

น้ำมันสะเดาข้าง/-อินเดีย :
ศักยภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงสองจุดในระยะตัวเต็มวัย
Marrango-/ Neem oil :
Potential in the control of adult stage of two-spotted spider mite

โดย
อัญชลี สงวนพงษ์
Unchalee Sanguanpong

สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปาง ลำปาง 52000
Rajamangala Institute of Technology Lampang Campus
Lampang 52000

น้ำมันสะเดาข้าง-อินเดีย : ศักยภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงสองจุดในระยะตัวเต็มวัย
อัญชลี สงวนพงษ์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปาง ลำปาง 52000

ในการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดประเภทน้ำมันจากพืชตระกูล Meliaceae เช่น น้ำมันสะเดาข้าง น้ำมันสะเดาอินเดีย และสารสกัดจากเพนเทนเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัด Azeotropes mixture (สารสกัด AZT) โดยการฉีดพ่นสารสกัดลงบนไรแดง (*Tetranychus urticae*) พบว่าอัตราการตายของไรแดงตัวเต็มวัย เพศเมีย 3 วันหลังการฉีดพ่นด้วยน้ำมันสะเดาข้างสูงกว่าสารสกัดเพนเทน น้ำมันสะเดาอินเดีย และสาร AZT ตามลำดับ นอกจากนี้ยังทำให้ความสามารถในการวางไข่ของไรแดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญอีกด้วย ผลการแยกส่วนที่เป็น polar และ nonpolar components ออกจากกันโดยวิธี Liquid-liquid extraction และนำสารทั้งสองส่วนมาทดสอบ พบว่าส่วนที่เป็น polar components ซึ่งเป็นส่วนที่มีสาร azadirachtin เป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงมีผลต่อไรแดงน้อยกว่าส่วนที่เป็น nonpolar components การวิเคราะห์หาปริมาณสาร azadirachtin ในสารสกัดชนิดต่างๆโดยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) แสดงให้เห็นว่าสาร azadirachtin ไม่ใช่สารออกฤทธิ์หรือองค์ประกอบหลักที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดต่อไรแดง

Marrango-/ Neem oil : Potential in the control of adult stage of two-spotted spider mite
Unchalee Sanguanpong Rajamangala Institute of Technology , Lampang 52000

Test on the efficacy of some oil-based extracts from the plants in the family Meliaceae as marrango oil, neem oil and pentane extract, comparing with Azeotropes mixture (AZT extract) by topical application showed that the mortality of adult females of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) at 3 days after treatment with marrango oil was higher than with pentane extract, indian neem oil and AZT extract respectively. Moreover, the ability of egg-laying was also reduced significantly. The partition between polar and nonpolar components of neem oil and pentane extract by using Liquid-liquid extraction indicated that the polar components of neem oil and pentane extract, which contain the most active insecticidal substance Azadirachtin was less effective than the nonpolar components. Quantification of the insecticidal substance Azadirachtin in the extracts by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) revealed that this compound is not the most active principle against spider mite.

คำนำ

เมล็ดสะเดาประกอบด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญๆหลายชนิดเช่น azadirachtin, salannin, meliantriol, nimbin, minbidin, desacetylsalannin ฯลฯ แต่สารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพต่อแมลงมากที่สุดคือ azadirachtin ซึ่งเป็นสารประกอบพวก tetranortriterpenoids (Butterworth and Morgan, 1968) จากรายงานผลการวิจัยที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากสะเดามีฤทธิ์ต่อแมลงหลายอันดับเช่น Lepidoptera, Coleoptera, Orthoptera, Homoptera, Hemiptera, Diptera ฯลฯ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชหลายด้านเช่นเป็นสารไล่แมลง สารยับยั้งการกินอาหาร สารยับยั้งการเจริญเติบโต ลดความสามารถในการวางไข่ของแมลงตัวเต็มวัยรวมถึงลดความสามารถในการฟักของไข่แมลงและไรแดง (Schauer, 1980; Shin-Foon, 1985 ; Schmutterer, 1990 ; Sanguanpong and Schmutterer, 1992)

งานทดลองวิจัยศึกษาหาประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาที่ผ่านมา ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดแมลง งานทดลองเกี่ยวกับไรศัตรูพืชยังมีการศึกษากันน้อยมากอย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเช่น Jacobson และคณะ (1978) ได้ทดสอบสารสกัดจากเมล็ดสะเดากับไรไม้ผล *Panonychus citri* พบว่าสารสกัดจากสะเดามีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหารของไรทดสอบ Schauer and Schmutterer (1981) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาด้วยน้ำและเมทธานอล นอกจากจะมีฤทธิ์ในการยับยั้งการกินอาหาร และความสามารถในการวางไข่ของตัวเต็มวัยแล้วยังมีฤทธิ์เป็นสารป้องกันและกำจัดไรแดงสองจุด (*Tetranychus urticae*) ในระยะไข่อีกด้วย การทดลองของ Shin-Foon (1985) ที่ทดสอบการใช้น้ำมันสะเดากับไรไม้ผล (*P. citri*) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันสะเดาความเข้มข้นเพียง 0.5% มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันและกำจัดไรแดง และในขณะเดียวกันยังมีความปลอดภัยต่อไรตัวห้ำ *Amblyseius sp.* ที่เป็นศัตรูธรรมชาติที่สำคัญของไรศัตรูพืชอีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเลี้ยงไรแดงให้ได้ปริมาณมาก

ทำการเลี้ยงภายใต้สภาพห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 3 °C ; ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 %; ช่วงความยาว/สั้นของแสง 16/8 ชม./วัน) พืชอาหารที่ใช้คือถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* Sorte "Saxa") โดยทำการเปลี่ยนพืชอาหารที่มีอายุประมาณ 2 อาทิตย์ทุกๆ 4-7 วัน

2. การสกัดสารชนิดต่างๆ

วิธีการอัดบีบน้ำมันสะเดาช้าง น้ำมันสะเดาอินเดีย และสกัดสารชนิดต่างๆเช่นสารสกัดเพนเทนและสารสกัด AZT สามารถศึกษาหาวิธีการดูได้จาก Sanguanpong and Schmutterer (1992)

3. เทคนิควิธีการทดสอบ

ตัดใบพืชโดยใช้ประเก็นขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. เจ็ยไรแดงตัวเต็มวัยเพศเมียอายุประมาณ 3 วันลงบนใบพืช ถัดไปสารทดสอบชนิดต่างๆลงบนใบพืชที่มีไรแดงทดสอบโดยใช้เครื่อง potter sprayer tower, ความดัน 15 ปอนด์ / นิ้ว² และปริมาณสารทดสอบ 2 ซีซีต่อทริตเมนต์ นำใบพืชที่ถูกฉีดพ่นสารทดสอบแล้วไปทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำไปใส่ในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. เพื่อตรวจนับผลการทดลองต่อไป เช็ผลการทดลองโดยนับปริมาณไรแดงที่เหี่ยวรอดชีวิตหรือหนีออกจากใบพืช และจำนวนไข่ที่ถูกวางในแต่ละวัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดสอบสารสกัดประเภทน้ำมันสะเดาเช่นน้ำมันสะเดาช้าง/-อินเดียและสารสกัดเพนเทน เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสาร AZT ซึ่งมีสารออกฤทธิ์สำคัญต่อแมลงคือ azadirachtin ในปริมาณมากพบว่า การใช้น้ำมันสะเดาช้างทำให้อัตราการตายของไรแดงสูงกว่า การใช้สารสกัดเพนเทน และน้ำมันสะเดาอินเดียที่อัตราความเข้มข้นเดียวกัน ทั้งนี้โดยมีค่า LC₅₀ (%) ของน้ำมันสะเดาช้างเป็น 1.15% สารสกัดเพนเทนและน้ำมันสะเดาอินเดียมีค่าเป็น 1.33 และ 2.06% ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามสารสกัด AZT ความเข้มข้นสูงกว่า 4% ขึ้นไปจึงจะทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของไรแดงมากกว่า 50% (ค่า LC₅₀ = 3.86 %) ผลดังแสดงในตารางที่ 1 นอกจากนี้ความสามารถในการวางไข่ของไรแดง (ภาพที่ 1) ที่ถูกฉีดพ่นด้วยน้ำมันสะเดาช้าง 0.5 % จะแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับตัวควบคุม (control) ในขณะที่ต้องใช้สารสกัดเพนเทน 1% น้ำมันสะเดาอินเดีย 2% และสารสกัด AZT สูงถึง 4% จึงจะมีความแตกต่างทางสถิติกับตัวควบคุม

ผลการทดลองนี้ให้ผลคล้ายคลึงกับการทดสอบของ Mansour and Ascher (1984) ที่ทำการทดลองโดยฉีดพ่นสารสกัดจากสะเดาด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆเช่น pentane, chloroform, butanol, acetone, methanol และน้ำกับไรแดง (*T. cinnabarinus*) พบว่าสารสกัดจากสะเดาที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์พวก nonpolar เช่น pentane, chloroform มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงดีกว่าสารสกัดประเภท polar เช่น methanol และน้ำ นอกจากนี้ Schauer (1980) และ Schauer and Schmutterer (1981) รายงานผลการทดลองในทำนองเดียวกันว่าการใช้สารสกัดจากสะเดาด้วยน้ำและเมทานอลกับไรแดง *T. urticae* ต้องใช้สารความเข้มข้นสูงถึง 2.5-10% จึงจะมีผลในการเป็นสารไล่หรือมีผลในการยับยั้งการวางไข่ของไร

การใช้วิธี Liquid-liquid extraction ในการแยกส่วนที่เป็น polar และ nonpolar components ออกจากกันโดยใช้ petrolether และ methanol เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้สารที่มีลักษณะเป็น nonpolar components จะอยู่ในส่วนของ petrolether phase (PB-phase) ในทางตรงกันข้ามสารที่มีลักษณะเป็น polar components จะอยู่ในส่วนของ methanol phase (MeOH-phase) ตารางที่ 2 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ผลผลิตจากการแยกส่วนน้ำมันสะเดาและสารสกัดเพนเทนโดยวิธีการดังกล่าว การทดสอบประสิทธิภาพของส่วนที่เป็น nonpolar และ polar components ของน้ำมันสะเดากับไรแดง พบว่า PB-phase มีประสิทธิภาพดีกว่า MeOH-phase โดยมีผลทั้งต่อ

เปอร์เซ็นต์การตายและการลดความสามารถในการวางไข่ของไรทดสอบ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 2) ประสิทธิภาพของสาร azadirachtin ในรูปของ NeemAzal (ผลิตภัณฑ์ของบริษัท Trifolio-M, Lahnau, Germany) ความเข้มข้นสูงถึง 5000 ppm มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของไรแดงเพิ่มขึ้นเพียง 14.02 % การนำเอา NeemAzal มาผสมรวมกับ PB-phase และ MeOH-phase ไม่แสดงผลในการเพิ่มประสิทธิภาพ กล่าวคือเปอร์เซ็นต์การตายของไรแดงไม่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้นหรือความสามารถในการวางไข่ก็ไม่ลดลงตามความเข้มข้นของสารที่เพิ่มขึ้นในทางตรงกันข้ามกลับทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของไรแดงลดลง นอกจากนี้พบว่าประสิทธิภาพของ polar และ nonpolar components ของสารสกัดเพนเทนให้ผลเช่นเดียวกับการทดสอบของน้ำมันสะเดา ผลการทดลองนี้พบว่ามีความแตกต่างกับการทดลองอื่นๆที่ทำการทดสอบกับแมลงอย่างสิ้นเชิง Narayanan และคณะ (1978) รายงานว่าการทดสอบ polar phase ของน้ำมันสะเดากับ *Schistocerca gregaria* Forsk. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการกินอาหารของแมลงมากกว่า nonpolar phase นอกจากนี้ผลการวัดปริมาณสาร azadirachtin ในสารสกัดชนิดต่างๆ (ตารางที่ 4) ยังแสดงให้เห็นว่าสาร azadirachtin ไม่น่าที่จะเป็นสารออกฤทธิ์หลักในการป้องกันและกำจัดไรแดง เนื่องจากสารสกัด AZT และ NeemAzal ที่มีสาร azadirachtin สูงถึง 9.36 และ 35 % (W/W) มีผลต่ออัตราการตายของไรแดงและความสามารถในการวางไข่ของไรแดงน้อยกว่าน้ำมันสะเดาซึ่ง น้ำมันสะเดาอินเดียและสารสกัดเพนเทนซึ่งมีปริมาณสารเพียง 0.01, 0.01 และ 0.007% (W/W)

จากผลการทดลองที่ผ่านมาชี้ให้เห็นว่าสารสกัดประเภทน้ำมันจากสะเดาและ nonpolar components ของน้ำมันสะเดามีศักยภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงได้เป็นผลดี ในขณะที่ส่วนที่เป็น polar components หรือสารสกัดประเภทแอลกอฮอล์มีศักยภาพในการป้องกันและกำจัดน้อยกว่า แต่สามารถที่จะนำไปใช้เป็นสารป้องกันและกำจัดแมลงได้ นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบราคาของสารสกัดจากสะเดากับยาป้องกันและกำจัดแมลงและไรศัตรูพืชนั้นจะเห็นได้ว่า นับเป็นข้อได้เปรียบของสารสกัดจากสะเดาที่มีราคาถูกและสามารถหาวัตถุดิบได้ทั่วไป

หนึ่งในการนำเอาน้ำมันสะเดาไปใช้ประโยชน์ในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืชนั้นยังควรต้องคำนึงถึงปัญหาและเทคนิคในการนำไปใช้บางประการเช่นเทคนิคการผสมหรือปรุงแต่งน้ำมันสะเดากับ emulsifier เพื่อให้อยู่ในรูปแบบที่ละลายน้ำได้ดี ปัญหาการเกิดความเป็นพิษต่อพืชปลูก (phytotoxicity) หรือผลกระทบ/ผลข้างเคียงที่มีต่อศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูพืชอีกด้วย

สรุป

สารสกัดประเภทน้ำมันจากสะเดาเช่น น้ำมันสะเดาซึ่ง น้ำมันสะเดาอินเดีย และสารสกัดเพนเทน มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงตัวเต็มวัยดีกว่าสารสกัดประเภทแอลกอฮอล์เช่น สาร AZT โดยจะมีผลต่ออัตราการรอดชีวิต และลดความสามารถในการวางไข่ของไรแดง การทดลองแยกส่วนที่เป็น polar และ nonpolar components ของน้ำมันสะเดาออกจากกันและนำมาทดสอบประสิทธิภาพกับไรแดงพบว่า สาร

nonpolar components มีประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงดีกว่า polar components การนำเอา azadirachtin ในรูปของ NeemAzal (35% azadirachtin contents W/W) มาผสมรวมกับส่วนทั้งสองและนำมาทดสอบกับไรแดงพบว่า NeemAzal ความเข้มข้นสูงสุด (5000 ppm) ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์การตายของไรแดงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับ PB-phase และ PB-phase ผสมรวมกับ NeemAzal 5000 ppm

การวัดปริมาณสาร azadirachtin ในสารสกัดชนิดต่างๆแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่า NeemAzal จะมีปริมาณสาร azadirachtin สูงสุด (35%) แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันและกำจัดไรแดงโดยตรงกล่าวคือสาร azadirachtin ไม่น่าที่จะเป็นสารออกฤทธิ์หรือองค์ประกอบหลักที่มีผลต่อไรแดงศัตรูพืช

เอกสารอ้างอิง

- Jacobson, M., D.K. Reed, M.M. Crystal, D.S. Moreno and E.L. Soderstrom. 1978.** Chemistry and biological activity of insect feeding deterrents from certain weed and crop plants. *Entomologia exp. appl.* 24, 448-457.
- Mansour, F.A. and K.R.S. Ascher. 1984.** Effects of neem (*Azadirachta indica*) seed kernel extracts from different solvents on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus* . *Proc. 2nd Int. Neem Conf. Rauschholzhausen 1983.* 461-470.
- Narayanan, C.R., R.P. Singh and D.D. Sawaikar. 1978.** Phagodeterreny of various fractions of neem oil against *Schistocerca gregaria* F. . *Pesticides.* 12. 31-32.
- Sanguanpong, U. and H. Schmutterer. 1992.** Laboratory trials on the effects of neem oil and neem-seed based extracts against the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae). *J. Plant Diseases and Protection.* 99(6). 637-646.
- Schauer, M. 1980.** Wirkung von Extrakten aus *Azadirachta indica* und *Ajuga* spp. auf die Gemeine Spinnmilbe *Tetranychus urticae* Koch. Master Thesis, Justus-Liebig University of Giessen, Germany.
- Schauer, M. and H. Schmutterer. 1981.** Effects of neem kernel extracts on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Proc. 1st Int. Neem Conf. ,Rottach-Egern, 1980,* pp. 259-266.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree , *Azadirachta indica* A. Juss. *Annual Rev. Ent.* 35.271-297.
- Shin-Foon, C. 1985.** Recent research findings on Meliaceae and other promising botanical insecticides in China. *J. Plant Diseases and Protection.* 92. 310-319.

Tab. 1 Mortality (%) of adult females of *T. urticae* at 3 days after treatment with different neem oil-based extracts

conc.(%)	Neem oil	Pentane extr.	AZT extr.	Marrango oil
control	0.00 f (1)	0.00 e	0.00 f	0.00 d
EMC (2)	2.54 ef	9.09 de	1.37 ef	15.10 cd
0.10	24.19 de	14.54 cd	18.46 de	8.76 cd
0.50	32.27 cde	14.54 cd	20.50 de	27.55 c
1.00	37.09 cd	43.63 bc	28.42 cd	76.67 b
2.00	51.60 bc	57.26 ab	41.09 bc	81.66 ab
4.00	62.90 ab	61.62 ab	56.16 b	100.00 a
8.00	77.41 a	76.35 a	78.07 a	100.00 a

(1) Means in the same column within each test followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test)

(2) EMC means emulsifier control for :

AZT extr. : MeOH 80%

Neem oil, pentane extr. and marrango oil : synperonic NP 10 and arlatone 4995

Tab. 2 Percentage of productivity of polar and nonpolar components from neem oil and pentane extract after Liquid-liquid extraction

Extract	Phase	% Product \pm SD
Neem oil	PB-phase	97.62 \pm 2.55
	MeOH-phase	2.31 \pm 2.47
Pentane extr.	PB-phase	97.90 \pm 2.38
	MeOH-phase	2.09 \pm 2.50

Tab.3 Effects of Azadirachtin in form of NeemAzal and different components from neem oil to the young females of *T. urticae*

conc. (%)	PB-phase	PB-phase+ NeemAzal	MeOH-phase	MeOH-phase+ (1) NeemAzal	NeemAzal	conc. of NeemAzal (ppm)
control	0.00 c ⁽²⁾	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.00 b	control
EMC ⁽³⁾	0.00 c	0.00 b	0.00 c	7.00 b	1.77 ab	EMC
0.50	59.78 b	8.86 b	10.33 b	26.16 a	3.56 b	500
1.00	75.79 a	10.00 b	10.33 b	12.27 ab	5.35 b	1000
1.50	88.87 a	61.73 a	12.25 ab	10.44 ab	7.13 ab	2000
2.00	89.58 a	64.71 a	12.25 ab	7.00 b	8.23 ab	3000
2.50	91.31 a	73.50 a	15.49 ab	7.00 b	10.51 ab	4000
3.00	91.31 a	79.41 a	22.38 a	8.77 b	14.02 a	5000

(1) Every extract contains 5000 ppm of NeemAzal

(2) Means in the same column within each test followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$, Duncan's multiple range test)

(3) EMC means emulsifier control for :

PB-phase / PB-phase +NeemAzal : synperonic NP 10 + arlatone4995

MeOH-Phase/MeOH-Phase+NeemAzal : Methanol

Tab. 4 Azadirachtin contents in the different neem-based extracts

Extract	% Azadirachtin (W/W)
Neem oil	0.010
Pentane extract	0.007
Marrango oil	0.010
AZT extract	9.360
NeemAzal	35.000
