogenates of three strains of the rust red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst). Comp. Biochem. Physiol. 74(c): 65-68.

Matsumura, F. 1976. Toxicology of Insecticides. Plenum press. New York and London. 503 p.

Ohsawa, D.K., S. Kato and I. Yamamoto. 1996. Insecticidal compound in tuber of *Cyperus rotundus* L. against the diamondback moth larvae. J. Pestic. Sci. 21: 444-446.

Schmutterer,.H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta. indica* Annu. Rev. Entomol. 35: 271-297.

Valeeyaluck, N. 1983. Insect pest of vegetables in Thailand. Pahonyothins pub. Bangkok. 205 p. (in Thai).

Visetson, S. 1994. The application of neem seed kernel extracts on insect control. Entomol. and Zoo. J. 13(4): 210-215. (in Thai).

Visetson, S. and R. Chuchouy 1999. The efficiency of lemon grass extracts and neem extracts on some detoxification enzyme changes in the dog tick. 3rd BRT-conference, Songkla, Hadyai, 11-14 October, 1999. pp. 847-851. (in Thai).

Visetson, S., M. Piansiri and T. Watanasombat. 2001. The effects of the Siam weed *(Chromolaena odorata*) extracts and the alpinia (*Alpinia galanga* Stuntz) extracts on some detoxification enzymes of the diamondback moths (*Plutella xylostella* L.). The 5th National Plant Protection Conference: FOOD PRODUCTS FOR THE WORLD. Thai association, Chemical Businessmen, Plant Protection Association and Association of Entomology and Zoology of Thailand. 21-23 November 2001. Falix River Kwae, Kanjanaburi. pp. 55-61. (in Thai).

Visetson, S. 2001. Effects of Azadirachtin from various Thai Neem extracts on some detoxification enzyme activities in *Callosobruchus maculatus* F. 20th ASEAN/2nd APRC seminar on Postharvest Technology. 11-14 September 2001. Lotus Hotel, Pang Suan Kaew. Chiang Mai. Thailand. pp. 38 – 46.

Visetson, S. and M. Milne. 2001. Effects of root extract from derris (*Derris elliptica* Benth) on mortality and detoxification enzyme levels in the diamondback moth larvae *(Plutella xylostella* Linn.). Kasetsart J. (Nat. Sci.). 35: 157-163.

Watanasombat, T. 1995. Efficiency of galanga (*Alpinia galanga* Stuntz.) extracts on the mortality rate and enzyme levels of diamondback moth (*Plutella xylostella* Linn.). Master thesis. Mahidol University. 65 p. (in Thai).

Wongtium, P. 1996. The effects of neem extracts on the detoxification enzymes in *Callosobruchus maculatus* F. Masters thesis. Chulalongkorn University. 114 p. (in Thai).

Yang, X., D.C. Margolies, K.Y. Zhu, and L. Buschman. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). J. of Econ. Entomol. 94(2): 381-287.

Yu, S.J. 1983. Induction of detoxifying enzymes by allelochemicals and host plant in the fall armyworm. Pestic. Biochem. Physiol. 12: 330-336.

Yu, S.J. 1984. Interaction of allelochemical with detoxification enzymes of insecticide susceptible and resistant fall armyworm. Pestic. Biochem. Physiol. 14: 275-281.

Yu, S. J. and E.L. Hsu. 1985. Induction of hydrolases by allelochemicals and host plants in fall armyworm (Lepidoptera:Noctuidae) larvae. Environ. Ent. 14: 512-515.