

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรา และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย ในระดับห้องปฏิบัติการ

ทำการสำรวจเก็บตัวอย่างด้วงหมัดผักแถบลายในพื้นที่การผลิตพืชผักในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงที่มีการระบาดเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรากลุ่มกำจัดแมลงในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยคัดแปลงจากวิธีการของจอมสุรางค์ และคณะ (2550) ใช้ต้นเบบี๋ฮ่องเต้อายุประมาณ 15-20 วัน เป็นพืชอาหารวางไว้ในกรงตาข่ายขนาด 60x60x60 เซนติเมตร (ภาพที่ 3.1) ปลอ่ยตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลายเข้าไปในกรงและเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60 ± 10 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นคัดเลือกตัวเต็มวัยที่ใกล้เคียงกันอายุเฉลี่ย 7-10 วัน เพื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์ (ภาพที่ 3.2) และสารเคมีฆ่าแมลงที่ใช้เป็นสารเปรียบเทียบ วางแผนการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการแบบ CRD (completely randomized design) ประกอบด้วย 8 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ (ภาพที่ 3.3) ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารแขวนลอย *M. anisopliae* ไอโซเลขที่ 4849 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสารแขวนลอย *M. anisopliae* ไอโซเลขที่ 4849 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้า (Metazan[®]) อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสารแขวนลอย *B. bassiana* ไอโซเลขที่ 5335 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารแขวนลอย *B. bassiana* ไอโซเลขที่ 5335 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นเชื้อรา *B. bassiana* ทางการค้า (Buverin[®]) อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 7 พ่นสารเคมีฆ่าแมลง acetamiprid อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

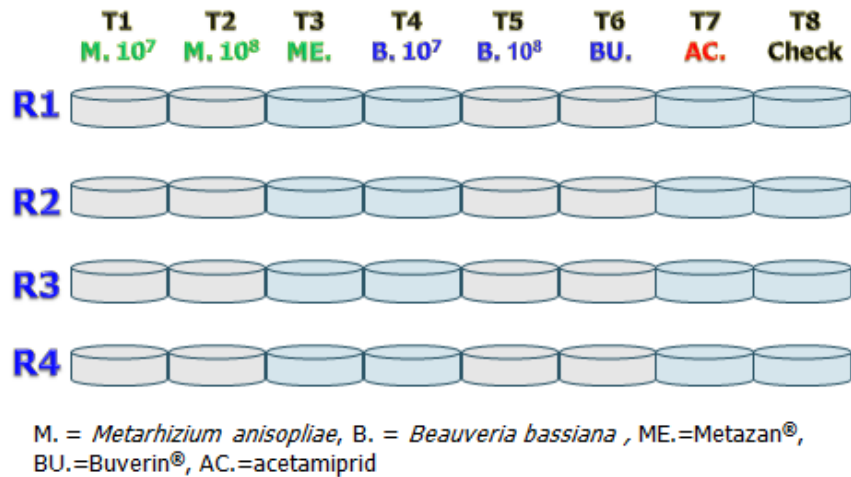
กรรมวิธีที่ 8 ชุดควบคุม



ภาพที่ 3.1 กรงเลี้ยงแมลง กรงขนาด 60x60 เซนติเมตร (ก) และต้นเบบี้ฮ่องเต้ที่ใช้เลี้ยง
ด้วงหมัดฝักแถบลาย (ข)

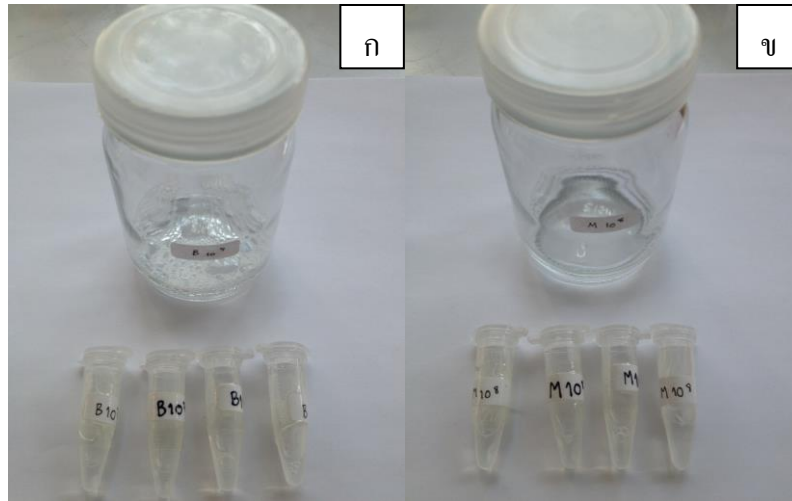


ภาพที่ 3.2 เชื้อรา *Beauveria bassiana* ไอโซเลต 5335 (ก) และเชื้อรา *Metarhizium anisopliae*
ไอโซเลต 4849 (ข) แบบเชื้อสด

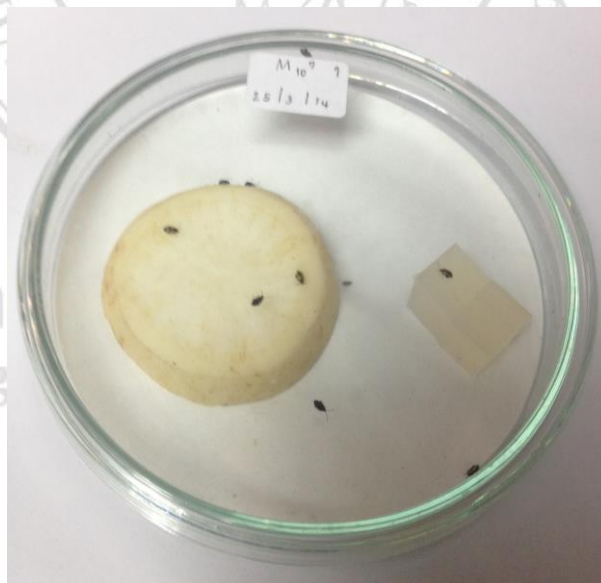


ภาพที่ 3.3 แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในระดับห้องปฏิบัติการ

ทำการพ่นสารชีวภัณฑ์กำจัดแมลง (ภาพที่ 3.4) และสารเคมีฆ่าแมลงตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยใช้เครื่องพ่นที่มีละอองขนาดเล็ก (air brush sprayer) จำนวน 1 ครั้ง ลงบนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลาย ในจานแก้วที่รองด้วยกระดาษกรอง บรรจุเทอร์นิฟเป็นพืชอาหาร และก้อนวุ้นเพื่อให้ความชื้น (ภาพที่ 3.5) โดยแต่ละกรรมวิธีดำเนินการ 4 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำใช้ตัวเต็มวัยด้วงหมัดผักแถบลาย จำนวน 10 ตัว ตรวจสอบการตายของด้วงหมัดผักแถบลายหลังการพ่นทุกวันเป็นเวลา 9 วัน ตามลำดับ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายที่ถูกต้อง โดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) รวมทั้งระยะเวลาที่เหมาะสมหลังจากการพ่นในระดับห้องปฏิบัติการ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยการตายของแต่ละกรรมวิธี โดยวิธี least significant difference (LSD) และคำนวณค่า LT₅₀ (ระยะเวลาที่ทำให้แมลงตายครึ่งหนึ่ง) ของสารชีวภัณฑ์



ภาพที่ 3.4 สารแขวนลอยเชื้อรา *Beauveria bassiana* ไอโซเลต 5335 (ก) และสารแขวนลอยเชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ไอโซเลต 4849 (ข)



ภาพที่ 3.5 งานแก้วสำหรับทดลองที่รองด้วยกระดาษกรอง บรรจุเทอร์นิฟ และก้อนวุ้นเพื่อให้ความชื้น

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรา และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย

ในสภาพแปลงปลูกภายใต้โรงเรือน

เลือกสารชีวภัณฑ์เชื้อร่ากำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายภายใต้สภาพโรงเรือน ที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,200 เมตร ในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ ต. บ่อสถี อ. สอด จ. เชียงใหม่ (ภาพที่ 3.6) โรงเรือนมีขนาด 6x30 เมตร เตรียมแปลงปลูกขนาด 1.2x30 เมตร ระยะปลูก 15x20 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ (ภาพที่ 3.7) พันสารชีวภัณฑ์เชื้อร่ากำจัดแมลง และสารเคมีโดยพ่นหลังย้ายปลูก วันที่ 7, 12 และ 17 ตามลำดับ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสารแขวนลอย *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8

โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นเชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้า (Metazan[®]) อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสารแขวนลอย *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7

โคนิเดีย/มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นเชื้อรา *B. bassiana* ทางการค้า (Buverin[®]) อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง acetamiprid อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม

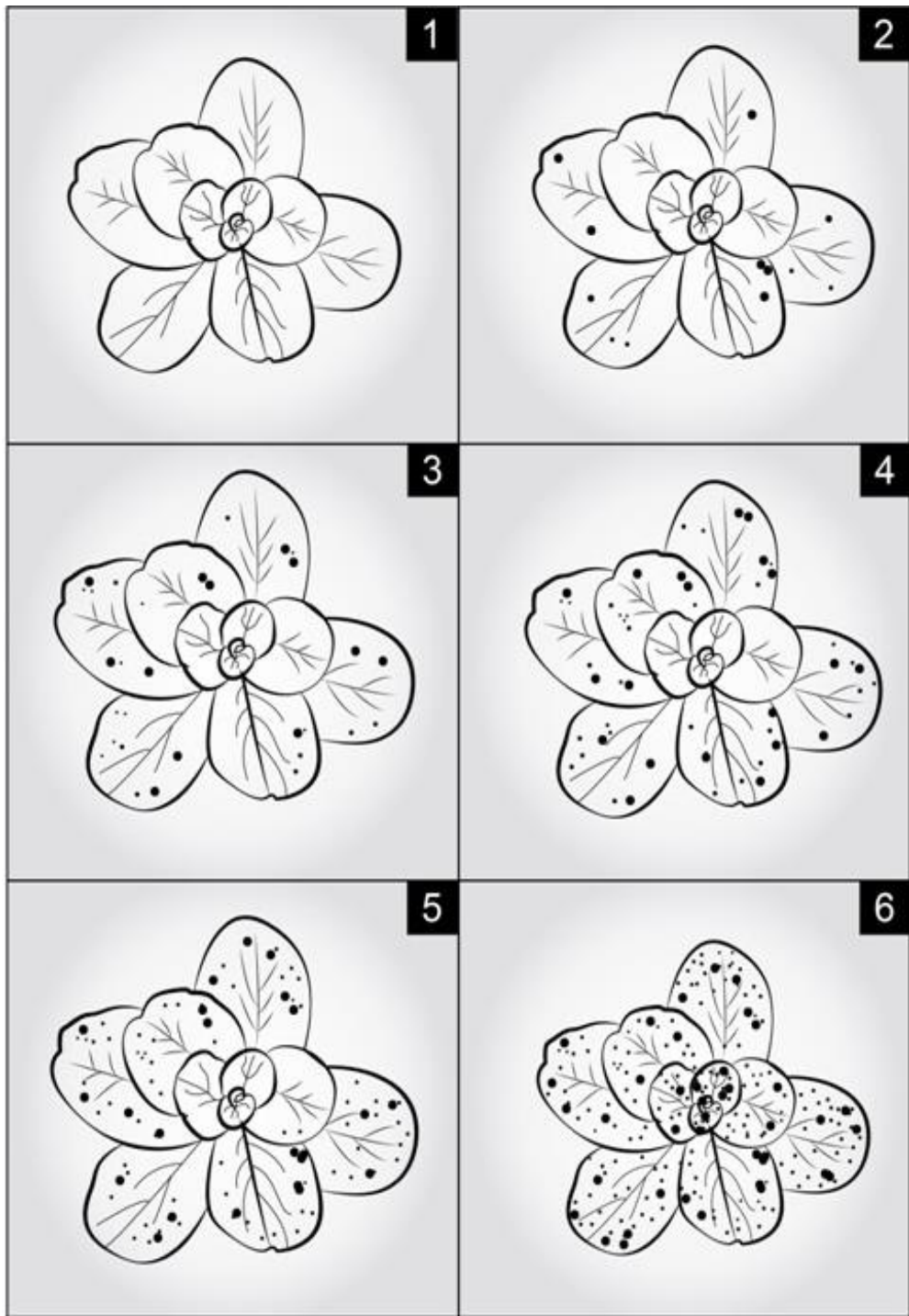
ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 1 ตารางเมตร และสุ่มพีชจำนวน 15 ต้น เก็บข้อมูล วันที่ 7, 12, 17 และวันเก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 22 หลังย้ายปลูกตามลำดับ บันทึกการเจริญเติบโต ด้านความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม ร่องรอยการทำลายของแมลง โดยใช้เกณฑ์วัดระดับการทำลาย 1=0%, 2=1-20%, 3=21-40%, 4=41-60%, 5=61-80% และ 6=81-100% (ภาพที่ 3.8) เปรียบเทียบคุณภาพและปริมาณของผลผลิตหลังจากเก็บเกี่ยว นำข้อมูลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี least significant difference (LSD)



ภาพที่ 3.6 แปลงทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรา และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในเบบีส่องเต้ภายใต้โรงเรือน ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่โถ ต. บ่อสลี อ. สอด จ. เชียงใหม่

R1	R2	R3	R4
T2	Check	T5	T4
T1	T4	T3	T2
T5	T2	T4	T3
T3	T1	Check	T1
Check	T5	T1	T5
T4	T3	T2	Check

ภาพที่ 3.7 แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรา และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย ในสภาพแปลงปลูกภายใต้โรงเรือน (T1= *M. anisopliae* 1×10^8 , T2=Metazan[®], T3= *B. bassiana* 1×10^7 , T4=Buverin[®], T5=acetamiprid)



ภาพที่ 3.8 เกณฑ์วัดระดับการทำลายของแมลง โดยกำหนดให้ 1=0%, 2=1-20%, 3=21-40%, 4=41-60%, 5=61-80%, 6=81-100%

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อรา และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลาย

ในสภาพแปลงปลูกนอกโรงเรือน

เลือกสารชีวภัณฑ์เชื้อรากลุ่มกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์และสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผักแถบลายในสภาพแปลงปลูกที่ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 1,200 เมตร ในพื้นที่แปลงทดลองของศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย ต. แม่แรม อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ (ภาพที่ 3.9) ขนาดพื้นที่ 6x30 เมตร เตรียมแปลงปลูกขนาด 1.2x30 เมตร ระยะปลูก 15x20 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ randomized complete block design (RCBD) ประกอบด้วย 6 กรรมวิธี ๆ ละ 4 ซ้ำ (ภาพที่ 3.10) พันสารชีวภัณฑ์เชื้อรากลุ่มกำจัดแมลง และสารเคมีโดยพ่นหลังย้ายปลูก วันที่ 7, 12 และ 17 ตามลำดับดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 พันสารแวนดอย *M. anisopliae* ไอโซเลท 4849 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 โคนิเดียม/มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 2 พันเชื้อรา *M. anisopliae* ทางการค้า (Metazan[®]) อัตรา 200 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 3 พันสารแวนดอย *B. bassiana* ไอโซเลท 5335 ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^7 โคนิเดียม/มิลลิลิตร
- กรรมวิธีที่ 4 พันเชื้อรา *B. bassiana* ทางการค้า (Buverin[®]) อัตรา 80 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 5 พันสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง acetamiprid อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร
- กรรมวิธีที่ 6 ชุดควบคุม

ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยของด้วงหมัดผักแถบลายซ้ำละ 1 ตารางเมตร และสุ่มพีชจำนวน 15 ต้น เก็บข้อมูล วันที่ 7, 12, 17 และวันเก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 22 หลังย้ายปลูกตามลำดับ บันทึกการเจริญเติบโต ด้านความสูงต้น ความกว้างทรงพุ่ม ร่องรอยการทำลายของแมลง โดยใช้เกณฑ์วัดระดับการทำลาย 1=0%, 2=1-20%, 3=21-40%, 4=41-60%, 5=61-80% และ 6=81-100% เปรียบเทียบคุณภาพและปริมาณของผลผลิตหลังจากเก็บเกี่ยว นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี least significant difference (LSD)



ภาพที่ 3.9 แปลงทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารเคมีในการควบคุมด้วงหมัดผัก
 แถบหลายในเบบี่ช่องเต็นนอกโรงเรียน ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย ต. แม่แรม
 อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่

R1	R2	R3	R4
T4	T1	Check	T4
T2	Check	T2	T1
Check	T3	T1	Check
T1	T5	T5	T3
T5	T2	T3	T2
T3	T4	T4	T5

ภาพที่ 3.10 แผนผังการทดสอบประสิทธิภาพของสารชีวภัณฑ์เชื้อราและสารเคมี ในการควบคุม
 ด้วงหมัดผักแถบหลาย ในสภาพแปลงปลูกนอกโรงเรียน (T1= *M. anisopliae* 1×10^8 ,
 T2=Metazan[®], T3= *B. bassiana* 1×10^7 , T4=Buverin[®], T5=acetamiprid)