

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การส่งตัวอย่างเพรียงหอยเพื่อนำไปวินิจฉัยชื่อวิทยาศาสตร์

เก็บตัวอย่างเพรียงหอยจากสวนลำไยอำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยนำเพรียงหอยคละว้ยใส่ลงไปในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์ ทำการปิดปากขวดให้สนิท นำส่งตัวอย่างเพรียงหอยทั้งหมดไปทำการวินิจฉัยชื่อวิทยาศาสตร์ ณ The Natural History Museum ประเทศอังกฤษ

3.2 การศึกษาชีววิทยาของเพรียงหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green)

3.2.1 การเตรียมต้นลำไยเพื่อใช้เลี้ยงเพรียงหอย

เริ่มจากการนำเมล็ดลำไยมาล้างให้สะอาด แล้วแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาทำการเพาะลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อในกระบะพลาสติกขนาด 60 x 60 x 20 เซนติเมตร รดน้ำให้ชุ่มชื้นอย่างสม่ำเสมอ ทิ้งไว้ให้ต้นกล้าเจริญเติบโต ณ สภาพอุณหภูมิห้อง เมื่อต้นกลาลำไยมีอายุได้ประมาณ 1 เดือน นำมาแยกปลูกลงในถุงพลาสติกสีดำ ทิ้งไว้ประมาณ 3 วัน ก็สามารถนำมาใช้เลี้ยงเพรียงหอยลำไยได้

3.2.2 ชีววิทยาของเพรียงหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green)

การศึกษาชีววิทยาของเพรียงหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green) ในห้องปฏิบัติการเมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2543 โดยเก็บตัวอย่างเพรียงหอยจากสวนลำไยของเกษตรกร โดยรองไข่ฟักเป็นระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 (crawler) จากนั้นนำตัวอ่อนที่มีอายุ 1 วัน มาปล่อยไว้บนต้นลำไย ที่เตรียมไว้แล้วทำการเลือกตัวอ่อนที่สมบูรณ์ แข็งแรง ได้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereomicroscope) ปล่อยตัวอ่อนเพรียงหอย 1 ตัว ต่อต้นลำไย 1 ต้น การศึกษาใช้เพรียงหอยทั้งหมด 50 ตัว บันทึกข้อมูลทุกวันเพื่อทำการวัดขนาดความกว้าง ความยาวของลำตัว นับจำนวนไข่ และบันทึกระยะเวลาในแต่ละระยะการเจริญเติบโต จนครบวงจรชีวิต

การศึกษาจำนวนรุ่นในรอบปีของเพรียงหอยลำไยในห้องปฏิบัติการเมื่อวันที่ 20 ตุลาคม 2542 โดยการนำเพรียงหอยวัยอ่อนอายุ 1 วันที่ฟักออกมาจากไข่ จากนั้นเลือกตัวอ่อนเพรียงหอย 1 ตัวมาปล่อยไว้บนต้นลำไยที่เตรียมไว้ การทดลองจะทำการปล่อยเพรียงหอยทั้งหมด 6 ตัว บนต้นลำไย 6 ต้น นำต้นลำไยที่ปล่อยเพรียงหอยแต่ละต้นมาแยกใส่ไว้ในกล่องพลาสติก ขนาด 20x30 เซนติเมตร ทำการเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิห้อง บันทึกข้อมูลโดยการนับจำนวนวัน ตั้งแต่ระยะตัวอ่อนจนถึงระยะตัวเต็มวัยในแต่ละรุ่นจนครบ 1 ปี



ภาพที่ 7 ตัวอ่อนเปลี้ยหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green) ที่ฟักออกมาจากไข่ในท้องแม่

3.2.3 การศึกษาอัตราการฟักของเปลี้ยหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green)

เก็บเปลี้ยหอยจากสวนลำไยของเกษตรกรที่อำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อวันที่ 13 กุมภาพันธ์ 2544 จากนั้นเลือกเปลี้ยหอยลำไยเพศเมียระยะไข่ที่อยู่ในท้องของตัวแม่โดยนำเปลี้ยหอยใส่ไว้ในดักพลาสติกขนาดเล็ก เห็นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 3 เซนติเมตร รองด้วยกระดาษทิชชูเพื่อซับความชื้น 1 ตัวต่อ 1 ดัก ทำการปิดฝาให้สนิทเพื่อป้องกันไม่ให้เปลี้ยหอยตัวอ่อนที่เพิ่งฟักใหม่ๆ ออกมานอกดัก นำไปเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง 26 องศาเซลเซียส โดยรองจนเปลี้ยหอยระยะไข่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อน การทดลองครั้งนี้จะใช้เปลี้ยหอยระยะไข่ทั้งหมดจำนวน 45 ตัว จากนั้นทำการบันทึกผล โดยการตรวจนับจำนวนเปลี้ยหอยที่สามารถฟักออกมาเป็นตัวอ่อนตรวจนับจำนวนตัวอ่อนทั้งหมดที่ฟัก และตรวจนับจำนวนไข่ที่ไม่ฟักออกมาเป็นตัวอ่อนในเปลี้ยหอย 1 ตัว

3.3 การศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมเพลี้ยหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green)

3.3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีกำจัดเพลี้ยหอยลำไยในระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อวันที่ 24 มีนาคม 2543 โดยนำหลอดทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร จำนวน 18 หลอด แยกออกเป็นกรรมวิธีละ 3 หลอด ทำการนำสารแต่ละกรรมวิธีมาใส่ลงไปในแต่ละหลอดจากนั้นเคลือบสารโดยการหมุนไปมาให้สารติดผิวหลอดโดยคัดแปลงตามวิธีการของ Busvine (1971) นำหลอดที่เคลือบไปทิ้งไว้ให้แห้ง เมื่อหลอดทดลองที่เคลือบสารเคมีในแต่ละกรรมวิธีแห้งแล้ว นำตัวอ่อนวัยที่ 1 มาใส่ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 10 ตัว ทำการปิดฝาหลอดด้วยสำลีชุบน้ำ สารเคมีที่เลือกใช้ในแต่ละกรรมวิธีมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 untreated check	น้ำกลั่น
กรรมวิธีที่ 2 petroleum oil (D-C tron plus 83.9% EC)	อัตรา 200 มิลลิลิตร ค่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 carbaryl (Carbutazole 35% SC)	อัตรา 50 มิลลิลิตร ค่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 white oil (Wiona oil 67% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตร ค่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 carbosulfan (Posse 20% EC)	อัตรา 30 มิลลิลิตร ค่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 dimethoate (Eramate 40% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตร ค่อน้ำ 20 ลิตร

หลังจากปล่อยตัวอ่อนเพลี้ยหอยลงในหลอดเคลือบสารเคมีฆ่าแมลงแล้ว ทำการบันทึกอัตราการตายของเพลี้ยหอยระยะตัวอ่อนที่เวลา 3, 6, และ 12 ชั่วโมงสำหรับแผนการทดลองของงานวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบ split plot design โดยให้ชนิดของสารเคมีที่ใช้เป็น main plot จัดในรูปแบบของ Completely Randomized Design และให้เวลาที่นับแต่ละชั่วโมงเป็น sub plot (Gomez and Gomez, 1984)

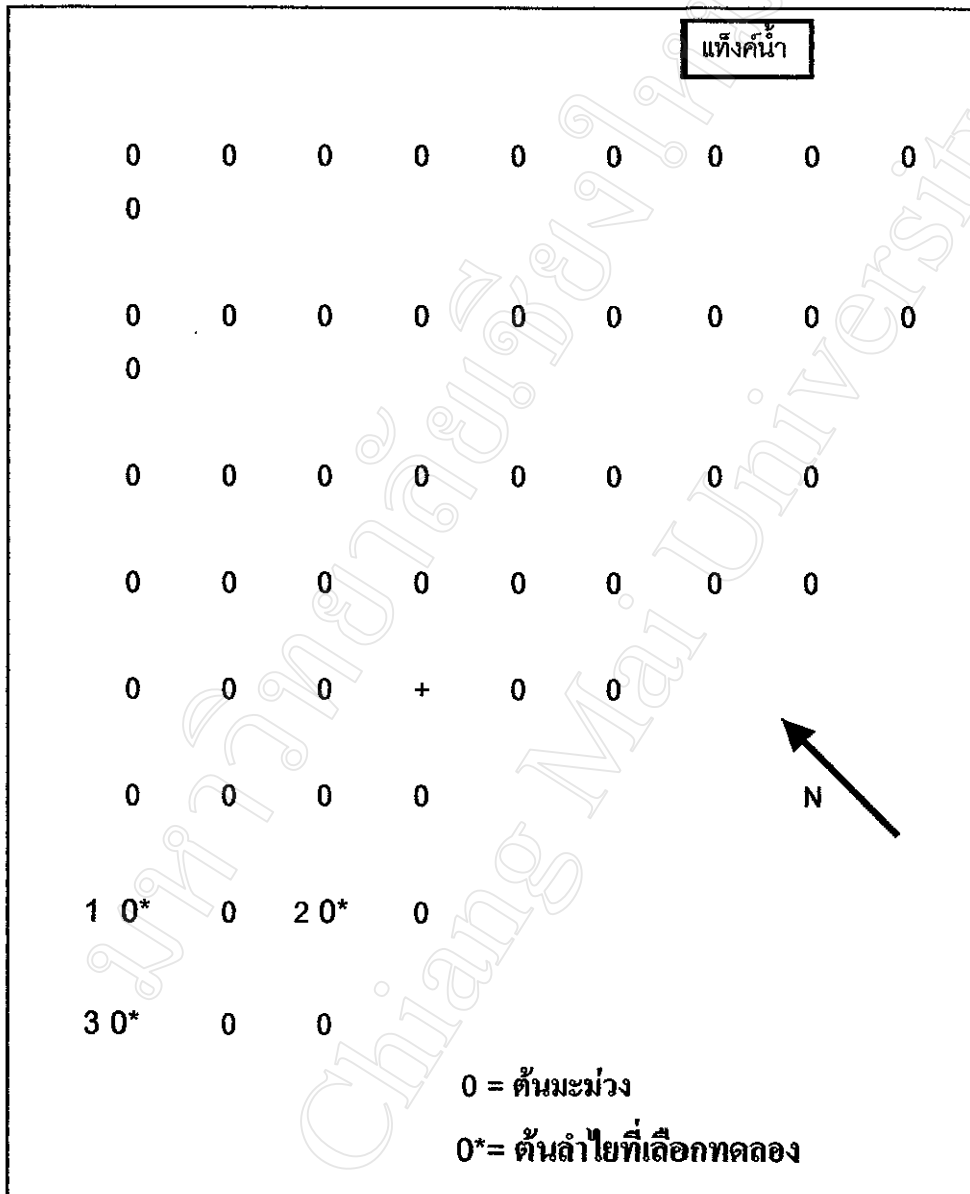
3.3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ควบคุมเพลี้ยหอยลำไยในระยะตัวอ่อนวัยที่ 1 ในสภาพสวน

เลือกสวนลำไยที่มีเพลี้ยหอยลำไย *D. chiton* ระบาดที่บ้านใหม่สวรรค์ อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ (ภาพที่ 8) เมื่อวันที่ 11 เดือนกรกฎาคม 2543 ลำไยส่วนใหญ่อยู่ในระยะแตกใบอ่อน พบตัวอ่อนวัยที่ 1 ของเพลี้ยหอยอาศัยอยู่บนหนาม (ภาพที่ 9) จากนั้นเลือกต้นลำไยที่มีเพลี้ยหอยอยู่บนหนามแน่นจำนวน 3 ต้น สุ่มต้นละ 10-15 กิ่ง รวมจำนวนกิ่งที่ใช้ทดลองทั้งหมด 35 กิ่ง ในแต่ละกิ่งที่เลือกจะมีตัวอ่อนเพลี้ยหอยคุดกินตามบริเวณยอด บันทึกผลก่อนการทดลองโดยการตรวจนับจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยหอยวัยที่ 1 ทั้งหมด โดยนับจากส่วนยอดของกิ่งให้ยาวลงมาประมาณ 5 เซนติเมตร จาก

นั้นทำการเตรียมสารเคมีฆ่าแมลงในแต่ละกรรมวิธีที่กำหนดไว้ ทำการพ่นสารเคมีฆ่าแมลงโดยใช้เครื่องพ่นแบบ สะพายหลัง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มีกรรมวิธีทดลองทั้งหมด 7 กรรมวิธี ทำกรรมวิธีละ 5 ซ้ำ (1 กิ่ง = 1 ซ้ำ) สารเคมีฆ่าแมลงในแต่ละกรรมวิธีที่ทำการทดลองมีดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 carbosulfan (Posse 20% EC)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 dimethoate (Eramate 40% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 carbaryl (Carbutazole 35% SC)	อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 white oil (Wiona 67% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 petroleum oil (D-C tron plus 83.9% EC)	อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 sapindus (สมุนไพรมะขัก)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 untreated check	น้ำกลั่น

หลังจากพ่นสารเคมีฆ่าแมลงเป็นเวลา 2 วัน จึงทำการตรวจนับจำนวนตัวอ่อนเพลี้ยหอยที่ยังมีชีวิตรอดบริเวณยอดอ่อน โดยใช้วิธีการตรวจนับแบบเดียวกันกับก่อนการทดลอง จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเพลี้ยหอย และนำค่าดังกล่าวมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ เมื่อค่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดในสารเคมีแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference



ภาพที่ 8 แผนผังสวนลำไยเกษตรกรบ้านใหม่สวรรค์ อำเภอแม่อวียง จังหวัดเชียงใหม่ ที่ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีและสมุนไพร เพื่อควบคุมเพลี้ยหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green) ในระยะตัวอ่อนวัยที่ 1



ภาพที่ 9 เพลี้ยหอยลำไย *Drepanococcus chiton* (Green) วัยที่ 1 ที่เกาะดูดตามยอดอ่อน ลำไยในสวนของเกษตรกรบ้านใหม่สวรรค์ อำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่

3.3.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมเพลี้ยหอยลำไยในระยะตัวอ่อนวัยที่ 2 และ วัยที่ 3 ในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อวันที่ 5 มีนาคม 2544 โดยทำการเลี้ยงเพลี้ยหอยบนต้นกล้าลำไยจนกระทั่งเจริญเป็นวัยที่ 2 และ วัยที่ 3 ซึ่งเป็นระยะที่เพลี้ยหอยเกาะติดอยู่บนต้นอ่อนลำไย ซึ่งจะมีเพลี้ยหอยจำนวนตั้งแต่ 18-255 ตัว ต่อต้นกล้าลำไย 1 ต้น ดอนต้นกล้าที่มีเพลี้ยหอยเกาะอยู่จากนั้นนำมาห่อหุ้มรากที่มีดินติดอยู่ด้วย กระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรักษาความชื้นบริเวณราก ใช้ต้นกล้าทั้งหมดจำนวน 24 ต้น นำมาทดลอง พ่นสารเคมีและสารสกัดจากพืชทั้งหมด 8 กรรมวิธี มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

กรรมวิธีที่ 1 carbosulfan (Posse 20% EC)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 2 dimethoate (Eramate 40% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 carbaryl (Carbutazole 35% EC)	อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 white oil (Wiona 67% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 petroleum oil (D-C tron plus 83.9% EC)	อัตรา 200 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 sapindus (สมุนไพรชะงัก)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 7 neem (สะเดาใบค)	อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 8 untreated check	น้ำกลั่น

เตรียมน้ำสะเดาใบคโดยการชั่งสะเดาใบคในอัตราส่วนที่แนะนำ ในการทดลองครั้งนี้จะใช้สะเดาใบค 17.5 กรัม นำไปแช่น้ำ 0.5 ลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากสะเดาทิ้งก็สามารถนำน้ำสะเดามาทำการทดลองได้

ทำการทดลองกรรมวิธีละ 3 ซ้ำ (1 ต้น = 1 ซ้ำ) ก่อนทดลองบันทึกจำนวนเพลี้ยหอยแต่ละต้น นำต้นอ่อนกล้าลำไยที่มีเพลี้ยหอยเกาะอยู่มาพ่นสารเคมีและสารสกัดจากพืชดังกล่าวด้วยเครื่องพ่นฝอยละเอียด (air brush) หลังจากพ่นสารเคมีและสารสกัดแล้วทำการบันทึกอัตราการตายและอัตราการอยู่รอดของเพลี้ยหอยที่ 1, 3, 6, 12, 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ

สำหรับแผนการทดลองของงานวิจัยนี้ วางแผนการทดลองแบบ split plot design โดยให้ชนิดของสารเคมีที่ใช้เป็น main plot จัดในรูปของ Completely Randomized Design และให้เวลาที่นับแต่ละชั่วโมงเป็น sub plot (Gomez and Gomez, 1984)

3.3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมเพลี้ยหอยลำไยระยะตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อวันที่ 16 สิงหาคม 2544 โดยนำต้นลำไยที่มีเพลี้ยหอยเพศเมียระยะตัวเต็มวัยเกาะอยู่ซึ่งจะมีเพลี้ยหอยจำนวนตั้งแต่ 10-20 ตัว ต่อต้นกล้าลำไย 1 ต้น จากนั้นนำต้นกล้าลำไยมาแยกใส่ดินที่หุ้มด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ ทำการบันทึกผลก่อนการทดลองโดยนับจำนวนเพลี้ยหอยระยะตัวเต็มวัยที่เกาะอยู่บนต้นทั้งหมด หลังจากนั้นนำมาพ่นด้วยสารเคมีและสารสกัดจากพืชที่เตรียมไว้ทั้งหมด 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ด้วยเครื่องพ่นฝอยละเอียด (air brush) สารเคมีและสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองมีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 untreated check	น้ำกลั่น
กรรมวิธีที่ 2 carbaryl (Carbutazole 35% SC)	อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 3 carbosulfan (Posse 20% EC)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 4 dimethoate (Eramate 40% EC)	อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 5 sapindus (สมุนไพรมะขี้)	อัตรา 30 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร
กรรมวิธีที่ 6 neem (สะเดาบด)	อัตรา 700 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

ทำการบันทึกผลหลังจากพ่นสาร 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, และ 7 วัน โดยนับจำนวนเพลี้ยหอย ระยะตัวเต็มวัยที่ตายบนต้นทั้งหมด และนำมาหาเปอร์เซ็นต์การตายในแต่ละวัน สำหรับแผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ split plot design โดยให้ชนิดของสารเคมีที่ใช้เป็น main plot ซึ่งจัดอยู่ในรูปของ Completely Randomized Design และให้เวลาที่นับแต่ละวันเป็น sub plot อธิบายโดย Gomez and Gomez (1984)