



## บทที่ 5

### อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ที่สกัดได้ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี neem seed crude extract และสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยทางการค้า (Neemix®) ต่อ หนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr. โดยวิธีผสมสารให้ตัวหนอนกิน และโดยวิธีหดยดสารลงบนตัวหนอน ด้วยการประเมินค่า 50 % lethal concentration โดยใช้วิธีการ วิเคราะห์ Probit analysis (Finney, 1971 )

ผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่าความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยขึ้นกับวิธีการได้รับสารพิษซึ่งจะเป็นพิษโดยวิธีผสมสารให้ตัวหนอนกินมากกว่า วิธีหดยดสารลงบนตัวหนอน ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.9 และ 4.10 จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าโดยวิธีหดยดสารลงบนลำตัวหนอน สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยในรูปการค้า (Neemix®) และที่สกัดได้ในห้องปฏิบัติการ (neem seed crude extract) ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งทั้งสองชนิด เนื่องจากที่ความเข้มข้น 5 - 100 % ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ให้อัตราการตายต่อหนอนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 5.1 และ 5.2 จึงไม่สามารถประเมินค่า  $LC_{50}$  ได้ ส่วนการทดลองโดยวิธีผสมสารให้ตัวหนอนกิน ให้อัตราการตายที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ต่อความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 5.3 และ 5.4 แสดงว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยจะเป็นพิษทางการกิน (stomach poison) มากกว่าทางสัมผัส (contact poison) จากการศึกษาของ Thanispong (1991) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยไม่เป็นพิษโดยทางสัมผัส แต่มีประสิทธิภาพในการไล่ (repellent) ไรแดง *Tetranychus hydrangeae*

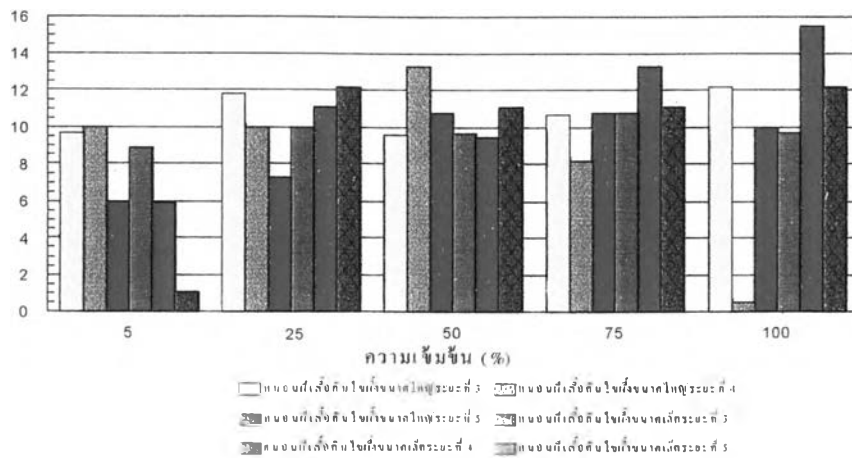
การประเมินค่าความเป็นพิษ ( $LC_{50}$  (%)) ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย โดยวิธีผสมสารให้หนอนกิน เป็นการประเมินค่า  $LC_{50}$  ที่ 240 ชั่วโมง ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.11 อาจอธิบายได้ว่า กลไกการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ไม่มีฤทธิ์เป็นพิษอย่างเฉียบพลัน (acute toxicity) ต่อหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดเล็ก Prabhaker, et al. (1986) รายงานว่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาที่ความเข้มข้น 2 % ให้อัตราการตายต่อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ระยะที่ 4 มีค่าเท่ากับ 100% ที่ 192 ชั่วโมง (8 วัน) Robert and Dennis (1993) รายงานว่า สาร azadirachtin ซึ่งสกัดจากเมล็ดสะเดาที่ความเข้มข้น 5.0 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร ให้อัตราการตายต่อหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ระยะที่ 3 มีค่าเท่ากับ 89 % ที่ 216 ชั่วโมง (9 วัน)

ก่อนทำการทดลองโดยวิธีผสมสารลงบนแผ่นใบไม้ให้ตัวหนอนกินจะต้องทำการอดอาหารเป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชม. หลังจากหนอนกินแผ่นใบไม้ที่ผสมสารสกัดจากเมล็ดสะเดาหมดแล้วก็จะให้อาหารปกติ จากผลการทดลองอาจบอกได้ว่า อัตราการตายของหนอนผีเสื้อกินใบไม้มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะของตัวหนอนเพิ่มสูงขึ้น ผลการทดสอบอัตราการตายของหนอนระยะที่ 3 และ 4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) อาจอธิบายได้ว่า หนอนระยะที่ 3 และหนอนระยะที่ 4 อยู่ในระยะที่มีความต้องการอาหารเพื่อการเจริญเติบโตโอกาสได้รับสารพิษจึงไม่แตกต่างกัน ส่วนอัตราการตายของหนอนระยะที่ 3, 4 และ 5 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) โดยพบว่า อัตราการตายของหนอนระยะที่ 3 และ 4 สูงกว่าระยะที่ 5 ดังแสดงไว้ในภาพที่ 5.3 และ 5.4 สำหรับในกรณีนี้อธิบายได้ว่า ในหนอนระยะที่ 3 และ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตและความต้องการอาหารที่สูงกว่า โอกาสได้รับสารพิษมากกว่าหนอนระยะที่ 5 เนื่องจากในหนอนระยะที่ 5 เป็นระยะสุดท้ายของการเจริญในระยหนอนที่พร้อมจะเข้าสู่ระยะดักแด้ ช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของหนอนระยะที่ 5 น้อยกว่าหนอนระยะที่ 3 และ 4 ทำให้โอกาสได้รับสารพิษน้อยกว่า หรืออาจจะเกี่ยวข้องกับขนาดและความแข็งแรงในหนอนระยะที่ 5 มีมากกว่าจึงให้อัตราการตายที่ต่ำกว่าหนอนระยะที่ 3 และ 4 ซึ่งอาจจะอธิบายได้ว่าความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยนอกจากจะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารที่กินเข้าไปแล้ว ขนาดและอายุของหนอนน่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องอยู่ด้วย โดยหนอนระยะที่ 5 มี ขนาดและอายุมากกว่าทำให้มีความคงทนสูงกว่า (Matsumara, 1975) จึงมีความไวต่อสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่ำกว่าหนอนระยะอื่น ๆ

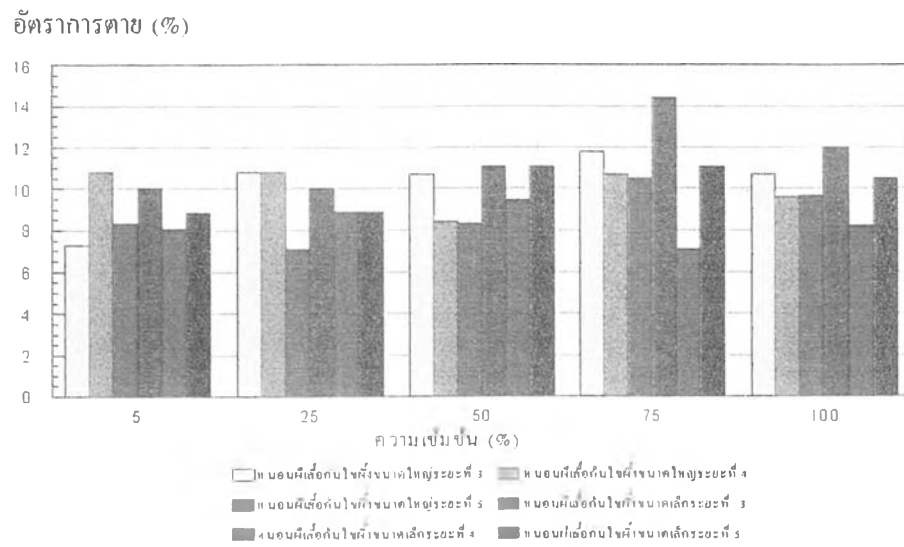
ผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดเล็กนับว่าได้ผลดีพอสมควร ค่าความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย ( $LC_{50}$  ที่ 240 ชม.) ต่อหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินใบไม้ขนาดเล็ก ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 5.5 และไม่

พบความแตกต่างของประสิทธิภาพต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งจากสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยในรูปการ  
 กำ Neemix® และ neem seed crude extract แสดงถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ด  
 สะเดาไทยไม่ขึ้นกับชนิดของสารและสปีชีส์ของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่ง

อัตราการตาย (%)

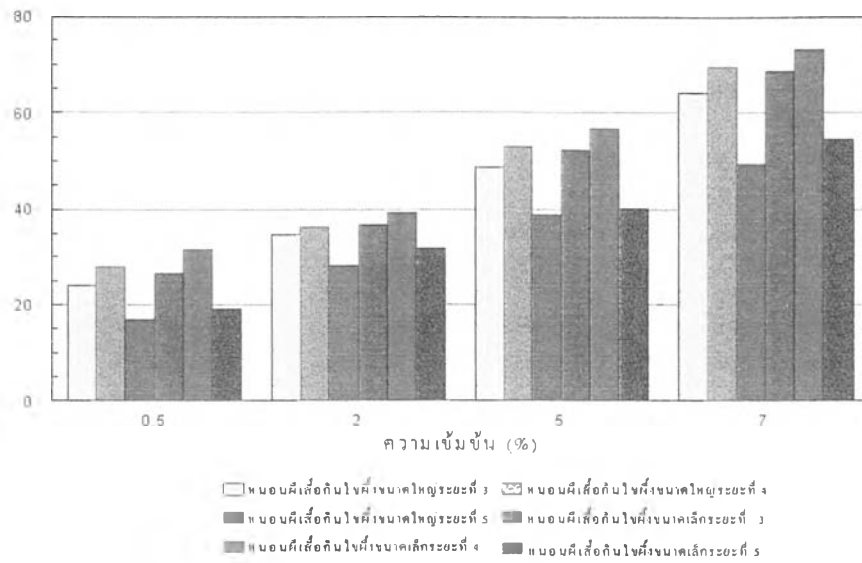


ภาพที่ 5.1 ความเป็นพิษโดยทางสัมผัสของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่ออัตราการตายของ  
 หนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกิน  
 ใบฝิ่งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr. ระยะที่ 3, 4 และ 5



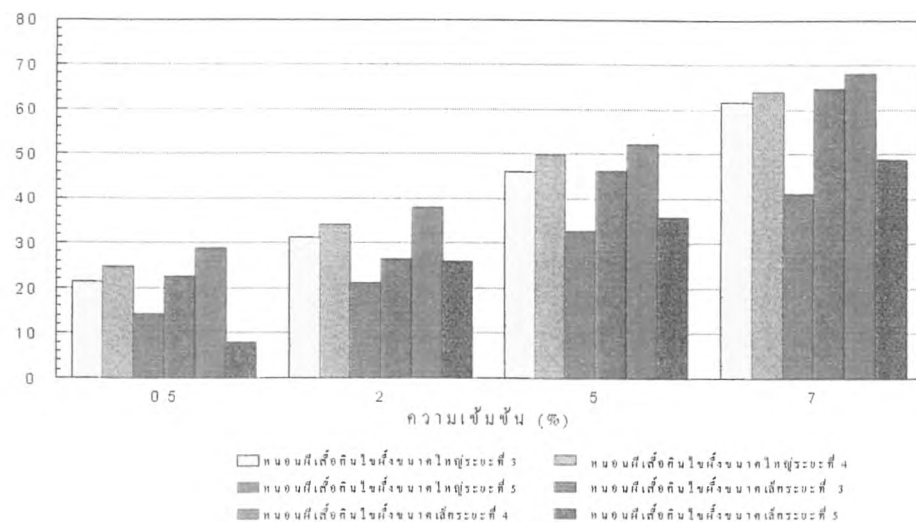
ภาพที่ 5.2 ความเป็นพิษโดยทางสัมผัสของ **Neemix®** ต่ออัตราการตายของหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr. ระยะที่ 3, 4 และ 5

อัตราการตาย (%)

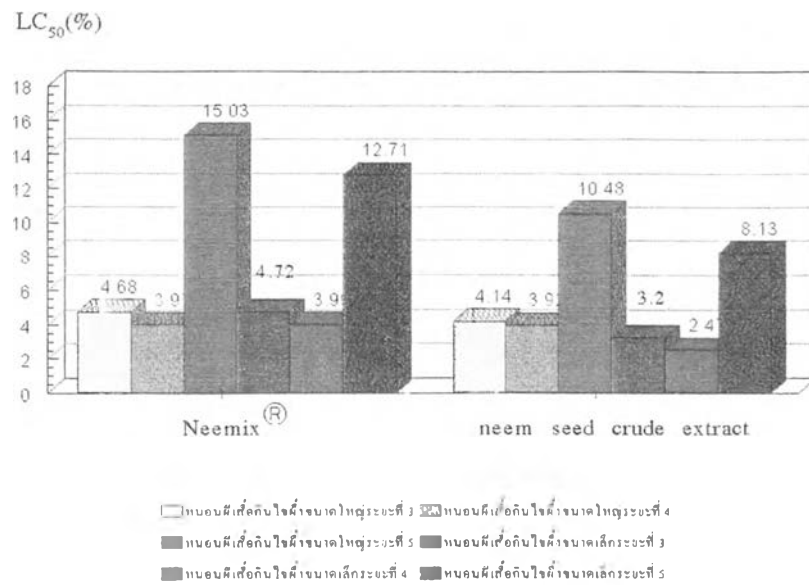


ภาพที่ 5.3 ความเป็นพิษโดยการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่ออัตราการตายของหนอนผีเสื้อกินไหมฝั่ขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกินไหมฝั่ขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr. ระยะที่ 3, 4 และ 5

## อัตราการตาย (%)



ภาพที่ 5.4 ความเป็นพิษโดยการกินของ Neemix® ต่ออัตราการตายของหนอนผีเสื้อกินใบฝั่งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกินใบฝั่งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr. ระยะที่ 3, 4 และ 5



ภาพที่ 5.5 เปรียบเทียบความเป็นพิษโดยการกินของสารสกัดจากเมล็ดสะเดา  
 ไทยต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn.  
 และหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr.  
 ระยะที่ 3, 4 และ 5 (LC<sub>50</sub> ที่ 240 ชม.)

เนื่องจากสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในสารสกัดจากเมล็ดสะเดามีหลายชนิด เช่น azadirachtin, salanin และ nimbidin เป็นต้น (Jones, et al. 1989) และสำหรับสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยในรูปการค้า (Neemix®) จะมีการผสมสาร ตะไคร้ และ ข่า (Boonthai, 1994) ซึ่งมีสาร citronella และ geraniol (Thongtawat, 1990) ซึ่งสารเหล่านี้อาจส่งผลกระทบต่อรวมกันกับสารออกฤทธิ์ในเมล็ดสะเดา ซึ่งกลไกการออกฤทธิ์ในแมลงแต่ละชนิดยังแตกต่างกัน ปริมาณสารออกฤทธิ์ คือ สาร azadirachtin ยังขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด ตัวทำละลาย ตลอดจนส่วนต่าง ๆ ของสะเดาที่นำมาใช้ในการสกัด นอกจากนี้ยังพบว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดจะเพิ่มขึ้นถ้าปริมาณของสารที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้น (Sharma, et al. 1983; ชัยพัฒน์ และ คณะ 2537) Jacobson, et al. (1981) ทำการศึกษาถึงปริมาณสาร azadirachtin ที่ตรวจพบโดยวิธี High - performance liquid chromatography (HPLC) จากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ กัน พบว่า การสกัดด้วยเอทานอล เมทานอล และ อะซีโตน ให้ปริมาณสาร azadirachtin ต่างกัน คือ 2.8, 2.6 และ 0.74 % ตามลำดับ Boonthai (1994) รายงานการตรวจพบปริมาณสาร azadirachtin พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยซึ่งสกัดโดยวิธี neem seed crude extract โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายจะให้ปริมาณสาร azadirachtin สูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 0.13 % w/w และไม่พบสาร azadirachtin ที่สกัดได้จากใบสะเดา

อย่างไรก็ตาม ผลกระทบจากสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งอาจอธิบายได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยเป็นพิษต่อหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งขนาดเล็กทางการกิน (stomach poison) มากกว่าทางสัมผัส (contact poison) สารออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาน่าจะขึ้นอยู่กับสาร azadirachtin เนื่องจากสารนี้พบเป็นปริมาณมากกว่าสารชนิดอื่น ๆ (Jones, et al., 1989; Schumutter, 1990) และกลไกการออกฤทธิ์ของสาร azadirachtin ในหนอนผีเสื้อกินใบฝิ่งทั้งสองชนิด อาจจะเกี่ยวข้องกับการที่สาร azadirachtin ไปรบกวนการทำงานของเอนไซม์ monooxygenase enzyme ซึ่งเอนไซม์ตัวนี้มีหน้าที่เกี่ยวกับการลดระดับความเป็นพิษหรือทำลายสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ภายในตัวแมลง Rembold (1989) รายงานว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสาร azadirachtin ที่สกัดจากเมล็ดสะเดาจะไปรบกวนการสร้างและหลั่งฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการลอกคราบส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแมลง National Research Council (1992) อธิบายว่า สาร azadirachtin มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมน ecdyzone จึงมีผลต่อการยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนชนิดนี้ และส่งผลให้แมลงไม่สามารถลอกคราบได้และตายในที่สุด ซึ่งในปัจจุบันกลไกการออกฤทธิ์ และผลกระทบของสารที่มีต่อแมลงชนิดต่าง ๆ ยังคงต้องการรายงานการค้นคว้าและวิจัยต่อไป



การทดลองที่เกี่ยวกับความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนผีเสื้อกินใบ ผีเสื้อขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินใบผีเสื้อขนาดเล็ก ยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยไว้ แต่นักวิทยาศาสตร์ ได้ศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาต่อแมลงชนิดอื่น ๆ พบว่า สารสกัดจากสะเดา สามารถควบคุมแมลงได้หลายชนิดในอัตราความเข้มข้นที่ต่ำ Prabhaker (1986) พบว่า สารสกัด จากเมล็ดสะเดาที่ความเข้มข้น 2 % ให้อัตราการตายต่อหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* ระยะที่ 3, และ 4 มีค่าเท่ากับ 86 และ 72 % ตามลำดับ ที่ 120 ชม. Mariappan et al. (1988) รายงานว่าสามารถควบคุมเพลี้ยจักจั่นสีเขียว *Nephotettix virescens* ได้โดยใช้น้ำมันสะเดา อินเดีย (neem oil) ที่ความเข้มข้น 5 % ให้อัตราการตาย 100 % ที่ 96 ชม. Thongtawat (1991) ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน *Heliothis armigera* ระยะที่ 4 พบว่าที่ความเข้มข้น 5 % ให้อัตราการตาย 86 % ที่ 72 ชม.

Boonthai (1994) ได้ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยที่สกัดโดยวิธี neem seed crude extract และในรูปการค้า Neemix® โดยวิธีหยดสารลงบนลำตัว (topical application) ต่อผึ้งโพรง (*Apis cerana*) มีค่า  $LC_{50}$  เท่ากับ 37.60 และ 79.90 % ตามลำดับ ส่วนในผึ้งมีม (*Apis florea*) มีค่าเท่ากับ 131.64 และ 209.90 % ตามลำดับ จากผลการศึกษา ในครั้งนี้ พบว่า ค่า  $LC_{50}$  ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนผีเสื้อกินใบผีเสื้อขนาดใหญ่และ หนอนผีเสื้อกินใบผีเสื้อขนาดเล็กระยะที่ 3, 4 และ 5 มีค่าน้อยกว่าในผึ้งโพรงและผึ้งมีม แสดง ให้เห็นว่า การนำผลการศึกษาจากห้องปฏิบัติการไปดัดแปลงเพื่อใช้ในทางปฏิบัติจะไม่เป็นพิษต่อผึ้ง ทั้งสองชนิด แต่การนำไปใช้ในทางปฏิบัติจะต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยทางกายภาพ เช่น แสงแดด อุณหภูมิและความชื้น เป็นต้น ที่อาจมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดา พบว่า แสงแดด รังสีอุลตราไวโอเล็ต (ultraviolet) มีผลต่อการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ คือ สาร azadirachtin (Barnby et al., 1989) และสาร azadirachtin จะสลายตัวได้เร็วที่อุณหภูมิสูง (ชัยพัฒน์ และ คณะ, 2537)