รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม

Applications of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin with Petroleum Oils and Thiem Seed Products for Controlling *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) in Angled Luffa

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญ งามผ่องใส[1/]

ดร. นริศ ท้าวจันทร์[1/]

นางวัชลี โสพิน[2/]

[1/]ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

[2/]ศูนย์บริหารศัตรูพืชสงขลา จังหวัดสงขลา

พ.ศ. 2558

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปี 2555-2556

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องการประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม ได้ดำเนินการและสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ งานวิจัยในครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ประจำปี 2555-2556 รหัสโครงการ Nat 550049s

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หน่วยงานต้นสังกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ เพื่อใช้ในการปฏิบัติงานวิจัยในครั้งนี้ รวมถึงการอำนวยความสะดวกที่ทำให้การดำเนินงานวิจัยเป็นไปได้ด้วยดี ขอบคุณคุณอภิชาต หล่อเพชร และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก สถานีวิจัยคลองหอยโข่ง ที่อำนวยความสะดวกในการทำแปลงทดลอง ตลอดจนผู้ช่วยวิจัยของโครงการคุณวัชระ ลุ้งไส้ ซึ่งช่วยในการดำเนินการวิจัยและเก็บข้อมูลและงานวิจัยส่วนหนึ่งใช้สำหรับการทำวิทยานิพนธ์สาขากีฏวิทยา คณะทรัพยากรธรรมชาติ หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สารบัญ

เรื่อง หน้า

บทคัดย่อ _____ ***4***

Abstract _____ ***6***

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย _____ ***8***

วัตถุประสงค์ของการวิจัย _____ ***9***

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง _____ ***10***

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย _____ ***13***

ผลการทดลอง และวิจารณ์ _____ ***23***

สรุป _____ ***35***

เอกสารอ้างอิง _____ ***36***

บทคัดย่อ

แมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจของผลบวบเหลี่ยม การควบคุมแมลงชนิดนี้ให้มีประสิทธิภาพนั้นจำเป็นต้องใช้วิธีการควบคุมแบบบูรณาการ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างควบคุมการเข้าทำลายของแมลงวันแตงในผลบวบเหลี่ยม โดยทดสอบผลต่อการวางไข่และการพัฒนาของไข่จนกระทั่งเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ ทดสอบการเข้าทำลายผลบวบเหลี่ยมในโรงเรือนทดลอง และในแปลงทดลอง

การทดสอบผลต่อการวางไข่ในห้องปฏิบัติการนั้น ได้นำผลบวบเหลี่ยมฉีดพ่นสารทดสอบดังกล่าวเปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออนและน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม หลังจากนั้นจึงนำผลบวบเหลี่ยมไปวางไว้ในกรงที่มีแมลงวันแตงเพศเมียพร้อมวางไข่เป็นระยะเวลา 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน นับจำนวนไข่ที่วางในผลบวบเหลี่ยมที่ฉีดพ่นด้วยสารทดสอบต่างๆ พบว่า สารมาลาไธออนป้องกันการวางไข่ได้สูงสุด 96.2% เนื่องจากตัวเต็มวัยตายหลังจากทดสอบ การใช้สารทดสอบร่วมกันยับยั้งการวางไข่ได้ดีกว่าการใช้สารทดสอบเพียงอย่างเดียว เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่เมื่อใช้สารทดสอบเพียงอย่างเดียวอยู่ในช่วง 25.4-51.3% ขณะที่การใช้สารทดสอบร่วมกันมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 53.1-77.1% การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* + สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ยับยั้งการวางไข่สูงสุด 77.1% ส่วนการทดสอบผลต่อการพัฒนาของไข่จนกระทั่งเข้าสู่ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยโดยวิธีเดียวกันกับการทดลองข้างต้น ไม่พบดักแด้ในผลบวบเหลี่ยมที่ฉีดพ่นสารมาลาไธออน พบจำนวนดักแด้ต่ำสุด 77.7 ตัว/ผล ในบวบเหลี่ยมที่ฉีดพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* + น้ำมันปิโตรเลียม+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ขณะที่ชุดควบคุมมีค่าเฉลี่ยดังกล่าว 355.0 ตัว/ผล อย่างไรก็ตาม พบดักแด้ตายสูงสุด 44.7 % เมื่อฉีดพ่นเชื้อรา *M. anisopliae* เดี่ยวๆ ส่งผลให้มีจำนวนตัวเต็มวัยต่ำสุดเฉลี่ย 55.3% ในขณะที่ชุดควบคุมพบดักแด้ตาย 0.6% และพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ 99.4%

สำหรับการทดสอบในโรงเรือนทดลองนั้น พบว่าการฉีดพ่นสารฆ่าแมลงมาลาไธออน มีประสิทธิภาพควบคุมแมลงวันแตงดีที่สุด โดยพบหนอนที่เข้าทำลาย และจำนวนดักแด้ต่ำสุดเท่ากับ 39.2% และ 39.4% ตามลำดับ การฉีดพ่นด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* + น้ำมันปิโตรเลียม มีค่าดังกล่าวเท่ากับ 42.5% และ 42.0% ตามลำดับ ส่วนการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ฉีดพ่นเพียงอย่างเดียว ยับยั้งการพัฒนาเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยอย่างเด่นชัด โดยพบตัวเต็มวัยต่ำสุด 65.1% เมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดพ่นสารทดสอบอื่นๆ และชุดควบคุมที่มีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 87.6-99.4% แต่อย่างไรก็ตาม การฉีดเชื้อราดังกล่าวเพียงอย่างเดียว ควบคุมหนอนและดักแด้ได้ต่ำ โดยพบหนอนและดักแด้ 91.4% และ 91.6% ตามลำดับ

ส่วนการทดสอบในแปลงทดลอง พบว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม ให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตสูงสุด รองลงมาได้แก่สารมาลาไธออน และเชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ตามลำดับ ดังนั้นการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมจึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงวันแตงในบวบเหลี่ยม เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีทั้งปริมาณและคุณภาพ รวมทั้งมีความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

Abstract

Melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett), is an economically important insect pest of angled luffa. Integrated pest management is necessary for the effective control of this pest. Therefore, the use of *Metarhizium anisopliae*, petroleum oil, oil and crude extracts of thiem seed was investigated for controlling *B. cucurbitae* in this crop. The objectives were to evaluate the effects of the sole and combination applications of those substances for controlling *B. cucurbitae* in a comparison with malathion and water as control under laboratory, green house and field conditions.

An antioviposition test was done in a laboratory by single and combination spraying of those substances on angle luffa fruits and placing them in an insect cage containing 10 gravid females of the melon fruit fly. The fruit was taken to count egg number and a new treated fruit was then placed in the cage at each time of 1, 2, 3, 4 and 5 days, respectively. Malathion markedly inhibited egg laying of 96.2% due to a high mortality of females. Combined applications evidently inhibited egg laying as compared with single applications. Percent inhibition of egg laying in the single sprays ranged from 25.4-51.3%, whereas that in the combined sprays ranged from 53.1-77.1%. The combined spray of *M. anisopliae* + thiem seed crude extracts showed the largest percent inhibition of egg laying of 77.1%. Another study was also done in the same method of the previous experiment to determine development from egg to adult stage by assessing pupation and adult emergence. Pupa was absent in angled luffa fruits treated with malathion. The smallest pupal number was 77.7 pupae/fruit in angled luffa fruits treated with *M. anisopliae* + petroleum oil + thiem seed oil + thiem seed crude extracts, whereas that of the control was 355.0 pupae/fruit. However, the biggest pupal mortality was 44.7% recorded from the fruits treated with *M. anisopliae* alone, providing the lowest emerged adults of 55.3%. The pupal mortality and emerged adults of the untreated fruits were 0.6% and 99.4%, respectively. This suggests that *M. anisopliae* alone markedly inhibited pupation and adult emergence of the melon fruit fly.

For a greenhouse test, malathion showed the most effective control for *B. cucurbitae* with the lowest larva and pupa occurrence of 39.2% and 39.4%, respectively. Those values of the *M. anisopliae* + petroleum oil were 42.5% and 42.0%, respectively. The single application of *M. anisopliae* evidently inhibited adult emergence of *B. cucurbitae* with the lowest emergence of 65.1% as compared to 87.6-99.4% of other treatments and control. However, this application was

not effective to control larva and pupa with their high occurrence of 91.4% and 91.6%, respectively.

In the field test, the best quantitative and quanlitative yield was obtained from a combined application of *M. anisopliae* and petroleum oil, followed by malathion and the combined application of *M. anisopliae*, petroleum oil and thiem seed crude extracts, respectively. The combined application of *M. anisopliae* and petroleum oil is an alternative use for controlling the melon fly to produce highly qualtitative and quanlitative yields of angled luffa with safety to farmers, consumers and the environment.

ความสำคัญและที่มาของการวิจัย

แมลงวันแตงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bactrocera cucurbitae* (Coqillett) อยู่ในอันดับ Diptera วงศ์ Tephritidae เป็นแมลงวันผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีการแพร่กระจายไปทั่วทุกแห่งของโลก ทั้งในเขตอบอุ่น (temperate) เขตร้อน (tropical) และเขตกึ่งร้อน (sub-tropical) แมลงชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดีย และมีรายงานการแพร่ระบาดในทวีปเอเชียหลายประเทศได้แก่ อินเดีย ปากีสถาน เนปาล ศรีลังกา พม่า ไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย จีน สิงคโปร์ ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน ซาลาวัก และติมอร์ (Christenson and Foote, 1960; White and Elson-Harris, 1992; Waterhouse, 1993; Clarke *et al*., 2001; Weems and Hepper, 2001; Dhillon *et al*., 2005) สำหรับในประเทศไทยนั้นมีรายงานการแพร่ระบาดทั่วทุกแห่งของพื้นที่ (Clark *et al*., 2001) แมลงชนิดนี้สร้างความเสียหายแก่พืชโดยตัวเต็มวัยเพศเมียใช้อวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงเข้าไปในผลของพืชเพื่อวางไข่ หนอนที่ฟักออกมากัดกินอยู่ภายในผล นอกจากนี้รอยแผลที่เกิดขึ้นจากการวางไข่ยังส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชเข้าทำลาย ทำให้ผลเน่าและร่วงหล่นก่อนถึงระยะเก็บเกี่ยว (Collins and Collins, 1998) แมลงดังกล่าวชอบเข้าทำลายพืชในวงศ์ Cucurbitaceae เช่น มะระ แตงไทย แตงโม ฟักทอง แตงกวา บวบ งู และบวบเหลี่ยม เป็นต้น (Doharey, 1983; White and Elson-Harris, 1992; Allwood *et al*., 1999; Weems and Hepper, 2001) โดยเฉพาะอย่างยิ่งบวบเหลี่ยม (*Luffa acutangular* Roxb.) ซึ่งเป็นพืชที่นิยมปลูกกันทั่วไปและมักมีการระบาดของแมลงวันแตงรุนแรงหากไม่มีการควบคุม ปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่ยังคงใช้สารฆ่าแมลงในการควบคุมซึ่งส่งผลกระทบตามมาในภายหลังหากใช้ไม่ถูกต้อง เช่น ตกค้างในผลผลิต เป็นพิษต่อผู้ใช้และแมลงที่มีประโยชน์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมต่างๆ ดังนั้น การควบคุมแมลงศัตรูดังกล่าวโดยไม่ใช้สารฆ่าแมลงหรือใช้ในปริมาณน้อยที่สุด จึงเป็นแนวทางสำคัญที่เกษตรกรจะต้องปรับตัวเพื่อให้ได้ผลผลิตที่สอดคล้องกับความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ให้ความสำคัญกับอาหารปลอดภัยทั้งในและต่างประเทศ

การควบคุมแมลงวันแตงโดยไม่ใช้สารฆ่าแมลงหรือใช้ในปริมาณน้อยที่สุดนั้นสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใช้วิธีเขตกรรมโดยการไถพรวนและตากดินเพื่อกำจัดดักแด้ในดิน การเก็บทำลายผลที่ร่วงลงพื้นดิน การกำจัดตัวเต็มวัยโดยใช้เหยื่อล่อ การห่อผล การลดการทำลายโดยยับยั้งการวางไข่จากการใช้สารจากธรรมชาติและสารสกัดจากพืชบางชนิด เช่น น้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้าง (อรัญ, 2553) การใช้เหยื่อโปรตีนล่อตัวเต็มวัย (protein bait spray) การใช้สารดึงดูด (attractants) หรือสารกระตุ้นการกินอาหาร (feeding stimulants) ผสมกับสารฆ่าแมลง เช่น สาร malathion แล้วฉีดพ่นเป็นจุดๆ ได้มีการพัฒนานำมาใช้กำจัดตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้และสามารถลดปริมาณตัวเต็มวัยลงได้ในผลไม้หลายชนิด (Ferra, 1988) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* สามารถควบคุมแมลงวันผลไม้ได้หลายชนิด เช่น *Anastrepha ludens* (Loew), *Cerratitis capitata* (Wiedemann), *C. cosyra* (Walker) และ *C. fasciventris* (Bezzi) (Toledo *et al*., 2006; Quesada-Moraga *et al*., 2008; Dimbi *et al*., 2009)

ดังนั้นจึงได้ศึกษาการประยุกต์ใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมแมลงวันแตง *B. cucurbitae* ทั้งในห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลอง และแปลงทดลองเพื่อเป็นแนวทางเลือกหนึ่งในการควบคุมแมลงวันแตงเพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารฆ่าแมลงที่อาจจะเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรกรผู้ใช้ ตลอดจนผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพเดี่ยวและร่วมของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมการเข้าทำลายผลบวบเหลี่ยมของแมลงวันแตงในห้องปฏิบัติการและในเรือนทดลอง
2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพเดี่ยวและร่วมกันของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม ผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมการเข้าทำลายผลบวบเหลี่ยมของแมลงวันแตงในสภาพแปลงทดลอง

ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แมลงวันแตง

แมลงวันแตงเพศเมียใช้อวัยวะวางไข่แทงลงบนผลแตง โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลแตงที่ยังอ่อน มีสีเขียวและมีผิวเปลือกอ่อนนุ่ม โดยวางไข่ลงภายใต้ผิวผลไม้ที่เข้าทำลายประมาณ 2-4 มิลลิเมตร จากนั้นไข่จะฟักออกเป็นตัวหนอนกัดกินผลแตงอยู่ภายใน นอกจากนี้รอยแผลที่เกิดขึ้นจากการวางไข่ส่งผลให้เชื้อสาเหตุโรคพืชเข้าทำลาย ทำให้ผลเน่าและร่วงหล่นก่อนระยะเก็บเกี่ยว (Collins and Collins, 1998 และ Dhillon, *et al*., 2005) มีรายงานความเสียหายที่เกิดขึ้นจากแมลงวันแตงอยู่ระหว่าง 30-100% โดยความเสียหายที่เกิดขึ้นนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของพืชตระกูลแตงและสภาพฤดูกาล การระบาดของแมลงวันแตงจะมีมากในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 32 องศาเซลเซียสและมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศอยู่ระหว่าง 60-70% (Dhillon, *et al*., 2005)

เชื้อรา Metarhizium anisopliae

เชื้อรา *M. anisopliae* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคของแมลง จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes อันดับ Moniliales วงศ์ Moniliaceae มีวงจรชีวิตไม่สมบรูณ์ ไม่พบระยะการสืบพันธุ์โดยอาศัยเพศ มีถิ่นอาศัยอยู่ในดิน โดยทั่วไปเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 15.0–30.0 องศาเซลเซียส (Kershaw *et al*., 1999) สามารถสร้าง conidia ได้มากที่สุด เมื่อได้รับแสงสว่างอย่างต่อเนื่อง 24 ชั่วโมงต่อวัน (Sideney *et al*., 2001) เข้าทำลายแมลงได้หลายชนิดและทุกระยะการเจริญเติบโตของแมลง โดยเข้าสู่แมลงทางผนังลำตัว ลำตัวของแมลงที่ตายจากเชื้อรามักแห้งแข็ง มีเส้นใยและสปอร์ปกคลุมทั่วลำตัว สปอร์สามารถแพร่กระจายต่อไปได้ ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของแมลงอาศัย การตายของแมลงขึ้นอยู่กับเงื่อนไข และปัจจัยอื่นๆ ด้วย (มะลิวัลย์, 2534; สมศักดิ์, 2544; Milner, 2000; Moino *et al*., 2002)

การใช้เชื้อรา Metarhizium anisopliae ควบคุมแมลง

เชื้อรา *M. anisopliae* ถูกนำมาใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ในแมลงหลายอันดับ เช่น แมลงสาบ (Quesada-Moraga *et al*., 2008) ตั๊กแตน (Peng *et al*., 2008) ผีเสื้อ (Furlong and Pell, 2001) ด้วง (Klein and Lacey, 1999) และแมลงวัน (Ekesi *et al*., 2007) สามารถเข้าทำลายไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย (Castillo *et al*., 2000; Lezama-Gutierrez *et al*., 2000 และ Ekesi *et al*., 2002)

จากการศึกษาของนริศ และอนุชิต (2551) โดยทดสอบเชื้อรา *M. anisopliae* กับแมลงวันผลไม้ *B. papayae* Drew and Hancock พบว่าสามารถทำให้เกิดโรคกับแมลงวันผลไม้ได้ เมื่อทำการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อราในประชากรแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อต่อประชากรแมลงวันผลไม้ปกติ พบว่าแมลงวันผลไม้ที่ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อราไปสู่แมลงวันผลไม้ปกติได้

โดยเฉพาะการแพร่ผ่านการผสมพันธุ์ (Hedström and Monge-Nájera, 1998) นอกจากนี้แมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ติดเชื้อจะมีผลต่อการจับคู่ผสมพันธุ์กัน โดยตัวผู้ที่ติดเชื้อจะใช้ระยะเวลาในการผสมพันธุ์นานกว่าตัวผู้ที่ปกติ (Dimbi *et al*., 2009) ในตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้สกุล *Ceratitis capitata* และ *C. rosa* var. *fasciventris* พบว่า เชื้อรา *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้เช่นกัน โดยหลังจากการปลูกเชื้อ 4 วัน แมลงทั้งสองชนิดมีอัตราการตายระหว่าง 7.0-100.0% และ 11.4-100.0% ตามลำดับ (Dimbi *et al*., 2003) นอกจากนี้ ยังมีการนำเชื้อราดังกล่าวไปประยุกต์ใช้กับระยะอื่นๆ ของแมลงวันผลไม้ เช่น ตัวหนอนระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะสุดท้ายก่อนเข้าดักแด้พบว่าสามารถทำลายตัวหนอนระยะดังกล่าวรวมถึงดักแด้ได้อีกด้วย และสามารถลดจำนวนตัวเต็มวัยที่เพิ่งจะลอกคราบใหม่ได้ (Ekesi *et al*., 2002) ในแมลงวันผลไม้สกุล *Anastrepha ludens* เชื้อรา *M. anisopliae* สามารถก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ที่ความหนาแน่นของสปอร์ 10^8 สปอร์/มิลลิลิตร โดยระยะตัวหนอนและระยะดักแด้มีอัตราการตายสะสมอยู่ในช่วง 37.9-98.8% มีค่า LT_{50} อยู่ในช่วง 1.8-6.2 วัน และมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 3.7-4.8×10^5 สปอร์/มิลลิลิตร (Lazama-Gutierrez *et al*., 2000) จากการศึกษาการใช้สปอร์ของเชื้อรา *M. anisopliae* ที่อยู่ในรูปแห้งและรูปเปียก พบว่าสปอร์รูปแห้งทำให้อัตราการตายของแมลงวันผลไม้สกุล *C. capitata* สูงกว่าการใช้ในสปอร์รูปเปียก แต่สปอร์ทั้งสองรูปแบบดังกล่าวทำให้มีการตายของแมลงสูงถึง 95.0-100.0% และการใช้เชื้อราของสปอร์รูปแห้งทำให้แมลงมีอัตราการอยู่รอดลดลง นอกจากนี้สปอร์เปียกมีการถ่ายทอดเชื้อจากตัวผู้ติดเชื้อไปสู่ตัวเมียปกติ 90.0% ในขณะที่สปอร์แห้งถ่ายทอดเชื้อได้ 100.0% ซึ่งสูงกว่าการถ่ายทอดเชื้อจากตัวเมียติดเชื้อสู่ตัวผู้ปกติ โดยสปอร์เปียกมีการถ่ายทอดเชื้อ 60.0% ส่วนสปอร์แห้งถ่ายทอดเชื้อได้ 90.0% (Quesada-Moraga *et al*., 2008)

การใช้น้ำมันปิโตรเลียมควบคุมแมลง

มีรายงานการใช้น้ำมันปิโตรเลียมในประเทศสหรัฐอเมริกาเพื่อควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตรมานานตั้งแต่ปี ค.ศ. 1870 โดยใช้ในรูปของน้ำมันก๊าดและน้ำมันหล่อลื่น ถึงแม้ว่าน้ำมันปิโตรเลียมจะมีพิษต่อแมลงและไรศัตรูพืชแต่ในขณะเดียวกันก็ทำให้เกิดพิษต่อพืชด้วย หลังจากนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงได้พัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันปิโตรเลียมเพื่อลดความเป็นพิษต่อพืชซึ่งในปัจจุบันสามารถนำน้ำมันปิโตรเลียมมาใช้ควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชได้ในขณะที่ความเป็นพิษต่อพืชลดลง (รุจ, 2542) น้ำมันปิโตรเลียมสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงได้โดยตรงและโดยทางอ้อม โดยทางตรงนั้น น้ำมันปิโตรเลียมในรูปผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป สามารถฉีดพ่นควบคุมแมลงและไรศัตรูพืชได้ โดยออกฤทธิ์เคลือบผนังลำตัวของแมลง ทำให้กระบวนการแลกเปลี่ยนแก๊สถูกยับยั้ง แมลงจึงไม่สามารถหายใจได้ ส่วนผลโดยทางอ้อม น้ำมันปิโตรเลียมถูกนำมาใช้ในกระบวนการทำรูปผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป (formulation) ของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช น้ำมันปิโตรเลียมสามารถควบคุมไรเพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย นอกจากนี้ยังสามารถฆ่าไข่ของแมลงได้อีกด้วย (McEwen and Stephenson,

1979) ในประเทศจีนมีการใช้น้ำมันปิโตรเลียมควบคุมหนอนชอนใบส้มอย่างกว้างขวาง (Rae *et al*., 1996) ส่วนในประเทศไทย รุจ (2541) รายงานว่า น้ำมันปิโตรเลียมใช้ควบคุมศัตรูพืชที่สำคัญมากกว่า 20 ชนิดในไม้ผล ส้ม ผัก ฝ้าย และไม้ดอกไม้ประดับ นอกจากนี้ อรัญ (2553) ยังพบว่า การใช้น้ำมันปิโตรเลียมฉีดพ่นบนผลพริกหยวกในห้องปฏิบัติการ และในโรงเรือนทดลอง สามารถลดการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ *B. papayae* ได้ดี

การใช้ผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างควบคุมแมลง

มีการศึกษาการใช้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น การควบคุมหนอนใยผัก (ทิวา, 2543) พบว่า สามารถยับยั้งการวางไข่ของผีเสื้อหนอนใยผักได้ 49.2% ส่วนจันทร์จิรา (2543) พบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ *B. papayae* ได้ 84.1% นอกจากนี้ วิภาวดี (2548) ศึกษาการออกฤทธิ์ขับไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) ของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง พบว่า ให้ประสิทธิภาพในการไล่ยุงชนิดนี้เท่าเทียมกับน้ำมันตะไคร้หอม และจากการศึกษาผลต่อการฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญพบว่า น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างฆ่าลูกน้ำและดักแด้ยุงรำคาญได้ 100% หลังจากหยดน้ำมันบนผิวน้ำที่มีลูกน้ำและดักแด้ยุงดังกล่าวอาศัยอยู่ (ยุวดี, 2547) อรัญละคณะ (2552) ได้ศึกษาผลของผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างต่อการควบคุมยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ทั้งในห้องปฏิบัติการและสภาพชุมชนที่มีการระบาดของยุงลายพบว่า ทั้งผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบและผลิตภัณฑ์น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างสามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายได้ แต่ผลิตภัณฑ์น้ำมันให้ผลในการควบคุมดีกว่าผลิตภัณฑ์สารสกัดหยาบ โดยผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 แบบดังกล่าวออกฤทธิ์ควบคุมยุงลายได้หลายแบบทั้ง ฆ่าลูกน้ำและดักแด้ ป้องกันการวางไข่ และยับยั้งการฟักออกจากไข่ ดังนั้น น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจึงน่าจะมีศักยภาพในการนำมาศึกษาและพัฒนาเพื่อควบคุมแมลงวันแตงที่เข้าทำลายผลผลิตทางการเกษตร

ในการวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาการประยุกต์ใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมการเข้าทำลายผลบวบเหลี่ยมของแมลงวันแตงทั้งในห้องปฏิบัติการ โรงเรือนทดลอง และในสภาพแปลงทดลอง

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

1. การเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณแมลงวันแตง

เก็บผลบวบเหลี่ยมที่มีรอยทำลายของแมลงวันแตงจากแปลงทดลองภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ และแปลงปลูกของเกษตรกร อำเภอรัตภูมิ จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555-2556 มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการทางกีฏวิทยา ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ หาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยนำผลบวบเหลี่ยมใส่กล่องพลาสติกขนาด 16.5×23.5×9.5 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยขี้เลื่อยผ่านการอบฆ่าเชื้อสูง 1.0 เซนติเมตร แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 30.0×30.0×30.0 เซนติเมตร หลังจากไข่พัฒนาจนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย จึงคัดแยกเฉพาะตัวเต็มวัยแมลงวันแตง (*B. cucurbitae*) ตามลักษณะอนุกรมวิธาน (Hardy, 1973) นำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในกรงเลี้ยงแมลงขนาดดังกล่าว ระยะหนอนเลี้ยงด้วยอาหารเทียมตามสูตรของแสน (2529) (ตารางที่ 1) ส่วนตัวเต็มวัยเลี้ยงด้วยยีสต์ผสมน้ำตาลก้อน อัตราส่วน 1:1 ให้น้ำและเพิ่มความชื้นโดยวางฟองน้ำไว้ในกรงเลี้ยงแมลง เมื่อตัวเต็มวัยพร้อมวางไข่ซึ่งมีอายุประมาณ 15-20 วัน จึงนำผลแตงกวาผ่าซีกวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวางบนอาหารเทียมสูตรดังกล่าวข้างต้น หลังจากไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนเป็นเวลา 4 วัน จึงนำอาหารเทียมพร้อมหนอนแมลงวันแตงไปใส่ในจานแก้ว ใส่กล่องพลาสติกขนาด 16.5×23.5×9.5 เซนติเมตร ที่รองพื้นด้วยขี้เลื่อย แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 30.0×30.0×30.0 เซนติเมตร จนกระทั่งหนอนทั้งหมดเข้าดักแด้ และเจริญเป็นตัวเต็มวัย (F1) หลังจากตัวเต็มวัยมีอายุระหว่าง 15-20 วัน จึงนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ตาราง 1 ชนิดและปริมาณของวัตถุดิบที่ใช้ทำอาหารเทียมเพื่อเลี้ยงหนอนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)

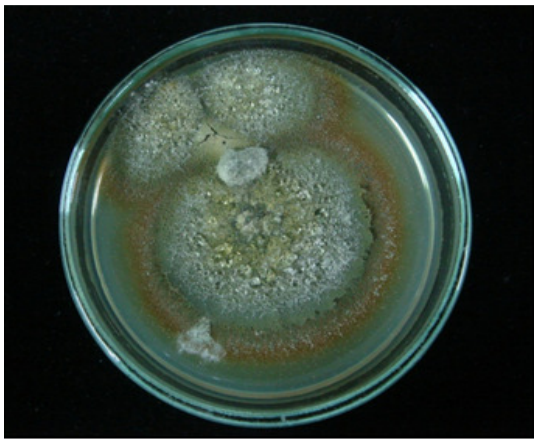
วัสดุ	ปริมาณ
ข้าวโพด	150.0 กรัม
กล้วยน้ำว้า	150.0 กรัม
ทิชชูหยาบ	30.0 กรัม
น้ำตาลทราย	30.0 กรัม
Brewer's yeast	30.0 กรัม
Sodium benzoate	0.6 กรัม
Hydrochloric acid	6.0 มิลลิลิตร
H_2O	300.0 มิลลิลิตร

ที่มา : แสน (2529)

2. การเตรียมผลิตภัณฑ์เชื้อรา Metarhizium anisopliae และสารทดสอบชนิดต่างๆ

2.1 การเตรียมเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*

เตรียมเชื้อรา *M. anisopliae* สายพันธุ์ PSUM02 (ภาพที่ 1) ที่มีประสิทธิภาพในการก่อโรคกับแมลงวันแตง ซึ่งได้รับจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ศูนย์ภาคใต้ (นริศ และคณะ, 2554) โดยเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDAY ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน หรือจนกว่าเชื้อราสร้างสปอร์



ภาพที่ 1 **เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* PSUM02**

2.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้าง

เตรียมผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้าง 2 แบบ คือ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างซึ่งมี 2 ขั้นตอน คือ การเตรียมเมล็ดสะเดาช้างก่อนการสกัด และการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง โดยมีวิธีการดังนี้

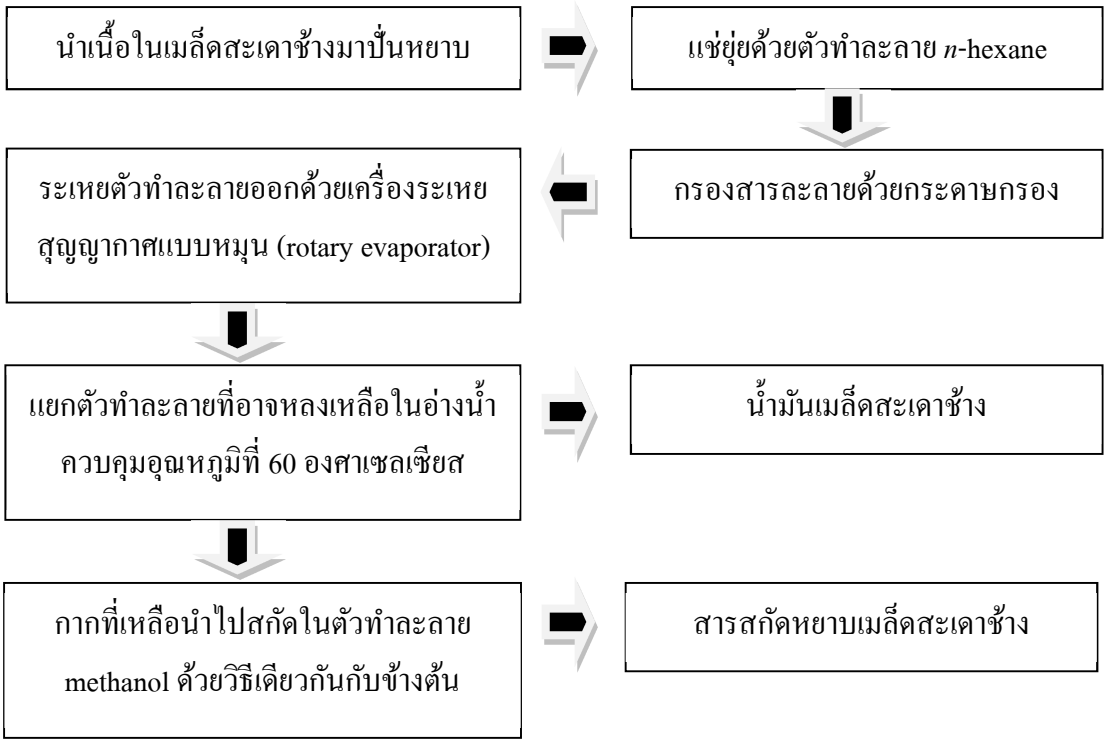
2.2.1 การเตรียมเมล็ดสะเดาช้างก่อนการสกัดสารทดสอบ

เก็บผลสุกสะเดาช้างจากตำบลคอหงส์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา มาแยกเอาเปลือกนอกออกให้เหลือเฉพาะส่วนของเมล็ด นำเมล็ดไปตากแดดให้แห้งเป็นเวลา 2-3 วัน (ภาพที่ 2ก) ก่อนนำไปกะเทาะเปลือกหุ้มเมล็ดออกให้เหลือส่วนของของเนื้อในเมล็ด (seed kernel) ชั่งน้ำหนักก่อนนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องปั่นและชั่งน้ำหนักอีกครั้งหลังจากปั่นหยาบเรียบร้อยแล้ว (ภาพที่ 2ข) ก่อนนำไปใช้สกัดสารทดสอบต่อไป

ภาพที่ 2 **ลักษณะเมล็ดสะเดาช้าง (ก) และเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหลังจากบดด้วยเครื่องปั่น (ข)**

2.2.2 การสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

นำเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างที่ปั่นหยาบเรียบร้อยแล้วมาสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบตามขั้นตอนในภาพที่ 3 โดยใส่เนื้อในเมล็ดดังกล่าวในขวดแก้วขนาด 20 ลิตร สกัดสารโดยวิธีการแช่ยุ่ย (maceration) ด้วยตัวทำละลาย *n*-hexane เติมตัวทำละลายจนท่วมตัวอย่าง ปิดปากขวดให้สนิทด้วยการปิดจุกยางที่หุ้มด้วยกระดาษตะกั่ว (foil) ทิ้งไว้นาน 7 วัน เมื่อครบตามกำหนดจึงเทสารละลายออก กรองด้วยกระดาษกรองแบบหยาบ แล้วลดปริมาตรตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) นำสารที่ได้ใส่ในบีกเกอร์ก่อนนำไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสอีกครั้ง เพื่อแยกตัวทำละลายที่อาจหลงเหลืออยู่ออกให้หมด ส่วนตัวทำละลายที่แยกออกมาได้ นำกลับไปแช่กากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างอีกครั้ง ทำซ้ำจนกว่าไม่สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้อีก ในการศึกษาครั้งนี้ได้สกัดทั้งหมด 7 ครั้ง นำสารสกัดทั้งหมดในแต่ละครั้งมารวมกัน เรียกสารสกัดที่ได้ว่า “น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง” ก่อนนำไปใช้ทดลองผสมน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างกับสารเพิ่มประสิทธิภาพ Tween® 80 ในอัตราส่วนน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง : 0.01% Tween® 80 (9:1) เพื่อช่วยเพิ่มการแพร่กระจายในน้ำให้ดีขึ้น (เอกราช, 2552) ส่วนการสกัดสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างนั้น นำกากที่ได้จากการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างมาสกัดต่อโดยวิธีการเดียวกันกับการสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง แต่เปลี่ยนตัวทำละลายจาก *n*-hexane เป็น methanol สารที่สกัดได้ เรียกว่า “สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง”



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการสกัดน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

3. การศึกษาผลของการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างต่อการวางไข่ของแมลงวันแตงในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทรีทเมนต์ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ 4 ชนิด คือ เชื้อรา *M. anisopliae* ที่ระดับความหนาแน่น 1×10^{8} สปอร์/มิลลิลิตร น้ำมันปิโตรเลียม SK99® ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppm น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppm เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออนระดับความเข้มข้น 2,000 ppm และน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม ทำการทดลองทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ ใช้แมลงวันแตงเพศเมีย 10 ตัว/ซ้ำ ทรีทเมนต์ต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ตาราง 2 ทรีทเมนต์ต่างๆ ที่ใช้ทดสอบอิทธิพลเดี่ยวและร่วมของทรีทเมนต์ต่างๆ ต่อการวางไข่ของแมลงวันแตงในห้องปฏิบัติการ

ทรีทเมนต์ที่ใช้ทดสอบ	
1. เชื้อรา *M. anisopliae*	9. น้ำมันปิโตรเลียม HK99®+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
2. น้ำมันปิโตรเลียม HK99®	10. น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
3. น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	11. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม HK99®+น้ำมันเมล็ด สะเดาช้าง
4. สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	12. น้ำมันปิโตรเลียม HK99®+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
5. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม HK99®	13. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม HK99®+ น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
6. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	14. สารฆ่าแมลงมาลาไธออน
7. เชื้อรา *M. anisopliae*+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	15. ควบคุม (น้ำเปล่า)
8. น้ำมันปิโตรเลียม HK99®+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	

เตรียมเป้าล่อวางไข่แมลงวันแตงเพศเมียโดยนำผลบวบอายุประมาณ 10 วัน ที่มีขนาดใกล้เคียงกันและไม่มีร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง ล้างด้วยน้ำเปล่าแล้วนำไปแช่ด่างทับทิมนาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำเปล่าและแช่น้ำเปล่าไว้นาน 10 นาที เพื่อลดสารเคมีที่อาจตกค้างบนผลบวบ นำผลบวบที่ได้มาตัดเป็นชิ้นความยาวชิ้นละ 10 เซนติเมตร ตัดส่วนเหลี่ยมของผลบวบออกให้หมด เพื่อง่ายต่อการวางไข่ ผ่าชิ้นบวบออกเป็น 2 ซีกตามความยาว และคว้านเนื้อในออกจนเหลือแต่ส่วนปลายทั้ง 2 ด้าน (ภาพที่ 4ก) จากนั้นใช้เข็มหมุดเจาะรูบนผิวบวบจำนวน 20 รู พ่นสารทดสอบในทรีทเมนต์ต่างๆ ตามอัตราความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้น จากนั้นใช้แผ่นพาราฟิล์มห่อชิ้นบวบเพื่อป้องกันไม่ให้แมลงวางไข่ในบริเวณที่ไม่ต้องการแล้วเจาะรูผ่านแผ่นพาราฟิล์มให้ตรงกับรูเดิมอีกครั้ง (ภาพที่ 4ข) นำชิ้นบวบวางบน Petri dish ก่อนนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 30.0×30.0×30.0 เซนติเมตร ซึ่งภายในกรงมีน้ำตาลก้อน ยีสต์สกัด และน้ำ เป็นแหล่งอาหารของตัวเต็มวัย นำแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์แล้ว และมีการพัฒนาไข่จนสมบูรณ์ซึ่งมีอายุ 15-20 วัน จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ ปล่อยเข้าไปในกรงทดสอบ เก็บข้อมูลการวางไข่ทุก 1 2 3 4 และ 5 วัน โดยเปลี่ยนผลบวบใหม่ทุกครั้งที่เก็บข้อมูล นับจำนวนไข่ทั้งหมดภายใต้กล้อง stereo microscope ตลอดการทดลอง บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ นำจำนวนไข่ที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตงโดยใช้สูตร (Nagpal *et al.*, 2001)

$$\% \text{ AR} = [\text{NC} - \text{NT}] \div \text{NC} \times 100$$

% AR = เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่

NC = จำนวนไข่ของแมลงวันแตงในชุดควบคุม

NT = จำนวนไข่ของแมลงวันแตงในชุดทดสอบ

นำเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตง วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT

ภาพที่ 4 ลักษณะของชิ้นบวบที่คว้านส่วนของเนื้อในออก (ก) และบวบที่เป็นเป้าล่อวางไข่ (ข)

4. การทดสอบผลของการใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ต่อจำนวนดักแด้และตัวเต็มวัย ในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ใช้ทรีทเมนต์และความเข้มข้นของสารทดสอบเหมือนกับการทดลองในหัวข้อที่ 3 (ตารางที่ 2) ประกอบด้วยอิทธิพลเดี่ยว (ทรีทเมนต์ 1-4, 14 และ 15) และอิทธิพลร่วม (ทรีทเมนต์ 5-13) ของผลิตภัณฑ์ 4 ชนิดคือ เชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม SK99® น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออนและน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม แต่ละทรีทเมนต์ทดลอง 4 ซ้ำ ใช้แมลงวันแตงเพศเมีย 10 ตัว/ซ้ำ

เตรียมเป้าล่อวางไข่โดยใช้ผลบวบเช่นเดียวกับการทดลองในหัวข้อที่ 3 ตัดผลบวบเป็นชิ้นยาวชิ้นละ 10.0 เซนติเมตร วางบน Petri dish แล้วนำไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 30.0×30.0×30.0 เซนติเมตร ภายในเตรียมอาหารและน้ำสำหรับตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเช่นเดียวกับการทดลองในหัวข้อที่ 3 ปล่อยแมลงวันแตงเพศเมียที่ผ่านการผสมพันธุ์แล้วและมีการพัฒนาไข่จนสมบูรณ์ซึ่งมีอายุ 15-20 วัน จำนวน 10 ตัว/ซ้ำ เข้าไปในกรงทดสอบ เก็บข้อมูลทุก 1 2 3 4 และ 5 วัน โดยเปลี่ยนผลบวบใหม่ทุกครั้งที่เก็บข้อมูล นำผลบวบไปวางไว้ในกล่องเลี้ยงแมลงที่รองพื้นด้วย

ขี้เลื่อยที่อบฆ่าเชื้อ เพื่อให้หนอนเข้าดักแด้ หลังจากนั้นตรวจนับจำนวนดักแด้ทั้งหมด แล้วนำดักแด้ที่ได้ไปวางไว้ในกรงเลี้ยงแมลง เพื่อตรวจนับจำนวนดักแด้ที่ตายและจำนวนตัวเต็มวัยทั้งหมด บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ นำข้อมูลดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT

5. การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในโรงเรือนทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) ประกอบด้วย 7 ทรีทเมนต์ (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นทรีทเมนต์ที่ให้ผลดีในการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตง จากการทดลองในหัวข้อที่ 3 (ทรีทเมนต์ที่ 2, 3 และ 4) และยับยั้งการพัฒนาเป็นดักแด้และตัวเต็มวัยจากการทดลองในหัวข้อที่ 4 (ทรีทเมนต์ที่ 1 และ 5) ทดสอบในสภาพโรงเรือนปลูกพืชทดลองสำเร็จรูปขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ 4.0×4.0×2.5 เมตร (ภาพที่ 5) ณ แปลงทดลองภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2556 โดยทดสอบทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ (1 โรงเรือน แบ่งเป็น 2 โรงเรือนย่อย หรือ 2 ซ้ำ)

เพาะต้นกล้าบวบเหลี่ยมจากเมล็ดพันธุ์ตราสิงโต ของบริษัท พืชพันธุ์ตราสิงห์ จำกัด หลังจากต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 3-4 ใบ จึงย้ายลงปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 40.0 เซนติเมตร จำนวนทั้งหมด 64 กระถางๆ ละ 2 ต้น นำกระถางบวบเหลี่ยมทั้งหมดวางในโรงเรือนปลูกพืชสำเร็จรูป ให้น้ำทางสายยางทุกวันๆ ละ 3 ครั้ง ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เมื่อต้นบวบเหลี่ยมเริ่มติดผล เปลี่ยนการให้ปุ๋ยจากสูตรเดิมมาเป็นสูตร 15-15-21 ฉีดพ่นสารฆ่าแมลงอะบาเม็กติน (abamectin) 18.0% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ครั้งแรกเมื่อสุ่มพบการเข้าทำลายของไรแดง 2-3 ตัว/ยอด/ต้น และหยุดพ่นสารฆ่าแมลงทุกชนิดเป็นเวลา 7 วัน ก่อนเริ่มทดสอบสารตามทรีทเมนต์ต่างๆ

เมื่อบวบเหลี่ยมเริ่มติดผลจึงควบคุมจำนวนผลให้เท่ากันในรุ่นเดียวกันโดยใช้แถบป้ายบอกข้อมูลติดผลบวบเหลี่ยม จากนั้นตัดผลที่เกินออกแล้วห่อผลบวบเหลี่ยมทั้งหมดด้วยถุงกระดาษ โดยในแต่ละทรีทเมนต์ใช้จำนวนผลบวบดังกล่าวทั้งหมดจำนวน 112 ผล (28 ผล/ซ้ำ ทรีทเมนต์ละ 4 ซ้ำ) เมื่อผลบวบเหลี่ยมอายุได้ 8-10 วัน จึงเริ่มทดสอบโดยแกะกระดาษที่ห่อผลบวบเหลี่ยมไว้ออกทั้งหมด แล้วปล่อยตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศเมียอายุ 15-20 วัน จำนวน 100 ตัว/กรง เข้าสู่โรงเรือนก่อนฉีดพ่นสารทดสอบทรีทเมนต์ต่างๆ บนผลบวบเหลี่ยม โดยฉีดพ่นสารทดสอบครั้งแรกในวันที่ 25 พฤษภาคม พ.ศ. 2556 เก็บผลบวบเหลี่ยม 2 ครั้งๆ ละ 14 ผล/ซ้ำ หลังจากฉีดพ่น 1 และ 2 วัน ตามลำดับ นำไปวางไว้ในกล่องเลี้ยงแมลงที่รองพื้นด้วยขี้เลื่อยที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ตรวจนับจำนวนหนอนที่ออกจากผลบวบเหลี่ยม จำนวนหนอนที่ตาย จำนวนดักแด้ หลังจากนั้นนำดักแด้ไปวางไว้

ในกรงเลี้ยงแมลงเพื่อตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัย นำข้อมูลดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT

ตาราง 3 ทรีทเมนต์ต่างๆ ที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในโรงเรือนทดลอง

ทรีทเมนต์
1. เชื้อรา *M. anisopliae*
2. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม SK99®
3. เชื้อรา *M. anisopliae*+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
4. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม SK99®+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
5. เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม SK99®+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง
6. สารฆ่าแมลงมาลาไธออน
7. ควบคุม (น้ำเปล่า)

ภาพที่ 5 โรงเรือนปลูกพืชทดลองสำเร็จรูปที่ใช้ในการทดลอง

6. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาในสภาพแปลงทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างในแปลงทดลองนั้น ใช้แปลงทดลองขนาดกว้าง × ยาว เท่ากับ 20 × 20 เมตร แบ่งออกเป็น 4 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาด 9×9 เมตร ปลูกบวบเหลี่ยมจำนวน 12 แถวๆ ละ 11 หลุมปลูกต้นบวบหลุมละ 2 ต้น ระยะห่างระหว่างแถว 1 เมตร ระยะห่างระหว่างต้น 80 เซนติเมตร ก่อนปลูกฉีดสารควบคุมวัชพืชอะลาคลอร์ ในอัตรา 125.0-187.5 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ปลูกบวบเหลี่ยมโดยใช้เมล็ดพันธุ์ ยี่ห้อ Giant 21 ของบริษัท เพื่อนเกษตรกร จำกัด ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยคอกอัตรา 1,000 กิโลกรัม/ไร่ หลังจากต้นกล้าเริ่มออกใบจริง 3-4 ใบ ให้น้ำทางสายยางทุกวัน วันละ 2 ครั้ง ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เมื่อต้นบวบเริ่มติดผลเปลี่ยนปุ๋ยจากสูตร 15-15-15 มาเป็นสูตร 15-15-21 ฉีดสารฆ่าเชื้อรา เบนโนมิล 50% WP เมื่อพบการเข้าทำลายของราน้ำค้าง และจะหยุดฉีดสารทุกชนิดเป็นเวลา 7 วัน เพื่อให้ผลบวบพร้อมสำหรับการทดสอบทรีทเมนต์ต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ทรีทเมนต์ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์ 3 ชนิด คือน้ำมันปิโตรเลียม SK99® สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง และเชื้อรา *M. anisopliae* สำหรับทรีทเมนต์และความเข้มข้นของสารทดสอบที่นำมาประยุกต์ใช้สารทดสอบร่วมกันจำนวน 4 ทรีทเมนต์นั้น คัดเลือกจากทรีทเมนต์ที่มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมแมลงวันแตงในสภาพโรงเรือนจำนวน 2 ทรีทเมนต์ เปรียบเทียบกับสารฆ่าแมลงมาลาไธออน และน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม รวมทั้งหมด 4 ทรีทเมนต์ (ตารางที่ 4) ทดลองจำนวน 3 ครั้ง โดยทดสอบที่แปลงแปลงทดลองภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ 2 ครั้ง และแปลงปลูกพืชสถานีวิจัยคลองหอยโข่ง คณะทรัพยากรธรรมชาติ 1 ครั้ง

เมื่อบวบอายุได้ 40 วัน ฉีดพ่นสารทดสอบบริเวณผลบวบโดยใช้ถังสะพายหลังแบบสูบโยกตามความเข้มข้นและทรีทเมนต์ดังแสดงในตารางที่ 4 ฉีดพ่นสารทดสอบซ้ำทุก 7 วัน เก็บผลบวบที่ได้ขนาดซึ่งมีอายุ 8-10 วัน เพื่อประเมินความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของแมลงวันแตง บันทึกจำนวนผลผลิตทั้งหมด จำนวนผลผลิตที่เสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงวันแตง และน้ำหนักของผลผลิตในทรีทเมนต์ต่างๆ เป็นระยะเวลานานทั้งหมด 1 เดือน นำข้อมูลดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์โดยวิธี DMRT

ตาราง 4 ความเข้มข้นของทรีทเมนต์ต่างๆ ที่คัดเลือกมาทดสอบในสภาพแปลงทดลอง

ทรีทเมนต์	ความเข้มข้น (ppm)
(1) *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม	10^8 สปอร์/มล + 2,500
(2) *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม + สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	10^8 สปอร์/มล + 2,500 + 5,000
(3) สารฆ่าแมลงมาลาไธออน	3,000
(4) ชุดควบคุม (น้ำ)	-

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1. การเตรียมน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

จากการนำเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 40.0 กิโลกรัม มากะเทาะเปลือกออก ได้เนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหนัก 13.5 กิโลกรัม คิดเป็น 33.8% ของน้ำหนักเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด เมื่อนำมาสกัดด้วยวิธีการแช่ยุ่ยโดยใช้ตัวทำละลาย *n*-hexane ได้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 4,710.0 กรัม คิดเป็น 34.9 % ของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างทั้งหมด ลักษณะของน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ได้ มีสีเหลืองปนน้ำตาล หนืด และมีกลิ่นสะเดารุนแรง เมื่อนำกากเมล็ดสะเดาช้างที่ได้ไปสกัดต่อโดยวิธีการเดียวกันแต่ใช้ methanol เป็นตัวทำละลาย ได้สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างจำนวน 2,600.0 กรัม คิดเป็น 19.3% เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักของเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (ตารางที่ 5) ลักษณะของสารสกัดหยาบมีสีน้ำตาลดำ หนืด และกลิ่นรุนแรงน้อยกว่าน้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง

ตาราง 5 ปริมาณของน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดได้จากเนื้อในเมล็ดสะเดาช้างหนัก 13.50 กิโลกรัม

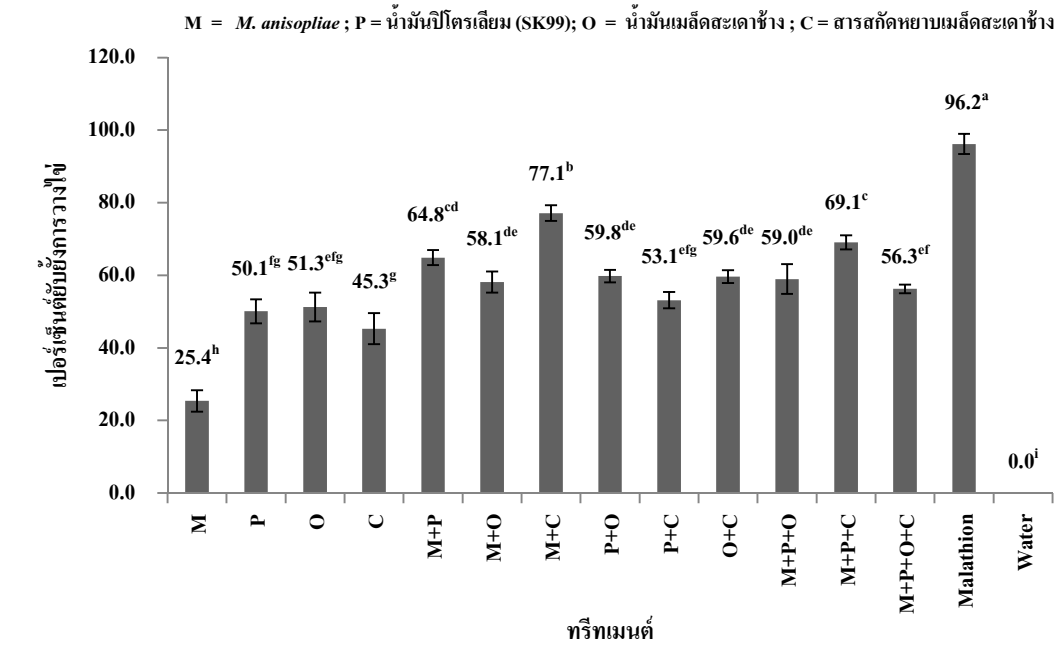
สารสกัด	ตัวทำละลาย	ปริมาณสารที่สกัดได้	
		น้ำหนัก (กรัม)	(%)
น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง	*n*-hexane	4,710.0	34.9
สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง	methanol	2,600.0	19.3

ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้น้อยกว่าปริมาณจากการศึกษาของนักวิจัยอื่นๆ ที่ได้รายงาน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ ในขั้นตอนการสกัดที่แตกต่างกัน เช่น ความชื้นของเมล็ดที่ใช้ในการศึกษา วิธีการสกัด เป็นต้น โดยในการศึกษาก่อนหน้าสามารถสกัดน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างได้ 40.9-53.4% (วิภาวดี, 2548; กฤษฎา, 2552; อรัญ, 2553) ส่วนปริมาณสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างที่สกัดได้ในครั้งนี้ 19.3% เท่ากับการศึกษาของ อรัญ (2553) ซึ่งสกัดสารสกัดหยาบได้ 19.3% เช่นกัน นอกจากนี้ Liauw และคณะ (2008) ได้สกัดน้ำมันจากเมล็ดสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica* A. Juss*)* ด้วยตัวทำละลาย *n*-hexane ได้น้ำมัน 44.29% และได้สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลาย ethanol คิดเป็น 41.1%

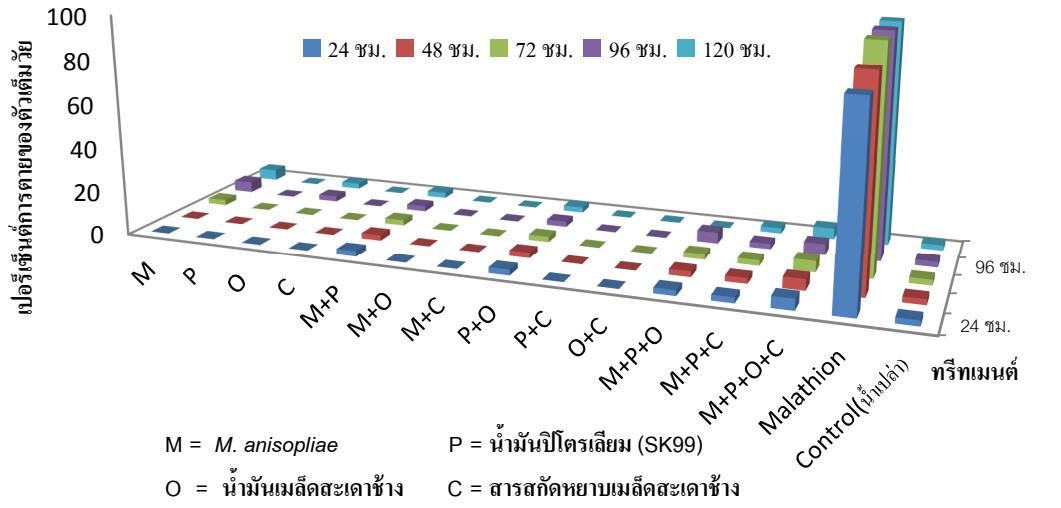
2. การศึกษาประสิทธิภาพเดี่ยวและร่วมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียมและผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างต่อการวางไข่ของแมลงวันแตงในห้องปฏิบัติการ

เมื่อตรวจนับจำนวนไข่ของแมลงวันแตง ในชิ้นบวบเหลี่ยมซึ่งเป็นเป้าล่อวางไข่ในทรีทเมนต์ต่างๆ แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แมลงวันแตงวางไข่ในทุกทรีทเมนต์ที่ใช้ทดสอบ เมื่อใช้สารทดสอบเพียง 1 ชนิด น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียมยับยั้งการวางไข่ได้ใกล้เคียงกัน รองลงมาคือ สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* ยับยั้งการวางไข่ได้ต่ำสุด (ภาพที่ 6) เมื่อผสมสารทดสอบดังกล่าว 2 ชนิดร่วมกัน ช่วยเสริมฤทธิ์ยับยั้งการวางไข่โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่อยู่ในช่วง 53.1-77.1% ซึ่งสูงกว่าการใช้สารเพียงอย่างเดียวซึ่งมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 25.4-51.3% ในทำนองเดียวกันกับการผสมสารทดสอบ 3 ชนิด ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่อยู่ในช่วง 59.0-69.1% ซึ่งสูงกว่าการใช้สารเพียงอย่างเดียวเช่นกัน (ภาพที่ 6) จึงกล่าวได้ว่าการประยุกต์ใช้ร่วมกันโดยผสมผลิตภัณฑ์ดังกล่าวข้างต้นตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป สามารถป้องกันการวางไข่ของแมลงวันแตงได้ดีกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเพียงอย่างเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างผสมกับเชื้อรา *M. anisopliae* สามารถลดการวางไข่ได้ดีที่สุด ส่วนสารฆ่าแมลงมาลาไธออน ซึ่งสามารถยับยั้งการวางไข่ได้สูงสุด 96.2% เนื่องจากแมลงวันแตงตายหลังจากได้รับสารทดสอบไม่เกิน 72 ชั่วโมง (ภาพที่ 7) จึงไม่สามารถวางไข่ได้

ผลการเสริมฤทธิ์ที่เกิดขึ้นในการยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตงในการศึกษาครั้งนี้เป็นผลมาจากการออกฤทธิ์ป้องกันการวางไข่ของทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียม อรัญ (2553) รายงานว่าน้ำมันปิโตรเลียมที่ระดับความเข้มข้น 5,000 ppm และน้ำมันเมล็ดสะเดาช้างที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm สามารถลดการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ *B. papayae* ในพริกได้ ในทำนองเดียวกันกับ Akhtar และคณะ (2004) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาอินเดีย สามารถลดการวางไข่ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera zonata* ได้ ขณะที่ Valencia-Botin และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้น้ำมันเมล็ดสะเดาช้างร่วมกับการจัดการศัตรูพืชแบบบูรณาการในส้ม ช่วยลดการวางไข่แมลงวันผลไม้เม็กซิกัน *Anastrepha ludens* (Loew) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ระดับความเข้มข้น 3.0% และ 5.0% นอกจากนี้ Khattak และคณะ (2009) พบว่าทั้งน้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาอินเดียที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm ลดการวางไข่ของแมลงวันแตง *B. cucurbitae* โดยพบจำนวนไข่ 1.70 ตัว/ผล ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดควบคุม ที่มีจำนวนไข่ 7.3 ตัว/ผล



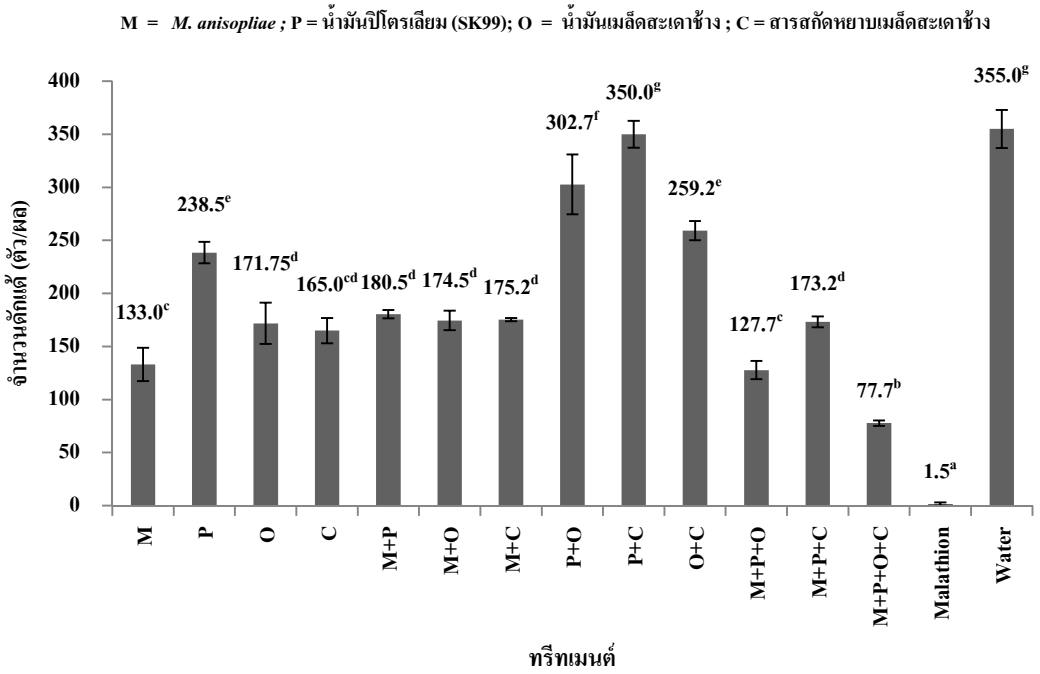
ภาพที่ 6 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งการวางไข่เฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26.40±1.18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 84.23±5.76% ในห้องปฏิบัติการ



ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ยสะสมของตัวเต็มวัยแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26.40±1.18 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 84.23±5.76%ในห้องปฏิบัติการ

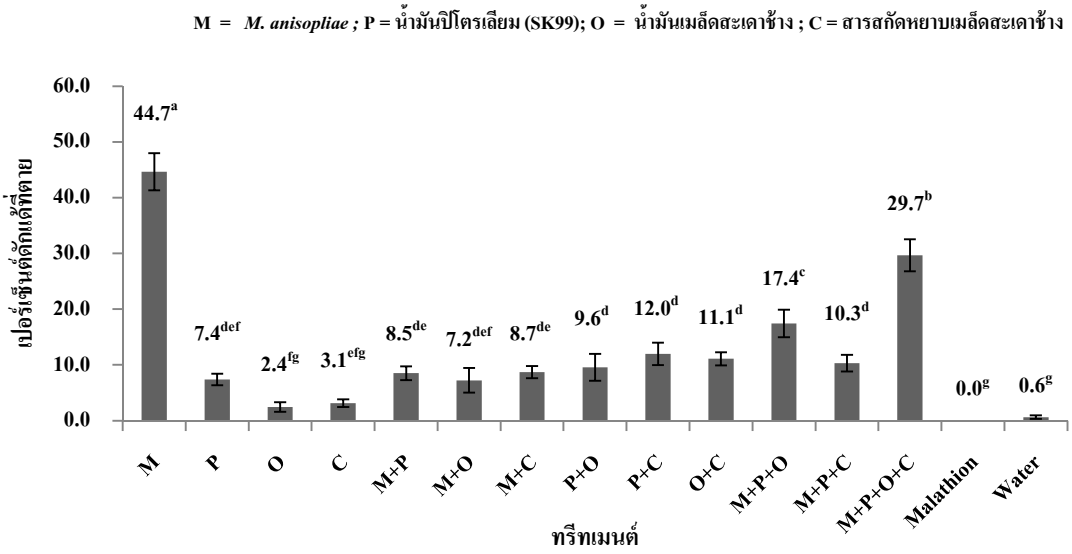
3. การประยุกต์ใช้เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ต่อจำนวนดักแด้และตัวเต็มวัย แมลงวันแตงในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาประสิทธิภาพเดี่ยวและร่วมของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้าง โดยตรวจนับจำนวนดักแด้ จำนวนดักแด้ที่ตายและจำนวนตัวเต็มวัย จำนวนดักแด้ของแมลงวันแตงทุกทรีทเมนต์ของสารทดสอบต่ำกว่าชุดควบคุมโดยมีจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ย 1.5-350.0 ตัว/ผล ในขณะที่ชุดควบคุมมีจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ย 355.0 ตัว/ผล (ภาพที่ 8) ชี้ให้เห็นว่าสารทดสอบในทรีทเมนต์ต่างๆ มีผลต่อการพัฒนาของแมลงวันแตงหลังจากวางไข่จนกระทั่งกลายเป็นดักแด้ เมื่อทดสอบใช้สารเพียง 1 ชนิด เชื้อรา *M. anisopliae* มีผลยับยั้งการพัฒนาเข้าสู่ดักแด้ดีที่สุด เนื่องจากพบจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ยต่ำสุด 133.0 ตัว/ผล รองลงมาได้แก่น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีค่าดังกล่าว 171.7 และ 165.0 ตัว/ผล ตามลำดับ ส่วนน้ำมันปิโตรเลี่ยมมีประสิทธิภาพต่ำสุดเนื่องจากพบจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ยสูงสุด 238.5 ตัว/ผล เมื่อนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวผสมกัน 2 ชนิด มีผลยับยั้งการพัฒนาเข้าสู่ดักแด้ลดลงเนื่องจากจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ยสูงอยู่ในช่วง 174.5-350.0 ตัว/ผล สูงกว่าการใช้สารเพียงชนิดเดียวซึ่งมีค่าดังกล่าวอยู่ในช่วง 133.0-238.5 ตัว/ผล (ภาพที่ 8) ชี้ให้เห็นว่าเกิดปฏิปักษ์ต่อกันเมื่อผสมผลิตภัณฑ์ข้างต้น 2 ชนิดเข้าด้วยกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกิดปฏิปักษ์อย่างสูงเมื่อผสมผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียมเข้าด้วยกัน อย่างไรก็ตาม กลับพบว่ามีการเสริมฤทธิ์เกิดขึ้นเมื่อผสมผลิตภัณฑ์ 3 และ 4 ชนิดเข้าด้วยกัน คือ เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง และเชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง ซึ่งมีจำนวนดักแด้สะสมเฉลี่ยม 127.7 และ 77.7 ตัว/ผล ตามลำดับ (ภาพที่ 8) ส่วนการใช้สารฆ่าแมลงมาลาไธออน พบจำนวนดักแด้ต่ำสุดโดยมีค่าดังกล่าวเพียง 1.50 ตัว/ผล เนื่องจากแมลงทดสอบตายเมื่อได้รับสารทดสอบไม่เกิน 72 ชั่วโมง จึงไม่สามารถวางไข่และพัฒนาจนกระทั่งเข้าสู่ระยะดักแด้ได้



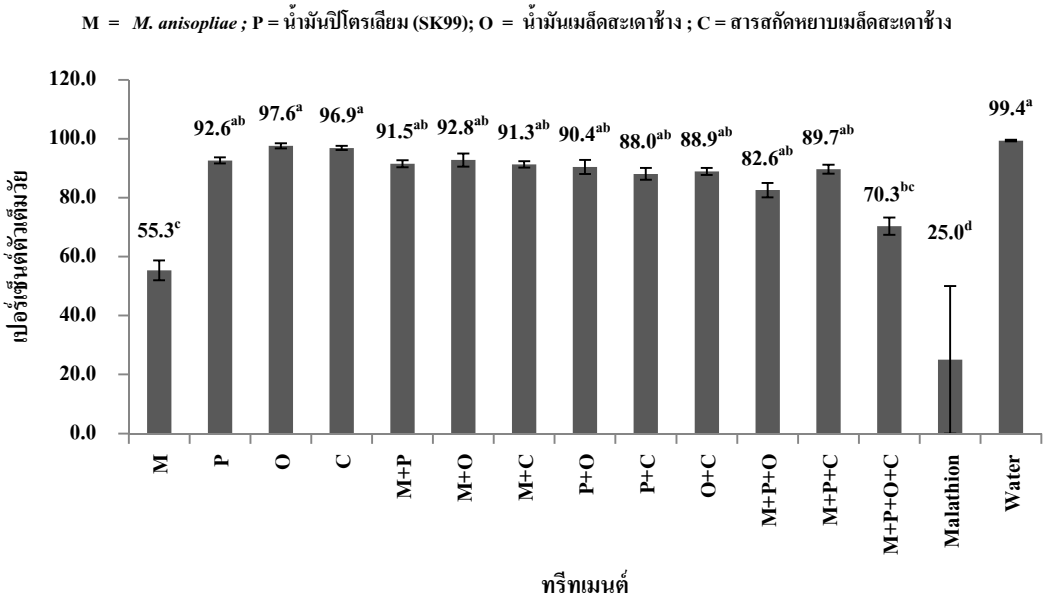
ภาพที่ 8 จำนวนดักแด้เฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำเปล่า) ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26.89±1.09 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 81.50±4.31% ในห้องปฏิบัติการ

เมื่อพิจารณาผลต่อการตายของดักแด้ โดยคิดเปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่ตายจากจำนวนดักแด้ทั้งหมด (ภาพที่ 9) พบว่า ทุกทรีทเมนต์ที่ทดสอบมีผลต่อการตายของดักแด้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีเปอร์เซ็นต์การตายของดักแด้อยู่ในช่วง 2.4-44.7 (ยกเว้นมาลาไธออน) ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าดังกล่าว 0.6% เป็นที่น่าสังเกตว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว ส่งผลต่อการตายของดักแด้มากที่สุด 44.7% ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับทรีทเมนต์อื่นๆ และเมื่อนำผลิตภัณฑ์อื่นๆ ที่เหลือมาผสมกับเชื้อราดังกล่าว ทำให้ดักแด้ตายน้อยกว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียมจึงเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อรา *M. anisopliae* หากพิจารณาผลต่อการตายของดักแด้ให้ผลในทางตรงกันข้าม กลับพบว่าผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียมเสริมฤทธิ์ต่อการตายของดักแด้ โดยเมื่อผสมผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเข้าด้วยกันทำให้ดักแด้ตายมากกว่าเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเพียง 1 ชนิด (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่ตายเฉลี่ยของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดักแด้ทั้งหมด ที่อุณภูมิเฉลี่ย 26.09±1.09 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 81.50 ± 4.31% ในห้องปฏิบัติการ

ส่วนดักแด้ที่มีชีวิตและสามารถพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยได้ แสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยสะสมดังแสดงในภาพที่ 10 หากไม่รวมมาลาไธออน การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียวทำให้ดักแด้พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยต่ำสุด 55.3% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับทรีทเมนต์อื่นๆ รองลงมาคือ เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม+น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีค่าเท่ากับ 70.3% สำหรับทรีทเมนต์อื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยสะสมใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 82.6-97.6%



ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์ตัวเต็มวัยเฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 120 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดักแด้ทั้งหมดที่อุณหภูมิเฉลี่ย 26.09±1.09 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 81.50 ± 4.31% ในห้องปฏิบัติการ

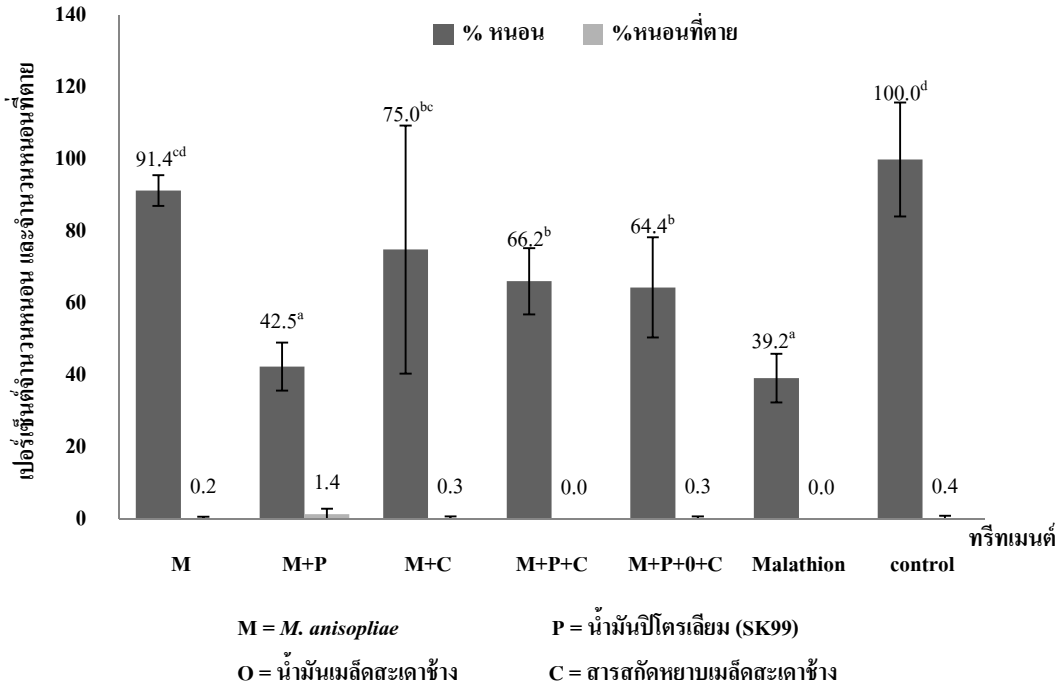
หากพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างเชื้อรา *M. anisopliae* ผลิตภัณฑ์จากเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียม ถึงแม้ว่าเชื้อรา *M. anisopliae* จะยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตงได้ต่ำสุดก็ตาม (ภาพที่ 6) แต่สามารถยับยั้งการพัฒนาและการอยู่รอดจากระยะไข่จนกระทั่งกลายเป็นตัวเต็มวัยได้ดีที่สุดโดยพบตัวเต็มวัยสะสมเฉลี่ยต่ำสุด 55.3% เนื่องจากมีการตายของดักแด้สูงสุดเมื่อฉีดพ่นด้วยเชื้อราดังกล่าวเพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 9) นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อการพัฒนาและการอยู่รอดของระยะหนอน เนื่องจากหนอนพัฒเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ (ภาพที่ 8) จากผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า ชื้อรา *M. anisopliae* ที่ติดไปกับไข่สามารถถ่ายทอดไปสู่ระยะหนอนและดักแด้ได้ เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ได้ฉีดพ่นเชื้อราที่ผลบวบแล้วปล่อยตัวเต็มวัยเพศเมียที่พร้อมวางไข่เพื่อวางไข่บนผลบวบ หลังจากนั้นนำไข่ที่อยู่ในผลบวบไปเลี้ยงเพื่อพัฒนาเข้าสู่ระยะหนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย ตามลำดับต่อไป เป็นไปได้ว่าเชื้อราบริเวณผิวผลบวบอาจติดกับอวัยวะวางไข่ของแมลงวันแตง และเมื่อมีการวางไข่จึงถ่ายทอดเชื้อไปยังไข่ได้ นอกจากนี้ไข่อาจจะสัมผัสโดยตรงกับเชื้อราขณะวางไข่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของปาณิศาและนริศ (2557) ที่ได้นำตัวเต็มวัยแมลงวันแตงเพศเมียคลุกด้วยเชื้อรา *M. anisopliae* PSUM02 ความหนาแน่น $1X10^6$ สปอร์/มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นจึงปล่อยให้เชื้อเจริญเป็นเวลา 1 2 3 และ 4 วัน จึงนำผลแตงกวาไปให้ตัวเต็มวัยวางไข่พบว่า แมลงวันแตงเพศเมียมีเปอร์เซ็นต์การ

วางไข่ลดลงเมื่อระยะเวลาการติดเชื้อราเพิ่มมากขึ้น และหนอนพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้น้อยลง 20% และดักแด้กลายเป็นตัวตัวเต็มวัยลดลง 37.5% ที่เวลา 2 วัน

ส่วนผลิตภัณฑ์สารสกัดเมล็ดสะเดาช้างและน้ำมันปิโตรเลียมยับยั้งการพัฒนาเข้าสู่ดักแด้และสู่ตัวเต็มวัย (ภาพที่ 8 และ 10) ถึงแม้ว่าจะไม่เห็นเด่นชัดเมื่อเปรียบเทียบกับผลยับยั้งการวางไข่ (ภาพที่ 6) ซึ่งมีรายงานการยับยั้งการพัฒนาของแมลงในทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว โดย Jilani และคณะ (2006) พบว่า น้ำมันปิโตรเลียมที่ระดับความ เข้มข้น 250 500 และ 1,000 ppm มีผลให้แมลงไม่สามารถเข้าดักแด้ได้ และเมื่อเติมสารดังกล่าวลงไปในอาหารเลี้ยงแมลงที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 1,000 ppm มีผลให้ดักแด้ไม่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ ส่วน Alvarenga และคณะ (2012) รายงานว่าผลิตภัณฑ์สะเดาอินเดียมีผลกระทบกับตัวอ่อน ของแมลงวันผลไม้ชนิด *Ceratitis capitata* (Wiedemann) และแตนเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 10.0 15.0 20.0 25.0 และ 30.0% สามารถลดการฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ชนิดดังกล่าวได้ 75.5 63.8 68.8 58.0 52.8 และ 38.5% ตามลำดับ มีผลให้หนอนแตนเบียน *D. longicaudata* ลดลง 10.30 11.30 6.30 6.30 6.50 และ 5.00% ตามลำดับ สำหรับการศึกษาในแมลงชนิดอื่น Silva และคณะ (2013) รายงานการใช้ผลิตภัณฑ์สะเดาอินเดีย พ่นลงบนไข่ของหนอนกออ้อย (*Diatraeas accharalis*) ที่ความเข้มข้น 0.1 0.3 0.5 1 และ 2% น้ำมันสะเดามีผลให้เปอร์เซ็นต์ของการฟักของหนอนลดลง 31.0-99.0% เพิ่มอัตราการตายของหนอนและทำให้รูปร่างผิดปกติอีกด้วย

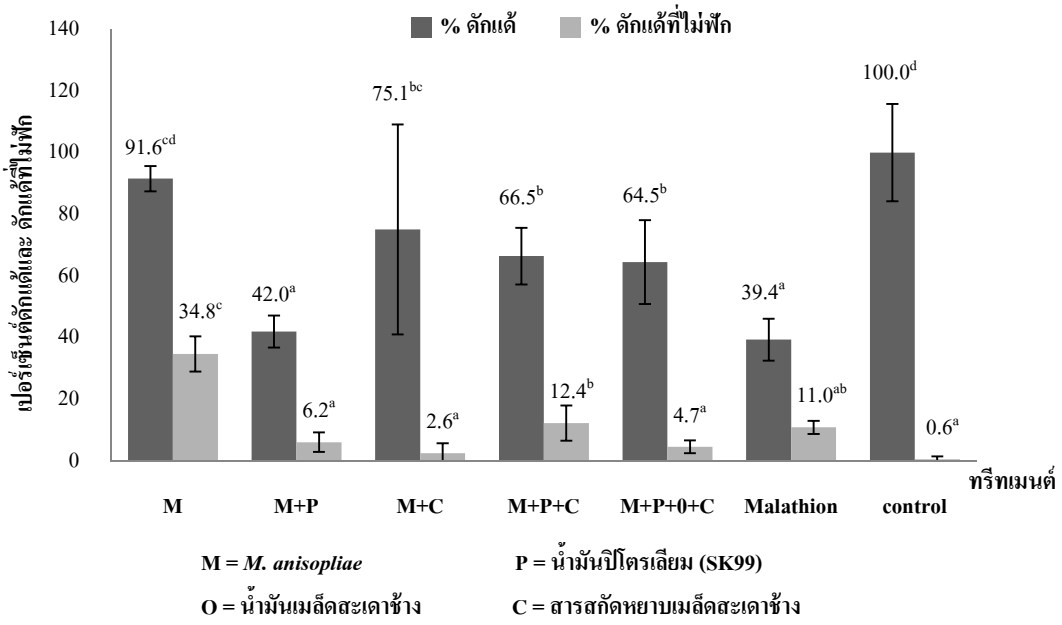
4. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงวันแตงในสภาพโรงเรือนทดลอง

ศึกษาการเข้าทำลายของแมลงวันแตงหลังจากฉีดพ่นสารทดสอบชนิดต่างๆ ลงบนผลบวบเหลี่ยมเป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง ในสภาพโรงเรือน ตรวจนับจำนวนหนอน จำนวนหนอนที่ตาย จำนวนดักแด้ จำนวนดักแด้ที่ไม่ฟัก และจำนวนตัวเต็มวัย พบแมลงวันแตงเข้าทำลายบวบเหลี่ยมทุกทรีทเมนต์ และให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม สามารถควบคุมหนอนแมลงวันแตงได้ดีและให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับการใช้สารฆ่าแมลงมาลาไธออน (ภาพที่ 11) ส่วนทรีทเมนต์อื่นๆ พบจำนวนหนอนลดลงโดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนหนอนต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว (ภาพที่ 11)



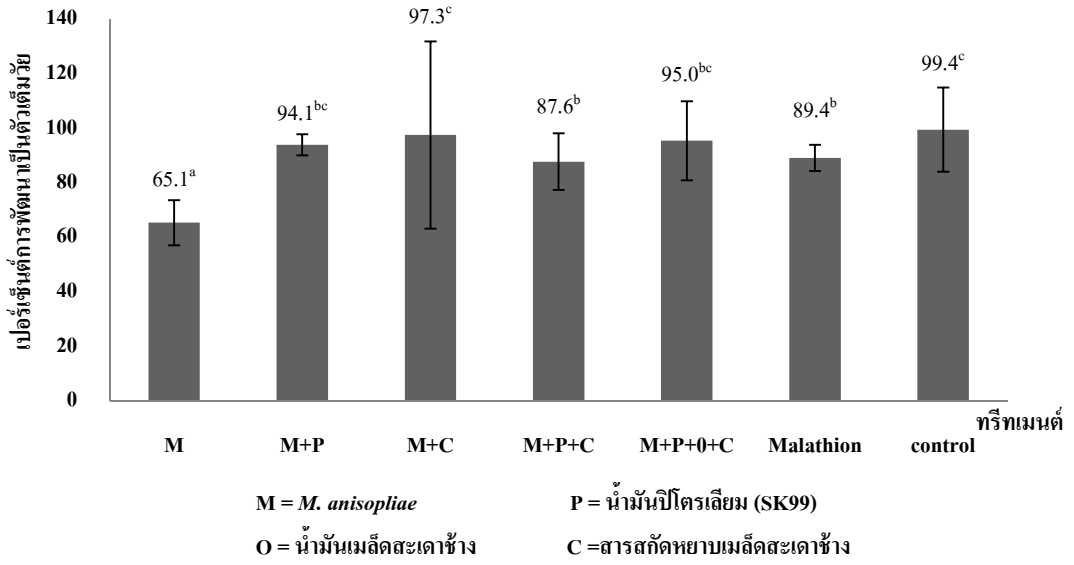
ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์หนอนเฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเปอร์เซ็นต์หนอนที่ตายเปรียบเทียบกับจำนวนหนอนทั้งหมดหลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 29.44±2.0 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 69.88±5.0 % ในสภาพโรงเรือน

ส่วนผลต่อจำนวนดักแด้และจำนวนดักแด้ที่ไม่ฟักของแมลงวันแตง (ภาพที่ 12) พบว่า การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม มีเปอร์เซ็นต์ดักดักแด้เฉลี่ย 42.0 ต่ำกว่าสารทดสอบอื่นรวมทั้งชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากสารฆ่าแมลงมาลาไธออนซึ่งมีค่าดังกล่าว 39.4% ส่วนในทรีทเมนต์อื่นพบจำนวนดักแด้ในระดับใกล้เคียงกัน แต่ยังคงน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว ซึ่งพบจำนวนดักแด้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียวมีผลให้เปอร์เซ็นต์ของดักแด้ที่ไม่ฟักสูงที่สุดถึง 34.8% สูงกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รองลงมาได้แก่ การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างมีค่าดังกล่าว 12.4% ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสารมาลาไธออน ส่วนทรีทเมนต์อื่นๆ มีเปอร์เซ็นต์ของดักแด้ที่ไม่ฟักอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันระหว่าง (2.6-6.2%) ในขณะที่ชุดควบคุมมีค่าดังกล่าว 0.6% (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 เปอร์เซ็นต์ดักแด้เฉลี่ยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และเปอร์เซ็นต์ดักแด้ที่ไม่ฟักเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดักแด้ทั้งหมดหลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 29.44±2.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 69.88±5.0 % ในสภาพโรงเรือน

ส่วนผลต่อการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันแตง พบว่า การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียว ดักแด้พัฒนาเป็นตัวเต็มวัยต่ำที่สุด 65.1% และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับทรีทเมนต์อื่นๆ รวมทั้งชุดควบคุม (ภาพที่ 13) ซึ่งเป็นผลต่อเนื่องมาจากเชื้อราดังกล่าวทำให้ดักแด้ตายมากที่สุด (ภาพที่ 12) ถึงแม้ว่าการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* เพียงอย่างเดียวจะช่วยลดปริมาณตัวเต็มวัยได้ดีที่สุดก็ตาม แต่ในสภาพโรงเรือนทดลองยังคงพบปริมาณหนอนแมลงวันแตงสูงและหนอนสามารถพัฒนาเข้าสู่ระยะดักแด้ได้ค่อนข้างสูง (ภาพที่ 11 และ12) ดังนั้นการใช้เชื้อราชนิดดังกล่าวเพียงอย่างเดียวจึงไม่สามารถควบคุมแมลงวันแตงได้ในสภาพแปลงทดลอง จึงต้องนำมาผสมกับน้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง มาใช้ในสภาพแปลงทดลอง โดยคัดเลือกผลการทดลองในสภาพโรงเรือน 2 ทรีทเมนต์คือ การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม และ การใช้เชื้อรา *M. anisopliae*+น้ำมันปิโตรเลียม+สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง เปรียบเทียบกับสารมาลาไธออน และน้ำเป็นชุดควบคุม



ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นตัวเต็มเฉลี่ยวัยสะสมของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* หลังพ่นสารทดสอบที่เวลา 48 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนดักแด้ทั้งหมดที่อุณหภูมิเฉลี่ย 29.44±2.0 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 69.88±5.0 % ในสภาพโรงเรือน

5. การศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และผลิตภัณฑ์เมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงวันแตงในสภาพแปลงทดลอง

จากการศึกษาประสิทธิภาพร่วมของเชื้อรา *M. anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงวันแตงในบวบในสภาพแปลงทดลอง พบว่า ผลผลิตบวบส่วนใหญ่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ระหว่างทรีทเมนต์ ยกเว้นจำนวนผลดีที่ชุดควบคุม มีจำนวนผลต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับทรีทเมนต์อื่นๆ (ตารางที่ 6) แต่อย่างไรก็ตาม หากเปรียบเทียบระหว่างทรีทเมนต์ต่างๆ พบว่า การใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม (M+P) ให้น้ำหนักผลผลิตรวมทั้งหมดและน้ำหนักผลดีซึ่งสามารถจำหน่ายได้ สูงสุด รองลงมาได้แก่การใช้สารมาลาไธออน (malathion) และการใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง (M+P+C) ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุม (control) ให้ผลผลิตดังกล่าวต่ำสุด (ตารางที่ 6) มีรายงานการใช้น้ำมันสะเดาอินเดียที่ระดับความเข้มข้น 1.20% เพื่อควบคุมแมลงวันแตงในแปลงปลูกแตงกวา และน้ำเต้า สามารถลดความเสียหายได้ 6.2 และ 39.0% ตามลำดับ และน้ำมันสะเดาอินเดียที่ระดับความเข้มข้น 4.0%

ร่วมกับสารฆ่าแมลง DDVP 0.2% ลดความเสียหายที่เกิดจากแมลงวันแตงได้ 9.1-9.5 % เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (Ranganath *et al*., 1997)

ตาราง 6 จำนวนและน้ำหนักของผลผลิตบวบ (mean ± SE) จากการทดสอบการใช้เชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* ในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี[1/]	น้ำหนักผลผลิตทั้งหมด (กก.)	น้ำหนักผลดี (กก.)	น้ำหนักผลเสีย (กก.)	จำนวนผลทั้งหมด	จำนวนผลดี	จำนวนผลเสีย
M + P	115.7±20.3	93.3±12.0	22.4±9.1	741.3±67.6	581.7±13.5[a]	159.7±63.9
M + P + C	102.1±27.0	79.0±19.6	23.0±8.9	683.0±104.6	487.0±52.1[a]	196.0±63.5
Malathion	106.4±7.7	87.8±3.7	18.6±6.0	724.3±63.7	564.3±28.5[a]	160.0±55.1
Control	72.0±11.1	43.0±4.0	29.0±9.3	536.7±85.8	312.0±10.4[b]	224.7±82.7
F-test	ns[2/]	ns	ns	ns	**[3/]	ns

[1/] M = *Metarhizium anisopliae*; P = น้ำมันปิโตรเลียม; C = สารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้าง

[2/] ns = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

[3/] ** = ตัวอักษรที่แตกต่างกัน ภายในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

สรุป

จากการศึกษาการนำเชื้อรา *M. anisopliae* มาใช้ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างในการควบคุมแมลงวันแตง โดยศึกษาการใช้สารทดสอบเพียงอย่างเดียว ใช้สารดังกล่าวผสมกัน 2 ชนิด 3 ชนิด และ 4 ชนิด เปรียบเทียบกับการใช้ฆ่าแมลงมาลาไธออนและน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุมในห้องปฏิบัติการ ในโรงเรือนทดลอง และในสภาพแปลงทดลอง ผลจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการนั้น แม้ว่าประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงมาลาไธออนให้ผลในการควบคุมแมลงวันแตงดีที่สุดก็ตาม แต่การใช้น้ำมันปิโตรเลียมและสารสกัดหยาบเมล็ดสะเดาช้างร่วมกับเชื้อรา *M. anisopliae* ยับยั้งการวางไข่ของแมลงวันแตงได้มากขึ้นอย่างเด่นชัด ในขณะที่การใช้เชื้อราชนิดดังกล่าวเพียงอย่างเดียวยับยั้งการวางไข่และการพัฒนาเป็นระยะหนอนและดักแด้ได้น้อย แต่สามารถยับยั้งการพัฒนาจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัยได้ดีที่สุด ซึ่งผลดังกล่าวเป็นไปในทำนองเดียวกันกับผลการทดสอบในโรงเรือน แต่การใช้น้ำมันปิโตรเลียมผสมกับเชื้อรา *M. anisopliae* ให้ประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันแตงในสภาพโรงเรือนดีที่สุดและให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้สารฆ่าแมลงมาลาไธออน ในทำนองเดียวกันกับการทดสอบในแปลงทดลองที่การใช้น้ำมันปิโตรเลียมผสมกับเชื้อรา *M. anisopliae* ให้ประสิทธิภาพควบคุมแมลงวันแตงดีที่สุดเมื่อพิจารณาจากคุณภาพและปริมาณของผลผลิตบวบเหลี่ยม

ดังนั้นในการผลิตบวบเหลี่ยมเพื่อให้ได้ทั้งคุณภาพและปริมาณของผลผลิต รวมทั้งมีความปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม จึงควรใช้เชื้อรา *M. anisopliae* ร่วมกับน้ำมันปิโตรเลียมในการควบคุมแมลงวันแตงในบวบเหลี่ยม โดยผสมเชื้อราดังกล่าวที่ระดับความหนาแน่น 1×10^8 สปอร์/มิลลิลิตร กับน้ำมันปิโตรเลียม SK99® ที่ระดับความเข้มข้น 2,500 ppm (50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร) ฉีดพ่นทุก 7 วัน ในระยะติดผล ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้เพื่อทดแทนการใช้สารเคมีในการควบคุมการเข้าทำลายของแมลงวันแตงได้

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา หมื่นหนู. 2552. ผลต่อการวางไข่ของแมลงวันแตง (*Bactrocera cucurbitae* CoQ.) ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack). และตะไคร้หอม (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. .ในผลมะระ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 141-142 หน้า.

จันทร์จิรา โพธิ์เสริฐ. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการวางไข่ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack) บนแมลงวันทอง [*Bactrocera papayae* sp. (Drew and Hancock)] ในผลพริกหยวก (*Capsicum annuum* L.). ปัญหาพิเศษ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 29 หน้า.

ทิวา บุตรผา. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excels* Jack) เพื่อควบคุมหนอนใยผัก (*Plutella xylostella*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 145 หน้า.

นริศ ท้าวจันทร์ และอนุชิต ชินาจริยวงศ์. 2551. ประสิทธิภาพการควบคุมของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ในแมลงวันผลไม้ (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร(พิเศษ) 39: 21-25.

นริศ ท้าวจันทร์ อนุชิต ชินาจริยวงศ์ และ วิวัฒน์ เสือสะอาด. 2554.ผลของเชื้อราโรคแมลง *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* ต่อพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวัน ผลไม้ *Bactrocera papayae* (Diptera: Tephritidae). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร(พิเศษ) 42: 339-342.

ปาณิศา ธรรมเสวต และ นริศ ท้าวจันทร์. 2557. ผลของระยะเวลาการติดเชื้อราโรคแมลง *Metarhizium anisopliae* PSUM02 ต่อการวางไข่และระยะตัวอ่อนแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae.* วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 54-58.

มะลิวัลย์ ปันยารชุน. 2534. การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยใช้เชื้อรา. เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี. หน้า 167-168 .กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ยุวดี ช้างแก้ว. 2547. ประสิทธิภาพของน้ำมันชนิดต่างๆ ในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงรำคาญ. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 19 หน้า.

รุจ มรกต. 2541. เกร็ดความรู้น้ำมันปิโตรเลียมกำจัดศัตรูพืช. วารสารกีฏวิทยาและสัตววิทยา 20: 219-220.

รุจ มรกต. 2542. น้ำมันปิโตรเลียมกำจัดศัตรูพืช. วารสารเคหการเกษตร 23: 182-189.

วิภาวดี ชำนาญ. 2548. การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack) เพื่อไล่ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus* Say.) วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา กีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 79 หน้า.

สมศักดิ์ ศิวิชัย. 2544. เชื้อราทำลายแมลง. วารสารชีวปริทรรศน์ 3: 9-12.

แสน ติกวัฒนานนท์. 2539. การเลี้ยงแมลงวันทองในสกุลดาคัสสี่ชนิดให้ได้ปริมาณมากด้วยอาหารกึ่ง เทียม. ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย) 20 : 22-36.

อรัญ งามผ่องใส, สนั่น ศุภธีรสกุล และธีระพล ศรีชนะ. 2552. การวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างเพื่อควบคุมยุงลายบ้าน. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาการ จัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 215 หน้า.

อรัญ งามผ่องใส. 2553. การใช้น้ำมันปิโตรเลียม น้ำมันเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack) และเหยื่อล่อโปรตีนควบคุมแมลงวันผลไม้ (*Bactrocera papayae* Drew & Hancock) (Diptera: Tephritidae). รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา. 45 หน้า.

เอกราช แก้วนางโอ. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำมันและสารสกัดหยาบเนื้อในเมล็ดสะเดาช้าง (*Azadirachta excelsa* Jack.) เพื่อควบคุมยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti* Linnaeus). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขากีฏวิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

Alvarenga, C.D., França, W.M., Giustolin, T.A., Paranhos, B.A.J., Lopes, G.N., Cruz, P.L. and Barbosa, P.R.R. 2012. Toxicity of neem (*Azadirachta indica*) seed cake to larvae of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata*. (Hymenoptera: Bracoidae) Florida Entomologist 95: 57-62.

Allwood, A.J., Chinajariyawong, A., Drew, R.A.I., Hamacek, E.L., Hancock, D.L., Hengsawad, C., Jinapin, J.C., Jirasurat, M., Kong Krong, C., Kritsaneepaiboon, S., Leong, C.T.S., Vijaysegaran, S. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera:Tephritidae) in South-East Asia. The Raffles Bulletin of Zoology 7: 1-99.

Akhtar, N., Jilani, G., Mahmood, R., Ashfaq, M. and Iqbal, J. 2004. Effect of plant derivatives on settling response and fecundity of peach fruit fly (*Bactrocera zonata*) (Saund.). Sarhad Journal of Agriculture 20: 269-274.

Castillo, M.A., Moya, P., Hernandez, E. and Primo-Yufera, E. 2000. Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. Biological Control 19: 274-282.

Clarke, A.R., Allwood, A., Chinajariyawong, A., Drew, R.I.A., Hengsawad, C., Jirasurat, M., Kong Krong, C. and Kritsaneepaiboon, S. 2001. Seasonal abundance and host use patterns of seven *Bactrocera* Macquart species (Diptera: Tephritidae) in Thailand and Malaysia. The Raffles Bulletin of Zoology 49: 207-220.

Christenson, L.D. and Foote, R.H. 1960. Biology of fruit flies. Annual Review of Entomology 5: 171-192.

Collins, D.J. and Collins, B.A. 1998. Fruit fly in Malaysia and Thailand 1985-1993. ACIAR. 27 pp.

Dhillon, M.K., Singh, R., Naresh, J.S. and Sharma, H.C. 2005. The melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae*: A review of its biology and managemant. Journal of Insect Science 5: 1-16.

Dimbi, S., Maniania, N.K. and Ekesi, S. 2009. Effect of *Metarhizium anisopliae* inoculation on the mating behavior of three species of African Tephritid fruit flies, *Ceratitis capitata, Ceratitis cosyra* and *Ceratitis fasciventris*. Biological Control 50: 111-116.

Dimbi, S., Maniania, N.K., Luk, S.A., Ekesi, S. and Mueke, J.K. 2003. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, to three adult fruit fly species: *Ceratitis capitata* (Weidemann), *C. rosa* var *fasciventris* Karsch and *C. cosyra* (Walker) (Diptera: Tephritidae). Mycopathologia 156: 375-382.

Doharey, K.L. 1983. Bionomics of fruit flies (*Dacus* spp.) on some fruits. Indian Journal of Entomology 45: 406-413.

Ekesi, S., Dimbi, S. and Maniania, N.K. 2007. The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) with emphasis on species occurring in Africa. *In*: Ekesi, S., and Maniania, N.K. (eds). *Use of Entomopathogenic Fungi in Biological Pest Management*. pp. 239-274. Research SignPost, Kerala.

Ekesi, S., Maniania, N.K. and Lux, S.A. 2002. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomophathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology 12: 7-17.

Ferra, P. 1988. Fruit flies in Asia and the Pacific: problems and possible approaches for solution. Working Paper No. 13. ACIAR. Australia.

Hardy, D.E. 1973. The fruit flies (Tephritidae: Diptera) of Thailand and bordering countries. Pacific Insects Monograph 31: 353 pp.

Hedström. I. and Monge-Nájera, J. 1998. Is sexually transmitted fungal infection evidence for size-related mating success in Neotropical guava fruit flies? *Journal of Tropical Biology*. 46:1129–1132.

Jilani, G., Khattak, M. K. and Shahzad, M. F. 2006. Toxic and growth regulating effect of ethanol extract and petroleum ether extract of *Valariana officianalis* L. against *Bactrocera zonata* (Saund.). Pakistan Journal of Biological Sciences 28: 11-14.

Kershaw, M.J., Moorhouse, E.R., Bateman, R., Reynolds, S.E. and Charnley, A.K. 1999. The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. Journal of Invertebrate Pathology 74: 213-223.

Khattak, M. K., Rashid, M.M. and Abdullah, K. 2009. Effect of neem derives on infestation, settling and oviposition of melon fruit fly, (*Bactrocera cucurbitae* Coq.) (Tephritidae: Diptera). Pakistan Journal of Biological Sciences 3: 11-15.

Klein, M.G. and Lacey, L.A. 1999. An attractant trap for autodissemination of entomophathogenic fungi into populations of the Japanese beetle *Popillia laponica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Biocontrol Science and Technology 9: 151-158.

Lazama-Gutierraz, R., Trujillo-de la Luz, A., Moliana-Ochoa, J., Rebolledo-Dominguez, O., Pescador, A.R., Lopez-Edwards, M. and Aluja, M. 2000. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Laboratory and field trials. Journal of Economic Entomology 93: 1080-1084.

Liauw, M. Y., Natan, F. A., Widiyanti, P., Ikasari, D., Indraswati, N. and Soetaredjo, F. E. 2008. Extraction of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) using n-hexane and ethanol: studies of oil quality kinetic and thermodynamic. Department of Chemical Engineering. 3: 49-54

McEwen, F.L. and Stephenson, G.R. 1979. The Use and Significance of Pesticides in the Environment. New York –Chichester-Brisbane-Toronto, 538 p.

Milner, R.J. 2000. Current status of *Metarhizium* as a mycoinsecticide in Australia. Biocontrol/News and Information 21: 47-50.

Moino, A.Jr., Alves, B., Lopes, R. B., Oliveira, P.M., Neves, J., Roberto, M. P. and Vieira, S. A. 2002. External Development of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in the subterranean termite *Heterotermes tenuis*. Scientia Agricola 59: 267- 273.

Nagpal, B.H., Srivastana, A., Valecha, N. and Sharma, V.P. 2001. Repellent action of neem cream against *An. culicifacies* and *Cx. quinquefasciatus*. Current Science 10: 1270-1271.

Peng, G., Wang, Z., Yin, Y., Zeng, D. and Xia, Y. 2008. Field trial of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Ascomycota: Hypocreales) against Oriental migratory locusts, *Locusta migatroia manilensis* (Meyen) in northern China. Crop Protection 27: 1244-1250.

Quesada-Moraga, E., Martin-Carballo, I., Garrido-Jurado, I. and Santiago-Alvarez, C. 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Biological Control 47: 115-124.

Rae, D.J., Watson, D.M., Liang, W.G., Tan, B.L., Li, M., Huang, M.D., Ding, Y., Xiong, J.J., Du, D.P. Tang, J. and Beattie, G.A.C. 1996. Comparision of petroleum spray oils, abamectin, cartap and methomyl for control of citrus leaf miner (Lepidoptera: Gracillariidae) in southern China. Journal of Economic Entomology 89: 493-500.

Ranganath, H.R., Suryanarayana, M.A. and Veenakumari, K. 1997. Management of melon fly (*Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae* Coquillett) in cucurbits in South Andaman. Insect Environment 3: 32-33.

Sideney, B.O., Miniuk, C. M., Barros, N. M. d. and Azevedo, J. L. 2001. Growth and sporulation of *Metarhizium flavoviride* var. *flavoviride* on culture media and lighting regimes. Journal of Agricultural Science 58: 613-616.

Silva, D.C.V., Schneider, L.C.L. and Conte, H. 2013. Toxicity and residual activity of a commercial formulation of oil from neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), in the embryonic development of *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae). Florida Entomologist 4: 131.

Toledo, J., Liedo, P., Flores, S., Campos, S.E., Villasensor, A. and Montoya, P. 2006. Use of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for fruit fly control: A novel approach. Proceedings of the 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. pp. 127-132.

Valencia-Botin, A. J., Bautista-Martinez, N. and Lopez-Buenfil, J. A. 2004. Use of neem (*Azadirachta indica* A Juss) aqueous extract on the oviposition of Mexican fruit fly, (*Anastrepha ludens* Loew) (Diptera: Tephritidae) in Valencia orange. Fitosanidad 8: 57-59.

Waterhouse, D.F. 1993. The Major Arthropod Pests and Weeds of Agriculture in Southeast Asia. Canberra: ACIAR. 141 pp.

Weems, H.V. Jr. and Heppner, J.B. 2001. Melon fly, *Bactrocera cucurbitae* Coquillett (Insect: Diptera: Tephritidae). Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, and T.R. Fasulo, University of Florida Publication

White, I.M., and Elson-Harris, M. 1992. Fruit Flies of Economic Importance their Identification and Bionomics. CAB International Oxon. England. 601 pp.

การเผยแพร่ผลงานวิจัย

วัชระ ลุ้งใส้. 2557. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเข้าทำลายของแมลงวันแตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ในบวบเหลี่ยม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชากีฏวิทยา มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์, สงขลา 73 หน้า.

วัชระ ลุ้งไส้, อรัญ งามผ่องใส และ นริศ ท้างจันทร์. 2555. ผลของน้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการเจริญของเส้นใยและการงอกของสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร (พิเศษ). 43: 95-98.

วัชระ ลุ้งไส้, อรัญ งามผ่องใส และ นริศ ท้างจันทร์. 2556. ผลของเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. น้ำมันปิโตรเลียม และสารสกัดเมล็ดสะเดาช้างต่อการวางไข่ของแมลงวันแตง แตง *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett).การประชุมวิชาการพืชศาสตร์ครั้งที่ 1 วันที่ 13-14 สิงหาคม 2556. คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา.

Thaochan, N., Ngampongsai, A. and Loongsai, W. 2014. Effects of *Metarhizium anisopliae,* petroleum oil and thiam seed extracts on egg laying and development of immature stages of *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae). The 9th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance (ISFFEI 2014), Bangkok, Thailand: 12-16 May.

Thaochan, N. and Ngampongsai, A. (in press). *Metarhizium guizhouense* PSUM02, petroleum oil, and thiam *(Azadirachta excels)* seed oil and crude extract: screening from laboratory to field for control of melon fruit fly, *Bactrocera cucurbitae Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae).