

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาของหนอนชอนใบส้ม *P. citrella*

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีววิทยาของหนอนชอนใบส้มบนต้นกล้าส้ม โชกุน อายุ 10 เดือน จำนวน 40 ต้น ซึ่งปลูกในถุงเพาะชำสี่ด้านขนาด 24x30 เซนติเมตร ภายในโรงเรือนเลี้ยงแมลงชั่วคราว (ภาพที่ 3) บริเวณแปลงทดลอง ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมีขั้นตอนการดำเนินการทดลอง ดังนี้

1.1 เก็บยอดส้มที่มีดักแด้ของหนอนชอนใบส้มจากแหล่งที่มีการระบาด แบ่งใส่ถุงพลาสติก ขนาด 12.5 x 25 เซนติเมตร ให้ความชื้นในถุงโดยใส่สำลีชุบน้ำพ่นก้านยอดส้ม ทำให้ถุงพลาสติกโป่งแล้วมัดถุงวางไว้ใต้แสงไฟฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence) ขนาด 40 วัตต์ จำนวน 4 หลอด ระยะห่างประมาณ 2 เมตร ผีเสื้อจะฟักออกมาในตอนเช้า คัดเลือกผีเสื้อเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 200 ตัว (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 100 ตัว) นำไปปล่อยในโรงเรือนชั่วคราว ซึ่งมีต้นกล้าส้มอยู่ในเลี้ยงผีเสื้อด้วยน้ำฝ่ำ 15 เปอร์เซ็นต์ชุบสำลีหรือกระดาษซับวางไว้ตามจุดต่างๆใกล้ต้นกล้าส้มภายในโรงเรือน ผีเสื้อจะผสมพันธุ์และวางไข่บนใบอ่อนของต้นกล้าส้ม วิธีการเลี้ยงหนอนชอนใบส้มดังกล่าว ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Smith and Hoy (1995) และ รุจ มรกต (2541ข)

1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแมลง โดยการนำแมลงระยะไข่ ระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยของหนอนชอนใบส้มมาศึกษารูปร่างลักษณะภายนอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พร้อมถ่ายภาพประกอบ

1.3 การศึกษาชีววิทยาของแมลง จากข้อ 1.1 เมื่อผีเสื้อผสมพันธุ์และวางไข่บนใบอ่อนของต้นกล้าส้ม หนอนจะฟักออกจากไข่และพบรอยชอนของหนอนบนใบ สุ่มใบอ่อนที่พบการทำลายของหนอนชอนใบส้ม จำนวน 100 ใบ ทำเครื่องหมายบนใบส้มที่ถูกทำลายโดยติดป้ายพลาสติกกำกับ (ภาพที่ 4) บันทึกการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ระยะเวลาการเจริญเติบโต ลักษณะการทำลาย และพฤติกรรมของแมลงในระยะต่างๆ ดังนี้

1.3.1 ระยะหนอน

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและระยะการเจริญเติบโตของหนอนโดยสุ่มเลือกใบอ่อนที่พบการทำลายของหนอน จำนวน 5 ใบ (สุ่มจากใบอ่อนที่ทำเครื่องหมายไว้ จำนวน 100 ใบ ในข้อ

ภาพที่ 3 สภาพของโรงเรียนเลี้ยงแมลงแบบชั่วคราว

ภาพที่ 4 การทำเครื่องหมายบนใบส้มที่มีการทำลายของหนอนชอนใบส้มโดยการติดป้ายพลาสติก
กำกับ

1.3) และติดตามผลการเจริญเติบโตของหนอนในครั้งต่อไป โดยสุ่มเลือกใบอ่อนที่พบการทำลาย (จากใบที่ทำเครื่องหมายไว้ในส่วนที่เหลือ) ครั้งละ 5 ใบ ทุก 24 ชั่วโมง จนหนอนเข้าดักแด้ทั้งหมด บันทึกการเปลี่ยนแปลงของหนอนและวัดความกว้างของหัวกระโหลก และยืนยันผลการศึกษา โดยใช้ Dyar's rule (Wigglesworth, 1974) ตลอดจนบันทึกลักษณะการทำลาย และพฤติกรรมของหนอนในแต่ละวัย

1.3.2 ระยะดักแด้

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ระยะเวลาการเจริญเติบโต และ พฤติกรรมการเข้าดักแด้ของแมลงที่ได้จากการสุ่ม ในข้อ 1.3.1

1.3.3 ระยะตัวเต็มวัยและระยะไข่

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง ระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงในระยะไข่และตัวเต็มวัย ติดตามและบันทึกพฤติกรรมของตัวเต็มวัยในการกินอาหาร การดำรงชีวิต การผสมพันธุ์ และการวางไข่

สำหรับการศึกษาความสามารถในการวางไข่ โดยการปล่อยผีเสื้อเพศผู้และเพศเมีย จำนวน 20 ตัวต่อกรง (เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 10 ตัว) นำไปปล่อยในกรงตาข่ายขนาด 80x80x90 เซนติเมตร ซึ่งมีต้นกล้าส้มที่มียอดอ่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตรอยู่ภายใน 1 ต้นต่อกรง จำนวน 4 กรง เลี้ยงผีเสื้อด้วยน้ำผึ้ง 15 เปอร์เซ็นต์ซุบสำลีหรือกระดาษซับวางไว้ตามจุดต่างๆ ใกล้ต้นกล้าส้มภายในกรง ผีเสื้อจะผสมพันธุ์และวางไข่บนใบอ่อนของต้นกล้าส้ม ทำการเปลี่ยนต้นกล้าทุกวันจนผีเสื้อตายหมด ตรวจนับจำนวนไข่ในแต่ละวัน และคำนวณความสามารถในการวางไข่ของตัวเต็มวัย

2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงที่มีต่ออัตราการตายของหนอนชอนใบส้ม *P. citrella*

ในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.1 การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงที่มีต่ออัตราการตายของหนอนชอนใบส้ม ดำเนินการโดยใช้หนอนวัยที่ 2 ทำการทดสอบพิษของสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆในห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่อุณหภูมิ 27.30 ± 2.42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 81.46 ± 3.75 เปอร์เซ็นต์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD)

2.2 เตรียมสารฆ่าแมลงที่ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง (treatment) และชุดควบคุม (control) ไม่ใช้สาร อีก 1 กรรมวิธี โดยใช้ความเข้มข้นหรืออัตราการใช้ของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิด ดังนี้

2.2.1 สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย aza 0.1% ความเข้มข้น 5 มล./ลิตร
(ขวัญชัย สมบัติศิริ และพรชัย อานันท์นิตย์, 2535)

2.2.2 น้ำมันจากเมล็ดสะเดาข้าง¹ 100% ความเข้มข้น 90 มล./ลิตร

2.2.3 น้ำมันปิโตรเลียม 83.9 % EC (DC Tron Plus[®]) ความเข้มข้น 2.50 มล./ลิตร
(กองกัญ และสัตววิทยา, 2543)

2.2.4 imidacloprid 10 % SL (Confidor[®]) ความเข้มข้น 0.40 มล./ลิตร
(กองกัญและสัตววิทยา, 2543)

2.2.5 cyfluthrin 5% EC (Baythroid[®]) ความเข้มข้น 0.25 มล./ลิตร
(ชลิดา อุณหวุฒิ และคณะ, 2535)

2.2.6 carbosulfan 20 % EC (Posse[®]) ความเข้มข้น 2 มล./ลิตร
(ขวัญชัย สมบัติศิริ, 2540)

2.2.7 ชุดควบคุม (control) ไม่ใช้สาร

1.3 เตรียมใบอ่อนส้มที่มีหนอนชอนใบส้มวัย 2 ที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือนเลี้ยงแมลง ชั่วคราว จำนวน 175 ตัว (แต่ละชุดการทดลองแบ่งออกเป็น 5 ซ้ำๆ ละ 5 ตัว)

1.4 การทดสอบพิษของสารฆ่าแมลงโดยการหยดสารฆ่าแมลงลงบนรอยชอนเหนือส่วนอกของตัวหนอนด้วยเครื่อง microapplicator (ภาพที่ 5) ใช้สารละลาย 1 หยดๆ ละ 0.1 ไมโครลิตรต่อหนอน 1 ตัว จากนั้นนำใบอ่อนส้มที่ทดสอบแล้วใส่ลงใน petri dish ตรวจนับจำนวนและเปอร์เซ็นต์การตายของหนอน เมื่อเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง

2.5 นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย แบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) (Saffer, 1985)

¹ อ้างอิงตามการทดลองของทิวา บุตรผา (2543) โดยมีส่วนผสมที่สำคัญ ดังนี้ น้ำมันจากเมล็ดสะเดาข้าง อัตรา 90 มล.ต่อลิตร สาร polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80[®]) เป็น emulsifier อัตราส่วน 5 % โดยปริมาตร และ polyacyl alkoxyate (APSA[®]) เป็นสารเพิ่มประ

ประสิทธิภาพ อัตราส่วน 3 % โดยปริมาตร

ภาพที่ 5 เครื่อง microapplicator ที่ใช้ทดสอบพิษของสารฆ่าแมลง

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงที่มีผลต่อการลดปริมาณหนอนชอนใบส้ม *P. citrella* ในสภาพโรงเรือน

ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการควบคุมหนอนชอนใบส้ม โดยใช้ต้นกล้าส้ม โชกุน วิธีการปลูกส้ม จำนวนผีเสื้อตัวเต็มวัยที่ปล่อย วิธีการเลี้ยง และสถานที่ในการทดลอง เช่นเดียวกับในข้อ 1 วางแผนการทดลองแบบ CRD การทดลองมี 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ต้นส้มจำนวน 1 ต้น ดำเนินการทดลองโดยมีขั้นตอน ดังนี้

3.1 ก่อนการฉีดพ่นสารฆ่าแมลง สุ่มเลือกยอดอ่อนที่พบการทำลายของหนอนชอนใบส้มวัย 2 จำนวน 10 ยอดต่อต้น จากต้นส้ม 35 ต้น ผูกป้ายพลาสติกกำกับในแต่ละยอด พร้อมกับบันทึกจำนวนแมลงที่พบ

3.2 เตรียมสารฆ่าแมลงที่ประกอบด้วย 6 ชุดการทดลอง และชุดควบคุมอีก 1 กรรมวิธี ความเข้มข้นหรืออัตราสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ เช่นเดียวกับวิธีการ ข้อ 2.2

3.3 ทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง ตามชุดการทดลองต่างๆในข้อ 3.2 แต่ละชุดการทดลอง ฉีดพ่นสารด้วยเครื่องฉีดพ่นแบบสับโยกสะพายหลัง (knapsack sprayer)

3.4 ตรวจสอบจำนวนการตายของหนอนด้วยแว่นขยายกำลังขยาย 10 เท่า หลังการฉีดพ่นสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดแล้ว 2 3 และ 4 วันตามลำดับ สังเกตการเปลี่ยนแปลงและคำนวณการลดปริมาณหนอน นำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ DMRT โดยใช้โปรแกรม SAS

4. การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงที่มีผลต่อการลดปริมาณหนอนชอนใบส้ม *P. citrella* ในสภาพแปลงเกษตรกร

ดำเนินการทดลองที่สวนส้มโชกุนของเกษตรกร ตำบลด่านนอก อำเภอสะเดา จังหวัดสงขลา (ภาพผนวกที่ 1) โดยใช้ส้มอายุ 1 ปี ปลูกแบบยกร่อง ระยะระหว่างร่อง 6 เมตร ระยะระหว่างต้น 1.5 เมตร (ภาพที่ 6) สุ่มเลือกแปลงทดลองจำนวน 28 ร่องๆ ละ 20 ต้น วางแผนการทดลองแบบสุ่มเลือก RCBD (Randomized Complete Block Design) มี 7 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ต้น รวมต้นส้มที่ใช้ในการทดลอง 280 ต้น (ภาพที่ 7) การทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการควบคุมหนอนชอนใบส้ม โดยฉีดพ่นสารฆ่าแมลง 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน การดำเนินการทดลองปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้

4.1 ก่อนฉีดพ่นสารฆ่าแมลง ตรวจสอบจำนวนยอดอ่อนส้มทั้งหมด (มีใบอ่อนอย่างน้อย 4 ใบต่อยอด) จากต้นส้มจำนวน 280 ต้น บันทึกจำนวนยอดแต่ละต้นและจำนวนใบในแต่ละยอด ตลอดจนตรวจสอบการทำลายของหนอนชอนใบส้มโดยติดป้ายพลาสติกสีแดงสำหรับยอดส้มที่ถูกทำลาย และป้ายพลาสติกสีเหลืองสำหรับยอดส้มที่ไม่ถูกทำลาย (ภาพที่ 8)

4.2 สุ่มเลือกยอดอ่อนที่มีหนอนชอนใบทำลาย 40 ยอดต่อชุดการทดลองในแต่ละซ้ำ รวมยอดส้มที่สุ่มจากทุกซ้ำ ทุกชุดการทดลอง จำนวน 1,120 ยอด ผูกป้ายพลาสติกสีม่วงกำกับ

4.3 สุ่มตัดยอดอ่อนที่มีป้ายพลาสติกสีม่วงกำกับ จำนวน 2 ยอดต่อต้น (20 ยอดต่อชุดการทดลอง ในแต่ละซ้ำ) รวมยอดส้มจากทุกซ้ำ จำนวน 560 ยอด บรรจุยอดอ่อนแต่ละยอดในถุงพลาสติก ขนาด 9X12 เซนติเมตร แล้วเก็บในกล่องโฟมเก็บความเย็น ขนาด 80x45x60 เซนติเมตร นำไปตรวจนับจำนวนตัวหนอน จำนวนใบที่เสียหาย (ใบที่พบหนอนและดักแด้ทำลาย) และจำนวนแตนเบียนในแต่ละยอดด้วยกล้องจุลทรรศน์

4.4 เตรียมสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ และ ชุดควบคุม เช่นเดียวกับข้อ 2.2 ส่วนวิธีการฉีดพ่นใช้วิธีการเช่นเดียวกับข้อ 3.3

4.5 ตัดยอดอ่อน ที่มีป้ายพลาสติกสีม่วงผูกกำกับที่เหลือ จำนวน 20 ยอด (จากทุกซ้ำของแต่ละชุดการทดลอง) หลังการฉีดพ่นสาร 4 วัน โดยบรรจุยอดอ่อนแต่ละยอดในถุงพลาสติก ขนาด 9 X 12 เซนติเมตร แล้วเก็บในกล่องเก็บความเย็น ตรวจสอบจำนวนตัวหนอน จำนวนใบที่เสียหาย และจำนวนแตนเบียน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คำนวณปริมาณแมลงที่ลดลง ความเสียหายของใบที่แมลงทำลาย ตลอดจนเปอร์เซ็นต์การเบียนของแตนเบียน

4.6 ทำการทดลองซ้ำในข้อ 4.1 - 4.5 สำหรับการฉีดพ่นสารฆ่าแมลงครั้งที่ 2 และ 3

4.7 บันทึกอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝนตลอดช่วงการทดลอง

4.8 นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ DMRT โดยใช้โปรแกรม SAS

ข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณน้ำฝนตลอดการทดลองได้จากสถานีตรวจอากาศเกษตรคองส์ ศูนย์วิจัยการยางสงขลา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา (ภาพผนวกที่ 2-4)

ภาพที่ 6 สภาพสวนส้มโชกุนของเกษตรกรที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลง

ภาพที่ 7 แผนผังสวนส้มที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในสภาพแปลงเกษตรกร

ภาพที่ 8 ลักษณะการติดป้ายพลาสติกกำกับบนยอดอ่อนส้มสำหรับยอดที่มีการทำลายและ
ไม่มีการทำลายของหนอนชอนใบส้ม

