BRT 539027

ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง Tropilaelaps clarea และต่อนกกางในน้ำผึ้ง

นางสาวบี่บรัศน์ นาควิโรฒน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-817-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* และส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง

โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย
c/o ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
อาคารสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
73/1 ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี
กรุงเทพฯ 10400

RECEIVED
BY F 8 ต.ค. 2540 DATE

นางสาวปิยรัตน์ นาควิโรจน์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-817-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

TOXICITY OF MENTHOL, THYMOL AND NEEM OIL ON A BEE MITE, *Tropilaelaps clareae*, AND THEIR RESIDUES IN HONEY

Miss Piyarat Nakawiroat

A Thesis Submitted In Partial fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Zoology
Department of Biology
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 1996

ISBN 974-636-817-6

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* และส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง
โดย	นางสาวปิยรัตน์ นาควิโรจน์
ภาควิชา	ชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร.สุรพล วิเศษสรรค์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ศุภวัฒน์ ชุติวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. วิทยา ยศยิ่งยวด)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. สุรพล วิเศษสรรค์)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ จริยา เล็กประยูร)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

ปิยรัตน์ นาควิโรจน์ : ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* และส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง (TOXICITY OF MENTHOL, THYMOL AND NEEM OIL ON A BEE MITE, *Tropilaelaps clareae*, AND THEIR RESIDUES IN HONEY) อ. ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, อ. ที่ปรึกษาร่วม : ดร. สุรพล วิเศษสรรค์ ; 91 หน้า. ISBN 974-636-817-6.

ศึกษาความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* ในห้องปฏิบัติการโดยวิธีวางให้สารระเหยและประเมินค่าความเป็นพิษในรูปของ LC_{50} ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์โปรบิท พบว่าค่า LC_{50} (24 ชั่วโมง)ของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาเท่ากับ 4.72, 1.23, และ1.37 ppm ตามลำดับ

ศึกษาประสิทธิภาพของ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* ในรังผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* ประกอบด้วย 5 การทดลองคือ เมนทอล 50 กรัม(วางระเหยในรัง) ไทมอล 15 กรัม(วางระเหยในรัง) น้ำมันสะเดา 20% (ยกคอนผึ้งขึ้นฉีด) emulsifier และน้ำ (ยกคอนผึ้งขึ้นฉีด) และกลุ่มควบคุม ผลการทดลองปรากฏว่าเมนทอลใช้ได้ผลน้อยกว่าไทมอล และน้ำมันสะเดา ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์ที่ไรเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งสัปดาห์สุดท้ายของการทดลองเท่ากับ 29.0%, 23.8% และ 18.1% ตามลำดับ โดยมีความแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในสัปดาห์ที่ 0-3 ของการทดลอง

ศึกษาส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง พบว่าเมนทอล ไทมอล และ Azadirachtin (ในน้ำมันสะเดา) ตกค้างในน้ำผึ้งโดยเฉลี่ย 7.56, 5.72, และ 0.16 ppm ตามลำดับ

ภาควิชา ชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ปิยรัตน์ นาควิโรจน์

สาขาวิชา สัตววิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

C625255 : MAJOR ZOOLOGY
KEY WORD:

MENTHOL / THYMOL / NEEM OIL / *Tropilaelaps clareae* / *Apis Mellifera*

PIYARAT NAKAWIROAT : TOXICITY OF MENTHOL, THYMOL AND NEEM OIL ON A BEE MITE, *Tropilaelaps clareae*, AND THEIR RESIDUES IN HONEY. THESIS ADVISOR : PROF. SIRIWAT WONGSIRI, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : SURAPHON VISETSON, Ph.D. 91 pp.
ISBN 974-636-817-6.

Toxicity of menthol, thymol and neem oil on a bee mite (*Tropilaelaps clareae*) were investigated by using inhalation method in laboratory. The LC_{50} values were evaluated and analysed by probit programe. The LC_{50} (24 hours) of menthol, thymol, and neem oil were 4.72, 1.23 and 1.37 ppm respectively.

The efficiency of menthol, thymol and neem oil for control of the bee mite(*Tropilaelaps clareae*) were examined in *Apis mellifera* hives. Experiments were comprised of 5 treatments : menthol 50 grams(inhalation); thymol 15 grams(inhalation); neem oil 20%(spraying each frame); emulsifier and water(spraying each frame); and a control group (no treatment). The percentage of larvae and pupae mortality by the bee mite were 29.0%, 23.8% and 18.1% respectively. This result shows that menthol is less effective to *Tropilaelaps clareae* than thymol and neem oil show significant difference from the control group ($P<0.05$).

Menthol, thymol, and Azadirachtin(in neem oil) residues in honey were 7.56, 5.72, and 0.16 ppm respectively.

ภาควิชา ชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต ปิยรัตน์ นาควิโรจน์

สาขาวิชา สัตววิทยา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

ปีการศึกษา 2539 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี จากความช่วยเหลือจากหลายๆฝ่าย ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ศาสตราจารย์ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ อาจารย์ที่ปรึกษา และ ดร. สุรพล วิเศษสรรค์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือต่างๆ และตรวจแก้วิยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วิทยา ยศยิ่งยวด หัวหน้าภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และรองศาสตราจารย์ จริยา เล็กประยูร ที่กรุณาให้คำแนะนำ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดส์ ภาควิชาชีววิทยา ม. นเรศวร เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการวิจัย และเอื้อเฟื้ออุปกรณ์การทดลอง คณะเกษตรศาสตร์ ม. นเรศวร จ. พิษณุโลก ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการวิจัย อาจารย์ อุบลวรรณ บุญฉ่ำ ภาควิชาชีววิทยา ม. นเรศวร ที่เอื้อเฟื้อที่พักตลอดการทดลอง พร้อมทั้งให้คำแนะนำและเอกสารต่างๆ กองวัตถุมีพิษที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัย

ขอขอบคุณ คุณชุติกานต์ กิจประเสริฐ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำในการวิจัยเป็นอย่างดี คุณพุฒนา รุ่งระวี ฝ่ายวิชาการสถิติกองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร ที่กรุณาช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์ คุณชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี และคุณมานะ สุวรรณรักษ์ กองวัตถุมีพิษ กรมวิชาการเกษตร ที่ให้คำแนะนำในการวิจัย คุณสุรชัย ลีพิทักษ์รัตน์ ที่ให้คำแนะนำและถ่ายรูปประกอบการวิจัย รวมทั้งเพื่อนๆที่มีส่วนช่วยเหลือในการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย(สกว.-ศช/สวทช) ระหัส BTR 539027 , โครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์ ทบวงมหาวิทยาลัย , ทุนอุดหนุนการวิจัยของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จึงขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง คุณพ่อ คุณแม่ น้องๆที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือในการศึกษามาโดยตลอด รวมถึงอาจารย์ทุกๆท่านที่อบรมสั่งสอน ให้ความรู้แก่ผู้วิจัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....จ
กิตติกรรมประกาศ.....ฉ
สารบัญ.....ช
สารบัญตาราง.....ซ
สารบัญภาพ.....ฌ
บทที่
1 บทนำ.....1
2 บทสอบสวนเอกสาร.....3
3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....23
4 ผลการทดลอง.....35
5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....55
6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....60
รายการอ้างอิง.....62
ภาคผนวก ก.....70
ภาคผนวก ข.....82
ประวัติผู้เขียน.....91

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงระยะเวลาของการเจริญเติบโตของไร *T. clareae* เมื่อเลี้ยงในสภาพนอกรังผึ้งที่อุณหภูมิ 34±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณร้อยละ 75 10

4.1 ความเป็นพิษของเมนทอลต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง 36

4.2 ความเป็นพิษของไทมอลต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง 37

4.3 ความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง 38

4.4 แสดงจำนวนผึ้งที่ตายใน 24 ชั่วโมงเมื่อใช้น้ำมันสะเดาความเข้มข้นต่างๆ 39

4.5 แสดงการสรุปผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT 40

4.6 แสดงส่วนตกค้างในน้ำผึ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง 54

ก-1 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 0 -1 ของการทดลอง 74

ก-2 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-1 75

ก-3 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 1-2 ของการทดลอง 76

ก-4 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-3 77

ก-5 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 2-3 ของการทดลอง 78

ก-6 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-5 79

ก-7 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 3-4 ของการทดลอง 80

ก-8 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-7 81

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 การแพร่กระจายของไรทรอปิลีแลปส์....5
2.2 ลักษณะของไร *T. clareae* 7
2.3 วงชีวิตของไร *T. clareae* 8
2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างวงชีวิตของไร *T. clareae* กับพัฒนาการของผึ้ง....9
2.5 ไร *T. clareae* เกาะบนดักแด้ผึ้ง....11
2.6 ลักษณะผึ้งที่พิการจากการทำลายของไร *T. clareae* 12
2.7 ตะแกรงตรวจไร....14
2.8 การตรวจไรโดยการเจาะหลอดปิด....16
2.9 วิธีการสกัดหรืออัดบีบน้ำมันสะเดาวิธีการต่างๆ....21
3.1 สารที่ใช้ในการทดลอง(emulsifier, น้ำมันสะเดา, ไทมอล, เมนทอล)....31
3.2 รังผึ้งพันธุ์ที่ใช้ทดลอง (สถานที่ ม.นเรศวร พิษณุโลก)....31
3.3 การใช้ตะแกรงคำนวณประชากรผึ้ง....32
3.4 การสอดตะแกรงตรวจไรบนฐานรังผึ้ง....32
3.5 การใช้เมนทอลในไรผึ้ง....33
3.6 การใช้ไทมอลในไรผึ้ง....33
3.7 การฉีดน้ำมันสะเดาบนคอนผึ้ง....34
4.1 แสดงความเป็นพิษของเมนทอลต่อไร *T. clareae* 36
4.2 แสดงความเป็นพิษของไทมอลต่อไร *T. clareae* 37
4.3 แสดงความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* 38
4.4 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มควบคุม....43
4.5 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้ emulsifier และน้ำ....44
4.6 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้เมนทอล....45
4.7 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้ไทมอล....46

4.8 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้น้ำมันสะเดา.....47
4.9 แสดงจำนวนไร *T. clareae* ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของทุกกลุ่มการทดลอง.....48
4.10 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มควบคุม.....49
4.11 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้ emulsifier และน้ำ.....50
4.12 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้เมนทอล.....51
4.13 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้ไทมอล.....52
4.14 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้น้ำมันสะเดา.....53

บทที่ 1

บทนำ

ผึ้ง (honey bees) เป็นแมลงที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์มากเพราะช่วยผสมเกสรดอกไม้นานาชนิด ทำให้ได้ผลผลิตสูง และก่อให้เกิดประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมเกษตรให้ผลผลิตได้แก่ น้ำผึ้ง ไขผึ้ง เกสร และรอยัลเยลลี่ (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, 2532) ปัจจุบันผึ้งสกุล *Apis* ในประเทศไทยมีอยู่ 5 ชนิดคือ

1. ผึ้งหลวง (*Apis dorsata*)
2. ผึ้งโพรง (*Apis cerana*)
3. ผึ้งมิ้ม (*Apis florea*)
4. ผึ้งมิ้มเล็ก (*Apis andreniformis*)
5. ผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ซึ่งในปัจจุบันการเลี้ยงผึ้งในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งผึ้งพันธุ์มีการเลี้ยงเพิ่มขึ้นอย่างมากจนกลายเป็นอุตสาหกรรมเกษตรที่สำคัญประเภทหนึ่ง (Wongsiri et al. ,1996; Wongsiri and Chen, 1995)

ปัญหาสำคัญในการเลี้ยงผึ้งที่พบอยู่เสมอในประเทศไทยคือไรศัตรูผึ้ง(*Tropilaelaps clareae)* เข้าดูดกินเลือดของตัวอ่อนและดักแด้ของผึ้ง (Tangkanasing et al. , 1988) ตัวอ่อนของผึ้งที่ถูกไรชนิดนี้เข้าทำลายจนไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ พบว่าตัวผึ้งจะตายอยู่ภายในหลอดรวง ในบางกรณีที่สามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ ก็จะแสดงลักษณะพิการให้เห็นชัดเจน โดยส่วนของปีกจะกุดสั้นผิดไปจากผึ้งปกติ ผึ้งจะไม่สามารถบินออกไปหาอาหารได้ (ชุติกานต์ กิจประเสริฐ, 2527) ไรทรอปิลีแลปส์เป็นไรปรสิตประจำของผึ้งหลวง และเมื่อมีการนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงกันในทวีปเอเชียพบว่าไรชนิดนี้เข้าทำอันตรายผึ้งพันธุ์ด้วย (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ,2532) โดยทั่วไปเกษตรกรผู้เลี้ยงผึ้งใช้สารเคมีสังเคราะห์กำจัดไรโดยตรง เช่น โฟลเบกซ์วีเอ (Folbex VA) , กำมะถันผสมกับลูกเหม็น ในอัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก เป็นต้น ซึ่งสารเคมีเหล่านี้อาจเป็นอันตรายต่อผึ้งและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ รวมทั้งมีผลต่อปัญหาสารพิษตกค้างในน้ำผึ้งอีกด้วย(สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530) แนวทางหนึ่งที่จะลดปัญหาเหล่านี้ได้คือการนำสารสกัดจากพืชมาทดลองใช้ในการป้องกันกำจัดไรศัตรูผึ้งแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์

เมนทอลเป็นสารที่ได้จากน้ำมันสะระแหน่(peppermint oil) หรือ mint oil อื่นๆ ใช้เป็นยาฆ่าเชื้อ แก้ไอ ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น ลูกกวาด บุหรี่ ส่วนไทมอลเป็นสารชนิดหนึ่งที่สกัดจากพืชพวกกะเพรา *Thymus vulgaris* L. และ *Monarda punctata* L. มีกลิ่นฉุนใช้ในการกำจัดราและแบคทีเรีย (Budavari, 1989) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารแต่งกลิ่นธรรมชาติในอาหารและยาอีกด้วย (Marchetti and Barbattini, 1984) น้ำมันสะเดาเป็นน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วย tiglic acid, azadirachtin, nimbidin, nimbin, nimbinin และ gum (บัณฑิต ดำรักษ์, 2526) ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันสะเดาคล้ายน้ำมันพืช มีกรดไขมันพวก oleic , stearic , linoleic และ palmitic acid นอกจากนี้น้ำมันสะเดายังมีกลิ่นเหม็นฉุนเพราะมีสารประกอบพวกซัลเฟอร์ด้วย(National Research Council, 1992) ในทางเกษตรใช้น้ำมันสะเดาในการไล่แมลง(repellent) และยับยั้งการกิน (antifeedant)ของแมลง (Budavari, 1989) น้ำมันสะเดามีผลยับยั้งการกินอาหารของไรสนิมส้ม (citrus red mite), ไรแดง (two spotted spider mite) และเพลี้ยอ่อนของถั่ว (bean aphid)(Jacobson et al. , 1978; Schauer and Schmutterer, 1981; Dimetry and Schmidt, 1992)

การศึกษาความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอลและน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* และส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง นับว่าเป็นเรื่องที่น่าสนใจต่อการศึกษาวิจัยเป็นอย่างยิ่งเพราะยังขาดแคลนงานวิจัยทางด้านนี้อยู่มาก ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปเป็นแนวทางในการกำจัดไรศัตรูผึ้ง โดยใช้สารสกัดจากพืชซึ่งปลอดภัยต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อมในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นพิษของ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง *Tropilaelaps clareae* และส่วนตกค้างในน้ำผึ้ง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัยนี้

เพื่อเป็นแนวทางในการกำจัดไร *Tropilaelaps clareae* โดยใช้สารสกัดจากพืช

บทที่ 2

บทสอบสวนเอกสาร

การเลี้ยงผึ้งพันธุ์ในประเทศไทย

มนุษย์รู้จักการนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงเป็นเวลานับพันปีมาแล้ว ตั้งแต่ครั้งอียิปต์โบราณเป็นต้นมา ในประเทศไทยมีรายงานการนำผึ้งพันธุ์จากต่างประเทศเข้ามาครั้งแรกที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประมาณปี พ.ศ. 2483 (ศุภชัย วาณิชวัฒนา, 2483) แต่ในระยะแรกๆการเลี้ยงผึ้งพันธุ์ไม่ประสบความสำเร็จเนื่องจากมีปัญหาทางด้านไรศัตรูผึ้ง และยังขาดความรู้พื้นฐานทางด้านชีววิทยาไรศัตรูผึ้งและการจัดการผึ้งที่เหมาะสม

การเลี้ยงผึ้งเป็นอุตสาหกรรมในประเทศไทยเริ่มกันอย่างจริงจังประมาณปี พ.ศ. 2520 โดยบริษัทเอกชนและประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์ผึ้ง และผลผลิตน้ำผึ้ง (พิทักษ์ พลนุรักษ์, 2527; แสนนัด หงษ์ทรงเกียรติ, 2531; Wongsiri and Chen, 1995) การเลี้ยงผึ้งพันธุ์เป็นที่นิยมของเกษตรกรในประเทศไทยเนื่องจากเป็นอาชีพที่ให้ผลตอบแทนสูง (กานดา อุตตมะดิลก, 2526)

ไรทรอปิลีแลปส์ (*Tropilaelaps clareae* Delfinado and Baker,1961)

ก. ประวัติทั่วไป

ไรทรอปิลีแลปส์ได้รับการตั้งชื่อเป็นครั้งแรกโดย Delfinado and Baker(1961) จากไรตัวอย่างที่เก็บจากรังหนูและผึ้งพันธุ์ในประเทศฟิลิปปินส์ และสันนิษฐานว่าชีววิทยาของไรทรอปิลีแลปส์คงมีความสัมพันธ์กับหนู เพราะมีการพบไรชนิดนี้ในรังหนูที่อยู่ในบริเวณลานเลี้ยงผึ้งในประเทศฟิลิปปินส์

นอกจากไรทรอปิลีแลปส์จะเป็นศัตรูที่สำคัญของผึ้งพันธุ์แล้ว ยังพบว่าเป็นปรสิตหรือตัวเบียนภายนอกของผึ้งหลวงด้วย ในปีค.ศ. 1967 มีการพบไรทรอปิลีแลปส์ในรังผึ้งหลวง

เป็นครั้งแรกที่ประเทศอินเดีย (Bharadwaj , 1968) นอกจากนั้น Laigo และ Morse (1968) พบไรชนิดนี้ในรังผึ้งหลวงเช่นกันที่ประเทศฟิลิปปินส์ พงศ์เทพ อัครธนกุล(2526) เชื่อว่าไรชนิดนี้เดิมเป็นศัตรูธรรมชาติของผึ้งหลวงอยู่ก่อน เมื่อมีการนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงกันในทวีปเอเชียจึงระบาดมาสู่ผึ้งพันธุ์

ในปี ค.ศ. 1982 มีรายงานการพบไรทรอปิลีแลปส์ชนิดใหม่คือ *Tropilaelaps koenigerum* ซึ่งเป็นตัวเบียนภายนอกของผึ้งหลวงที่ประเทศศรีลังกา(Delfinado-Baker and Baker, 1982) ต่อมาพบไรชนิดนี้ในรังของผึ้ง *Apis laborisa* ที่ประเทศเนปาล(Delfinado-Baker,Underwood and Baker,1985) และพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทย จากไรตัวอย่างที่เก็บบนรังผึ้งหลวงในจังหวัดจันทบุรี สมุทรสาคร (ข้อมูลส่วนตัวจาก จริยา เล็กประยูร, 2540)

ไรทรอปิลีแลปส์เป็นตัวเบียนของผึ้ง 4 ชนิดคือ ผึ้งพันธุ์, ผึ้งโพรง, ผึ้งหลวง และ *Apis laboriosa* ซึ่งผึ้งชนิดสุดท้ายมีเฉพาะที่ประเทศเนปาลเท่านั้น (Delfinado-Baker and Styer, 1983; Delfinado-Baker et al., 1985)

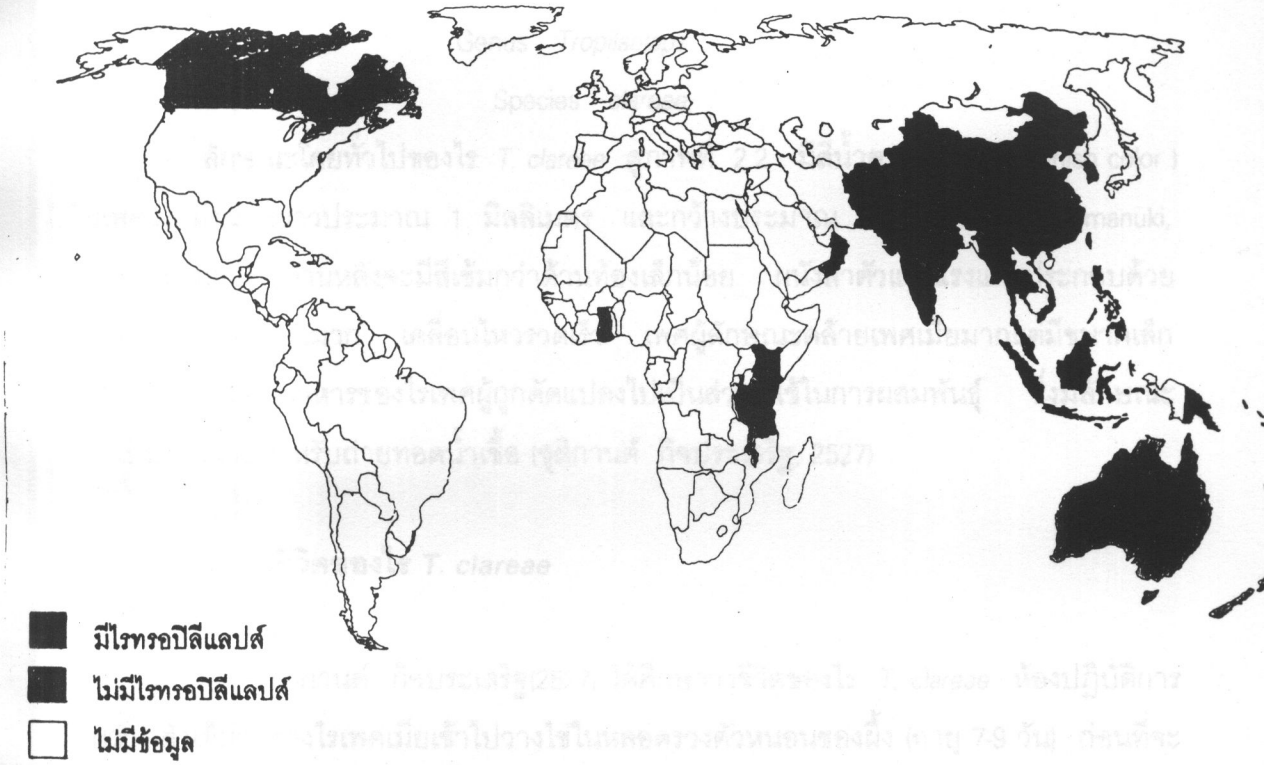
ในประเทศไทยพงศ์เทพ อัครธนกุล พบไร *T. clareae* เป็นครั้งแรกในปีพ.ศ. 2520 และพบว่าปัญหาไรศัตรูผึ้งของเขตเลี้ยงผึ้งพันธุ์ในภาคเหนือเป็นปัญหาที่เกิดจากไร *T. clareae* มากกว่าไรวาร์โอ (พงศ์เทพ อัครธนกุล, 2526) มีนักวิทยาศาสตร์บางท่านสันนิษฐานว่า ไรศัตรูผึ้งโดยเฉพาะไร *T. clareae* อาจเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้การนำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงในประเทศไทยในครั้งแรกๆไม่ประสบความสำเร็จ (Sylvester and Wongsiri, 1986)

ข. เขตแพร่กระจาย

ปัจจุบันเขตแพร่กระจายของไรทรอปิลีแลปส์ มิได้มีขอบเขตเฉพาะในเอเชียตอนใต้เท่านั้น โดยพบในประเทศต่อไปนี้ เคนยา, อาฟกานิสถาน, ภูฏาน, อินเดีย, เนปาล, ปากีสถาน, พม่า, จีน, ฮ่องกง, อินโดนีเซีย, เกาหลีใต้, มาเลเซีย, ฟิลิปปินส์, ไต้หวัน, ไทย, เวียดนาม, ปาปัวนิวกินี (Matheson, 1993) ดูภาพที่ 2.1

ค. การจัดหมวดหมู่ทางอนุกรมวิธาน

ตามหลักการจัดหมวดหมู่ไร *T. clareae* ตามระดับทางอนุกรมวิธานของ Krantz (1978) สามารถจัดไรทางอนุกรมวิธานได้ดังนี้



ภาพที่ 2.1 การแพร่กระจายของไรทรอปิลีแลปส์

Class Arachnida

Subclass Acari

Order Parasitiformes

Suborder Gamasida (= Mesostigmata)

Superfamily Dermanyssoidea

Family Laelapidae

Genus *Tropilaelaps*

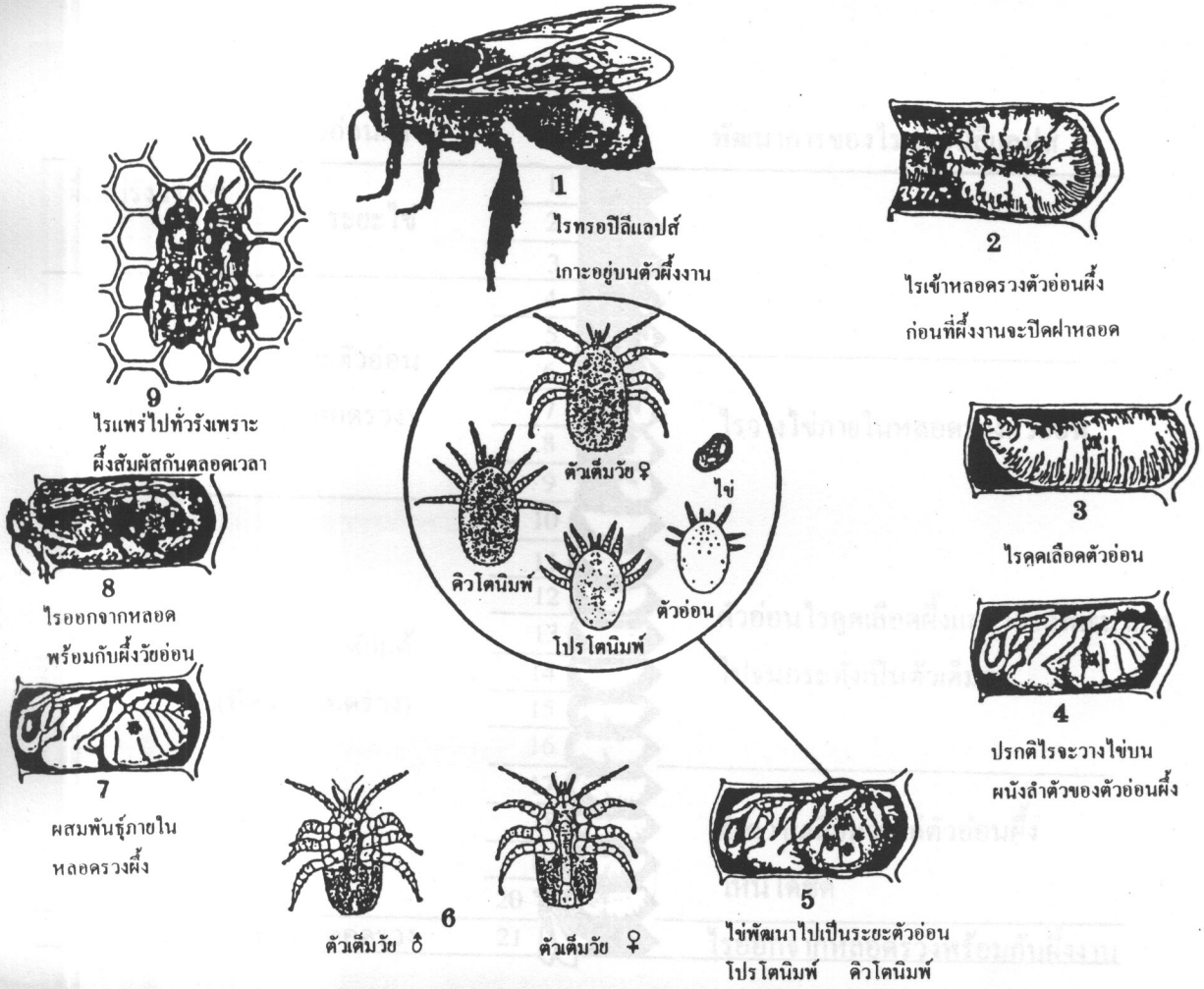
Species *clareae*

ลักษณะโดยทั่วไปของไร *T. clareae* ดูภาพที่ 2.2 มีสีน้ำตาลอ่อน (brownish color) ในเพศเมียมีขนาดยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร และกว้างประมาณ 0.6 มิลลิเมตร (Shimanuki, and Knox, 1991) ด้านหลังจะมีสีเข้มกว่าด้านท้องเล็กน้อย ผนังลำตัวแข็งแรงและประกอบด้วยเส้นขนอยู่เป็นจำนวนมาก เคลื่อนไหวรวดเร็ว เพศผู้ลักษณะคล้ายเพศเมียมากแต่มีขนาดเล็กกว่า อวัยวะกินอาหารของไรเพศผู้ถูกดัดแปลงไปเป็นส่วนที่ใช้ในการผสมพันธุ์ ซึ่งมีลักษณะยาวเป็นทางผ่านสำหรับถ่ายทอดน้ำเชื้อ (ชุติกานต์ กิจประเสริฐ, 2527)

ง. วงชีวิตของไร *T. clareae*

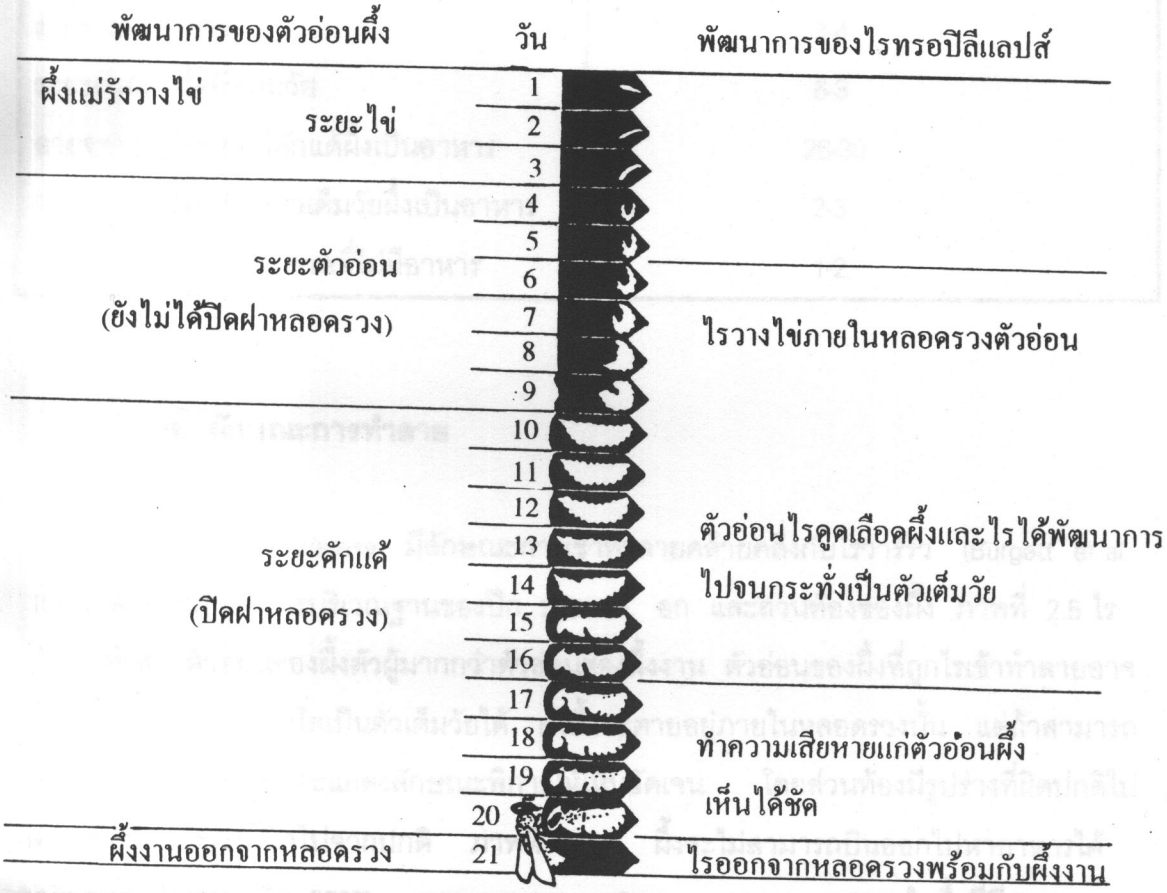
ชุติกานต์ กิจประเสริฐ(2527) ได้ศึกษาวงชีวิตของไร *T. clareae* ห้องปฏิบัติการ พบว่า ตัวเต็มวัยของไรเพศเมียเข้าไปวางไข่ในหลอดรวงตัวหนอนของผึ้ง (อายุ 7-9 วัน) ก่อนที่จะถูกปิดฝาหลอดรวง โดยทั่วไปไรสามารถวางไข่ได้ 1-3 ฟอง และมักจะวางไข่ติดอยู่กับผนังหลอดรวงหรือบนลำตัวของผึ้ง ไข่จะฟักออกเป็นตัวอ่อนระยะ larva ซึ่งมี 6 ขาใช้เวลา 1-1.5 วัน แต่ในบางครั้งไรตัวแม่สามารถออกลูกเป็น larva ได้โดยตรง จากระยะ larva ไรจะเจริญเป็นระยะ protonymph ซึ่งมี 8 ขาใช้เวลา 1-2 วัน จำนวนวันที่ไรอยู่ในระยะ protonymph ก่อนจะมีการลอกคราบเพื่อเจริญเป็นระยะ deutonymph นั้นใช้เวลา 2-3 วัน deutonymph ลักษณะคล้าย protonymph เพียงแต่มีขนาดใหญ่กว่า ต่อจาก deutonymph มีการลอกคราบอีก 1 ครั้งเพื่อเป็นตัวเต็มวัย ระยะ deutonymph ใช้เวลา 3-4 วัน รวมระยะเวลาจาก larva เจริญเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 6-8 วัน นอกจากนี้ชุติกานต์ยังได้ศึกษาช่วงอายุของตัวเต็มวัยของไร *T. clareae* ในสภาพที่มีอาหารและไม่มีอาหารแสดงในตารางที่ 2.1 การผสมพันธุ์ของไรจะเกิดขึ้นภายในหลอดรวงหรือบริเวณพื้นผิวรวงผึ้ง หลังจากการผสมพันธุ์แล้ว ไรเพศผู้จะมีชีวิตอยู่ได้ไม่ถึง 1 วัน เนื่องจากอวัยวะที่ใช้ในการดูดกินอาหารได้เปลี่ยนเป็นอวัยวะช่วยในการผสมพันธุ์ ส่วนไรเพศเมียจะหาหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้งระยะก่อนปิดฝาหลอดรวงเพื่อวางไข่ขยายพันธุ์ต่อไป

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของไร *T. clareae*



ภาพที่ 2.3 **วงชีวิตของไร** *T. clareae* (สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530)

ชุติกานต์ (2527) ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างวงชีวิตของไร *T. clareae* กับพัฒนาการของผึ้ง ดังภาพที่ 2.4 โดยที่ไรได้ผ่านขั้นตอนการเจริญเติบโตในระยะต่างๆเสร็จสิ้นก่อนที่ผึ้งจะเจาะหลอดรวงออกมา



ภาพที่ 2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างวงชีวิตของไร *T. clareae* กับพัฒนาการของผึ้ง (ชุติกานต์ กิจประเสริฐ, 2527)

ตารางที่ 2.1 ระยะเวลาของการเจริญเติบโตของไร *T. clareae* เมื่อเลี้ยงในสภาพนอกรังผึ้งที่อุณหภูมิ34±1องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณร้อยละ 75 (ชุติกานต์ กิจประเสริฐ, 2527)

ระยะการเจริญเติบโต	ระยะเวลาโดยประมาณ(วัน)
ไข่	1-1.5
ระยะ larva	1-2
ระยะ protonymph	2-3
ระยะ deutonymph	3-4
ระยะตัวอ่อนถึงตัวเต็มวัย	6-8
อายุของตัวเต็มวัยที่มีดักแด้ผึ้งเป็นอาหาร	26-30
อายุของตัวเต็มวัยที่มีตัวเต็มวัยผึ้งเป็นอาหาร	2-3
อายุของตัวเต็มวัยในสภาพที่ไม่มีอาหาร	1-2

จ. ลักษณะการทำลาย

ไร *T. clareae* มีลักษณะการเข้าทำลายคล้ายคลึงกับไรวาร์รัว (Burgett et al. 1983) ส่วนมากจะพบไรบริเวณฐานของปีก, ระยางค์, อก และส่วนท้องของผึ้ง ภาพที่ 2.5 ไรมักเข้าทำลายตัวอ่อนของผึ้งตัวผู้มากกว่าตัวอ่อนของผึ้งงาน ตัวอ่อนของผึ้งที่ถูกไรเข้าทำลายอาจจะไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยได้ ตัวผึ้งจะตายอยู่ภายในหลอดรวงนั้น แต่ถ้าสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ก็จะแสดงลักษณะพิการให้เห็นชัดเจน โดยส่วนท้องมีรูปร่างที่ผิดปกติไป ส่วนของปีกจะกุดสั้นผิดไปจากปกติ ภาพที่ 2.6 ผึ้งจะไม่สามารถบินออกไปหาอาหารได้ (ชุติกานต์ กิจประเสริฐ, 2527) จากรายงานของ Burgett และคณะ (1983) ในผึ้งที่มีการระบาดของไร *T. clareae* อย่างหนักมักจะมีผึ้งถูกทิ้งใกล้ทางเข้ารัง ซึ่งเป็นพฤติกรรมทำความสะอาดของผึ้งงานที่สามารถกำจัดไรได้เอง Burgett และคณะทำการสำรวจการเข้าทำลายของไร *T. clareae* ในประเทศไทยพบว่า ตัวอ่อนของผึ้งงานที่ถูกไรเข้าทำลายอยู่ในระหว่าง 10%- 90% ส่วนตัวอ่อนของผึ้งตัวผู้ที่ถูกไรเข้าทำลายอยู่ในระดับที่สูงถึงร้อยละ 80-90 และจำนวนสูงสุดของไรที่พบภายในหลอดรวงตัวอ่อนของผึ้ง มีตัวเต็มวัยไรถึง 14 ตัว และระยะก่อนตัวเต็มวัย 10 ตัว ทั้งไร *T. clareae* และวาร์รัวสามารถอยู่ร่วมกันในหลอดรวงเดียวกันได้ แต่ไร *T. clareae* จะประสบความสำเร็จในการเพิ่มประชากรมากกว่าไรวาร์รัว รังผึ้งที่ถูกไรทั้งสองเข้าทำลายจำนวนไร *T. clareae* จะมากกว่าไรวาร์รัว 25:1 Laigo และ Morse (1968) ได้อธิบายลักษณะการเข้า

ทำลายของไร *T. clareae* ในรังผึ้งหลวงว่าคล้ายคลึงกับในรังผึ้งพันธุ์อย่างมาก ไรสามารถเพิ่มจำนวนประชากรอย่างรวดเร็วในรังผึ้งหลวง จากการสำรวจผึ้งหลวงทั้งหมด 8 รัง พบว่าถูกไรทำลายถึง 7 รัง และอาจเป็นไปได้ว่าผึ้งหลวงที่ถูกไรเข้าทำลายไปขโมยน้ำผึ้งในรังผึ้งพันธุ์ จึงนำเอาไรเข้าไปยังรังผึ้งพันธุ์ด้วย

ภาพที่ 2.5 ไร *T. clareae* เกาะบนดักแด้ผึ้ง

ภาพที่ 2.6 ลักษณะผึ้งที่พิการจากการทำลายของไร *T. clareae*

ฉ. การระบาดของไร

ไร *T. clareae* มีถิ่นกำเนิดดั้งเดิมอยู่ในทวีปเอเชีย และเป็นศัตรูธรรมชาติของผึ้งหลวง (Zmarlicki,1984) จากการที่นำผึ้งพันธุ์มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มผลผลิต ไร *T. clareae* จึงระบาดมาสู่ผึ้งพันธุ์ การระบาดของไรจากผึ้งหลวงมาสู่ผึ้งพันธุ์เชื่อว่ามีสาเหตุมาจากการที่ผึ้งหลวงที่มีไรเกาะติดอยู่มาขโมยน้ำหวานในรังผึ้งพันธุ์ หรือผึ้งพันธุ์ไปขโมยน้ำหวานในรังผึ้งพื้นเมืองแล้วติดไรกลับไป (พงศ์เทพ อัครธนกุล, 2526; Laigo and Morse, 1968)

ชุติกานต์ กิจประเสริฐ (2527)ได้สังเกตพฤติกรรมของตัวเต็มวัยของไร *T. clareae* เพศเมียที่เกาะติดกับผึ้งงานที่บินออกหาอาหาร สันนิษฐานได้ว่าเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไรแพร่ระบาดไปยังรังผึ้งในบริเวณใกล้เคียง เนื่องจากขณะที่ผึ้งงานบินออกหาอาหาร ไรอาจตกอยู่บนดอกไม้ เมื่อผึ้งตัวอื่นมาที่ดอกไม้นั้นโอกาสที่ไรจะเกาะติดไปกับผึ้งรังอื่นย่อมเกิดขึ้นได้

ช. การตรวจสอบปริมาณไร

การตรวจสอบปริมาณไรในรังมีความสำคัญมากทีเดียว ในการป้องกันกำจัดไรให้ทันท่วงทีก่อนที่จะนำความเสียหายมาสู่ผู้เลี้ยงผึ้ง การตรวจสอบปริมาณไรมีหลายวิธีดังต่อไปนี้

1. การตรวจไรโดยใช้ตะแกรงตรวจไร

เป็นวิธีตรวจสอบปริมาณไรที่นิยมใช้เพราะสะดวกและได้ผลดี ดูภาพที่ 2.7 ตะแกรงตรวจไรอาจทำด้วยกระดาษ ไม้หรือวัสดุอย่างอื่นที่มีสีขาว มีขนาดใกล้เคียงกับฐานรังผึ้ง ด้านบนมีตะแกรงขนาดรูตะแกรงไม่เกิน 3 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันผึ้งงานคาบไรไปทิ้ง นำตะแกรงสอดเข้าไปบนฐานรังผึ้ง ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง หรือ 2-3 วัน เมื่อดึงตะแกรงออกมาตรวจไร จะพบไรบนตะแกรงสีขาว ทั้งนี้เพราะไรที่ตายจะตกลงมาบนตะแกรงเมื่อผึ้งเปิดหลอดรวงออกมา จากนั้นจึงนับไรที่ตกลงบนตะแกรง(สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530; Ritter, 1981; Eischen, 1995) ในประเทศเนเธอร์แลนด์มีการใช้ใบยาสูบร่วมในการตรวจปริมาณไร ปรากฏว่าได้ผลดี(De Ruijter and Eijnde, 1984)

2. การตรวจไรบนผึ้งตัวเต็มวัย

บริเวณที่ไร *T. clareae* ชอบเกาะคือส่วนท้องด้านล่าง แต่เนื่องจากไรเคลื่อนที่ได้รวดเร็วจึงอาจพบวิ่งไปมาบนตัวผึ้ง และบ่อยครั้งที่สังเกตเห็นไรวิ่งไปมาบนคอนตัวอ่อนผึ้ง ในรังผึ้งที่มีการระบาดของไรมาก จะพบผึ้งพิการเช่นปีกกุด ส่วนท้องสั้น ถ้าพบผึ้งพิการแสดงว่ามีไรระบาดมากแล้วควรมีการป้องกันกำจัดโดยเร็ว (สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530)

ภาพที่ 2.7 ตะแกรงตรวจไร

3. การตรวจไรโดยการเจาะหลอดปิด

เป็นวิธีตรวจไรที่แม่นยำวิธีหนึ่ง (Eischen, 1995) ไรจะใช้ชีวิตส่วนใหญ่ในหลอดตัวอ่อนผึ้ง ถ้าไรระบาดไม่มากอาจไม่พบเกาะบนตัวผึ้ง ดังนั้นจะต้องตรวจไรภายในหลอดปิด โดยใช้ปากคีบเปิดฝาหลอดปิด แล้วค่อยๆดึงเอาตัวอ่อนหรือดักแด้ผึ้งออกมา แล้วตรวจด้วยความระมัดระวัง ไรจะเกาะติดอยู่บนตัวอ่อนหรือดักแด้ผึ้งหรืออยู่ภายในหลอดรวง บางครั้งไร *T. clareae* จะวิ่งออกจากหลอดรวงผึ้ง การตรวจโดยวิธีนี้ควรตรวจกับหลอดปิดตัวผู้ก่อน ถ้าไม่มีหลอดตัวผู้จึงตรวจจากหลอดผึ้งงาน (สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดส์, 2530)

การป้องกันกำจัดไรศัตรูผึ้ง

การป้องกันกำจัดไรศัตรูผึ้งมีหลายวิธีด้วยกัน ดังต่อไปนี้

1. การใช้สารเคมี

มีการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดไรมากมายหลายชนิดด้วยกัน และแต่ละชนิดมีวิธีการใช้แตกต่างกันไป ดังต่อไปนี้

1.1 แบบฉีดพ่น (spray)

เช่น ไดโคฟอล(dicofol) วิธีการใช้คือฉีดพ่นบนคอนโดยตรง (Koeniger and Fuchs, 1989) อาซุนโทล (Asuntol) และ ไมแทค (Mitac) วิธีใช้คือยกคอนผึ้งขึ้นฉีด พบว่าสามารถลดการทำลายของไรวาร์รัวได้ดี (สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530)

1.2 แบบผง (powder)

เช่น ผงกำมะถัน (sulphur) กับแนพทาลีน (naphthalene) สัดส่วน 1 : 1 2ช้อนชาโรยบนฐานรังผึ้ง ใช้ได้ผลกับไร *T. clareae* ถ้าใช้ในปริมาณที่มากเกินไปจะทำให้ผึ้งงานวัยอ่อนที่ออกจากหลอดรวงใหม่ๆ ตกลงมาตายที่ฐานรังเป็นจำนวนมาก (สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์, 2530)

1.3 แบบระเหย (evaporation agent)

เช่น กรดฟอร์มิค (formic acid) ใช้ความเข้มข้น 98% ใส่ในขวดที่มีไส้ตะเกียงต่อออกมาให้กรดระเหย วางใกล้บริเวณตัวอ่อนผึ้งใช้ได้ผลดีกับไรวาร์รัวในประเทศเยอรมันตะวันตก เชคโกสโลวาเกีย เตอรกี และทูนีเซีย มีรายงานการใช้กรดฟอร์มิคกับไร *T. clareae* ที่ประเทศอินเดีย โดยใช้ความเข้มข้น 85%ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อรังทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 21 วัน ปรากฏว่าได้ผลดี ไม่มีผลข้างเคียงกับผึ้งงาน ผึ้งงานในรังที่ไม่ใช้กรดฟอร์มิคอายุเฉลี่ย 25.7 วันส่วนผึ้งงานในรังที่ใช้กรดฟอร์มิคอายุเฉลี่ย 25.26 วัน (Garg et al. , 1984)

ในประเทศไทยมีการทดลองนำกรดฟอร์มิคมาใช้โดยใช้กรดฟอร์มิค 65% 100 มิลลิลิตรใส่กล่องฟิล์มที่เจาะรู กำจัดไรทรอปิลีแลปส์ได้ 29.5% (Vongsamanode et al. , 1989)

ภาพที่ 2.8 การตรวจไรโดยการเจาะหลอดปิด

1.4 แบบพ่นควัน (fumigant)

เช่นโฟลเบกซ์ วีเอ (Folbex VA) มีลักษณะเป็นแผ่นๆประกอบด้วย bromopropylate วิธีการใช้คือ ปิดปากทางเข้าออกรังผึ้งในเวลาเย็นเมื่อผึ้งเข้ารังหมดแล้วจับ นางพญาผึ้งขังไว้ในกลักเพื่อป้องกันไม่ให้ผึ้งงานที่ตื่นเต้นเมื่อได้รับควันจากสารเคมีและรุมทำร้ายผึ้งนางพญา ตั้งหีบเปล่าใบหนึ่งระหว่างฐานรังกับหีบตัวอ่อน พร้อมกับจุดแผ่นโฟลเบกซ์ 1 แผ่น แขวนไว้บนคอนผึ้งที่ไม่มีรวง เมื่อเกิดควันพุ่งขึ้นแล้วจึงซ้อนหีบตัวอ่อนลงบนหีบว่างใบนั้น ใช้เศษผ้าหรือกระดาษปิดรูรั่วทั้งหมด ไอของตัวยาโฟลเบกซ์จะอบอวลอยู่ภายในรังผึ้ง หลังจากนั้น 15 นาทีจึงปิดทางเข้าออก และยกหีบเปล่าออกจะเห็นว่ามีไรจำนวนหนึ่งตายอยู่บนฐานรัง ทำการรมยานี้ซ้ำ 4 ครั้ง ระยะเวลาห่างกัน 4 วัน โดยใช้แผ่นโฟลเบกซ์ครั้งละ 1 แผ่น การรมควันด้วยแผ่นโฟลเบกซ์วีเอทำให้ประชากรไรลดลงไปได้มากพอสมควร แต่ไม่เป็นที่นิยมในประเทศไทยเนื่องจากเป็นสารเคมีที่ราคาแพง (Ritter, 1981; สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, 2532)

1.5 แบบดูดซึม (Systemic agents)

เช่นเพอริซิน(Perizin) เป็นผลิตภัณฑ์จากประเทศเยอรมนี ใช้ปนน้ำและราดลงบนรวงรังผึ้ง สารนี้จะเข้าสู่ตัวผึ้งโดยการเลีย สารนี้ใช้ได้ผลกับไรวาร์รัวแต่ใช้ไม่ได้ผลกับไร*T. clareae* (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, 2532)

K-79 หรือกาลีครอน (Galekron) เป็นสารพวก Chlordimeform hydrochloride โดยผสมกับน้ำเชื่อมให้ผึ้งกิน เมื่อไรดูดกินของเหลวในตัวผึ้ง ผึ้งก็จะได้รับสารนี้เข้าไปทำให้ไรตาย ซึ่งปริมาณที่ทำให้ไรตายจะไม่ทำอันตรายต่อผึ้ง (De Jong et al.,1982)

2. การป้องกันกำจัดไรโดยความร้อน

ในประเทศรัสเซียได้มีผู้พยายามนำเอาผึ้งมาเก็บไว้ในห้องที่เป็นฉนวนอุณหภูมิ 46-48 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปรากฏว่ามีไรวาร์รัวตกลงมาถึง 90-95 % (De Jong et al., 1982)

3. การป้องกันกำจัดไรโดยวิธีผสมผสาน (Integrated control)

เป็นการรวมวิธีการควบคุมไรที่แตกต่างกันเข้าด้วยกัน Tangkanasing และคณะ(1988) ทดลองใช้ 2 วิธีเข้าด้วยกันคือ การขังนางพญาผึ้งและการใช้สารเคมี(chemical control) การขังนางพญาผึ้งไว้เพื่อไม่ให้วางไข่ใช้ 2 วิธี

1) ขังนางพญาผึ้ง 9 วัน และย้ายตัวอ่อน ดักแด้ผึ้งไปไว้รังอื่น

2) ขังนางพญาผึ้ง 21 วัน

การขาดการพัฒนาของตัวอ่อนผึ้งจะทำลายวงชีวิตของไร ซึ่งไร *T. clareae* จะไม่สามารถมีชีวิตรอดเพราะขาดเลือดผึ้ง(bee haemolymph) แต่ไรวาร์รัวสามารถมีชีวิตบนผึ้งตัวเต็มวัยได้ ใช้วิธีนี้ร่วมกับการใช้อาซุนโทลฉีดพ่น สามารถควบคุมไร *T. clareae*และไรวาร์รัวได้ผล

ปัญหาเนื่องจากการใช้สารเคมีในการกำจัดไร

เนื่องจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดไร มีปัญหาสารพิษตกค้างในผลิตภัณฑ์จากผึ้ง, สารเคมีที่ใช้เป็นอันตรายต่อผึ้ง และมีปัญหาไรเกิดความต้านทานต่อสารเคมีที่ใช้ เช่น ในประเทศอิตาลี ไรมีความต้านทานต่อFluvalinate จึงควรหาแนวทางใหม่ที่จะกำจัดไรศัตรูผึ้ง โดยสารที่จะนำมาใช้ควรมีอยู่ในธรรมชาติและไม่มีอันตรายต่อผู้ใช้ผลิตภัณฑ์จากผึ้ง (Imdorf et al. , 1995; Haynes, 1988; Calderone et al. , 1991; Eischen, 1996)

เมนทอล (menthol)

เมนทอลเป็นสารที่สกัดได้จากธรรมชาติหรือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นคือได้จากน้ำมันสะระแหน่(peppermint oil) หรือ mint oil อื่นๆ การสังเคราะห์เตรียมโดย hydrogenation ไทมอล (Budavari, 1989)

ชนิดของเมนทอล เมนทอลแบ่งออกเป็น 2 ชนิดด้วยกันคือ

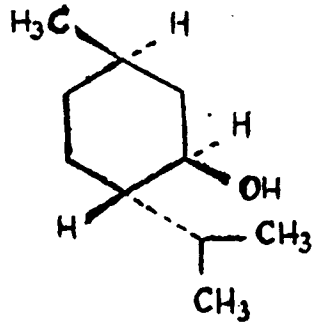
1. แอล-เมนทอล (L-menthol) หมายถึงเมนทอลตามธรรมชาติที่ได้โดยการตกผลึกจากน้ำมันมินต์ (peppermint oil)

2. ดีแอล-เมนทอล หมายถึงเมนทอลที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้นจาก d-citronellal, alpha-pinene, เมนโทน และสารอื่นที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน(สุวรรณ เตชะธนานนท์, 2538)

ชื่อทางเคมีของเมนทอล (1α,2β,5α)-5-methyl-2-(1-methylethyl cyclohexanol)

สูตรทางเคมี $C_{10}H_{20}O$

สูตรโครงสร้าง



ความเป็นพิษ

LD_{50} ในหนู(กิน) 3180 mg/kg (Budavari, 1989)

LD_{50} larva ผึ้งเท่ากับ 1000 μg/larva (Atkins, 1993)

Imdorf และคณะ(1995) พบว่าความเข้มข้นของเมนทอลในอากาศซึ่งฆ่าไรวาร์รัวเกือบ 100% และไม่ทำให้ผึ้งตายอยู่ระหว่าง 20 และ 60 mg/l

ประโยชน์ของเมนทอล

1. เป็นสารช่วยชูรส เช่น ทำเหล้าสะระแหน่ ผสมในลูกกวาด หมากฝรั่งและยาสีฟัน เป็นต้น
2. เป็นสารเพิ่มกลิ่นหอมในเครื่องสำอางเช่น สบู่หอม โลชั่น แชมพู ครีม และแป้งหอม
3. เป็นส่วนผสมในยา เช่น ยาแก้ปวดท้อง ยาฆ่าเชื้อ(antiseptic) ยาแก้หวัด ยาหม่อง ยาสูดดม ต่างๆเป็นต้น (สุวรรณ เตชะธนานนท์,2538; Budavari, 1989)

Wilson et al.(1988) ใช้เมนทอลในการป้องกันกำจัดไรท่อลมของผึ้ง(*Acarapis woodi*) หลังจากนำเมนทอลใส่ถุงวางไว้ใต้รัง 4 สัปดาห์พบว่าไรตายหมด

Delaplane(1992) รายงานว่าใช้เมนทอลร่วมกับ vegetable oil สามารถลดจำนวนไรท่อลมของผึ้งได้ผล

ในประเทศไทยมีการทดลองใช้เมนทอลและใบกะเพราอย่างละส่วนบดแล้วผสมน้ำชุบด้วยกระดาษซับแล้วนำไปวางไว้ที่รังผึ้งปรากฏว่าประชากรไรลดลง แต่ยังไม่ปรากฏรายงานทางวิชาการ

Nelson และคณะ(1993) ได้วิเคราะห์ผลตกค้างของเมนทอลที่ใช้ในรังผึ้งเพื่อกำจัดไรท่อลมผึ้ง พบว่าในรังที่ใช้เมนทอล 60 กรัม มีเมนทอลตกค้างในน้ำผึ้ง 6.2 ppm ส่วนในรังที่ใช้เมนทอล 30 กรัม มีเมนทอลตกค้างในน้ำผึ้ง 0.8 ppm

Herbert และคณะ(1987) พบว่าเมนทอลใช้ควบคุมไรท่อลมผึ้งได้ดีมาก หลังจากใช้เมนทอล 9 สัปดาห์ไรหมดไปจากรังผึ้ง จากนั้นนำน้ำผึ้งจากรังมาวิเคราะห์พบว่ารังที่ใช้เมนทอลมีเมนทอลตกค้าง 0-12.3 ppm ส่วนรังควบคุมพบเมนทอล 0.7-3.3 ppm การที่รังควบคุมมีเมนทอลตกค้างอาจเป็นเพราะผึ้งงานออกหาอาหารจากพืชจำพวกสะระแหน่

Li และคณะ(1993) ทดลองใช้เมนทอลในรังผึ้งเพื่อกำจัดไรท่อลมผึ้ง พบว่ามีเมนทอลตกค้างในน้ำผึ้งและไขผึ้ง ปริมาณเมนทอลที่ตกค้างในน้ำผึ้งและไขผึ้งมากที่สุดคือ 18 ppm และ 2790 ppm ตามลำดับ

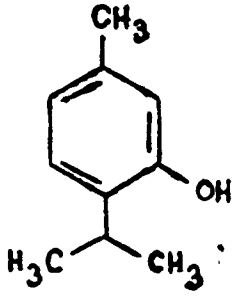
ไทมอล (thymol)

ไทมอลเป็นสารชนิดหนึ่งที่สกัดจากพืช สารนี้ได้มาจากน้ำมันหอมระเหย(essential oil) ของพืช *Thymus vulgaris* L. และ *Monarda punctata* L. มีกลิ่นฉุน นอกจากนี้ยังสามารถสังเคราะห์ไทมอลได้จาก *p*-cymene, piperitone, หรือ m-cresol

ชื่อทางเคมีของไทมอล 5-Methyl-2-(1-methylethyl)phenol

สูตรทางเคมี $C_{10}H_{14}O$

สูตรโครงสร้าง



ความเป็นพิษ

ในหนู(กิน) LD_{50} 980 mg/kg (Budavari, 1989)

Imdorf และคณะ(1995) ศึกษาความเข้มข้นของไทมอลในอากาศซึ่งฆ่าไรวาร์รัวเกือบ 100% และไม่เป็นอันตรายต่อผึ้งอยู่ระหว่าง 5 และ 15 mg/l

ประโยชน์

1. ใช้ในการกำจัดราและแบคทีเรีย (Budavari, 1989)
2. ใช้เป็นสารแต่งกลิ่นธรรมชาติในอาหารและยา (Marchetti and Barbattini, 1984)

Chiesa(1991) ทดลองนำไทมอลมาใช้ป้องกันกำจัดไรวาร์รัวพบว่าสามารถลดประชากรไรได้ถึง 96.77%

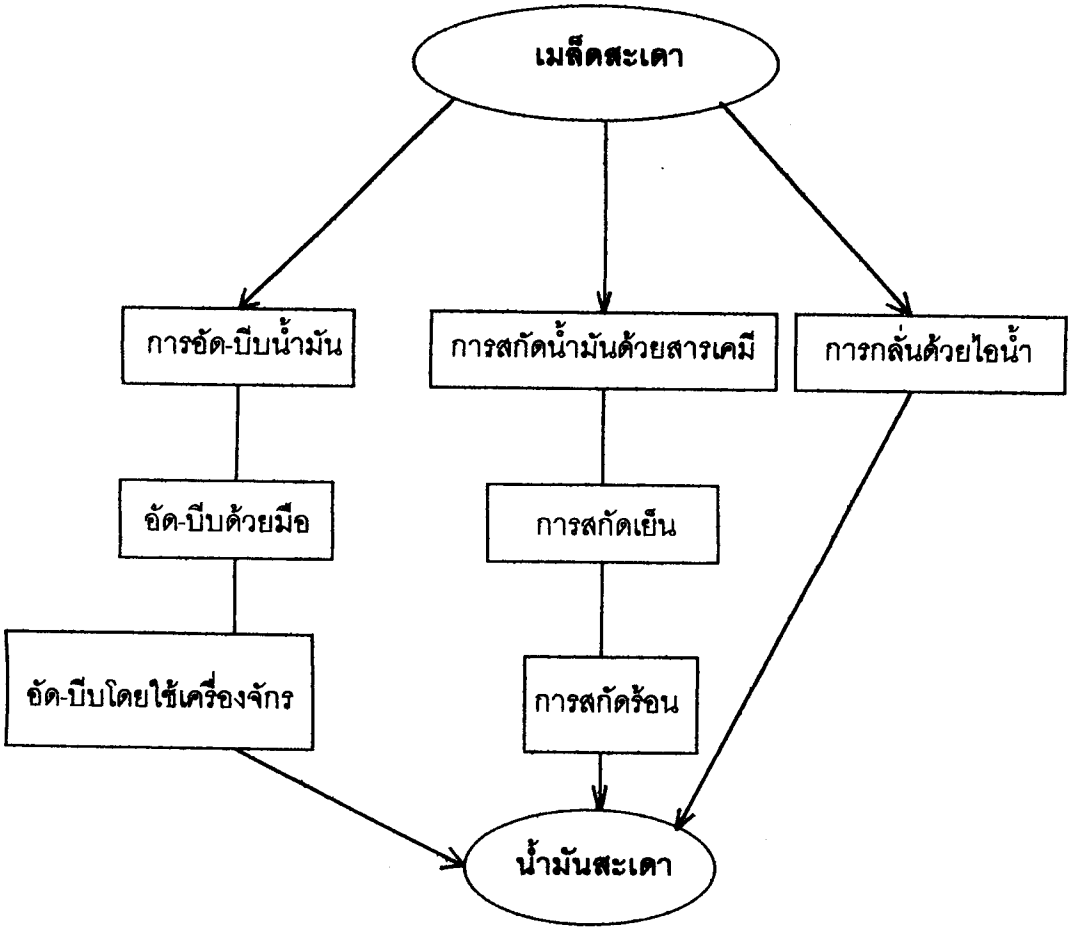
Marchetti และ Barbattini(1984) ใช้ไทมอลในการควบคุมไรวาร์รัวเปรียบเทียบกับสารเคมีคือ Folbex VA, Apiakadim, Taktic ปรากฏว่าไทมอลสามารถกำจัดไรวาร์รัวได้แต่ให้ผลช้ากว่าสารเคมีดังกล่าว

Lodesani และคณะ(1992) ทดลองใช้ Amitraz , Bromopropylate, Fluvalinate และไทมอล กำจัดไรวาร์รัวและหาสารตกค้างในน้ำผึ้งโดยวิธี Gas Chromatography พบว่าไทมอลตกค้างในน้ำผึ้งสูงสุด 1.5 ppm

Imdorf และคณะ(1995) ทดลองใช้ Apilife VAR กำจัดไรวาร์รัว Apilife VAR ประกอบด้วย ไทมอล 76%, Eucalyptol 16.4, เมนทอล 38% และ Camphor 3.8% ประสิทธิภาพของสารนี้ใช้ได้ผลมากกว่า 95% พบไมอลตกค้างในน้ำผึ้ง 0.19 mg/kg ซึ่งไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภคเพราะองค์การอนามัยโลก(WHO) อนุญาตให้ไทมอลตกค้างในอาหารได้ไม่เกิน 50 mg/kg

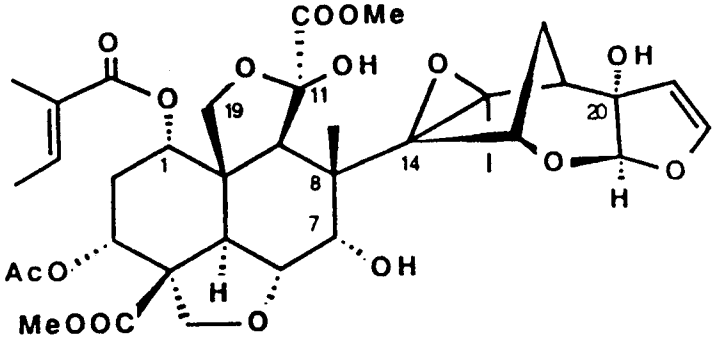
น้ำมันสะเดา (neem oil, margosa oil)

น้ำมันสะเดาได้จากเมล็ดของต้นสะเดา (Budavari, 1989) โดยปกติเมล็ดสะเดาจะมีปริมาณน้ำมัน 40-45 % ของน้ำหนักเมล็ด วิธีการสกัดน้ำมันสะเดาจากเมล็ดสะเดามีหลายวิธี ดังภาพที่ 2.9 (อัญชลี สงวนพงษ์,2537)



ภาพที่ 2.9 วิธีการสกัดหรืออัดบีบน้ำมันสะเดาวิธีการต่างๆ

น้ำมันสะเดาเป็นน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ประกอบด้วย tiglic acid, azadirachtin, nimbidin, nimbin, nimbinin และ gum ส่วนประกอบส่วนใหญ่ของน้ำมันสะเดาคล้าย vegetable oil มีกรดไขมัน oleic, stearic, linoleic และ palmitic acid น้ำมันสะเดามีสีเหลือง รสขม มีกลิ่นเหม็นฉุนเพราะมีสารประกอบพวก sulfur ด้วย (บัณฑิต ดำรักษ์, 2526; National Research Council, 1992) azadirachtin เป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในน้ำมันสะเดามีสูตรโครงสร้างดังนี้ (Nationnal Research Council, 1992)



ประโยชน์ของน้ำมันสะเดา

น้ำมันสะเดานำไปใช้ทำยาสีฟัน สบู่ น้ำมันจุดไฟ เป็นยารักษาโรคเบาหวาน และเป็นยาคุมกำเนิดในหนู ลิง และคนได้ (วีรวิทย์ วิทยารักษ์, 2535-2536; วิจิตร วังใน, 25 31) ในอินเดียใช้ น้ำมันสะเดาในการกำจัดเหาได้ผลดี (National Research Council, 1992) ใช้รักษาโรคผิวหนัง ผสมเป็นยาทาแก้โรครูมาตีสซึม และมีคุณสมบัติเป็นยาขับพยาธิ (บัณฑิต ดำรักษ์,2526) ในทางเกษตรใช้น้ำมันสะเดาในการไล่แมลง(repellent) และยับยั้งการกินของแมลง(antifeedant) (Budavari, 1989)

Jilani และ Saxena (1990) รายงานว่าเมื่อใช้น้ำมันสะเดาที่ความเข้มข้น 80 $\mu g/cm^3$ สามารถขับไล่มอดข้าวเปลือก *Rhyzopertha dominica* ได้มากกว่า 50%

น้ำมันสะเดามีผลยับยั้งการกินอาหารของไรสนิมส้ม (cirus red mite) ไรแดง(two spotted spider mite) และเพลี้ยอ่อนของถั่ว(bean aphid) (Jacobson et al. , 1978; Schauer and Schmutterer, 1981; Dimetry and Schmidt, 1992)

น้ำมันสะเดา 1-3% ฉีดพ่นต้นพืชป้องกันกำจัดพวกไรต่างๆได้ (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี, 2539)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

ก. สัตว์ทดลอง

ผึ้งพันธุ์(*Apis mellifera* L.) ในหีบเลี้ยงแบบ Langstroth เป็นรังชั้นเดียวจำนวน คอน 7 คอน ที่มีไรทรอปิลีแลปส์ (*Tropilaelaps clareae*) เข้าทำลายจำนวน 25 รัง

ข. อุปกรณ์ในการทดลอง

1. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) , Shimudzu LC - 6A
2. Gas Chrommatography (GC) , Shimudzu GC - 7AG
3. กระบอกฉีด
4. เครื่องกดนับจำนวนเลข
5. กล้องถ่ายรูป
6. ตะแกรงตรวจไร
7. ตะแกรงวัดประชากรผึ้ง
8. รังสังเกต(observation hive)
9. petridish
10. กระดาษกรอง
11. ตู้ incubator

ค. สารที่ใช้ในการทดลอง

1. ไทมอล

   ชื่อทางเคมี : 5-Methyl-2-(1-methylethyl)phenol

2. *เมนทอล*

   ชื่อทางเคมี : (1α,2β,5α)-5-Methyl-2-(1-methylethyl)- cyclohexanol

3. น้ำมันสะเดา
4. emulsifier (polyoxyethylene sorbitan monolaurate)

วิธีดำเนินการทดลอง

ก. วิธีศึกษาความเป็นพิษของไทมอล, เมนทอล และน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae*

1. หาค่าLC_{50}ของไทมอล เมนทอล และน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* มีวิธีการเป็นลำดับขั้นดังต่อไปนี้

1.1 เตรียมไร *T. clareae* (เขี่ยออกจากหลอดรวงผึ้ง) และดักแด้ผึ้งโดยนำคอนผึ้งที่สลัดผึ้งตัวเต็มวัยออกแล้ว มาเจาะหลอดปิดออกแล้วใช้ปากคีบคีบดักแด้ผึ้งออกมาและใช้พู่กันเขี่ยไรออกจากหลอดรวงผึ้ง

1.2 นำไทมอลและเมนทอลปริมาณที่แตกต่างกันใส่ petridish ซึ่งมีกระดาษกรองรองอยู่ข้างใน ส่วนน้ำมันสะเดาแต่ละความเข้มข้นมาหยดลงบนกระดาษกรอง 0.5 ml แล้วปล่อยให้แห้ง

1.3 นำดักแด้ผึ้งและไร *T. clareae* ใส่ petridiscซึ่งใส่สารตามข้อ 2 แล้ว โดยที่สารแต่ละชนิด(เมนทอล,ไทมอล และน้ำมันสะเดา)แบ่งเป็น 5กลุ่มการทดลองทำการทดลอง6 ซ้ำ

1.3.1 การทดลองของสารเมนทอล ในการทดลองแต่ละกลุ่มการทดลองมี ดังนี้ (แต่ละซ้ำใช้ไร *T. clareae* 10ตัว และดักแด้ผึ้ง 5 ตัว ทุกกลุ่มการทดลอง)

T_1 - กลุ่มควบคุม

T_2 - เมนทอล ปริมาณ 400 ไมโครกรัม (4.21 ppm)

T_3 - เมนทอล ปริมาณ 500 ไมโครกรัม (5.26 ppm)

T_4 - เมนทอล ปริมาณ 600 ไมโครกรัม (6.31 ppm)

T_5 - เมนทอล ปริมาณ 900 ไมโครกรัม (9.47 ppm)

(ppm คำนวณจากปริมาณเมนทอลต่อปริมาตรของ petridish)

1.3.2 การทดลองของสารไทมอล ในการทดลองแต่ละกลุ่มการทดลองมีดังนี้ (แต่ละซ้ำมีไร *T. clareae* 10 ตัว และดักแด้ผึ้ง 5 ตัวทุกกลุ่มการทดลอง)

T_1 - กลุ่มควบคุม

T_2 - ไทมอล ปริมาณ 50 ไมโครกรัม (0.52 ppm)

T_3 - ไทมอล ปริมาณ 100 ไมโครกรัม (1.05 ppm)

T_4 - ไทมอล ปริมาณ 200 ไมโครกรัม (2.10 ppm)

T_5 - ไทมอล ปริมาณ 300 ไมโครกรัม (3.15 ppm)

(ppm คำนวณจากปริมาณไทมอลต่อปริมาตรของ petridish)

1.3.3 การทดลองของน้ำมันสะเดา ในการทดลองแต่ละกลุ่มการทดลองมีดังนี้ (แต่ละซ้ำมีไร *T. clareae* 10 ตัว และดักแด้ผึ้ง 5 ตัว ทุกกลุ่มการทดลอง)

T_1 - กลุ่มควบคุม ใช้emulsifierและน้ำปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร

T_2 - น้ำมันสะเดา ความเข้มข้น 20% ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (1.05 ppm)

T_3 - น้ำมันสะเดาความเข้มข้น 30 % ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (1.57 ppm)

T_4 - น้ำมันสะเดาความเข้มข้น 40 % ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (2.10 ppm)

T_5 - น้ำมันสะเดาความเข้มข้น 50 % ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร (2.63 ppm)

(ppm คำนวณจากปริมาณเมนทอลต่อปริมาตรของ petridish)

1.4 ปิดpetridishด้วยกระดาษกรอง แล้วนำใส่ตู้ incubator อุณหภูมิ 35 °C

1.5 บันทึกจำนวนการตายของไร *T. clareae* เมื่อครบ 24 ชั่วโมง

1.6 นำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม probit analysis

ข. ศึกษาประสิทธิภาพของไทมอล, เมนทอล และน้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* และสารตกค้างในน้ำผึ้ง

1. **การสำรวจประชากรผึ้งทั้งหมดในรัง** มีวิธีการดังนี้

1.1 สำรวจประชากรผึ้งตัวเต็มวัย โดยการถ่ายรูปนับประชากรผึ้ง

1.2 สำรวจประชากรไข่ ตัวอ่อน และดักแด้ผึ้งที่อยู่ในหลอดปิด (sealed brood) โดยใช้ตะแกรงขนาด23 x 43 ตารางเซนติเมตร ขนาดตะแกรง2.54 x 2.54ตารางเซนติเมตร ประมาณประชากร โดยการทาบตะแกรงบนคอนผึ้ง นับช่องที่มีไข่ ตัวอ่อน และหลอดปิด (1 ช่องเท่ากับ6.45 ตารางเซนติเมตร) ได้จำนวนเท่าไรคูณด้วย 27 (6.45 ตารางเซนติเมตร มี 27 หลอดรวงผึ้ง)จะทำให้ทราบจำนวนหลอดรวงที่มีไข่ ตัวอ่อน และหลอดปิด

1.3 ทำการคำนวณประชากรผึ้งทั้งหมดใน 1 รัง นำมาเขียนกราฟใช้เปรียบเทียบประชากรทั้งหมดของผึ้ง 1 รัง ก่อนใช้สารป้องกันกำจัดไรและภายหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร เพื่อดูผลว่าสารที่ใช้ทดลองมีผลกระทบต่อประชากรผึ้งหรือไม่

2. **การสำรวจประชากรไรศัตรูผึ้ง** มีวิธีการสำรวจ 2 วิธีดังนี้

2.1 สำรวจประชากรไรศัตรูผึ้งโดยใช้ตะแกรงตรวจไรขนาด 30 x 40 ตารางเซนติเมตร ขนาดรูตะแกรงประมาณ 0.3 x 0.3 ตารางเซนติเมตร ใส่เข้าไปบนฐานรังผึ้งใน

ตอนเย็น แล้วนำมาตรวจนับปริมาณไรโดยใช้เครื่องนับจำนวนเลข วิธีนี้จะใช้สำรวจประชากรไรศัตรูผึ้งก่อนและระหว่างการใช้สารป้องกันกำจัดไร แล้วนำมาเขียนกราฟแสดงประชากรไร

2.2 สำรวจประชากรไรศัตรูผึ้งโดยการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ (De Jong et al.,1981) เพื่อดูเปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไรศัตรูผึ้ง ทำการสำรวจทุก 7 วัน ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร

3. การทดลองเบื้องต้นหาความเข้มข้นของน้ำมันสะเดา ปลอดภัยต่อผึ้งซึ่งเหมาะสมในการทดลอง

เนื่องจากน้ำมันสะเดาไม่มีคำแนะนำให้ใช้กำจัดไรในรังผึ้ง จึงทดลองหาความเข้มข้นที่ไม่เป็นอันตรายต่อผึ้งเพื่อนำไปใช้ทดลองในรังต่อไป โดยนำน้ำมันสะเดาความเข้มข้นต่างๆ (40%,30%,20%,10%) ใส่กระบอกฉีด ฉีดคอนเล็กที่มีผึ้งตัวเต็มวัย 20 ตัว (มีน้ำผึ้งสะสมอยู่บนคอนด้วย) ข้างละ 1 ครั้ง (ปริมาณสารที่ฉีดครั้งละประมาณ 0.7 มิลลิลิตร รวมสารที่ฉีด 1.4 มิลลิลิตร) นำคอนใส่รังเล็กขนาด 23.5 x 28 x 18 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วดูผลว่ามีผึ้งตายหรือไม่ใน 24 ชั่วโมง

4. ทดลองในรังผึ้งเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดา ในการกำจัดไร

4.1 เตรียมรังผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*) ในหีบเลี้ยงแบบ Langstroth จำนวน 25 รัง ซึ่งเป็นรังชั้นเดียวที่มีไร *T. clareae* เข้าทำลาย แต่ละรังมีคอน 7 คอน ทำการสำรวจประชากรไรโดยใช้ตะแกรงตรวจไรและเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ แล้วบันทึกผลการทดลองก่อนใช้ เมนทอล ไทมอลและน้ำมันสะเดาในรังผึ้ง

4.2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design , CRD) แบ่งผึ้ง 25 รัง โดยวิธีการจับฉลาก ออกเป็น 5 การทดลองๆละ 5 ซ้ำประกอบด้วยกลุ่มควบคุม 1 กลุ่ม และกลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม ดังนี้

T_1 - กลุ่มควบคุม

T_2 - ใช้ emulsifier และน้ำ

T_3 - ใช้เมนทอล 50 กรัม ต่อครั้งต่อรัง

T_4 - ใช้ไทมอล 15 กรัม ต่อครั้งต่อรัง

T_5 - ใช้น้ำมันสะเดา ความเข้มข้น 20 %

4.3 การใช้สาร :

4.3.1 เมนทอล ใช้ทุกๆ 12 วัน ใช้ทั้งหมด 3 ครั้งใช้รังละ 50 กรัมต่อครั้ง โดยใส่สารใน petridisc ซึ่งปิดด้วยผ้าโปร่งที่เป็นตาข่าย เพื่อป้องกันไม่ให้ผึ้งงานนำสารไปทิ้ง แล้วจึงนำไปวางใต้คอนผึ้งบนฐานรัง

4.3.2 ไทมอล ใช้ทุกๆ 4 วัน ใช้ทั้งหมด 7 ครั้ง ใช้15 กรัมต่อรังต่อครั้ง ลักษณะการใช้เหมือนเมนทอล

4.3.3 น้ำมันสะเดาใช้ทุกๆ 4 วัน ใช้ทั้งหมด 7 ครั้ง นำสารใส่กระบอกฉีด นำไปฉีดในรังผึ้งโดยวิธียกคอนขึ้นมาฉีดทีละคอน คอนละ 4 ครั้ง (ประมาณ 2.8 มิลลิลิตร) ใช้ความเข้มข้น 20%

4.3.4 emulsifier และน้ำ มีระยะเวลาและการใช้เหมือนน้ำมันสะเดา

4.3.5 การใช้สารจะทำในตอนเย็นระหว่างเวลา 17.00 - 18.00 น.

4.4 นับจำนวนไร *T. clareae* ที่ตกลงมาบนตะแกรงตรวจไรในเช้าวันรุ่งขึ้น

4.5 เจาะหลอดปิด 100 เซลล์ ทุก 7 วัน ติดต่อกัน 4 ครั้ง เพื่อดูปริมาณการลดลงของไร ผลที่ได้จะนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

5. วิเคราะห์สารตกค้างในน้ำผึ้ง

5.1 ใช้ syringe ดูดน้ำผึ้งจากรังที่ทดลองใส่ vial แล้วนำแช่น้ำแข็งในกล่องโฟม จากนั้นนำไปแช่ช่อง freeze (ตู้เย็น)

5.2 ไทมอล และเมนทอลที่ตกค้างในน้ำผึ้งวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง GC , น้ำมันสะเดาที่ตกค้างในน้ำผึ้งเป็นการวิเคราะห์ Azadiracthtin ในน้ำผึ้งโดยใช้เครื่อง HPLC

การวิเคราะห์ไทมอลที่ตกค้างในน้ำผึ้งด้วยเครื่อง GC

1) นำน้ำผึ้งมา centrifuge 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที (เพื่อเอา impurities โดยเฉพาะ wax ออก)

2) นำน้ำผึ้ง 5 กรัมผสมกับ pH 5 acidulated water 20 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ ทิ้งไว้ข้ามคืน

3) นำมากรองผ่าน RP C18 cartridge

4) precondition กับเมทธานอล 5 มิลลิลิตร และpH 5 acidulated water 5 มิลลิลิตร

5) ปล่อย catridge ให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที จากนั้น eluted 3 ครั้งกับ chloroform 5 มิลลิลิตร

6) นำเข้าเครื่อง rotary evaporator เพื่อให้สารเข้มข้นขึ้น แล้ว dry ด้วยก๊าซไนโตรเจน

7) เติมคลอโรฟอร์ม 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC

condition ที่ใช้

column : HP 5890 with MSD 5970 mass detector and 25 m and 0.2 mm id ultra 2 capillary column

carrier : helium (2 ml/min)

split : 60 ml/min (Lodesani et al. , 1992)

การวิเคราะห์เมนทอลที่ตกค้างในน้ำผึ้งด้วยเครื่อง GC

การเตรียม standard

1) standard 2,6 - dimethylphenol (2,6-DMP) solution (10 ppm) โดยการละลาย 2,6-DMP 0.002 กรัม กับ hexaneใน volummetric flask 200 มิลลิลิตร แล้ว make volume (เก็บ solution ไม่ให้โดนแสง และเตรียมใหม่ทุกๆ 2 วัน)

2) menthol standard solution (20 ppm) โดยการละลายเมนทอล 0.001 กรัม กับ standard 2,6-DMP solution ใน volumetric flask 50 มิลลิลิตร แล้ว make volume

การทำ standard curve

1) เตรียม standard ที่ 6 ความเข้มข้นคือ 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 ppm

2) เติม sodium sulfate 3.5 กรัม ต่อ standard 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าอย่างแรง แล้วนำมา evaporat ด้วย ก๊าซไนโตรเจน จน solution เหลือ 1 มิลลิลิตร

3) ฉีดสารทุกความเข้มข้นเข้าไปในเครื่อง GC 1.0 ไมโครลิตร

4) เขียนกราฟได้ calibration curve

การเตรียมน้ำผึ้งเพื่อฉีดเข้าเครื่อง GC

1) นำน้ำผึ้ง 10 กรัม ใส่ขวดก้นกลมขนาด 500 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ 100 มิลลิลิตร

2) เติม standard 2,6-DMP solution 10 มิลลิลิตร

3) ต่อขวดก้นกลมกับเครื่อง steam distilation/extraction แล้วกลั่น 20 นาที

4) เอา hexane solution ออกจากเครื่องแล้วเติม hexane 10 มิลลิลิตร ลงไปในเครื่อง

5) ส่วนของ hexane เอามารวมกันแล้วเติม sodium sulfate แล้วจึงผ่านก๊าซไนโตรเจนจนเหลือ solution 1 มิลลิลิตร

6) ฉีดเข้าเครื่อง GC

7) นำพื้นที่ peak ของ sample ไปเทียบกับ calibration curve

condition ที่ใช้

column : 30 m X 0.25 mm DB-5 capillary column หุ้มกับ 0.4 m X 0.25 mm deactivated silica capillary column

flow rate : 26.6 cm/s

detector : flame ionization detector

splitter ratio : 42 : 1

Temperature programe : 80 $^{\circ}$C(1 นาที), 50 $^{\circ}$C /min, ท้ายสุด 120 $^{\circ}$C (10 นาที)

Injector Temp. : 140 $^{\circ}$C

detector Temp. : 280 $^{\circ}$C (Li et al. , 1993)

การวิเคราะห์ Azadiracthtin ในน้ำมันสะเดาด้วยเครื่อง HPLC

conditionที่ใช้

column : RP-8 lichrospher 5 um(Merck) 125 x 4 mm

mobile phase : Acetonitrile: water , 30 : 70

flow rate : 1 ml/min

detector : UV 210 nm

attenuation : 0.02 AUFS

Elution system : Isocratic system

sample size : 10 μl

การเตรียม sample เพื่อวิเคราะห์

1) น้ำผึ้ง 1 กรัม เติม aqueous methanol 50% 10 ml และdiethyl ether 10 ml

2) เขย่าอย่างแรงใน separatory funnel แล้วปล่อยทิ้งไว้ข้ามคืน

3) ย้ายชั้น aqueous methanol ออก

4) สกัดด้วย diethyl ether และ 50% aqueous methanol 10 ml อีก 2 ครั้ง

5) รวม aqueous methanol ให้ได้ 10 ml ใน volumetric flask และกรอง sample

6) dilute sample 1:10 กับ mobile phase

7) นำ sample solution 1 ml กรองผ่าน 0.45 μm microfilter membrane

8) standard solution azadiracthtin 95% เตรียมกับ methanol ให้ได้ความเข้มข้นระหว่าง 0.01-0.18 mg/ml

9) ฉีด standard solution 10 μl และ sample 10 μl

10) นำผลไปเปรียบเทียบกับ standard และคำนวณปริมาณ azadirachtin ในsample (สุรพล วิเศษสรรค์, 2537; Boothai, 1994)

6. การศึกษาผลข้างเคียงบางประการ เนื่องจากการใช้สารป้องกันกำจัดไร

6.1 นำผึ้งจำนวน 1 คอน ใส่รังสังเกต(observation hive) ขนาด 23.5x28x18 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 1 รัง สังเกตพฤติกรรมของผึ้งในรังสังเกต ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร

6.2 ศึกษาอัตราการวางไข่ของนางพญาผึ้ง ก่อนและหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร

6.3 ศึกษาพฤติกรรมของผึ้งงานหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไร (เช่นมีพฤติกรรมก้าวร้าวขึ้นหรือไม่ , มีการทำลายนางพญาผึ้งหรือไม่)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลการสำรวจไร *T. clareae*โดยการเจาะหลอดปิด 100 เซลล์ไปวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี ANALYSIS OF COVARIANCE IN CRD และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการ DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST

ภาพที่ 3.1 สารที่ใช้ในการทดลอง (emulsifier, น้ำมันสะเดา, ไทมอล, เมนทอล)

ภาพที่ 3.2 รังผึ้งพันธุ์ที่ใช้ทดลอง (ลูกศรชี้โดยวางใต้ต้นไม้) สถานที่ ม. นเรศวร จ.พิษณุโลก

ภาพที่ 3.3 การใช้ตะแกรงคำนวณประชากรผึ้ง

ภาพที่ 3.4 การสอดตะแกรงตรวจไรบนฐานรังผึ้ง

ภาพที่ 3.5 การใช้เมนทอลในรังผึ้ง

ภาพที่ 3.6 การใช้ไทมอลในรังผึ้ง

ภาพที่ 3.7 การฉีดน้ำมันสะเดาบนคอนผึ้ง

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอลและน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบความเป็นพิษของเมนทอลต่อไร *T. clareae* แสดงในตารางที่ 4.1 ผลการทดลองได้แสดงถึงเปอร์เซนต์การตายของไร *T. clareae* หลังจากทำการทดลอง 24 ชั่วโมง ใช้เมนทอลความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่ามีค่า LC_{50} เท่ากับ 4.72 ppm

ผลการทดสอบความเป็นพิษของไทมอลต่อไร *T. clareae* แสดงในตารางที่ 4.2 ผลการทดลองได้แสดงถึงเปอร์เซนต์การตายของไร *T. clareae* หลังจากทำการทดลอง 24 ชั่วโมง ใช้ไทมอลความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่ามีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.23 ppm

ผลการทดสอบความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* แสดงในตารางที่ 4.3 ผลการทดลองได้แสดงถึงเปอร์เซนต์การตายของไร *T. clareae* หลังจากทำการทดลอง 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่ามีค่า LC_{50} เท่ากับ 1.37 ppm

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในห้องปฏิบัติการพบว่า ไทมอลเป็นพิษต่อไร *T. clareae* มากที่สุด และเมนทอลมีพิษต่อไร *T. clareae* น้อยที่สุด

ตารางที่ 4.1 ความเป็นพิษของเมนทอลต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนไรที่ใช้ทดลอง(ตัว)	จำนวนไรที่ตาย 24ชั่วโมง (ตัว)	เปอร์เซนต์การตายจริง (%) *
0	60	5	0
4.21	60	24	34.55
5.26	60	35	54.54
6.31	60	44	70.91
9.47	60	54	89.09
LC_{50} (ppm)	4.72		

หมายเหตุ * คำนวณโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)

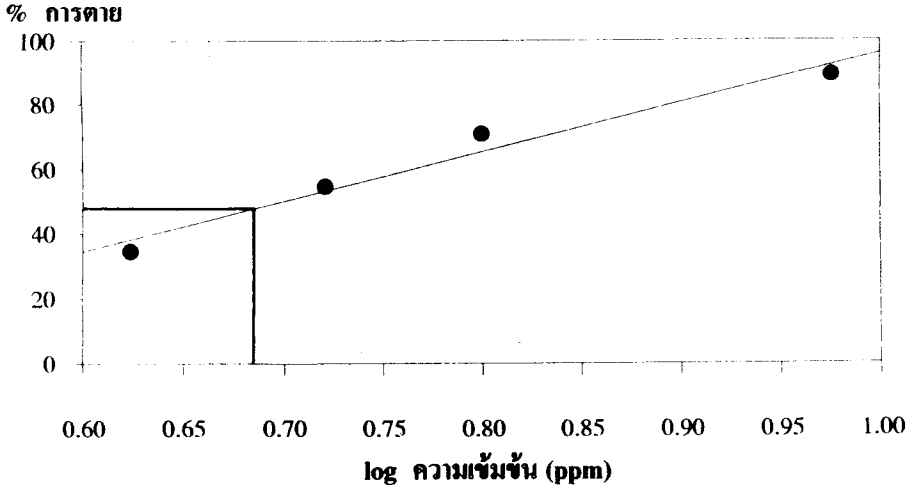
$$Pr = (Po - Pc) \times 100 / (100 - Pc)$$

โดยกำหนดให้

Pr = % corrected mortality

Po = % observed mortality

Pc = % control mortality



ภาพที่ 4.1 แสดงความเป็นพิษของเมนทอลต่อไร *T. clareae*

ตารางที่ 4.2 ความเป็นพิษของไทมอลต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนไรที่ใช้ทดลอง(ตัว)	จำนวนไรที่ตาย 24ชั่วโมง (ตัว)	เปอร์เซนต์การตายจริง (%) *
0	60	5	0
0.52	60	17	21.82
1.05	60	27	40.00
2.10	60	37	58.19
3.15	60	46	74.55
LC_{50} (ppm)	1.23		

หมายเหตุ * คำนวณโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)

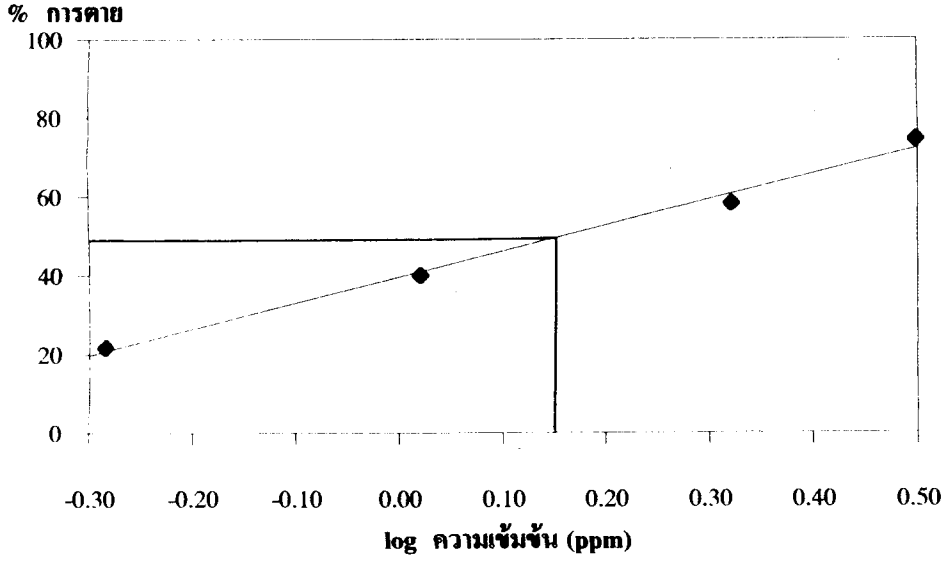
$$Pr = (Po - Pc) \times 100 / (100 - Pc)$$

โดยกำหนดให้

Pr = % corrected mortality

Po = % observed mortality

Pc = % control mortality



ภาพที่ 4.2 แสดงความเป็นพิษของไทมอลต่อไร *T. clareae*

ตารางที่ 4.3 ความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ppm)	จำนวนไรที่ใช้ทดลอง(ตัว)	จำนวนไรที่ตาย 24ชั่วโมง (ตัว)	เปอร์เซนต์การตายจริง (%)*
0	60	8	0
1.05	60	26	34.61
1.57	60	30	42.31
2.10	60	37	55.77
2.63	60	51	82.69
LC_{50} (ppm)	1.37		

หมายเหตุ * คำนวณโดยใช้ Abbott's formula (Finney, 1971)

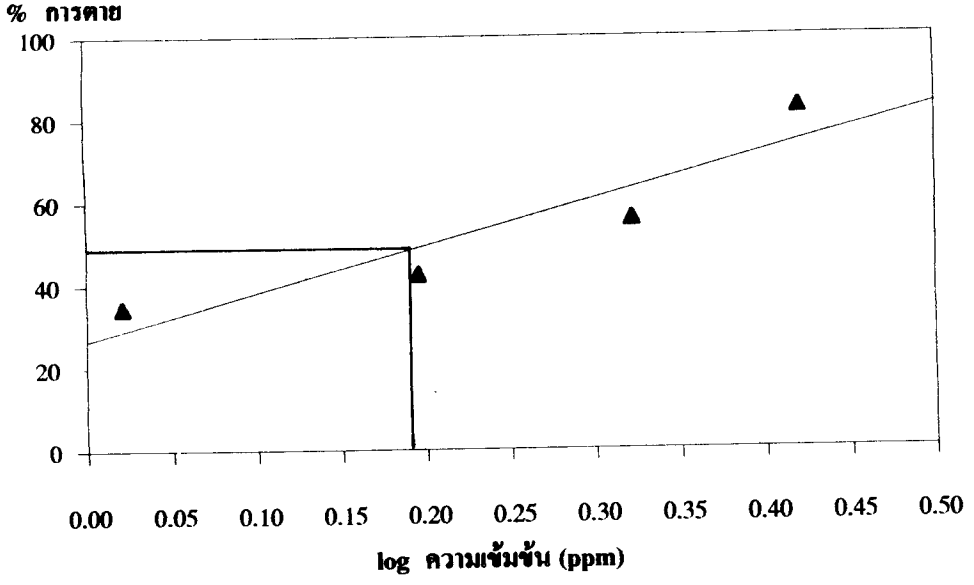
$$Pr = (Po - Pc) \times 100 / (100 - Pc)$$

โดยกำหนดให้

Pr = % corrected mortality

Po = % observed mortality

Pc = % control mortality



ภาพที่ 4.3 แสดงความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae*

2. การศึกษาความเข้มข้นของน้ำมันสะเดาที่เหมาะสมในการทดลองเพื่อใช้ในรังผึ้ง

จำนวนผึ้ง 20 ตัวที่ตายใน 24 ชั่วโมง เมื่อใช้น้ำมันสะเดาที่ความเข้มข้นต่างๆดังตารางที่ 4.4 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันสะเดา 10% และ 20% มีความปลอดภัยต่อผึ้งเพราะไม่ทำให้ผึ้งตายเลย น้ำมันสะเดาเข้มข้น 30% และ 40% ทำให้ผึ้งตายเฉลี่ย 5% และ 10% ดังนั้นความเข้มข้นของน้ำมันสะเดาที่ปลอดภัยสำหรับผึ้งเพื่อใช้ทดลองในรังผึ้งคือ 20% เพราะมีโอกาสทำให้ไรตายมากกว่าน้ำมันสะเดาที่ความเข้มข้น 10%

ตารางที่ 4.4 แสดงจำนวนผึ้งที่ตายใน 24 ชั่วโมงเมื่อใช้น้ำมันสะเดาความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของสาร	จำนวนผึ้งที่ใช้ทดลอง(ตัว)	เปอร์เซนต์ผึ้งตายเฉลี่ยใน 24 ชั่วโมง
กลุ่มควบคุม	20	0
น้ำมันสะเดา 10%	20	0
น้ำมันสะเดา 20%	20	0
น้ำมันสะเดา 30%	20	5
น้ำมันสะเดา 40%	20	10

3. การศึกษาประสิทธิภาพของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae*

จากการเจาะหลอดรวงตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งจำนวน 100 เซลล์ เพื่อหาเปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* ก่อนการใช้ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาป้องกันกำจัดไรในสัปดาห์ที่ 0 และภายหลังการใช้สารป้องกันกำจัดไรในสัปดาห์ที่ 1,2,3,4 ปรากฏดังตารางที่ ก-1 , ก-3 , ก-5 , ก-7 (ในภาคผนวก) เมื่อนำเปอร์เซนต์การเข้าทำลายผึ้งของไร *T. clareae* แต่ละช่วงสัปดาห์ของผึ้งรังเดียวกันทุกการทดลองไปวิเคราะห์โควาเรียนซ์ จะได้ค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วของทุกการทดลอง ซึ่งจะนำไปจัดลำดับและเปรียบเทียบกันโดยวิธี DUNCAN'S MULTIPLE RANGE TEST [DMRT] ดังปรากฏในตาราง ก-2 ,ก-4 ,ก-6 ,ก-8

(ในภาคผนวก) ซึ่งสามารถสรุปเป็นตารางที่ 4.5 จากตารางนี้ พบว่า

ช่วงสัปดาห์ที่ 0-1 เปอร์เซนต์การเข้าทำลายของไรในรังที่ใช้ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ [$P < 0.05$] กับกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ใช้ emulsifier (polyoxyethylene sorbitan monolaurate) และ น้ำ โดยที่ความแตกต่างของการใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ [$P > 0.05$]

ช่วงสัปดาห์ที่ 1-2 เปอร์เซนต์การเข้าทำลายของไรในรังที่ใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดา มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [$P < 0.05$] กับกลุ่มควบคุมโดยที่ความแตกต่างของการใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ [$P > 0.05$]

ช่วงสัปดาห์ที่ 2-3 พบว่าเปอร์เซนต์การเข้าทำลายของไรที่ใช้ไทมอล และน้ำมันสะเดามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [$P < 0.05$] กับกลุ่มควบคุม โดยที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [$P < 0.05$] ระหว่างกลุ่มที่ใช้ไทมอล และน้ำมันสะเดา

ช่วงสัปดาห์ที่ 3-4 พบว่า เปอร์เซนต์การเข้าทำลายของไรกลุ่มการทดลองที่ใช้เมนทอลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [$P < 0.05$] กับกลุ่มที่ใช้น้ำมันสะเดา

ตารางที่ 4.5 แสดงการสรุปผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT

การทดลอง	ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae*			
	สัปดาห์ที่ 0-1	สัปาห์ที่ 1-2	สัปดาห์ที่ 2-3	สัปดาห์ที่ 3-4
A กลุ่มควบคุม	19.9 ^{b*}	25.3 ^{c}	25.2 ^{c}	26.1 ^{ab}
B กลุ่มEmul.+น้ำ	20.5 ^{b}	20.5 ^{b}	24.2 ^{bc}	27.1 ^{ab}
C กลุ่มเมนทอล	13.8 ^{a}	17.5 ^{ab}	21.8 ^{bc}	29.0 ^{b}
D กลุ่มไทมอล	12.8 ^{a}	17.9 ^{ab}	20.7 ^{b}	23.8 ^{ab}
E กลุ่มน้ำมันสะเดา	13.6 ^{a}	13.5 ^{a}	17.1 ^{a}	18.1 ^{a}

* ตัวอักษรเหมือนกันใน column เดียวกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4. การตรวจนับไร *T. clareae* จากตะแกรงตรวจไร

การตรวจนับจำนวนไร *T. clareae* แสดงในภาพที่ 4.4-4.9 ในกลุ่มควบคุมภาพที่ 4.4 จำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงจะอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 25 ตัวต่อวันใน 15วันแรกของการทดลอง ต่อจากนั้นจำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงจะเพิ่มมากขึ้น จำนวนของไร *T. clareae* ที่ตรวจพบในตะแกรงตรวจไรแต่ละวันมีความแปรปรวนสูง

ในกลุ่มทดลองที่ใช้ emulsifierและน้ำ ภาพที่ 4.5 จำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงจะอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 10 ตัวต่อวันใน 15 วันแรกของการทดลอง หลังจากวันที่ 16 ของการทดลองจำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงจะเพิ่มมากขึ้น จำนวนของไรที่ตรวจพบในตะแกรงมีความแปรปรวนสูง

ในกลุ่มทดลองที่ใช้เมนทอล ภาพที่ 4.6 ใน 7 วันแรกจำนวนไร *T. clareae* เฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงจะต่ำกว่า 80 ตัวต่อวัน เมื่อเริ่มมีการใช้เมนทอลในการกำจัดไรครั้งแรก พบว่า วันต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงจะมากขึ้น เมื่อมีการใช้เมนทอลครั้งที่ 2 และ 3 จำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงมีความสัมพันธ์กับการใช้เมนทอลเพียงเล็กน้อย

ในกลุ่มทดลองที่ใช้ไทมอล ภาพที่ 4.7 ตลอดการทดลองจำนวนไร *T. clareae* เฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงไม่เกิน 10 ตัวต่อรังต่อวัน เมื่อมีการนำไทมอลมาใช้ในรังพบว่า วันต่อมาไรจะตกลงบนตะแกรงเฉลี่ยมากขึ้น แสดงว่าจำนวนไรที่ตกลงบนตะแกรงมีความสัมพันธ์กับการใช้ ไทมอล

ในกลุ่มทดลองที่ใช้น้ำมันสะเดา ภาพที่ 4.8 ใน 7 วันแรกของการทดลองจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงจะอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่า 20 ตัวต่อวัน เมื่อนำน้ำมันสะเดามาใช้ครั้งแรกพบว่าวันต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกบนตะแกรงจะมากขึ้น และเมื่อมีการใช้น้ำมันสะเดาครั้งต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงมีความสัมพันธ์กับการใช้น้ำมันสะเดา

ภาพที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงของกลุ่มที่ใช้ไทมอล เมนทอล และน้ำมันสะเดา มีความสัมพันธ์กับการใช้สาร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ใช้ emulsifier และน้ำ

5. การศึกษาผลข้างเคียงบางประการเนื่องจากการใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดา

ก. ผลข้างเคียงกับผึ้งงาน

จากการสังเกตพฤติกรรมของผึ้งงานในรังสังเกต พบว่าเมื่อนำเมนทอลมาใช้ในรังสังเกต ผึ้งงานมีอาการสงบนิ่ง ไม่มีอาการตื่นเต้นหรือกระพือปีกไล่กลิ่น ไม่พบผึ้งตายเพราะการ

ใช้เมนทอล ไม่พบพฤติกรรมก้าวร้าวของผึ้ง เช่นถูกผึ้งต่อยภายหลังการใช้เมนทอล ไม่พบการทำลายนางพญาผึ้ง

เมื่อนำไทมอลมาใช้ในรังสังเกตพบว่า ผึ้งงานจะมีการกระพือปีกไล่กลิ่นเล็กน้อยพร้อมกับเดินไปมา (ไม่สงบนิ่งเหมือนผึ้งงานเมื่อใช้เมนทอล) จากนั้นผึ้งงานส่วนหนึ่งจะเดินหนีจากบริเวณที่นำไทมอลมาวางไว้ ไม่พบผึ้งตายเพราะการใช้ไทมอล ไม่พบพฤติกรรมก้าวร้าวของผึ้ง เช่นถูกผึ้งต่อยภายหลังการใช้เมนทอล ไม่พบการทำลายนางพญาผึ้ง แต่เมื่อมีการใช้ไทมอลเกินขนาดพบว่า มีผึ้งงานวัยอ่อนที่ออกจากหลอดรวงใหม่ๆตกลงมาตายที่ฐานรัง ผึ้งมีอาการตื่นเต้นเดินไปมาทั่วคอน และมีผึ้งงานดึงตัวหนอนออกมาทิ้งที่บริเวณฐานรังจำนวนมาก

เมื่อมีการฉีดพ่นน้ำมันสะเดา ผึ้งงานจะกระพือปีกไล่กลิ่น และมีการเลียขึ้งกันและกันเพื่อทำความสะอาดตัว ผึ้งงานจะเดินหนีจากบริเวณที่ฉีดน้ำมันสะเดาเนื่องจากกลิ่นของน้ำมันสะเดา ไม่พบพฤติกรรมก้าวร้าวของผึ้ง เช่นถูกผึ้งต่อยภายหลังการฉีดพ่นน้ำมันสะเดา ไม่พบการทำลายนางพญาผึ้ง ไม่พบผึ้งงานหรือตัวหนอนตายภายหลังการใช้น้ำมันสะเดา แต่เมื่อมีการใช้น้ำมันสะเดาเกินขนาดพบว่ามีผึ้งงานวัยอ่อนที่เพิ่งออกจากหลอดรวงใหม่ๆตกลงมาตายที่ฐานรัง

การใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาได้ผลเหมือนกันคือ ไม่ทำให้ผึ้งตาย , ไม่พบพฤติกรรมก้าวร้าวของผึ้งภายหลังการใช้สาร และไม่พบการทำลายนางพญาผึ้ง

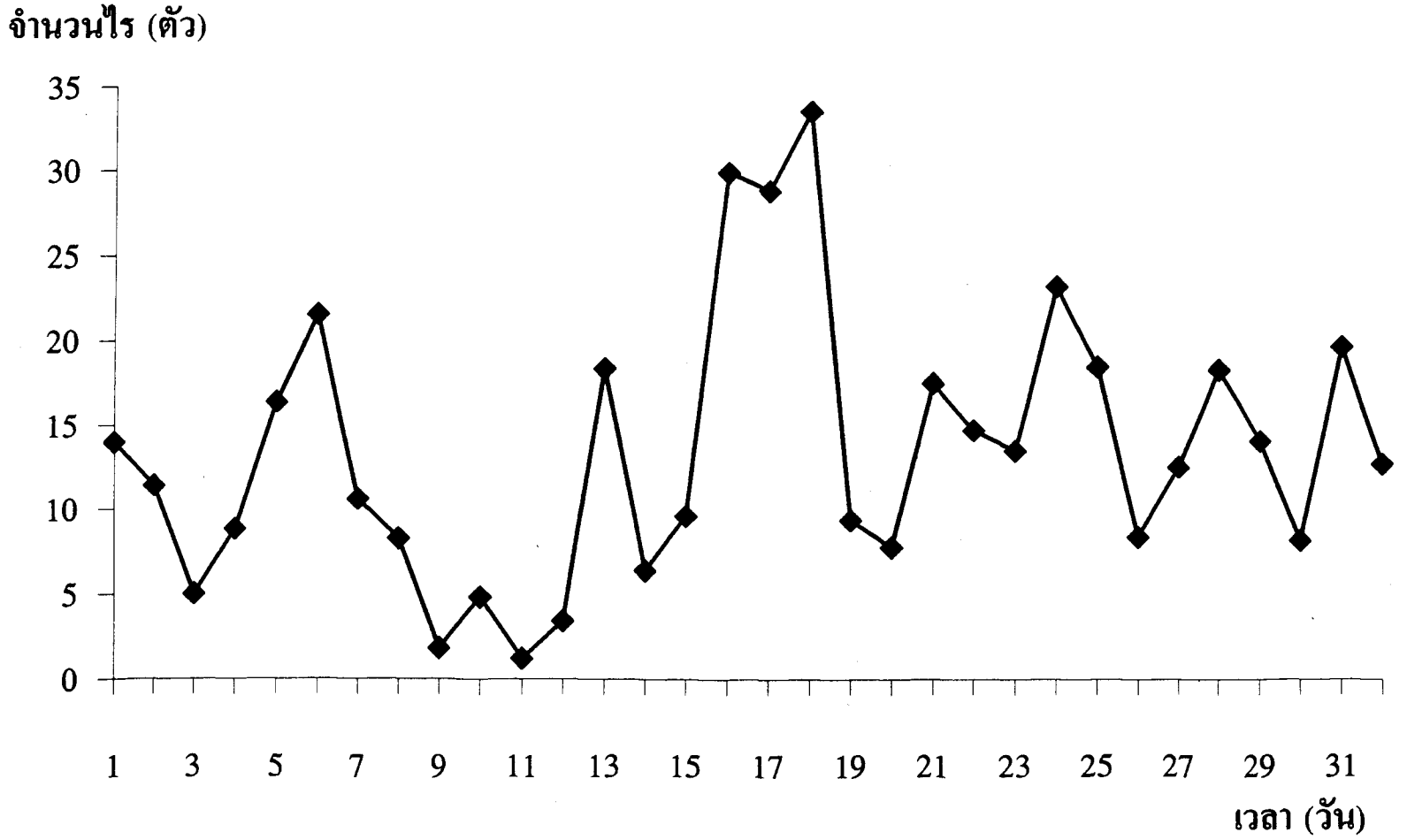
การใช้ไทมอลและน้ำมันสะเดาได้ผลเหมือนกันคือ ทำให้ผึ้งงานกระพือปีกไล่กลิ่นและเดินหนีจากบริเวณที่ใช้สาร

การใช้ไทมอลและน้ำมันสะเดาได้ผลต่างกันคือ การใช้น้ำมันสะเดาจะทำให้ผึ้งเลียกันเพื่อทำความสะอาดตัว

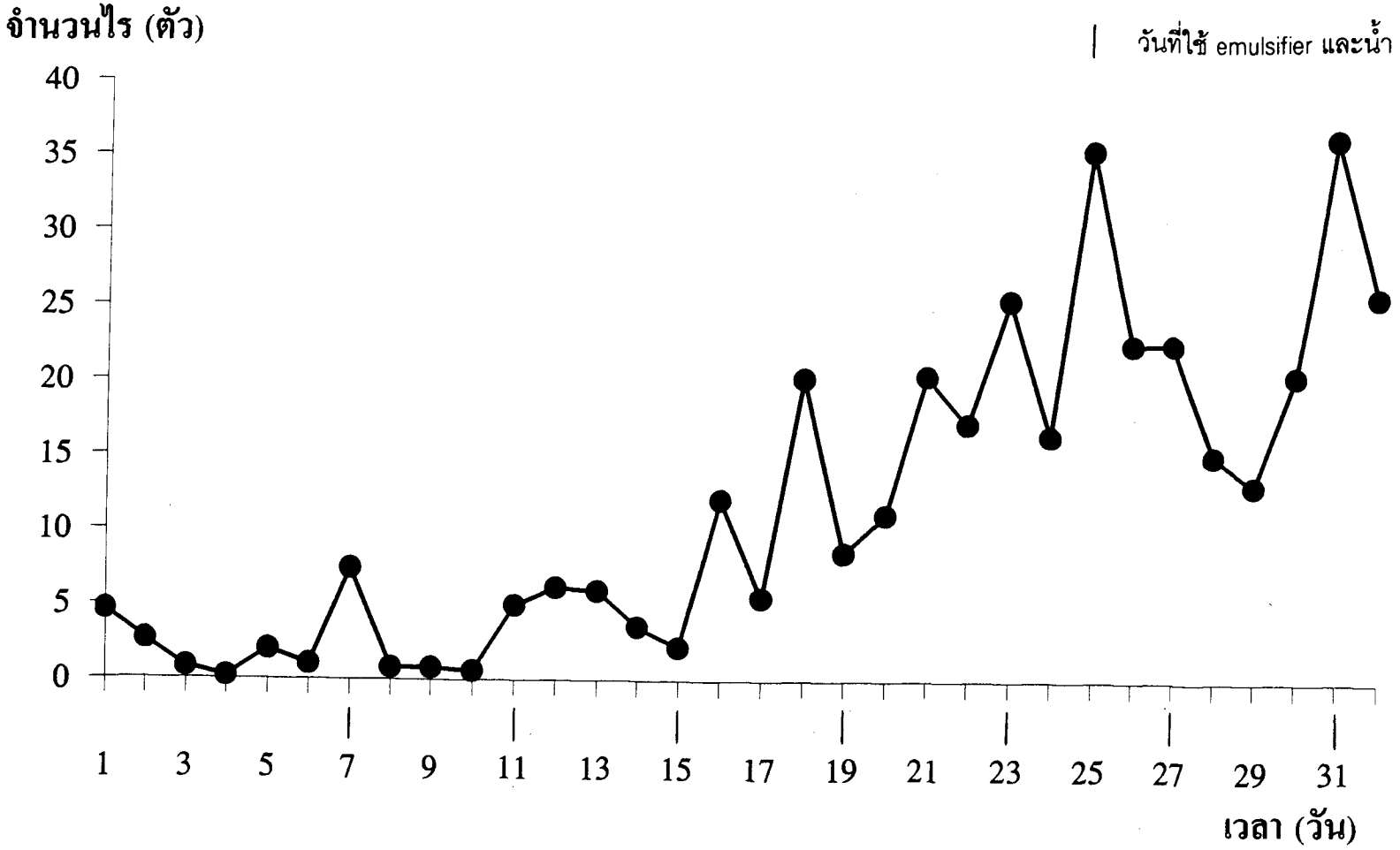
ข. ผลข้างเคียงกับนางพญาผึ้งและประชากรผึ้ง

ในช่วงสัปดาห์ที่สี่ของการทดลอง มีนางพญาผึ้งหายไปจากรังเบอร์ 5 ซึ่งใช้เมนทอล อย่างไรก็ตามการหายไปของนางพญาผึ้งอาจไม่เกี่ยวข้องกับการใช้เมนทอล ในการศึกษาอัตราการไข่ของนางพญาผึ้งเมื่อสังเกตประชากรผึ้งจากภาพที่ 4.10 - 4.14 พบว่าโดยทั่วไปแล้วอัตราการวางไข่ของนางพญาผึ้งเป็นปกติทุกกลุ่มการทดลอง ยกเว้นรังเบอร์ 5 ที่นางพญาผึ้งหายไปในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง และรังเบอร์ 10 ในสัปดาห์ที่ 2 เนื่องจากเป็นนางพญาที่ยังไม่ได้รับการผสม(virgin queen)

จากภาพประชากรผึ้งที่ 4.10 - 4.14 พบว่าโดยทั่วไปแล้วประชากรผึ้งเพิ่มขึ้นเล็กน้อยทุกกลุ่มการทดลอง ยกเว้นรังเบอร์ 5 ประชากรสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลองลดลงเพราะนางพญาผึ้งหายไป และรังเบอร์18(กลุ่มควบคุม) ประชากรผึ้งลดลงเพราะเปอร์เซนต์การเข้าทำลายของไร

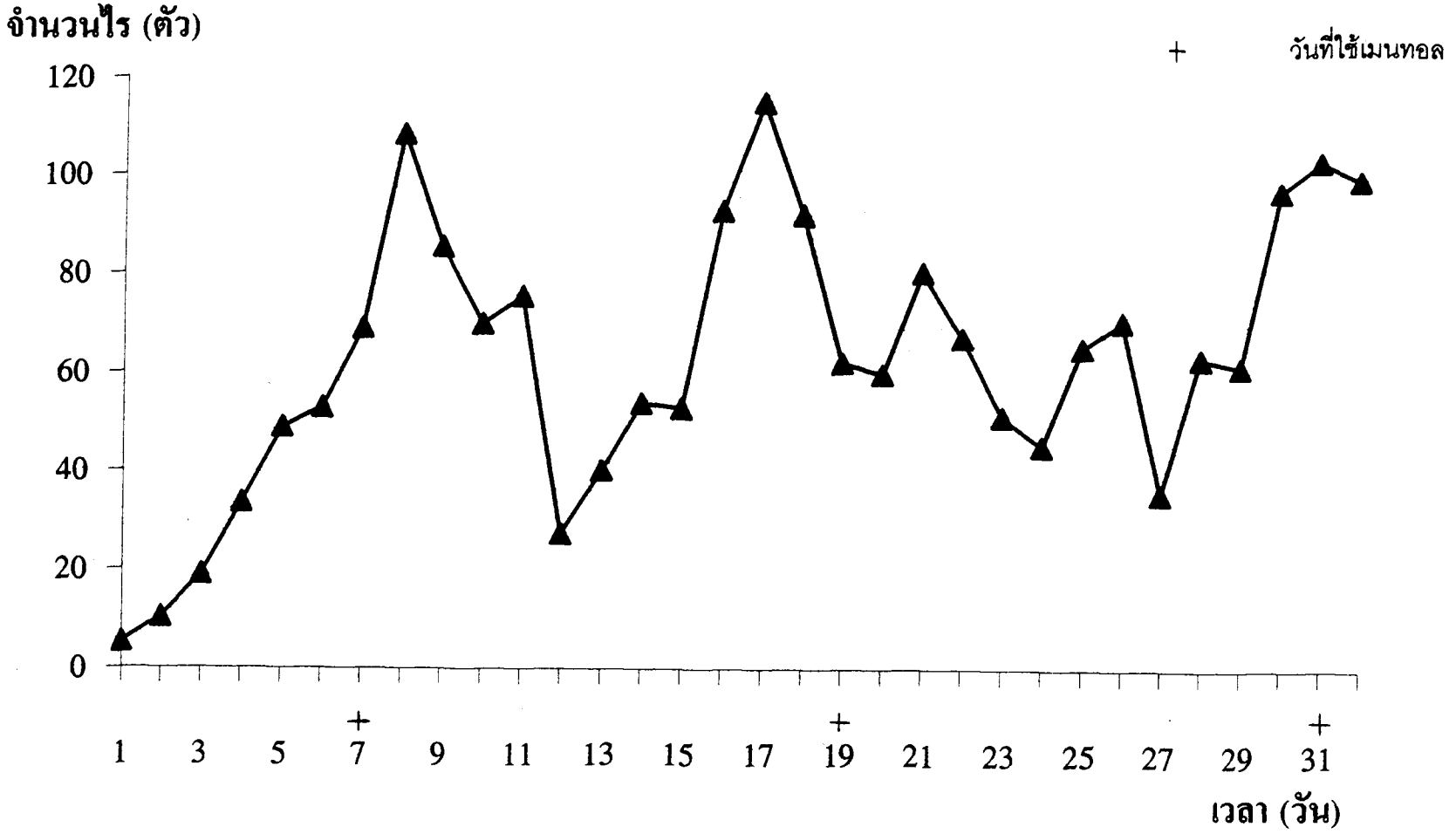


ภาพที่ 4.4 แสดงจำนวนไรทรอบิลีแลปส์ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มควบคุม

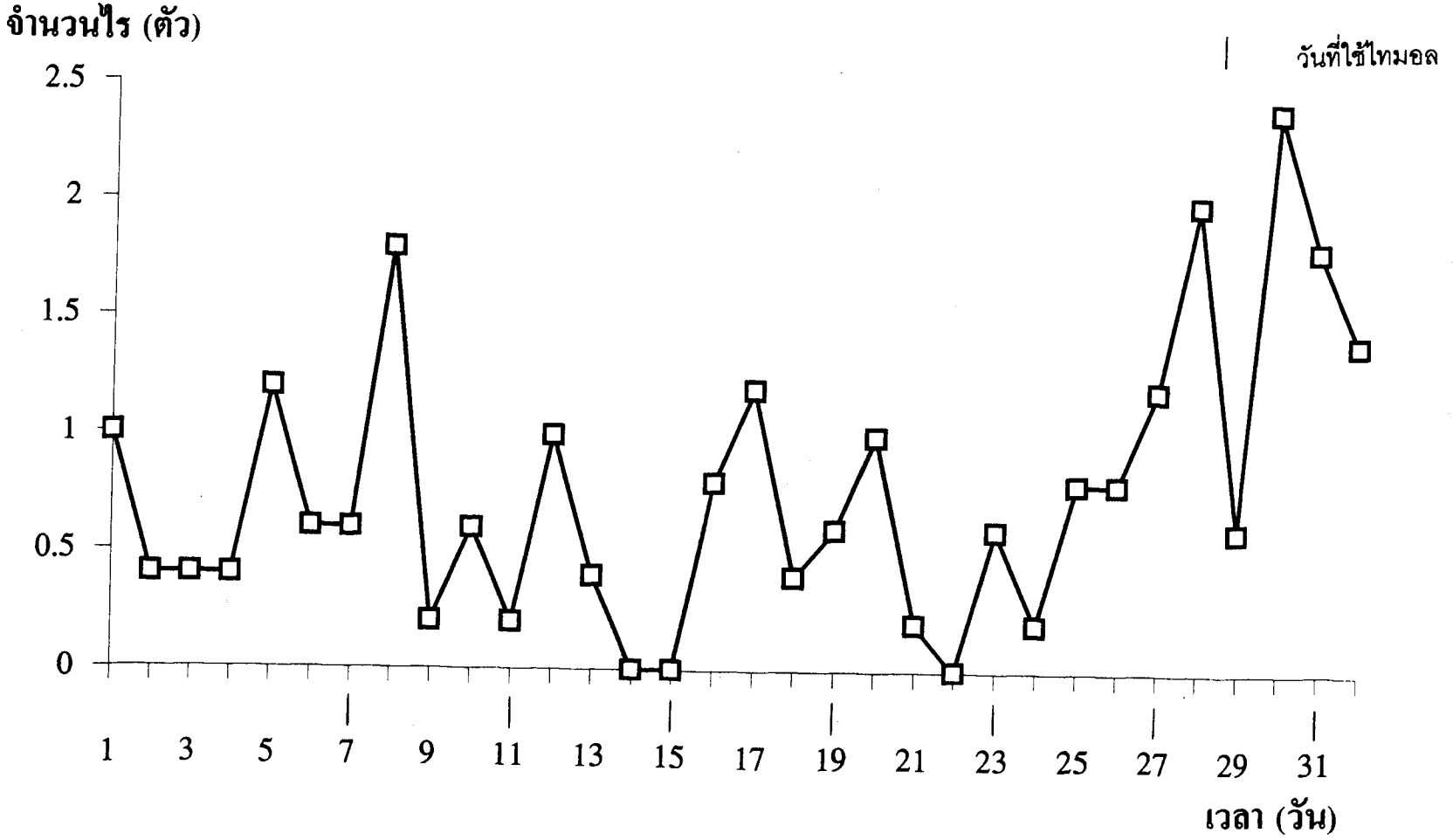


ภาพที่ 4.5 แสดงจำนวนไรทรอปิลีแลปส์ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้ emulsifier และน้ำ

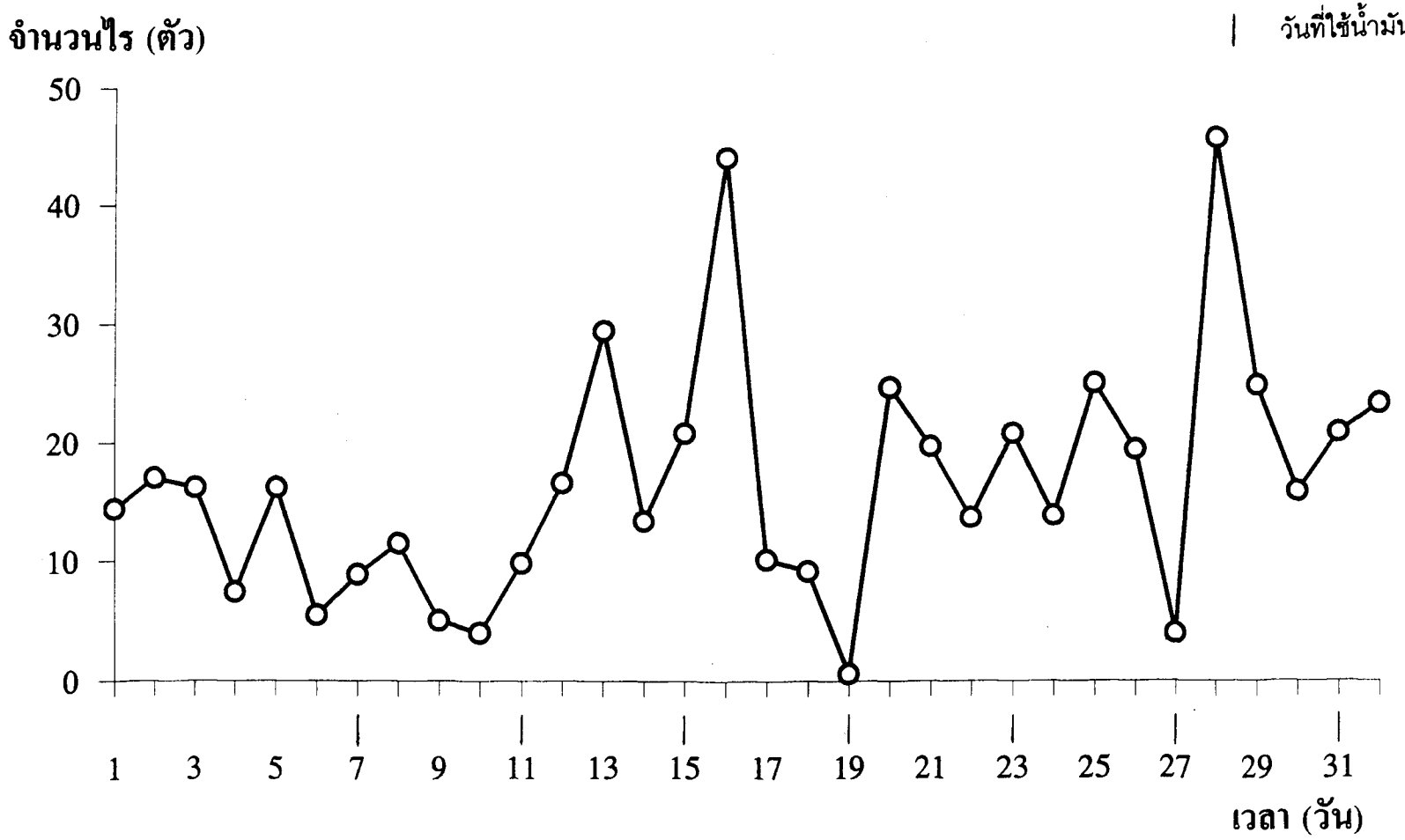
* emulsifier = polyoxyethylene sorbitan monolaurate



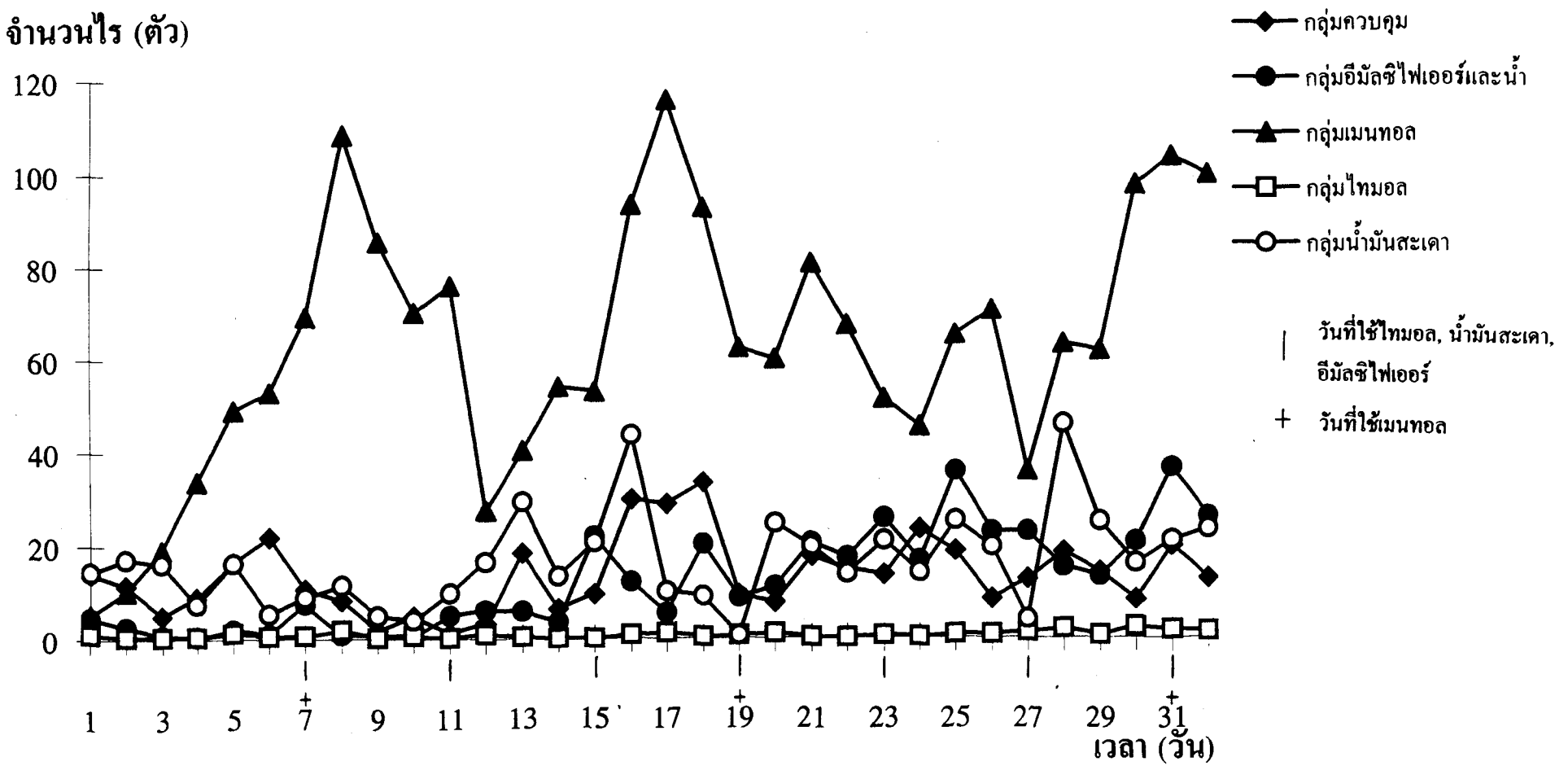
ภาพที่ 4.6 แสดงจำนวนไรทรอบิลีแลปส์ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้เมนทอล



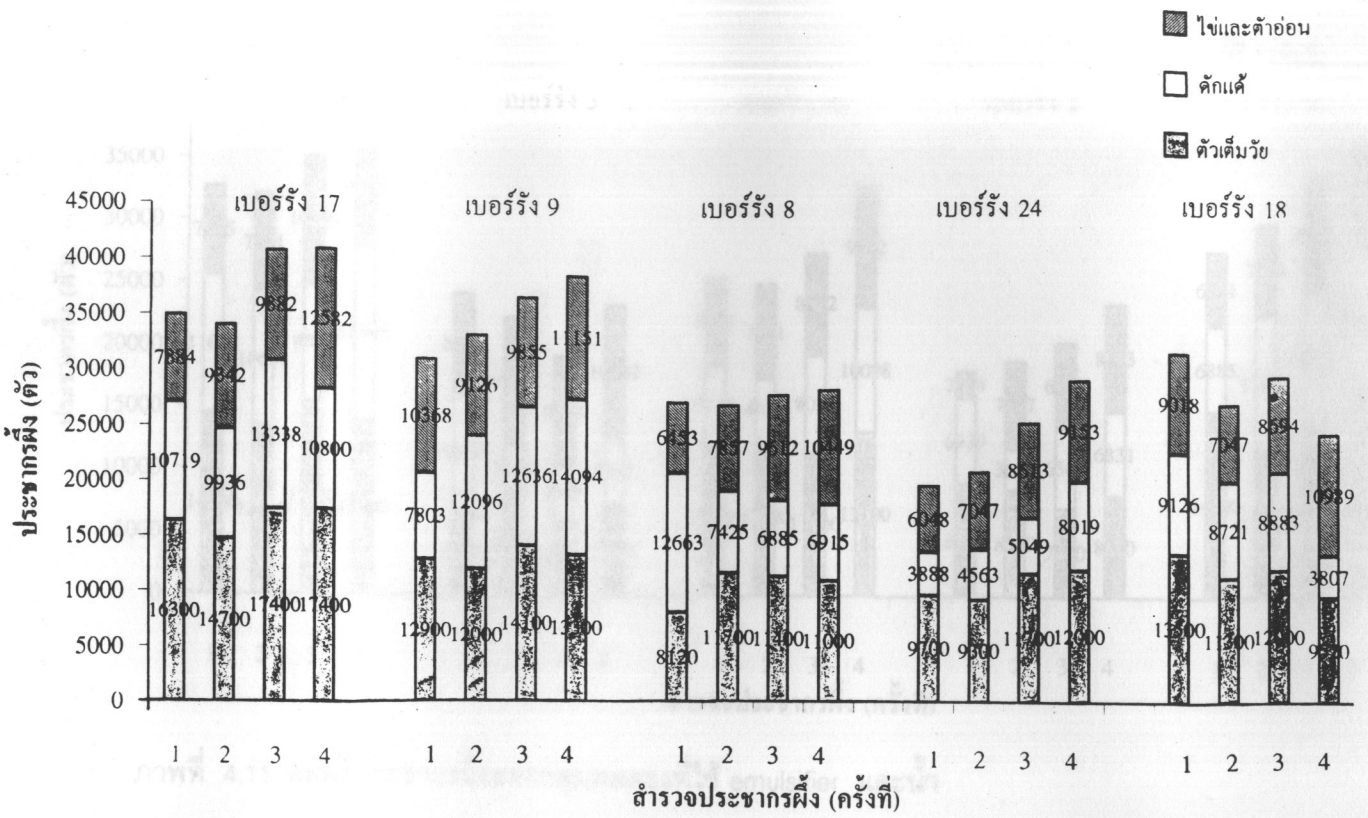
ภาพที่ 4.7 แสดงจำนวนไรทรอบิลีแลปส์ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้ไทมอล



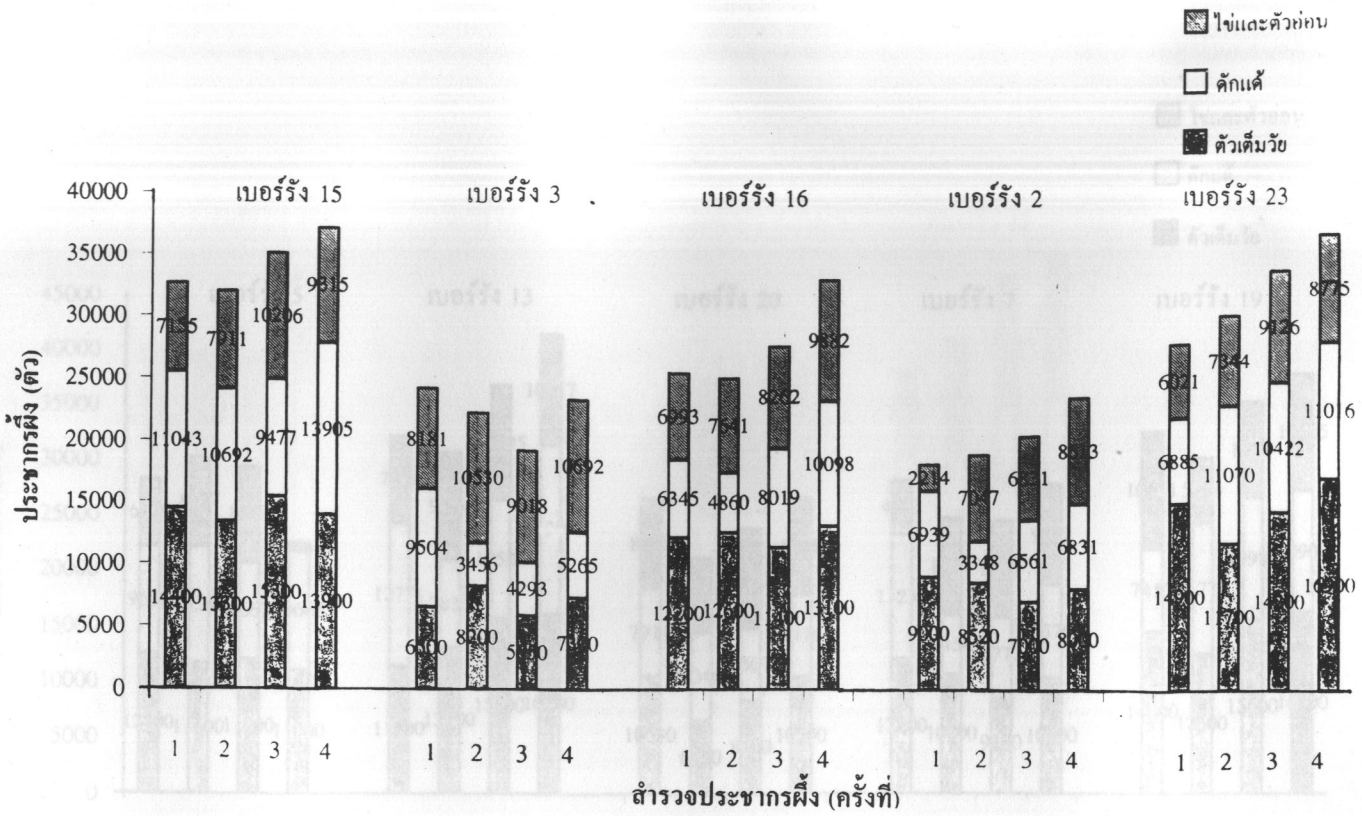
ภาพที่ 4.8 แสดงจำนวนไรทรอปิลีแลปส์ที่นับได้จากตตะแกรงตรวจไรของกลุ่มที่ใช้น้ำมันสะเดา



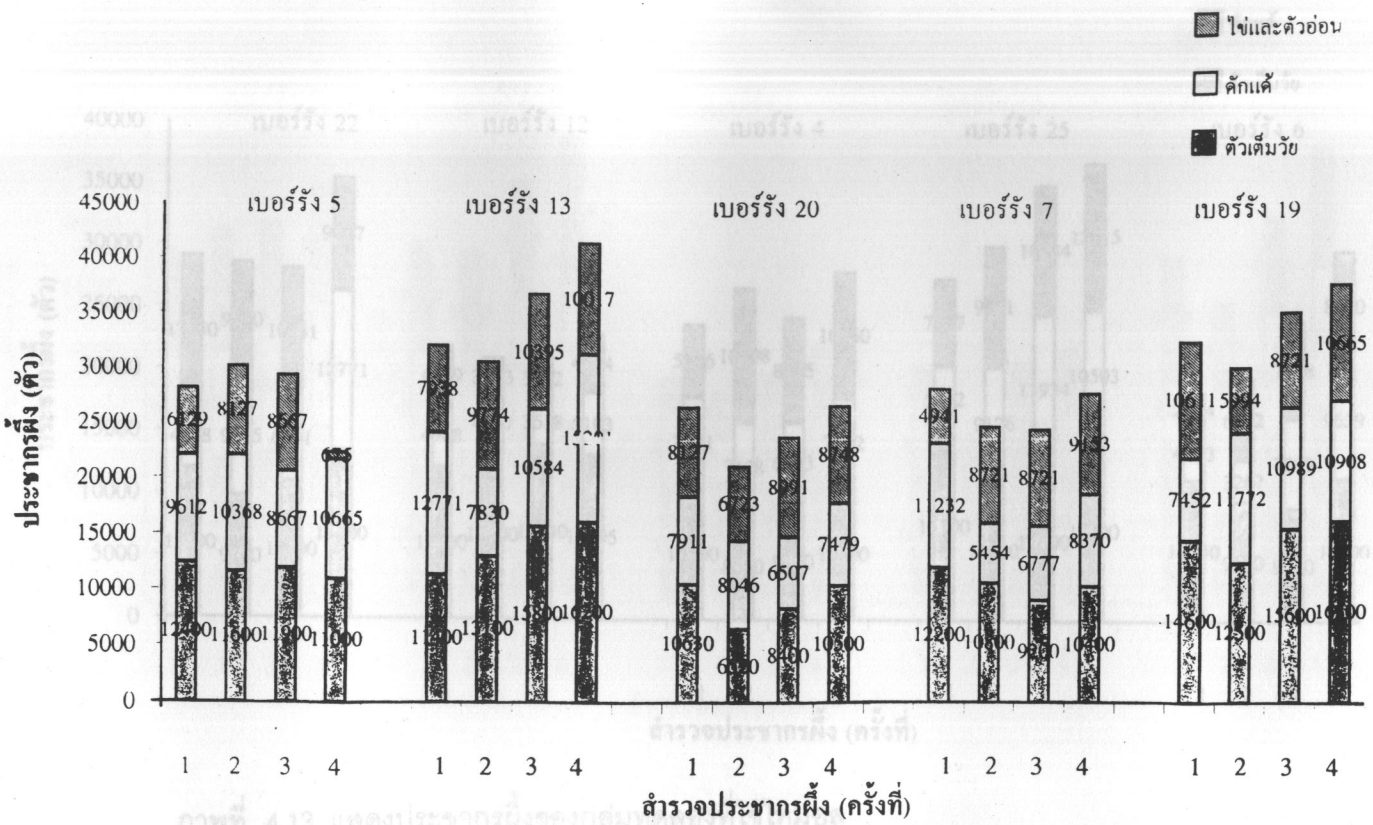
ภาพที่ 4.9 แสดงจำนวนไรทรอบิลีแลปส์ที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรของทุกกลุ่มการทดลอง



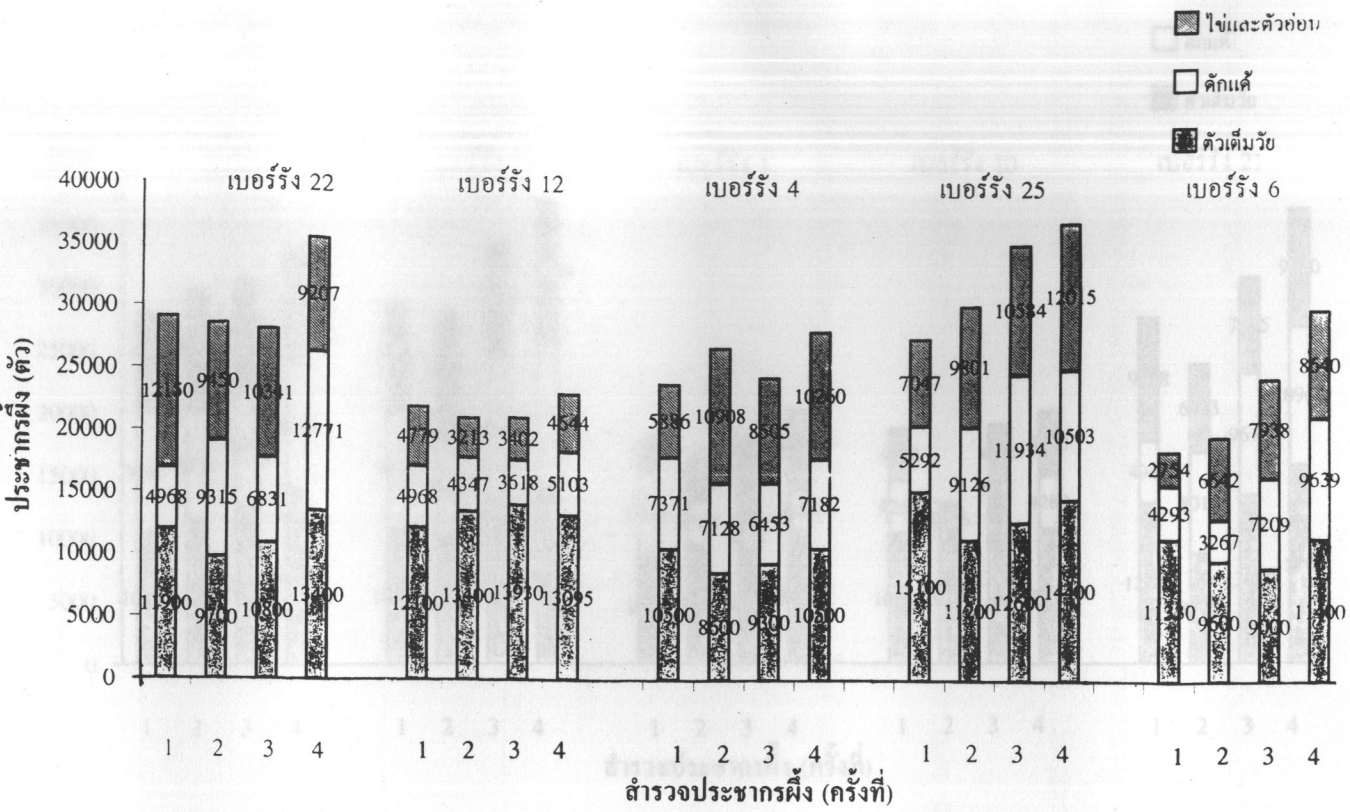
ภาพที่ 4.10 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มควบคุม



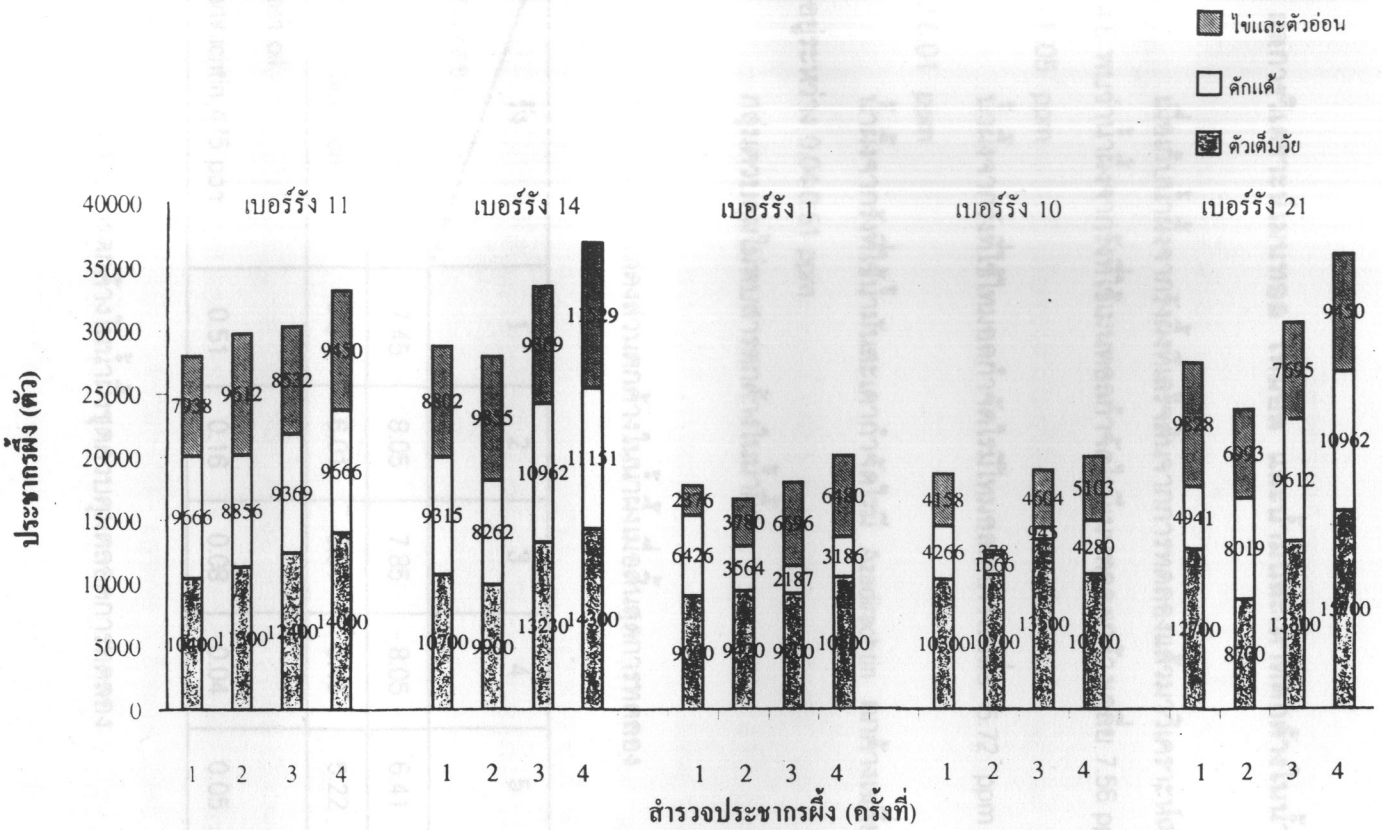
ภาพที่ 4.11 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้ emulsifier และน้ำ



ภาพที่ 4.12 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้เมนทอล



ภาพที่ 4.13 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้ไทมอล



ภาพที่ 4.14 แสดงประชากรผึ้งของกลุ่มทดลองที่ใช้น้ำมันสะเดา

T. clareae สูงมาก (เปอร์เซนต์ไรก่อนทดลอง24 % และเปอร์เซนต์ไรครั้งสุดท้ายที่สำรวจ 67%) ซึ่งทำความเสียหายแก่ประชากรผึ้งมาก เห็นชัดว่าจากการสำรวจประชากรผึ้งครั้งที่ 4 มีดักแด้ผึ้งลดลงจากการสำรวจครั้งที่ 4 มาก เพราะมีไรเข้าทำลายมากเกินไปทำให้ผึ้งงานกำจัดดักแด้ทิ้ง

6. ผลการวิเคราะห์เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาที่ตกค้างในน้ำผึ้ง

เมื่อเก็บน้ำผึ้งจากรังผึ้งที่เสร็จสิ้นจากการทดลองแล้วมาวิเคราะห์ส่วนตกค้าง ดังตารางที่ 4.6 พบว่าน้ำผึ้งจากรังที่ใช้เมนทอลกำจัดไรมีเมนทอลตกค้างเฉลี่ย 7.56 ppm โดยมีค่าระหว่าง 6.41-8.05 ppm

น้ำผึ้งจากรังที่ใช้ไทมอลกำจัดไรมีไทมอลตกค้างเฉลี่ย 5.72 ppm และมีค่าอยู่ระหว่าง 5.22-6.01 ppm

น้ำผึ้งจากรังที่ใช้น้ำมันสะเดากำจัดไรมี Azadirachtin ตกค้างเฉลี่ย 0.16 ppm และมีค่าอยู่ระหว่าง 0.04-0.51 ppm

กลุ่มควบคุมไม่พบสารตกค้างในน้ำผึ้ง

ตารางที่ 4.6 แสดงส่วนตกค้างในน้ำผึ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

รัง / การทดลอง	1	2	3	4	5	$\bar{X} \pm SD$
Mental 1000 ppm	7.45	8.05	7.85	8.05	6.41	7.56 ± 0.69
Thymol 300 ppm	5.91	6.01	6.01	5.45	5.22	5.72 ± 0.36
Neem oil Azadirachtin 475 ppm	0.51	0.16	0.08	0.04	0.05	0.16 ± 0.19

หมายเหตุ ไม่พบสารตกค้างในน้ำผึ้งชุดควบคุมตลอดการทดลอง

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาความเป็นพิษของ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาความเป็นพิษของสารโดยวิธีปล่อยสารให้ระเหยใน petridish (inhalation) ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง แล้วหาค่าความเป็นพิษ LC_{50} โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ Probit Analysis (Finney, 1971)

ผลการศึกษาพบว่าความเป็นพิษของ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae*ในห้องปฏิบัติการที่ 24 ชั่วโมง มีค่า LC_{50} เท่ากับ 4.72 ppm , 1.23 ppm , และ 1.37 ppm ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไทมอลเป็นพิษต่อไร *T. clareae* มากที่สุด และเมนทอลมีพิษต่อไร *T. clareae* น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Imdorf และคณะ(1995) พบว่าไทมอลมีความเป็นพิษต่อไรวาร์รัวมากกว่าเมนทอล โดยที่ความเข้มข้นซึ่งฆ่าไรวาร์รัวเกือบ 100 เปอร์เซนต์และไม่ทำอันตรายต่อผึ้งพันธุ์ในห้องปฏิบัติการมีค่าอยู่ระหว่าง 20-60 mg/L สำหรับเมนทอล และไทมอลมีค่าอยู่ระหว่าง 5-15 mg/L

ไทมอลมีพิษมากกว่าเมนทอลในหนูที่ให้โดยการกิน ค่า LD_{50} เท่ากับ 3180 mg/kg สำหรับเมนทอล และ LD_{50} เท่ากับ 980 mg/kg สำหรับไทมอล (Budavari,1989) และได้มีการศึกษาความเป็นพิษของเมนทอลต่อ larva ผึ้ง Atkins (1993) ได้ศึกษาความเป็นพิษของเมนทอลต่อ larva ผึ้ง ค่า LD_{50} เท่ากับ 1000 μg/larva Boontai (1994) ศึกษาความเป็นพิษของน้ำมันสะเดาต่อผึ้งมิ้มและผึ้งโพรง โดยวิธีหยดสารลงบนตัวผึ้งและวิธีผสมสารกับน้ำเชื่อมให้ผึ้งกิน และประเมินค่าความเป็นพิษในรูปของค่า LC_{50} ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในผึ้งมิ้ม LC_{50} เท่ากับ 32.57% (วิธีหยดลงบนตวผึ้ง) และ 211.04% (วิธีผสมสารกับน้ำเชื่อมให้ผึ้งกิน) ในผึ้งโพรง LC_{50} เท่ากับ 38.03% (วิธีหยดลงบนตัวผึ้ง) และ 442.05% (วิธีผสมสารกับน้ำเชื่อมให้ผึ้งกิน)

ประนอม ปัญจพัฒนศิริ (2538) ศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยต่อหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดเล็ก โดยวิธีหยดสารลงบนตัวหนอนพบว่า สารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยไม่เป็นพิษโดยทางสัมผัสต่อหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่และหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดเล็ก ส่วนวิธีผสมสารให้หนอนกินค่า LC_{50} (240 ชั่วโมง) ของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยมีค่าเท่ากับ 4.14, 3.32, 10.48 % ต่อหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ระยะที่ 3, 4, 5 ตามลำดับ ส่วนการทดลองในหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดเล็กมีค่าเท่ากับ 3.20, 2.47, 8.13 % ตามลำดับ

แม้ว่านักวิทยาศาสตร์จะทราบว่าเมนทอลสามารถฆ่าไรได้แต่ในปัจจุบันนี้ยังไม่มีใครทราบว่าเมนทอลฆ่าไรได้อย่างไร (Eischen, 1996) สำหรับไทมอลนักวิทยาศาสตร์คาดว่าอาจจะมีผลต่อไรโดยลดความสามารถการสืบพันธุ์ของไรตัวเมีย (Ritter, 1981)

แต่จากการศึกษาเกี่ยวกับ detoxification enzyme ในแมลง Visetson (1991) พบว่าสารระเหยบางอย่างจะไป inhibit การทำงานของ monooxygenase ทำให้แมลงมีความอ่อนแอต่อสภาพแวดล้อม และตายในที่สุด

น้ำมันสะเดามีผลต่อแมลงและไรหลายๆประการเช่น Jilani และ Saxena(1990) รายงานว่าเมื่อใช้น้ำมันสะเดาที่ความเข้มข้น 80 $\mu g / cm^3$ สามารถขับไล่มอดข้าวเปลือก *Rhyzopertha dominica* ได้มากกว่า 50% นอกจากนี้น้ำมันสะเดามีผลยับยั้งการกินอาหารของไรสนิมส้ม (citrus red mite) ไรแดง (two spotted spider mite) และเพลี้ยอ่อนของถั่ว (bean aphid) (Jacobson et al., 1978; Schauer and Schmutterer, 1981; Dimetry and Schmidt, 1992)

มีการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าน้ำมันสะเดามีแนวโน้มให้ผลดีต่อการป้องกันกำจัดไข่และตัวเต็มวัยของไรแดงอเมริกัน *Eutertranychus africanus* (Tuker) ซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญชนิดหนึ่งของส้มโอ (เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, 2537; เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์, 2538)

จากการศึกษาของ Thanispong (1991) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทยไม่เป็นพิษโดยทางสัมผัส แต่มีประสิทธิภาพในการไล่ (repellant) ไรแดง *Tetranychus hydrangeae* Rembol (1981) รายงานว่ากลไกการออกฤทธิ์ของสาร Azadirachtin จะไปรบกวนการสร้างและหลั่งฮอร์โมนที่เกี่ยวกับการหลอกคราบ ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแมลง

ประพิศ วองเทียม (2539) ศึกษาผลของสารสะกัดสะเดาต่อระดับเอนไซม์ชจัดพิษของด้วงถั่ว *Callosobruchus maculatus* Mariappan และคณะ (1983) รายงานว่าใช้น้ำมันสะเดาอินเดีย (neem oil) เข้มข้น 5 % ควบคุมเพลี้ยจั๊กจั่นสีเขียว ให้อัตราการตาย 100 % ที่ 96 ชั่วโมง

2. การศึกษาประสิทธิภาพของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* ในรังผึ้ง

ปรากฏว่า เมนทอลใช้ได้ผลกับไร *T. clareae* ในการใช้ครั้งแรก เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4.6 พบว่าเมื่อเริ่มมีการใช้เมนทอลในการกำจัดไรครั้งแรก วันต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงตรวจไรจะมากขึ้น และเมื่อมีการใช้เมนทอลครั้งที่ 2 และ 3 จำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงมีความสัมพันธ์กับการใช้เมนทอลเพียงเล็กน้อย และเปอร์เซนต์การเข้าทำลายดักแด้ผึ้งเพิ่มขึ้นมากในสัปดาห์สุดท้ายของการทดลอง แสดงให้เห็นว่าเมนทอลมีประสิทธิภาพในการกำจัดไรเพียงเล็กน้อย

ไทมอลมีประสิทธิภาพในการกำจัดไร *T. clareae* ในรังผึ้งมากกว่าเมนทอล ซึ่งสอดคล้องกับการหาค่าความเป็นพิษของ เมนทอลและไทมอลในห้องปฏิบัติการ (ไทมอลมีพิษต่อไร *T. clareae* มากกว่าเมนทอล) เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4.7 พบว่าเมื่อมีการนำไทมอลมาใช้ในรังวันต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงตรวจไรจะมากขึ้น ซึ่งจำนวนไรที่ตกลงบนตะแกรงมีความสัมพันธ์กับการใช้ไทมอล

น้ำมันสะเดาใช้ได้ผลกับไร *T. clareae* มากกว่าเมนทอลและไทมอล เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 4.8 พบว่าเมื่อมีการใช้น้ำมันสะเดาในรังครั้งแรก วันต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่ตกลงบนตะแกรงตรวจไรจะมากขึ้น และเมื่อมีการใช้น้ำมันสะเดาครั้งต่อมาจำนวนไรเฉลี่ยที่นับได้จากตะแกรงตรวจไรมีความสัมพันธ์กับการใช้น้ำมันสะเดา

การที่น้ำมันสะเดาใช้ได้ผลดีกับไร *T. clareae* มากกว่าเมนทอล และไทมอลอาจเป็นเพราะช่วงเวลาที่ทำการทดลองใช้สารในรังผึ้ง เป็นช่วงฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน) อุณหภูมิไม่ร้อนมากนัก ทำให้การระเหยของเมนทอล และไทมอลไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร มีการศึกษาพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการใช้เมนทอล (Herbert et al. , 1987) สอดคล้องกับ

Eischen (1996) รายงานว่าถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 60 °F จะขัดขวางการระเหยของเมนทอล Imdorf และคณะ(1995) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อการใช้ไทมอลในการกำจัดไร

เนื่องจากการใช้น้ำมันสะเดามีปัจจัยทางกายภาพมาเกี่ยวข้องเช่น แสงแดด และรังสีอุลตร้าไวโอเลต (ultraviolet) มีผลต่อการสลายตัวของสารออกฤทธิ์คือ Azadirachtin (Barnby et al., 1989) และสาร Azadirachtin จะสลายตัวได้เร็วที่อุณหภูมิสูง (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี และคณะ, 2537) ซึ่งการใช้น้ำมันสะเดาในรังผึ้งใช้ในตอนเย็นที่มีแสงแดดน้อย อุณหภูมิไม่สูงจึงทำให้การใช้น้ำมันสะเดามีประสิทธิภาพ

3. ผลการวิเคราะห์ส่วนที่ตกค้างในน้ำผึ้ง

เมื่อเก็บน้ำผึ้งที่เสร็จสิ้นการทดลองมาวิเคราะห์ส่วนตกค้าง จากตารางที่ 4.6 พบว่ามีเมนทอลตกค้างในน้ำผึ้งเฉลี่ย 7.56 ppm โดยมีค่าระหว่าง 6.41 - 8.05 ppm ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Nelson และคณะ (1993) ได้วิเคราะห์เมนทอลที่ตกค้างในน้ำผึ้งจากรังผึ้งที่ใช้เมนทอลในการกำจัดไรท่อลมผึ้ง พบว่าในรังที่ใช้เมนทอล 60 กรัมและ 30 กรัม มีเมนทอลตกค้างในในน้ำผึ้ง 6.2 ppm และ 0.8 ppm ตามลำดับ และสอดคล้องกับการศึกษาของ Herbert และคณะ(1987) ใช้เมนทอลควบคุมไรท่อลมผึ้ง เมื่อนำน้ำผึ้งมาวิเคราะห์พบว่ารังที่ใช้เมนทอล มีเมนทอลตกค้าง 0 - 12.3 ppm และรังที่ไม่ใช้เมนทอล (รังควบคุม) มีสารเมนทอลตกค้าง 0.7- 3.3ppm Herbert คาดว่าการที่รังควบคุมมีเมนทอลตกค้างอาจเป็นเพราะผึ้งงานออกหาอาหารจากพืชจำพวกสะระแหน่ Liและคณะ(1993) ทดลองใช้เมนทอลเพื่อกำจัดไรท่อลมผึ้งพบว่ามีเมนทอลตกค้างในน้ำผึ้งและไขผึ้ง 18 ppm และ 2790 ppm ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.6 พบว่ามีไทมอลตกค้างในน้ำผึ้งเฉลี่ย 5.72 ppm โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 5.22 - 6.01 ppm ซึ่งสูงกว่าการทดลองของ Lodesani และคณะ (1992) ทดลองใช้ไทมอลกำจัดไรวาร์รัวและหาสารตกค้างในน้ำผึ้งโดยวิธี Gas Chromatography พบว่าไทมอลตกค้างในน้ำผึ้งสูงสุด 1.5 ppm Imdorf และคณะ (1995) ทดลองใช้ Apilife VAR กำจัดไรวาร์รัวซึ่ง Apilife VAR ประกอบด้วย ไทมอล, Eucalyptol , เมนทอล และแคมเฟอร์ (camphor) พบไทมอลตกค้างในน้ำผึ้ง 0.19 mg/kgซึ่งไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภคเพราะองค์การอนามัยโลก (WHO) อนุญาต ให้ไทมอลตกค้างในอาหารได้ไม่เกิน 50 mg/kg

จากตารางที่ 4.6 พบว่าน้ำผึ้งจากรังที่ใช้น้ำมันสะเดากำจัดไรมี Azadirachtin ตกค้างเฉลี่ย 0.16 ppm โดยมีค่าระหว่าง 0.04 - 0.51 ppm ซึ่งการยกคอนขึ้นฉีดอาจมีผลทำให้มี Azadirachtinตกค้างในน้ำผึ้งเพราะน้ำมันสะเดาอาจสัมผัสกับน้ำผึ้งโดยตรง การที่ Azadirachtin ตกค้างในน้ำผึ้งไม่มากนักอาจเป็นเพราะปัจจัยทางกายภาพเช่น แสงแดด และรังสีอุลตร้าไวโอเลต (ultraviolet) มีผลต่อการสลายตัวของ Azadirachtin (Barnby et al., 1989) และ Azacirachtin สลายตัวได้เร็วที่อุณหภูมิสูง (ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี และคณะ, 2537)

บทที่ 6

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ก. สรุปผลการทดลอง

1. ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอลและน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* ในห้องปฏิบัติการ สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1.1 ค่า LC_{50} (24 ชั่วโมง) ของเมนทอลต่อไร *T. clareae* โดยวิธีปล่อยสารให้ระเหยใน petridish (inhalation) มีค่าเท่ากับ 4.72 ppm

1.2 ค่า LC_{50} (24 ชั่วโมง) ของไทมอลต่อไร *T. clareae* โดยวิธีปล่อยสารให้ระเหยใน petridish (inhalation) มีค่าเท่ากับ 1.23 ppm

1.3 ค่า LC_{50} (24 ชั่วโมง) ของน้ำมันสะเดาต่อไร *T. clareae* โดยวิธีปล่อยสารให้ระเหยใน petridish (inhalation) มีค่าเท่ากับ 1.37 ppm

1.4 ไทมอลมีความเป็นพิษต่อไร *T. clareae* มากที่สุด , มีพิษรองลงมาคือน้ำมันสะเดา , และเมนทอลมีพิษต่อไร *T. clareae* น้อยที่สุด จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

2. ประสิทธิภาพของ เมนทอล ไทมอล และ น้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* ในรังผึ้งสามารถสรุปได้ดังต่อไปนี้

2.1 ในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* น้ำมันสะเดามีแนวโน้มที่จะป้องกันกำจัดไรได้ดีที่สุด , รองลงมาคือไทมอล , สุดท้ายคือเมนทอลซึ่งป้องกันกำจัดไรได้น้อยที่สุด

2.2 เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดามีผลกระทบข้างเคียงต่อผึ้ง และนางพญาผึ้งน้อยมาก

3. ส่วนตกค้างในน้ำผึ้งเนื่องจากการใช้เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* สามารถสรุปได้ดังนี้

3.1 เมนทอล ไทมอล และ Azadirachtin(ในน้ำมันสะเดา) ตกค้างในน้ำผึ้งโดยเฉลี่ย 7.56, 5.72 , และ 0.16 ppm ตามลำดับ

3.2 เมนทอลตกค้างในน้ำผึ้งมากที่สุด รองลงมาคือไทมอล , สุดท้ายคือ Aadirachtin (ในน้ำมันสะเดา) ตกค้างในน้ำผึ้งน้อยที่สุด

ข. ข้อเสนอแนะ

ปัญหาและอุปสรรคในการป้องกันกำจัดไร *T. clareae* เกิดขึ้นเนื่องจากวงชีวิตของไรมีความสัมพันธ์กับวงชีวิตของผึ้ง สารที่ใช้รมในการป้องกันกำจัดไรสามารถที่จะฆ่าไรได้เพียงบางส่วนเท่านั้น ไรที่หลบซ่อนอยู่ในหลอดปิดของดักแด้ผึ้งจะยังคงมีชีวิตอยู่รอด และเข้าทำลายผึ้งในเวลาต่อมาได้ เนื่องจากไร *T. clareae* ไม่สามารถอยู่ได้ในสภาพที่ปราศจากตัวอ่อนหรือดักแด้เป็นอาหาร ดังนั้นการจัดการให้รังผึ้งปราศจากตัวอ่อนผึ้งย่อมมีผลไปลดประชากรไร และเป็นการกำจัดแหล่งหลบซ่อนของไรอีกด้วย เมื่อมีการใช้สารรมฆ่าไรจะทำให้โอกาสของสารที่ใช้รมแทรกซึมเข้าทำอันตรายต่อไรได้ดีขึ้น จึงควรมีการทดลองใช้ เมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดา ร่วมกับวิธีนี้ถ้ามีการทดลองครั้งต่อไป

เนื่องจากประเทศไทยมีพืชที่มีฤทธิ์ฆ่า และไล่แมลงต่างๆมากมายจึงควรมีการทดลองนำพืชต่างๆเหล่านี้มาทดลองป้องกันกำจัดไร *T. clareae* ต่อไป เพราะสารจากธรรมชาติเหล่านี้ปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้ และมีผลตกค้างน้อยในผลิตภัณฑ์จากผึ้งเพราะสามารถสลายตัวได้ง่ายในธรรมชาติ จึงปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่นิยมนำมาป้องกันกำจัดไรในปัจจุบัน

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กานดา อุตตมะดิลก. 2526. **ต้นทุนการผลิตของผลผลิตจากผึ้งเลี้ยงในภาคเหนือของประเทศไทย.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาการบัญชี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

จรัญ จันทลักขณา. 2534. **สถิติวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย**. พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี. 2539. ทำอย่างไรจึงจะใช้สารสกัดจากสะเดาให้ได้ผล. **ว. กีฏ. สัตว.** 18: 54-60.

ชัยพัฒน์ จิระธรรมจารี บงกชรัตน์ ปิติยนต์ และอารมณ์ แสงวาณิชย์. 2537. ศึกษาวิธีการสกัดและการสลายตัวของสารออกฤทธิ์จากเมล็ดสะเดา. **ข่าวสารวัตถุมีพิษ** 21: 60-67.

ชุติกานต์ กิจประเสริฐ. 2527. **ชีววิทยาและอนุกรมวิธานของไรศัตรูผึ้ง** *Tropilaelaps clareae* **Delfinado and Baker (Acarina:Laelapidae)**. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชากีฏวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2537. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาต่อการฟักของไข่ไรแดงแอฟริกันในห้องปฏิบัติการ.** รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2537. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและวิจัยไร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ กุลปิยะวัฒน์ และฉัตรชัย ศฤงฆไพบูลย์. 2538. **ประสิทธิภาพของสารสกัดจากสะเดาต่อไรแดงแอฟริกันระยะตัวเต็มวัยในห้องปฏิบัติการ**. รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2537. กลุ่มงานอนุกรมวิธานและ วิจัยไร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

บัณฑิต ดำรักษ์. 2526. สะเดาพืชสารพัดประโยชน์. **ข่าวสารวัตถุมีพิษ** 10: 47-53.

ประนอม ปัญจพัฒนศิริ. 2538. **ความเป็นพิษของสารสกัดจากเมล็ดสะเดาไทย *Azadirachta indica* var. *Siamensis* Valeton ต่อหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดใหญ่ *Galleria mellonella* Linn. และหนอนผีเสื้อกินไขผึ้งขนาดเล็ก *Achroia grisella* Fabr.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ประพิศ วองเทียม. 2539. **ผลของสารสกัดจากสะเดาต่อระดับเอนไซม์ขจัดพิษของด้วงถั่ว *Callosobruchus maculatus* F.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พงศ์เทพ อัครธนกุล. 2526. **ว่าด้วยผึ้งและการเลี้ยงผึ้ง.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: พฤกษ์ศิริ .

พิทักษ์ พลนุรักษ์. 2527. **ศักยภาพของการอยู่รอดและผลผลิตน้ำผึ้งของผึ้งพันธุ์ *Apis mellifera* ที่นำไปเลี้ยงในสวนยาง.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิจิตร วังใน. 2531. สะเดาพืชมหัศจรรย์. **เคหะการเกษตร** 2: 27-30.

วีรวิทย์ วิทยารักษ์. 2535-2536. สารสกัดจากสะเดา:แนวทางหนึ่งในการลดการใช้สารฆ่าแมลง. **วิทยาสารสถาบันวิจัยพืชสวน** 14: 131-136.

ศุภชัย วานิชวัฒนา. 2483. **ชีวิตของผึ้ง. มหาวิทยาลัย.** 79-90.

สมลักษณ์ วงศ์สมาโนดน์. 2530. **การศึกษาประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดไรศัตรูผึ้ง (*Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae* ในรังผึ้งพันธุ์ (*Apis mellifera*)**. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2532. **ชีววิทยาของผึ้ง**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: บริษัทต้นอ้อจำกัด.

สุรพล วิเศษสรรค์. 2537. **เอกสารเผยแพร่การป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยใช้สารสกัดจากสะเดา**. กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

สุวรรณ เตชะธนานนท์. 2538. มินต์และผลิตภัณฑ์ของมินต์. **วิทยาศาสตร์การอาหาร** 16: 30-35.

แสนนัด หงษ์ทรงเกียรติ. 2531. **เทคโนโลยีการเลี้ยงผึ้ง**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อัญชลี สงวนพงษ์. 2537. หมายเหตุในการใช้สารสกัดจากสะเดา. **เกษตรก้าวหน้า** 9: 17-25.

ภาษาอังกฤษ

Atkins, E.L. 1993. Current facts about honey bee mites and their control in California. In L. J. Cornnor, T. Rinderer, H. A. Sylvester, and S. Wongsiri (eds.), **Asian Apiculture**, 639-643. U.S.A: Wiewas Press.

Barnby, M.A. , Yamasaki, R.B. , and Kloce, J.A. 1989. Biological control of azadirachtin three derivatives, and their ultraviolet radiation degradation products against tobacco budworm (lepidoptera: noctuidae) larvae. **J. Econ. Entomol.** 82: 58-63.

Bharadwaj, R.K. 1968. A new record of the mite *Tropilaelaps clareae* from *Apis dorsata* colonies. **Bee Wld.** 49: 115.

Boonthai, C. 1994. **Toxicity and residual effects of *Azadirachta indica* var. siammensis extract and cyhalothrin on *Apis florea* and *Apis cerana*.** Master thesis, Chulalongkorn University.

Budavari, S. 1989. **The Merck index**. U.S.A: Merck & CO. INC.

Burgett, M. , Akratanakul, P., and Morse, R. A. 1983. *Tropilaelaps clareae* : A parasite of honey bees in south-East Asia. **Bee Wld**. 64: 25-28.

Calderone, N.W. , Bruce, W.A. ,Allen-Wardell, G. ,and Shimanuki, H. 1991. Evaluation of botanical compounds for control of the honey bee tracheal mite, *Acarapis woodi* **Am. Bee J.** 131: 589-591.

Chiesa, F. 1991. Effective control of varroatosis using powdered thymol. **Apidologie** 22: 135-145.

De Jong, D. , Morse, R. A. ,and Eickwort, G.C.1982. Mite pests of honey bees. **Ann. Rev. Entomol.** 27:229-252.

Delaplane, K.. 1992. Controlling tracheal mite (Acari: Tarsonemidae) in colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) with vegetable oil and menthol. **J. Econ. Entomol.** 85: 2118-2124.

Delfinado, M.D. and Baker, E.W. 1961. *Tropilaelaps*, A new genus of mite from the Philipphines [Lealaptidae (s. lat.) Acarina]. **Fieldiana. Zoology**. 44: 53-56.

Delfinado-Baker, M. , and Baker, E. W. 1982. A new species of *Tropilaelaps* parasitic on honey bees. **Am. Bee J.** 122: 416-417.

Delfinado-Baker, M. , and Styer, W.E. 1983. Mites of honey bees as seen by scanning electron microscope (SEM). **Am. Bee J.** 123: 812-813.

Delfinado-Baker, M. , Underwood, B.A. , and Baker, E.W. 1985. The occurrence of *Tropilaelaps* mites in brood nests of *Apis dorsata* and *A. laboriosa* in Nepal, with descriptions of the nymphal stages. **Am. Bee J.** 126: 498-500.

Dimetry, N.Z. , and Schmidt, G.H. 1992. Efficacy of neem Azal-S and Magosa-O against bean aphid, *Aphis fabae* Scop. **Anz. Schadlingsk. Pflanzenschutz Umweltschutz** 65: 75-79.

De Ruijter, A. , and Eijnde, V.D. 1984. Detection of *Varroa* mite in the Natherlands using tobacco smoke. **Bee Wld.** 65: 151-154.

Eischen, F. 1996. Botanical acaricides and Varroa control . **Am. Bee J.** 136: 277-278.

Eischen, F. 1995. Varroa hunting. **Am. Bee J.** 135: 682-684.

Finney, D. J. 1971. **Probit analysis**. 3rd ed. London: Cambridge Univ. Press.

Garg, R. , Sharma, O.P. , and Dogra, G.S. 1984. Formic acid: an effective acaricide against *Tropilaelaps clareae* Delfinado and Baker (Laelapidae: Acarina) and its effect on the brood and longevity of honey bees. **Am. Bee J.** 124: 736-738.

Haynes, F.H. 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. **Ann. Rev. Entmol.** 33: 149-168.

Herbert, E.W. , Shimanuki, H. and Matthenius, J.C.Jr. 1987. The effect of two candidate compounds on *Acarapis woodi* in New Jersey. **Am. Bee J.** 127: 776-778.

Imdorf, A. , Bogdanov, S. , Kilchenmann, V. and Maquelin, C. 1995. Apilife VAR: a new varroacide with thymol as the main ingredient. **Bee Wld.** 76: 77-83.

Imdorf, A., Kilchenmann, V. , Bogdanov, S. , Bachofen, B. and Beretta, C. 1995. Toxic effects of thymol, camphor, meenthol and eucalyptol on *Varroa jacobsoni* Oud and *Apis mellifera* L. in a laboratory test. **Apidologie** 26: 27-31.

Jacobson, M. , Reed, D.K., Crystal, M.M. , Moreno, D.S. , and Soderstrom, E.L. 1978. Chemistry and biological activity of feeding deterrents from certain weed and crop plants. **Ent. Exp. Appl.** 24: 448-457.

Jilani, G. , and Saxena, R.C. 1990. Repellant and feeding deterrent effect of turnierie oil, sweetflag oil, neem oil, and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleopter:Bostrychidae). **J. of Econ. Entomol**. 83: 629-634.

Koeniger, N. and Fuchs, S. 1989. Eleven years with Varroa-experiences, retrospects and prospects. **Bee Wld**. 70: 148-159.

Krantz, G.W. 1978. **A Manual of Acarology.** Oregon State University. U.S.A.: Book Stores, Inc.

Laigo, F.M. , and Morse, R.A. 1968. The mite *Tropiaelaps clarese* in *Apis dorsata* colonies in the Philipphines, **Bee Wld**. 49: 116-118.

Li, M. , Nelson, D.L. and Sporns, P. 1993. Determination of menthol in honey by gas chromatography. **J. of AOAC Inter**. 76:1289-1295.

Lodesani, M. , et al. 1992. Residue determination for some products used against *Varroa* infestation in bees. **Apidologie** 23: 257-272.

Marchetti, S. , and Barbattini, R. 1984. Comparative effectiveness of treatments used to control *Varroa jacobsoni* Oud. **Apidologie** 15: 363-378.

Mariapplan, V. , and Saxena, R.C. 1983. Effect of custardapple oil and neem oil on survial of *Nephotetlix virescens* (Homoptera: Cicadellidae) and on rice tungro virus transmission. **J. Econ. Entomol.** 76: 573-576.

Matheson, A. 1993. World bee health report. **Bee Wld.** 74: 176-212.

National Research Council. 1992. **Neem: A tree for solving global problem**. Washington D.C.: National Academy Preess.

Nelson, D. , Sporn, P. , Kristainsen, P. , and Li, M. 1993. Effectiveness and residue levels of 3 methods of menthol application to honey bee colonies for the control of tracheal mites. **Apidologi** 24: 549-556.

Rembold, H. 1987. Isomeric azadirachtin and their mode of action. **Bacaraton**. 1: 47-67.

Ritter, W. 1981. Varroa disease of the honey bee *Apis mellifera*. **Bee Wld**. 62: 141-153.

Schauer, M. , and Schmutterer, H. 1981. Effect of neem kernel extracts on the two spotted spider mite, *Tetranychus urtcae*. **Proc. 1 st Int. Neem Conf**. 259-266.

Shimanuki, H. , and Knox, D.A. 1991. **Diagnosis of honey bee diseases.** Springfield: National Technical Information Service.

Sylvester, H. A. , and Wongsiri, S. 1986. Beekeeping and research needs in Thailand. **Apiacta** 21: 119-125.

Tangkanasing, P. , Wongsiri, S. , and Vongsamanode, S. 1988. Integrated control of *Varroa jacobsoni* and *Tropilaelaps clareae* in bee hives in Thailand. In G. R. Needham, R. E. Page Jr. , M. D. Baker C. E. Bowman (eds.), **Affricanized Honey Bees and Bee mites**. 409-412. U.K. : Ellis Horwood Ltd.

Thanispong, K. 1991. **Study on the efficacy of alcohol neem seed extract (*Azadirachtin indica* Var. *Siamensis* Valeton) and It suitable formulation in the control of the red spider mite (*Tetranychus hydrageae* Prichard and Baker).** Master Thesis, Kasetsart University.

Visetson, S. 1991. **Insecticide resistance mechanisms in the rust red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst).** Ph.D. Thesis, The University of Sidney, Australia.

Vongsamanode, S. , Wongsiri, S. , and Tangkanasing, P. 1991. Effectiveness of some chemical agents (Apistan^{R}, Bayvarol^{R} and formic acid for the control of bee mite (*Tropilaelaps clareae*) in European honey bee hives. In S. Wongsiri, T.E. Rinderer and H.A. Sylvester (eds.), **Biodiversity of Honey Bees in Thailand**. 21-24. Thailand: Prachachon Co., Ltd.

Wilson, W.T. , Moffett, J.O. , Cox, R.L. , Maki, D.L. , Richardson, H. , and Rivera, R. 1988. Menthol treatment for Acarapis woodi control in *Apis mellifera* and resulting residues in honey. In G.R. Neeedham, R.E. Page Jr., M.D. Baker and C.E. Bowman (eds.), **Africanized Honey Bees and Bee mites.** 535-540. U.K. :Ellis Horwood Ltd.

Wongsiri, S. and Chen, P. 1995. Effects of agricultural development on honey bees in Thailand. **Bee Wld**. 76: 3-5.

Wongsiri, S. , Thapa, R. , Oldroyd, B. , and Burgett, D.M. 1996. A magic bee tree: home to *Apis dorsata*. **Am. Bee J.** 136: 796-799.

Zmarlicki, C. 1984. **Beekeeping with Apis mellifera and Mite Control in Burma.** Technical Report API 4, Food and Agriculture Organization, Bangkok-Chiang Mai, Thailand.

ภาคผนวก ก

ตัวอย่างการคำนวณการวิเคราะห์โควาเรียนซ์

จากข้อมูลในตารางที่ ก-1 สามารถแสดงการคำนวณได้ดังนี้

1) การคำนวณผลบวกทั้งหมด (TMT + ERR)

$$SS(X) = \Sigma X_{ij}^2 - \frac{(\Sigma X_{ij})^2}{rt}$$

$$= (3)^2 + (17)^2 + \ldots (14)^2 - \frac{(322)^2}{5x5}$$

$$= 6460 - 4147.36$$

$$= 2312.64$$

$$SS(Y) = \Sigma Y_{ij}^2 - \frac{(\Sigma Y_{ij})^2}{rt}$$

$$= (11)^2 + (25)^2 + \ldots (10)^2 - \frac{(403)^2}{5x5}$$

$$= 9303 - 6496.36$$

$$= 2806.64$$

$$SS(XY) = \Sigma X_{ij} Y_{ij} - \frac{(\Sigma X_{ij})(\Sigma Y_{ij})}{rt}$$

$$= (3)(11) + (17)(25) + \ldots (14)(10) - \frac{(322)(403)}{5x5}$$

$$= 7555 - 5190.64$$

$$= 2364.36$$

2) การคำนวณผลบวกการทดลอง (TMT)

$$Txx = \frac{\Sigma X_i^2}{r} - \frac{(\Sigma X_{ij})^2}{rt}$$

$$= \frac{(47)^2 + (46)^2 + (103)^2 + (49)^2 + (77)^2}{5} - \frac{(322)^2}{5x5}$$

$$= \frac{23264}{5} - \frac{(322)^2}{25}$$

$$= 4652.8 - 4147.36$$

$$= 505.44$$

$$Tyy = \frac{\Sigma Y_i^2}{r} - \frac{(\Sigma Y_{ij})^2}{rt}$$

$$= \frac{(80)^2 + (82)^2 + (112)^2 + (47)^2 + (82)^2}{5} - \frac{(403)^2}{5x5}$$

$$= \frac{34601}{5} - \frac{162409}{25}$$

$$= 6920.2 - 6496.36$$

$$= 423.84$$

$$Txy = \frac{\Sigma X_i Y_i}{r} - \frac{(\Sigma X_{ij})(\Sigma Y_{ij})}{rt}$$

$$= \frac{(47x80)+(46x82)+...(77x82)}{5} - \frac{(322)(403)}{25}$$

$$= 5537 - 5190.64$$

$$= 346.36$$

3) การคำนวณผลบวกความคลาดเคลื่อน (ERROR)

$$Exx = SS(X) - Txx$$

$$= 2312.64 - 505.44$$

$$= 1807.20$$

$$Eyy = SS(Y) - Tyy$$

$$= 2806.64 - 423.84$$

$$= 2382.80$$

$$Exy = SS(XY) - Txy$$

$$= 2364.36 - 346.36$$

$$= 2018.00$$

ใช้ผลการวิเคราะห์นี้เพื่อปรับ SS(Y) **เนื่องจากรีเกรซชันต่อ** X

1) SS สำหรับความคลาดเคลื่อน (ERROR) ที่ปรับแล้ว คำนวณตามสมการ

$$\text{adjusted ERROR SS} = Eyy - \frac{(Exy)^2}{Exx}$$

$$= 2382.80 - \frac{(2018)^2}{1807.20}$$

$$= 129.41$$

[โดยมี df = t(r-1)-1 = 5(5-1)-1 = 19]

ดังนั้นวาร์เรียนซ์สำหรับความคลาดเคลื่อน (MS) เท่ากับ

$$S^2yx = \frac{129.41}{19}$$

$$= 6.81$$

2) SS สำหรับการทดลอง + ความคลาดเคลื่อนที่ปรับแล้วคำนวนจาก

$$\text{adjusted TMT + ERR SS} = SS(Y) - \frac{[SS(XY)]^2}{SS(X)}$$

$$= 2806.64 - \frac{(2364.36)^2}{2312.64}$$

$$= 389.40$$

[โดยมี df = rt - 2 = 23]

3) SS สำหรับการทดลองที่ปรับแล้ว (TMT. ADJ) SS คำนวณจาก

$$\text{TMT. ADJ SS} = 389.40 - 129.41$$

$$= 259.99$$

[df = t-1 = 5-1 = 4]

ดังนั้นวาร์เรียนซ์สำหรับการทดลองที่ปรับแล้ว

$$= \frac{259.99}{4}$$

$$= 64.99$$

ในการตรวจสอบสมมุติฐานว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของการทดลองที่ปรับแล้ว สำหรับรีเกรชชัน กระทำโดยการคำนวณ

$$F = \frac{\text{MS (สำหรับการทดลองที่ปรับแล้ว)}}{\text{MS (สำหรับความคลาดเคลื่อนที่ปรับแล้ว)}}$$

$$= \frac{64.99}{6.81}$$

$$= 9.54^{**} \quad df = 4,19$$

ปรากฏว่า F มีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ คือค่า F จากการคำนวณมีค่ามากกว่าค่า F จากตาราง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า มีความแตกต่างจริงระหว่างค่าเฉลี่ยของการทดลอง

หมายเหตุ

จากการเปิดตาราง F ที่ α .05

F .05 ตาราง (4,19) = 2.90

F .01 ตาราง (4,19) = 4.50

ns หมายถึง ความแตกต่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P > 0.05)

* หมายถึง ความแตกต่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05)

** หมายถึง ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

ตารางที่ ก-1 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 0-1 ของการทดลอง

การทดลอง	ซ้ำ [REEPLICATES]										ผลรวมของการทดลอง	
	1		2		3		4		5			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Control (A)	3	11	6	8	4	9	10	16	24	36	47	80
emul.+น้ำ(B)	17	25	4	8	5	13	15	26	5	10	46	82
เมนทอล (C)	11	12	4	4	25	30	38	41	25	25	103	112
ไทมอล (D)	12	8	7	7	15	16	6	6	9	10	49	47
น้ำมันสะเดา(E)	10	12	4	6	13	16	36	38	14	10	77	82
ผลรวม	53	68	25	33	62	84	105	127	77	91	322	403

X = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 0 ก่อนการใช้สาร

Y = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 1 หลังการใช้สาร

ตารางวิเคราะห์โควาเรียนซ์

SOV	DF	SS (X)	SS (Y)	SS (XY)	DF	SS (R)	MS	F
TMT	4	505.44	423.84	346.36				
ERROR	20	1807.20	2382.80	2018.00	19	129.41	6.81	
TMT+ERR	24	2312.64	2806.64	2364.36	23	389.40		
TMT . ADJ .					4	259.99	64.99	9.54**

COEFFICIENT OF VARIATION = 16.2 %

STANDARD ERROR OF DIFFEERENCE = 3.75

** = significant at 1% level

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วสัปดาห์ที่0-1

การทดลอง	ADJ. Y MEAN
A	19.9
B	20.5
C	13.8
D	12.8
E	13.6

ตารางที่ ก-2 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-1

จำนวนการทดลอง = 5

จำนวนซ้ำ = 5 ERROR D.F. = 19

การทดลอง	ลำดับ	ค่าเฉลี่ยของการทดลอง	DMRT
A กลุ่มควบคุม	4	19.9	b
B emul. + น้ำ	5	20.5	b
C เมนทอล	3	13.8	a
D ไทมอล	1	12.8	a
E น้ำมันสะเดา	2	13.6	a

หมายเหตุ การทดลองที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ตารางที่ ก-3 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 1-2 ของการทดลอง

การทดลอง	ซ้ำ (REPLICATES)										ผลรวมของการทดลอง	
	1		2		3		4		5			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Control (A)	11	22	8	14	9	13	16	24	36	53	80	126
emul.+ น้ำ(B)	25	30	8	15	13	15	26	30	10	14	82	104
เมนทอล (C)	12	8	4	7	30	38	41	43	25	25	112	121
ไทมอล (D)	8	10	7	8	16	17	6	7	10	12	47	54
น้ำมันสะเดา(E)	12	10	6	3	16	16	38	30	10	10	82	69
ผลรวม	68	80	33	47	84	99	127	134	91	114	403	474

X = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 1

Y = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 2

ตารางวิเคราะห์โควาเรียนซ์

SOV	DF	SS(X)	SS(Y)	SS(XY)	DF	SS(R)	MS	F
TMT	4	423.84	814.64	430.32				
ERROR	20	2382.80	2920.00	2532.80	19	227.76	11.99	
TMT+ERR	24	2806.64	3734.96	2963.12	23	606.64		
TMT. ADJ.					4	378.88	94.72	7.90**

COEFFICIENT OF VARIATION = 18.3 %

STANNDARD ERROR OF DIFFERENCE = 4.37

** = significant at 1% level

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วสัปดาห์ที่1-2

การทดลอง	ADJ. Y MEAN
A	25.3
B	20.5
C	17.5
D	17.5
E	13.5

ตารางที่ ก-4 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-3

จำนวนการทดลอง = 5

จำนวนซ้ำ = 5 ERROR D.F. = 19

การทดลอง	ลำดับ	ค่าเฉลี่ยของการทดลอง	DMRT
A กลุ่มควบคุม	5	25.3	c
B emul.+น้ำ	4	20.5	b
C เมนทอล	2	17.5	ab
D ไทมอล	3	17.9	ab
E น้ำมันสะเดา	1	13.5	a

หมายเหตุ การทดลองที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ ก-5 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 2-3 ของการทดลอง

การทดลอง	ซ้ำ(REPLICATES)										ผลรวมของการทดลอง	
	1		2		3		4		5			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Control(A)	22	25	14	19	13	18	24	30	53	67	126	159
emul+น้ำ(B)	30	35	15	20	15	20	30	36	14	20	104	131
เมนทอล(C)	8	10	7	8	38	40	43	44	25	35	121	137
ไทมอล(D)	10	11	8	10	17	18	7	8	12	13	54	60
น้ำมันสะเดา(E)	10	9	3	2	16	13	30	25	10	9	69	58
ผลรวม	80	90	47	59	99	109	134	143	114	144	474	545

X = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 2

Y = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 3

ตารางวิเคราะห์โควาเรียนซ์

SOV	DF	SS(X)	SS(Y)	SS(XY)	DF	SS(R)	MS	F
TMT	4	505.44	423.84	346.36	19	129.41	6.81	
ERROR	20	2920.00	3448.00	3110.60	19	134.36	7.07	
TMT+ERR	24	3734.96	5202.00	4272.80	23	313.91		
TMT. ADJ.					4	179.55	44.89	6.35**

COEFFICIENT OF VARIATION = 12.2%

STANDARD ERROR OF DIFFERENCE = 3.18

** = Significant at 1% level

แสดงค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วสัปดาห์ที่ 2-3

การทดลอง	ADJ. Y MEAN
A	25.2
B	24.2
C	21.8
D	20.7
E	17.1

ตารางที่ ก-6 แสดงค่าเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-5

จำนวนการทดลอง = 5

จำนวนซ้ำ = 5 ERROR D.F. = 19

การทดลอง	ลำดับ	ค่าเฉลี่ยของการทดลอง	DMRT
A กลุ่มควบคุม	5	25.2	c
B emul. + น้ำ	4	24.2	bc
C เมนทอล	3	21.8	bc
D ไทมอล	2	20.7	b
E น้ำมันสะเดา	1	17.1	a

การทดลองที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ ก-7 แสดงผลการวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เปอร์เซนต์การเข้าทำลายตัวอ่อนและดักแด้ผึ้งของไร *T. clareae* สัปดาห์ที่ 3-4

การทดลอง	ซ้ำ (REPLICATES)										ผลรวมของการทดลอง	
	1		2		3		4		5			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
Control (A)	25	29	19	23	18	24	30	35	67	73	159	184
emul.+น้ำ(B)	35	40	20	25	20	25	36	44	20	25	131	159
เมนทอล (C)	10	12	8	8	40	70	44	45	35	40	137	175
ไทมอล(D)	11	12	10	12	18	19	8	9	13	15	60	67
น้ำมันสะเดา(E)	9	8	2	2	13	10	25	7	9	9	58	36
ผลรวม	90	101	59	70	109	148	143	140	144	162	545	621

X = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 3

Y = เปอร์เซนต์การเจาะหลอดปิดพบไร *T. clareae* ในสัปดาห์ที่ 4

ตารางวิเคราะห์โควาเรียนซ์

SOV	DF	SS(X)	SS(Y)	SS(XY)	DF	SS(R)	MS	F
TMT	4	1754.00	3683.76	2495.80				
ERROR	20	3448.00	4787.60	3672.40	19	876.19	46.11	
TMT+ERR	24	5202.00	8471.36	6168.20	23	1157.50		
TMT. ADJ.					4	281.31	70.33	1.53 NS

COEFFICIENT OF VARIRTION = 27.3 %

STANDARD ERROR OF DIFFERENCE = 4.20

NS = Non Significnt

ตารางแสดงค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วสัปดาห์ที่ 3-4

การทดลอง	ADJ. Y MEAN
A	26.1
B	27.1
C	29.0
D	23.8
E	18.1

ตารางที่ ก-8 แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ปรับแล้วโดยวิธี DMRT ข้อมูลจากตารางที่ ก-7

จำนวนการทดลอง = 5

จำนวนซ้ำ = 5 ERROR D.F. = 19

การทดลอง	ลำดับ	ค่าเฉลี่ยของการทดลอง	DMRT
A กลุ่มควบคุม	3	26.1	ab
B emul. + น้ำ	4	27.1	ab
C เมนทอล	5	29.0	b
D ไทมอล	2	23.8	ab
E น้ำมันสะเดา	1	18.1	a

หมายเหตุ การทดลองที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ภาคผนวก ข

การประเมินค่า 50% lethal concentration (LC_{50})

ความเป็นพิษของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรศัตรูผึ้ง (*Tropilaelaps clareae*) สามารถประเมินค่า LC_{50} โดยใช้ Probit Analysis (Finney, 1971) การวิเคราะห์โดย Probit Analysis เป็นวิธีการทางสถิติ สำหรับข้อมูลทางชีววิทยาที่มีความแปรปรวน เพื่อสร้างสมการเส้นตรงซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองของสัตว์ทดลอง และความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดลอง โดยการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของความน่าจะเป็นของการตอบสนองทำให้สามารถประเมินค่า LC_{50} ของสารต่อสัตว์ทดลองได้

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการวิเคราะห์โดย Probit Analysis ได้ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปคือ SPSS ช่วยในการคำนวณเพื่อประเมินค่า LC_{50}

ตัวอย่างการคำนวณค่า LC_{50} ของเมนทอล ไทมอล และน้ำมันสะเดาต่อไรทรอปิลีแลปส์ แสดงผลลัพธ์ที่ได้จากโปรแกรม SPSS ดังนี้

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

DATA  Information

          4 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          1 case is in the control group.
          0 cases rejected because LOG-transform can't be done.
MODEL Information

      ONLY Normal Sigmoid is requested.

- - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -


Hi-Res Chart  # 2:Probit transformation
```

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Parameter estimates converged after 11 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
MENTHOL	4.42901	.76329	5.80251

Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
-2.98627	.58128	-5.13744

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = .248 DF = 2 P = .884

Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

- -

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

MENTHOL	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.62	60.0	24.0	24.745	-.745	.41242
.72	60.0	35.0	34.919	.081	.58199
.80	60.0	44.0	42.676	1.324	.71126
.98	60.0	54.0	54.573	-.573	.90955

* * * * * * * * * * * * PROBIT ANALYSIS * * * * * *

Confidence Limits for Effective MENTHOL

Prob	MENTHOL	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	1.40929	.68762	2.01903
.02	1.62386	.85090	2.24679
.03	1.77664	.97395	2.40473
.04	1.90097	1.07802	2.53101
.05	2.00849	1.17076	2.63875
.06	2.10479	1.25590	2.73419
.07	2.19302	1.33557	2.82082
.08	2.27515	1.41114	2.90082
.09	2.35251	1.48352	2.97564
.10	2.42604	1.55337	3.04632
.15	2.75577	1.87863	3.35856
.20	3.04949	2.18370	3.63164
.25	3.32632	2.48299	3.88609
.30	3.59626	2.78444	4.13290
.35	3.86592	3.09344	4.37969
.40	4.14048	3.41410	4.63318
.45	4.42466	3.74962	4.90065
.50	4.72338	4.10212	5.19141
.55	5.04226	4.47211	5.51866
.60	5.38833	4.85800	5.90166
.65	5.77101	5.25714	6.36725
.70	6.20374	5.67044	6.94989
.75	6.70721	6.10838	7.69437
.80	7.31606	6.59533	8.67070
.85	8.09586	7.17672	10.01535
.90	9.19616	7.94864	12.05710
.91	9.48361	8.14372	12.61508
.92	9.80608	8.35995	13.25236
.93	10.17332	8.60314	13.99225
.94	10.59975	8.88181	14.86971
.95	11.10796	9.20921	15.94036
.96	11.73626	9.60760	17.30021
.97	12.55758	10.11889	19.13607
.98	13.73904	10.83784	21.88784
.99	15.83088	12.07028	27.06322

```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

DATA  Information

          4 unweighted cases accepted.
          0 cases rejected because of missing data.
          1 case is in the control group.
          0 cases rejected because LOG-transform can't be done.
MODEL Information

      ONLY Normal Sigmoid is requested.

- - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -


Hi-Res Chart  # 2:Probit transformation
```



```
* * * * * * * * * * * * P R O B I T   A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

 Parameter estimates converged after 9 iterations.
 Optimal solution found.

 Parameter Estimates (PROBIT model:  (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

           Regression Coeff.  Standard Error     Coeff./S.E.

   THYMOL          1.60467          .28952         5.54258


                  Intercept  Standard Error  Intercept/S.E.

                   -.14542          .09313        -1.56145

  Pearson  Goodness-of-Fit  Chi Square =       .413    DF = 2   P =  .814

  Since Goodness-of-Fit Chi square is NOT significant, no heterogeneity
  factor is used in the calculation of confidence limits.

- - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - - -
```

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

THYMOL	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
-.28	60.0	17.0	16.432	.568	.27387
.02	60.0	27.0	27.339	-.339	.45564
.32	60.0	37.0	38.695	-1.695	.64492
.50	60.0	46.0	44.611	1.389	.74351

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Confidence Limits for Effective THYMOL

Prob	THYMOL	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	.04374	.00650	.11002
.02	.06468	.01187	.14731
.03	.08290	.01739	.17734
.04	.09991	.02316	.20397
.05	.11630	.02925	.22859
.06	.13235	.03566	.25193
.07	.14823	.04242	.27438
.08	.16406	.04956	.29622
.09	.17992	.05707	.31762
.10	.19588	.06498	.33874
.15	.27844	.11105	.44289
.20	.36825	.16955	.54959
.25	.46805	.24297	.66353
.30	.58053	.33428	.78907
.35	.70876	.44677	.93167
.40	.85653	.58371	1.09937
.45	1.02876	.74748	1.30506
.50	1.23204	.93845	1.56973
.55	1.47548	1.15516	1.92574
.60	1.77217	1.39762	2.41958
.65	2.14165	1.67181	3.11845
.70	2.61469	1.99207	4.12990
.75	3.24305	2.38344	5.64733
.80	4.12199	2.88948	8.05946
.85	5.45143	3.59603	12.26909
.90	7.74933	4.71180	20.92280
.91	8.43643	5.02685	23.81480
.92	9.25209	5.39203	27.41633
.93	10.24026	5.82314	32.01429
.94	11.46915	6.34420	38.07463
.95	13.05172	6.99401	46.40934
.96	15.19220	7.84091	58.57647
.97	18.31055	9.02097	78.01449
.98	23.46844	10.86420	114.23674
.99	34.70270	14.55201	208.54425

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

DATA Information

4 unweighted cases accepted.
0 cases rejected because of missing data.
1 case is in the control group.
0 cases rejected because LOG-transform can't be done.

MODEL Information

ONLY Normal Sigmoid is requested.

- -

Hi-Res Chart # 2:Probit transformation

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Parameter estimates converged after 9 iterations.
Optimal solution found.

Parameter Estimates (PROBIT model: (PROBIT(p)) = Intercept + BX):

	Regression Coeff.	Standard Error	Coeff./S.E.
NEEM	2.63725	.57305	4.60216

Intercept	Standard Error	Intercept/S.E.
-.35946	.15583	-2.30674

Pearson Goodness-of-Fit Chi Square = 5.116 DF = 2 P = .077

Since Goodness-of-Fit Chi square is significant, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

- -

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Observed and Expected Frequencies

NEEM	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Prob
.02	60.0	26.0	22.843	3.157	.38072
.20	60.0	30.0	33.747	-3.747	.56245
.32	60.0	37.0	41.283	-4.283	.68804
.42	60.0	51.0	46.367	4.633	.77279

08 Apr 97 SPSS for MS WINDOWS Release 6.0

* * * * * * * * * * * * P R O B I T A N A L Y S I S * * * * * * * * * * * *

Confidence Limits for Effective NEEM

Prob	NEEM	95% Confidence Limits Lower	Upper
.01	.17955	.	.
.02	.22780	.	.
.03	.26493	.	.
.04	.29681	.	.
.05	.32554	.	.
.06	.35218	.	.
.07	.37732	.	.
.08	.40135	.	.
.09	.42453	.	.
.10	.44706	.	.
.15	.55374	.	.
.20	.65641	.	.
.25	.75954	.	.
.30	.86588	.	.
.35	.97768	.	.
.40	1.09708	.	.
.45	1.22646	.	.
.50	1.36868	.	.
.55	1.52739	.	.
.60	1.70753	.	.
.65	1.91606	.	.
.70	2.16345	.	.
.75	2.46636	.	.
.80	2.85385	.	.
.85	3.38298	.	.
.90	4.19029	.	.
.91	4.41259	.	.
.92	4.66746	.	.
.93	4.96474	.	.
.94	5.31919	.	.
.95	5.75443	.	.
.96	6.31149	.	.
.97	7.07076	.	.
.98	8.22333	.	.
.99	10.43308	.	.

ประวัติผู้เขียน

นางสาวปิยรัตน์ นาควิโรจน์ เกิดวันที่ 11 พฤษภาคม พ.ศ. 2514 ที่จังหวัดพัทลุง สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2535 จากนั้นศึกษาต่อระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ในบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับทุนการศึกษาจากโครงการผลิตและพัฒนาอาจารย์มหาวิทยาลัย ทบวงมหาวิทยาลัย จากนั้นได้รับทุนจาก โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย(สกว.-ศช/สวทช) ระหัส BRT 539027