

HIỆU QUẢ GÂY NGÁN ĂN VÀ GÂY CHẾT CỦA DỊCH CHIẾT NHÂN HẠT NEEM ĐỐI VỚI NGÀI GẠO (*Corcyra cephalonica* St.)

Lê Thị Thanh Phượng, Nguyễn Tiến Thắng

Viện Sinh học Nhiệt đới

(Bài nhận ngày 28 tháng 11 năm 2003)

TÓM TẮT: Dịch chiết từ nhân hạt neem (*Azadirachta indica* A. Juss) trồng tại Ninh Thuận bằng các dung môi ethanol, hexane, methanol và nước được thử nghiệm so sánh với dầu neem sản xuất tại Ấn Độ về hiệu lực gây ngán ăn và gây chết đối với ngài gạo (*Corcyra cephalonica* St.). Kết quả cho thấy các dịch chiết đều có khả năng gây ngán ăn đối với ấu trùng ngài gạo tuổi từ 1 đến 5, trong đó mạnh nhất là dịch chiết methanol với các hệ số tương ứng là 180,7; 159,9; 150,5; 148,7 và 102,8%. Dịch chiết hexane gây ngán ăn yếu nhất với các hệ số tương ứng là 106,6; 100,3; 86,7; 85,2 và 76,0 %. Các dịch chiết cũng có hiệu lực gây chết ngài gạo bằng phương pháp xông hơi, trong đó tác động mạnh nhất đối với ấu trùng tuổi 5 và thành trùng với các giá trị LD_{50} tương ứng là 817,9 and 608,6 μ l. Hiệu lực gây chết giảm dần đối với ấu trùng tuổi 4, trứng, ấu trùng tuổi 3 và nhộng, với các giá trị LD_{50} tương ứng là 1404,7; 1543,1; 2008,0 và 2754,7 μ l. Các dịch chiết ít gây chết ấu trùng tuổi 1 và 2.

1. Đặt vấn đề

Trong những thập niên gần đây, thuốc trừ sâu từ thảo mộc, trong đó có cây xoan chịu hạn còn gọi là cây neem (*Azadirachta indica* A.Juss) được nhiều nước nghiên cứu và sử dụng do chúng có phổ tác động rộng và độ an toàn sinh học cao. Sau khi được Butterworth và Morgan phát hiện và cô lập vào năm 1968, azadirachtin - hoạt chất chính trong nhân hạt neem đã được thử nghiệm và công nhận là chất gây ngán ăn mạnh đối với nhiều loài côn trùng. Các hợp chất khác có trong nhân hạt neem như meliantriol, salannin và vepaol cũng đã được chứng minh là có tác dụng gây ngán ăn đối với một số loài côn trùng [4], [5]. Nhiều nghiên cứu khác cũng cho thấy các hoạt chất từ nhân hạt neem tuy không tác động nhanh và mạnh như thuốc trừ sâu hóa học nhưng vẫn có khả năng gây chết cho nhiều đối tượng côn trùng gây hại [7], [8].

Nghiên cứu này nhằm đánh giá hiệu lực của dịch chiết từ nhân hạt neem trồng tại Việt Nam (Ninh Thuận) đối với ngài gạo (*Corcyra cephalonica* St.), một loại côn trùng nguy hiểm và phổ biến ở các kho lương thực nước ta.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu nghiên cứu

- Sử dụng ngài gạo ở các giai đoạn phát triển khác nhau (trứng, ấu trùng, nhộng và thành trùng) do phòng Công Nghệ Sinh Học Động Vật, Viện Sinh Học Nhiệt Đới cung cấp. Ngài gạo được nuôi ở điều kiện phòng thí nghiệm trên môi trường cám gạo, nhiệt độ: 28 - 30°C, ẩm độ: 75 - 85 %.

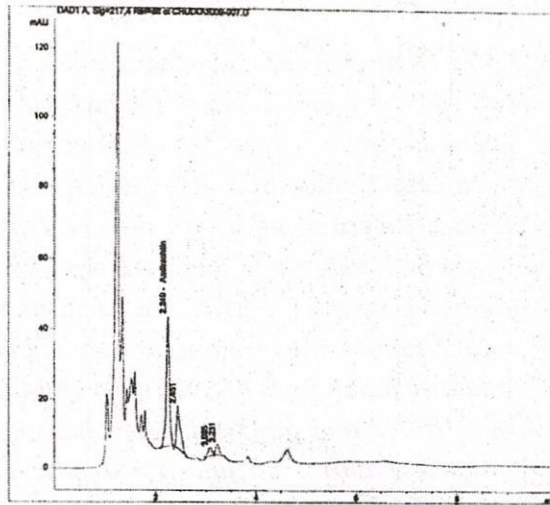
- Bốn loại dịch chiết nhân hạt neem bằng các dung môi ethanol, hexane, methanol và nước được thử nghiệm so sánh với dầu neem do Ấn Độ sản xuất về hiệu quả gây ngán ăn và

gây chết đối với ngài gạo. Hàm lượng azadirachtin trong các dịch chiết thử nghiệm tương ứng là: 7647,1; 79,6; 8163,3; 5543,5 và 90,0 ppm (xác định bằng phương pháp HPLC).

Method name: C:\HPCHEM\1\METHODS\WAXCAY.M
 Raw data file name: C:\HPCHEM\1\DATA\CHUDO\3009-007.D

#	Compound Name	Amount [mg/ml]	Resp. [mAU*s]	IST Meas. RT [min]
1	Azadirachtin	0.080	173.666	2.249
2		0.000	67.475	2.451
3		0.000	13.073	3.085
4		0.000	14.510	3.231

Totals:



Hình 1: Sắc ký đồ định lượng azadirachtin trên HPLC của dịch chiết nhân hạt neem bằng methanol

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thí nghiệm đánh giá hiệu quả gây ngán ăn của dịch chiết nhân hạt neem đối với ấu trùng ngài gạo bằng phương pháp tẩm độc thực phẩm

Chuẩn bị các lát bánh hình tròn làm bằng cám pha bột gạo (tỷ lệ 2:1), dày 1 mm, đường kính 1 cm. Nhúng bánh vào các dịch chiết hạt neem 1% và dung môi ethanol ở nồng độ tương đương trong các dịch chiết. Các lát bánh sau khi được để khô tự nhiên trong phòng (khoảng 30 phút) sẽ được đặt vào các đĩa petri có thả sẵn 10 ấu trùng theo cách bố trí như sau: ở đĩa 1, đặt 2 lát bánh tẩm ethanol (ký hiệu là KK); ở đĩa 2, đặt 1 lát bánh tẩm ethanol và 1 lát bánh tẩm dịch chiết thử nghiệm (ký hiệu là KE); ở đĩa 3, đặt 2 lát bánh tẩm dịch chiết thử nghiệm (ký hiệu là EE).

* Chỉ tiêu đánh giá

Dựa vào trọng lượng thức ăn mà ấu trùng đã sử dụng trong 7 ngày ở 3 đĩa petri, hoạt tính gây ngán ăn của các dịch chiết thử nghiệm được tính như sau:

- Hệ số gây ngán ăn tuyệt đối:

$$A\% = 100 \times (KK - EE) / (KK + EE)$$

- Hệ số gây ngán ăn tương đối:

$$R\% = 100 \times (K - E) / (K + E)$$

- Hệ số gây ngán ăn toàn phần:

$$T\% = A\% + R\%$$

Hệ số gây ngán ăn toàn phần của các hoạt chất gây ngán ăn được xếp theo các thang bậc như sau: 0 - 50 % không có tác dụng gây ngán ăn; >50 - 100 % có tác dụng yếu; >100 - 150 % có tác dụng trung bình và > 150 % có tác dụng mạnh [2].

*** Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu**

Thí nghiệm gồm 25 nghiệm thức (5 loại dịch chiết x 5 lứa tuổi ấu trùng) được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Số liệu được phân tích biến lượng (Analysis of Variance) và phân nhóm xếp hạng các nghiệm thức bằng trắc nghiệm Duncan (Duncan's Multiple Range Test) thao tác trên phần mềm thống kê SAS [3].

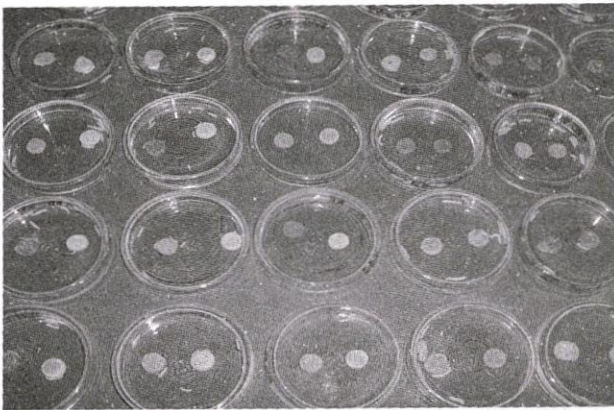
2.2.2. Thí nghiệm đánh giá hiệu quả gây chết của dịch chiết nhân hạt neem đối với ngài gạo bằng phương pháp xông hơi

*** Phương pháp tiến hành thí nghiệm**

Thả 20 ấu trùng (hoặc nhộng, thành trùng hay trứng) vào hộp nhựa (thể tích 500 ml) có chứa 150 g gạo sạch. Cắm vào giữa hộp thí nghiệm 1 eppendorf (loại 2 ml) chứa dịch chiết nhân hạt neem ở liều lượng lựa chọn. Đậy kín nắp hộp trong 3 ngày, sau đó đếm số lượng ấu trùng, nhộng, thành trùng chết và số lượng trứng ung sau đợt xông hơi [1].

*** Phương pháp bố trí thí nghiệm và xử lý số liệu**

Thí nghiệm được bố trí theo kiểu hoàn toàn ngẫu nhiên, 3 lần lặp lại. Các dịch chiết được bố trí ở 5 liều lượng: 62,5; 125; 250; 500 và 1000 µl. Tính tỉ lệ chết của ấu trùng (tuổi từ 1 đến 5), nhộng, trưởng thành và tỉ lệ trứng ung theo từng nghiệm thức và liều lượng đã bố trí, dựa vào đó tính giá trị LD₅₀ của các dịch chiết bằng phương pháp phân tích Probit (Probit Analysis), thao tác trên phần mềm Excel [3].



Hình 2: Bố trí thí nghiệm ngăn ăn



Hình 3: Bố trí thí nghiệm xông hơi

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Hiệu quả gây ngăn ăn

Kết quả ở bảng 1 cho thấy các dịch chiết nhân hạt neem thử nghiệm đều có hiệu lực gây ngăn ăn đối với ấu trùng ngài gạo. Trong đó, dịch chiết bằng methanol có hiệu lực mạnh nhất với hệ số ngăn ăn toàn phần khác biệt có ý nghĩa thống kê so với những dịch chiết còn lại, tương ứng từ tuổi 1 đến tuổi 5 là 180,7; 159,9; 150,5; 148,7 và 102,8 %. Như vậy, dịch chiết methanol được xếp vào loại gây ngăn ăn mạnh cho ấu trùng ngài gạo tuổi từ 1 đến 3 và gây ngăn ăn trung bình cho ấu trùng tuổi 4 và 5.

Bảng 1: Hệ số ngăn ăn toàn phần ở các nghiệm thức xử lý dịch chiết hạt neem theo các lứa tuổi ấu trùng ngài gạo

Dịch chiết	Ấu trùng tuổi 1	Ấu trùng tuổi 2	Ấu trùng tuổi 3	Ấu trùng tuổi 4	Ấu trùng tuổi 5
Ethanol	168,8 b	149,1 b	132,3 b	128,8 b	87,6 c
Hexane	106,6 e	100,3 d	86,7 c	85,2 c	76,0 d

Methanol	180,7 a	159,9 a	150,5 a	148,7 a	102,8 a
Nước	151,6 d	138,7 c	130,9 b	130,1 b	88,5 c
Ấn Độ	162,1 c	140,6 c	132,5 b	130,2 b	98,5 b

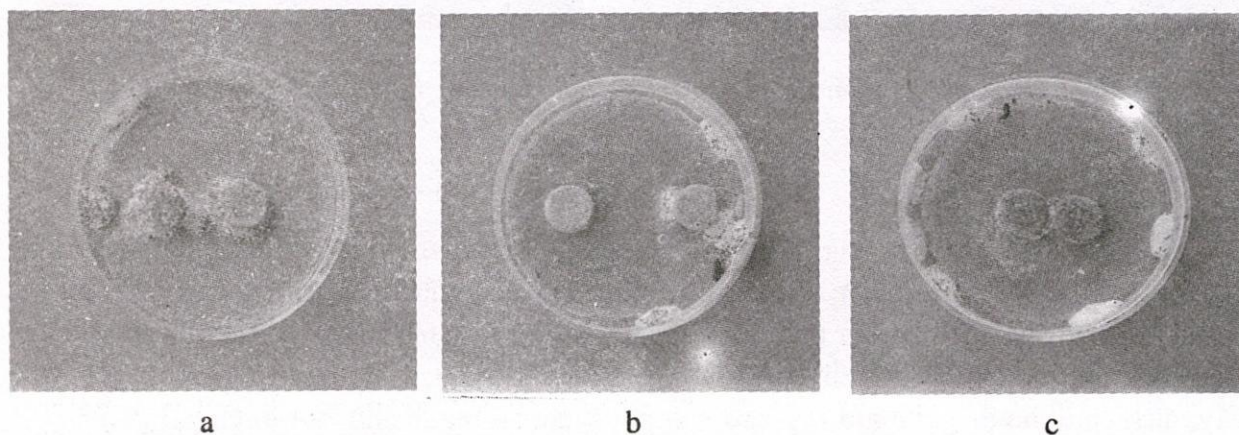
* Các trị số trong một cột có cùng ký tự không khác biệt về mặt thống kê ở $P < 0,05$.

Sau dịch chiết nhân hạt neem bằng methanol, dịch chiết bằng ethanol cũng có tác dụng gây ngán ăn mạnh cho ấu trùng ngài gạo tuổi từ 1 đến 2 và gây ngán ăn ở mức trung bình cho ấu trùng tuổi từ 3 đến 5. Hệ số ngán ăn toàn phần theo các tuổi từ 1 đến 5 tương ứng là: 168,8; 149,1; 132,3; 128,8 và 102,8 %.

Dầu neem Ấn Độ cũng gây ngán ăn mạnh cho ấu trùng tuổi 1, với hệ số ngán ăn toàn phần là 162,1 %. Từ ấu trùng tuổi 2 đến tuổi 5, dầu neem Ấn Độ chỉ có tác dụng ức chế sự tiêu thụ thức ăn ở mức trung bình, với các hệ số tương ứng là: 140,6; 132,5; 130,2 và 98,5 %. Điều này có thể là do sự lẫn cảm khác nhau của ấu trùng ở các lứa tuổi khác nhau đối với các thành phần hoạt chất hiện diện trong dịch chiết thử nghiệm.

Dịch chiết nhân hạt neem bằng nước gây ngán ăn mạnh cho ấu trùng ngài gạo tuổi 1, với hệ số ngán ăn toàn phần là 151,6 %. Đối với ấu trùng ngài gạo ở các tuổi 2, 3 và 4, dịch chiết nước chỉ có hiệu lực trung bình (hệ số ngán ăn toàn phần tương ứng là 138,7; 130,9 và 130,1 %). Dịch chiết này có tác dụng yếu hơn đối với ấu trùng ngài gạo tuổi 5 (hệ số ngán ăn toàn phần là 88,5 %).

Trong số các dịch chiết thử nghiệm, dịch chiết hexane có hiệu lực gây ngán ăn thấp nhất, chỉ có khả năng ức chế sự tiêu thụ thức ăn của ấu trùng ngài gạo ở mức từ yếu đến trung bình, với các trị số tương ứng với các tuổi ấu trùng từ 1 - 5 là: 106,6; 100,3; 86,7; 85,2 và 76,0 %. Hoạt tính cao hơn của các dịch chiết methanol, ethanol và nước so với dịch chiết hexane và dầu neem Ấn Độ có thể là do chúng chứa nhiều azadirachtin. Tuy mức độ tác động có khác nhau, nhưng nhìn chung hiệu lực của các dịch chiết nhân hạt neem đều giảm khi tăng tuổi ấu trùng bị xử lý. Kết quả này có thể là do liều lượng hoạt chất chưa đủ để gây ngán ăn hoàn toàn cùng với nhu cầu dinh dưỡng ngày càng cao của các ấu trùng tuổi lớn.



Hình 4: Hiệu quả gây ngán ăn của dịch chiết methanol đối với ấu trùng tuổi 3
 a: mẫu KK- các ấu trùng ngài gạo ăn cả 2 mẫu bánh tẩm ethanol
 b: mẫu KE - toàn bộ ấu trùng sử dụng thức ăn ở mẫu bánh tẩm ethanol. Mẫu bánh tẩm dịch chiết methanol vẫn còn nguyên.
 c: mẫu EE - một số ấu trùng bị chết, số còn lại bỏ ăn hoàn toàn và tránh xa 2 mẫu bánh tẩm dịch chiết methanol.

4.2.2. Hiệu quả gây chết ngài gạo bằng phương pháp xông hơi

Bảng 2: Hiệu quả gây chết của dịch chiết nhân hạt neem đối với ngài gạo

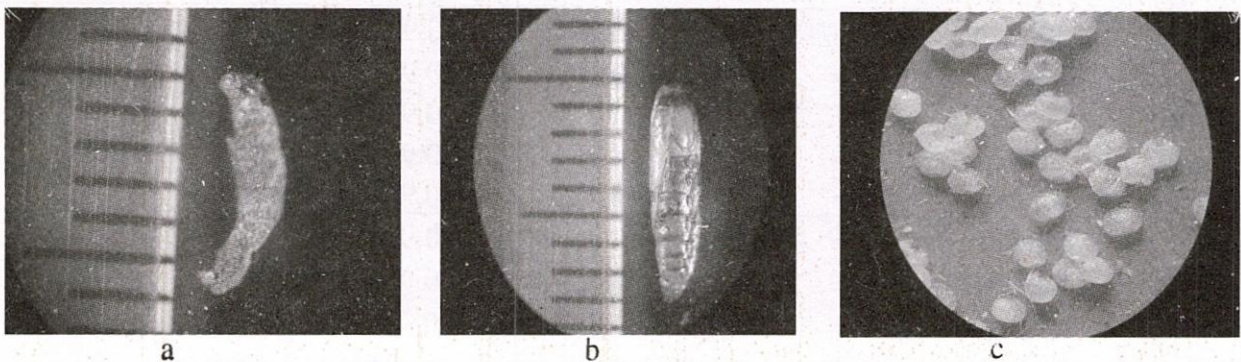
Giai đoạn phát triển	Dịch chiết	Phương trình tương quan	Hệ số tương quan	P	LD ₅₀ (μl)
Ấu trùng tuổi 1	Ethanol	$Y = 2,2681 + 0,6504 X$	0,9757	0,0045	15837,7
	Hexane	$Y = 1,9110 + 0,7853 X$	0,9959	0,0003	8570,9
	Methanol	$Y = 2,6157 + 0,5656 X$	0,9250	0,0243	16397,5
	Nước	$Y = 1,7154 + 0,7848 X$	0,8872	0,0446	15320,4
	Ấn Độ	$Y = 2,5215 + 0,5572 X$	0,9885	0,0014	28051,4
Ấu trùng tuổi 2	Ethanol	$Y = 2,3974 + 0,7460 X$	0,9695	0,0063	3080,4
	Hexane	$Y = 2,6069 + 0,6814 X$	0,9958	0,0003	3250,0
	Methanol	$Y = 3,0244 + 0,4989 X$	0,9862	0,0019	9118,3
	Nước	$Y = 2,7463 + 0,6003 X$	0,9314	0,0213	5671,1
	Ấn Độ	$Y = 2,4200 + 0,7559 X$	0,9859	0,0019	2586,4
Ấu trùng tuổi 3	Ethanol	$Y = 2,2463 + 0,8947 X$	0,9820	0,0028	1195,2
	Hexane	$Y = 2,2103 + 0,9092 X$	0,9805	0,0032	1169,4
	Methanol	$Y = 1,6826 + 1,0816 X$	0,9997	0,0000	1166,9
	Nước	$Y = 2,3075 + 0,7277 X$	0,9833	0,0025	5010,4
	Ấn Độ	$Y = 2,5214 + 0,7804 X$	0,9883	0,0015	1498,1
Ấu trùng tuổi 4	Ethanol	$Y = 2,4596 + 0,8355 X$	0,9966	0,0002	1096,7
	Hexane	$Y = 2,1482 + 0,9474 X$	0,9893	0,0013	1022,6
	Methanol	$Y = 2,4222 + 0,9123 X$	0,9742	0,0049	669,1
	Nước	$Y = 1,9986 + 0,8658 X$	0,9853	0,0021	2928,3
	Ấn Độ	$Y = 2,3374 + 0,8543 X$	0,9774	0,0040	1306,6
Ấu trùng tuổi 5	Ethanol	$Y = 3,1229 + 0,6348 X$	0,9776	0,0040	904,4
	Hexane	$Y = 3,3544 + 0,6020 X$	0,9549	0,0114	543,5
	Methanol	$Y = 2,8932 + 0,7998 X$	0,9802	0,0033	430,2
	Nước	$Y = 2,5641 + 0,7543 X$	0,9683	0,0067	1695,7
	Ấn Độ	$Y = 3,0709 + 0,7112 X$	0,9666	0,0072	515,6
Nhộng	Ethanol	$Y = 1,5608 + 0,9945 X$	0,9986	0,0000	2871,6
	Hexane	$Y = 2,0384 + 0,8598 X$	0,9835	0,0025	2782,3
	Methanol	$Y = 1,2681 + 1,1492 X$	0,9617	0,0089	1767,3
	Nước	$Y = 1,1404 + 1,1066 X$	0,9364	0,0190	3074,7
	Ấn Độ	$Y = 2,1892 + 0,7994 X$	0,9557	0,0075	3277,7
Thành trùng	Ethanol	$Y = 2,0392 + 1,0928 X$	0,9981	0,0001	511,8
	Hexane	$Y = 1,8481 + 1,2385 X$	0,9932	0,0006	350,6
	Methanol	$Y = 1,6502 + 1,1959 X$	0,9928	0,0007	632,2
	Nước	$Y = 2,0822 + 0,9555 X$	0,9777	0,0039	1130,8
	Ấn Độ	$Y = 2,3278 + 1,0194 X$	0,9859	0,0019	417,8
Trứng	Ethanol	$Y = 3,2161 + 0,6195 X$	0,9995	0,0000	757,6
	Hexane	$Y = 2,9702 + 0,6666 X$	0,9832	0,0025	1108,8
	Methanol	$Y = 3,1777 + 0,6686 X$	0,9990	0,0000	531,4

Nước	$Y = 2,9887 + 0,5539 X$	0,9938	0,0005	4268,9
Ấn Độ	$Y = 2,9494 + 0,6788 X$	0,9802	0,0033	1048,9

Bảng 2 cho thấy thành trùng và ấu trùng tuổi 5 rất mẫn cảm đối với các dịch chiết thử nghiệm với các giá trị LD₅₀ trung bình tương ứng là 608,6 và 817,9 µl. Kế đến là ấu trùng tuổi 4, trứng, ấu trùng tuổi 3 và nhộng, với các trị số LD₅₀ trung bình tương ứng là 1404,7; 1543,1; 2008,0 và 2754,7 µl. Để diệt 50% ấu trùng tuổi 1 và 2 bằng phương pháp xông hơi, cần lượng dịch chiết tương đối cao, tương ứng là 16835,6 và 4741,2 µl.

Ấu trùng tuổi 1 và 2 có kích thước nhỏ (dài từ 1 - 4 mm), thường nắp kín trong các hạt gạo được chúng kết dính lại bằng tơ, bản thân cũng ít di chuyển và các hoạt động trao đổi chất còn thấp nên ít bị tác động bởi các dịch chiết. Giai đoạn ấu trùng tuổi 3 và 4 là giai đoạn phát triển mạnh với các hoạt động trao đổi chất cao có thể là một trong những nguyên nhân làm cho chúng dễ bị xâm nhiễm bởi các hoạt chất qua đường hô hấp. Đặc biệt ấu trùng tuổi 5, với kích thước lớn và trong cơ thể của chúng diễn ra nhiều biến đổi sinh lý và sinh hóa để chuẩn bị chuyển vào giai đoạn nhộng, nên bất kỳ tác động dù nhỏ từ bên ngoài cũng có thể gây những rối loạn về sinh trưởng và rất dễ chết. Đặc biệt là các hoạt chất có nguồn gốc từ cây neem lại tác động mạnh lên hệ nội tiết của nhiều loại côn trùng [6].

Trong số các dịch chiết thử nghiệm, dịch chiết hexane có hiệu lực gây chết mạnh nhất cho ngài gạo dựa vào trị số LD₅₀ nằm trong khoảng từ 350,6 - 8570,9 µl. Yếu nhất là dịch chiết nước với LD₅₀ từ 1130,7 µl (đối với cá thể trưởng thành) đến 15320,4 µl (đối với ấu trùng tuổi 1). Dầu neem Ấn Độ có khả năng gây chết mạnh cho cá thể trưởng thành (LD₅₀: 417,8 µl) nhưng lại tác động rất yếu đối với ấu trùng tuổi 1 (LD₅₀: 28051,3 µl). Các dịch chiết ethanol và methanol có hiệu lực yếu hơn dịch chiết hexane với các giá trị LD₅₀ nằm trong các khoảng tương ứng là: 511,8 - 15837 µl và 632,2 - 16397,5µl. Hiệu lực gây chết ngài gạo không phụ thuộc vào hàm lượng azadirachtin trong các dịch chiết, chứng tỏ có sự tác động phối hợp của nhiều thành phần hoạt chất có trong các dịch chiết thử nghiệm.



Hình 5: Hiệu quả gây chết của dịch chiết nhân hạt neem đối với ngài gạo bằng phương pháp xông hơi
a: sâu chết, b: nhộng chết, c: trứng bị ung

4. Kết luận

- Các dịch chiết nhân hạt neem thử nghiệm đều có hiệu lực gây ngán ăn đối với ấu trùng ngài gạo ở các lứa tuổi khác nhau. Dịch chiết methanol có hiệu lực mạnh nhất với các hệ số ngán ăn tương ứng tuổi ấu trùng từ 1 đến 5 là 180,7; 159,9; 150,5; 148,7 và 102,8 %. Dịch chiết hexane có hiệu lực yếu nhất với các hệ số ngán ăn tương ứng là 106,6; 100,3; 86,7; 85,2 và 76,0 %.

- Các dịch chiết nhân hạt neem có khả năng gây chết cho ngài gạo bằng phương pháp xông hơi, trong đó tác động mạnh nhất đối với ấu trùng tuổi 5 và thành trùng với các giá trị LD₅₀ tương ứng là 817,9 and 608,6 µl. Hiệu lực gây chết của các dịch chiết giảm dần đối với ấu trùng tuổi 4, trứng, ấu trùng tuổi 3 và nhộng, với các giá trị LD₅₀ tương ứng là 1404,7; 1543,1; 2008,0 và 2754,7 µl. Các dịch chiết này ít gây chết ấu trùng tuổi 1 và 2.

STUDY ON THE ANTIFEEDANT AND INSECTICIDAL EFFECTS OF SOME NEEM (*Azadirachta indica* A.Juss) SEED KERNEL EXTRACTS ON RICE MOTH (*Corcyra cephalonica* St.)

Le Thi Thanh Phuong, Nguyen Tien Thang
Institute of Tropical Biology

ABSTRACT: Four neem seed kernel extracts (ethanol, hexane, methanol and aqueous extracts) were prepared and screened for their antifeedant and insecticidal effects in comparison with Indian neem oil on rice moth. It was seen that all these neem products affected rice moth as antifeedant and insecticidal agents. The methanolic extract strongly deterred feeding by larvae of rice moth from the first to the fifth instars with antifeedant coefficients 180,7; 159,9; 150,5; 148,7 and 102,8, respectively. Whereas the hexane extract had the lowest antifeedant activity with antifeedant coefficients of larvae from the first to the fifth instars respectively 106,6; 100,3; 86,7; 85,2 and 76,0 %. Fumigation with these extracts caused mortality of rice moth in various development stages. All extracts had the highest toxicity against the fifth instar larvae and adults with LD₅₀ values respectively 817,9 and 608,6 µl. Insecticidal effect trended downwards to the fourth instar larvae, egg, the third instar larvae and pupae with LD₅₀ values respectively 1404,7; 1543,1; 2008,0 and 2754,7 µl. Whereas the tested extracts had the lowest toxicity against the first and second instar larvae.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Hữu Đạt. Đặc điểm hình thái, sinh học và sinh thái một cứng dốt (*Trogoderma granarium* Everts.) và đánh giá hiệu lực thuốc xông hơi đối với chúng. Luận án Thạc Sĩ Khoa Học Nông Nghiệp, trường Đại Học Nông Lâm, thành phố Hồ Chí Minh, 1997, 235 trang.
2. Nguyễn Cửu Thị Hương Giang, Nguyễn Công Hào và Nguyễn Ngọc Sương. Hiệu quả gây ngán ăn của một số cây mọc ở Việt Nam đối với một thóc tạp (*Tribolium castaneum* Herbst). Tuyển tập các công trình nghiên cứu khoa học 1993 - 1998. Viện Sinh Học Nhiệt Đới, Trung Tâm Khoa Học Tự Nhiên và Công Nghệ Quốc Gia. Nhà xuất bản Nông Nghiệp, thành phố Hồ Chí Minh, 1998, trang 333 - 338.
3. Nguyễn Ngọc Kiểng. Các phương pháp cần thiết trong nghiên cứu khoa học. Nhà xuất bản Thành phố Hồ Chí Minh, 1992, trang 99 - 116.
4. S. Ahmed. Potential of using neem tree (*Azadirachta indica*) for pest control and rural development. Seminar held at IARI, New Delhi, May 27, 1988. Neem newsl. 5(4), pp. 49 - 55.

5. M.S. Chari and C.M. Muralidharan. *Neem as feeding deterrent of castor semilooper (Achoea janta Linn.)*. Jour. Entomol. Res 9 (2), 1985, pp. 243 - 245.
6. B.N. Gupta and K.K., Sharma 1998. *Characteristics and uses of Azadirachta indica A. Juss.* In: *Neem, a wonder tree*. Indian Council of Forestry Research and Education, Dehra Dun, India, pp. 1 - 7.
7. B.I. Murray. *Interspecific differences in the susceptibility of Noctuid larvae to behavioural and physiological effects of azadirachtin*. In: *Neem and Environment*. World Neem Conference, Bangalore, India, 24 - 28 Feb. 1993. Science Publishers, Inc., USA, 1993, pp. 12 - 16.
8. H. Wilps, O. Nasseh and S. Krall. *The effects of various neem formulations on mortality rate and morphogenetic defect upon Schistocerca gregaria (Forsk.) larvae*. In: *Neem and Environment*. World Neem Conference, Bangalore, India, 24 - 28 Feb. 1993. Science Publishers, Inc., USA, 1993, pp. 221 - 236.