

**Thesis Title** Effect of Neem Extract Against Housefly, *Musca domestica* L.  
(Diptera: Muscidae) and Blowfly, *Chrysomya megacephala* (F.)  
(Diptera: Calliphoridae)

**Author** Miss Sirisuda Siriwattananurongsee

**Degree** Doctor of Philosophy (Parasitology)

**Thesis Advisory Committee**

Assoc. Prof. Dr. Kom Sukontason, M.D.	Chairperson
Assoc. Prof. Dr. Kabkaew Sukontason	Member
Assoc. Prof. Dr. Orawon Chailapakul	Member

**ABSTRACT**

The commercially produced Thai neem extract was evaluated for its effect on the larval and pupal mortality, adult emergence, adult longevity and fecundity for three generations of the housefly, *Musca domestica* L. and the blowfly, *Chrysomya megacephala* (F.), the two most medically important fly species in Thailand. Both species were exposed by feeding and dipping applications to third instar and pupae with 0.025%, 0.05%, 0.1% and 0.2% diluted commercially produced Thai neem extract (THAI NEEM PRODUCTS CO., LTD, Thailand), containing 0.24% azadirachtin A. For third instars, both application methods were applied once on the first day of the third instar for single dose application treatments and then everyday until the beginning of pupation for multiple dose application treatment groups. For

pupae, only the dipping applications were made once on 3-day-old pupae for single dose treatment groups and then everyday until adult emergence for multiple dose application treatments. Adults of both species were fed with 10% glucose mixed with 1.5% multivitamin syrup and fresh beef for 5 days before being separated according to sexes; females were transferred into a small cage for individual observation with the purpose of prospective fecundity.

The results showed that larval mortality increased proportionately with the increasing concentration of neem extract and was significantly different from the control group. Additionally, those larvae dipped in the 0.2% concentration of neem extract daily until the beginning of pupation displayed the highest mortality rates in both fly species with *M. domestica* larval mortality at 37.78% and *C. megacephala* larval mortality at 24.44%. During the pupal stage, the difference in pupal mortality was significant. Those pupae exposed to the 0.2% neem extract daily until adult emergence during pupal development, had the highest pupal mortality with *M. domestica* mortality at 72.22% and *C. megacephala* at 68.89%.

The number of adults emerging from the experimental treatments varied according to the different concentration of neem extracts. Those exposed to the highest concentration of neem extract had a reduced longevity when compared to those exposed to lower concentrations. After exposure to the neem extracts for several days in both immature stages, adult emergence was lower than those exposed to the neem extract only once. However, adult emergence in all experimental groups was found to be significantly different from that of the control. Third instar *M. domestica* and *C. megacephala* showed the lowest adult emergence (14.44% and 18.89%,

respectively) after exposure to the 0.2% concentration of neem extract daily until the beginning of pupation.

The adults reared from the third instar exposed to the neem extract for several times until beginning of pupation had significantly lower weight and shorter wing length when compared to those of the control. Housefly and the blowfly larvae exposed to the 0.2% concentration of neem extract until the beginning of pupation demonstrated the lowest pupal weight of 0.024 mg and 0.38 mg, respectively. When comparing wing length, the housefly and the blowfly larvae exposed to the neem extract concentration of 0.2% until the beginning of pupation showed a significant shorter adult wing length of 5.2 mm and 7.6 mm, respectively when compared with the control groups.

The fecundity of housefly and blowfly was also proportional to the concentration of neem extract which is represented by a negative linear relationship between the number of the second instar and the concentration of neem extract. The fecundity of adults reared from the third instar and pupae exposed to the 0.2% concentration of neem extract several times was reduced to zero in both fly species.

Adults reared from the third instar and pupae exposed to neem extract for several times showed significantly shorter longevity than that of control. In addition, those exposed to higher concentration of neem extract had shorter longevity than those exposed to the lower concentrations of neem extract. However, the longevity of the adult male and female housefly and blowfly did not differ significantly during the study.

In addition to changes in life history parameters there were superficial changes in the integument of the third instar and pupal stage of housefly and blowfly exposed

by dipping in 0.2% concentrations of neem extract as observed under scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). Dipping bioassay was made once and several times in the third instar and pupal stage until the beginning of pupation and adult emergence occurred. Investigation by SEM and TEM showed several deformations in the neem extract-dipped larvae of both species including: swelling of the integument, bleb formation, and deformation of intersegmental spines, which were all atypical phenomena. Neem extract-dipped pupae of both species showed remarkable integumental changes including swollen integument and bleb formation. The deformations became progressively more severe as the number of dipping applications was increased (several times exposures). In addition, TEM cross-sections of the integument showed swelling of the epicuticle and procuticle layers that strongly supported the morphological changes observed in the SEM study.

Application of neem extract to immature stages of the housefly and the blowfly caused significant alterations to several life history parameters in these fly species. Suggesting that the application of neem extract may be a means to reduce fly production in the field. This work will be useful to future studies on the use of neem in fly control in the field.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของสะเดาสกัดต่อแมลงวันบ้าน *Musca domestica* L.

(Diptera: Muscidae) และแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya*

*megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae)

ผู้เขียน นางสาวสิริสุดา สิริวัฒนารัมย์

ปริญญา วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ปรสตีวิทยา)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ. ดร. นพ. कम สุคนธสรทรัพย์ ประธานกรรมการ

รศ. ดร. กาบแก้ว สุคนธสรทรัพย์ กรรมการ

รศ. ดร. อรวรรณ ชัยลภากุล กรรมการ

บทคัดย่อ

การทดสอบสะเดาสกัดต่อแมลงวันบ้าน *Musca domestica* และแมลงวันหัวเขียว

*Chrysomya megacephala* ซึ่งเป็นแมลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ทำในสองระยะของวงจร

ชีวิต คือตัวอ่อนระยะที่สามและระยะดักแด้ โดยทำการศึกษาถึงอัตราการตาย อัตราการเจริญเติบโต

สู่ระยะตัวเต็มวัย ความสามารถในการผลิตรุ่นต่อไป (Fecundity) ทั้งหมดสามรุ่น ซึ่งสะเดาไทยสกัด

(THAI NEEM PRODUCTS CO., LTD, Thailand) ที่ใช้มีส่วนประกอบที่สำคัญคือ Azadirachtin A

ร้อยละ 0.24 นำไปเจือจางด้วยน้ำกลั่นก่อน จนได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.025, 0.05, 0.1 และ 0.2 การ

ทดสอบในตัวอ่อนระยะที่สาม ทำการศึกษาสองวิธี คือการให้ตัวอ่อนกิน (Feeding) นำสะเดาสกัดที่

เตรียมด้วยความเข้มข้นต่างๆผสมกับเนื้อวัวคเพื่อเป็นอาหารตัวอ่อน โดยการให้กินนั้นได้แบ่งเป็นสองกลุ่มคือให้กินเพียงครั้งเดียว และให้กินหลายครั้ง ส่วนวิธีที่สองคือการจุ่มตัวอ่อน (Dipping) ทำโดยจุ่มตัวอ่อนระยะที่สามลงในสะเดาสกัด โดยแบ่งเป็นสองกลุ่มคือจุ่มเพียงครั้งเดียวและจุ่มทุกวันจนกว่าจะเป็นดักแด้

การทดสอบในระยะดักแด้ทำโดยวิธีจุ่ม (Dipping) นำดักแด้ที่มีอายุ 3 วันของแมลงวันทั้งสองชนิด จุ่มในสะเดาสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ แบ่งการทดสอบเป็นสองกลุ่มคือจุ่มเพียงครั้งเดียวและจุ่มทุกวันจนกระทั่งดักแด้เจริญเป็นตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นจากทุกการทดลองของตัวอ่อนระยะที่สามและระยะดักแด้ทำการเลี้ยงโดยให้สารละลายน้ำตาลร้อยละ 10 เมื่อตัวเต็มวัยอายุ 5 วัน แยกตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียออกจากกัน โดยตัวเต็มวัยเพศเมียทำการแยกตัวละหนึ่งกรง เพื่อศึกษาจำนวนไข่ที่ได้จากแมลงวันเพศเมียแต่ละตัว และเลี้ยงตัวอ่อนที่เกิดขึ้นเพื่อศึกษาในรุ่นต่อไปสามรุ่น

ผลการศึกษาทั้งโดยวิธีให้กินและวิธีจุ่มพบว่า อัตราการตายของตัวอ่อนเพิ่มขึ้นแปรผันตามความเข้มข้นของสะเดาสกัดที่เพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยในกลุ่มที่ได้รับสะเดาสกัดความเข้มข้นมากที่สุดคือร้อยละ 0.2 ทุกวัน

จนกระทั่งตัวอ่อนกลายเป็นระยะดักแด้นั้น มีอัตราการตายมากที่สุดวันทั้งสองชนิด โดยเฉพาะตัวอ่อนที่ได้รับสะเดาสกัดด้วยวิธีการจุ่ม ซึ่งแมลงวันบ้านมีอัตราการตายร้อยละ 37.78 ส่วนแมลงวันหัวเขียวมีอัตราการตายร้อยละ 24.44 ส่วนการทดสอบในระยะดักแด้พบว่าอัตราการตายมีความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับในระยะตัวอ่อน โดยอัตราการตายที่มากที่สุดพบในกลุ่มดักแด้ของแมลงวันทั้งสองชนิดที่จุ่มในสะเดาสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ทุกวัน ซึ่งในแมลงวันบ้านพบอัตราการตายร้อยละ 72.22 ส่วนแมลงวันหัวเขียวร้อยละ 68.89



จำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นมีการแปรผกผันตามความเข้มข้นของสะเดาสกัด กล่าวคือกลุ่มที่ได้รับสะเดาสกัดความเข้มข้นสูง ทำให้ตัวอ่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้จำนวนน้อย ส่วนตัวอ่อนระยะที่สามและดักแด้ที่ได้รับสะเดาสกัดทุกวันพบว่า เจริญเป็นตัวเต็มวัยน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับสะเดาสกัดเพียงครั้งเดียว อย่างไรก็ตามจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นในทุกกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ โดยตัวอ่อนระยะที่สามที่ได้รับสะเดาสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ทุกวันจนเจริญเป็นดักแด้ของแมลงวันทั้งสองชนิด มีการเกิดตัวเต็มวัยน้อยที่สุดคือร้อยละ 14.44 และร้อยละ 18.89 สำหรับแมลงวันบ้าน และแมลงวันหัวเขียวตามลำดับ

ตัวอ่อนระยะที่สามที่ได้รับสะเดาสกัดหลายครั้ง พบว่ามีน้ำหนักของดักแด้น้อย และความยาวของปีกสั้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ โดยกลุ่มที่ตัวอ่อนระยะที่สามของแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวที่ได้รับสะเดาสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 จนเจริญเป็นดักแด้ มีน้ำหนักดักแด้น้อยที่สุดคือ 0.024 มิลลิกรัมและ 0.38 มิลลิกรัมตามลำดับ เช่นเดียวกับความยาวของปีก กลุ่มที่ตัวอ่อนระยะที่สามของแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวที่ได้รับสะเดาสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.2 จนเจริญเป็นดักแด้มีความยาวปีกสั้นที่สุดคือ 5.2 มิลลิเมตรและ 7.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ

แมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียววางไข่จำนวนลดลงเมื่อให้ความเข้มข้นของสะเดาสกัดเพิ่มขึ้น และความเข้มข้นสะเดาสกัดที่ร้อยละ 0.2 เมื่อได้รับหลายครั้งทั้งในตัวอ่อนระยะที่สามและดักแด้ สามารถยับยั้งการวางไข่ของทั้งแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวได้

ตัวเต็มวัยที่เจริญมาจากตัวอ่อนระยะที่สามและดักแด้ที่ได้รับสะเดาสกัดหลายครั้ง พบว่ามีอายุขัยที่สั้นกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ และกลุ่มที่ได้รับสะเดาสกัดที่มีความเข้มข้นสูงทำให้ตัวเต็มวัยมีอายุขัยสั้นกว่ากลุ่มที่ได้รับที่ความเข้มข้นต่ำกว่า

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวลำตัวของตัวอ่อนระยะที่สามและคักदैของแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียวที่ถูกจุ่มในสเดาศกัคความเข้มข้นร้อยละ 0.2 นาน 1 วินาที และศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน โดยการจุ่มครั้งเดียวและจุ่มทุกวัน พบว่าผิวลำตัวมีการบวม โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่มีการจุ่มทุกวัน ซึ่งสนับสนุนผลที่ได้รับเมื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน โดยเป็นการบวมที่เกิดขึ้นทั้งในชั้นของอีพิคิวติเคิล (Epicuticle) และ โปรคิวติเคิล (Procuticle)

จากผลการศึกษาที่ได้ครั้งนี้ พบว่าสเดาศกัคมีผลในการยั้งยั้งการเจริญเติบโตของแมลงวันบ้านและแมลงวันหัวเขียว จึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถนำสเดาศกัคไปใช้ในการควบคุมประชากรของแมลงวันทั้งสองชนิดนี้ในภาคสนามต่อไป