

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเพาะเลี้ยงหนอนใยผักเพื่อใช้ทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.1.1 เตรียมโรงเรือนปลูกผักกวางตุ้งกะหล่ำ เพื่อใช้เป็นอาหารในการเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก โดยปลูกผักคะน้าและกะหล่ำในโรงเรือน เพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก ทำการปลูกในแปลงโรงเรือน ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งเป็นการปลูกแบบปลอดสารพิษ (ภาพที่ 2)



ภาพ 2 โรงเรือนสำหรับปลูกกะหล่ำ ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.1.2 ทำการเพาะเลี้ยงหนอนใยผัก เพื่อให้ได้ปริมาณมากเพียงพอสำหรับการทดสอบกับสารฟีโรโมนสังเคราะห์ โดยการเก็บหนอนใยผักจากแปลงผักเกษตรกรรมมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ โดยนำหนอนใยผักมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกจนกระทั่งตัวหนอนใยผักเข้าดักแด้ เก็บดักแด้ใส่ในกล่องพลาสติกใส และใช้ใบคะน้าและกะหล่ำที่ปลูกในโรงเรือนเป็นอาหาร โดยทำการย้ายตัวอ่อนและเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 1-2 วัน (ภาพที่ 3) จนกระทั่งตัวหนอนใยเข้าดักแด้ จึงทำการแยกดักแด้ออกจากระยะตัวอ่อนเพื่อให้ง่ายต่อการจัดการ เมื่อดักแด้ลอกคราบออกเป็นตัวเต็มวัยนำตัวเต็มวัยบางส่วนใส่กล่องที่หุ้มด้วยผ้าขาวบางโดยใส่ต้นกะหล่ำและอาหารไว้ภายใน เพื่อให้ตัวเต็มวัยทำการผสมพันธุ์และวางไข่



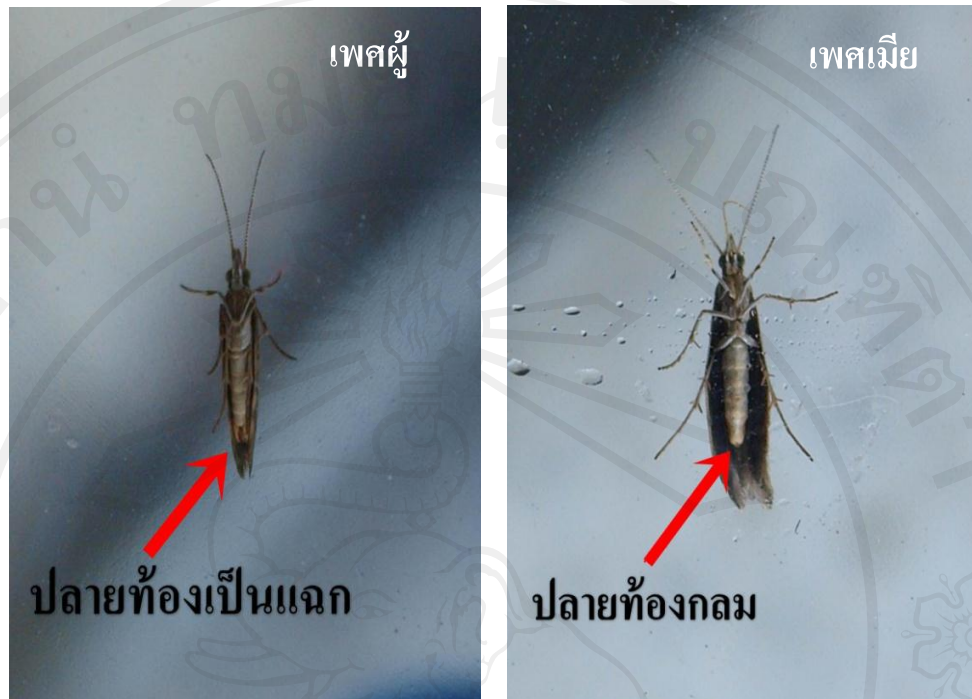
ภาพ 3 การเลี้ยงหนอนไผ้ฝัก

ก เลี้ยงหนอนไผ้ฝักในกล่องพลาสติก

ข. การแยกคักแด้

ค. กล่องสำหรับเลี้ยงตัวเต็มวัยเพื่อให้ผสมพันธุ์และวางไข่

3.1.3 ทำการแยกเพศตัวเต็มวัยของผีเสื้อหนอนไผ้ฝัก โดยใช้วิธีการสังเกตจากบริเวณปล้องท้องปล้องสุดท้ายซึ่งเป็นที่ตั้งของอวัยวะสืบพันธุ์และอวัยวะในการวางไข่ (เฉพาะเพศเมีย) โดยผีเสื้อหนอนไผ้ฝักเพศผู้มีปลายท้องที่มีลักษณะเรียวแหลมและเป็นแฉกสองแฉกที่สามารถเคลื่อนไหวได้คล้ายคีมคีบ ส่วนเพศเมียมีปลายท้องลักษณะกลมมนกว่าเพศผู้และไม่มีลักษณะคล้ายคีมคีบ (ภาพที่ 4) ซึ่งผีเสื้อหนอนไผ้ฝักที่นำมาทดลองใช้เฉพาะผีเสื้อหนอนไผ้ฝักเพศผู้เท่านั้น

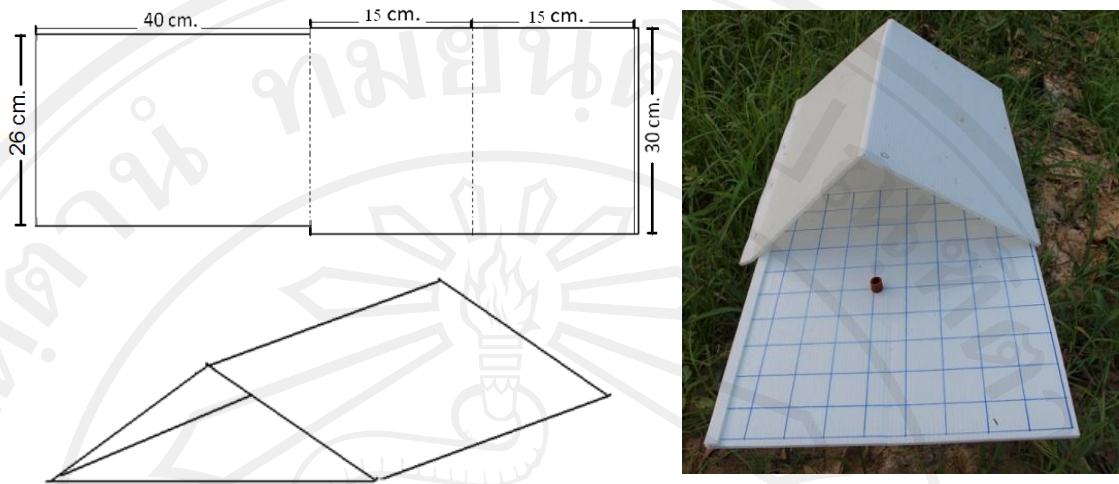


ภาพ 4 ลักษณะสำคัญของผีเสื้อหอนอนยฝักในการแยกเพลคผู้และเพลคเมีย

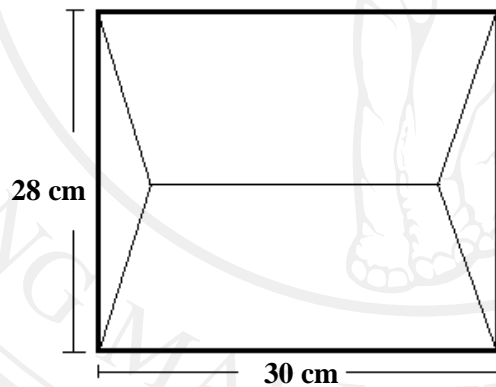
3.2 การเตรียมอุปกรณ์กับดัก

3.2.1 การเตรียมกับดักฟีโรโมนแบบ delta trap ใช้แผ่นพลาสติก หรือ ฟิวเจอร์บอร์ด ยาว 70 เซนติเมตร กว้าง 30 เซนติเมตร พับขึ้นเป็นรูปทรงสามเหลี่ยมที่มีด้านเปิดสองด้านลักษณะคล้ายหลังคา ด้านใต้สอดแผ่นพลาสติกทากาวเหนียวและวางสารฟีโรโมนสังเคราะห์ ส่วนเสาสำหรับใช้เป็นฐานเพื่อปักกับดักในแปลงเพาะปลูก ทำจากไม้ไผ่ที่มีปลายด้านหนึ่งแหลม ยาว 45-50 เซนติเมตร เมื่อนำไปวางในแปลงเพาะปลูกทำให้ส่วนที่เป็นหลังคาอยู่เหนือพื้นดิน 30-35 เซนติเมตร (ภาพที่ 5)

3.2.2 การเตรียมกับดักฟีโรโมนแบบ wing trap ใช้แผ่นพลาสติก หรือ ฟิวเจอร์บอร์ดขนาด 28 X 30 เซนติเมตร กรีดตามกึ่งกลางทางด้านยาวให้ห่างจากขอบด้านละ 3.5 เซนติเมตร จากนั้นกรีดลากไปจรดมุมทั้ง 4 มุม ระวังอย่าให้ขาดจากกัน ใช้กับดักละ 2 แผ่นมาประกบกันโดยใช้ลวดยึดบริเวณกึ่งกลางรอยพับ แผ่นด้านล่างทากาวเหนียวดักจับแมลง ผูกติดกับไม้ไผ่ นำไปปักในแปลงให้กับดักอยู่สูงกว่าทรงพุ่ม 20-30 เซนติเมตร



ภาพ 5 การเตรียมอุปกรณ์กับดักฟีโรโมนแบบ delta trap



ภาพ 6 การเตรียมอุปกรณ์กับดักฟีโรโมนแบบ wing trap

3.3 การทดสอบสารฟีโรโมน

สารฟีโรโมนสังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์เป็นฟีโรโมนทั้ง 3 ชนิด มาจากการทดลองของ จิราพร และอภิวัฒน์ (2553) ซึ่งได้ทำการสังเคราะห์สารฟีโรโมนทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ Z-11-hexadecenal , Z-11-hexadecenyl acetate และ Z-11-hexadecen-1-ol โดยใช้สารตั้งต้นคือ 11-bromoundecanoic acid โดยเมื่อผ่านกระบวนการในการสังเคราะห์แล้วได้ผลผลิตคือสารฟีโรโมน 3 ชนิดที่ออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับฟีโรโมนเพศ

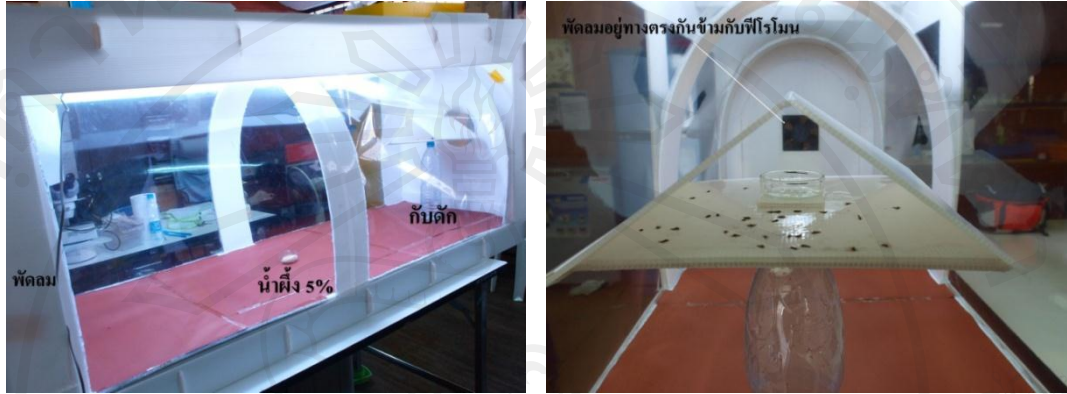
ทำการผสมฟีโรโมนสังเคราะห์ คือ Z-11-hexadecenal, Z-11-hexadecenyl acetate และ Z-11-hexadecen-1-ol ในอัตราส่วนต่าง ๆ จากนั้นนำไปทำการทดลองในห้องปฏิบัติการโดยทำการวางฟีโรโมนสังเคราะห์พร้อมแผ่นกาวและปล่อยประชากรผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้เข้าไปในพื้นที่ปิดที่มีการระบายอากาศไหลผ่านเพียงทิศทางเดียวโดยทำขึ้นจากแผ่นพลาสติกถูกพูกความหนา 5 มิลลิเมตร ประกอบกันเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมขนาด 65 X 180 X 90 เซนติเมตร ภายในใช้แผ่นพลาสติกใสทำเป็นอุโมงค์ตลอดความยาว 180 เซนติเมตร โดยทำการสร้างอุโมงค์จำลองการเคลื่อนที่ของอากาศโดยมีต้นแบบจากการทดลองของ Miller and Roelofs (1978) ซึ่งเป็นอุโมงค์สำหรับจำลองทิศทางเคลื่อนที่ของอากาศที่ใช้พัดพาสารระเหยจากสารฟีโรโมนสังเคราะห์ให้มีการเคลื่อนที่ในทิศทางเดียว จากปลายอุโมงค์ด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่ง โดยทำการติดตั้งพัดลมที่สามารถใช้ในการเป่าหรือดูดอากาศเข้าออกได้และสามารถปรับความเร็วลมในอุโมงค์ได้ (ภาพที่ 7)



ภาพ 7 อุโมงค์จำลองทิศทางลมที่ใช้ในการทดลองในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลองโดยวางฟีโรโมนสังเคราะห์พร้อมกับดักกาวเหนียวไว้ที่ปลายอุโมงค์ด้านที่ติดกับพัดลม จากนั้นปล่อยผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้เข้าไปในอุโมงค์ พร้อมให้น้ำผึ้ง 5% เพื่อใช้เป็นอาหาร และปิดประตูอุโมงค์ทั้งสองด้าน โดยตำแหน่งในการวางอุปกรณ์แสดงดังภาพที่ 7 จากนั้นเปิดพัดลมในลักษณะดูดอากาศออกจากอุโมงค์เพื่อให้ทิศทางของอากาศไหลไปในทิศทางเดียว โดยความเร็วลมขณะดูดที่ปลายอุโมงค์อยู่ที่ 0.5 – 0.7 เมตรต่อวินาที และทำการเปิดไฟในเวลา

กลางวันเพื่อเพิ่มแสงสว่างภายในอุโมงค์ และปิดไฟในเวลากลางคืน จากนั้นทำการสังเกตปฏิกิริยาของประชากรผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้ที่ปล่อยเข้าไป



ภาพ 8 ตำแหน่งการจัดวางอุปกรณ์ภายในอุโมงค์

ส่วนการทดลองในแปลงเพาะปลูก ได้ทำการทดลองในแปลงเพาะปลูกผักกวางตุ้งกะหล่ำของเกษตรกรที่ถูกหนอนใยผักทำลายผลผลิต โดยการนำแผ่นกาวพร้อมฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนต่าง ๆ ไปวางในแปลง โดยแต่ละกับดักต้องวางห่างกันมากกว่า 10 เมตร ขึ้นไป (ภาพที่ 9) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันในการดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้



ภาพ 9 ตัวอย่างการวางกับดักในแปลงเพาะปลูก

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพในการดึงดูดของฟีโรโมนสังเคราะห์แบบ 2 ส่วนผสม (binary blend)

ทำการผสมสารฟีโรโมนสังเคราะห์ระหว่าง Z-11-hexadecenal:Z-11-hexadecenyl acetate ในอัตราส่วน 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80 และ 10:90 ผสมกับ BHT ปริมาณ 100 มิลลิกรัม จากนั้นนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ทำการบันทึกผลการทดลองทุก 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักที่ติดภายในกับดัก ควบคู่กับการทดลองในแปลงเพาะปลูกพืชวงศ์กะหล่ำเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการดึงดูดของผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบเพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

การทดลองที่ 2 การทดสอบประสิทธิภาพในการดึงดูดของฟีโรโมนสังเคราะห์แบบ 3 ส่วนผสม (tertiary blend)

ทำการผสมสารฟีโรโมนสังเคราะห์ระหว่าง Z-11-hexadecenal:Z-11-hexadecenyl acetate: Z-11-hexadecen-1-ol ในอัตราส่วน 90:10:1, 80:20:1, 70:30:1, 60:40:1, 50:50:1, 40:60:1, 30:70:1, 20:80:1 และ 10:90:1 ผสมกับ BHT ปริมาณ 100 มิลลิกรัม จากนั้นนำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ทำการบันทึกผลการทดลองทุก 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักที่ติดภายในกับดัก ควบคู่กับการทดลองในแปลงเพาะปลูกพืชวงศ์กะหล่ำเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการดึงดูดของผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

การทดลองที่ 3 ทดสอบปริมาณสารฟีโรโมนสังเคราะห์ที่เหมาะสม

หลังจากทราบถึงอัตราส่วนที่สามารถดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผักเพศผู้ได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 ปรับอัตราส่วนเรียบร้อยแล้วแบ่งให้ได้ปริมาณ 1, 10, 25, 50, 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม นำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมนทำการบันทึกผลการทดลองทุก 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักที่ติดภายในกับดัก ควบคู่กับการทดลองในแปลงเพาะปลูกพืชวงศ์กะหล่ำเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการดึงดูดของผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

การทดลองที่ 4 การทดสอบวัสดุที่มีคุณสมบัติช่วยชะลอการระเหยของสารฟีโรโมนสังเคราะห์

โดยการนำสารที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 3 มาทำการทดลองกับวัสดุที่มีคุณสมบัติช่วยชะลอการระเหย ได้แก่ celite, glycerol, ดินเบา (diatomaceous earth, DE) และ liquid paraffin ซึ่งสารที่ทำการคัดเลือกดังกล่าวมีคุณสมบัติในการดูดซับสารเคมีได้ดีและไม่ทำให้องค์ประกอบของสารเคมีเปลี่ยนแปลง และสามารถหาได้ง่าย นำไปทดสอบในห้องปฏิบัติการ เปรียบเทียบประสิทธิภาพกับผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ทำการบันทึกผลการทดลองทุก 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักที่ติดภายในกับดัก ควบคู่กับการทดลองในแปลงเพาะปลูกพืชวงศ์กะหล่ำเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพในการดึงดูดของผลิตภัณฑ์กับดักฟีโรโมน ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของฟีโรโมนสังเคราะห์ในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

การทดลองที่ 5 การทดสอบรูปแบบกับดักที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ร่วมกับสารฟีโรโมนสังเคราะห์

ทดสอบและเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดึงดูดของรูปแบบกับดักที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผักระหว่างกับดักแบบ delta trap และ กับดักแบบ wing trap โดยใช้ผลิตภัณฑ์ดักจับผีเสื้อหนอนใยผักในการทดสอบ นำไปทดสอบในแปลงเพาะปลูก ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของรูปแบบของกับดักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผัก

**การทดลองที่ 6 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้สารฟีโรโมนสังเคราะห์ร่วมกับ
กับดักรูปแบบต่างๆ**

ทำการทดสอบโดยการสารฟีโรโมนสังเคราะห์ร่วมกับการใช้กับดักระหว่าง delta trap หรือ wing trap ที่ถูกคัดเลือกจากการทดลองที่ 5 ในสภาพแปลงเพาะปลูก โดยใช้ สารฟีโรโมนสังเคราะห์ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 3 นำไปทดสอบในแปลงเพาะปลูก ระยะห่างระหว่างกับดักแต่ละอันวางห่างกัน 10 เมตร และ ทำการบันทึกผลการทดลองทุก 1 วัน เป็นระยะเวลา 14 วัน โดยทำการตรวจนับจำนวนผีเสื้อหนอนใยผักเฉพาะเพศผู้ที่ติดภายในกับดัก เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณเชิงเปรียบเทียบให้ทราบถึงประสิทธิภาพของรูปแบบของกับดักที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการดึงดูดผีเสื้อหนอนใยผัก