

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

ก. สัตว์ทดลอง

ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera* L.) ในทีปเลี้ยงแบบ Langstroth เป็น
รังชั้นเดียวมีจำนวนคอน 7-9 คอน ที่มีไรศัตรูผึ้งเข้าทำลายจำนวน 60 รัง

ข. อุปกรณ์ในการทดลอง

1. บีเปต ขนาด 1 มิลลิลิตร
2. บีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร
3. กระจกตวง ขนาด 10 มิลลิลิตร
4. กระจกฉีดยา ขนาด 500 มิลลิลิตร ชื่อการค้า CANYON
5. เครื่องกนับจำนวนเลข
6. ขวดเก็บตัวอย่างไร
7. กล้องถ่ายภาพ
8. ตะแกรงตรวจไร จำนวน 35 ตะแกรง
9. ตะแกรงวัดประชากรผึ้ง จำนวน 2 ตะแกรง
10. รังสังเกต (observation hive) จำนวน 2 รัง

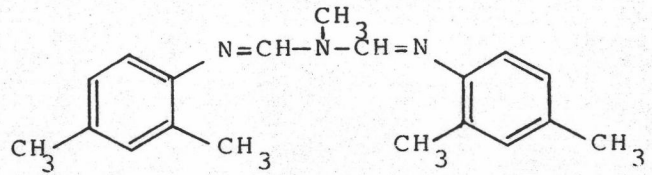
ค. สารป้องกันกำจัดไรที่ใช้ในการทดลอง

1. กำมะถัน (sulphur)
2. ลูกลินีน (naphthalene)
3. ไมแทค

ชื่อสามัญ : amitraz

ชื่อทางเคมี : N-methylbis (2,4-xylyliminomethyl)
amine [IUPAC]

สูตรโครงสร้าง



ชื่อการค้า

: MITAC

ประเภท

: สารประกอบ ไคพีนิล (diphenyl compound)

การออกฤทธิ์

: เป็นสารฆ่าไรประเภทถูกตัวตาย (contact acaricide)

ความเป็นพิษ

: LD₅₀ ทางปาก(หนู) 600 mg./kg.
ทางผิวหนัง(หนู) 1600 mg./kg.

สูตรที่ใช้

: 20% EC

ขนาดบรรจุ

: ขวด 100 มิลลิลิตร และขวด 1 ลิตร

ประโยชน์

: ใช้ป้องกันกำจัดไรต่าง ๆ หลายชนิด มีผลต่อไร
ทุกระยะการเจริญเติบโต มีพิษน้อยต่อผึ้งและ
แมลงตัวทำอื่น ๆ

ผู้แทนจำหน่าย

: บริษัทไอซีไอ เอเซียติก (เกษตร) จำกัด

4. อาซุนโทล

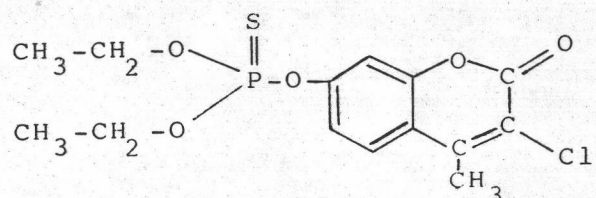
ชื่อสามัญ

: coumaphos

ชื่อทางเคมี

: O-3-chloro-4-methylcoumarin-7-yl
O,O-diethyl phosphorothioate
[IUPAC]

สูตรโครงสร้าง



| | |
|---------------|--|
| ชื่อการค้า | : ASUNTOL |
| ประเภท | : สารประกอบออร์กาโนฟอสเฟส (organophosphate) |
| การออกฤทธิ์ | : เป็นสารประเภทดูดซึม (systemic) |
| ความเป็นพิษ | : LD ₅₀ ทางปาก(หนู) 41-230 mg./kg. ทางผิวหนัง(หนู) 1000 mg./kg. |
| สูตรที่ใช้ | : 50% WP |
| ขนาดบรรจุ | : ขอบ 10 กรัม ขวด 50กรัม และถึง 25 กิโลกรัม |
| ประโยชน์ | : ใช้สำหรับผสมน้ำอาบ เช็ดตัวหรือฉีดพ่นสัตว์เลี้ยง เพื่อกำจัดพยาธิภายนอก เช่น เห็บ เหา หมัด ไร แมลงดูดเลือด ทนอน แมลงไขแผล แมลงขี้เรื้อน ในสัตว์เลี้ยงทุกชนิด |
| ผู้แทนจำหน่าย | : บริษัทไบเออร์ไทย จำกัด |

5. เพอริซีน

| | |
|---------------|--|
| ชื่อสามัญ | : coumaphos |
| ชื่อทางเคมี | : O-3-chloro-4-methylcoumarin-7-yl O,O-diethyl phosphorothioate [IUPAC] |
| สูตรโครงสร้าง | : เช่นเดียวกับอาซุนโทล |
| ชื่อการค้า | : PERIZIN |
| ประเภท | : สารประกอบออร์กาโนฟอสเฟส (organophosphate) |
| การออกฤทธิ์ | : เป็นสารประเภทดูดซึม (systemic) |
| ความเป็นพิษ | : เช่นเดียวกับอาซุนโทล |
| สูตรที่ใช้ | : สารละลาย 3.2% |
| ขนาดบรรจุ | : ขวด 10 มิลลิลิตร |

- ประโยชน์ : ใช้ป้องกันกำจัดไรวาร์ริว ซึ่งเป็นไรตัวเบียน
ภายนอกของผึ้งพันธุ์
- วิธีใช้ : ใช้สารละลายเพอร์ซิิน 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำ
ให้มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร (เติมน้ำ 49 มิลลิลิตร
จะมีความเข้มข้น 0.064% หรือ 640 ppm.)
เตรียมก่อนใช้ ใช้กับรังผึ้งที่ปราศจากตัวอ่อน
ปกติใช้เพอร์ซิินที่ผสมน้ำแล้ว 50 มิลลิลิตรต่อ
ผึ้ง 1 รัง ราดลงไปตรงช่องว่างระหว่างคอนผึ้ง
สำหรับการตรวจปริมาณไรวาร์ริวใช้เพอร์ซิิน 1 ครั้ง
ในการป้องกันกำจัดไรวาร์ริว ใช้เพอร์ซิิน 2 ครั้ง
ห่างกัน 7 วัน
- ผู้แทนจำหน่าย : บริษัทไบเออร์ไทย จำกัด

วิธีดำเนินการทดลอง

ก. การสำรวจประชากรผึ้ง

1. ทำการสำรวจประชากรผึ้งตัวเต็มวัย โดยการถ่ายรูปนับประชากรผึ้ง เนื่องจากไม่สามารถนับประชากรผึ้งตัวเต็มวัยจากรังผึ้งในเวลาปกติได้ เพราะประชากรผึ้งจำนวนมากมิได้อยู่ในรัง แต่จะเคลื่อนไหวอยู่ตลอดเวลา ต้องใช้เวลานานในการตรวจผึ้ง ทำให้ผึ้งเสียการควบคุมอุณหภูมิภายในรัง

2. ทำการสำรวจประชากรไข่ ตัวอ่อน และดักแด้ผึ้งที่อยู่ในหลอดปิด (sealed brood) โดยใช้ตะแกรงขนาด 23×43 ตารางเซนติเมตร ขนาดตะแกรง 2.54×2.54 ตารางเซนติเมตร ประมาณประชากร โดยการทราบตะแกรงบนคอน (frame) ผึ้ง นับช่องที่มีไข่ ตัวอ่อน และหลอดปิด (1 ช่องเท่ากับ 6.45 ตารางเซนติเมตร) ได้จำนวนเท่าไรคูณด้วย 27 (6.45 ตารางเซนติเมตร มี 27 หลอดรวงผึ้ง) จะทำให้ทราบจำนวนหลอดรวงที่มีไข่ ตัวอ่อน และหลอดปิด

3. ทำการคำนวณประชากรผึ้งทั้งหมดใน 1 รัง นำมาเขียนกราฟ ใช้เปรียบเทียบประชากรทั้งหมดของผึ้ง 1 รัง ก่อนใช้สารป้องกันกำจัดไรและภายหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร เพื่อดูผลว่าสารป้องกันกำจัดไรมีผลกระทบต่อประชากรผึ้งหรือไม่

ข. การสำรวจประชากรไรศัตรูผึ้ง

1. สำรวจประชากรไรศัตรูผึ้ง โดยใช้ตะแกรงตรวจไรขนาด 30×40 ตารางเซนติเมตร ขนาดรูตะแกรงประมาณ 0.3×0.3 ตารางเซนติเมตร ใส่เข้าไปบนฐานรังผึ้งในตอนเย็น แล้วนำมาตรวจนับปริมาณไรโดยใช้เครื่องนับจำนวนเลขพร้อมทั้งแยกชนิดของไร (ปกติในรังผึ้งที่มีไรศัตรูผึ้ง ไรจะออกมาจากหลอดรวงพร้อมกับผึ้งตัวเต็มวัย ไรบางตัวจะตกลงมาที่ตะแกรงโดยธรรมชาติ) วิธีนี้จะใช้สำรวจประชากรผึ้งก่อนและระหว่างการใช้สารป้องกันกำจัดไร และนำเสนอผลด้วยกราฟ (ดูภาพที่ 6, 7)

2. สำรวจประชากรไรศัตรูผึ้ง โดยการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ (De Jong et al., 1981) เพื่อดูจำนวนเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไรศัตรูผึ้ง 2 ชนิด ทำการสำรวจทุก 7 วัน ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

ค. การทดลองเบื้องต้น ทหาความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดไรที่เหมาะสม
ในการทดลอง

เนื่องจากสารป้องกันกำจัดไร 2 ชนิด คือ ไมแทค และอาซุนโทล ไม่มีคำแนะนำให้ใช้กำจัดไรในรังผึ้ง จึงต้องทดลองหาความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิด ในอัตราที่ไม่เป็นอันตรายต่อผึ้งเพื่อจะนำไปใช้ทดลองในขั้นต่อไป โดยนำผึ้งตัวเต็มวัยจากรังเดียวกัน 20 ตัว ใส่กล่องขนาด $13 \times 14 \times 24$ ลูกบาศก์เซนติเมตร ใช้ตะแกรงลวดปิดทางด้านบนของกล่อง ให้ผึ้งคูดน้ำหวานจนอิ่ม เตรียมสารที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำไปใส่กระบอกลูกบีบที่ใช้พรมผ้า แล้วฉีดพ่นไปในกล่องที่ขังผึ้งนั้น 4 ครั้ง เพื่อให้ครอบคลุมพื้นที่ทั่วกล่อง (ปริมาณสารที่ฉีดครั้งละประมาณ 0.9 มิลลิลิตร รวมสารที่ฉีด 3.6 มิลลิลิตร) ปล่อยให้ผึ้งตายหรือไม่ใน 24 ชั่วโมง ทดลองความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ความเข้มข้นที่ใช้เริ่มต้น 200 ppm. ต่อไปเพิ่มความเข้มข้นเป็น 2 เท่าทุกครั้ง จนถึงความเข้มข้น 1600 ppm.

ง. การทดลองชุดที่ 1 : เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดไร

1. ก่อนการทดลองได้ทำการสำรวจรังผึ้ง จำนวน 30 รัง ที่มีไรศัตรูผึ้งทั้ง 2 ชนิด คือไรวารริว และไรทรอบิลีแลบส์อยู่ในรังเดียวกัน จำนวนคอนผึ้งแต่ละรังอยู่ระหว่าง 7-9 คอน การสำรวจประชากรไรศัตรูผึ้งทำโดยการใช้ตะแกรงตรวจไร และการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ บันทึกผลการทดลองก่อนการใช้สารป้องกันกำจัดไร

2. วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) แบ่งผึ้ง 30 รัง โดยวิธีการจับสลาก ออกเป็น 5 การทดลอง ๆ ละ 6 ซ้ำ ประกอบด้วยกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม และกลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม

3. การใช้สารป้องกันกำจัดไร จะใช้ทุก ๆ 3 วัน จำนวน 9 ครั้ง (ยกเว้นเพอร์ซิโน) การใช้สารป้องกันกำจัดไร จะทำในตอนเย็นระหว่างเวลา 17.00 - 18.00 น. สารที่ใช้มีดังนี้

ก) กำมะถันผสมลูกเหม็น (1:1 โดยปริมาตร) ใช้โรยบนตะแกรงตรวจไรประมาณ 2 ซ้อนชา แล้วนำตะแกรงใส่ไว้บนฐานรังผึ้ง

ข) อาซุนโทล ใช้ขนาดความเข้มข้น 400 ppm. ใส่กระบอกลูกบีบที่ใช้พรมผ้า นำไปฉีดพ่นในรังผึ้งโดยวิธี ยกคอนผึ้งขึ้นมาฉีดทีละคอน คอนหนึ่งฉีด 4 ครั้ง (ประมาณ 3.6 มิลลิลิตร)

ค) ไมแทค ใช้ขนาดความเข้มข้น 200 ppm. ใส่กระบอกฉีดแบบที่ใช้พรมผ้า นำไปฉีดพ่นในรังผึ้งโดยวิธี ยกคอนผึ้งขึ้นมาฉีดทีละคอน คอนหนึ่งฉีด 4 ครั้ง (ประมาณ 3.6 มิลลิลิตร)

ง) เพอร์ซิม ใช้ตามอัตราที่แนะนำไว้ที่สลาก คือ สารละลายเพอร์ซิม 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำให้เป็น 50 มิลลิลิตร (จะได้ความเข้มข้น 0.064% หรือ 640 ppm) นำไปราดบนหัวคอนผึ้งรังละ 50 มิลลิลิตร (ไม่ใช่วิธีราดลงไปในช่วงระหว่างคอน เพราะจะทำให้ผึ้งตาย) ใช้เพอร์ซิม 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 7 วัน

4. ตรวจไรศัตรูผึ้งที่ตกลงมาบนตะแกรงตรวจไรในเช้าวันรุ่งขึ้น ทำการนับปริมาณไรและแยกชนิดไรศัตรูผึ้ง

5. ทำการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ ทุก 7 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง เพื่อดูปริมาณการลดลงของไรทั้ง 2 ชนิด ผลที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

จ. การทดสอบชุดที่ 2 : เพื่อศึกษาวิธีการใช้และปริมาณการใช้สารป้องกันกำจัดไร

1. ก่อนการทดลองได้ทำการสำรวจรังผึ้งที่มีไรวาร์วีจำนวน 30 รัง มีจำนวนคอนอยู่ระหว่าง 7-8 คอน การสำรวจประชากรไรศัตรูผึ้งทำโดยการใช้ตะแกรงตรวจไร และการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ บันทึกผลการทดลองก่อนการใช้สารป้องกันกำจัดไร

2. วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองชุดแรก โดยแบ่งผึ้ง 30 รัง ออกเป็น 5 การทดลอง ๆ ละ 6 รัง ประกอบด้วยกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม และกลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม

3. การใช้สารป้องกันกำจัดไร จะใช้ทุก ๆ 3 วัน จำนวน 9 ครั้ง ปริมาณสารที่ใช้และวิธีการใช้สารป้องกันกำจัดไร มีดังนี้ (ดูภาพที่ 7,8,9)

ก) อาซุนโทล I ใช้ขนาดความเข้มข้น 400 ppm. ใส่กระบอกฉีดแบบพรมผ้า นำไปฉีดพ่นในรังผึ้ง โดยวิธียกคอนผึ้งขึ้นมาฉีดพ่นทีละคอน คอนละ 4 ครั้ง

ข) อาซุนโทล II ใช้ขนาดความเข้มข้น 400 ppm. ใส่กระบอกฉีดแบบพรมผ้า นำไปฉีดพ่นในรังผึ้ง โดยวิธีฉีดลงไปตรงช่องระหว่างคอนในหัวรังผึ้ง (จำนวนครั้งที่ฉีดเท่ากับจำนวนคอน \times 4)

ค) อาซุนโทล III ใช้ขนาดความเข้มข้น 200 ppm. ใส่กระบอกฉีดแบบพรมผ้า นำไปฉีดพ่นในรังผึ้ง โดยวิธียกคอนผึ้งขึ้นมาฉีดพ่นทีละคอน คอนละ 4 ครั้ง

ง) เพอร์ซิโน ใช้ขนาดความเข้มข้น 640 ppm. (สารละลาย 1 มิลลิลิตร ผสมน้ำเป็น 50 มิลลิลิตร) ราดไปบนหัวคอนผึ้ง รังละ 50 มิลลิลิตร

4. ตรวจไรวาร์ริวที่ตกลงมาบนตะแกรงในเช้าวันรุ่งขึ้น ทำการนับปริมาณไรด้วยเครื่องกดนับจำนวน เลข

5. ทำการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ ทุก 7 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง เพื่อดูปริมาณการลดลงของไรวาร์ริว ผลที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

ฉ. การศึกษาผลข้างเคียงบางประการ เนื่องจากการใช้สารป้องกันกำจัดไร

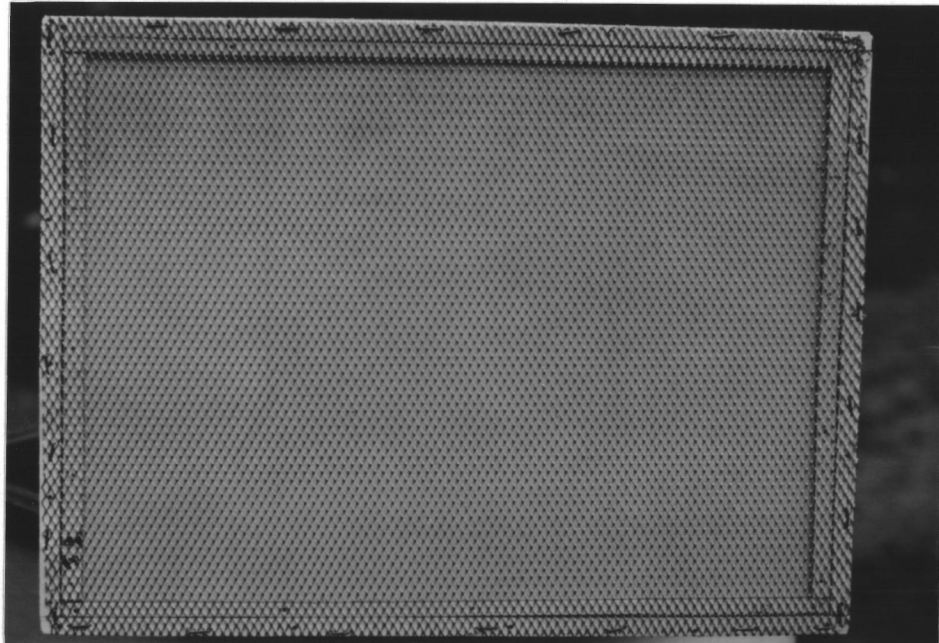
1. นำผึ้งจำนวน 3 คอน ใส่ในรังสังเกต (observation Hive) ขนาด กว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 47.2 × 81 × 4.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 2 รัง สังเกตพฤติกรรมของผึ้งในรังสังเกต ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร

2. ศึกษาอัตราการวางไข่ของนางพญาผึ้ง ก่อนการใช้สารป้องกันกำจัดไร เปรียบเทียบกับภายหลังการใช้

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมบางอย่างของผึ้งงาน หลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร (เช่น มีพฤติกรรมก้าวร้าวขึ้นหรือไม่ หรือมีการทำลายนางพญาผึ้งหรือไม่)

ช. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์

นำข้อมูลการสำรวจปริมาณไรศัตรูผึ้งจากการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร ทั้ง 2 ชุดการทดลอง ไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยเครื่องคอมพิวเตอร์ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ ANALYSIS OF COVARIANCE IN CRD และ DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST ที่ฝ่ายวิเคราะห์ทางสถิติ กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการ เกษตร



ภาพที่ 6 แสดงลักษณะของตะแกรงตรวจไร



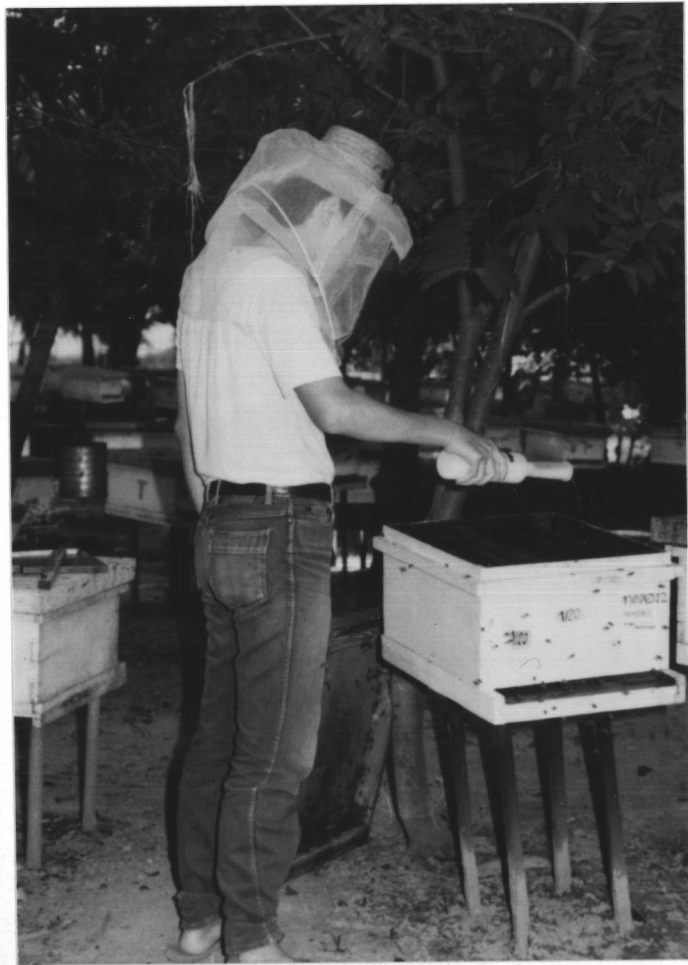
ภาพที่ 7 แสดงวิธีสอดตะแกรงตรวจไรเข้าไปในรังผึ้ง



ภาพที่ 8 แสดงวิธีการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดไร โดยวิธียกคอนดึงชั้นฉีด



ภาพที่ 9 แสดงวิธีการฉีดพ่นสารป้องกันกำจัดไร โดยวิธีฉีดบริเวณช่องว่างระหว่างคอนให้ทั่วรังผึ้ง



ภาพที่ 10 แสดงวิธีใช้เพอร์ชิน โดยราดบนหัวคอนผึ้ง