

### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินการวิจัย

#### 1. อุปกรณ์และสารเคมี

##### 1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัดสารจากพืช

- เครื่องชั่งแบบหยาบ
- เครื่องบดเมล็ด
- ถังพลาสติก
- น้ำกลั่น

##### 1.2 แมลงที่ใช้ในการทดลอง

- เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* Stal)

##### 1.3 พืชที่ใช้ในการทดลอง

###### 1.3.1 พืชที่นำมาสกัด

- เมล็ดสะเดาไทย (*Azadirachta siamensis* Valuton) (เก็บตัวอย่างจากอำเภอโกสุมพิสัย จังหวัดมหาสารคาม)
- หนอนตายหยาก (*Stemona tuberosa* Lour) (เก็บตัวอย่างจาก อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น)

###### 1.3.2 พืชที่ใช้เลี้ยงแมลง

- ข้าวพันธุ์ Taichung Native 1

###### 1.3.3 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในแปลงเกษตรกร

- พันธุ์ชัยนาท 1

##### 1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

###### 1.4.1 สารเคมีและสารฆ่าแมลง

- cypermethrin 35% W/V EC (ดีทรอย์ 35)
- lambda-cyhalothrin 2.5% W/V CS (คาราเต้)
- สารจับใบเลทรอน ซีเอส-7<sup>®</sup>

###### 1.4.2 ปุ๋ยเคมี

- ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0)
- ปุ๋ยสูตร 16-20-0

## 1.5 เครื่องมือและวัสดุอื่น ๆ

### 1.5.1 อุปกรณ์ในการเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

- กระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร และดินสำหรับปลูกข้าว
- กรงสำหรับฟักไข่ เป็นกรงไม้บุตาข่าย ขนาด 90x90x105 เซนติเมตร และกรงอะลูมิเนียม ขนาด 50x50x100 เซนติเมตร
- กรงสำหรับให้แมลงวางไข่ เป็นกรงพลาสติกไมลาร์ (mylar cage) ขนาด 30x25x60 และ 50x50x75 เซนติเมตร ด้านบนบุด้วยผ้าตาข่าย และ ประตูกลมบุด้วยผ้าตาข่ายกันแมลงหนี
- กรงพลาสติกทรงกระบอก (mylar cage) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร สูง 30 และ 45 เซนติเมตร ด้านบนปิดด้วยผ้าตาข่าย และ หน้าต่างด้านข้างและปิดด้วยผ้าตาข่าย
- ที่ดูดแมลง (aspirator)

### 1.5.2 อุปกรณ์และเครื่องมืออื่น ๆ

- กล้องจุลทรรศน์สองตา
- แวนชยาย
- สวิงโลบแมลง
- กล่องพลาสติกขนาดกว้าง 15 เซนติเมตร ยาว 21 เซนติเมตร
- เครื่องพ่นสารชนิดสูบโยกสะพายหลัง
- ถาดอะลูมิเนียมและถาดพลาสติก
- ถุงผ้าใส่แมลง
- Ethyl acetate ใช้สำหรับฆ่าแมลง
- ผ้าตาข่าย พู่กัน ปากคีบ และกรรไกร
- เครื่อง Turn-table spray

## 2. วิธีดำเนินการ

### 2.1 การเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เตรียมข้าวพันธุ์ Taichung Native 1 เพื่อเป็นอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน แช่วเมล็ดข้าวในน้ำทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง แล้วเทน้ำทิ้งนำไปเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1-2 วัน จากนั้นนำเมล็ดไปเพาะในกระบะดิน เมื่อกล้าข้าวอายุ 10-14 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และเมื่อกล้าข้าวอายุ 25-30 จึงย้ายปลูกในกระถางดินเผา จำนวน 3 ก่อต่อกระถาง เมื่อข้าวตั้งตัวจึงใส่ปุ๋ยอีกครั้ง จนกระทั่งข้าวอายุ 40-45 วัน จึงนำไปใช้เลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การปลูกข้าวกระทำอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เพียงพอสำหรับการเลี้ยงขยายพันธุ์เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตลอดการทดลอง

การเลี้ยงขยายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ใช้ข้าวอายุ 25-30 วันหลังปักดำ ลอกกาบใบนอกสุดออก ใส่ในกรงสำหรับให้แมลงวางไข่ กรงละ 3 กระถาง ใส่เข้าไปในกรงเลี้ยงแมลง ขนาด 50x50x100 เซนติเมตร ใช้ที่ดูดแมลง ดูดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยเพศเมียที่พร้อมจะวางไข่ปล่อยลงไป 20-30 ตัวต่อกระถาง ทิ้งให้แมลงวางไข่ 48 ชั่วโมง จึงทำการเปลี่ยนกระถางข้าวเข้าไปใหม่ ต้นข้าวที่มีไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะนำไปแยกเลี้ยงในกรงใหม่รอให้ไข่ฟักออกเป็นตัวอ่อนซึ่งมีอายุใกล้เคียงกัน ทำการเปลี่ยนกระถางข้าวใหม่ทุก ๆ 5 วัน

### 2.2 การเตรียมสารสกัดจากพืชแบบง่าย

นำเมล็ดสะเดานำมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกให้เหลือแต่เนื้อในที่มีสีเขียว จากนั้นนำมาบดละเอียด และนำส่วนรากของหนอนตายหยากมาล้างและหั่นบาง ๆ ผึ่งให้แห้ง ปั่นให้ละเอียดเช่นกัน แล้วนำตัวอย่างพืชทั้ง 2 ชนิด มาสกัดด้วยน้ำกลั่นตามอัตราส่วนที่ต้องการ โดยการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ใช้ผ้าขาวบางกรองเศษผงออก ก่อนนำไปผสมกับน้ำฉีดพ่นที่ต้นข้าว

### 3. วิธีการทดลอง

**การทดลองที่ 1** การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากพืชในการควบคุมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนาเกษตรกร

#### 3.1 การเตรียมแปลงข้าว

ปรับพื้นที่แปลงข้าวจากเกษตรกรที่บ้านหัวถนน ซอยบ้านชัยกมล ต. ในเมือง อ. เมือง จ. ชอนแก่น ที่ปลูกข้าวในสภาพนาหว่าน โดยเตรียมดิน ไถตะ ไถแปร พื้นที่ทดลอง และใช้เชือกล้อมรอบแปลงย่อยขนาด 4x5 เมตร (ภาพที่ 6) จำนวน 16 แปลงย่อย แล้วทำการสุ่มกรรมวิธีทั้ง 4 กรรมวิธี ลงในแปลงย่อยตามแบบแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 4 ซ้ำ วางผังแปลงปลูกให้มีขนาดตามแผนผังการทดลอง

กรรมวิธีที่ใช้ทดสอบในฤดูที่ 1 คือ กลุ่มควบคุม (น้ำเปล่า) สารสกัดสะเดา สารสกัดหนอนตายหยาก สารฆ่าแมลง cypermethrin

กรรมวิธีที่ใช้ทดสอบในฤดูที่ 2 คือกลุ่มควบคุม(น้ำเปล่า) สารสกัดสะเดา สารฆ่าแมลง cypermethrin lambda-cyhalothrin



ภาพที่ 6 แปลงปลูกข้าว

### 3.2 วิธีการพ่นสารในแปลง

ผสมสารสกัดกับน้ำในระดับความเข้มข้น 5% และผสมสารจับใบเลทรอน ซีเอส-7<sup>®</sup> สารฆ่าแมลงทั้ง 2 ชนิด ใช้ตามอัตราที่แนะนำ พ่นโดยใช้เครื่องสูบลอยแบบสะพายหลัง (ภาพที่ 7) ทำการพ่นทุก 7 วัน พ่นตามกรรมวิธีที่กำหนด มีกรรมวิธีที่พ่นด้วยน้ำกลั่นเป็นตัวควบคุมและสารฆ่าแมลงเป็นตัวเปรียบเทียบ



ภาพที่ 7 การพ่นสารในแปลงข้าว

### 3.3 การตรวจนับแมลง

#### การนับโดยตรงที่โคนกอข้าว

การสุ่มนับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มวนเขียวดูดไข่ และแมงมุม (แมงมุมสุนัขป่า แมงมุมเขี้ยวยาว และแมงมุมตาหกเหลี่ยม) ในแปลงข้าว โดยสุ่มตรวจนับ 10 จุด ตามแนวทแยงมุม 1 ด้าน เว้นระยะห่างจากจุดตรวจนับเท่า ๆ กัน เริ่มตรวจนับเมื่อข้าวมีอายุได้ 40 วันทั้งก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 1 วัน ทำการตรวจนับทุกสัปดาห์ จนกระทั่งข้าวออกดอก

#### การใช้สวิงโอบ

การทดลองนี้ใช้สวิงโอบแมลงขนาดปากกว้าง 30 เซนติเมตร และความลึกของถุงซึ่งทำด้วยผ้าไนลอนยาวประมาณ 80 เซนติเมตร ด้ามสวิงยาวประมาณ 1 เมตร สุ่มแปลงละ 6 จุด โดยเดินแบบทแยงมุม เว้นระยะห่างระหว่างจุดเท่า ๆ กัน (ภาพที่ 8) นำแมลงที่โอบได้มาตรวจชนิดและนับจำนวนแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติที่สำคัญ เริ่มตรวจนับเมื่อข้าวมีอายุได้ 40 วันทั้งก่อนพ่นสาร 1 วัน และหลังพ่นสาร 1 วัน ทำการตรวจนับทุกสัปดาห์ จนกระทั่งข้าวออกดอก



ภาพที่ 8 การสุ่มแมลงโดยใช้สวิงโอบ

#### 3.4 การดูแลแปลง

การใส่ปุ๋ย ใช้ปุ๋ยแอมโมเนียมฟอสเฟตสูตร 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากที่ข้าวมีอายุได้ 30 วันและใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟตอัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวมีอายุ 60 วัน

การกำจัดวัชพืช ใช้วิธีถอนด้วยมือเมื่อข้าวมีอายุ 30 วัน และ 50 วัน และตามความจำเป็น

การเก็บเกี่ยว เก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่แปลงย่อยขนาด 3x4 เมตร

## การทดลองที่ 2 การศึกษาผลกระทบของสารฆ่าแมลงและสารสกัดจากพืชต่อแตนเบียน ไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่แปลงนาเกษตรกร

การทดลองที่ 2 ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 กระจ่าง กรรมวิธีที่ใช้ทดสอบทั้ง 2 ฤดู และการวางผังแปลงปลูกทำต่อเนื่องจากการทดลองที่ 1

### การทำ egg-trap (ภาพที่ 9)

นำต้นข้าวที่ปลูกในกระจ่างมาทำความสะอาด แคะกาบนอกออก แล้วปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยเพศเมียที่พร้อมวางไข่ลงบนต้นข้าวในกระจ่างนาน 48 ชั่วโมง อยู่ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด 150x300 เซนติเมตร จากนั้นเอาเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออก นำกระจ่างข้าวที่มีไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไปวางไว้ในแปลงข้าวซ้ำละ 3 กระจ่าง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงเก็บกระจ่างข้าวมา ตัดต้นข้าวและทำการผ่าไต้กล้องจุลทรรศน์สองตาเพื่อนับจำนวนไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูก parasitoid เข้าเบียน การนำ egg-trap มาทดสอบที่แปลงข้าวทำการทดลอง 2 ครั้ง คือ ก่อนพ่นสารครั้งแรกและหลังพ่นสารพ่นสารครั้งสุดท้าย

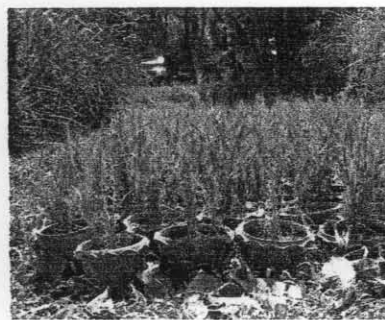
## การทดลองที่ 3 ทดสอบผลกระทบของสารฆ่าแมลงและสารสกัดจากพืชต่อแตนเบียนไข่ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของแปลงนาเกษตรกรที่ไม่ได้ใช้ทดสอบ

การทดลองที่ 3 ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กระจ่าง

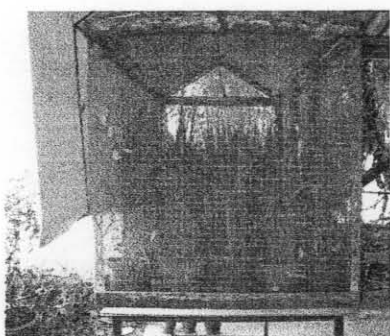
นำ egg-trap มาพ่นด้วยเครื่อง Turn-table spray (ภาพที่ 10,11) ทั้ง 4 กรรมวิธี คือ สารสกัดสะเดา สารฆ่าแมลง cypermethrin และ lambda-cyhalothrin โดยมีน้ำเปล่าเป็นชุดควบคุม ในการพ่นแต่ละครั้งใช้สาร 40 มิลลิลิตร ต่อ 4 กระจ่าง ปล่อยต้นข้าวแห้งพอหมาด แล้วนำไปวางในแปลงปลูกของเกษตรกรที่ไม่ได้ใช้แปลงทดสอบ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงเก็บกระจ่างข้าวมา แล้วทำการตัดต้นข้าวและผ่าต้นข้าวไต้กล้องจุลทรรศน์สองตาเพื่อนับจำนวนไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูก parasitoid เข้าเบียน นำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเบียนไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อเป็นการยืนยันผลให้สอดคล้องกับการนำ egg-trap ไปวางในแปลงทดสอบก่อนและหลังพ่นสาร ว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันหรือไม่



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)

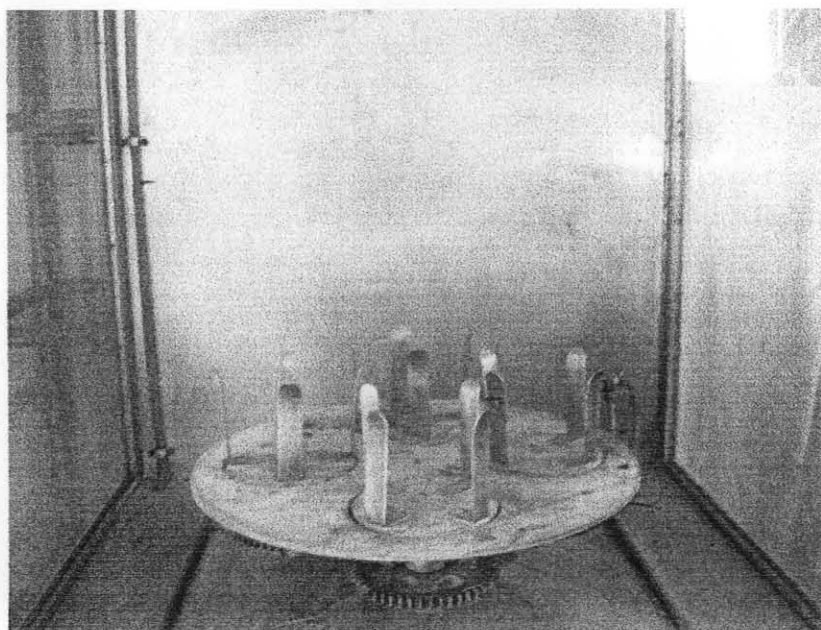


(ฉ)

### ภาพที่ 9 เทคนิคการทำ egg-trap

- (ก) การเลี้ยงเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
- (ค) ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้วางไข่บนต้นข้าว
- (จ) การพ่นสารบนแปลงข้าว

- (ข) การเตรียมต้นข้าว
- (ง) นำ egg-trap นำไปวางที่แปลง
- (ฉ) การผ่าต้นข้าวเพื่อนับไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกเบียน



ภาพที่ 10 เครื่อง Turn-table spray



ภาพที่ 11 การนำ egg-trap มาพ่นสารแต่ละชนิด

#### 4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของข้อมูล โดยนำมาวิเคราะห์ F-test ผลการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีความแตกต่างทางสถิติ นำมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's Multiple Range Test ที่ P เท่ากับ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS Institute, 1985) และนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าประสิทธิภาพ (corrected efficacies) ของสารแต่ละชนิด ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและศัตรูธรรมชาติ โดยใช้โปรแกรม Henderson and Tilton (Henderson and Tilton, 1955) มีสมการดังนี้

ประสิทธิภาพของสาร (%) เท่ากับ

$$1 - \left( \frac{n \text{ ใน Co ก่อนพ่นสาร} \times n \text{ ใน T หลังพ่นสาร}}{n \text{ ใน Co หลังพ่นสาร} \times n \text{ ใน T ก่อนพ่นสาร}} \right) \times 100$$

หมายเหตุ: n = จำนวนแมลง  
Co = แปลงควบคุม  
T = แปลงที่พ่นสาร

#### 5. สถานที่ทำการวิจัย

5.1 เรือนทดลองสารปราบศัตรูพืช ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นสถานที่ใช้เพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

5.2 ห้องปฏิบัติการพิษวิทยาและสิ่งแวดล้อม ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นห้องปฏิบัติการที่ใช้สำหรับเตรียมสารชนิดต่าง ๆ

5.3 แปลงนาของเกษตรกร

#### 6. ระยะเวลาทำการวิจัย

เดือนมีนาคม 2547 - เดือนธันวาคม 2548