บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การสำรวจชนิดแมลงศัตรูบัวบก

3.1.1 สำรวจแมลงศัตรูบัวบกจากแปลงเกษตรกรที่ปลูกบัวบก ในจังหวัดนครปฐม นนทบุรี และกรุงเทพ

3.1.2 เครื่องมือและวิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล เครื่องมือที่ใช้เก็บข้อมูล คือ สวิง เครื่องดูด และการเก็บตัวอย่างแมลงที่เข้าทำลาย ทุกเดือนในแปลงบัวบก

3.1.3 การจำแนกตัวอย่างแมลงที่ได้มาทำการจำแนกชนิดภายใต้กล้องสเตอริโอ ไมโครสโคป

3.2 การศึกษาชีววิทยาและการเปลี่ยนแปลงประชากรหนอนกระทู้บัวบกและหนอน *Diasemia accalis*

สำรวจการระบาดและศึกษาลักษณะการเข้าทำลายของแมลงศัตรูบัวบก ที่พบคือหนอนกระทู้บัวบก และหนอน *D. accalis* ที่พบในแปลงทดลองที่ไม่มีการใช้สารเคมี

3.2.1 การศึกษาชีววิทยาหนอนกระทู้บัวบกและหนอน *D. accalis* โดยเก็บตัวอย่างแมลงจากแปลงทดลองมาทำการศึกษาวงจรชีวิตดังนี้

1. เก็บตัวอย่างหนอนกระทู้บัวบก และหนอน *D. accalis* จากแปลงทดลองนำมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกใส ขนาด 7.0 x 9.5 x 4.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร กล่องละ 1 ชนิด โดยเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ให้ใบบัวบกสดเป็นอาหาร

2. เมื่อเป็นตัวเต็มวัย ให้เลี้ยงตัวเต็มวัยรวมกันโดยแยกชนิดกันในกล่องพลาสติกใส ขนาด 18.5 x 27.5 x 10.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำบัวบกที่ปลูกในกระถางขนาดเล็ก มาวางไว้ภายในกล่อง และนำน้ำผึ้งผสมน้ำกลั่นชุบสำลี ใส่ถ้วยพลาสติกใสวางไว้ภายในกล่องเพื่อเป็นอาหารให้แก่ตัวเต็มวัย จนกระทั่งวางไข่

3. ศึกษาลักษณะการวางไข่ ระยะเวลาการฟักออกจากไข่ และแยกตัวหนอนที่ฟักออกจากไข่ใหม่ๆ ไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกใส ขนาด 6.0 x 6.0 x 3.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร กล่องละ 1 ตัว ชนิดละ 10 กล่อง บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตของตัวหนอนในแต่ละวัย จนกระทั่งเข้าดักแด้และเป็นตัวเต็มวัย

3.2.2 การเปลี่ยนแปลงประชากรหนอนกระทู้บัวบกและหนอน *Diasemia accalis* สำรวจประชากรแมลงในแปลงบัวบกที่ไม่มีการใช้สารเคมีปราบศัตรูพืชโดยใช้สวิงโฉบ นำแมลงที่พบมาจำแนกชนิด จดบันทึกจำนวนแมลงศัตรูพืชและชนิดแมลงศัตรูธรรมชาติในแต่ละสัปดาห์ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2557

3.3 การทดสอบความเป็นพิษของบีทีและสารสกัดจากสะเดาต่อหนอนกระทู้บัวบก

1. วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม ทดสอบความเป็นพิษโดยการกิน ด้วยวิธีชุบใบ (leaf dipping method) โดยใช้ใบบัวบกขนาดเท่าๆกัน

2. นำใบบัวบกจุ่มลงในสารเคมีที่เตรียมไว้ตามความเข้มข้นที่กำหนดนาน 10 วินาที ผึ่งให้ใบแห้ง ใส่หนอนกระทู้บัวบก ลงในกล่องพลาสติกสำหรับทดสอบ จำนวน 5 ตัว ต่อ 1 ซ้ำ ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ 10 ซ้ำ ต่อ 1 การทดลอง ใช้ชุดควบคุม 5 ซ้ำต่อการทดลอง 1 วัย บันทึกอัตราการตายของหนอนกระทู้บัวบก หลังทำการทดลอง 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

3.นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของสารที่ทำให้แมลงตาย 50 และ 90 % (LC_{50} และ LC_{99}) โดยใช้โปรแกรม SPSS Probit analysis

3.4 การป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูบัวบกโดยวิธีผสมผสาน

3.4.1 วัสดุและอุปกรณ์

1. หนอนกระทู้บัวบก *Z. ochreata*
2. หนอน *D. accalis*
3. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* var. aizawai
4. สารสกัดสะเดา
5. สารสกัดสะค้าน
6. น้ำกลั่น
7. สารจับใบ
8. แอลกอฮอล์
9. น้ำหวาน
10. ใบบัวบกสด
11. สำลี
12. ปิเปต
13. แท่งแก้วคนสาร
14. บิกเกอร์
15. หัวสเปรย์พ่นสาร
16. เครื่องบดสาร
17. ตาชั่งดิจิตอล (OHAUS รุ่น Explorer)
18. กล้องถ่ายรูปดิจิตอล (FINEPIX รุ่น JV 150) FUJIFILM
19. กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคป (Nikon รุ่น DS-L2)
20. กล่องพลาสติกใส ขนาด 7.0 x 9.5 x 4.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร , 18.5 x 27.5 x 10.5

ลูกบาศก์เซนติเมตร และ 6.0 x 6.0 x 3.0 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3.4.2 วิธีการดำเนินการ

การป้องกันกำจัดหนอนผีเสื้อศัตรูบัวบกโดยวิธีผสมผสาน มีแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) มี 5 กรรมวิธี 10 ซ้ำดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 วิธีควบคุม ทำการฉีดพ่นด้วยน้ำ

กรรมวิธีที่ 2 วิธีการใช้สารสะค้านในแอลกอฮอล์อัตรา 300 มล./ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 วิธีการใช้สารสะเดา อัตรา 80 มล./ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 วิธีการใช้สาร Bt อัตรา 80 มล./ น้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 วิธีการป้องกันแบบผสมผสาน แบบ bio-intensive integrated pest management โดยการใช้สารประเภท bio-insecticides ร่วมกับวิธีกลและวิธีเขตกรรม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณแมลงศัตรูพืชและความเสียหายที่เกิดขึ้น โดยเมื่อพบแมลงศัตรูพืชในปริมาณน้อย จะใช้วิธีเขตกรรม ถ้ามีหนอนผีเสื้อ มากกว่า 5 ตัว/กระถาง จะทำการฉีดพ่นด้วย Bt ในอัตรา 80 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เมื่อเจอด้วงหมัด เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ ให้ฉีดพ่นด้วยสารสกัดสะเดาและสารสกัดจากสะค้าน

การทดลองนี้ดำเนินการที่แปลงทดลอง สวนหลวง ร.๙ แขวงหนองบอน เขตประเวศ กรุงเทพฯ โดยทำการทดลอง 3 ครั้ง โดยมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

3.4.3 วิธีการทดลอง

1. คัดต้นพันธุ์บัวบกที่มีไหลติดมาด้วย และมีขนาดต้นเท่าๆกัน

2. ปลูกบัวบกลงในกระถางขนาด 10 นิ้ว ซึ่งมีวัสดุปลูกคือ ดิน ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 กระถางละ 4 ต้น รดน้ำให้ชุ่มทุกวัน

3. เมื่อบัวบกเจริญเติบโตสม่ำเสมอกันจึงเริ่มทำการพ่นสารที่ใช้ทดสอบ ตามแผนการทดลองในกรรมวิธีที่ 1-5 พ่นสารที่ใช้ทดสอบทุก 7 วัน รวมจำนวนทั้งหมด 8 ครั้ง และใช้สารจับใบร่วมด้วยทุกวิธีการ กรรมวิธีที่ 1 สารทดลองเป็นน้ำ ส่วนวิธีการป้องกันกำจัดแบบผสมผสานจะใช้วิธีเขตกรรมและวิธีกลร่วมกับการใช้สารชีวภาพ ขึ้นอยู่กับปริมาณหนอนผีเสื้อกัดกินใบและความเสียหายที่เกิดขึ้น

4. การเก็บข้อมูล ทำการตรวจนับจำนวนแมลงก่อนพ่นสารทดสอบครั้งแรก และหลังพ่นการสารที่ทดสอบ 1 วัน

5. การวิเคราะห์ข้อมูลและผลผลิตบัวบกในแต่กรรมวิธี โดยนำข้อมูลมาเปรียบเทียบด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05%