

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเตรียมเพื่อการวินิจฉัยชนิด

ทำการเก็บรวบรวมผีเสื้อหนอนกินเปลือกลำต้น ซึ่งฟักออกมาจากกิ่งที่ครอบด้วยตาข่ายไนล่อน จากสวนลำไยบ้านน้ำบ่อหลวง ตำบลน้ำบ่อหลวง อำเภอสันป่าตอง และสวนลำไยแม่เหียะ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงเดือนเมษายน 2541 เลือกเฉพาะผีเสื้อเพศผู้ที่มีลักษณะสมบูรณ์จำนวนทั้งหมด 6 ตัว นำมาจัดรูปร่างอบให้แห้ง และทำสไลด์อวัยวะสืบพันธุ์ นำส่งตัวอย่างแมลงและสไลด์อวัยวะสืบพันธุ์ทั้งหมด ไปทำการวินิจฉัยที่วิทยาศาสตร์ ณ The Natural History Museum ที่ประเทศอังกฤษ

3.2 การศึกษาปริมาณการเข้าทำลายของหนอนกินเปลือกลำต้นบนต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยและต้นลำไยปกติ

ต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยคือต้นลำไยที่มีลักษณะทรงพุ่มไม่สมบูรณ์ ลำต้นมีแคะแกระในบางต้นใบมีสีเขียวซีด จำนวนใบลดลงและขนาดใบลดลง ทำให้สามารถมองเห็นกิ่งก้านในทรงพุ่มชัดเจน (ภาพ 1 และ 2) เลือกพื้นที่ทดลองที่พบต้นลำไยแสดงอาการหงอยรวม 3 พื้นที่ คือ

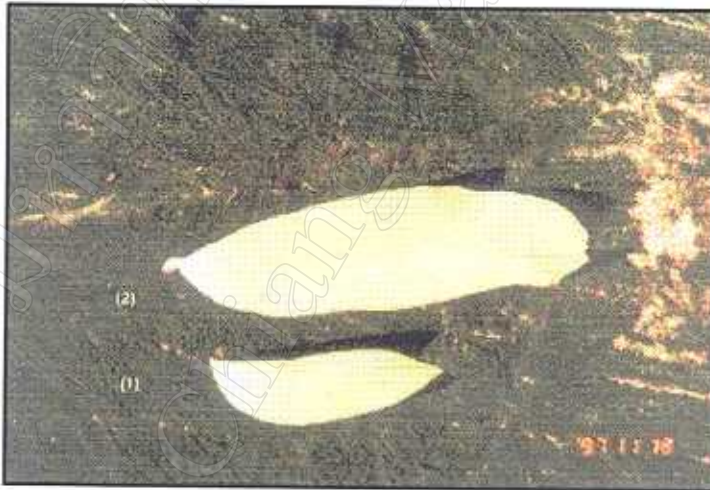
สวนที่ 1 ตั้งอยู่ที่บ้านน้ำบ่อหลวง ตำบลน้ำบ่อหลวง อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ สภาพพื้นที่สวนเป็นที่ดอน ดินมีสภาพแห้งในฤดูแล้ง อายุลำไยประมาณ 5-10 ปี มีพื้นที่ปลูก 15 ไร่ และพบว่าลำไยส่วนใหญ่แสดงอาการหงอย อาจเนื่องจากการไม่มีการบำรุงภายหลังการเก็บเกี่ยว

สวนที่ 2 เป็นสวนลำไยในสถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สภาพสวนเป็นที่ราบติดเชิงเขา มีพื้นที่ปลูก 30 ไร่ ต้นลำไยอายุมากกว่า 20 ปี อาการหงอยอาจเนื่องมาจากลำไยอายุมาก และไม่มีการบำรุงต้นภายหลังการเก็บเกี่ยว

สวนที่ 3 อยู่ที่บ้านป่าเหี้ยว ตำบลอุโมงค์ อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน ต้นลำไยอายุประมาณ 10-15 ปี ลักษณะพื้นที่ปลูกเป็นที่ราบลุ่ม ระดับน้ำใต้ดินตื้น และมีการยกร่อง เพื่อทำการระบายน้ำ มีเนื้อที่ประมาณ 5 ไร่ อาการหงอยของลำไยอาจเกิดจากระบบรากเน่าเสีย เนื่องจากน้ำท่วมขังระบบราก



ภาพ 1 เปรียบเทียบต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย (1) และต้นลำไยปกติ (2)



ภาพ 2 เปรียบเทียบใบลำไยจากต้นลำไยแสดงอาการหงอย (1)
และใบจากต้นปกติ (2)

ทำการสุ่มเลือกต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยจำนวน 50 ต้น ในแต่ละสวน (ภาพ 3, 4 และ 5) ในขณะเดียวกันสุ่มเลือกต้นลำไยปกติจำนวน 30-50 ต้น ในแต่ละพื้นที่ ทำการบันทึกจำนวนหนอนกินเปลือกลำต้น โดยสังเกตจากการที่มีรอยแผลบริเวณผิวเปลือกซึ่งเป็นรอยที่เกิดจากการเข้าทำลายของหนอน และมีมูลของหนอนปนกับขุยเปลือกซึ่งทำเป็นอุโมงค์ยาวเป็นทางคดเคี้ยวบนผิวเปลือก (ภาพ 6) รอยแผลหรืออุโมงค์ที่พบแต่ละครั้งจะบันทึกเป็นการเข้าทำลายของหนอน 1 ตัว นำข้อมูลมาทำการเปรียบเทียบหาความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี Student's *t* test

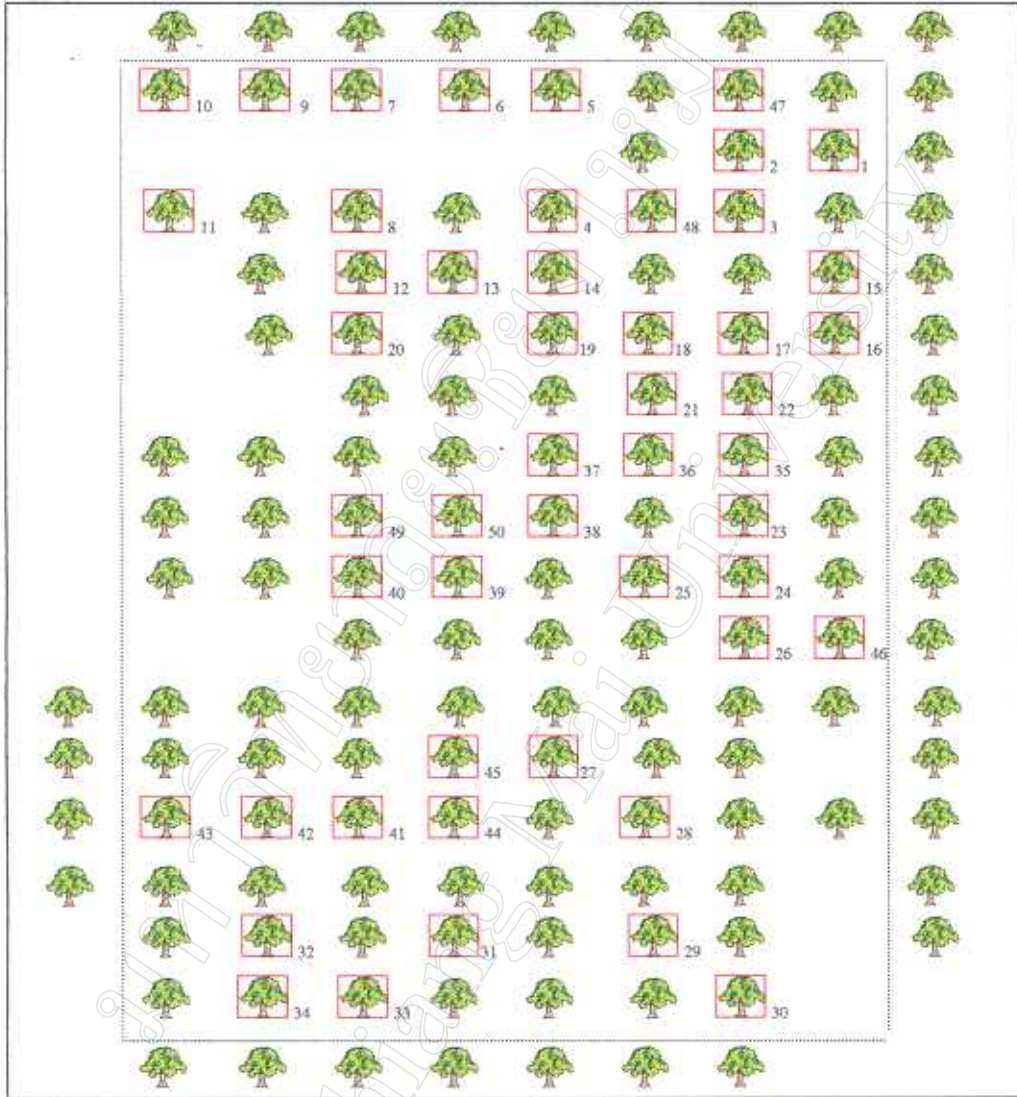
3.3 การศึกษาตำแหน่งของลำต้นที่หนอนกินเปลือกลำต้นชอบเข้าทำลาย

เลือกพื้นที่ทดลองพื้นที่เดียวกันกับข้อ 3.2 สุ่มเลือกต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยจำนวน 50 ต้นต่อสวน แบ่งความสูงของต้นลำไยออกเป็น 3 ระดับ คือ บริเวณโคนต้น ซึ่งมีความสูงประมาณ 0.90 เมตรจากระดับพื้นดิน บริเวณกลางลำต้น มีความสูงประมาณ 2.70 เมตรถัดจากบริเวณโคนต้น และส่วนปลายยอดถัดจากบริเวณกลางลำต้นขึ้นไปประมาณ 2.30 เมตร ทำการบันทึกจำนวนรอยเข้าทำลายของหนอนกินเปลือกลำต้นที่ระดับต่าง ๆ ของลำต้น ซึ่งจะช่วยให้ทราบว่าหนอนกินเปลือกชอบอาศัยที่ส่วนใดของลำต้นมากที่สุด ซึ่งอาจจะเป็นตำแหน่งที่แมลงชอบวางไข่ นำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และวิเคราะห์สถิติหาค่าความแตกต่างของปริมาณหนอนในแต่ละระดับความสูงของลำต้นในแต่ละสวน โดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD)

3.4 การศึกษาวงจรชีวิตของหนอนกินเปลือกลำต้น

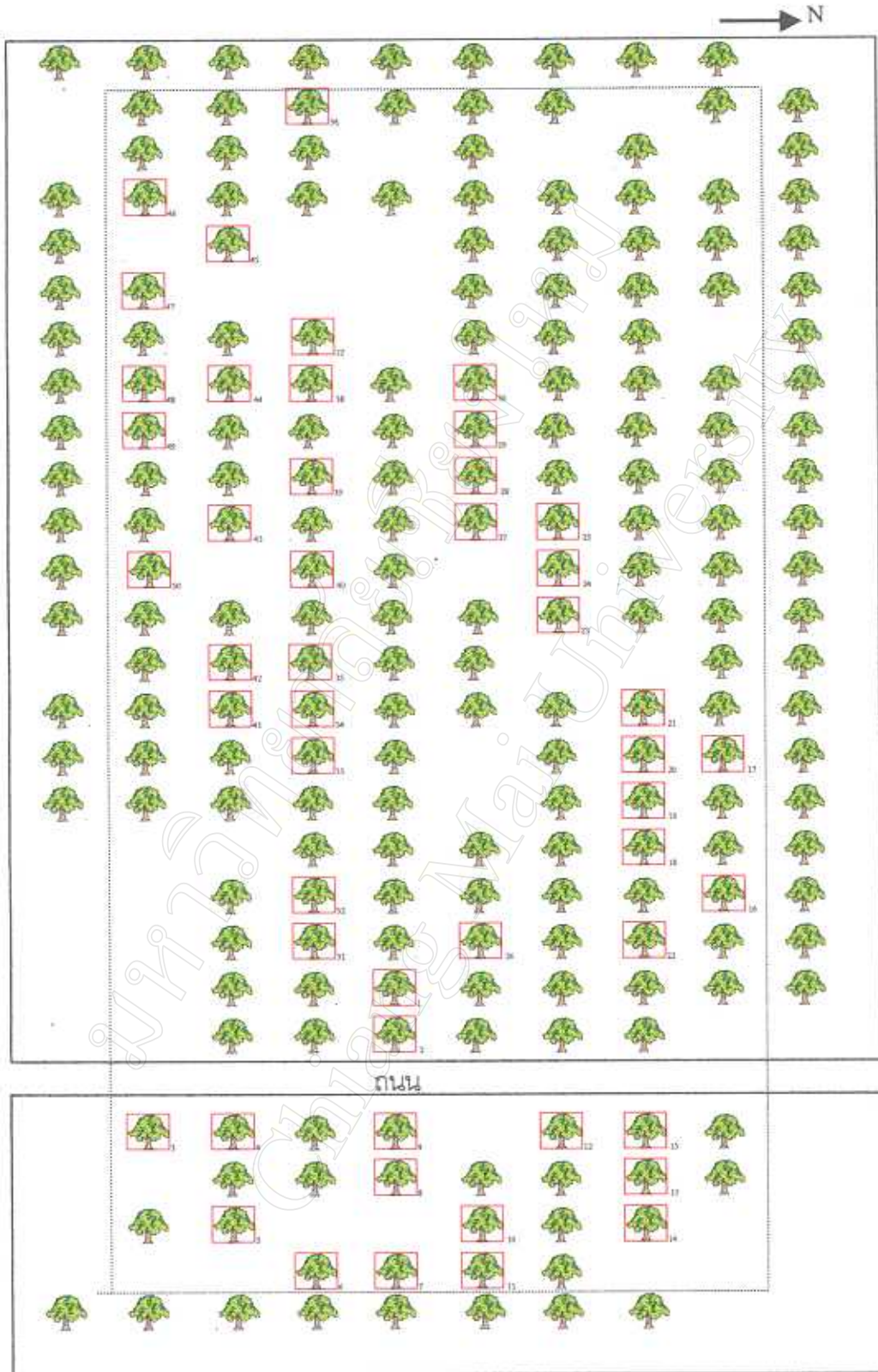
ระยะหนอน :

การศึกษาในสภาพห้องปฏิบัติการตัดกิ่งลำไยที่มีหนอนกินเปลือกลำต้นเข้าทำลาย โดยสังเกตจากอุโมงค์ที่พบบนกิ่ง และรูที่หลบซ่อนของหนอนตามง่ามกิ่ง นำกิ่งที่มีหนอนมาเลี้ยงในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยห่อหุ้มปลายกิ่งด้วยผ้าชุบน้ำ และห่อหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรักษาความชื้นของกิ่ง นำไปเก็บในกล่องพลาสติกใสขนาด 20x30x10 เซนติเมตร ที่รองพื้นกล่องด้วยกระดาษทิชชู เมื่อพบกิ่งลำไยเริ่มแห้ง ทำการตัดกิ่งลำไยจากต้นที่แสดงอาการหงอย มาวางให้ชิดกับกิ่งเดิม เพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารใหม่ของหนอน ทำการเปลี่ยนอาหารในลักษณะเช่นนี้ไปจนกระทั่งหนอนกินเปลือกลำต้นเจริญเป็นตัวเต็มวัย



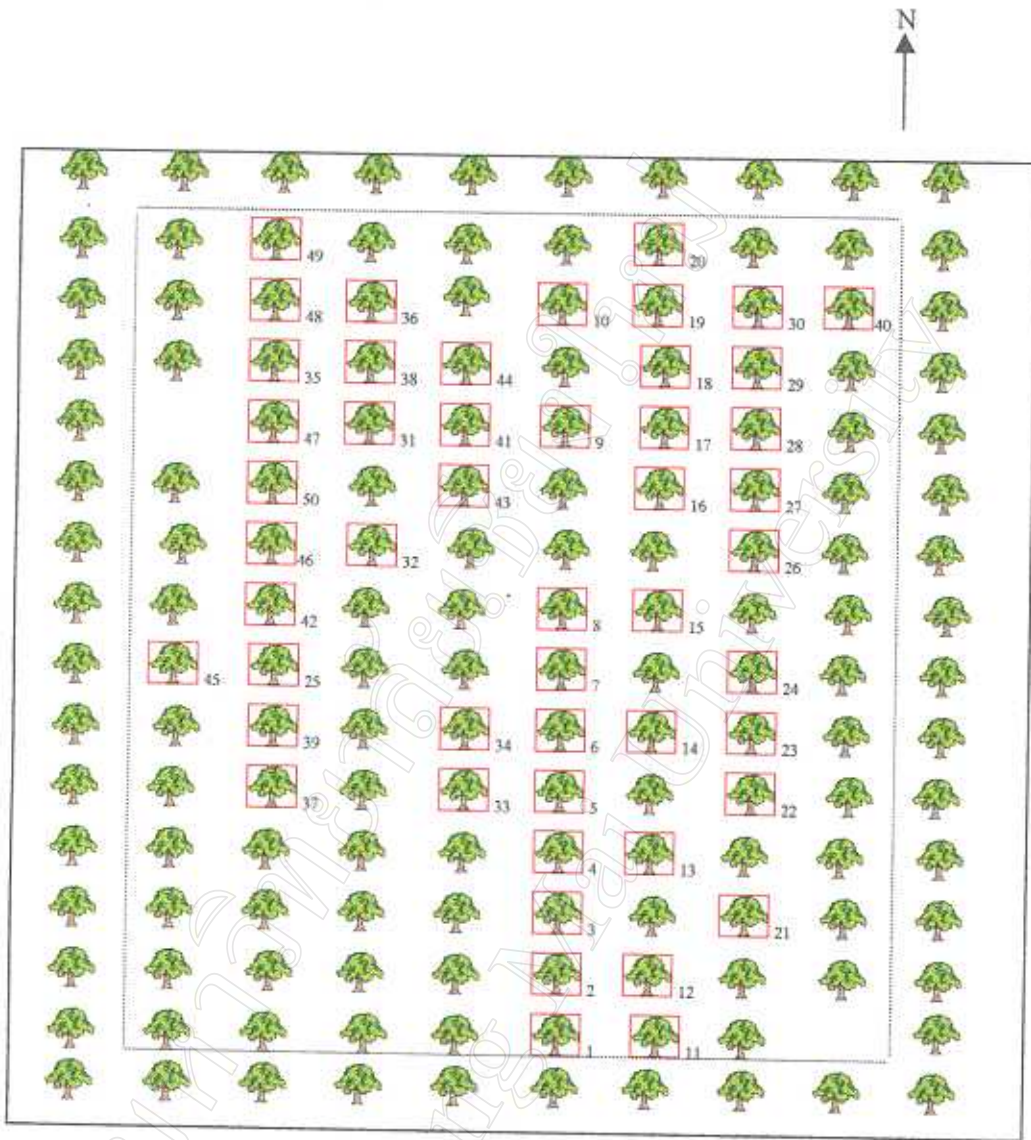
ภาพ 3 แผนที่สวนลำไยบ้านน้ำบ่อหลวง ตำบลน้ำบ่อหลวง อำเภอสันป่าดง จังหวัด เชียงใหม่ จำนวนต้นลำไย ที่ทำการสำรวจมี 50 ต้น

 = ต้นลำไยแสดงอาการหงอยที่ได้รับการคัดเลือกเพื่อใช้นับจำนวนหนอนกินเปลือกลำต้น



ภาพ 4. แผนผังสวนลำไยแม่เหิระ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิระ ตำบลแม่เหิระ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จำนวนต้นลำไยที่ทำการสำรวจมี 50 ต้น

 = ต้นลำไยแสดงอาการหงอยที่ได้รับการคัดเลือกเพื่อใช้นับจำนวนหนอนกินเปลือกลำต้น



ภาพ 5 แผนผังสวนลำไยบ้านป่าเหว ตำบลอุโมงค์ อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน จำนวนต้น
ลำไย ที่ทำการสำรวจมี 50 ต้น

 = ต้นลำไยแสดงอาการหงอยที่ได้รับการคัดเลือกเพื่อใช้นับจำนวนหนอนกินเปลือกลำต้น



ภาพ 6 รอยกัดกินผิวเปลือกของหนอนและอุโมงค์ของหนอนกินเปลือกลำต้นบนต้นลำไย

การศึกษาในสภาพแปลงปลูก ศึกษาโดยเก็บหนอนจากกิ่งหรือลำต้นโดยตรง และเก็บหนอนที่ตายจากการทดลองการป้องกันกำจัดหนอนในสภาพแปลงปลูก โดยการใช้ไ้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ยาเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* (Florbac FC) และสารฆ่าแมลง fenitrothion (Sumithion 50 % EC) ทำการเก็บหนอนกินเปลือกลำต้น ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม 2541 นำหนอนที่ได้มาวัดขนาดหัวกะโหลกในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ micro-ruler วัดขนาดหัวกะโหลกภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ สเตอริโอ (stereo-microscope) เพื่อทราบระยะการเจริญเติบโตของหนอนในสภาพธรรมชาติ

ระยะดักแด้ :

ดักแด้ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ได้จากการเก็บหนอนระยะ โตเต็มทีจากสภาพแปลงปลูก นำมาเลี้ยงในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยตัดกิ่งลำไยจากต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยและนำมารักษาสภาพความชื้น เพื่อเป็นอาหารของหนอน นำไปเก็บในกล่องพลาสติกใสขนาด 20x30x10 เซนติเมตร เลี้ยงต่อจนกระทั่งหนอนเข้าดักแด้ และเก็บรวบรวมดักแด้ที่ได้จากการเลี้ยงหนอนบนกิ่งตอนลำไยในโรงเรือนเพาะชำ มาเลี้ยงกล่องพลาสติกใสขนาดเดียวกัน แล้วนำไปเลี้ยงต่อในห้องปฏิบัติการ บันทึกวันที่พบดักแด้ และวัดขนาดของดักแด้

ระยะตัวเต็มวัย :

นำผีเสื้อตัวเต็มวัยที่ได้จากการศึกษาระยะดักแด้ เลี้ยงต่อในสภาพห้องปฏิบัติการ ในแต่ละวันทำการรวบรวมผีเสื้อตัวเต็มวัยที่ออกมาจากดักแด้ ใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 20x30x10 เซนติเมตร โดยจับผีเสื้อเพศเมียและผีเสื้อเพศผู้ที่อยู่รวมกันกล่องละ 1 คู่ เพื่อให้ผีเสื้อทำการผสมพันธุ์ ทำการบันทึกระยะตัวเต็มวัย

ระยะไข่ :

เมื่อพบแม่ผีเสื้อวางไข่ ทำการบันทึกจำนวนไข่ และระยะไข่เมื่อพบหนอนวัยแรกฟักออกมาจากไข่ ขณะเดียวกันนำผีเสื้อเพศเมียที่ตายแล้วมาทำการผ่าท้อง เพื่อตรวจดูไข่ บันทึกลักษณะ และขนาดไข่ของผีเสื้อหนอนกินเปลือกลำต้น

3.5 การศึกษาช่วงการออกเป็นตัวเต็มวัยและอัตราการอยู่รอด ในสภาพแปลงปลูกและโรงเรือนเพาะชำ

สภาพแปลงปลูก :

เลือกสวนที่พบมีการระบาดของหนอนกินเปลือกลำต้น 2 สวน คือ สวนลำไยบ้านน้ำบ่อหลวง ตำบลน้ำบ่อหลวง อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ และสวนลำไยแม่เหียะ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ ตำบลแม่เหียะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ สังเกตกิ่งหรือส่วนของกิ่งที่มีอุโมงค์ และรอยแผลจากการกัดกินของหนอน จากนั้นทำการห่อหุ้มกิ่งโดยรอบโดยใช้ตาข่ายไนลอนสีขาวขนาด 70x100 เซนติเมตร (ภาพ 7) จำนวนสวนละ 15-20 กิ่ง ออกไปตรวจสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนกระทั่งพบผีเสื้อตัวเต็มวัย บันทึกช่วงการออกเป็นตัวเต็มวัย และข้อมูลปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิในแต่ละเดือนที่ทำการสำรวจ

สภาพโรงเรือนเพาะชำ :

เลือกตัดกิ่งลำไยที่พบมีหนอนกินเปลือกเข้าทำลายตัดเป็นท่อนยาวขนาด 20-30 เซนติเมตร นำมารักษาความชื้นของกิ่งโดยหุ้มปลายกิ่งด้วยสำลีชุบน้ำ และอูมิเนียมฟอสต์ นำกิ่งที่ได้ไปผูกบนกิ่งตอนลำไยอายุประมาณ 1 ปี ในโรงเรือนเพาะชำ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แล้วทำการห่อหุ้มกิ่งโดยรอบ โดยใช้ตาข่ายไนลอนสีขาวขนาดประมาณ 70x100 เซนติเมตร (ภาพ 8) ตรวจเช็คผลทุกสัปดาห์ จนกระทั่งพบผีเสื้อตัวเต็มวัย ทำการจดบันทึกช่วงเวลาพบผีเสื้อตัวเต็มวัย



ภาพ 7 การใช้ดาบขยับในล่อนสืขาวห่อหุ้มกิ่งกล้าโยที่พบว่ามืหนอนกินเปลือก
ทำภายในสภาพแปลงปลูกเพื่อช่วงการออกเป็นต้นเต็มวัย



ภาพ 8 การใช้ดาบขยับในล่อนสืขาวห่อหุ้มกิ่งตอนกล้าโยที่ใช้เลี้ยงหนอนกินเปลือก
ในสภาพโรงเรือนเพาะชำเพื่อช่วงการออกเป็นต้นเต็มวัย

3.6 การศึกษาอัตราการอยู่รอดของหนอนกินเปลือกลำต้นบนต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย และ ต้นปกติ

เลือกตัดกิ่งลำไยที่พบมีหนอนกินเปลือกเข้าทำลาย จากต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย ตัดเป็นท่อนยาวขนาด 20-30 เซนติเมตร ห่อหุ้มปลายกิ่งด้วยลวดลึบน้ำ และอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรักษาความชื้นของกิ่งไม้ นำหนอนกินเปลือกลำต้นเลี้ยงบนต้นลำไยปกติและต้นลำไยที่แสดงอาการหงอยที่สวนลำไยบ้านช่างเคียน ตำบลช้างเผือก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นนำตาข่ายไนลอนสีขาวยาวขนาด 70x100 เซนติเมตร ห่อหุ้มกิ่งที่ผูกไว้บนต้น และผูกหัวและท้ายตาข่ายป้องกันมดและแมลงรบกวน เพื่ออัตราการอยู่รอดของหนอนกินเปลือกลำต้น

3.7 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหนอนกินเปลือกลำต้นในสภาพแปลงปลูก และในสภาพห้องปฏิบัติการ

ในสภาพแปลงปลูก ที่สวนลำไยแม่เหิระ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิระ ตำบลแม่เหิระ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ เลือกกิ่งลำไยที่พบหนอนกินเปลือกลำต้นเข้าทำลาย จำนวน 20 กิ่ง ชูคอโมงค์ของหนอนออกทิ้งให้หมด ทำการบันทึกผล และวัดความยาวคอโมงค์ของหนอนในแต่ละวัน

ในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำการตัดกิ่งลำไยที่มีหนอนกินเปลือกลำต้นเข้าทำลาย ความยาวของกิ่งประมาณ 20-30 เซนติเมตร จำนวน 10 กิ่ง หุ้มปลายกิ่งด้วยลวดลึบน้ำ และอลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อรักษาความชื้นของกิ่ง จากนั้นชูคอโมงค์ของหนอนออกเช่นเดียวกันนำไปเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการ ทำการบันทึกผล และวัดความยาวคอโมงค์ของหนอน

3.8 การศึกษาลักษณะการเข้าทำลายต้นและความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของหนอนกินเปลือกลำต้นบนต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย

ตัดกิ่งลำไยที่มีหนอนกินเปลือกลำต้นเข้าทำลาย เพื่อตรวจดูรอยกัดกินของหนอน ทำการวัดความลึกของรอยแผล โดยใช้ micro-ruler วัดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ และผ่ากิ่งลำไยที่หนอนเข้าทำลาย วัดระยะทางรูที่หนอนเจาะเพื่อใช้เป็นที่ยลพบซ่อนตัว

ทำการเปรียบเทียบขนาดใบลำไยจากกิ่งที่มีหนอน และกิ่งที่ไม่มีหนอนเข้าทำลาย ของ ต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย สวนแม่เหิยะ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ ตำบล แม่เหิยะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ โดยวัดขนาดใบจำนวนต้นละ 10 ช่อ ช่อละ 3 ใบ ทั้งหมด 10 ต้น นำข้อมูลที่ได้มาทำการเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี Student's *t* test

3.9 การศึกษาการควบคุมหนอนกินเปลือกลำต้นในสภาพแปลงปลูก

เลือกพื้นที่ทดลองสวนลำไยแม่เหิยะ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ ตำบลแม่เหิยะ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ และสวนที่บ้านป่าเหี้ยว ตำบลอุโมงค์ อำเภอเมือง จังหวัดลำพูน ทำการสำรวจต้นลำไยที่แสดงอาการหงอย และมีหนอนกินเปลือกลำต้นเข้าทำลาย โดยดูตามกิ่งและลำต้น จากนั้นทำการติดเครื่องหมายตามกิ่งที่พบมีหนอน การควบคุมหนอนกินเปลือกลำต้นแบ่งออกเป็น 3 วิธี แต่ละวิธีใช้ตัวอย่าง 50 ตัวอย่าง ดังนี้

วิธีที่ 1 ฉีดพ่นด้วยไส้เดือนฝอย *Steinernema carpocapsae* ในอัตรา 2,000 ตัวต่อมิลลิลิตร ทำการฉีดพ่นน้ำเพื่อให้ความชื้นแก่กิ่งและลำต้นบริเวณอุโมงค์หนอนที่พบบนกิ่งหรือลำต้นโดยตรงก่อน แล้วจึงทำการฉีดพ่นไส้เดือนฝอย

วิธีที่ 2 ฉีดพ่นด้วยยาเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* (Florbac FC) ในอัตรา 45 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ทำการฉีดพ่นน้ำเพื่อให้ความชื้นแก่กิ่งและลำต้นบริเวณอุโมงค์หนอนที่พบบนกิ่งหรือลำต้น โดยตรงก่อนเช่นกัน

วิธีที่ 3 ฉีดพ่นด้วยสารฆ่าแมลง fenitrothion (Sumithion 50% EC) ในอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร โดยฉีดพ่นสารเคมีโดยตรงบนกิ่งหรือลำต้นบริเวณอุโมงค์หนอนบนกิ่งหรือลำต้น

อุปกรณ์การฉีดพ่นใช้ Foggy ขนาดบรรจุ 700 มิลลิลิตร ทำการบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงก่อนและหลังการทดลอง บันทึกผลการทดลองหลังจากทำการฉีดพ่นไป แล้ว 48 ชั่วโมง การทดลองทำทั้งหมด 4 ครั้งในเดือน กันยายน ตุลาคม พฤศจิกายน และธันวาคม 2541 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD)