บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่และระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ดำเนินงานตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 รวมเป็นระยะเวลาหนึ่งปี โดยกำหนดพื้นที่สำรวจเป็นสองส่วนได้แก่ พื้นที่ซึ่งปลูกข้าวแบบ ใช้สารเคมีในการควบคุมแมลงศัตรูพืช รวมทั้ง ดูแลรักษาผลผลิตข้าว และ พื้นที่ซึ่งปลูกข้าวแบบอินทรีย์ ที่มีแผนการจัดการอย่างเป็นระบบในการผลิตภายใต้มาตรฐานการผลิตเกษตรอินทรีย์ มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทย และผ่านการเห็นชอบ ของคณะกรรมการบริหารงานวิจัยและพัฒนาเกษตรอินทรีย์ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยมีมาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทยซึ่งมีประเด็นหลักสำคัญดังนี้

- ที่ดินไม่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่ำกว่ามาตรฐานกำหนด
- พื้นที่ปลูกต้องไม่มีสารเคมีสังเคราะห์ตกค้าง
- ไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์ในกระบวนการผลิต
- ไม่ใช้เมล็ดพันธุ์ที่คลุกสารเคมีสังเคราะห์
- ไม่ใช้สิ่งที่ได้จากการดัดแปลงทางพันธุกรรม
- ไม่ใช้มูลสัตว์ที่เลี้ยงอย่างผิดมาตรฐาน
- ปัจจัยการผลิตจากภายนอกต้องได้รับการรับรองมาตรฐาน
- กระบวนการผลิตต้องปราศจากสิ่งปนเปื้อนสารเคมีสังเคราะห์
- ส่งเสริมความหลากหลายทางชีวภาพ และสิ่งแวดล้อม
- ต้องได้รับการรับรองมาตรฐานอย่างเป็นทางการ

จุดสำรวจในการศึกษาซึ่งครอบคลุมพื้นที่จังหวัดเชียงราย พะเยา และ เชียงใหม่ (ภาพที่ 3.1) โดยเลือกจุดสำรวจซึ่งมีการปลูกข้าวพันธุ์ หอมมะลิ 105 ดังนั้นพื้นที่จึงถูกกำหนดเป็น

1) พื้นที่ซึ่งปลูกข้าวแบบใช้สารเคมีได้แก่

จังหวัดเชียงราย ได้แก่ ต. โป่งผา อ. แม่สาย (20 °09′74′′องศาเหนือ 99.92°61′47′′ องศาตะวันออก) ต. โยนก อ. เชียงแสน (20.24°15′83′′ องศาเหนือ 100.06°34′77′′ องศาตะวันออก) ต. ปล้อง อ. เทิง (19.70°98′29′′องศาเหนือ 100.22°82′71′′ องศาตะวันออก)

จังหวัดพะเยา ได้แก่ 1. ต. ท่าวัง อ. เมือง (19.23°85´50´´องศาเหนือ, 99.85°19´90´´ องศาตะวันออก) 2. ต. ร่มเย็น อ. เชียงคำ (19.56°75´54´´ องศาเหนือ 100.24°74´98´´องศาตะวันออก) 3. ต. จุน อ.จุน (19.36°03´85´´องศาเหนือ 100.10°19´29´´ องศาตะวันออก) 4. ต. ดอกคำใต้ อ. ดอกคำใต้ (19.11°14´34´´ องศาเหนือ 99.87°12´16´´ องศาตะวันออก)

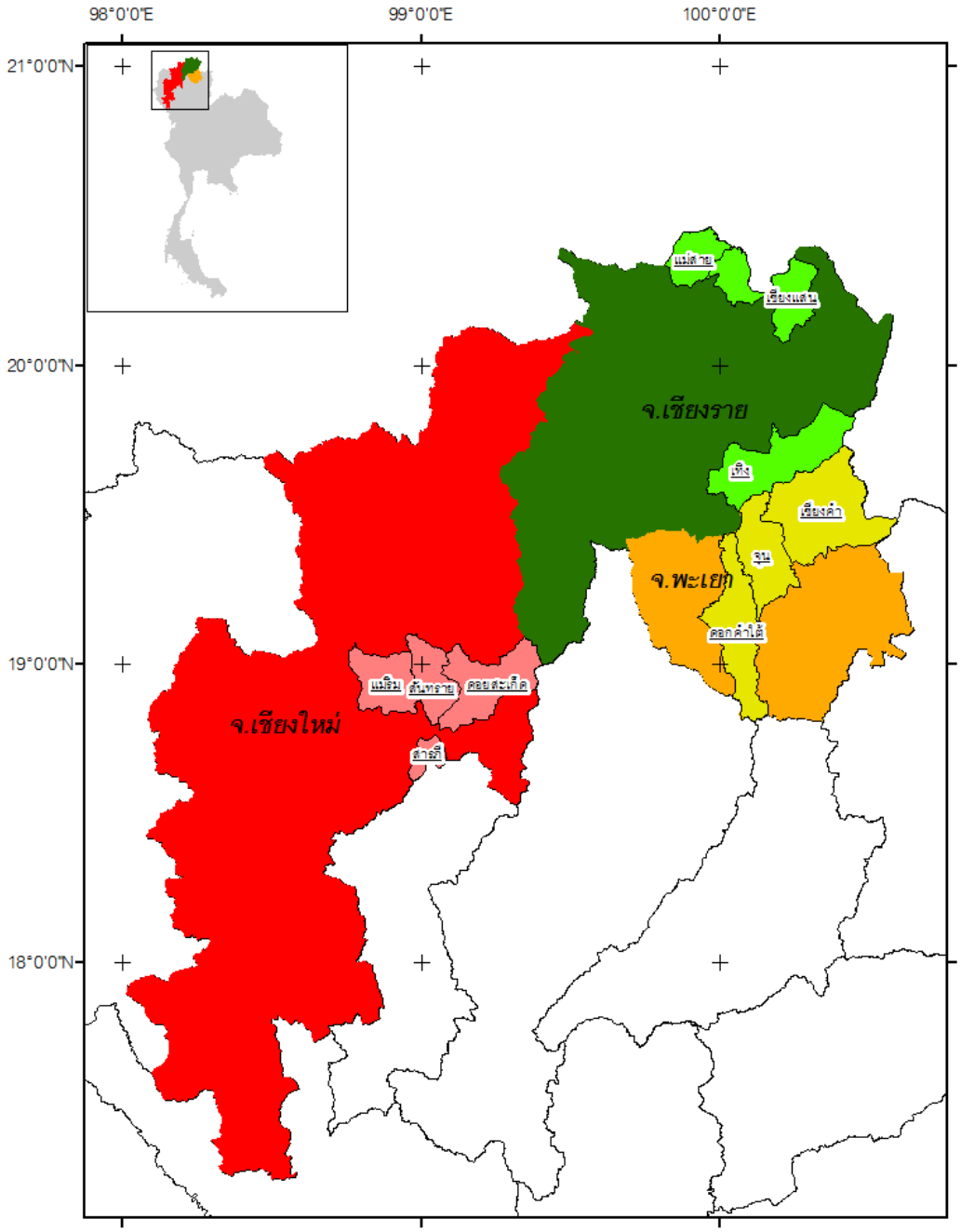
จังหวัด เชียงใหม่ ได้แก่ ต.สำราญราษฎร์ อ. ดอยสะเก็ด (18.85°56´1 0´´ องศาเหนือ 99.12°27´72´´ องศาตะวันออก) ต. หนองหาร อ. สันทราย (18.85°69´1 0´´ องศาเหนือ 99.03°55´68´´ องศาตะวันออก) และ ต. โป่งแยง อ. แม่ริม (18.90°30´38´´ องศาเหนือ 98.94°42´44´´ องศาตะวันออก) รวม 3 พื้นที่ศึกษา

2) พื้นที่ซึ่งปลูกข้าวแบบอินทรีย์ภายใต้มาตรฐานการผลิตเกษตรอินทรีย์ มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทยจำนวน 3 พื้นที่ศึกษา ได้แก่

จังหวัดเชียงราย ต. สันทราย อ. (19.64°77´61´´ องศาเหนือ 100.09°64´36´´ องศาตะวันออก)

จังหวัดพะเยา บ้านศรีจอมแจ้ง และ ต. หงส์หิน อ.จุนและ ต. ลอ (19.53°13´19´´ องศาเหนือ100.11°29´15´´ องศาตะวันออก) (มีพื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์ซึ่งเชื่อมต่อกัน)

จังหวัดเชียงใหม่ ต.หนองแหย่ง และ ต. หนองจ๊อม อ. สันทราย ต. ชมพู อ. สารภี (18.70°41´39´´องศาเหนือ 99.06°20´04´´องศาตะวันออก)



ภาพที่ 3.1 ขอบเขตพื้นที่ศึกษาในจังหวัดภาคเหนือของประเทศไทยในจังหวัดเชียงราย พะเยา และเชียงใหม่ (ที่มา: รุ่งเกียรติ, 2555)

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. อุปกรณ์พื้นฐานในการเก็บตัวอย่าง แมลง และเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในภาคสนาม เช่น หลอดแก้ว และกล่องพลาสติก ขวดแก้วบรรจุ เอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ขวดฆ่าแมลงซึ่งบรรจุโปแตสเซียม ไซยาไนด์ (potassium cyanide) หรือ เอธิล อะซีเทต (ethyl acetate) สวิงจับแมลง ถุงพลาสติกใสขนาดต่าง ๆ คีม forceps เครื่องนับจำนวน (tally counter) ตลับเมตร กรรไกรตัดกิ่ง มีดเอนกประสงค์ Victorinox Swiss army knife รุ่น Champion คู่มือจำแนกชนิดแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในนาข้าวขนาดพกพา เช่น เอกสารของ Shepard *et al*. (1987) และ Heinrichs (1994) และ แมงมุมในนาข้าว ของ วิภาดา วังศิลาบัตร (ไม่มี ว.ด.ป.) อุปกรณ์บันทึกข้อมูล กล้องถ่ายภาพ โทรศัพท์เคลื่อนที่ซึ่งสามารถระบุพิกัดและความสูงจากกระดับของพื้นที่ (GPS built-in iPhone 4s)
2. ตู้สำหรับเขี่ยเชื้อจุลินทรีย์ (laminar flow)
3. หม้อนึ่งความดันไปน้ำ (Tomy autoclave ss-320, Tomy Seiko Co.Ltd., Japan)
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope
5. กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope
6. อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา
7. Potato Dextrose Agar (PDA) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai 400 086, India)
8. Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (BIOMARK Laboratory, Pune 411011,India)
9. Agar (ผงวุ้น)
10. Malt extract (Fluka biochemika)
11. Dextrose (DIFCO, Becton Dickson, MD, USA)
12. สารเคมีพื้นฐานที่ใช้ในการฆ่าเชื้อในห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยา

3.3 วิธีการวิจัย

3.3.1 การเก็บตัวอย่างและศึกษาจำนวนชนิดและปริมาณประชากรของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติในระบบนิเวศนาข้าวที่ใช้สารเคมีและอินทรีย์

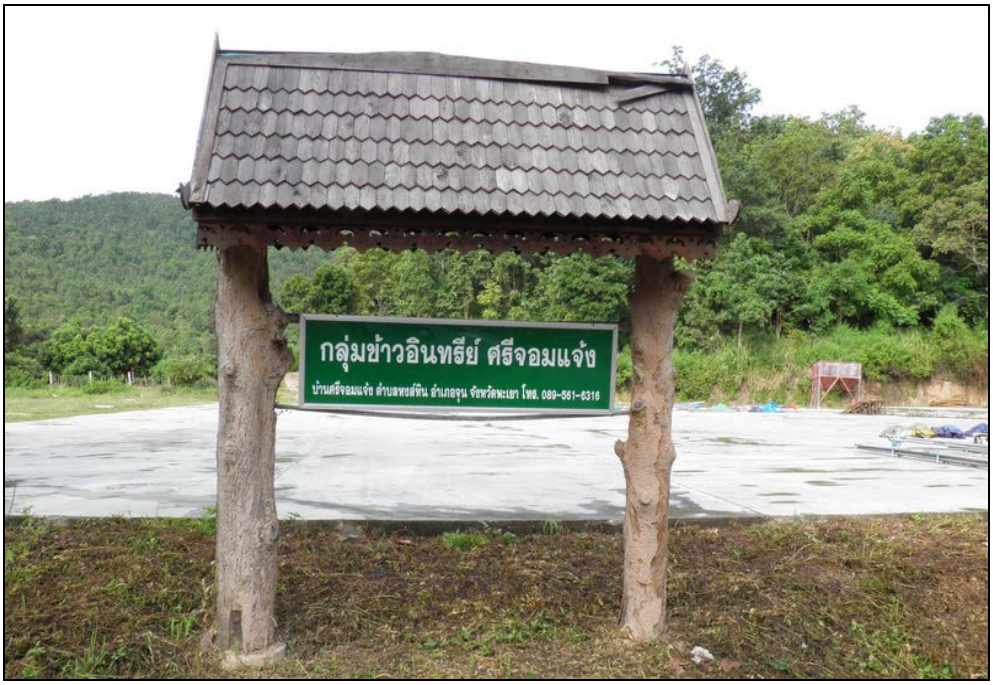
3.3.1.1ประชากรของแมลงศัตรูข้าว

หลังกำหนดพื้นที่ศึกษาซึ่งแบ่งเป็นนาข้าวแบบ ใช้สารเคมี และแบบอินทรีย์ ตามข้อ 3.1 แล้ว จัดการศึกษาเป็นแบบแฟกทอเรี ยลในวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Factorial Randomized Complete Block Design) ซึ่งประกอบด้วยสองปัจจัย ได้แก่ ระบบปลูกจำนวนสองระบบได้แก่ ระบบปลูกข้าวแบบ ใช้สารเคมี และแบบอินทรีย์ และปัจจัยที่สองคือ พื้นที่ศึกษาได้แก่ จังหวัดเชียงราย พะเยา และ เชียงใหม่ เพื่อวัดผลและอิทธิพลร่วมของปัจจัยทั้งสองต่อประชากรของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติ ทั้งนี้ได้กำหน ดหน่วยทดลองได้แก่ ศึกษาในนาข้าวแบบ ใช้สารเคมี คือมีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชจำนวน 3 พื้น ที่ รวมทั้งหมด 15 จุดสำรวจ โดยแบ่งเป็นแต่ละพื้นที่ กำหนดให้มีขนาดตั้งแต่ 3,000 ตารางเมตรขึ้นไป (ภาพที่ 3.2) จากนั้นแบ่งแต่ละพื้นที่ออกเป็นจุดสำรวจย่อยพื้นที่ละ 5 จุด ซึ่งมีขนาดพื้นที่ 50 x50 เมตร แต่ละจุดห่างกันไม่น้อยกว่า 200 เมตร รวม 15 จุด และ พื้นที่ปลูกข้าวแบบอินทรีย์ (ภาพที่3.3) จำนวน 3 พื้นที่ พื้นที่ละ 5 จุดสำรวจ รวม 15 จุดสำรวจซึ่งมีการกำหนดและแบ่งขอบเขตพื้นที่สำรวจ ในลักษณะเดียวกันกับจุดสำรวจในพื้นที่ปลูกข้าวแบบใช้สารเคมี

จากนั้นในฤดูปลูกข้าวแบบนานาปี (ตั้งแต่เดือนมิถุนายนถึง พฤศจิกายน) ของปี พ.ศ. 2554 ทำการสำรวจเพื่อศึกษาปริมาณประชากรของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในนาข้าวทั้งสองระบบ ทุก 14 วัน ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึง ระยะที่ข้าวพร้อมเก็บเกี่ยวผลผลิต ณ ช่วงเวลา ตั้งแต่ 6.00 -9.00 น. หรือ ในตอนเช้า หรือ ในช่วงเวลาเย็น คือตั้งแต่ 16.00 -18.00 น. ทำการ สุ่มนับจำนวนแมลงที่พบต่อกอ โดยเริ่มนับจากส่วนที่พ้นน้ำของกอข้าวไปจนถึงปลายยอดข้าว จำนวน 100 กอต่อจุดสำรวจ จากนั้นในจุดเดียวกันไ ด้มีการสุ่มนับจำนวนประชากรแมลงโดยใช้สวิงจับแมลงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ลึก 60 เซนติเมตร จำนวน 20 ครั้งต่อจุดสำรวจ นำตัวอย่างแมลงที่ได้ใส่ในขวดฆ่า (killing jar) สำหรับทำให้แมลงตาย ซึ่งบรรจุโปแตสเซียม ไซยาไนด์ (potassium cyanide) หรือ เอธิล อะซีเทต (ethyl acetate) ทำการบันทึกข้อมูลชนิดและปริมาณประชากรที่พบในภาคสนาม โดยอ้างอิงจาก เอกสารของ Shepard *et al*. (1987) และ Heinrichs (1994) และหากพบแมลงชนิดใดที่ไม่ทราบชนิด ทำการเก็บตัวอย่างดังกล่าว โดยบรรจุถุงพลาสติกใส หรือการดองตัวอย่างแมลงบางชนิด ในขวดแก้วขนาดเล็กซึ่งบรรจุ ethyl alcohol ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ นำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ ณ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ

ภาคเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่และ โปรแกรมชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต กรุงเทพฯ เพื่อศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและจำแนกชนิดต่อไป

ภาพที่ 3.2 สภาพพื้นที่ปลูกข้าวแบบทั่วไปในภาคเหนือของประเทศไทย



ภาพที่ 3.3 พื้นที่ปลูกข้าวแบบอินทรีย์ในจังหวัดพะเยาซึ่งได้รับการรับรองภายใต้มาตรฐานการผลิตเกษตรอินทรีย์ มาตรฐานการผลิตพืชอินทรีย์ของประเทศไทย

3.3.1.2 ประชากรศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

จากวางแผนการทดลอง การกำหนดพื้นที่ศึกษารวมทั้งจำนวนและวิธีการสำรวจเดียวกับวิธีดำเนินการในข้อ 3.3.1.1 สำรวจ และสุ่มเก็บตัวอย่าง ตามวิธีทางสถิติและวิทยาศาสตร์ ที่เหมาะสม ตามชนิดของศัตรูธรรมชาติ ดังนี้

ก. แมลงตัวห้ำ: เก็บตัวอย่างแมลงตามวิธีของ Peterson (1970, p. 24) สุ่มนับจำนวนของแมลงตัวห้ำ ซึ่งอาจได้จากวิธีการโฉบด้วยสวิงจับแมลง ตามวิธีในข้อ 3.3.1.1 หรือการนับโดยตรงในแปลงสำหรับแมลงบางชนิดที่มีการเคลื่อนที่น้อยและเกาะนิ่งบนต้นพืช เช่น แมลงปากดูดบางชนิด ทั้งนี้หากพบว่าเป็นแมลง และ /หรือ ศัตรูธรรมชาติที่ทราบชนิดแน่นอนแล้ว บันทึกข้อมูลชนิดของแมลงศัตรูพืชที่เป็นเหยื่อ วันที่ และสถานที่พบ ส่วนที่ไม่ทราบชนิด นอกจากนี้ แมลงตัวห้ำบางส่วนได้ถูกนำกลับมายังห้องปฏิบัติการทั้งโดยการเก็บตัวอย่างที่มีชีวิตในกล่องพลาสติก หรือการดองใน เอธิล แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งบรรจุในขวดแก้วขนาดเล็ก เพื่อนำไปวินิจฉัยชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้อง โดยการใช้กุญแจการจำแนกชนิด (identification keys) ตรวจสอบ และเอกสารอ้างอิงต่างๆที่เกี่ยวข้อง หรือนำส่งไปวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์โดยผู้เชี่ยวชาญทั้งจากภายในและต่างประเทศ

ข. แมลงตัวเบียน: เก็บตัวอย่างแมลงตามวิธีของ Peterson (1970, p. 24) ได้แก่นับโดยตรงจากการพบดักแด้ของตัวเบียนและแมลงตัวอาศัย เช่น เมื่อพบว่าเป็นแมลงเบียนที่ทราบชนิดแล้ว บันทึกข้อมูลชนิดแมลงศัตรูพืชที่เป็นตัวอาศัย ชนิดพืช วันที่ และสถานที่ บางส่วนที่มีชีวิตโดยเฉพาะหนอนผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera ที่ได้จากการสุ่มเก็บจากกอข้าวได้ถูกนำไปเพาะเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสทรงสี่เหลี่ยมขนาดต่างๆ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ เพื่อรอการตรวจผลการพบแมลงเบียนโดยอาจมีการจัดสภาพแวดล้อมภายในกล่องเพา ะเลี้ยง และ/หรือ ให้อาหารแก่แมลงที่ถูกเก็บมาตามความเหมาะสม เมื่อพบว่ามีแมลงตัวเบียนออกมาจากตัวอย่างแมลงศัตรูพืชนั้นๆ นับจำนวนแมลงที่พบว่าถูกเบียน และเก็บตัวอย่างแมลงเบียนที่พบในน้ำยาดองแมลงซึ่งประกอบด้วย เอธิล แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ในขวดแก้วใสขนาดเล็ก บันทึกข้อมูลชนิดของแมลงศัตรูพืชที่เป็นตัวอาศัย ชนิดพืช วันที่ และสถานที่ เพื่อการจำแนกชนิดโดยการตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ กับ กุญแจการจำแนกชนิด (identification keys) เอกสารอ้างอิงประกอบการจำแนกที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้แมลงตัวเบียนบางชนิด (ตัวผู้และตัวเมีย) ที่ไม่

สามารถวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์ได้ตามวิธีข้างต้น ได้ถูกส่งไปวิเคราะห์ชื่อวิทยาศาสตร์โดยผู้เชี่ยวชาญ ทั้งในและต่างประเทศ

ค. เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคของแมลงศัตรูพืช: เก็บตัวอย่างแมลงตามวิธีของ Lacey (1997, p. 1) สุ่มนับจำนวนของแมลงที่ติดเชื้อและที่ไม่ติดเชื้อโดยตรง ในกรณีที่เป็นเชื้อโรคที่ทราบชนิดแล้วและพบเป็นประจำ โดยมีวิธีการจำแนกเบื้องต้นในภาคสนาม และในกรณีของแมลงที่มีอาการผิดปรกติ และไม่ทราบชนิดของเชื้อโรคที่พบในภาคสนาม นำแมลงที่มีอาการผิดปรกติซึ่งไม่ทราบชนิดของเชื้อที่ได้รับ มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ ดังนี้

- เชื้อรา: เกิดโรคขึ้นได้กับทุกระยะของแมลง แมลงที่ตายจะแห้งและแข็ง อาจพบเส้นใยหรือไมซีเลียม (mycelium) หรือ สปอร์ เจริญอยู่บนซากเหยื่อ ในการเก็บตัวอย่างจะห่อด้วยกระดาษทิชชู แล้วใส่เก็บไว้ในกล่องพลาสติก ส่วนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ตรวจดูตัวอย่างของสปอร์และโครงสร้างสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากซากแมลงที่ตาย นอกจากนี้มีการ นำตัวอย่างที่เก็บจากแปลงเกษตรกร มาทำ dilution plate technique ด้วยการนำเส้นใยและ สปอร์ หรือส่วนสืบพันธุ์ต่างๆ ของเชื้อรา ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา มาละลายในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วทำการเจือจางแบบเป็นชุดลดหลั่นตามความเข้มข้น (series) จนถึงความเข้มข้น $1x10^{4}$ นำสารละลายดังกล่าวปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) หรือ Water Agar (WA) หรือ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) และทำการบ่ม (incubate) ในสภาพอุณหภูมิห้อง 20-25 องศาเซลเซียส ต่อจากนั้น 3-5 วัน เมื่อพบเชื้อราเจริญบนผิวอาหาร แยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธีการต่างๆ ต่อไป ทำการจำแนกชนิดของเชื้อราโดยอาศัยเอกสารอ้างอิงจาก Steinhaus (1967), Poinar and Thomas (1984), Tanada and Kaya (1993) รวมทั้งปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ
- แบคทีเรีย : ส่วนใหญ่มักเกิดโรคกับแมลงในระยะตัวอ่อน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหนอนของผีเสื้อในอันดับ Lepidoptera โดยตัวอ่อนยังคงมีสีปกติจนกระทั่งตาย และ เริ่มมีสีเข้มหรือสีน้ำตาลดำ เน่าเหม็น ตัวอ่อนที่ตายมักจะอ่อนนุ่ม แต่ไม่เละ การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการโดยจุ่มตัวแมลงใน เอธานอล 2-3 วินาที แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 3-4 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ผ่าตัดแมลงโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ป้าย (streak) ส่วนประกอบของร่างกายแมลงลงบนอาหารวุ้น เก็บไว้ในอุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจหาคริสตัลไลน์พาราสปอรัลบอดี้ (crystalline parasporal body) และ สปอร์

(spore) ใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยายสูงสุด (oil immersion, 100x) และ จำแนกชนิด ตาม Tanada and Kaya (1993) รวมทั้งปรึกษาผู้เชี่ยวชาญ

- ไวรัส: โรคไวรัสส่วนใหญ่เกิดขึ้นกับแมลงในระยะตัวอ่อน แมลงจะมีสีซีดและอ่อนนุ่มก่อนที่ จะตาย และเปลี่ยนเป็นสีเข้ม หนอนที่ติดเชื้อแบคคูโลไวรัส (baculovirus) จะห้อยหัวลงโดยใช้ขาเทียมเกาะส่วนของต้นพืชไว้ มองเห็นเป็นรูปตัววีหัวกลับ และมักมีของเหลวสีขาวมีกลิ่นเหม็นมาก ไหลเยิ้มออกมา การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการดำเนินการโดยใส่แมลงที่เป็นโรคในหลอดทดลองที่มีน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ทิ้งไว้จนอินคลูชั่นบอดี้ของไวรัส รวมตัวกันเป็นชั้นสีขาวที่ก้นหลอด แยกเอาของเหลวและซากแมลงรวมทั้งเซลล์ออก นำไปปลูกเชื้อในแมลงอาศัยที่แข็งแรงป รกติ โดยการใช้หนอนไหม (*Bombyx mori*) เพื่อยืนยันการก่อโรค และตรวจเนื้อเยื่อของแมลง ใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้สีย้อม Giemsa จะพบอินคลูชั่นบอดี้ของออคคลูดเด็ดไวรัส (occluded virus) หรือ nuclear polyhedrosis viruses (NPVs) จะมีโครงสร้างสีขาวสะท้อนแสงใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเฟสคอนทราสต์ และ ปรึกษาผู้เชี่ยวชาญเฉพาะ
- ไส้เดือนฝอย : สามารถเข้าทำลายแมลงได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต สามารถมองเห็นไส้เดือนฝอยผ่านผนังทางลำตัวของแมลงได้ หากเป็นไส้เดือนฝอยแรบดิติดส์ (rhabditids) จะทำให้แมลงตัวอาศัยเปลี่ยนเป็นสีเทา เช่น ไส้เดือนฝอยในสกุล *Steinernema* และ *Heterorhabditis* การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ดำเนินการโดยตรวจแมลงที่ตายเพื่อหาไส้เดือนฝอย โดยใช้เข็มและปากคีบเขี่ยตัวหนอนในจานทดลองที่มีน้ำกลั่นเล็กน้อย ไส้เดือนฝอยจะออกจากซากแมลง เลือกไส้เดือนฝอยสำหรับตรวจ และแยกนำไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเกลือ เมื่อไส้เดือนฝอยหยุดนิ่งเอาน้ำเกลือออก เติมน้ำยาสำหรับฟิกส์ตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ ประมาณ 55 องศาเซลเซียส ทำสไลด์ถาวร จากสารละลายที่ประกอบด้วย เอธานอล 96 เปอร์เซ็นต์ 20 ส่วน น้ำกลั่น 79 ส่วน และกลีเซอรัล 1 ส่วน ย้ายไส้เดือนฝอยที่ฟิกส์แล้วลงในสารละลาย และทิ้งไว้ 1 วัน เปลี่ยนสารละลายเป็นกลีเซอรัล 5 ส่วน และ เอธานอล 96 เปอร์เซ็นต์ 95 ส่วน ปล่อยให้ระเหยอย่างช้าๆ และปิดสไลด์ด้วยน้ำยาเคลือบเล็บเพื่อเก็บอย่างถาวรสำหรับอ้างอิง และจำแนกชนิดโดยอาศัยเอกสารอ้างอิง และปรึกษาผู้เชี่ยวชาญต่อไป
- โปรโตซัว: ก่อโรคกับแมลงได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต ตัวอ่อนแมลงที่ติดเชื้อมักจะเจริญเติบโตช้า เซื่องซึมและล้มป่วย (แต่การตายมักเกิดจากสาเหตุอื่นหรือโรคแทรกซ้อน) ตัวเต็มวัยที่ติดเชื้อมักจะไม่ค่อยแสดงอาการ แต่อาจมีขนาดและสีของ

ลำตัวผิดปรกติ ต้องเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์อย่างละเอียดในห้องปฏิบัติการ บันทึกข้อมูลชนิดแมลงศัตรูพืชที่เป็นตัวอาศัย ชนิดพืช วันที่ และสถานที่ที่พบ หรือหากยังไม่ทราบชนิด นำตัวอย่างแมลงศัตรูพืชที่พบจากจุดสำรวจ ตามจำนวนที่เก็บได้ในขนาดพื้นที่และเวลาที่กำหนด ใส่กล่องพลาสติกใสที่รองด้วยกระดาบทิชชู มาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการ

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนว ณหาจำนวนเฉลี่ยของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ และวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรที่พบ ในแต่ละช่วงการเจริญของข้าว รวมทั้งหาค่าเฉลี่ยรวม และวิเคราะห์ผลของระบบปลูก และการมีอิทธิพบร่วมระหว่างระบบปลูกและพื้นที่ศึกษา โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่น ที่ 99 % ตามวิธีของ LeClerg *et al*. (1966; pp. 161-183) จากนั้นวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงและขึ้นลง ของประชากรของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ ที่พบในนาข้าวในรอบปี 2554 โดยการนำค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรจากทุก 14 วัน ของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่สำคัญมาพ ลอตเป็นกราฟ ตามวิธีของ Price (1975; pp. 79-98) โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนประชากรเป็นแกนตั้ง (y) และระยะเวลาเป็นแกนนอน (x)

3.3.2 การวัดความหลากหลายทางชนิดของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

จัดการศึกษาเป็นแบบแฟกทอเรี pลในวางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Factorial Randomized Complete Block Design) ซึ่งประกอบด้วยสองปัจจัย ได้แก่ ระบบปลูกจำนวนสองระบบ คือ ระบบปลูกข้าวแบบ ใช้สารเคมี และ แบบอินทรีย์ และใช้วิธีการเก็บตัวอย่างตามวิธีในข้อ 3.3.1นำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจมาวิเคราะห์ปริมาณประชากรของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติ และคำนวณค่าดัชนีความหลากหลาย (diversity index) โดยมีสูตรในการคำนวณค่าดัชนีความหลากชนิด Shannon index of diversity (H') ตามวิธีของ Shanon-Weiner (Shannon and Weiner, 1949) ตามสูตรและรายละเอียด ต่อไปนี้

$$H' = -\sum_{i=1}^{S}(p_i \ln p_i)$$

หรือ

$$H' = -\sum_{i=1}^{S}(p_i \ln p_i) - [(S-1)/2N]$$

เมื่อ

H = ดัชนีความหลากชนิด (Richness index)

J = ดัชนีความสม่ำเสมอ (Evenness index)

Pi = สัดส่วนของจำนวนสิ่งมีชีวิตชนิดที่ *i* ต่อจำนวนสิ่งมีชีวิตทั้งหมดในประชากร

n = จำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมดในประชากร

n_i = จำนวน ชนิดของแมลง

S = จำนวนชนิด (species richness)

N = จำนวนแมลงที่พบทั้งหมดในแต่ละจุดสำรวจ

ศึกษาผลของระบบปลูก และอิ ทธิพลร่วมระหว่างระบบปลูกและพื้นที่ปลูก ต่อความหลากหลายทางชนิดของแมลงศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติโ ดยนำข้อมูลที่ได้มาคำนว ณหาจำนวนเฉลี่ยของดัชนีความหลากหลาย วิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ในแต่ละช่วงการเจริญของข้าว และค่าเฉลี่ยรวม และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยกำหนดค่าความเชื่อมั่น 99 % ตามวิธีของ Leclerg *et al*. (1966; pp. 161-183) จากนั้นวิเคราะห์ความ เปลี่ยนแปลงของดัชนีความหลากหลายของของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่พบในนาข้าวในรอบปี 2554 โดยการนำค่าเฉลี่ยจากทุก 14 วัน ของแมลงศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติที่สำคัญมาพ ลอตเป็นกราฟ ตามวิธีของ Price (1975; pp. 371-388) โดยมีค่าเฉลี่ยดัชนีความหลากหลายเป็นแกนตั้ง (y) และ ช่วงเวลาเป็นแกนนอน (x)

3.3.3 การศึกษาผลของความหลากหลายทางชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติในนาข้าว

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางชนิดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ ที่พบในนาข้าวที่ปลูกข้าวแบบปรกติและแบบอินทรีย์ โดยนำข้อมูลค่าเฉลี่ยความหลากหลายทางชนิดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์จากสมการถดถอย (regression) โดยการหาค่าสัมประสิทธิความสัมพันธ์ (regression coefficient) ระหว่าง ความหลากหลายทางชนิดของแมลงศัตรูข้าว (x) และ ความหลากหลายทางชนิดของศัตรูธรรมชาติในนาข้าว (y) ตามวิธีของ LeClerg *et al*. (1966; pp. 71-84)

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางชนิดของศัตรูธรรมชาติ กับระบบปลูกในนาข้าว ที่ปลูกข้าวแบบปรกติและแบบอินทรีย์ โดยนำข้อมูลค่าเฉลี่ยความหลากหลายทางชนิดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติ มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์จากสมการถดถอย (regression) โดยการหาค่าสัมประสิทธิความสัมพันธ์ (regression coefficient) ระหว่าง ระบบปลูก (x) และความหลากหลายทางชนิดของศัตรูธรรมชาติในนาข้าว (y) ตามวิธีของ LeClerg *et al*. (1966; pp. 71-84)

ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางชนิดของศัตรูธรรมชาติ กับผลผลิตข้าวในนาข้าวที่ปลูกข้าวแบบปรกติและแบบอินทรีย์ โดยนำข้อมูลค่าเฉลี่ยความหลากหลายทางชนิดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติธรรมชาติมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์จากสมการถดถอย (regression) โดยการหาค่าสัมประสิทธิความสัมพันธ์ (regression coefficient) ระหว่าง ความหลากหลายทางชนิดของศัตรูธรรมชาติในนาข้าว (x) และ ผลผลิตข้าว (y) ตามวิธีของ LeClerg *et al*. (1966; pp. 71-84)

3.4 การเผยแพร่ข้อมูลเกี่ยวกับบทบาทของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี

เผยแพร่ข้อมูลเกี่ยวกับบทบาทของการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี และความเข้าใจเกี่ยวกับการควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี ให้เกษตรกร นักเรียน นิสิต นักศึกษา และ หน่วยงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในด้านการควบคุมแมลงศัตรูพืช รวมทั้งศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีทางการเกษตรระดับท้องถิ่น โดยผ่านทางรายงานวิชาการ เอกสารแนะนำ เอกสารเผยแพร่ รายการวิทยุ และโทรทัศน์ระบบออนไลน์ ตามงบประมาณ และ ความเหมะสม