

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

##### 3.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก

การเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณหนอนใยผัก เริ่มจากการเก็บหนอนจากแปลงปลูกผักของเกษตรกรแล้วนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ใบผักคะน้าที่ปลอดจากการใช้สารฆ่าแมลงพ่นกันใบด้วยสาลีซุบน้ำแล้วห่อทับด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ ใส่ลงในกล่องพลาสติกใสขนาด 20 X 30 X 10 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับตัวหนอน เมื่อหนอนเข้าดักแด้จึงย้ายดักแด้ไปยังกรงเลี้ยงแมลงร่อนเป็นตัวเต็มวัยจึงให้อาหารด้วยสาลีซุบน้ำฝั่จือจาง 5-15% (ปัญญรัตน์, 2541) ระวังอย่าให้มีความชื้นมากเพราะหนอนจะติดเชื้อแบคทีเรียตาย (Liu and Sun, 1984) จากนั้นจึงใส่ต้นกล้าคะน้า (seedlings) ที่อยู่ในสถานะที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 9 เซนติเมตร และสูงประมาณ 4 เซนติเมตร เข้าไปในกรงเพื่อให้ผีเสื้อวางไข่ ไข่จะถูกวางและฟักออกมาเป็นหนอนวัยแรก ซึ่งหนอนจะใช้ส่วนใบเลี้ยง (cotyledons) และลำต้นเป็นอาหาร (Koshihara and Yamada, 1976) จนกระทั่งหนอนเข้าวัยที่ 2 จึงใช้ใบคะน้าวางบนคะน้าต้นอ่อน หนอนจะย้ายขึ้นมาบนใบคะน้านี้แล้วจึงนำไปเลี้ยงต่อด้วยใบคะน้าที่สดทุกวัน (Thongkhaw, 1992) จนหนอนเข้าวัยที่ 3 ซึ่งมีขนาดตัวประมาณ 0.5-0.75 เซนติเมตร และมีน้ำหนักประมาณ 2.55 มิลลิกรัม จึงนำไปใช้ในการทดลอง (Noppun *et al.*, 1986) ดำเนินการเลี้ยงเพิ่มปริมาณด้วยวิธีการนี้จนได้ปริมาณมากเพียงพอใช้ในการทดลองได้ แต่ไม่ควรเลี้ยงเกิน 3 รุ่น เพราะมีแนวโน้มว่าความต้านทานจะเริ่มลดลง (กาญจน์, 2532)

##### 3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของการใช้ *Bacillus thuringiensis* (Bt) ร่วมกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ 2 ชนิด คือ permethrin และ cypermethrin

3.2.1 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งแบ่งเป็น

- 1.) หาค่า  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิด ได้แก่
  - Bt (FLORBAC<sup>®</sup> F.C.)
  - permethrin (AMBUSH<sup>®</sup> 10% W/V E.C.)
  - cypermethrin (CYPERSAN 250<sup>®</sup> 25% W/V E.C.)
- 2.) หาค่า  $LC_{50}$  ของสารผสม โดยใช้  $LC_{50}$  ของ Bt ผสมกับ  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิด ( permethrin , cypermethrin )

### การหาค่า $LC_{50}$

ทำ pre-test หรือ range finding เพื่อหาช่วงของความเข้มข้นของสารฆ่าแมลงที่มีผลต่อการตาย เมื่อได้ช่วงที่พบว่าหนอนมีการตอบสนองอย่างเหมาะสมแล้ว จึงใช้ช่วงนั้นมาหาค่า  $LC_{50}$  ต่อไป โดยในการหาค่า  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดจะใช้ 6 ความเข้มข้น จากการเจือจางด้วยวิธี serial dilution และในการหาค่า  $LC_{50}$  ของสารผสมใช้ 5 อัตราส่วนที่แตกต่างกัน (ตั้งนั้นสารผสมแต่ละชนิดมี 5 ความเข้มข้น) โดยกำหนดให้ไพรีทรอยด์สังเคราะห์มีความเข้มข้นคงที่ที่ค่า  $LC_{50}$  แต่ความเข้มข้นของ Bt เป็น 1, 2, 3, 4 และ 5 เท่าของค่า  $LC_{50}$

แต่ละความเข้มข้นของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดและของสารผสม จะทำการทดลองทั้งหมด 5 ซ้ำ ใช้หนอนไข่ม้วน 10 ตัว โดยสารฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมดนี้จะใช้ check ในการเปรียบเทียบ

จากนั้นพ่นสารที่ใช้ในการทดลองที่ผสมกับ Latron CS-7<sup>®</sup> (spreader & binder) ลงบนใบพืชที่มีหนอนวัยที่ 3 อยู่ด้วยเครื่อง Badger spreyer model 150-4-PK แล้วทิ้งให้แห้ง จึงเก็บหนอนพร้อมกับใบพืชที่พ่นสารแล้วไว้ในจานแก้วที่อุณหภูมิ  $26 \pm 2$  องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 80 – 90 เปอร์เซ็นต์ บันทึกผลการทดลองหลังจาก 24, 48 และ 72 ชั่วโมง แล้วนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ด้วยโปรแกรม Logit PC ดังนี้

- คำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลง Bt ที่ 72 ชั่วโมง
- คำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลง permethrin ที่ 24 ชั่วโมง
- คำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ของสารฆ่าแมลง cypermethrin ที่ 24 ชั่วโมง
- คำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ของสารผสมระหว่าง permethrin กับ Bt ที่ 24 ชั่วโมง
- คำนวณหาค่า  $LC_{50}$  ของสารผสมระหว่าง cypermethrin กับ Bt ที่ 24 ชั่วโมง

**3.2.2 การทดสอบในสภาพแปลงปลูก** ทำการทดลองที่แปลงปลูกผักของเกษตรกรในตำบลเหมืองแก้ว อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ใช้แปลงปลูกคะน้า (*Brassica oleracea* var. *alboglabra* Bailey) ในการทดลองประมาณ 200 ตารางเมตร จัดแบ่งออกเป็น 24 แปลงย่อย แต่ละแปลงย่อยมีขนาด 5 ตารางเมตร (กว้าง 1 เมตร และยาว 5 เมตร) โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) มี 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 ความเข้มข้นค่า  $LC_{50}$  ที่ 72 ชั่วโมงของ Bt

กรรมวิธีที่ 2 ความเข้มข้นค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงของ สารฆ่าแมลง permethrin

กรรมวิธีที่ 3 ความเข้มข้นค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงของ สารฆ่าแมลง cypermethrin

กรรมวิธีที่ 4 ความเข้มข้นค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงของ สารผสมระหว่าง permethrin กับ Bt

กรรมวิธีที่ 5 ความเข้มข้นค่า  $LC_{50}$  ที่ 24 ชั่วโมงของ สารผสมระหว่าง cypermethrin กับ Bt

กรรมวิธีที่ 6 check

#### **การตรวจนับปริมาณหนอนใยผัก**

ทำการทดลองสัปดาห์ละ 2 วัน แบ่งเป็นวันแรกจะตรวจนับปริมาณหนอนก่อนพ่นสาร โดยทำการสุ่ม 10 ต้นต่อ 1 แปลงย่อย จากนั้นจึงพ่นสารด้วยถังพ่นสาร manual compression sprayer (Matabi, model Kima-6) ซึ่งใช้หัวฉีดแบบ single hollow cone nozzle และหลังจากนั้น 3 วันจึงทำการตรวจนับปริมาณหนอนหลังจากที่ได้รับสาร ทำทั้งหมด 3 สัปดาห์ (พ่นสาร 3 ครั้ง ตรวจนับก่อนพ่น 3 ครั้งและหลังพ่น 3 ครั้ง) ตามวิธีการของ Ratanabhumma *et al.* (1994 ; 1998)

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแปลงปลูกมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักในแต่ละกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองนี้ โดยใช้วิธี Bonferroni's multiple range test ด้วยโปรแกรม Statistix version 1.1 (อนันต์, 2536)

### **3.3 สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล**

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และแปลงปลูกผักของเกษตรกรบ้านต้นผึ้ง ตำบลเหมืองแก้ว อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

### **3.4 ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย**

เมษายน พ.ศ. 2542 – กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2544