ความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var. *siamensis* Valeton) ต่อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* (Guenee))

Toxicity of Extract from Thai Neem, *Azadiracta indica* var. *siamensis* Valeton to Corn Stemborer, *Ostrinia furnacalis* (Guenee)

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง [1/] สุรพล วิเศษสรรค์ [2/]
มัณฑนา มิลน์ [3/] อภิชัย ดาวราย [4/]
สุขพงษ์ วายุภาพ [1/]

Suprada Sukonthabhirom na Pattalung [1/] Surapol Visetson [2/]
Mantana Milne [3/] Apichai Dao-rai [4/]
Sukapong Vayuparp [1/]

ABSTRACT

Toxicity of solvent extract from seed kernels of Thai neem (*Azadirachta indica* var. *siamensis* Valeton) and synergism with piperonyl butoxide (PBO) 10 ppm were observed against corn stemborer, *Ostrinia furnacalis* (Guenee). The extracts contained different concentrations of the active substance, azadirachtin A. The LC_{50} of 2nd -3rd instar larvae were 77.53 and 6.06 ppm at 3 and 5-day post exposure respectively. PBO at 10 ppm showed little synergism with neem extract at 3-day post exposure but at 5-day post exposure showed 2-fold synergism. The larval mortality at 5-day post exposure of aqueous neem seed kernel extract conc. 3-5% (w/v) (Aza A 28-46 ppm) was as high as that of the solvent extract containing Aza A 30-150 ppm (72.0-79.8%) , while that of chlorfluazuron 5% EC (rate of 25 ml/20 litre) was the highest (96.3%).

Key words: neem extract, azadirachtin, corn stemborer, synergism

[1/] ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ.เมือง จ.ชัยนาท 17000
Chainat Field Crops Research Centre, Muang district, Chai Nat 17000

[2/] ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กทม. 10900
Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

[3/] กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กทม. 10900
Agricultural Toxic Division, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

[4/] ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กทม. 10900
Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทย (*Azadirachta indica* var. *siamensis* Valeton) และการเสริมฤทธิ์ด้วย piperonyl butoxide (PBO) เข้มข้น 10 ppm กับหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* (Guenee)) โดยใช้สารสกัดสะเดาที่มีสารออกฤทธิ์ azadirachtin A (Aza A) ความเข้มข้นต่าง ๆ ค่า LC_{50} ต่อหนอนวัย 2-3 ที่ 3 และ 5 วัน เท่ากับ 77.53 และ 6.06 ppm ตามลำดับ สาร PBO เข้มข้น 10 ppm เสริมฤทธิ์ได้น้อยเมื่อผสมกับสารสกัดจากสะเดาเมื่อดูจากผลการตายที่ 3 วัน แต่จะเสริมฤทธิ์ได้ 2 เท่าเมื่อดูจากผลการตายที่ 5 วัน หนอนที่ได้รับสารสกัดสะเดาด้วยน้ำเข้มข้น 3-5% (w/v) (Aza A 28-46 ppm) มีการตายที่ 5 วัน สูงเท่ากับหนอนที่ได้รับสารสกัดสะเดาโดยใช้สารเคมีสกัด ซึ่งมี Aza A เข้มข้น 30-150 ppm (การตายอยู่ในช่วง 72.0-79.8%) ในขณะที่หนอนที่ได้รับสารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5% EC มีเปอร์เซ็นต์การตายสูงที่สุด (96.3%)

คำหลัก : สารสกัดสะเดา สารอะซาไดแรคติน หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด การเสริมฤทธิ์

คำนำ

การปลูกข้าวโพดในประเทศไทย มีปัญหาเรื่องการทำลายของหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*Ostrinia furnacalis* (Guenee)) ทำให้ลำต้นและช่อดอกตัวผู้หัก ฝักถูกเจาะทำลาย ผลผลิตเสียหายมาก ถ้าไม่มีการป้องกันกำจัดอย่างทันท่วงที แต่การใช้สารฆ่าแมลงเคมีสังเคราะห์ก่อให้เกิดปัญหาต่าง ๆ เช่น ทำให้แมลงสร้างความต้านทาน เกิดการทำลายแมลงศัตรูธรรมชาติ และมีพิษต่อผู้พ่นสาร อีกทั้งพิษยังตกค้างในสภาพแวดล้อมและในผลผลิตฝักข้าวโพด เป็นปัญหาที่สำคัญต่อการส่งออกต่างประเทศ

ในเมล็ดสะเดาไทยมีสาร azadirachtin (Aza) ซึ่งมีหลายชนิดตั้งแต่ Aza A จนถึง Aza L นอกนั้นเป็นสารอื่น ๆ สาร Aza มีผลต่อแมลงถึง 90% จากผลของสารทั้งหมดในเมล็ดสะเดาที่มีต่อแมลง (Schmutterer, 1995) สาร Aza มีผลในการยับยั้งการกินอาหารกับแมลงหลายชนิด ขัดขวางการเจริญเติบโตและการพัฒนาของแมลงหลายชนิด กลไกการออกฤทธิ์หลักของสาร Aza มีผลในการขัดขวางกระบวนการลอกคราบของแมลง โดยที่โครงสร้างของสาร Aza มีลักษณะคล้ายกับฮอร์โมนลอกคราบของแมลง (ecdysone hormone) สาร Aza นี้ทำให้การสร้างฮอร์โมนลอกคราบของแมลงผิดปกติ อีกทั้งยังมีผลต่อ juvenile hormone (Mordue and Blackwell, 1993; Schmutterer, 1995) ซึ่ง Salehzadeh และคณะ (2003) พบว่า Aza จะรบกวนการเกิด polymerization ของโปรตีน tubulin ไปเป็น microtubules ซึ่งเป็นองค์ประกอบของ cytoskeleton ซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ของ organelles ต่างๆในการขนส่งสารใน cytoplasm เช่น ฮอร์โมนต่างๆ ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงจะขึ้นอยู่กับปริมาณสาร Aza เป็นสำคัญ (ขวัญชัย, 2541) โดยเฉพาะ Aza A ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด ซึ่งเป็นดัชนีในการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัดสะเดาในปัจจุบัน (อัญชลี, 2543) นอกจากนี้สาร Aza สามารถสลายตัวได้เร็วโดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูง และมีแสงแดดจัด (Stokes and Redfern, 1982 ; Kleeberg , 1992)

การสลายตัวได้ไวในสิ่งแวดล้อม จึงไม่ก่อให้เกิดพิษตกค้างในธรรมชาติและผลิตผลเกษตร และแมลงสร้างความต้านทานต่อสารสกัดสะเดาได้น้อย (Voellinger, 1987 ; Rice, 1993) มีรายงานว่าสาร Aza ยับยั้งการเจริญเติบโต และพัฒนาการในหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*O. furnacalis* (Guenee)) (Shinfoon *et al.*, 1985) ในทำนองเดียวกัน Meisner และคณะ (1986) รายงานไว้ว่า หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด (*O. nubilalis* (Hubner)) ที่ได้รับสารสกัดสะเดาโดยการกินจะไม่สามารถเข้าดักแด้ได้ และหนอนมีน้ำหนักลดลง

สารเสริมฤทธิ์ piperonyl butoxide (PBO) เป็นสารที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย โดยสารนี้จะไปยับยั้งเอนไซม์ monooxygenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการทำลายพิษ (Casida, 1970 ; Scott and Georghiou, 1986) Lange (1984) รายงานว่า การตายของหนอนใยผัก (*Plutella xylostella* L.) วัย 4 เพิ่มขึ้นจาก 50% เป็น 80-90% เมื่อใส่สาร PBO ในสารสกัดสะเดาที่สกัดโดยวิธีต่าง ๆ ในทำนองเดียวกัน Sombatsiri และ Temboonkeat (1986) รายงานว่าการผสมสาร PBO 0.1% ในสารสกัดสะเดา ซึ่งสกัดโดยใช้สารผสมระหว่าง methanol และน้ำมีพิษต่อการตายของหนอนใยผัก เพิ่มขึ้น 40-50%

ดังนั้น จึงได้ดำเนินการทดลองโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทราบความเข้มข้นของสาร Aza A ที่มีอยู่ในสารสกัดสะเดาสูตรที่กรมวิชาการเกษตรใช้ผลิตที่ทำให้หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด วัย 2-3 ตาย 50% (ค่า LC_{50}) ค่าการเสริมฤทธิ์ (synergistic ratio, SR) เมื่อผสมสารสกัดสะเดาด้วย piperonyl butoxide 10 ppm และเปรียบเทียบค่าการตายของหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดที่ได้รับสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีและสารสกัดสะเดาด้วยน้ำกับสารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5% EC

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหนอนที่ใช้ทดลอง

เก็บรวบรวมหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดจากแปลงข้าวโพดของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท อ.เมือง จ.ชัยนาท นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26 ± 2.0 °ซ. โดยใช้วิธีและอาหารเทียมที่ประยุกต์จากการเลี้ยงหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน (อุทัย, 2544)

การทดสอบสารในห้องปฏิบัติการ

นำสารสกัดจากเนื้อในเมล็ดสะเดาไทยของสำนักวิจัยและพัฒนาการผลิตสารธรรมชาติซึ่งทำการสกัดโดยใช้เนื้อในเมล็ดสะเดาบดมาสกัดแยกสาร nonpolar ออกโดยใช้ hexane แล้วนำมาสกัดแยกสาร polar ต่อโดยใช้ methanol ซึ่งจะได้สาร azadirachtin A (Aza A) ออกมาในส่วนนี้ (Ermel *et al.*, 1997) ตรวจวัดปริมาณสารออกฤทธิ์ Aza A โดยใช้เครื่อง HPLC พบว่ามีปริมาณ Aza A เข้มข้น 400 ppm ในการทดลองที่ 1 นำสารสกัดที่ได้มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อหาความเข้มข้นที่ทำให้หนอนวัย 2-3 ตายในช่วง 10-90% โดยใช้น้ำกลั่นที่ผสมสาร emulsifier 0.5% (Latron CS-7) ส่วนกรรมวิธีการทดลองการเสริมฤทธิ์ในการทดลองที่ 1 นั้นจะเตรียมสารละลายที่มีสารผสมระหว่าง Aza A ความเข้มข้นต่าง ๆ กับ piperonyl butoxide เข้มข้น 10 ppm โดยใช้ PBO ที่ผสมกับ acetone และ emulsifier อัตรา 1:2:2 โดยปริมาตร เพื่อช่วยให้ PBO ละลายน้ำได้ ส่วนการทดลองที่ 2 เป็นการเปรียบเทียบการตายของหนอนที่ได้รับ

สารสกัดสะเดาด้วยสารเคมี และด้วยน้ำกับสารฆ่าแมลงนั้น การสกัดสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีและการเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการใช้วิธีการเหมือนกับข้างต้น นำสารสกัดที่เจือจางแล้วทั้ง 5 ความเข้มข้นไปวิเคราะห์ปริมาณสาร Aza A โดยเครื่อง HPLC พบว่ามีสาร Aza A ในแต่ละกรรมวิธี เท่ากับ 29 64 92 120 148 ppm ตามลำดับ ส่วนการสกัดสารสกัดสะเดาด้วยน้ำ วิธีการเตรียม ชั่งเนื้อในเมล็ดสะเดาบดละเอียด 50 กรัม เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร คนให้ทั่ว แช่ทิ้งค้างคืนไว้ 1 คืน แล้วกรองกากสะเดาออกให้หมด ได้สารสกัดจากสะเดาด้วยน้ำเข้มข้น 5% (w/v) นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ พบว่ากรรมวิธีนี้มีปริมาณสาร Aza A 46 ppm ส่วนสารสกัดสะเดาด้วยน้ำเข้มข้น 3% (w/v) ใช้เนื้อในเมล็ดสะเดาบดละเอียด 30 กรัม นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ พบว่ากรรมวิธีนี้มีปริมาณสาร Aza A 28 ppm การเตรียมสารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5% EC ใช้อัตรา 25 มล.ต่อน้ำ 20 ลิตร

การทดลองทั้งสองใช้วิธี no choice leaf dipping method โดยใช้ใบข้าวโพดที่ตัดให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. จุ่มลงในสารที่จะทดสอบ 5 วินาที ผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปให้หนอนวัย 2-3 กิน 3 วัน หลังจากนั้นจึงเปลี่ยนมาเลี้ยงหนอนด้วยอาหารเทียม ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จ. ชัยนาท ในช่วงเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2545 - กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2546

วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design การทดลองที่ 1 ประกอบด้วย 3 ซ้ำ ส่วนการทดลองที่ 2 มี 6 ซ้ำ ใช้หนอนทดลอง ซ้ำละ 10-20 ตัว โดยอดอาหารหนอนก่อนทำการทดลอง 2 ซม. ตรวจจำนวนหนอนตายที่ 1 3 5 7 วัน ในการทดลองที่ 1 นำข้อมูลที่ได้มาปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงโดยใช้ Abbott's formula (Matsumura, 1975) เมื่อมีการตายของหนอนใน control แล้วนำเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงไปคำนวณหาสมการ regression เพื่อหาค่าการตายที่ 50% (LC_{50}) ของสารสกัดสะเดาทั้งที่เติมสารเสริมฤทธิ์และที่ไม่เติมสารเสริมฤทธิ์ แล้วหาค่า synergistic ratio (SR) ซึ่งเป็นค่าอัตราส่วนระหว่างค่า LC_{50} ที่ไม่ใช้สารเสริมฤทธิ์หารด้วยค่า LC_{50} ที่ใช้สารเสริมฤทธิ์ ส่วนในการทดลองที่ 2 ที่เปรียบเทียบการตายของหนอนที่ได้รับสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีและด้วยน้ำกับสารฆ่าแมลงนั้น นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายมาแปลงค่าตามวิธีของ Gomez และ Gomez (1983) ก่อนการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดลองและวิจารณ์

สารสกัดสะเดาแสดงความเป็นพิษต่อหนอนช้า กล่าวคือ ความเป็นพิษของสารสกัดสะเดามีน้อยมากในช่วง 1 วันหลังจากที่หนอนได้รับสาร แต่พอระยะหนึ่งความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาต่อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดวัย 2-3 จะเพิ่มขึ้น เมื่อหนอนได้รับสารแล้ว 3 วัน ค่า LC_{50} เท่ากับ 77.53 ppm และเมื่อหนอนได้รับสารแล้ว 5 วัน ความเป็นพิษต่อหนอนจะเพิ่มมากขึ้น ค่า LC_{50} เท่ากับ 6.06 ppm (Table 1)

ความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาซึ่งผสมด้วย PBO ก็ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน เมื่อหนอนได้รับสารแล้ว 3 วัน ค่า LC_{50} เท่ากับ 62.62 ppm เมื่อหนอนได้รับสารแล้ว 5 วัน ความเป็นพิษจะเพิ่มมากขึ้น ค่า LC_{50} เท่ากับ 2.93 ppm (Table 1)

เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาเดี่ยว ๆ กับความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาซึ่งผสม PBO ที่ 3 วัน ความเป็นพิษจะเพิ่มน้อย ค่า LC_{50} ลดลงจาก 77.53 ppm เป็น 62.62 ppm ซึ่งให้ค่าการเสริมฤทธิ์ (synergistic ratio, SR) เท่ากับ 1.24 แต่ที่ 5 วัน ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นมากกว่า ค่า LC_{50} ลดลงจาก 6.06 ppm เป็น 2.93 ppm และให้ค่าการเสริมฤทธิ์ เท่ากับ 2.07 แสดงให้เห็นว่า สาร PBO ช่วยเสริมฤทธิ์สารสกัดสะเดาได้ 2 เท่า ทำให้หนอนตายเพิ่มขึ้น (Table1)

Table 1. Toxicity of neem extract and neem extract plus piperonyl butoxide (PBO) 10 ppm to corn stemborer (*O. furnacalis*) at 3 and 5 days post exposure.

Experiment	LC_{50} 1/ (ppm)	Regression equation	SR 2/
At 3 days			
Neem extract	77.53	Y=9.09+0.53 x	
Neem extract + PBO 3/	62.62	Y=12.95+0.59 x	1.24
At 5 days			
Neem extract	6.06	Y=48.01+0.33 x	-
Neem extract + PBO3/	2.93	Y=44.13+2.01 x	2.07

1/ Based on concentration of Aza A in neem extract
2/ Synergistic ratio = LC_{50} neem extract / LC_{50} neem extract + PBO
3/ Piperonyl butoxide 10 ppm

สารสกัดสะเดามีผลต่อการตายของหนอนช้ากว่าสารฆ่าแมลง chlorfluazuron (Table 2) ในการตรวจผลที่ 3 วัน พบว่า สารสกัดสะเดาโดยใช้สารเคมี (Aza A 30-150 ppm) มีหนอนตาย 31.3-42.5% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสารสกัดสะเดาด้วยน้ำ 3-5% (w/v) (Aza A 28-46 ppm) ซึ่งมีหนอนตาย 37.9-45.0% ในขณะที่สารฆ่าแมลง chlorfluazuron มีหนอนตายสูงถึง 82.5% ซึ่งมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ 5 วันก็ให้ผลไปในทำนองเดียวกัน สารสกัดสะเดาโดยใช้สารเคมี (Aza A 30-150 ppm) มีหนอนตาย 72.0-76.3% ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับสารสกัดสะเดาด้วยน้ำ 3-5% ซึ่งมีหนอนตาย 77.5-79.8% ในขณะที่สารฆ่าแมลง chlorfluazuron มีหนอนตายสูงถึง 96.3% ซึ่งมากกว่าการใช้สารสกัดจากสะเดาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ 7 วัน พบว่า สารสกัดสะเดาด้วยน้ำ 3-5% มีหนอนตายสูง 90.0-93.5% ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้สารฆ่าแมลง chlorfluazuron ที่มีจำนวนหนอนตายสูงสุด คือ 98.8% ในขณะที่สารสกัดสะเดาโดยใช้สารเคมีที่มี Aza A 150 ppm เท่านั้นที่มีหนอนตายสูง 93.8% ซึ่งใกล้เคียงกับการตายของหนอนเมื่อได้รับ

สารฆ่าแมลง chlorfluazuron แสดงให้เห็นชัดเจนว่า สารสกัดสะเดาด้วยน้ำมีผลต่อการตายของหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดมากกว่าสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีเล็กน้อยเมื่อวัดที่ปริมาณสาร Aza A พอ ๆ กัน (Table 2)

Table 2. Mortality of corn stemborer (*O. furnacalis*) fed with neem extracts and chlorfluazuron at 3, 5 and 7 days post exposure

Neem extract	**Mortality (%)**		
	3 days	**5 days**	**7 days**
Solvent extraction[1/]			
Aza A 30 ppm	31.3 b	76.3 b	88.6 c
Aza A 60 ppm	38.8 b	76.3 b	85.0 bc
Aza A 90 ppm	42.5 b	72.2 b	83.8 bc
Aza A 120 ppm	36.4 b	72.0 b	88.8 bc
Aza A 150 ppm	42.5 b	76.3 b	93.8 ab
Water extraction[2/]			
3% Neem (Aza A 28 ppm)	45.0 b	77.5 b	90.0 abc
5% Neem (Aza A 46 ppm)	37.9 b	79.8 b	93.5 ab
Chlorfluazuron 5% EC[3/]	82.5 a	96.3 a	98.8 a
Control	8.8 c	11.3 c	13.8 d
CV (%)	38.2	19.7	11.7

1/ Diluted in concentration of Aza A of neem extract

2/ Analyzed for quantity of Aza A with HPLC

3/ Rate of 25 ml/20 litre

In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

แมลงพวกหนอนผีเสื้อ (Order Lepidoptera) อ่อนแอต่อสาร Aza ในสารสกัดสะเดามาก ประสิทธิภาพของสารสกัดสะเดาต่อหนอนผีเสื้อมีหลายลักษณะ ได้แก่ ขัดขวางการพัฒนาการเจริญเติบโตและการลอกคราบ ซึ่งพบในการทดลองนี้มากที่สุด โดยที่หนอนเจาะลำต้นข้าวโพดที่ได้รับสารสกัดสะเดาไม่สามารถลอกคราบได้และตายในที่สุด สารสกัดสะเดายังทำให้ผีเสื้อตัวเต็มวัยวางไข่ได้น้อยลง เป็นสารไล่แมลงและสารยับยั้งการกินอาหาร นอกจากนี้ยังมีผลทำให้อัตราส่วนของเพศผู้และเพศเมียผิดปกติไปจากธรรมชาติ ทำให้แมลงหาคู่ผสมพันธุ์ไม่ได้ (Arnason *et al.*, 1985) อย่างไรก็ตาม ชนิดของสารสกัด ซึ่งขึ้นกับเทคนิคการผลิตสารสกัดทำให้ความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาต่อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดแตกต่างกัน ในการทดลองนี้เห็นได้ว่า สารสกัดสะเดาด้วยน้ำมีผลต่อการตายของหนอนที่ 7 วัน มากกว่าสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีเล็กน้อย เมื่อวัดที่ปริมาณ Aza A พอ ๆ กัน แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืชของสารสกัดสะเดาไม่ได้ขึ้นอยู่กับปริมาณสาร Aza A เพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เพราะในสารสกัดสะเดาประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ต่อแมลงหลายชนิด ซึ่งการสกัดด้วยน้ำอาจทำให้ได้สารบางชนิดที่ช่วยให้สารสกัดสะเดามีพิษต่อหนอนดีขึ้น การที่สารสกัดสะเดามีสารออกฤทธิ์หลายชนิดมีข้อดีตรงที่แมลงสร้างความต้านทานต่อสารสกัดสะเดาได้น้อยมาก (Rice, 1993)

สารสกัดสะเดาไม่มีฤทธิ์ที่ทำให้แมลงตายได้ทันที ในการทดลองนี้พบว่าหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดเริ่มตายที่ระยะการตรวจนับ 3 วัน และที่ 5 วัน การตายของหนอนจะเห็นได้ชัดเจน แสดงถึงผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดสะเดาที่ช้า เพราะสาร Aza ไปทำให้การสร้างฮอร์โมนลอกคราบของแมลงผิดปกติ โดยขัดขวางกระบวนการลอกคราบของแมลง ทำให้แมลงลอกคราบไม่ได้ และตายในที่สุด ซึ่งขบวนการนี้ต้องใช้ระยะเวลา 3-7 วัน จึงเห็นได้ชัด ทำให้ค่า LC_{50} เมื่อหนอนได้รับสาร 3 วัน มีค่ามากกว่าเมื่อหนอนได้รับสาร 5 วัน ดังนั้นสารสกัดสะเดาจึงไม่สามารถฆ่าแมลงได้เร็วเหมือนกับสารฆ่าแมลง chlorfluazuron จึงควรใช้สารสกัดสะเดาก่อนเกิดการระบาดของแมลงเพื่อควบคุมปริมาณแมลงไม่ให้เกินระดับเศรษฐกิจ ดีกว่าการใช้กำจัดแมลงที่ระบาดเกินระดับเศรษฐกิจแล้ว (ขวัญชัย, 2541)

การใช้สารเสริมฤทธิ์ PBO เข้มข้น 10 ppm กับสารสกัดสะเดาแสดงผลการเสริมฤทธิ์เล็กน้อยที่ 3 วัน แต่ที่ 5 วัน แสดงผลการเสริมฤทธิ์มากกว่า สอดคล้องกับช่วงระยะเวลาในการเป็นพิษของสารสกัดสะเดาที่ต้องใช้เวลา การที่ PBO แสดงผลการเสริมฤทธิ์ไม่มากนักอาจเป็นเพราะปริมาณความเข้มข้นของ PBO ที่ใช้น้อยไป เนื่องจากว่าปริมาณ synergist ที่ใช้ขึ้นอยู่กับสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดและวิธีการใช้ (Scott and Georghiou, 1986 ; Prabhaker *et al.*, 1988) อีกประการหนึ่งอาจเป็นเพราะกลไกการทำลายพิษของสารสกัดสะเดา ในหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดมีเอนไซม์อื่นเข้าเกี่ยวข้องนอกเหนือจาก monooxygenase

สาร Aza ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ในสารสกัดสะเดา เป็นสารไม่เสถียรในสภาพธรรมชาติ โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูงและแสงแดดจัด ทำให้สารสกัดสะเดามีพิษตกค้างในพืชสั้น อีกทั้งสารสกัดสะเดามีอันตรายน้อยต่อผู้ใช้ ศัตรูธรรมชาติ ไส้เดือน ปลา และนก (ขวัญชัย,

2541) จึงควรนำสารสกัดสะเดามาใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด เพื่อลดปัญหาพิษภัยของสารเคมีฆ่าแมลงสังเคราะห์ที่มีต่อคน สัตว์และสภาพแวดล้อม

สรุปผลการทดลอง

ค่า LC_{50} ของสารสกัดสะเดาด้วยสารเคมีต่อหนอนเจาะลำต้นข้าวโพดวัย 2-3 ที่ 3 และ 5 วันเท่ากับ 77.53 และ 6.06 ppm (ของสาร Aza A) ตามลำดับ การเติมสาร piperonyl butoxide 10 ppm ลงไปในสารสกัดสะเดาจะเกิดการเสริมฤทธิ์ 2 เท่าเมื่อดูผลการตายของหนอนที่ 5 วัน ดังนั้นเอนไซม์ monooxygenase น่าจะมีส่วนในการทำลายพิษของสารสกัดสะเดาในหนอนเจาะลำต้นข้าวโพด สารสกัดสะเดาด้วยสารเคมี ซึ่งมี Aza A 30 ppm และสารสกัดสะเดาด้วยน้ำเข้มข้น 3% (w/v) ซึ่งมี Aza A 28 ppm ทำให้หนอนเจาะลำต้นข้าวโพดวัย 2-3 ตายที่ 7 วันในระดับสูง (88.6 และ 90.0% ตามลำดับ) เมื่อเทียบกับการตายของหนอนที่ได้รับสารฆ่าแมลง chlorfluazuron 5% EC ซึ่ง มีการตายสูงที่สุด (98.8%)

เอกสารอ้างอิง

ขวัญชัย สมบัติศิริ. 2541. สะเดา : มิติใหม่ของการป้องกันกำจัดแมลง. ภาควิชากีฏวิทยา, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 229 หน้า.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2543. เทคโนโลยีการผลิตสารสกัดสะเดา. บริษัท ซีเอ็ดยูเคชั่น จำกัด (มหาชน), กรุงเทพฯ. 136 หน้า.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. หน้า 141-182. *ใน* เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Arnason, J.T., B.J.R. Philogene, N. Donskov, M. Huden, C. McDougall, C. Fortier, P. Morand, D. Gardner, J. Lambert, C. Morris and C. Nozzolillo. 1985. Antifeedant and insecticidal properties of azadirachtin to the european corn borer, *Ostrina nubilalis Exp. Appl.* 38 : 29-34.

Casida, J.E. 1970. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. *J. Agr. Food Chem.* 18:753-772.

Ermel, K., C. Chirathamjaree and A. Sangwanich, 1997. Azadirachtin content and bioefficiency of neem products. Pages 101-114. *In* The 2nd Tech. Conf. of Agricultural Toxic Substances Division. Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives. (in Thai)

Gomez, K.A. and A. A. Gomez. 1983. Statistical Procedures for Agricultural Research. 2nd ed., John Wiley and Sons Inc. New York. 680 p.

Kleeberg, H. 1992. Properties of Neem Azal-F-a new botanical insecticide. Pages

87-94. *In* D.Otto and B. Weber (eds.), Insecticides : Mechanism of Action and Resistance. Intercept Ltd., Andover, UK.

Lange. W. 1984. Piperonyl butoxide: synergistic effects on different neem seed extracts and influence on degradation of an enriched extract by ultra-violet light. Pages 129-140. *In* H. Schmutterer and K.R.S. Ascher (eds.), Natural pesticides from the neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and other tropical plants. Proc. 2nd Int. Neem Conf., Rauischholzhausen. Federal Repulic of Germany. GTZ GmbH.

Matsumura, F. 1975. Botanical insecticides. Pages 94-98. *In* F. Matsumura (ed.), Toxicology of Insecticides. Plenum. New York.

Meisner, J. V. Melamed-Madjar, S. Yathom, and K. R. S. Ascher. 1986. The influence of neem on the european corn borer (*Ostrinia nubilalis*) and the serpentine leaf miner (*Liriomyza trifolii*). Pages 461-477. *In* H. Schmutterer and K.R.S. Ascher (eds.), Proc. 3rd Int. Neem Conf. Nairobi, Kenya. GTZ GmbH.

Mordue. A.J. and A. Blackwell. 1993. Azadirachtin : an update. *J. of Insect Physio.* 39 : 903-924.

Prabhaker, N., D.L. Coudriet and N.C. Toscano. 1988. Effect of synergists on organophosphate and permethrin resistance in sweetpotato whitefly (Homoptera : Aleyrodidae). *J. Econ. Ent.* 81 : 34-39.

Rice, M. 1993. Built-in resistance prevention (BIRP) : a valuable property of azadirachtin. World Neem Conf. (Bangalore, India). Abstr. pp. 13-14.

Salehzadeh, A., A. Akhkha , W. Cushley, R.L.P. Adams, J.R. Kusel and R.H.C. Strang. 2003. The antimitotic effect of the neem terpenoid azadirachtin on cultured insect cells. *Insect Biochem. and Mol. Bio.* 33 : 681-689.

Schmutterer, H. 1995. The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss and Other Meliaceous Plants. VCH Publisher, Germany. 696 p.

Scott J.G. and G.P. Georghiou. 1986. Mechanism responsible for high levels of permethrin resistance in the housefly. *Pestic. Sci.* 17 : 195-206.

Shinfoon, C., Z. Xing, L. Siuking and H. Duanping. 1985. Growth-disrupting effects of azadirachtin on the larvae of the asiatic corn borer (*Ostrinia furnacalis* Guenee). *Z. Angew. Entomol.* 95 : 276.

Sombatsiri, K. and K. Temboonkeat. 1986. Efficacy of an improved neem kernel extract in the control of *Spodoptera*

litura and of *Plutella xylostella* under laboratory conditions and in field trials. Pages 195-203. *In* H. Schmutterer and K.R.S. Ascher (eds.), Natural Pesticides from the Neem Tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and Other Tropical Plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf., Nairobi, Kenya. GTZ GmbH.

Strokes, J.B. and R.E. Redfern. 1982. Effect of sunlight on azadirachtin : antifeeding potency. *J. Environ. Sci. Health* 17 : 57-65.

Voellinger, M. 1987. The possible development of resistance against neem seed kernel extract and deltamethrin in *Plutella xylostella*. Pages 543-554. *In* H. Schmutterer and K.R.S Ascher (eds.), Natural Pesticides from the Neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) and Other Tropical Plants. Proc. 3rd Int. Neem Conf. Nairobi, Kenya. GTZ GmbH.