บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุ/อุปกรณ์

1. สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ เลือกใช้อัตราความเข้มข้นสูงสุดที่แนะนำในฉลาก (ตาราง 1)

2. เครื่องแก้ว ได้แก่ Petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร, ขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 มิลลิลิตร, บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร และหลอดแก้ว ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 9.5 เซนติเมตร

3. กระป๋องพลาสติกขนาดกว้าง 15 x 21 x 7 เซนติเมตร และขนาดกว้าง 10 x 10 x 6 เซนติเมตร

4. Micro pipet 0.1 ~ 2 ไมโครลิตร

5. สำลี และกระดาษทิชชู

6. ผักคะน้าปลอดสารพิษ และน้ำผึ้ง

ตาราง 1 สารฆ่าแมลงและอัตราที่ใช้ทดสอบ ตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร และสารบางชนิดที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำ

ชื่อสามัญ	ชื่อการค้า	% ai	อัตราการใช้
อะบาเม็กติน (abamectin)	เวอร์ทิเม็ค (Vertimec®)	1.8% EC	20-60 มล./น้ำ 20 ลิตร
คลอร์ฟีนาเพอร์ (chlorfenapyr)	แรมเพจ (Rampage®)	10% SC	20-40 มล./น้ำ 20 ลิตร
สปินโนแซด (spinosad)	ซัคเซส 120 เอสซี (Success 120 SC®)	12% SC	20 มล./น้ำ 20 ลิตร
อินด๊อกซาคาร์บ (indoxacarb)	แอมเมท (Ammate®)	15% SC	15 มล./น้ำ 20 ลิตร
ฟิโปรนิล (fipronil)	แอสเซ็นด์ (Ascend®)	5% SC	20-40 มล./น้ำ 20 ลิตร
โพรไทโอฟอส (prothiofos)	โตกุไธออน (Tokuthion®)	50% EC	30-40 มล./น้ำ 20 ลิตร
โพรฟีโนฟอส (profenofos)	ซูเปอร์ครอน 500 อีซี (Supercron 500 EC®)	50% EC	30-40 มล./น้ำ 20 ลิตร
เดลทาเมทริน (deltamethrin)	เดซิส 3 (Decis 3®)	3% EC	10-20 มล./น้ำ 20 ลิตร
แลมบ์ดา ไซฮาโลทริน (lambda cyhalothrin)	คาราเต้ (Karate 2.5 EC®)	2.5% EC	20-30 มล./น้ำ 20 ลิตร
ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin)	ออกเทน 10 (Oktane 10®)	10% EC	23-38 มล./น้ำ 20 ลิตร
คลอร์ฟลูอาซูรอน (chlorfluazuron)	อาทาบรอน (Atabron®)	5% EC	20-40 มล./น้ำ 20 ลิตร
เอสเฟนวาเลอเรต (esfenvalerate)	ซูมิ – อัลฟ่า (Sumi-alfa®)	5% EC	20-30 มล./น้ำ 20 ลิตร
อีมาเม็กติน เบนโซเอท (emamectin benzoate)	โปรเคลม (Proclam®)	1.92% EC	10-15 มล./น้ำ 20 ลิตร
ไดอะเฟนไทยูรอน (diafenthiuron)	ปีกาซัส 250 เอสซี (Pegasus 250 SC®)	25% SC	40-60 มล./น้ำ 20 ลิตร
บาซิลลัส ทูริงเยนซิส (Bt)	เซนทารี (Xentari®)	WDG	40-80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

ที่มา : กองกีฏ และ สัตววิทยา (2547)

วิธีการดำเนินงานวิจัย

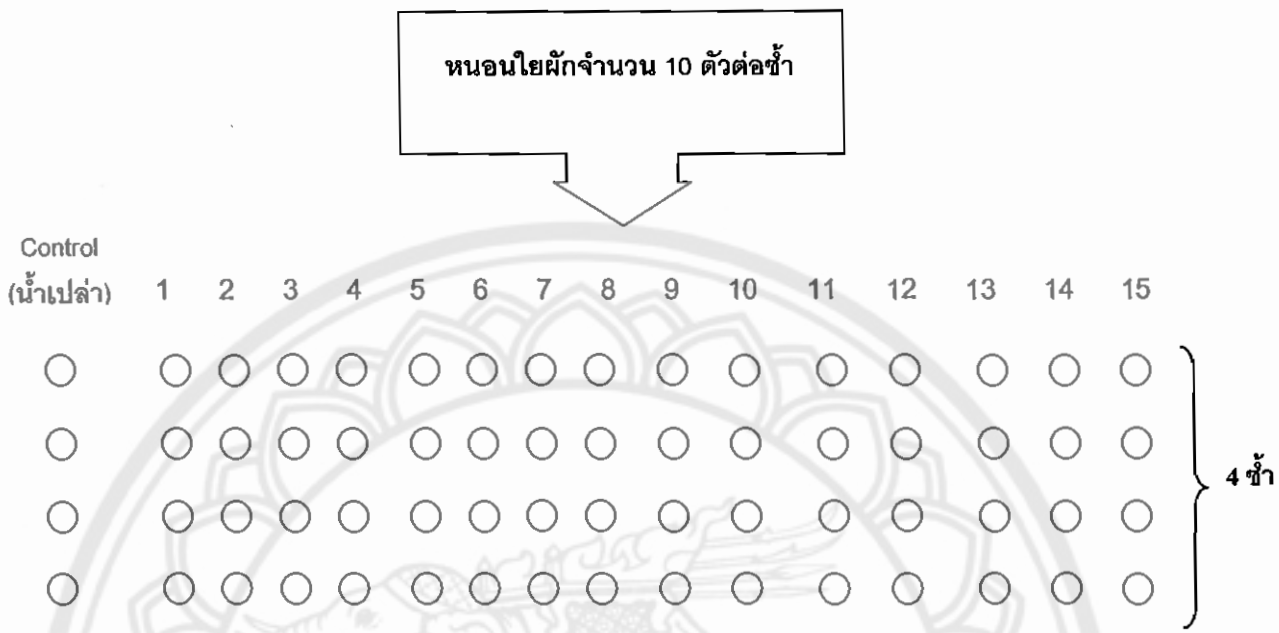
ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อหนอนใยผัก

การเก็บตัวอย่างและการเพาะเลี้ยง

ทำการเก็บตัวอย่างหนอนใยผักจากพื้นที่ปลูกผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญในจังหวัดพิษณุโลก, ตาก, นครสวรรค์, เพชรบูรณ์, อุตรดิตถ์, นนทบุรี และเชียงใหม่ นำหนอนใยผักที่ได้จากแต่ละพื้นที่มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยทำการเพาะเลี้ยงในกระป๋องพลาสติก ขนาด 15 x 21 x 7 เซนติเมตร อุณหภูมิ 25 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 60 ± 10 % ความยาวช่วงแสง 16L: 8D ให้ใบผักคะน้าปลอดสารเคมีที่เพาะปลูกเองเป็นอาหารแก่ตัวหนอน เมื่อเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย แยกออกใส่กระป๋องพลาสติกใหม่ให้น้ำผสมน้ำผึ้ง 10 % เป็นอาหาร และใส่ใบผักคะน้าลงในกระป๋องเพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ ใช้หนอนใยผักหนอนวัยที่ 3 และวัยที่ 4 ในการทดสอบ ในการทดสอบสารฆ่าแมลง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 15 สิ่งทดลอง ใช้น้ำเปล่าเป็นสิ่งควบคุม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ แต่ละหน่วยทดลองใช้หนอนใยผักจำนวน 10 ตัว (ภาพ 17)

การทดสอบสารฆ่าแมลงอย่างละเอียด (full scale test)



สารฆ่าแมลง 8 ชนิด คือ

1= abamectin (Vertimec®)
2= chlorfenapyr (Rampage®)
3= spinosad (Success 120 SC®)
4= indoxacarb (Ammate®)
5= fipronil (Ascend®)
6= prothiofos (Tokuthion®)
7= profenofos (Supercron 500 EC®)
8= deltamethrin (Decis 3®)
9 = lambda cyhalothrin (Karate 2.5 EC®)
10= cypermethrin (Oktane 10®)
11= chlorfluazuron (Atabron®)
12= esfenvalerate (Sumi-alfa®)
13= emamectin benzoate (Proclam®)
14= diafenthiuron (Pegasus 250 SC®)
15= Bt (Xentari®)

ทำการทดสอบดังนี้

1. ทดสอบกับหนอนใยผักวัยที่ 4 โดยใช้เทคนิค Topical application
2. ทดสอบกับหนอนใยผักวัยที่ 3 โดยใช้เทคนิค Leaf dipping method

ทำการทดสอบทั้ง 2 กรรมวิธีต่อ 1 จังหวัด จนครบ 7 จังหวัด จากนั้นตรวจนับจำนวนหนอนใยผักที่รอดชีวิตที่เวลา 1 ชั่วโมง, 1, 2, 3, 4, 5 และ 7 วัน

ภาพ 17 แผนภูมิแสดงการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อหนอนใยผัก

ส่วนที่ 1 ทดสอบโดยวิธีการหยดสารฆ่าแมลงลงบนตัวแมลง (Topical application method)

ใส่หนอนใยผักวัยที่ 4 จำนวน 10 ตัว ลงใน petri dish ใช้ micro pipet ดูดสารฆ่าแมลงปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร หยดลงบนส่วนหลังบริเวณอกของหนอนใยผัก จำนวน 1 หยด จนครบทั้ง 10 ตัวแล้วปิดฝา petri dish ทำการบันทึกผลโดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิต ที่เวลา 1 ชั่วโมง, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน หลังทำการทดสอบ ทำเช่นเดียวกันนี้กับหนอนใยผักจากทั้ง 7 พื้นที่ ที่ทำการเก็บตัวอย่าง (ภาพ 17)

ส่วนที่ 2 ทดสอบโดยวิธีการจุ่มใบพืช (Leaf dipping method)

ล้างใบผักคะน้าปลอดสารพิษให้สะอาด เช็ดให้แห้งแล้วจุ่มใบผักคะน้าลงในสารฆ่าแมลงที่ใช้ทดสอบ โดยใช้ใบผักคะน้า 1 ใบต่อ 1 หน่วยทดลอง นำใบผักคะน้าที่จุ่มสารฆ่าแมลงแล้ว ไปผึ่งลมให้แห้งโดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำใบผักคะน้าใส่ลงในกระป๋องพลาสติกขนาด 10 x 10 x 6 ซ.ม. กระป๋องละ 1 ใบ จากนั้นใส่หนอนใยผักวัยที่ 3 จำนวน 10 ตัว ลงในแต่ละกระป๋อง ทำการบันทึกผลโดยบันทึกจำนวนหนอนที่รอดชีวิต ที่เวลา 1 ชั่วโมง, 1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน หลังทำการทดสอบ ทำเช่นเดียวกันนี้กับหนอนใยผักจากทั้ง 7 พื้นที่ ที่ทำการเก็บตัวอย่าง (ภาพ 17)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยวิธี F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การตายของหนอนใยผัก โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$)

ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีผลกระทบต่อแตนเบียน *C. plutellae*

การเก็บตัวอย่างและการเพาะเลี้ยง

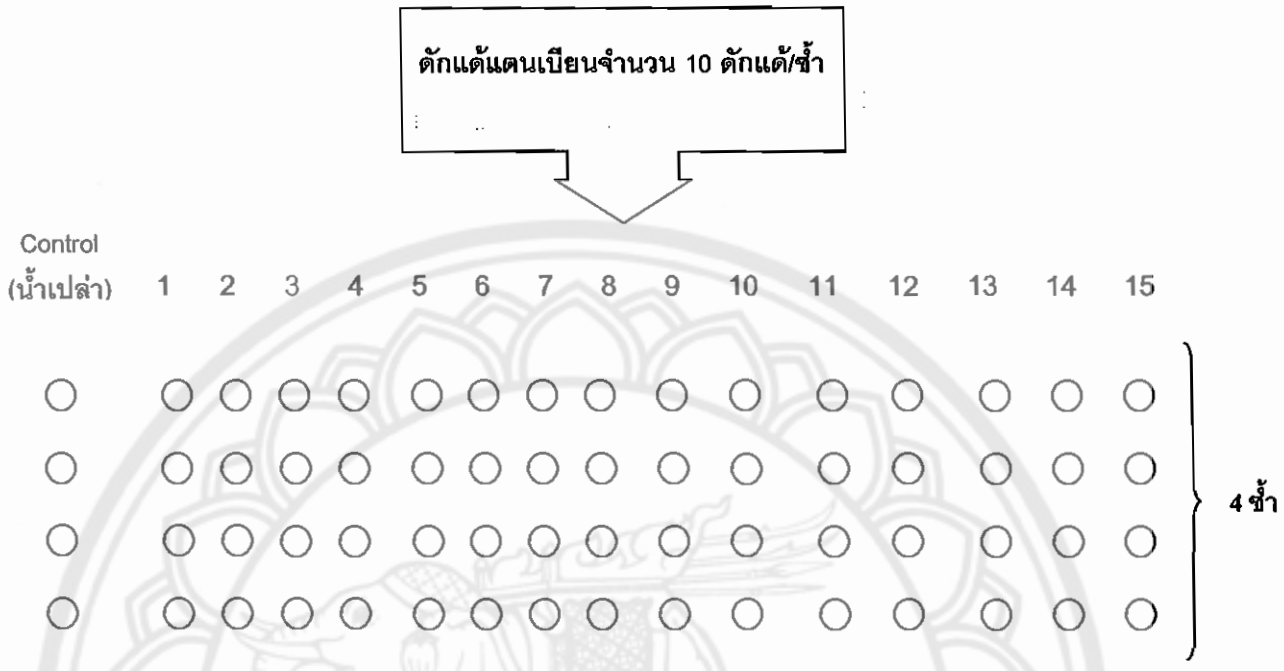
ทำการเก็บตัวอย่างดักแด้แตนเบียน *C. plutellae* จากพื้นที่ปลูกผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญในจังหวัดตาก, นครสวรรค์, พิษณุโลก, เพชรบูรณ์, อุตรดิตถ์, นนทบุรี และเชียงใหม่ มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยแยกดักแด้แตนเบียนใส่ไว้ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 มิลลิลิตร ใช้สำลีปิดปากขวด อุณหภูมิ 25 °ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 60 ± 10 % ความยาวช่วงแสง 16L: 8D รอให้ตัวเต็มวัยแตนเบียนฟักออกจากดักแด้ เมื่อฟักออกจากดักแด้แล้วย้ายใส่หลอด แก้ว ให้น้ำผสมน้ำผึ้ง 10 % เป็นอาหาร จากนั้นนำไปเบียนหนอนใยผักวัยที่ 2 และวัยที่ 3 ที่เพาะเลี้ยงไว้ ในการเบียนนั้นจะเปลี่ยนหนอนใยผักให้แตนเบียน *C. plutellae* เบียนประมาณ 20 ตัว/แตนเบียนตัวเมีย 1 ตัว/วัน เพื่อให้ได้แตนเบียน *C. plutellae* จำนวนมากที่สุดมาใช้ในการทดสอบ จากนั้นนำหนอนใยผักที่ถูกเบียนมาเพาะเลี้ยงต่อไปจนกว่าแตนเบียนจะออกมาเข้าดักแด้ภายนอกตัวหนอน ทำการแยกดักแด้แตนเบียนออกและเก็บในขวดรูปชมพู่ขนาด 100 มล. เพื่อใช้ทดสอบสารฆ่าแมลงที่ออกแบบการทดสอบโดยดัดแปลงจากการศึกษาของ Haseeb et al. (2003)

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 15 สิ่งทดลอง และใช้น้ำเปล่าเป็นสิ่งควบคุม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ แต่ละหน่วยทดลองใช้แตนเบียน *C. plutellae* จำนวน 10 ดักแด้/ตัว

ส่วนที่ 1 ทดสอบโดยการจุ่มดักแด้แตนเบียน *C. plutellae* (Dipping method)

นำดักแด้แตนเบียน *C. plutellae* จุ่มลงในสารฆ่าแมลงชนิดละ 40 ดักแด้ ใช้เวลาจุ่มนาน 5 วินาที แยกใส่หลอดแก้วหลอดละ 10 ดักแด้ วางทิ้งไว้ให้ดักแด้แห้ง จากนั้นปิดปากหลอดแก้วด้วยสำลี บันทึกผลจำนวนแตนเบียน *C. plutellae* ที่ฟักออกจากดักแด้ทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน โดยแตนเบียน *C. plutellae* ที่ฟักออกจากดักแด้นั้นจะถูกแยกออกใส่หลอดแก้วใหม่และได้รับน้ำผสมน้ำผึ้ง 10 % เป็นอาหาร (ภาพ 18)

การทดสอบสารฆ่าแมลงอย่างละเอียด (full scale test)



สารฆ่าแมลง 8 ชนิด คือ

1= abamectin (Vertimec®)
2= chlorfenapyr (Rampage®)
3= spinosad (Success 120 SC®)
4= indoxacarb (Ammate®)
5= fipronil (Ascend®)
6= prothiofos (Tokuthion®)
7= profenofos (Supercron 500 EC®)
8= deltamethrin (Decis 3®)
9 = lambda cyhalothrin (Karate 2.5 EC®)
10= cypermethrin (Oktane 10®)
11= chlorfluazuron (Atabron®)
12= esfenvalerate (Sumi-alfa®)
13= emamectin benzoate (Proclam®)
14= diafenthiuron (Pegasus 250 SC®)
15= Bt (Xentari®)

ทำการทดสอบดังนี้

ทดสอบกับดักแด้แตนเบียน *C. plutellae* โดยใช้เทคนิค Dipping method

ทำการทดสอบจนครบ 7 จังหวัด และทำการตรวจนับจำนวนแตนเบียน *C. plutellae* ที่ฟักออกจากดักแด้ทุกวัน จนกว่าจะไม่มีแตนเบียน *C. plutellae* ฟักออกจากดักแด้อีก

ภาพ 18 แผนภูมิแสดงการทดสอบผลกระทบของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อแตนเบียน *C. plutellae*

ส่วนที่ 2 ทดสอบโดยการให้สัมผัสสารฆ่าแมลง (Contact or Residual exposure method)

นำใบผักคะน้าปลอดสารพิษมาล้างให้สะอาดและเช็ดให้แห้ง แล้วตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร จุ่มใบผักคะน้าลงในสารฆ่าแมลงที่ผสมไว้สารละ 4 ใบ นำใบผักคะน้าไปวางผึ่งลมให้แห้ง โดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที จากนั้นวางใบผักคะน้าลงใน petri dish นำแตนเบียน *C. plutellae* จำนวน 5 คู่ใส่ลงใน petri dish บันทึกผลจำนวนแตนเบียน *C. plutellae* ที่รอดชีวิต ที่เวลา 1, 24 ชั่วโมงหลังทำการทดสอบ และนำแตนเบียน *C. plutellae* ที่รอดชีวิตไปเบียนหนอนใยผักวัยที่ 3 ในอัตราส่วนหนอน 20 ตัว/แตนเบียนตัวเมีย 1 ตัว/วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การเบียนหลังจากสัมผัสสารฆ่าแมลงแต่ละชนิด รวมทั้งน้ำเปล่า (ภาพ 19)

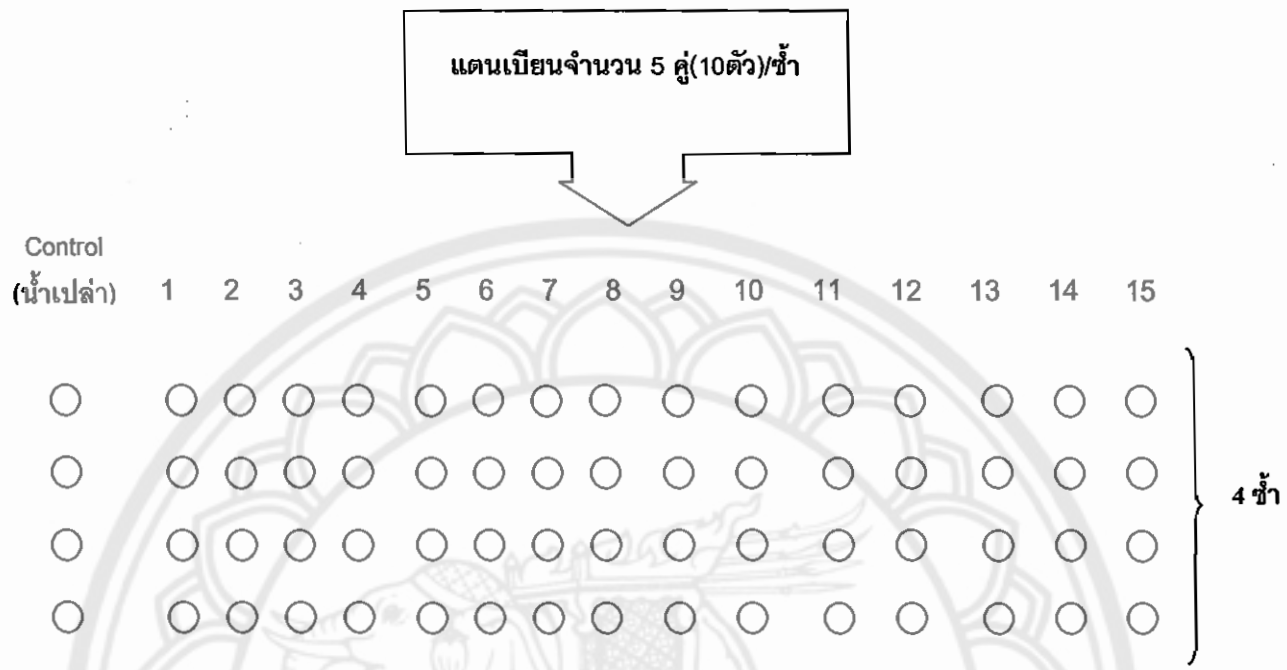
ส่วนที่ 3 ทดสอบโดยวิธีการให้แมลงกิน (Feeding method)

ผสมสารฆ่าแมลงกับน้ำผสมน้ำผึ้ง 10 % จากนั้นแยกแตนเบียน *C. plutellae* ใส่หลอดแก้วหลอดละ 5 คู่ นำสำลีก้อนเล็กจุ่มสารฆ่าแมลงผสมน้ำผึ้ง ใส่ลงในหลอดแก้วแล้วปิดปากหลอดด้วยแผ่น กระดาษทิชชูมัดด้วยยางวง บันทึกผลจำนวนแตนเบียน *C. plutellae* ที่รอดชีวิต ที่เวลา 1, 24 ชั่วโมงหลังทำการทดสอบ และนำแตนเบียน *C. plutellae* ที่รอดชีวิตไปเบียนหนอนใยผักวัย 3 ในอัตราส่วนหนอน 20 ตัว/แตนเบียนตัวเมีย 1 ตัว/วัน เพื่อหาเปอร์เซ็นต์การเบียนหลังจากกินสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดเข้าไป รวมทั้งน้ำผสมน้ำผึ้ง 10 % (ภาพ 19)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยวิธี F-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การฟักออกจากดักแด้ เปอร์เซ็นต์การตายและเปอร์เซ็นต์การเบียนของแตนเบียน *C. plutellae* โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) และประเมินระดับความรุนแรงของสารฆ่าแมลงโดยแบ่งเป็น 4 ระดับ ตาม IOBC/WPRS Working Group (Hassan et al., 1985)

การทดสอบสารฆ่าแมลงอย่างละเอียด (full scale test)



สารฆ่าแมลง 8 ชนิด คือ

1= abamectin (Vertimec®)
2= chlorfenapyr (Rampage®)
3= spinosad (Success 120 SC®)
4= indoxacarb (Ammate®)
5= fipronil (Ascend®)
6= prothiofos (Tokuthion®)
7= profenofos (Supercron 500 EC®)
8= deltamethrin (Decis 3®)
9 = lambda cyhalothrin (Karate 2.5 EC®)
10= cypermethrin (Oktane 10®)
11= chlorfluazuron (Atabron®)
12= esfenvalerate (Sumi-alfa®)
13= emamectin benzoate (Proclam®)
14= diafenthiuron (Pegasus 250 SC®)
15= Bt (Xentari®)

ทำการทดสอบดังนี้

1. ทดสอบกับตัวเต็มวัยแตนเบียน *C. plutellae* โดยใช้เทคนิค Contact method
2. ทดสอบกับตัวเต็มวัยแตนเบียน *C. plutellae* โดยใช้เทคนิค Feeding method

ทำการทอสอบทั้ง 2 กรรมวิธีต่อ 1 จังหวัด จนครบ 7 จังหวัด ตรวจนับจำนวนแตนเบียน *C. plutellae* ที่รอดชีวิต ที่เวลา 1 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแตนเบียนตัวเมียที่รอดชีวิตไปเบียนหนอนใยผักวัย เพื่อหาประสิทธิภาพการเบียน

ภาพ 19 แผนภูมิแสดงการทดสอบผลกระทบของสารฆ่าแมลงบางชนิดที่มีต่อดักแด้แตนเบียน *C. plutellae*