รายงานฉบับสมบูรณ์
(Final Report)

โครงการย่อยที่ 4 การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลง และสารไล่แมลงเพื่อควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก

Sub Project 4: Research and Development of Myco - Insecticide and Repellent for Controlling Bean fly, *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Agromyzidae: Diptera)

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: วิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เกษตรและผลิตภัณฑ์สำหรับการปลูกพืชเพื่อลดสารเคมีบนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: เพื่อฟื้นฟูและอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

โดย

มาลี ตั้งระเบียบ

สนับสนุนทุนวิจัยโดย สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

รายงานฉบับสมบูรณ์
(Final Report)

โครงการย่อยที่ 4 การวิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลง และสารไล่แมลงเพื่อควบคุมหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก

Sub Project 4: Research and Development of Myco - Insecticide and Repellent for Controlling Bean fly, *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Agromyzidae: Diptera)

โครงการย่อยภายใต้ชุดโครงการ: วิจัยและพัฒนาชีวภัณฑ์เกษตรและผลิตภัณฑ์สำหรับการปลูกพืชเพื่อลดสารเคมีบนพื้นที่สูง

แผนงานวิจัย: เพื่อฟื้นฟูและอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

ผู้วิจัย **สังกัด**

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มาลี ตั้งระเบียบ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

พฤศจิกายน 2559

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้ดำเนินการวิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงต่อสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนทุนวิจัยประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณต่อสถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร (สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปางเดิม) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ในการสนับสนุนบุคคลากรและอนุญาตให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์เครื่องมือต่างๆในการดำเนินการวิจัย ทำให้การดำเนินงานวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์ที่วางไว้

ผู้วิจัย

พฤศจิกายน 2559

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน)
Highland Research and Development Institute (Public Organization)

ผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย)	นางสาวมาลี ตั้งระเบียบ
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ)	Ms. Malee Thungrabeab
คุณวุฒิ	ปริญญาเอก
ตำแหน่ง (ทางวิชาการ	ผู้ช่วยศาสตราจารย์
หน่วยงาน	สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา
ที่อยู่	สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร ตู้ ปณ. 89 อ. เมือง จ. ลำปาง 52000
โทรศัพท์/โทรสาร	0-5434-2553/0-5434-2550
E-mail	sriwanmal@yahoo.com

สถาบันวิจัยและพัฒนาที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

ถั่วแขกเป็นพืชหลักชนิดหนึ่งที่มูลนิธิโครงการหลวงส่งเสริมให้กับเกษตรกร จากการสำรวจพบว่าแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว (Bean fly) เป็นแมลงศัตรูสำคัญที่สร้างความเสียหายในระยะกล้า วิธีป้องกันกำจัดทำโดยการฉีดพ่นน้ำหมักสมุนไพร สารสกัดพืช และสารเคมี เช่น ไตรอะโซฟอส อิมิดาคลอพริด หรือติดตั้งกับดักกาวเหนียวในระยะตัวเต็มวัย อย่างไรก็ตามยังพบความเสียหายอยู่ในระดับสูง การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงสายพันธุ์ที่กำจัดแมลงวันเจาะลำต้นควบคู่ไปกับการใช้สารไล่ป้องกันไม่ให้แมลงมาเข้าใกล้ต้นพืชเป็นอีกวิธีการที่ลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้อย่างมีประสิทธิภาพและให้ผลในระยะยาว เนื่องจากเชื้อราสามารถทำลายแมลงได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เพิ่มปริมาณได้เองบนตัวแมลง ตลอดจนปรับตัว อาศัยและขยายพันธุ์ได้ดีในสภาพธรรมชาติ

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2558 มาลี ได้คัดเลือกเชื้อราจำนวน 3 สกุล 5 ชนิด 9 ไอโซเลท พบว่า มีความแตกต่างกันของเปอร์เซ็นต์การตาย ระหว่าง สกุล ชนิดและ ไอโซเลทของเชื้อรา โดยเชื้อรา *Beauveria bassiana* ผลการทดสอบในระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยมีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 80-100% โดย ไอโซเลท Bff. พบมีเปอร์เซ็นต์การตายที่ 100 % เช่นเดียวกันเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* มีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 80-100% ในระยะตัวหนอน ส่วนระยะตัวเต็มวัย พบทุกไอโซเลท ตายได้ 100% โดยไอโซเลท Mff. มีเปอร์เซ็นต์การตาย 100 % ที่ความเข้มข้น $1x10^8$ สปอร์/มิลลิลิตร ทั้งระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัย ระยะเวลาการตายที่ 50% (LT_{50}) เท่ากับ 3.93 และ 3.63 วันสำหรับเชื้อรา *B. bassiana* Bff และ *M. anisopliae* Mff ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา *Isaria* spp. พบมีเปอร์เซ็นต์การตายอยู่ระหว่าง 40-60 % สำหรับผลของการนำพืช 7 ชนิดได้แก่ ไพล ส้มโอ ตะไคร้หอม การบูร ยูคาลิปตัส โหระพา และมะกรูด มาสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำ พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากเปลือกส้มโอมีประสิทธิภาพไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้ 100 % ในระยะเวลา 3.3 นาที รองลงมาได้แก่ น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสและใบโหระพาตามลำดับ โดยที่น้ำมันหอมระเหยจากใบการบูรให้ประสิทธิภาพในการไล่ได้ 20 % น้อยที่สุด ผลการทดสอบน้ำมันหอมระเหยต่อการมีชีวิตของเชื้อราที่ทดสอบผลต่อการงอกของสปอร์และต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1, 1 และ 2 ต่อการงอกของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่นำมาทดสอบทุกชนิดที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ไม่มีผลต่อความงอกของสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ที่ระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ร้อยละ 1 น้ำมันไพล ยับยั้งการงอกของเชื้อรา *B. bassiana* ได้ 100 % ส่วนน้ำมันตะไคร้หอมมีผลต่อการงอกของเชื้อรา *B. bassiana* ส่วนผลของน้ำมันหอมระเหยต่อเชื้อรา *M. anisopliae* พบว่า น้ำมันหอมระเหยทั้ง 7 ชนิดไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อ สำหรับผลของน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 1 ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.1 น้ำมันยูคาลิปตัสมีผลในการยับยั้งน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ การบูร โดยน้ำมันตระไคร้หอม มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรามากที่สุด ส่วนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำมันไพล น้ำมันยูคาลิปตัส น้ำมันตะไคร้หอมและน้ำมันมะกรูด ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา 100% โดยน้ำมันโหระพาและส้มโอ มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยน้อยที่สุด นอกจากนี้ผลการคัดเลือกพืชที่มีคุณสมบัติเป็นสารจับใบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพเชื้อรา

กำจัดแมลงในการกำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ผลการทดลองพบว่า พืช 5 ชนิด ได้แก่ ส้มป่อย มะคำดีควาย มะตาด ว่านหางจระเข้ และใบหมี่ ที่นำมาผสมน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0.1, 1, 3, 5 และ 10 พบว่า ทุกพืชมีคุณสมบัติเป็นสารจับใบได้ แต่การจับใบได้ดีแตกต่างกันขึ้นกับระดับความเข้มข้น ส้มป่อยและมะคำดีควาย ที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ทำให้ใบพืชเปียกได้ทั่วกันสม่ำเสมอ ส่วนความสามารถของพืชในการทำให้สปอร์ของเชื้อราหลุดออกจากวัสดุเลี้ยงเชื้อและกระจายตัวแปรผันตามความเข้มข้น พืชที่นำมาทดสอบเป็นสารจับใบไม่มีผลต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* แต่มะตาดที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น พบเส้นใยที่งอกออกมาสั้นกว่า พืชอื่นๆ ที่ทดสอบ ส่วนผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยพบว่ามีเฉพาะมะคำดีควายที่มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา โดยเชื้อรา *B. bassiana* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ 29.6 และ 40.6 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 1 ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 12.37 และ 17.49 เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่คัดเลือกได้ ทั้งใช้แบบเดี่ยวๆ และร่วมกับการใช้น้ำมันหอมระเหยเป็นสารไล่ มีศักยภาพในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้

เนื่องจากที่ชีววิทยาของแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ตัวเต็มวัยแมลงวันไข่ในเนื่อเยื่อใบถั่ว เมื่อหนอนฟัก หนอนชอนไชลงในลำต้นถั่ว การที่จะให้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่วเมื่อพ่นไปแล้วเกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุม จึงต้องมีการผสมสารเพิ่มประสิทธภาพ ได้แก่ สาร surfactant และ สาร emulsifiers ซึ่งเป็นสารที่มีผลต่อผิวสัมผัสระหว่างหยดของสารและผิวใบ สาร surfactant ที่ดีต้องมีคุณสมบัติ 3 ประการ ดังนี้ การเป็นสารเปียกใบ (wetting agents) คือทำหน้าที่ลดแรงตึงผิวทำให้หยดสารสัมผัสกับใบพืช สารจับใบ (sticking agents) เป็นสารที่ทำหน้าที่คล้ายกาวทำให้หยดของสารเกาะติดแน่นกับใบพืช จึงช่วยป้องกันการชะล้าง สารบางชนิดมีคุณสมบัติ ทั้งจับใบและเปียกใบไปในตัว และประการที่ 3 สารลดแรงตึงผิว (detergents) เป็นสารที่มีคุณสมบัติลดแรงตึงผิวของสารละลาย มีคุณสมบัติในการละลายหรือทำลายไขมันได้ดี จึงทำให้หยดสารแผ่แบนราบบนใบพืช ทำลายไข (wax) บนใบพืช สารจึงผ่านเข้าทางเนื้อใบได้ง่ายขึ้น ซึ่งในปีงบประมาณ 2558 ผลจากการศึกษาสาร surfactant ที่ใช้พืช 5 ชนิดข้างต้นยังไม่ได้ครบทั้ง 3 องค์ประกอบ

ด้วยเหตุนี้ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2559 จึงดำเนินงานโครงการวิจัยนี้ต่อเนื่องโดยได้ปรับปรุงประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลง รวมทั้งศึกษาหาวิธีการและเทคนิคที่เหมาะสมเพื่อทดสอบการใช้งานในแปลงปลูกพืช ด้วยการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ที่นำเชื้อรา จำนวน 2 ไอโซเลทที่ได้คัดเลือกในปี 2558 ได้แก่ *M. anisopliae* Mff และ *B. bassiana* Bff มาผลิตสูตรสำเร็จ (formulation) ที่มีการผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพ ได้แก่ สาร surfactants และสาร emulsifier ที่มีประจุลบ ได้แก่ Sodium lauryl sulfate, Sodium lauryl ether sulfate (N70) สารที่มีประจุบวกได้แก่ Cetyl trimethyl ammonium bromide ส่วนประเภทที่ไม่มีประจุ ใช้สาร Sorbitan esters (Span) สาร Lecithin และ Glycerol เป็นตัวแทนของสารที่มีทั้งประจุบวกและประจุลบ รวมถึง Acacia gum, Gelatin, Sodium alginate และ Methyl cellulose ซึ่งสารเพิ่มประสิทธิภาพ (surfactants และ emulsifier) ที่นำมาผสมในสูตรสำเร็จต้องไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จึงได้มีการศึกษาผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพดังกล่าว ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ ร้อยละ 1, 3 และ 10 ต่อการงอกของสปอร์และการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* Bff และ *M. anisopliae* Mff

นอกจากศึกษาสารเพิ่มประสิทธิภาพต่อความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแล้ว ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารเพิ่มประสิทธิภาพที่มีคุณสมบัติ เป็นสารเปียกใบ สารจับใบ และสารลดแรงตึงผิว จึงได้มีการศึกษาสาร 10 ชนิดดังกล่าวข้างต้น ที่ 4 ระดับความเข้มข้นๆร้อยละ 0.01, 0.1, 1 และ10 หลังจากได้ผลการศึกษาผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ไม่มีผลต่อความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงและคุณสมบัติของการเป็นสารเปียกใบ สารจับใบ และสารลดแรงตึงผิวแล้ว นำชนิดสารและ ระดับความเข้มข้นที่ศึกษาได้มาพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว แล้วนำสูตรสำเร็จที่พัฒนาได้ ไปศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว อายุการเก็บรักษาสูตรสำเร็จ รวมทั้งบันทึกต้นทุนการผลิตของสูตรสำเร็จของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว

การควบคุมแมลงศัตรูพืชให้ได้ผลดีที่สุดคือการควบคุมแมลงศัตรูพืชแบบบูรณาการ ที่มีการใช้วิธีการควบคุมแมลงตั้งแต่สองวิธีขึ้นไป การใช้สารไล่แมลงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถใช้เป็นทางเลือกในการควบคุมแมลงได้ จากปีงบประมาณ 2558 ได้มีการศึกษาผลของน้ำมันหอมระเหย 7 ชนิด ในการไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว พบว่า น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ ใบยูคาลิปตัส มีประสิทธิภาพในการไล่ตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้ 100% ในสภาพห้องปฏิบัติการ จึงได้นำน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิดนี้ มาผลิตเป็นสารไล่ที่แตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ สารไล่ชนิดน้ำที่มี Sodium alginate และ พาราฟินเหลว เป็นส่วนประกอบ ชนิดครีมที่ประกอบด้วย ไขผึ้ง AB wax พาราฟินแข็ง น้ำส้มสายชู น้ำมันละหุ่ง แป้งมันสำปะหลังสุก Sorbital และ Tween80 และชนิดแข็ง ที่มีไขผึ้ง และพาราฟินแข็ง ที่มีความแตกต่างกันของสูตร สารไล่ชนิดน้ำ 2 สูตร ชนิดครีม 10 สูตร และสารไล่ชนิดแข็ง 5 สูตร โดยมีน้ำมันหอมระเหยที่เป็นสารไล่ ที่ระดับความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก บันทึกความคงทนและระดับของกลิ่นในแต่ละสูตรที่อยู่ในสภาพห้องและในแปลงปลูกพืช ประสิทธิภาพในการไล่ รวมถึงต้นทุนการผลิตเพื่อหาผลิตภัณฑ์สารไล่จากน้ำมันหอมระเหยที่สามารถคงทนได้ในสภาพแวดล้อมได้นานที่สุด รวมถึงความสะดวกในการนำไปใช้ในสภาพแปลง นำสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพแล้วให้ผลดีที่สุดในสภาพห้องปฏิบัติการ มาทำสูตรสำเร็จร่วมกับน้ำมันหอมระเหยที่ใช้เป็นสารไล่ สุดท้ายของการดำเนินงานคือการนำสารชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่วและสารไล่ไปทดสอบกับถั่วแขกในสภาพโรงเรือนทดลอง ซึ่งผลการศึกษาพบว่า สารเพิ่มประสิทธิภาพ (สาร surfactant และ สาร emulsifier)ได้แก่Sodium lauryl sulfate, Sodium lauryl ether sulfate (N70), Cetyl tri methyl ammonium bromide, Sorbitan esters (Span®), Lecithin, Glycerol, Gum acacia, Gelatin, Sodium alginate และ Methyl cellulose ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 10 โดยใช้ Tween 80 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นตัวเปรียบเทียบ ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่าการงอกของสปอร์ ที่สปอร์แขวนลอยอยู่ในสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ระยะเวลาต่างๆกัน ที่ 0, 1, 6, 24 และ 48 ชั่วโมง สาร Sodium lauryl ether sulfate, Sorbitan esters, Lecithin, Gum acacia, Gelatin, Methyl cellulose, Glycerol และ Sodium alginate ทุกระดับความเข้มข้นและทุกเวลาที่ทดสอบไม่มีผลต่อความงอกของสปอร์ทั้งเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ส่วนสาร Sodium lauryl sulfate ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 มีผลต่อความงอกของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ส่วนสปอร์เชื้อรา *M. anisopliae* แขวนลอยอยู่ในสาร Sodium lauryl sulfate นาน 6 ชั่วโมงขึ้นไปจึงผลต่อความงอกของสปอร์ สำหรับ Cetyl tri methyl ammonium bromide ที่ระดับ

ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์ *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ได้ 100% แต่ผลการศึกษาความสามารถในการเปียกใบพืช พบว่า Sodium lauryl sulfate และ Cetyl tri methyl ammonium bromide ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีความสามารถในการเปียกใบพืชได้ดี จึงได้นำระดับความเข้มข้นที่ ร้อยละ 0.1 มาทดสอบผลต่อความงอกของสปอร์ พบว่าสปอร์ของเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* งอกได้ตามปกติ สำหรับผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ Lecithin, Gum acacia, Gelatin, Methyl cellulose และ Sodium alginate ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ส่วนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1 ของ Sodium lauryl ether sulfate และ Glycerol มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใย ในขณะที่ ความเข้มข้นร้อยละ 1ของ Cetyl tri methyl ammonium bromide และ Sodium lauryl sulfate มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย 100 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 Sodium lauryl sulfate มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใย ที่ 2.86% และ 20.67% ส่วน Cetyl tri methyl ammonium bromide เท่ากับ 5.43% และ 23.91% สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ตามลำดับ

จากที่กล่าวข้างต้นสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ดีต้องมีคุณสมบัติ การเป็นสารเปียกใบ (wetting agents) สารจับใบ (sticking agents) และ สารลดแรงตึงผิว (detergents) ผลการทดสอบการเป็นสารเปียกใบ ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ร้อยละ 0.01, 0.1, 1 และ 10 พบว่า สาร Sodium lauryl sulfate, Cetyl tri methyl ammonium bromide และ Sodium alginate มีคุณสมบัติในการเป็นสารเปียกใบได้ดีตั้งแต่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.01 ใบพืชเปียกได้สม่ำเสมอทั่วใบ ส่วนสาร Sorbitan esters และ Methyl cellulose ทั้ง 4 ความเข้มข้น ไม่ทำให้ใบพืชเปียก ส่วน Gum acacia พบทำให้ใบพืชเปียกได้น้อยมาก สำหรับ Sodium lauryl ether sulfate และ Lechithin เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พบการเปียกของใบพืชลดลงส่วน Glycerol และ Gelatin พบการจับเป็นหยดน้ำใบพืชเปียกไม่ถึง 50% แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น พบการเปียกใบดีขึ้น แต่ไม่ทั่วทั้งใบ ส่วนคุณสมบัติการแผ่กระจายพบเพียง Lecithin ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1% เท่านั้น ที่เมื่อหยดสารลงบนใบถั่วแล้วสามารถแผ่กระจายไปบนใบพืชได้ดีกว่าสารและความเข้มข้นอื่น การที่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ไข่ในเนื้อเยื่อพืช และหนอนจะอาศัยอยู่ในลำต้น การหาสารที่มีการซึมผ่านลงบนใบพืชได้ดี สามารถช่วยทำให้เชื้อราเข้าสู่ปากใบพืชได้ ผลการจุ่มใบพืชลงไปในสาร แล้วดูระยะเวลาการแห้งจากใบพืช พบว่า Sodium lauryl sulfate ทุกความเข้มข้นมีระยะเวลาที่ใบพืชแห้งเท่ากันหมดซึ่งน้อยกว่าสารอื่นที่นำมาทดสอบ อย่างไรก็ตาม Sodium alginate ที่ ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 มีระยะเวลาใกล้เคียงกับ Sodium lauryl sulfate แต่ Sodium lauryl sulfate และ Cetyl tri methyl ammonium bromide ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 มีผลต่อการมีชีวิตของเชื้อรากำจัดแมลง ทั้ง *B. bassiana* และ *M. anisopliae*

ดังนั้นเมื่อพิจารณา 1) ผลของสารเพิ่มประสิทธิภาพต่อการมีชีวิตของเชื้อรา 2) คุณสมบัติของการเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ดี 3) ความเข้มข้นที่ใช้ผสมในสูตรสำเร็จที่ต้องมีระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าความเข้มข้นสำหรับการใช้งานจริง ทั้งนี้เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสูตรสำเร็จเชื้อราที่ต้องการ จึงได้คัดเลือกสาร Sodium alginate โดยใช้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 และ Lecithin ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 มาพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จเชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ที่ประกอบด้วยเชื้อราชนิดผงร้อยละ 10 ซึ่งมีความเข้มข้นของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ตั้งต้น ที่ 5.74×10^{10} และ 2.45×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ตามลำดับ สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อ

ราที่เก็บไว้ในตู้แช่ อุณหภูมิ 10± 2 °C ผ่านไป 6 เดือน สปอร์เชื้อรางอกได้ตามปกติ และไม่พบความแตกต่างของการกระจายและระยะเวลาการซึมผ่านไปในใบถั่วระหว่างชีวภัณฑ์เชื้อราก่อนและหลังการเก็บรักษา แต่สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ช่วงอุณหภูมิ 24- 39 °C) พบว่า เชื้อราสามารถมีอายุอยู่ได้ เพียง 4 เดือน สำหรับผลการทดสอบสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราเพื่อควบคุมระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรามีผลทำให้ต้นถั่วเกิดความเสียหายน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม ในทุกกรรมวิธีที่ทดสอบ เมื่อพ่นสูตรสำเร็จในระยะตัวเต็มวัย ส่วนเมื่อพ่นสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ในระยะตัวหนอน พบว่ากรรมวิธีที่มีการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรามีปริมาณตัวเต็มวัยน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม สำหรับต้นทุนการผลิตพบว่า มีต้นทุนการผลิตต่อลิตรเท่ากับ 115.79 บาท โดยเป็นต้นทุนของ Sodium alginate 10 บาท Lechitin 50 บาท ผงเชื้อรา 35 บาท ค่าน้ำ 0.79 บาท ค่าสาธารณูปโภค และแรงงาน ลิตรละ 20 บาท โดยมีต้นทุนการใช้ต่อไร่ 27.79 บาท เมื่ออัตราการพ่นคือ 1 มิลลิลิตร/1 ลิตร พ่น 80 ลิตร/ไร่ ใน 1 ฤดูปลูก พ่นจำนวน 3 ครั้ง

ผลการวิจัยและพัฒนาชนิดสารไล่ ได้สารไล่ชนิดน้ำ 2 สูตร สารไล่ชนิดครีม 10 สูตร และสารไล่ชนิดแข็ง 5 สูตร ที่มีการใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส และเปลือกส้มโอเป็นสารไล่ ระยะเวลาการคงทนและระดับของกลิ่น ขึ้นอยู่กับชนิดของสารไล่และชนิดของน้ำมันหอมระเหย สารไล่ชนิดครีมมีความคงทนของกลิ่นได้นานที่สุด สารไล่ชนิดน้ำ มีความคงทนของกลิ่นได้น้อยที่สุด สูตรที่ 6 ของสารไล่ชนิดครีมมีความคงทนของกลิ่นได้นานมากกว่า 23 วันระยะเวลาการคงทนของกลิ่นในสภาพห้อง และในสภาพแปลงไม่มีความแตกต่างกัน ยกเว้นในสารไล่ชนิดแข็ง ที่เมื่ออยู่ในสภาพแปลง พบกลิ่นสลายเร็วกว่าในสภาพห้อง การตรวจผลหลังฝนตกพบว่าความแรงของกลิ่นในสารไล่ชนิดครีมเพิ่มขึ้น สำหรับน้ำมันหอมระเหยที่นำมาผสมเป็นสารไล่ น้ำมันยูคาลิปตัสมีระยะเวลาการคงทนของกลิ่นได้นานกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ สำหรับประสิทธิภาพในการไล่ พบว่า สารไล่ชนิดแข็ง ให้ผลในการไล่ได้มากที่สุด น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอให้ประสิทธิภาพในการไล่ได้สูงกว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส แต่น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสมีความคงทนในสภาพแปลงได้มากกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ ยกเว้นในสารไล่ชนิดแข็ง

สำหรับผลการพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมของชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่ ที่นำน้ำมันหอมระเหยที่ใช้เป็นสารไล่ใส่ลงในสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราเพื่อสะดวกในการนำไปใช้ เพราะว่าเมื่อฉีดพ่นชีวภัณฑ์เชื้อราลงบนใบพืช น้ำมันหอมระเหยที่ผสมอยู่ในสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราจะกระจายลงไปและจะสามารถไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้นั้น พบว่าความมีชีวิตของเชื้อราในการพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมกันของชีวภัณฑ์เชื้อราร่วมกับสารไล่ที่มีระดับความเข้มข้นของเชื้อรา 5.74×10^{10} และ 2.45×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ตามลำดับ ความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่ร้อยละ 10 เพื่อว่าเมื่อนำไปใช้ได้อัตราที่แนะนำของเชื้อราที่ 1×10^{8} สปอร์/มิลลิลิตร และความเข้มข้นของสารไล่เท่ากับในผลิตภัณฑ์สารไล่ คือร้อยละ 1 พบว่า เชื้อรา *B. bassiana* ไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ทั้งในทั้งที่มีน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส และน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอเป็นสารไล่ ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* ในน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสเชื้อราไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ แต่พบว่ามีเชื้อราร้อยละ 15.89 สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสูตรสำเร็จร่วมที่มีน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอเป็นสารไล่ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสปอร์เชื้อราแขวนลอยอยู่ในน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอนานตั้งแต่ 6 ชั่วโมง ไม่พบมีสปอร์เชื้อรารอดชีวิต ส่วนความคงทนกลิ่นในสูตรสำเร็จร่วมได้อยู่ได้นานมากกว่า 3 สัปดาห์ สำหรับต้นทุนการผลิตของสูตรสำเร็จร่วมที่น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัสเป็นสารไล่มีต้นทุนวัตถุดิบเท่ากับ 240.19 บาท และ 445.19 บาท ที่มีน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอเป็นสารไล่ ส่วนประสิทธิภาพใน

การควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่วของสูตรสำเร็จร่วม พบว่า เมื่อสารไล่มีระดับความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยสูง สูตรสำเร็จร่วมมีประสิทธิภาพในการไล่มากกว่าเนื่องจากน้ำมันหอมระเหยยับยั้งการงอกของสปอร์ชีวภัณฑ์เชื้อราแต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาเป็นสารไล่มีค่าต่ำสูตรสำเร็จร่วมมีประสิทธิภาพในการกำจัดมากกว่าประสิทธิภาพการไล่

สำหรับผลการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่วและสารไล่แมลงในสภาพโรงเรือนทดลอง ได้เลือกชีวภัณฑ์เชื้อรา *B. bassiana* ส่วนสารไล่ เลือกสารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 6 ที่ใช้น้ำมันยูคาลิปตัสเป็นสารไล่ โดยใช้ระดับความคงทนและระดับของกลิ่นมาตัดสินใจในการคัดเลือก เพราะถึงแม้สารไล่ชนิดน้ำและชนิดแข็งสามารถไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้ 100% แต่ระยะเวลาความคงทนในสภาพแปลงน้อยกว่าสารไล่ชนิดครีมอย่างชัดเจน อีกทั้งการใช้สารไล่ชนิดครีมนอกจากให้ประสิทธิภาพในการไล่แล้วยังสามารถดักจับแมลงทำให้แมลงมาติดกับครีมที่ทาได้อีกทางหนึ่ง สำหรับต้นทุนการผลิตของสารไลแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ขึ้นอยู่กับสารและชนิดของน้ำมันหอมระเหยที่นำมาผลิต สารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 6 ที่คัดเลือกมาทดสอบมีวัตถุดิบที่ประกอบด้วย Bee wax 17 กรัม Tween 80 4 มิลลิลิตร Vinegar 4 มิลลิลิตร น้ำมันละหุ่ง 42 มิลลิลิตร ร้อยละ 5 ของแป้งมันสำปะหลังสุก 25 กรัม Sorbital 7 มิลลิลิตร น้ำมันยูคาลิปตัส 1 มิลลิลิตร โดยมีต้นทุนวัตถุดิบที่ 158.29 บาท ต่อกิโลกรัมที่สัดส่วนของเปอร์เซ็นต์น้ำหนัก (%w/w) คือ Bee wax 17 กรัม Tween 80 3.76 กรัม Vinegar 4.24 กรัม น้ำมันละหุ่ง 39 กรัม ร้อยละ 5 ของแป้งมันสำปะหลังสุก 25 กรัม Sorbital 10 กรัม น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส 1 กรัม และต้นทุนวัตถุดิบ 178.79 บาทต่อกิโลกรัมเมื่อมีน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอเป็นสารไล่ สำหรับสารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 10 มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันกับสารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 6 จึงมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นสารไล่สำหรับใช้ทดสอบการไล่แมลงวันเจาะลำตันถั่วในแปลง เนื่องจากมีจำนวนวัตถุดิบในการเตรียมสารไล่น้อยกว่าวิธีการเตรียมจึงไม่ยุ่งยากหลายขั้นตอนเหมือนกับสูตรที่ 6 วัตถุดิบของสารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 10 ประกอบด้วย พาราฟิล์มแข็ง 20 กรัม Tween 80 20 มิลลิลิตร Vinegar 20 มิลลิลิตร ร้อยละ 5 ของแป้งมันสำปะหลังสุก 20 กรัม sorbital 10 มิลลิลิตรและ น้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส 1 มิลลิลิตร หรือมีสัดส่วนร้อยละของน้ำหนักต่อน้ำหนัก (%w/w) คือพาราฟิล์มแข็ง 20 กรัม Tween 80 18.8 กรัม Vinegar 21.2 กรัม แป้งมันสำปะหลังสุก 24.7 กรัม และ sorbital 14.3 กรัมน้ำมันหอมระเหยยูคาลิปตัส 1 กรัม มีต้นทุนการผลิตอยู่ที่ 148 และ 168.49 บาทต่อกิโลกรัม เมื่อมีน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอเป็นสารไล่

ส่วนผลการทดสอบในสภาพโรงเรือนทดลอง ที่ประกอบด้วยกรรมวิธี การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราร่วมกับสารไล่ การใช้สารไล่ การใช้สารเคมีอิมิดาคลอพริด และกรรมวิธีควบคุมที่ไม่มีการใช้สารใดๆ โดยบันทึกความเสียหายของต้นถั่วที่ถูกทำลายด้วยแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว พบว่า เปอร์เซ็นต์ความเสียหายมีความแตกต่างทางสถิติ การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา ชีวภัณฑ์เชื้อราร่วมกับสารไล่และการใช้สารอิมิดาคลอพริด ความเสียหายไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการใช้สารไล่เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นตความเสียหายน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมแต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองในโรงเรือน การใช้สารไล่ ไม่สามารถไล่แมลงออกไปได้ แมลงจึงมีโอกาสที่จะบินกลับมาวางไข่ที่ต้นถั่วแขกได้อีก แต่หากสามารถไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วออกไปได้ระยะหนึ่ง เมื่อต้นถั่วแขกมีอายุมากกว่า

15 วันหลังถั่วงอก แมลงวันเจาะลำต้นถั่วจะไม่ลงทำลายแล้ว ส่วนการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในโรงเรือน แมลงวันเจาะลำต้นถั่วไม่สามารถบินหนีได้ โอกาสที่ชีวภัณฑ์เชื้อราถูกตัวแมลงจึงมีมากกว่า จึงควรมีการทดสอบประสิทธิภาพของการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา สารไล่และชีวภัณฑ์เชื้อราร่วมกับสารไล่ในสภาพแปลงเปิดโล่งต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดสอบเพิ่มเติมในแปลงปลูกถั่วแขกในสภาพแปลงเปิด
2. ควรมีการศึกษาระยะการวางสารไล่ในแปลงปลูกพืช
3. น้ำมันหอมระเหยที่ควรจะพัฒนาไปเป็นสารไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ควรใช้น้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสแทนน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ เพราะสามารถหาได้ง่ายกว่า และหาได้ตลอดปี ส่วนเปลือกส้มโอ ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพในการไล่ได้ 100% แต่จะถูกจำกัดในเรื่องของการหาเปลือกส้มโอมาสกัดน้ำมันหอมระเหย
4. สูตรครีมที่ 10 ที่ประกอบด้วย Paraffin Tween 80 Vinegar แป้งมันสำปะหลังสุก และ Sorbital มีจะมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสารไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วในแปลงได้ดีกว่า ทั้งนี้ เนื่องจากความคงทนและระดับของกลิ่น ไม่แตกต่างจากสูตรที่ 6 มากนัก ส่วนประสิทธิภาพในการไล่เท่ากัน แต่สูตรที่ 10 ใช้วัสดุการเตรียมน้อยกว่า และวิธีการเตรียมไม่ยุ่งยากหลายขั้นตอนเท่ากับสูตรที่ 6
5. ควรมีการพัฒนาสูตรสำเร็จแยกกันระหว่างชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่เป็นผลิตภัณฑ์เดี่ยว และนำมาใช้ร่วมกันในแปลงเพื่อการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่วอย่างมีประสิทธิภาพ

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

Executive Summary

French bean, *Phaseolus vulgaris* L is a major plant of Royal Project Foundation for the growers of organic vegetable system. The problem of French bean plantation is bean fly, *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Agromyzidae: Diptera). They lay eggs in the leaf tissue or directly in the stem. Early signs of attack are egg laying punctures on the primary leaves which tend to be concentrated around the leaf base. Eggs hatch into small white maggots which migrate down the stem to the root zone where they pupate into brown puparia. Severe damage is indicated by wilting and dying of seedlings. The attack disrupts nutrient transportation, causing the tap root to die. The plant attempts to recover by forming adventitious roots above the damaged area. Young seedlings under stress wilt and die within a short time. Older and more vigorous plants may tolerate the damage but become stunted and will have reduced yield. Malee (2558) reported that two isolates of the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria* bassiana have been reported to be virulent to bean fly, as well as, 7 essential oil, i e. pill of pemelo eucalyptus, sweet basil, zingiber camphor kaffir lime. Essential oil extract from pill of pemelo was strong repellent follow by eucalyptus. Camphor was found weak repellent. At a concentration of 0.1% of essential oil had no effect on the viability of conidia, but at higher concentrations found that citronella grass and zingiber reduced viability of *Beauveria bassiana*. The results effect of essential oils on colony growth showed the same tendency as viability of conidia. Because of biology of bean fly which, lay eggs in the leaf tissue or directly in the stem so for improve efficiency of entomopathogenic fungi, surfactant and emulsifier were mixed into formulation. Surfactants may act as detergents, wetting agents and sticky agents. The results in 2015 was not completely found surfactant. Therefore, the present study aimed to selecting promising surfactant to improved formulation of *B. bassiana* and *M. anisopliae*. Surfactants are adjuvants that reduce surface tension within the external surface layers of water. There are four different types of surfactants: nonionic, anionic, cationic, amphoteric. Sodium lauryl sulfate, Sodium lauryl ether sulfate were anionic. Cationic was Cetyl trimethyl ammonium bromide. Sorbitan esters was nonionic. Lecithin and Glycerol were amphoteric. Furthermore, acacia gum, gelatin, sodium alginate and sodium carboxy

methyl cellulose were use in the experiments. Surfactant and emulsifier affect to germination and growth of *B. bassiana* and *M. anisopliae* were study.

Surfactant action can be divided into two general categories: spray modifiers and sorption activators. Spray modifier action changes the characteristics of water-based spray solutions to facilitate or enhance the wetting, spreading, and sticking properties on plant surfaces. Thus type and concentration of surfactant and emulsifier were study. Finally, the superior one of surfactant and emulsifier were selected for modifying formulation of entomopathogenic fungi. Efficiency and shelf – life of formulation was study.

Currently, the use of synthetic chemicals to control insects several concerns related to environment. An alternative is to use natural products that possess good efficacy and are environmentally friendly. Among those chemicals, essential oils from plants belonging to several species have been extensively tested to assess their repellent properties as a valuable natural resource. By definition, repellents are substances that act locally or at a distance, deterring insect from flying to, landing on plants. Usually, insect repellents work by providing a vapor barrier deterring the arthropod from coming into contact with the surface Among them, essential oils, complex mixtures of volatile compounds isolated from a large number of plants, have been found to have these properties against various insects. Essential oils generally consist of several constituents produced as secondary metabolites, the majority of which are hydrocarbons, terpenes, and polyphenolic compounds. The use of essential oils for pest management is relatively recent, and many new applications are under investigation. In 2015, seven plants have been screened as potential sources of repellents. Results showed that pill of pemelo eucalyptus were the most repellent essential oils. Because of the high volatility of essential oils, direct application onto leaves has often been found to have limited benefits. An improved application method is to incorporate the oils into polymer mixture coatings to protect the bioactivity of the active compounds, obtain a better distribution, and maintain high concentrations of active compounds on the surface of the leaves for longer period. This fact is probably related to their high volatility, property that could be improved through the development of formulations that would be able to keep the active ingredients. Aqueous, cream and solid formulations have been evaluated for bean fly repellence.

The results showed that surfactant and emulsifier i.e. Sodium lauryl ether sulfate (N70), Sorbitan esters (Span®) , Lecithin , Gum acacia Gelatin, Methyl cellulose, Sodium alginate and Glycerol at a concentration of 1, 3 and 10 % had negative effect to germination of *B. bassiana* and *M. anisopliae* after exposure at 0, 1, 6 , 24, 48 hour. No germination of *B. bassiana* was found at 1 % of Sodium lauryl sulfate but spore of *M. anisopliae* not germinate after 6 houre exposure. A concentration of 1 % Cetyl trimethyl ammonium bromide effect 100 % germination of both *B. bassiana* and *M. anisopliae*. However, conidia of *B. bassiana* and *M. anisopliae* germinated at 0.1 % of Sodium lauryl sulfate and Cetyl trimethyl ammonium bromide.

The rate of mycelial growth was significantly affected by surfactant and emulsifier. Lecithin, Gum acacia Gelatin, Methyl cellulose and Sodium alginate was not effect to colony growth both *B. bassi*ana and *M. anisopliae* while, 10% of glycerol and 3% of Sodium lauryl ether sulfate affected radial growth. Furthermore, Sodium lauryl sulfate and Cetyl trimethyl ammonium bromide inhibit 100 % colony growth of *B. bassiana* and *M. anisopliae*. However, this experiment found that 0.1 % of Sodium lauryl sulfate and Cetyl trimethyl ammonium bromide inhibited 2.86, 20.67, 5.43 and 23.91 % for *B. bassiana* and *M. anisopliae*, respectively.

Adjuvants are surfactants that reduce surface tension within the external surface layers of water. Adjuvants may act as wetting agents, spreader and stickers and detergents. The results of properties of surfactants found that all concentration of sorbitan ester and sodium carboxy methylcellulose had negative effect as wetting agent. On another hand Cetyl trimethyl ammonium bromide, Sodium lauryl sulfate, Lecithin, Gelatin, Glycerol and Sodium alginate may act wetting agent. Only 1% of Lecithin showed spreader and stickers properties. Because of Cetyl trimethyl ammonium bromide, Sodium lauryl sulfate affected viability of *B. bassiana* and *M. anisopliae* thus, Sodium alginate and lecithin were selected for developed mycoinsecticide base on *B.bassiana* and *M. anisopliae* to against bean fly. The efficiency of mycoinsecticide found that there were difference damage between treatment and control. For long- term storage found that after 6 months under cold condition at temperature 10±2 ºC., spore still germinate 100% but by month 4 there was no germination of conidia kept at room temperature between 24-39 ºC. Production cost of mycoinsecticide was 117.79 Bath/ Kilogram and application for once time was 9.26 Bath/Rai at application rate 80 lite/rai. Once crop was spry 3 times in every week after planting.

Different formulations of repellent have been evaluated in this study. There were 2 aqueous formulations 10 cream formulations and 5 solid formulations. Two essential oil, pill of pemelo and eucalyptus were use in the formulation. Formular 6 of cream formulation sustained higher repellency for longer duration. The slow release of the volatile repellent principle of eucalyptus oil. Essential oils diffuse faster from liquid (solutions) than from the semi solid preparations. Production cost of repellent formular 6 was 158.29 Bath per Kilogram of eucalyptus essential oil and 178.79 Bath per Kilogram from essential oil of pemelo‘s pill.

For developmet formulation of mycoinsecticide with essential oil. Eucalyptus essential oil or pemelo essential oil were mixed in mycoinsecticide. The results found that the germination of conidia of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in response to essential oil concentration. Essential oil of eucalyptus inhibited germination of both fungi at 10% concentration. But 15.89 % of conidia *M. anisopliae* can germinate. However, no conidia viability after 6 hours exposure in pemelo essential oil. The smell of essential oil persisted more than 3 weeks. Production cost was 240.19 and 445.19 Bath for eucalyptus and pemelo essential oil, respectively. These formulations act to repellency than control bean fly because essential effect germination of conidia.

The experiment of efficiency of mycoinsecticide and repellent in greenhouse found that mycoinsecticide base on *Beauveria bassiana* was efficient, it can decrease percent damage of French bean by bean fly.

Highland Research and Development Institute (Public Organization)

Further investigation

1. The efficiency of mycoinsecticide and repellent in open field should be investigate.
2. For improve the efficiency of repellent in the field, number of repellent trap per rai should be evaluate.
3. Eucalyptus oil recognized for produced formulation of repellent formulation.
4. Formular 10 of cream repellent contain of Paraffin Tween 80 Vinegar tapioca and Sorbital had potential to use in field because of high perisitence same as Formular 6 of cream repellent but not complicate to prepare.
5. For controlling bean fly should be development formulation separated among mycoinsecticide and repellent, after that combined two methods together.

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
ผู้วิจัย	ข
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	ค
Executive Summary	ฎ
สารบัญเรื่อง	ด
สารบัญตาราง	ท
สารบัญภาพ	บ
บทคัดย่อ	ผ
Abstract	พ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์	1
1.1 ความสำคัญของโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	2
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	13
3.1 การปรับปรุงและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงสำหรับป้องกันกำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก	13
3.1.1 การเลี้ยงแมลงวันเจาะลำต้นถั่วสำหรับการทดสอบสูตรสำเร็จ	13
3.1.2 การพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	13
1) ศึกษาผลของสาร surfactants และสาร emulsifier กับความมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรค	13
2) การศึกษาชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร surfactants และสาร emulsifier ที่ทำให้เชื้อราแผ่กระจายไปบนใบพืชได้เร็วและดี	15
3) พัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	18
4) อายุการเก็บรักษาสูตรสำเร็จ	18
5) บันทึกต้นทุนการผลิตของสูตรสำเร็จของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	18
6) ศึกษาประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ในสภาพห้องปฏิบัติการ	18

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
3.1.3 การผลิตสูตรสำเร็จสารไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	19
1) การสกัดน้ำมันหอมระเหย	20

2) การผลิตสูตรสำเร็จสารไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 21
3) ประสิทธิภาพในการไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 24
4) ต้นทุนการผลิตของสารไล่ในแต่ละสูตรสำเร็จ 24
3.1.4 การพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมของชีวภัณฑ์เชื้อรากับสารไล่ 26
3.2 การทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงที่ปรับปรุงคุณสมบัติแล้วในการป้องกันกำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขกในแปลงปลูกพืช 27
บทที่ 4 ผลการวิจัย 30
4.1 การปรับปรุงและพัฒนาชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงสำหรับป้องกันกำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขก 30
4.1.1 ผลการเลี้ยงแมลงวันเจาะลำต้นถั่วสำหรับการทดสอบสูตรสำเร็จ 30
4.1.2 ผลการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 34
1) ผลการศึกษาสาร surfactants และสาร emulsifier ต่อการมีชีวิตของเชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 34
2) ผลของชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร surfactants และสาร emulsifier ที่ทำให้เปียกใบพืช 49
3) ผลการพัฒนาสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์กำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 54
4) ผลอายุการเก็บรักษาสูตรสำเร็จ 55
5) ผลต้นทุนการผลิตสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรา 59
6) ผลประสิทธิภาพสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์ 60
4.1.3 ผลการผลิตสูตรสำเร็จสารไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว 62
1) ผลการสกัดน้ำมันหอมระเหย 62
2) ผลการผลิตสารไล่ 63
3) ระยะเวลาการคงทนของกลิ่น 68
4) ผลของประสิทธิภาพของสารไล่ 73
5) ผลอายุการเก็บรักษาสารไล่ 75
6) ผลต้นทุนการผลิตสารไล่ 78

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

4.1.4 การพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมของชีวภัณฑ์เชื้อรากับสารไล่ 83
1) ผลการพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมของชีวภัณฑ์เชื้อรากับสารไล่ 83
2) ระยะการคงตัวของกลิ่นน้ำมันหอมระเหย 84
3) อายุการเก็บรักษาสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่ 84
4) ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์และสารไล่ 87
5) ต้นทุนการผลิต 89

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

4.2 ผลการทดสอบการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลงที่ปรับปรุงคุณสมบัติแล้วในการป้องกันกำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วแขกในแปลงปลูกพืช 90

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการวิจัย 92

บทที่ 6 สรุปผลการวิจัย 95

ข้อเสนอแนะ 99

เอกสารอ้างอิง 100

ตารางสรุปเปรียบเทียบแผนงานวิจัยกับผลงานวิจัย 103

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบของสารไล่ชนิดครีม	22
2	ผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana*	37
3	ผลของสาร surfactants และ สาร emulsifier ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae*	40
4	ผลของสาร surfactants และ สาร emulsifier ต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae*	44
5	ผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ที่ ระดับความเข้มข้น ต่างๆกัน ต่อการเป็นสารเปียกใบ	51
6	ผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ที่ ระดับความเข้มข้น ต่างๆ กัน ต่อการแผ่กระจายบนใบพืช	54
7	ระยะเวลาของสาร surfactants และสาร emulsifier ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน	55
8	เปอร์เซ็นต์การงอกของเชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่ระยะเวลา 6 เดือนหลังการผลิต	57
9	ผลการเปียกใบบนใบถั่วของสูตรสำเร็จเชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	58
10	ผลการแผ่กระจายบนใบถั่วของสูตรสำเร็จเชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	59
11	ระยะเวลาการซึมผ่านของสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วบนใบถั่ว	60
12	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ แรงงาน และสาธารณูปโภคในการผลิตสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	61
13	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จ ในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ในสภาห้องปฏิบัติการ	62
14	ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดเปลือกส้มโอและใบยูคาลิปตัส	63
15	ชนิดสารและอัตราสำหรับผลิตสารไล่ชนิดน้ำ	64
16	ชนิดสารและอัตราสำหรับการผลิตสารไล่ชนิดครีม	65
17	ชนิดสารและอัตราสำหรับผลิตสารไล่ชนิดแข็งที่มีน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัเป็นสารไล่	67

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
18	ชนิดสารและอัตราสำหรับผลิตสารไล่ชนิดแข็งที่มีน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอเป็นสารไล่	67

19	ระยะเวลาการคงทนของน้ำมันหอมระเหยในแต่ละชนิดของสารไล่	68
20	ระดับกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยของสารไล่ชนิดน้ำและชนิดแข็งที่อยู่ในสภาพภายในห้อง	69
21	ระดับกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยของสารไล่ชนิดน้ำและชนิดแข็งที่อยู่ในสภาพแปลง	70
22	ระดับกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยของสารไล่ชนิดครีมที่อยู่ในสภาพภายในห้อง	71
23	ระดับกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยของสารไล่ชนิดครีมที่อยู่ในสภาพแปลง	72
24	ประสิทธิภาพสูตรสำเร็จสารไล่แมลงชนิดต่างๆ ต่อการไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วในระยะเวลา 10 นาที หลังการได้รับสารไล่ในสภาพห้องปฏิบัติการ	74
25	ประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยในสูตรสำเร็จสารไล่แมลงต่อการไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่วในระยะเวลา 10 นาที หลังการได้รับสารไล่ในสภาพห้องปฏิบัติการ	76
26	ความคงทนของสารไล่ชนิดต่างๆที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง	77
27	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ แรงงาน และสาธารณูปโภคในการผลิตสารไล่ชนิดน้ำ	79
28	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ แรงงาน และสาธารณูปโภคในการผลิตสารไล่ชนิดแข็ง	80
29	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ แรงงาน และสาธารณูปโภคในการผลิตสารไล่ชนิดครีมที่มีน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัสเป็นสารไล่	81
30	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ แรงงาน และสาธารณูปโภคการผลิตสารไล่แมลงชนิดครีมที่มีน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอเป็นสารไล่	82
31	ระยะเวลาการคงทนของน้ำมันหอมระเหยในสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่	84
32	เปอร์เซ็นต์การงอกของสปอร์เชื้อราในสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่	85
33	ประสิทธิภาพของสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่ในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในสภาพห้องปฏิบัติการ	87
34	ระยะเวลาซึมผ่านและการแผ่กระจายบนใบถั่วของสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อรและสารไล่	88

ตารางที่ **หน้า**

35	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ และสาธารณูปโภคในการผลิตสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่มีน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัสเป็นสารไล่	89
36	ต้นทุนค่าวัตถุดิบ และสาธารณูปโภคในการผลิตสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่มีน้ำมันหอมระเหยเปลือกส้มโอเป็นสารไล่	89
37	เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของต้นถั่วจากการทำลายของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วหลังการใช้สารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่แมลง	88

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	5
2	ลักษณะการวัดการเจริญเติบโตของเส้นใยในจานเลี้ยงเชื้อรา	15
3	วิธีการศึกษาผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ต่อการจับใบถั่ว	16
4	วิธีการศึกษาผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ต่อการกระจายบนใบถั่ว	17
5	วิธีการศึกษาผลของสาร surfactants และสาร emulsifier ต่อการซึมผ่านบนใบถั่ว	17
6	ศึกษาประสิทธิภาพสูตรสำเร็จต่อการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	19
7	ผิวส้มโอสำหรับการกลั่นน้ำมันหอมระเหย	20
8	ใบยูคาลิปตัสสำหรับการกลั่นน้ำมันหอมระเหย	21
9	การกลั่นน้ำมันหอมระเหยด้วยน้ำ	21
10	การทดสอบประสิทธิภาพของสารไล่ชนิดต่างๆต่อการไล่แมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	25
11	สภาพโรงเรือนสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จที่ผ่านการคัดเลือกจากผลของประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการ	28
12	แปลงปลูกถั่วเพื่อให้เป็นแหล่งเพาะพันธุ์ของแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	30
13	กล้าถั่วสำหรับการเลี้ยงแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในระบบไฮโดรโปนิค	31
14	การเลี้ยงแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในระบบไฮโดรโปนิค	32
15	การเลี้ยงแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในกรงขนาดเล็ก	33
16	จำนวนตัวเต็มวัยของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่เลี้ยงได้ในแต่ละกรง	33
17	ผลของสาร surfactant และ emulsifier ต่อ การงอก และไม่งอกของสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana* กำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	37
18	ผลของสาร surfactant และ emulsifier ต่อ การงอก และไม่งอกของสปอร์เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* กำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	40
19	ผลของสาร Sodium lauryl sulfate และ Cetyl trimethyl ammonium bromide ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 % ต่อการงอกของสปอร์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	42
20	การยับยั้งการเจริญเติบโตเส้นใยเชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* เนื่องจากสาร surfactants และ emulsifier ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน ในระยะเวลา 10 วันหลังการบ่มเชื้อ	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
21	การเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา *B. bassiana* (A) และ *M. anisopliae* (B) ที่ได้รับสาร sodium lauryl sulfate Cetyltrimethyl ammonium bromide ที่ระดับ 0.1%	49

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

22	ลักษณะการเปียกใบของถั่วแขกเมื่อได้รับสาร surfactant และ emulsifier ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน	51
23	สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว	55
24	ลักษณะสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วขณะเก็บรักษา	56
25	ลักษณะต้นถั่วที่ถูกหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่วทำลาย	61
26	สารไล่ชนิดน้ำ	63
27	สารไล่ชนิดครีม	65
28	สารไล่ชนิดแข็ง	66
29	สูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่วกับสารไล่	83
30	การงอกของสปอร์เชื้อราในสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อรากับสารไล่	86
31	ลักษณะความเสียหายของต้นถั่วที่ถูกหนอนแมลงวันทำลายในสภาพโรงเรือน	91

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

บทคัดย่อ

ถั่วแขกเป็นพืชหลักชนิดหนึ่งที่มูลนิธิโครงการหลวงส่งเสริมให้กับเกษตรกรจากการสำรวจพบแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว (Bean fly) เป็นแมลงศัตรูสำคัญที่สร้างความเสียหายในระยะกล้า ถ้าระบาดรุนแรงทำให้ถั่วแขกตาย หากต้นถั่วไม่ตายก็ส่งผลให้ผลผลิตลดลง การใช้เชื้อราสาเหตุโรคแมลงกำจัดระยะไข่ถึงระยะดักแด้ควบคู่ไปกับการใช้สารไล่ ไล่ตัวเต็มวัย เป็นวิธีที่จะช่วยลดความเสียหายได้ ผลการคัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคแมลง จำนวน 9 ไอโซเลท พบ 2 ไอโซเลท ที่ทำให้ระยะหนอนและระยะตัวเต็มวัยของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วตายได้ 100 % ผลการคัดเลือกสารไล่พบน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ และใบยูคาลิปตัส มีประสิทธิภาพในการไล่ตัวเต็มวัยได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามด้วยชีววิทยาของแมลงวันเจาะลำต้นถั่วที่วางไข่ในเนื่อเยื่อใบและหนอนเจาะเข้าไปทำลายในลำต้น จึงจำเป็นต้องเพิ่มประสิทธิภาพการใช้เชื้อราและสารไล่ วัตถุประสงค์การวิจัย 1) เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพชีวภัณฑ์เชื้อราสาเหตุโรคแมลงและสารไล่แมลง และ 2) เพื่อศึกษาวิธีการและเทคนิคการใช้งานเชื้อราที่เหมาะสมในสภาพแปลงปลูก โดยการคัดเลือกสารเพิ่มประสิทธิภาพได้แก่ สาร surfactant และ สาร emulsifier เปรียบเทียบผลของสารต่อการมีชีวิตของเชื้อราสาเหตุโรคแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว คุณสมบัติการเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ดี 3 องค์ประกอบได้แก่ สารเปียกใบ (wetting agents) สารจับใบ (sticking agents) และสารลดแรงตึงผิว (detergents) เพื่อนำมาพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์กำจัดแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว ศึกษาอายุการเก็บรักษาและประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว รวมทั้งต้นทุนในการผลิต ในส่วนของสารไล่ที่ผลิตจากน้ำมันหอมระเหยสำหรับการใช้งานในสภาพแปลง ได้พัฒนาเป็นสารไล่ 3 ชนิดได้แก่ ชนิดน้ำ ชนิดครีม และชนิดแข็ง ที่มีอัตราส่วนผสมที่แตกต่างกันเป็นสูตรต่างๆโดยมีน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ และใบยูคาลิปตัสเป็นสารไล่ จากนั้นคัดเลือกสูตรที่ดีที่สุด เพื่อนำสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่ไปทดสอบการควบคุมแมลงวันเจาะลำต้นถั่วในสภาพโรงเรือน ผลการทดลองพบว่า สารเพิ่มประสิทธิภาพ สาร surfactants และสาร emulsifier ได้แก่ Sodium lauryl ether sulfate Sorbitan esters Lecithin Gum acacia Gelatin Methyl cellulose Glycerol และ Sodium alginate ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 3 และ 10 ที่มีสปอร์เชื้อรา *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae* อยู่ในสารละลายที่ระยะเวลาต่างๆกัน 0, 1, 6, 24 และ 48 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อความงอกของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ส่วนสาร Sodium lauryl sulfate ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 มีผลต่อความงอกของสปอร์เชื้อรา *B. bassiana* ส่วนเชื้อรา *M. anisopliae* สปอร์อยู่ในสารนาน 6 ชั่วโมงขึ้นไปจึงผลต่อความงอกของสปอร์ สำหรับ Cetyl trimethyl ammonium bromide ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1 มีผลยับยั้งการงอกของสปอร์ทั้ง *B. bassiana* และ *M. anisopliae* 100 % ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยพบว่า ให้ผลเช่นเดียวกับการงอกของสปอร์ ยกเว้น Sodium lauryl ether sulfate และ Gycerol ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1 มีผลต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยเชื้อรา สำหรับคุณสมบัติในการเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพ 3 องค์ประกอบ พบว่ามีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสาร surfactant และ สาร emulsifier โดย Sorbitan esters และ Methyl cellulose ทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ ได้แก่ 0.01, 0.1, 1 และ 10 ไม่มีคุณสมบัติในการเป็นสารเปียกใบ ส่วน Lecithin และ Sodium alginate รวมกันแล้วมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 องค์ประกอบ จึงได้นำมาพัฒนาเป็นสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อรากำจัดหนอนแมลงวันเจาะลำต้นถั่ว โดยใช้ Sodium alginate Lecithin

และผงเชื้อรา ที่อัตราร้อยละ 1, 10 และ 10 ตามลำดับ หลังการเก็บสูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราในสภาพเย็นในตู้แช่ อุณหภูมิ 10 ±2 องศาเซลเซียสพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือน เชื้อรางอกได้ตามปกติ และยังคงคุณสมบัติที่ดี ทั้งการเปียกใบ การกระจายตัวและการซึมผ่าน แต่การเก็บชีวภัณฑ์เชื้อราที่อุณหภูมิห้องระหว่าง 24-39 องศาเซลเซียส เชื้อรามีชีวิตอยู่ได้ในระยะเวลา 4 เดือนแรก โดยมีต้นทุนการผลิต ลิตรละ 116 บาท สูตรสำเร็จชีวภัณฑ์เชื้อราสามารถลดความเสียหายจากกการทำลายของตัวเต็มวัยแมลงวันเจาะลำต้นถั่วได้ร้อยละ 95.56 และ 95.50 สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ตามลำดับและพบการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของกรรมวิธีควบคุมได้ ร้อยละ 87.67 ส่วนการใช้ชีวภัณฑ์เชื้อรา พบตัวเต็มวัยร้อยละ 21.33 และ 24.67 สำหรับเชื้อรา *B. bassiana* และ *M. anisopliae* ตามลำดับเมื่อมีการพ่นชีวภัณฑ์เชื้อราในระยะตัวหนอน

สำหรับสารไล่ได้พัฒนารูปแบบสารไล่ 3 ชนิดได้แก่ ชนิดน้ำ 2 สูตร ชนิดครีม 10 สูตร และชนิดแข็ง 5 สูตร โดยมีน้ำมันหอมระเหยใบยูคาลิปตัส และเปลือกส้มโอ เป็นสารไล่ พบว่า ระยะเวลาการคงทนของกลิ่น แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด สูตรของสารไล่ และชนิดน้ำมันหอมระเหย สารไล่ชนิดครีมมีระยะเวลาการคงทนและระดับของกลิ่นได้ยาวนานที่สุด สารไล่ชนิดแข็งมีประสิทธิภาพในการไล่ได้สูงสุด แต่มีความคงทนและระดับกลิ่นต่ำ สารไล่ชนิดครีม สูตรที่ 6 มีระยะเวลาการคงทนของกลิ่นได้นานที่สุด และไม่มีความแตกต่างกันทั้งในการใช้สภาพห้องและแปลง นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส มีความคงทนของกลิ่นได้นานกว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ ต้นทุนการผลิตของสารไล่ชนิดครีมสูตรที่ 6 ที่มีน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส เท่ากับ 158.29 บาท/กิโลกรัม ผลการพัฒนาสูตรสำเร็จร่วมชีวภัณฑ์เชื้อราและสารไล่พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 มีผลต่อความงอกของสปอร์เชื้อรา การลดความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยลงให้สปอร์เชื้อราคงความมีชีวิตแต่สูตรสำเร็จร่วมไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการไล่ การทดสอบในสภาพโรงเรือนพบว่า มีความแตกต่างของกรรมวิธีทดลอง กับกรรมวิธีควบคุม การใช้ชีวภัณฑ์เชื้อราร่วมกับสารไล่ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการใช้สารเคมีอิมิดาคลอพริด

Abstract

French bean is a major plant of Royal Project Foundation for the growers of organic vegetable system. The problem of French bean plantation is bean fly, *Ophiomyia phaseoli* Tryon (Agromyzidae: Diptera). Severe damage is indicated by wilting and dying of seedlings. The attack disrupts nutrient transportation, causing the tap root to die. The plant attempts to recover by forming adventitious roots above the damaged area. Young seedlings under stress wilt and die within a short time. Older and more vigorous plants may tolerate the damage but become stunted and will have reduced yield. Integrated pest management strategies have been suggested for controlling various insect pests. Entomopathogenic fungi and repellent such as essential oil have promise considerable potential as major components in sustainable management. Potential for the use of entomopathogenic fungi to control bean fly has been recently reported. Out of 9 isolates of entomopathogenic fungi tested, 2 isolates were found pathogenic against bean fly. Repellent properties of essential oils from Eucalyptus and pill of pomelo are also well documented. These presented high repellency against bean fly. Therefore, the present study aimed to formulated entomopathogenic fungi and essentials oil to improved efficiency to control bean fly. Because of the high volatility of essential oils, direct application onto leaves has often been found to have limited benefits. An improved application method is to incorporate the oils into formulation to protect the bioactivity of the active compounds, obtain a better distribution, and maintain high concentrations of active compounds on the surface of the leaves for longer period. Screening of surfactant and emulsifier effect to entomopathogenic fungi was the first step towards the development of mycoinsecticides. The results showed that surfactants and emulsifier i.e. Sodium lauryl ether sulfate sorbitan esters lecithin gum acacia gelatin methyl cellulose glycerol and sodium alginate at a concentration of 1 3 and 10 % had negative effect to germination of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Sodium lauryl sulfate at a concentration of 1 % decrease germination of *B. bassiana*. No conidia viability was found after exposure 1% of Cetyl trimethyl ammonium bromide. The results effect of surfactant and emulsifier to colony growth showed the same tendency as spore germination, except 10 % of sorbitan esters and glycerol affected to colony growth.

The results of potential to surfactant found that surfactant properties was different depend on type and concentration of surfactant and emulsifier, lecithin and sodium alginate displayed superior one. For long- term storage of mycoinsecticide contained of sodium alginate lecithin and entomopathogenic fungi at ratio 1:10:10 found that spore still geminate after 6 month under cold condition at temperature 10±2 ºC. However, myco insecticide loss germination by month 4 under room temperature between 24-39 ºC. Production cost of mycoinsecticide was 116 Bath/ Kilogram and application for once time was 9.28 Bath/Rai at application rate 80 lite/rai.

Different formulations of eucalyptus and pill of pomelo have been evaluated in this study. Two Liquid formulations, 10 cream formulations and 5 solids formulation were prepared. Cream formulations was very promising for topical use, espectively, formular 6. Formular 6 will selected to use in field. Production cost was 158.29 Bath/ kilogram of eucalyptus essential oil. Formulation of mycoinsecticide with 10% essential oil inhibited germination of conidia. No repellent activity was found when decrease concentration of essential oil.

The experiments under greenhouses conditions indicated that myco insecticide base on *Beauveria bassiana* was efficient, it can decrease percent damage of French bean by bean fly. No significant different of percentage damage were found among mycoinsecticide and imidacoplid.

ลิขสิทธิ์ของสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)