โครงการ

การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลกระทบของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่มีต่ออัตราการตายของแมลงหางดีด (Collembola: Entomobryidae)

Effects of thiamethoxam, fipronil and imidacloprid on mortality rate of springtails (Collembola: Entomobryidae)

ชื่อนิสิต นางสาวณัฐรัตน์ เกิดกิจ **เลขประจำตัว** 5932020023

ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลกระทบของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่มีต่ออัตราการตายของแมลงหางดีด (Collembola: Entomobryidae)

Effects of thiamethoxam, fipronil and imidacloprid on mortality rate of springtails (Collembola: Entomobryidae)

นางสาวณัฐรัตน์ เกิดกิจ

อาจารย์ที่ปรึกษา
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล ใจซื่อกุล

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาสัตววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562

โครงงานวิทยาศาสตร์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจาก
โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ	: ผลกระทบของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่มีต่ออัตราการตายของแมลงหางดีด (Collembola: Entomobryidae)
นิสิตผู้ดำเนินโครงการ	: นางสาวณัฐรัตน์ เกิดกิจ
อาจารย์ที่ปรึกษา	: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล ใจซื่อกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	:
ภาควิชา	: ชีววิทยา

บทคัดย่อ

แมลงหางดีด (Collembola) เป็นสัตว์ในดินซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศในดิน เช่น ช่วยเร่งการสลายตัวของสารอาหารและแร่ธาตุ เพิ่มความชื้นและเร่งการหมักเศษซากอินทรีย์รวมทั้งทำให้เกิดการหมุนเวียนของแร่ธาตุในดิน เป็นต้น การใช้สารเคมีทางการเกษตร เช่น สารฆ่าเชื้อรา (fungicide) สารฆ่าแมลง (insecticide) เป็นต้น ส่งผลกระทบต่อสัตว์ในดินซึ่งไม่ใช่สิ่งมีชีวิตเป้าหมาย (non-target species) ซึ่งหนึ่งในนั้นคือการใช้สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic insecticide) ได้แก่ สาร fipronil ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม phenlypyrazole และสาร imidacloprid และ thiamethoxam ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม neonicotiniods ซึ่งในปัจจุบันยังมีการศึกษาผลกระทบที่เกิดจากสารทั้งสามชนิดต่อสัตว์ในดินไม่มากนัก ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของสารทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดวงศ์ Entomobryidae โดยทำการหาความเข้มข้นของแต่ละสารที่ทำให้แมลงหางดีดตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่าสาร fipronil มีค่า LC_{50} ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 0.04, 0.005 และ 0.0006 โมลาร์ ตามลำดับ สาร imidacloprid มีค่า LC_{50} ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 0.17, 0.04 และ 0.008 โมลาร์ ตามลำดับ สาร thiamethoxam มีค่า LC_{50} ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เท่ากับ 0.62, 0.08 และ 0.05 โมลาร์ ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าสารทั้งสามชนิดไม่ส่งผลต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เนื่องจากค่า LC_{50} ของสารทั้งสามชนิดมีค่าสูงเกินกว่าค่ามาตรฐานที่ใช้จริงในภาคเกษตรกรรมนั้นคือ 0.0002 โมลาร์ อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาผลกระทบต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดในระยะสั้น ทำให้ไม่สามารถอภิปรายถึงผลกระทบในระยะยาวของสารทั้งสามชนิดต่อแมลงหางดีดได้จึงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ: Collembola, fipronil, imidacloprid, LC_{50}, thiamethoxam

Research Title	: Effects of thiamethoxam, fipronil and imidacloprid on mortality rate of springtails (Collembola: Entomobryidae)
Student name	: Miss Natarus kurtkid
Advisor	: Assistant Professor Chatchawan Chaisuekul, Ph.D.
Co-Advisor	:
Department of	: Biology

Abstract

Collembolans (springtails) is one of soil fauna that plays an important role in the soil ecosystem, such as regulate the decomposition of nutrients and minerals, increase humidity and fermentation of organic debris. The use of agricultural chemicals, such as fungicides and insecticides, affects non targeted soil fauna. One of them is the use of systemic insecticides, such as fipronil, a phenlypyrazole insecticide, Imidacloprid, and thiamethoxam, two neonicotinoid insecticides. Currently, there are few studies about the effects of all three insecticides on soil fauna. Therefore, the objective of this research is to study the effects of all three insecticides at different concentrations on the mortality rate of springtails (Collembola: Entomobryidae) determined with half-mortality of springtails (LC_{50}) at 24, 48, and 72 hours. The LC_{50} of fipronil at 24, 48, and 72 hours were 0.04, 0.005, and 0.0006 molars, respectively. The LC_{50} of imidacloprid at 24, 48, and 72 hours were 0.17, 0.04, and 0.008 molars, respectively. The LC_{50} of thiamethoxam at 24, 48, and 72 hours were 0.62, 0.08, and 0.05 molars, respectively. The results show that all three insecticides did not severely affect the springtails at 24, 48, and 72 hours because the LC_{50} of all three insecticides are higher than the actual concentration used in agricultural practice (0.0002 molars). However, since this study is a short-term study of the effect on the mortality rate of springtails. Therefore, it is impossible to discuss the long-term effects of all three insecticides on the springtails, so further studies are needed in the future.

Keywords: Collembola, fipronil, imidacloprid, LC_{50}, springtail, thiamethoxam

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชัชวาล ใจซื่อกุล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการเป็นอย่างสูง ที่ให้ความกรุณาในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ ชี้แนะแนวทาง ตลอดจนตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล ทำให้โครงการนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงษ์ชัย ดำรงโรจน์วัฒนา และอาจารย์ ดร.เกรียง กาญจนวตี อาจารย์ผู้ประสานงานรายวิชา โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาคการศึกษาปลาย ปีการศึกษา 2562 ที่ให้คำแนะนำในองค์ประกอบของเอกสารที่เกี่ยวข้องกับโครงการ

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ถ่ายทอดความรู้และประสบการณ์ ทำให้ผู้เขียนสามารถนำความรู้เหล่านั้นมาประยุกต์ใช้ในการทำโครงการครั้งนี้ได้อย่างเต็มที่

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความกรุณาเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการปฏิบัติงาน

ขอขอบคุณนายนราธิป จันทร์สวัสดิ์ ที่ให้ความกรุณาช่วยเหลือขณะปฏิบัติงานมาโดยตลอด ทำให้โครงการนี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบคุณนางสาวชามา เกิดกิจ ที่อาสาดูแลสัตว์ทดลอง และเป็นกำลังใจในการทำงานมาโดยตลอด ทำให้โครงการนี้สำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ครอบครัว และเพื่อนๆ ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้าน โดยเฉพาะอย่างยิ่งด้านการศึกษา และเป็นกำลังใจในการทำงานมาโดยตลอด ทำให้โครงการนี้สำเร็จไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์ ภาควิชาชีววิทยา และคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนเงินทุนสำหรับการทำโครงการในครั้งนี้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก

ABSTRACT ..... ข

กิตติกรรมประกาศ ..... ค

สารบัญตาราง ..... ช

สารบัญภาพ ..... ซ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ 1

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ 2

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม 3

2.1. สารกำจัดแมลงศัตรูพืช (insecticides) 3

2.1.1. สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic insecticides) 3

2.1.1.1. สารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม neonicotinoids 3

2.1.1.1.1. สาร thiamethoxam 4

2.1.1.1.2. สาร imidacloprid 4

2.1.1.2. สารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม phenylpyrazoles 5

2.1.1.2.1. สาร fipronil 5

2.2. สัตว์ในดิน 6

2.2.1. ชีววิทยาของแมลงหางดีด 8

2.2.1.1. สัณฐานวิทยาของแมลงหางดีด 9

2.2.1.2. ความสำคัญทางระบบนิเวศของแมลงหางดีด 9

2.3. การใช้สารเคมีในแมลงหางดีด 10

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงาน 12

3.1. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง เพาะเลี้ยงแมลงหางดีด และวิธีการดำเนินงาน 12

3.1.1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างและเพาะเลี้ยงแมลงหางดีด 12

3.1.2. ขั้นตอนการดำเนินงานในการเก็บตัวอย่างและเพาะเลี้ยงแมลงหางดีด 12

3.1.3. ขั้นตอนการระบุวงศ์ของแมลงหางดีด 13

3.2. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับหาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) และวิธีการดำเนินงาน 13

3.2.1. อุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมี 13
3.2.2. ขั้นตอนการดำเนินงานสำหรับการเตรียมความเข้มข้นสารเคมี 14
3.2.3. อุปกรณ์สำหรับการศึกษาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) 14
3.2.4. ขั้นตอนการดำเนินงานศึกษาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) 15
3.3. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test) และวิธีการดำเนินงาน 16
3.3.1. อุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมี 16
3.3.2. ขั้นตอนการเตรียมความเข้มข้นสารเคมี 16
3.3.3. ขั้นตอนการดำเนินงานศึกษาช่วงที่มี LC_{50} (definitive test) 16
3.4. การวิเคราห์ผลการทดลองเพื่อคำนวนหา LC_{50} 19
บทที่ 4 ผลการศึกษา 20
4.1. ค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid 20
4.2. เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในขั้นตอนการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) 21
4.3 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test) 22
บทที่ 5 อภิปรายผลการศึกษา 23
5.1. ค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid 23
5.2. เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในขั้นตอนการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) 25
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ 26
6.1. สรุปผลการศึกษา 26
6.2. ข้อเสนอแนะ 26
6.2.1. ข้อเสนอแนะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ 26
6.2.2. ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในอนาคต 26
เอกสารอ้างอิง 27
ภาษาไทย 27
ภาษาอังกฤษ 27
ภาคผนวก 31
ภาคผนวกที่ 1 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร thiamethoxam 32

ภาคผนวกที่ 2 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร fipronil 34
ภาคผนวกที่ 3 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร imidacloprid 36
ภาคผนวกที่ 4 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร thiamethoxam 37
ภาคผนวกที่ 5 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร fipronil 39
ภาคผนวกที่ 6 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร imidacloprid 40

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2-1 ตัวอย่างสัตว์ในดิน พื้นที่ที่พบ และบทบาททางระบบนิเวศ 6

ตารางที่ 3-1 ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้สำหรับการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (RANGE FINDING) 14

ตารางที่ 3-2 ความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับศึกษาช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (DEFINITIVE TEST) 16

ตารางที่ 4-1 ค่า LC_{50} สาร THIAMETHOXAM, FIPRONIL และ IMIDACLOPRID ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ..... 20

ตารางที่ 4-2 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีดที่เวลา 3, 6, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง..... 21

ตารางที่ 4-3 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีดที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง..... 22

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2-1 โครงสร้างสาร THIAMETHOXAM....4
ภาพที่ 2-2 โครงสร้างสาร IMIDACLPRID 5
ภาพที่ 2-3 โครงสร้างสาร FIPRONIL 6
ภาพที่ 2-4 สันฐานวิทยาของแมลงหางดีด 9
ภาพที่ 2-5 การกระจายตัวของแมลงหางดีดในช่วงปี ค.ศ.2001 – ค.ศ.2005 จุดกลมทึบคือกลุ่มควบคุม และจุดกลมขาวคือกลุ่มที่มีการใช้สาร IMIDACLOPRID 11
ภาพที่ 3-1 ภาชนะสำหรับเลี้ยงแมลงหางดีด 12
ภาพที่ 3-2 แมลงหางดีดวงศ์ ENTOMOBRYIDAE 13
ภาพที่ 3-3 แมลงหางดีดวงศ์ ENTOMOBRYIDAE 13
ภาพที่ 3-4 ภาชนะสำหรับทดลอง 18
ภาพที่ 3-5 ชุดควบคุมและชุดทดลอง 18
ภาพที่ 4-1 ค่า LC_{50} ของสาร THIAMETHOXAM, FIPRONIL และ IMIDACLOPRID.... 20

บทที่ 1
บทนำ

1.1. ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจในการเสนอโครงการ

สารเคมีที่ใช้ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีดูดซึม (systemic) มีการทำงานโดยจะถูกดูดซึมเข้าไปในต้นพืช และออกฤทธิ์กำจัดแมลงเมื่อแมลงมากัดกินหรือดูดกิน ซึ่งในปัจจุบันสารเคมีที่ใช้วิธีการดูดซึมมีหลายชนิด เช่น thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid เป็นต้น ซึ่งนอกจากจะใช้กำจัดแมลงศัตรูพืชแล้ว ยังมีผลต่อแมลงที่ไม่ใช่เป้าหมายและสัตว์ไม่มีกระดูกสัตว์หลังชนิดอื่นๆที่อาศัยบริเวณพื้นดิน โดยสาร fipronil เป็นสารในกลุ่มเฟนนีลไพราโซล (phenylpyrazole) มีผลต่อสิ่งมีชีวิต โดยเข้าไปขัดขวางการส่งผ่านของระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งจะมีผลกระตุ้นระบบประสาทและกล้ามเนื้อให้ทำงานมากกว่าปกติมีผลทำให้เกิดการชักและตายได้ (สุรเชษฐ จามรมาน, 2547) โดยมีการใช้ในการควบคุมปลวกด้วยวิธีการพ่นลงดิน ส่วนสาร thiamethoxam และ imidacloprid ซึ่งเป็นสารเคมีในกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (Neonicotinoids) ออกฤทธิ์ทำให้ระบบประสาทของแมลงผิดปกติ เนื่องจากสารเคมีทั้งสองชนิดนี้จะเข้าไปขัดขวางการส่งผ่านของระบบประสาทส่วนกลางของแมลง (Simon-Delso et al., 2015) โดยมีการใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เป็นต้น ซึ่งจากรายงานพบว่าสาร fipronil มีผลกระทบเชิงประชากรต่อผึ้ง ไส้เดือนและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด (Pisa et al,. 2015) ส่วนสารในกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์พบว่าทำให้เกิดการตายของผึ้ง และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นต่ำของสารในกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ส่งผลกระทบในทางลบเป็นวงกว้างต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ได้เป็นปรสิต (Wood and Goulson, 2017) สารกำจัดแมลงทั้งสามชนิดก่อให้เกิดอันตรายถึงชีวิตและมีผลกระทบที่ไม่พึงประสงค์ต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและสัตว์มีกระดูกสันหลังบางชนิด (Simon-Delso et al., 2015; Gibbons et al., 2015) เนื่องจากในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดแมลงทั้งสามชนิดอย่างแพร่หลายโดยวิธีใช้มักเจือจางสารเคมีทั้งสามชนิดกับน้ำ แล้วฉีดพ่นหรือราดบริเวณพื้นดินที่ทำการเพาะปลูก ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยหน้าดินและในดิน เช่น ไรดินและแมลงหางดีด เป็นต้น

แมลงหางดีดจัดเป็นสัตว์ขาปล้องที่อยู่ในอันดับ Collembola ไฟลัม Arthropoda มีความชุกชุมตามพื้นดินและตามซากไม้ มีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศในการช่วยย่อยสลายซากอินทรีย์สารต่างๆ รวมทั้งพืชและสัตว์ ช่วยให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารต่างๆ และยังช่วยปรับโครงสร้างของดิน นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหาร เพราะแมลงหางดีดสามารถเป็นได้ทั้งผู้ล่าและในขณะเดียวกันก็เป็นเหยื่อแก่สัตว์อื่นๆ ในระบบนิเวศ เช่น มด แมงมุม หรือแมลงหางดีดด้วยกันเอง (ธนพล สุตโต และคณะ, 2558; Hopkin, 1997; Rusek, 1998; Scheu and Simmerling, 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงหางดีดเป็นเจ้าบ้านให้แก่พวกปรสิตหลายชนิดเช่น โพรโตซัว หนอน

ตัวกลม พยาธิใบไม้ และแบคทีเรียหลายชนิด (Rusek, 1998) ในปัจจุบันพบว่าบางระบบนิเวศมีความหนาแน่นและความหลากหลายของแมลงหางดีดลดลงอันเนื่องมาจากการกระทำของมนุษย์ (Rusek, 1998) อาทิ การใช้สารเคมีในการกำจัดแมลงศัตรูพืชตามแหล่งเพาะปลูก ส่งผลให้แมลงหางดีดซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายได้รับผลกระทบไปด้วย

สารเคมีที่ใช้กำจัดแมลงอาจส่งผลกระทบหลายๆ ด้านต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายและอาจส่งผลกระทบต่อการกระจายตัว ความหลากหลายทางสปีชีส์รวมไปถึงการปรากฏหรือไม่ปรากฏของบางสปีชีส์ และความเด่นของสปีชีส์นั้นๆ (Hopkin, 1997) การลดจำนวนลงของแมลงหางดีดในแหล่งที่อยู่อาศัยหลังจากการใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นผลลัพธ์โดยตรงที่เกิดจากความเป็นพิษของสารเคมี (Filser, 1994) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันยังมีรายงานจำนวนไม่มากที่รายงานผลกระทบต่อแมลงหางดีดที่เกิดจากสารเคมีทั้งสามชนิดนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลกระทบที่เกิดจากการตกค้างของสารเคมีทั้งสามชนิดนี้ในดิน ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของแมลงหางดีดบางชนิด ในการศึกษาวิจัยนี้มีความสนใจที่จะศึกษาผลกระทบต่อแมลงหางดีดที่เกิดจากสารเคมี thiametoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเพื่อประเมินว่าที่แต่ละความเข้มข้นของสารเคมีทั้งสามชนิดส่งผลอย่างไรต่ออัตราการตายของแมลงหางดีด โดยอ้างอิงความเข้มข้นที่ใช้จากอัตราการใช้สารเคมีเหล่านี้ในสภาพการเพาะปลูกจริง เพื่อนำความรู้ไปต่อยอดในการใช้สารเคมีอย่างถูกต้อง เพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมรวมถึงการลดปริมาณสารเคมีที่ตกค้างในสิ่งแวดล้อมซึ่งจะช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในดินรวมไปถึงแมลงหางดีดอันมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการ

- ศึกษาผลกระทบของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่ออัตราการตายของแมลงหางดีด (Collembola: Entomobryidae)

บทที่ 2
ทบทวนวรรณกรรม

2.1. สารกำจัดแมลงศัตรูพืช (insecticides)

สารกำจัดแมลงศัตรูคือสารพิษที่ใช้ในการฆ่าแมลง มีทั้งสารที่ผลิตมาจากสารธรรมชาติ และสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา นิยมใช้ในพื้นที่ทางการเกษตรเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชไม่ให้เข้ามาทำลายผลผลิต โดยสารกำจัดแมลงศัตรูพืชช่วยป้องกันการสูญเสียผลผลิตที่เกิดจากการถูกแมลงศัตรูพืชทำลาย เพิ่มคุณภาพของผลผลิต และยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายในการทำเกษตรกรรม นอกจากผลดีแล้วยังพบว่ามีผลเสีย โดยก่อให้เกิดการตกค้างในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่ใช่เป้าหมาย (non-target species) รวมทั้งสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในดินและมนุษย์ และยังทำให้เกิดการต้านทานของแมลงศัตรูพืชต่อสารกำจัดแมลงศัตรูพืชอีกด้วย สามารถแบ่งสารกำจัดแมลงศัตรูพืชได้ 3 ประเภทคือ สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic insecticides), สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทสัมผัส (contact insecticides) และสารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทกิน (ingested insecticides)

2.1.1. <u>สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic insecticides)</u>

สารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึม (systemic insecticide) ถูกนำมาใช้ในการเพาะปลูกเพื่อป้องกันต้นพืชจากการถูกแมลงศัตรูพืชทำลาย โดยสารกำจัดศัตรูพืชประเภทดูดซึมมีการใช้หลายรูปแบบ เช่นการเคลือบที่เปลือกของเมล็ดพืช และการพ่นสารลงดิน เป็นต้น สารกำจัดศัตรูพืชถูกใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากให้ผลผลิตทางการเกษตรที่มากและมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนแมลงกินพืชที่เป็นศัตรูพืชได้ (Cresswell and Mulvey, 2020) ในปัจจุบันสารกำจัดแมลงศัตรูพืชประเภทดูดซึมมีหลายชนิดเช่นสารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม neonicotinoids และ phenylpyrazoles เป็นต้น

2.1.1.1. <u>สารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม neonicotinoids</u>

ในปัจจุบันนิยมใช้สารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม neonicotinoids อย่างแพร่หลายโดยคิดเป็นร้อยละ 30 ของตลาดสารเคมีที่ใช้ในภาคเกษตรกรรม (Jeschke and Nauen, 2008; Jeschke et al., 2011; Nauen et al., 2008) เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำต่อสัตว์มีกระดูกสันหลังและมีความเสถียรในสิ่งแวดล้อมมาก (Kagabu, 2011; Matsuda et al., 2005) สารเคมีในกลุ่ม neonicotinoids ได้แก่ thiamethoxam และ imidacloprid ซึ่งจะออกฤทธิ์ทำให้ระบบประสาทของแมลงผิดปกติ เนื่องจากเข้าไปขัดขวางตัวรับ nicotinic acetylcholine ทำให้ระบบประสาทส่วนกลางของแมลงผิดปกติ (Simon-Delso et al., 2015) เนื่องจากตัวรับ nicotinic

acetylcholine เป็นสื่อกลางในการทำให้เกิด fast cholinergic synaptic transmission และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการรับรู้ของสัตว์ไม่มีกระดูกหลายชนิด (Sánchez-Bayo et al., 2013) โดยมีการใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยไฟ เป็นต้น ในปัจจุบันมีการรายงานถึงผลกระทบของสารในกลุ่มนี้ต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายเช่น ไส้เดือนดิน, ผึ้ง, สิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำจืดและน้ำเค็ม และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหลายชนิด (Pisa et al., 2015) ในปัจจุบันสหภาพยุโรปได้ทำการระงับการใช้สารเคมีในกลุ่ม neonicotinoids ได้แก่clothianidin , imidacloprid และ thiamethoxam เนื่องจากพบว่าส่งผลกระทบต่อผึ้งน้ำหวานและผึ้งป่า และยังพบว่าสาร thiamethoxam ทำให้เกิดการต้านทานในแมลงวันบ้าน (Khan et al., 2015) และสาร imidacloprid ทำให้เกิดการต้านทานในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืช (Wen et al., 2009)

2.1.1.1.1. <u>สาร thiamethoxam</u>

ชื่อ IUPAC: 3-[(2-Chloro-1,3-thiazol-5-yl)methyl]-5-methyl-N-nitro-1,3,5-oxadiazinan-imine

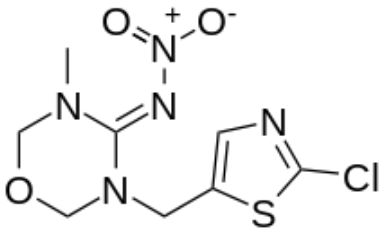
สูตรเคมี: $C_8H_{10}ClN_5O_3S$

มวลโมเลกุล: 291.71 g·mol^{-1}

ความหนาแน่น: 1.57 g/cm^3

จุดหลอมเหลว: 139.1 °C (282.4 °F; 412.2 K)

ความสามารถในการละลายน้ำ: 4.1g/L



ภาพที่ 2-1 โครงสร้างสาร thiamethoxam

ที่มา: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Thiamethoxam&oldid=952745102

2.1.1.1.2. <u>สาร imidacloprid</u>

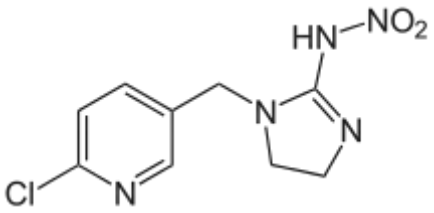
ชื่อ IUPAC: *N*-{1-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl}nitramide

สูตรเคมี: $C_9H_{10}ClN_5O_2$

มวลโมเลกุล: 255.661

จุดหลอมเหลว: 136.4 - 143.8 °C (277.5 to 290.8 °F; 409.5 to 416.9 K)

ความสามารถในการละลายน้ำ: 0.51 g/L (20 °C)



ภาพที่ 2-2 โครงสร้างสาร imidaclprid

ที่มา: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Imidacloprid&oldid=952745066

2.1.1.2. <u>สารกำจัดแมลงศัตรูพืชกลุ่ม phenylpyrazoles</u>

สารเคมีในกลุ่ม phenylpyrazole สามารถใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชได้หลายชนิด โดยสารในกลุ่มนี้จะเข้าไปขัดขวางระบบประสาทโดยการขัดขวางตัวรับ GABA ส่งผลทำให้เกิดการอาการชัก สารในกลุ่มนี้ได้แก่ fipronil นิยมใช้สารดังกล่าวในการกำจัดแมลงศัตรูพืช (สุรเชษฐ จามรมาน, 2547) และนิยมนำมาควบคุมปรสิตภายนอกของสัตว์เลี้ยงภายในบ้าน และพื้นที่เพาะปลูก ถึงแม้ว่าสาร fipronil จะมีลักษณะที่คล้ายกับสารในกลุ่ม cyclodiene organochlorins อาทิ endosulfan แต่กลับพบว่าสัตว์มีกระดูกสันหลังจะไวต่อสาร fipronil มากกว่าสารในกลุ่ม cyclodiene organochlorins (Sánchez-Bayo et al., 2013) นอกจากนั้นยังพบว่าสาร fipronil ลดการกระจายตัวของสัตว์ขาปล้องในดินหลายชนิด (Peck, 2009) และในปัจจุบันพบว่าสาร fipronil ก่อให้เกิดอาการชักและตายในสุนัขและแมว นอกจากนั้นยังก่อให้เกิดอาการทางระบบประสาทที่เกิดจากความเป็นพิษของสาร fipronil ในมนุษย์ (Gupta and Milatovic, 2014) และสาร fipronil ยังก่อให้เกิดการต้านทานของปรสิตภายนอกเช่น เห็บ และหมัด (Rust, 2016)

2.1.1.2.1. <u>สาร fipronil</u>

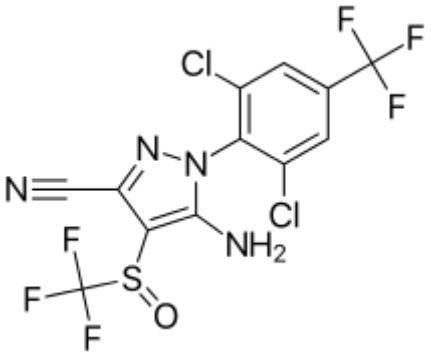
ชื่อ IUPAC: (*RS*)-5-Amino-1-[2,6-dichloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-4-(trifluoromethylsulfinyl)pyrazole-3-carbonitrile

สูตรเคมี: $C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$

มวลโมเลกุล: 437.14 g·mol^{-1}

ความหนาแน่น: 1.477-1.626 g/cm^3

จุดหลอมเหลว: 200.5 °C (392.9 °F; 473.6 K)



ภาพที่ 2-3 โครงสร้างสาร fipronil

ที่มา: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Fipronil&oldid=952745060

2.2. สัตว์ในดิน

ดินเป็นที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิตมากมาย ซึ่งสัตว์ที่อาศัยอยู่ในดินและใช้ประโยชน์จากดิน เรียกว่าสัตว์ในดิน (soil fauna) ซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่มตามขนาดตัว คือ 1. Macro soil fauna มีขนาดตั้งแต่ 2 มิลลิเมตรขึ้นไป 2. Meso soil fauna มีขนาด 0.1 มิลลิเมตร ถึง 2 มิลลิเมตร และ 3. Micro soil fauna มีขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร สัตว์ในดินมีบทบาทสำคัญทางระบบนิเวศโดยทำให้เกิดการย่อยสลายของสสารและทำให้เกิดการหมุนเวียนของสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ นอกจากนั้นยังมีบทบาทสำคัญในห่วงโซ่อาหารโดยเป็นทั้งเหยื่อและผู้ล่าให้แก่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ยกตัวอย่างสัตว์ในดินเช่น หนอนตัวกลม โปรโตซัว ไส้เดือน สัตว์ขาปล้องขนาดเล็กเช่น ไร และแมลงหางดีด เป็นต้น ซึ่งมีบทบาททางระบบนิเวศและพื้นที่ที่พบดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 ตัวอย่างสัตว์ในดิน พื้นที่ที่พบ และบทบาททางระบบนิเวศ

Macro soil fauna		
ชนิดของสัตว์ในดิน	**พื้นที่ที่พบ**	**บทบาททางระบบนิเวศ**
ไส้เดือน (Earth worm)	พบการกระจายตัวทั่วโลกในบริเวณที่มีดิน, น้ำ และอุณหภูมิเหมาะสม พบการกระจายตัวมากบริเวณป่าและทุ่งหญ้าเขตอบอุ่นและเขตร้อน พบการกระจายตัว	มีบทบาทสำคัญต่อโครงสร้างดินทั้งการรวมตัวและการสลายของดินและการย่อยสลายของสารอินทรีย์ที่อยู่ในดิน รวมทั้งทำให้เกิดการคลุกเคล้าของสารอินทรีย์ที่อยู่ในดิน ทำให้เกิดการหมุนเวียนของสสาร

	น้อยบริเวณพื้นที่แห้งแล้งและหนาวจัด (Coleman and Wall, 2015)	(Carpenter et al., 2008)
Meso soil fauna		
ชนิดของสัตว์ในดิน	**พื้นที่ที่พบ**	**บทบาททางระบบนิเวศ**
หนอนตัวกลมในดิน (Soil nematodes)	พบในดินทั่วไป โดยความหนาแน่นจะลดลงเมื่อระยะห่างและความลึกของดินจากต้นพืชมากขึ้น โดยพบว่าหนอนตัวกลมในดินจะมีความหนาแน่นสูงบริเวณรากพืช (Coleman and Wall, 2015)	หนอนตัวกลมในดินมีบทบาทสำคัญในห่วงโซ่อาหาร เนื่องจากเป็นกลุ่มสัตว์ที่มีการกินอาหารที่หลากหลาย ทั้งกลุ่มที่กินแบคทีเรีย, เชื้อรา, พืช, สัตว์ และกลุ่มที่กินทั้งพืชและสัตว์ (Coleman and Wall, 2015)
โปรโตซัว (Protozoa)	พบในดินทั่วไป โดยมีการกระจายตัวตั้งแต่ความลึกของดินที่ 2 เซนติเมตร จนถึง 200 เมตร (Sinclair and Ghiorse, 1989)	โปรโตซัวเป็นกลุ่มสัตว์ที่มีจำนวนมากจึงมีบทบาทที่เกี่ยวข้องกับการหมุนเวียนของสารอาหารในระบบนิเวศ (Coleman and Wall, 2015) และใช้เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพดินเนื่องจากมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมและดิน (Gupta and Yeates, 1997)
ตัวสองง่าม (Diplura)	พบในดิน ใต้ซากใบไม้ พบเห็นได้ยากเนื่องจากอาศัยอยู่ใต้ดิน พบที่แผ่นดินใหญ่แต่ไม่พบบริเวณแอนตาร์กติกาและหมู่เกาะในมหาสมุทรหลายแห่ง	ใช้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของดินและผลกระทบที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ เช่น การลดลงของแร่ธาตุในดินอันเป็นผลมาจากการใช้พื้นที่ทำเกษตรกรรม (Correia et al., 2018)
แมลงหางหนีบ (Dermaptera)	มีการกระจายตัวทั่วโลกพบมากบริเวณเขตร้อน อาศัยอยู่ใต้ซากใบไม้ที่มีความชื้น	มีบทบาทในห่วงโซ่อาหารเนื่องจากเป็นแมลงผู้ล่าที่สำคัญ กินไข่ของแมลงชนิดอื่นเป็นอาหาร

		นอกจากนั้นยังมีความเกี่ยวข้องกับการทำเกษตรกรรมโดยนิยมนำแมลงหางหนีบหลายชนิดมาใช้เป็นศัตรูธรรมชาติในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืช
ชนิดของสัตว์ในดิน	**พื้นที่ที่พบ**	**บทบาททางระบบนิเวศ**
ไร (Acari)	พบมากบริเวณพื้นที่ป่าและใต้ซากใบไม้	มีบทบาทสำคัญในการบริการของดินเนื่องจากทำให้เกิดการหมุนเวียนของสารอาหารในระบบนิเวศ และเป็นตัวบ่งชี้ถึงความอุดมสมบูรณ์ในดิน (Groot et al., 2016)
แมลงหางดีด (Collembola)	พบการกระจายทั่วโลกตั้งแต่เขตร้อนถึงเขตหนาวจัด และพบทั้งในทุ่งหญ้าและทะเลทราย (Colemen et al., 2004)	มีบทบาทสำคัญในการช่วยหมุนเวียนสารอาหารในดิน และมีบทบาทในห่วงโซ่อาหารเนื่องจากเป็นทั้งเหยื่อและผู้ล่า นอกจากนั้นยังเป็นตัวชี้วัดถึงความอุดมสมบูร์ของดิน (Colemen et al., 2004)

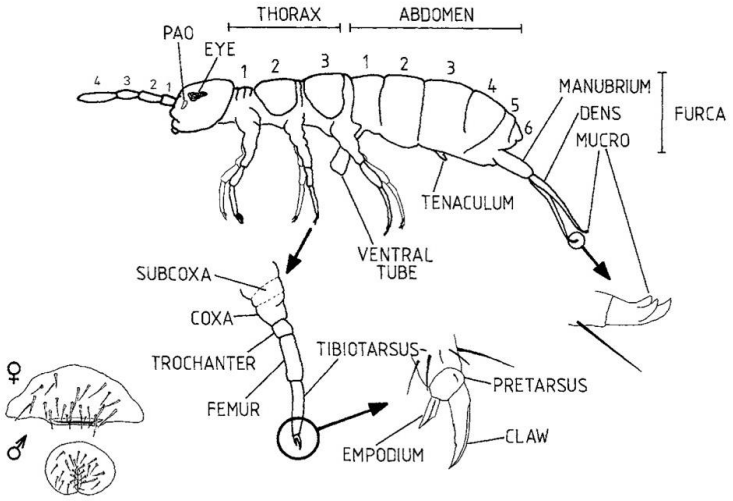
2.2.1. <u>ชีววิทยาของแมลงหางดีด</u>

แมลงหางดีดจัดอยู่ในไฟลัม Arthropoda ไฟลัมย่อย Hexapoda ชั้น Collembola ปัจจุบันมีการระบุชนิดของแมลงหางดีดแล้วประมาณ 6,500 ชนิด แมลงหางดีดเป็นสัตว์ที่มีขนาดเล็กส่วนใหญ่มีขนาดแค่ไม่กี่มิลลิเมตร โดยส่วนมากแมลงหางดีดจะกินเส้นใยเชื้อราที่อยู่ในดินเป็นอาหาร มีเพียงไม่กี่ชนิดที่พบว่ากินพืชและสัตว์จำพวกพยาธิตัวกลมและแมลงหางดีดด้วยกันเองเป็นอาหาร โดยทั่วไปแมลงหางดีดมีวงชีวิตสั้นมีแค่เพียงบางชนิดเท่านั้นที่มีวงชีวิตยาวหนึ่งถึงสองปี ซึ่งเป็นแมลงหางดีดจำพวกที่อาศัยอยู่ในถ้ำหรือในสภาพอากาศที่หนาวเย็นจัด

แมลงหางดีดมีการกระจายตัวทั่วโลกรวมถึงบริเวณทวีปแอนตาร์กติกาที่มีสภาพภูมิอากาศหนาวเย็น และชายฝั่งทะเล มีหลายชนิดที่อาศัยอยู่ในดินลึกจากผิวดิน 150 เซนติเมตร บางชนิดอาศัยอยู่บนต้นไม้ในป่าดิบชื้น อย่างไรก็ตามจะพบแมลงหางดีดบริเวณเขตร้อนมากกว่าเขตอบอุ่น (Hopkin, 1997)

2.2.1.1. <u>สัณฐานวิทยาของแมลงหางดีด</u>

แมลงหางดีดมีขนาดตัวที่เล็กกว่า 6 มิลลิเมตร ลำตัวของแมลงหางดีดแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ หัว, อกประกอบไปด้วย 3 ปล้อง และท้องประกอบไปด้วย 6 ปล้อง มีหนวดหนึ่งคู่ประกอบไปด้วย 4 ปล้อง มีรยางค์ขา 3 คู่อยู่บริเวณอก แมลงหางดีดมีอวัยวะที่ใช้สำหรับกระโดดเรียกว่า furca ซึ่ง furca พัฒนามาจากรยางค์ท้องปล้องที่สี่ ซึ่งช่วยให้แมลงหลบหนีผู้ล่าได้ นอกจากนั้นแมลงหางดีดทุกตัวจะมี ventral tube (collophore) ซึ่งมีลักษณะเป็นถุงที่แยกออกมาจากรยางค์คู่แรก มีหน้าที่ช่วยในเรื่องของสมดุลของเหลวและทำให้รยางค์มีความเหนียวมากขึ้นช่วยให้ยึดเกาะพื้นผิวที่ลื่นได้ (Hopkin, 1997) ลำตัวของแมลงหางดีดใช้ในการจำแนกแมลงหางดีดได้ โดยแมลงหางดีดที่มีลำตัวยาว (elongated body) ได้แก่อันดับ Poduromorpha และอันดับ Entomobrymorpha แมลงหางดีดที่มีลำตัวกลม (globula body) ได้แก่อันดับ Symphypleona และอันดับ Neelipleona แมลงหางดีดส่วนใหญ่ไม่มีระบบท่อลม และยังมีความสามารถในการลดขนาดตัวได้ถึง 30 เปอร์เซ็น เมื่อสภาพแวดล้อมมีอุณหภูมิสูง ซึ่งช่วยเพิ่มโอกาสในการอยู่รอดเมื่อสภาพแวดล้อมมีอุณหภูมิที่สูงขึ้น (ภาพที่ 2-4)



ภาพที่ 2-4 สันฐานวิทยาของแมลงหางดีด

ที่มา: Hopkin, 1997

2.2.1.2. <u>ความสำคัญทางระบบนิเวศของแมลงหางดีด</u>

แมลงหางดีมีการกระจายตัวมากในดินและซากใบไม้ โดยส่วนใหญ่ระบบนิเวศบกจะมีความหนาแน่นของแมลงหางดีด 10^4-10^5 ตารางเมตร แมลงหางดีดมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยแมลงหางดีดจะช่วยย่อยสลายซากอินทรีย์สารต่างๆ รวมทั้งพืชและสัตว์ ช่วยสลายแร่ธาตุที่จำเป็นต่อราก

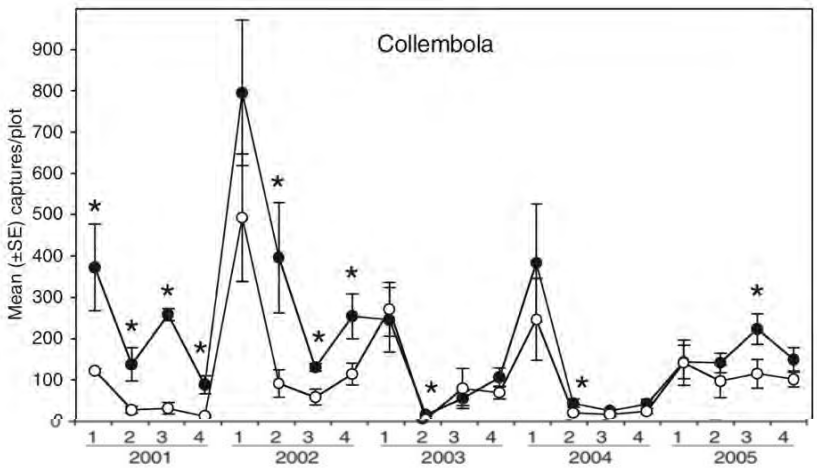
พืชอย่างช้าๆ นอกจากนั้นยังช่วยในเรื่องการย่อยสลายและการหายใจของดิน ทำให้เกิดการหมุนเวียนของธาตุอาหารต่างๆ โดยพบว่าในดินที่ใช้สำหรับการเกษตรมีการบริโภคของเสียที่เกิดจากจุลินทรีย์ในดินโดยแมลงหางดีดถึง 1 เปอร์เซ็น และยังช่วยในการลดการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อราก่อโรค และลดการกระจายตัวของเชื้อราในดิน เนื่องจากแมลงหางดีดกินเส้นใยเชื้อราเป็นอาหาร นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหาร เพราะแมลงหางดีดสามารถเป็นได้ทั้งผู้ล่า และในขณะเดียวกันก็เป็นเหยื่อแก่สัตว์อื่นๆ ในระบบนิเวศ เช่น มด แมงมุม หรือแมลงหางดีดด้วยกันเอง (ธนพล สุตโต และคณะ, 2558; Hopkin, 1997; Rusek, 1998; Scheu and Simmerling, 2004)

2.3. การใช้สารเคมีในแมลงหางดีด

จากการศึกษาก่อนหน้าเกี่ยวกับผลกระทบของสาร thiamethoxam และ imidacloprid ต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดในพื้นที่เพาะปลูก ผลการศึกษาของ El-Naggar และ Zidan (2013) แสดงให้เห็นว่าสารเคมีทั้งสองชนิดส่งผลทำให้การกระจายตัวของแมลงหางดีดในแปลงเพาะปลูกเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งขัดแย้งกับผลการศึกษาของ Peck (2009) ที่กล่าวว่าสาร imidacloprid ส่งผลทำให้การกระจายตัวของแมลงหางดีดลดลงถึง 46.8 เปอร์เซ็น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามการศึกษาของทั้งสองคณะมีความแตกต่างกันในเรื่องของระยะเวลาที่ทำการศึกษา โดย El-Naggar และ Zidan (2013) ใช้เวลาในการศึกษาเป็นระยะเวลา 1 ปี ในขณะที่ Peck (2009) ใช้เวลาในการศึกษาถึง 5 ปี (ภาพที่ 2-5) จึงอาจเป็นไปได้ว่าระยะเวลาในการใช้สารเคมีดังกล่าวอาจส่งผลแตกต่างกันต่อการกระจายตัวของแมลงหางดีด ซึ่งในช่วงแรกของการใช้สารเคมีดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าแมลงหางดีดมีความทนต่อสารดังกล่าวได้มากกว่าสิ่งมีชีวิตอื่นที่อยู่ในบริเวณเดียวกัน อาทิ ไรผู้ล่าของแมลงหางดีด ซึ่งไม่ทนต่อสารเคมีดังกล่าวจึงลดจำนวนลง ดังนั้นแมลงหางดีดในพื้นที่นั้นจึงมีการกระจายตัวที่เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่เมื่อใช้สารเคมีดังกล่าวเป็นระยะเวลานาน อาทิ 5 ปี จากการศึกษาของ Peck (2009) อาจส่งผลให้คุณภาพของดินแย่ลงจึงไม่เหมาะต่อการดำรงชีวิตของแมลงหางดีดทำให้การกระจายตัวลดลง นอกจากนั้นยังอาจมีปัจจัยอื่นที่ส่งผลต่อการกระจายตัวของแมลงหางดีด เช่น สภาพภูมิอากาศ เนื่องจากการศึกษาของ El-Naggar และ Zidan (2013) ทำการศึกษาในประเทศอียิปต์ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศที่มีอุณหภูมิสูง ในขณะที่การศึกษาของ Peck (2009) ทำการศึกษาในพื้นที่ทางตอนเหนือของรัฐนิวยอร์ก ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศที่มีอุณหภูมิต่ำ ดังนั้นสภาพภูมิอากาศจึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการกระจายตัวของแมลงหางดีด เนื่องจากแมลงหางดีดจะมีการกระจายตัวที่สูงในพื้นที่เขตร้อน และชนิดของแมลงหางดีดในการศึกษาของทั้งสองคณะอาจมีความแตกต่างกัน ซึ่งแมลงหางดีดแต่ละชนิดอาจมีความสามารถในการทนต่อสารเคมีดังกล่าวได้ไม่เท่ากัน จึงส่งผลให้การกระจายตัวของแมลงหางดีดในทั้งสองการศึกษาแตกต่างกัน เป็นต้น

จากการศึกษาก่อนหน้าเกี่ยวกับผลกระทบของสาร fipronil และ imidacloprid ในห้องปฏิบัติการของ Alves และคณะ (2014) พบว่าสารทั้งสองชนิดส่งผลทำให้เกิดการตายและลดความสามารถในการสืบพันธุ์ของแมลงหางดีด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Peck (2009) ที่ได้ทำการศึกษาผลกระทบของสาร imidacloprid ต่อแมลงหางดีดในพื้นที่เพาะปลูก ซึ่งพบว่าสารดังกล่าวทำให้การกระจายตัวของแมลงหางดีดลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากการศึกษาของ Alves และคณะ (2014) ได้กล่าวว่าสาร imidacloprid มีความเป็นพิษสูงที่สุดจากสารเคมีทั้งหมดที่ได้ทำการศึกษาต่อความสามารถในการสืบพันธุ์ของแมลงหางดีด จึงสามารถนำมาอภิปรายผลการศึกษาของ Peck (2009) ที่แสดงให้เห็นว่าการกระจายตัวของแมลงหางดีดลดลงเมื่อมีการใช้สาร imidacloprid ต่อเนื่องเป็นระยะเวลาถึง 5 ปี ซึ่งสารดังกล่าวอาจลดความสามารถในการสืบพันธุ์ของแมลงหางดีดทำให้การกระจายตัวลดลง

นอกจากการใช้สารข้างต้นจะทำให้เกิดผลกระทบต่อแมลงหางดีดแล้ว ยังพบว่าสารดังกล่าวก่อให้เกิดการเพิ่มขึ้นของไรแมงมุมซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืช จากการศึกษาของ Zeng และ Wang (2010) และ Smith และคณะ (2013) ให้ผลการศึกษาที่สอดคล้องกัน นั่นคือสารเคมีในกลุ่ม neonicotinoids ส่งผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของไรแมงมุม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารในกลุ่มดังกล่าวยับยั้งการแสดงออกของยีนในระบบภูมิคุ้มกันของต้นพืช ดังนั้นต้นพืชจึงไม่สามารถทนต่อการเข้าทำลายของไรแมงมุมได้ เมื่อไรแมงมุมมีอาหารมากขึ้นจึงส่งผลทำให้มีจำนวนที่เพิ่มมากขึ้น (Szczepaniec et al. 2013)



ภาพที่ 2-5 การกระจายตัวของแมลงหางดีดในช่วงปี ค.ศ.2001 – ค.ศ.2005 จุดกลมทึบคือกลุ่มควบคุม และจุดกลมขาวคือกลุ่มที่มีการใช้สาร imidacloprid

ที่มา: Peck, 2009

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงาน

3.1. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง เพาะเลี้ยงแมลงหางดีด และวิธีการดำเนินงาน

3.1.1. อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างและเพาะเลี้ยงแมลงหางดีด

พลั่วมือ

พู่กัน

ถ่านไม้บดละเอียด

กล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิด ขนาด 17 x 17 x 10 เซนติเมตร

น้ำสะอาด

ข้าวเปลือก

ยีสต์ผง

3.1.2. ขั้นตอนการดำเนินงานในการเก็บตัวอย่างและเพาะเลี้ยงแมลงหางดีด

เก็บแมลงหางดีดจากพื้นดินในพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเก็บดินที่คาดว่าจะมีแมลงหางดีด นำมาใส่กล่องพลาสติกที่มีฝาปิด ปูพื้นภาชนะด้วยถ่านไม้บดละเอียดที่ถูกผสมน้ำให้มีความชื้น และใช้ข้าวเปลือกผสมยีสต์ผงเป็นอาหารสำหรับแมลงหางดีด (ภาพที่ 3-1) เมื่อครบ 2 สัปดาห์ แยกแมลงหางดีดเฉพาะวงศ์ Entomobryidae ด้วยพู่กันทีละตัวใส่ในกล่องพลาสติกกล่องใหม่ เพื่อลดการปนเปื้อนจากแมลงชนิดอื่น นำแมลงหางดีดวงศ์ Entomobryidae ที่แยกได้มาเพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิห้อง (25±2°C) โดยใช้ถ่านไม้บดละเอียดผสมน้ำสะอาดจนถ่านเปียกหมาดเป็นพื้นรองกล่องสูง 3 เซนติเมตร และใช้ข้าวเปลือกผสมยีสต์ผงเป็นอาหารสำหรับแมลงหางดีด

ภาพที่ 3-1 ภาชนะสำหรับเลี้ยงแมลงหางดีด

3.1.3.<u>ขั้นตอนการระบุวงศ์ของแมลงหางดีด</u>

ในการศึกษานี้ใช้แมลงหางดีด Entomobryidae (ภาพที่ 3-2 และภาพที่ 3-3) ซึ่งมีลักษณะสำคัญคือ 1.) ลักษณะลำตัวเรียวยาว 2.) หนวดยาวกว่าหัวและขายาว 3.) ปล้องหนวดคู่ที่ 3 มีขนาดไม่แตกต่างจากปล้องหนวดคู่อื่น 4.) มีตา 5.) ปล้องท้องที่ 4 ยาวกว่าปล้องท้องที่ 3

ภาพที่ 3-2 แมลงหางดีดวงศ์ Entomobryidae

ภาพที่ 3-3 แมลงหางดีดวงศ์ Entomobryidae

3.2. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับหาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding) และวิธีการดำเนินงาน

3.2.1. <u>อุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมี</u>

สาร thiamethoxam (เครื่องหมายการค้า แอคทารา® 25 ดับบลิวจี) 7 กรัม

สาร fipronil (เครื่องหมายการค้า ลาเลนด้า®) 3.25 กรัม
สาร imidacloprid (เครื่องหมายการค้า เรวิสต้า®) 2.1 กรัม
น้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร
ขวดบรรจุสารเคมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร 3 ขวด
ขวดบรรจุสารเคมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร 15 ขวด
ปิเปตต์แบบใช้ตวงปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.2.2. ขั้นตอนการดำเนินงานสำหรับการเตรียมความเข้มข้นสารเคมี

เตรียมความเข้มข้นสาร thiamethoxam โดยนำสาร thiamethoxam 7 กรัม ผสมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร thiamethoxam ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นแบ่งสารที่ผสมแล้วมา 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร thiamethoxam ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ทำซ้ำจนครบทั้ง 6 ความเข้มข้นตามตารางที่ 3-1

เตรียมความเข้มข้นสาร fipronil โดยนำสาร fipronil 3.25 กรัม ผสมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร fipronil ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นแบ่งสารที่ผสมแล้วมา 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร fipronil ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ทำซ้ำจนครบทั้ง 6 ความเข้มข้นตามตารางที่ 3-1

เตรียมความเข้มข้นสาร imidacloprid โดยนำสาร imidacloprid 2.1 กรัม ผสมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร imidacloprid ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นแบ่งสารที่ผสมแล้วมา 5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้สาร imidacloprid ที่มีความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ทำซ้ำจนครบทั้ง 6 ความเข้มข้นตามตารางที่ 3-1 โดยอ้างอิงความเข้มข้น 2×10^{-4} โมลาร์ จากการใช้งานในสภาพแวดล้อมจริง

ตารางที่ 3-1 ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้สำหรับการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding)

สารเคมี	ความเข้มข้น (M)					
Thiamethoxam	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
Fipronil	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
imidacloprid	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}

3.2.3. อุปกรณ์สำหรับการศึกษาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding)

แมลงหางดีดขนาด 1 – 1.5 มิลลิเมตร

ภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร 19 ชิ้น
ถ่านไม้บดละเอียด
ข้าวสาร
ยีสต์ผง
ปิเปตต์แบบใช้ตวงปริมตรขนาด 5 มิลลิลิตร

3.2.4. <u>ขั้นตอนการดำเนินงานศึกษาช่วงที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding)</u>

กลุ่มควบคุม ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร จำนวน 10 ตัว ทำการนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตาย โดยนับหลังจากหยดน้ำกลั่น 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง

กลุ่มสาร thiamethoxam ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร thaimetoxam ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-7} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-6} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-5} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-4} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง

กลุ่มสาร fipronil ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร fipronil ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-7} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-6} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-5} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-4} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง

กลุ่มสาร imidacloprid ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร imidacloprid ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-7} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-6} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยด

สารความเข้มข้น 2×10^{-5} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-4} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง

3.3. วัสดุอุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test) และวิธีการดำเนินงาน

3.3.1. อุปกรณ์สำหรับเตรียมความเข้มข้นสารเคมี

สาร thiamethoxam (เครื่องหมายการค้า แอคทารา® 25 ดับบลิวจี)

สาร fipronil (เครื่องหมายการค้า ลาเลนด้า®)

สาร imidacloprid (เครื่องหมายการค้า เรวิสต้า®)

น้ำกลั่น

ขวดบรรจุสารเคมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร 3 ขวด

ขวดบรรจุสารเคมีปริมาตร 100 มิลลิลิตร 15 ขวด

ปิเปตต์แบบใช้ตวงปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.3.2. ขั้นตอนการเตรียมความเข้มข้นสารเคมี

เตรียมความเข้มข้นสารเคมีดังตารางที่ 3-2

ตารางที่ 3-2 ความเข้มข้นสารเคมีที่ใช้สำหรับศึกษาช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test)

สารเคมี		ความเข้มข้น (M)					
Thiamethoxam	24 ชั่วโมง	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
	48, 72 ชั่วโมง	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
Fipronil		2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
imidacloprid		2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}

3.3.3. ขั้นตอนการดำเนินงานศึกษาช่วงที่มี LC_{50} (definitive test)

กลุ่มควบคุมใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-4) จำนวน 10

ตัว ทำการนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายโดยนับหลังจากหยดน้ำกลั่น 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง (ภาพที่ 3-5)

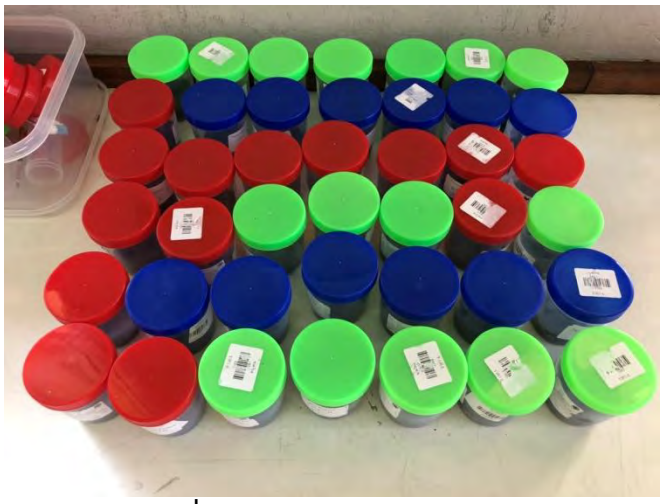
กลุ่มสาร thiamethoxam จะแบ่งศึกษาออกเป็น 2 กลุ่มคือ 1.กลุ่มที่นับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายที่ 24 ชั่วโมง โดยใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-4) ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร thaimetoxam ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 8×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-1} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 5×10^{-1} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 8×10^{-1} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 1×10^{-0} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 24 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง และ 2.กลุ่มที่นับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายที่ 48 และ 72 ชั่วโมง โดยใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-4) ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร thaimetoxam ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 4×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 8×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 1.2×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 1.6×10^{-2} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-1} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง (ภาพที่ 3-5)

กลุ่มสาร fipronil ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-4) ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร fipronil ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-4} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 4×10^{-3} โมลาร์ ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 8×10^{-3} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 1.2×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 1.6×10^{-2} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง (ภาพที่ 3-5)

กลุ่มสาร imidacloprid ใส่แมลงหางดีดที่มีขนาด 1 - 1.5 มิลลิเมตร ลงในภาชนะที่มีฝาปิดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 7 เซนติเมตร ที่ใส่ถ่านไม้สูง 1 เซนติเมตร (ภาพที่ 3-4) ภาชนะละ 10 ตัว รวมทั้งหมด 6 ภาชนะ หยดสาร imidacloprid ภาชนะละ 5 มิลลิลิตร โดยภาชนะที่ 1 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-3} โมลาร์ ภาชนะที่ 2 หยดสารความเข้มข้น 4×10^{-2} โมลาร์

ภาชนะที่ 3 หยดสารความเข้มข้น 8×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 4 หยดสารความเข้มข้น 1.2×10^{-2} โมลาร์ ภาชนะที่ 5 หยดสารความเข้มข้น 1.6×10^{-2} โมลาร์ และภาชนะที่ 6 หยดสารความเข้มข้น 2×10^{-1} โมลาร์ หลังจากนั้นนับจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละภาชนะ โดยนับหลังจากหยดสาร 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ 72 ชั่วโมง โดยทำซ้ำทั้งหมด 6 ชุดทดลอง (ภาพที่ 3-5)

ภาพที่ 3-4 ภาชนะสำหรับทดลอง



ภาพที่ 3-5 ชุดควบคุมและชุดทดลอง

3.4. การวิเคราห์ผลการทดลองเพื่อคำนวนหา LC_{50}

ทำการบันทึกจำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละชุดการทดลอง และนำมาคำนวนเปอร์เซ็นอัตราการตายด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) นำเปอร์เซ็นอัตราการตายในขั้นตอนการศึกษาหา LC_{50} (definitive test) มาคำนวนค่า LC_{50} ด้วยวิธีวิเคราะห์แบบโพรบิท (Probit analysis) (Finney, 1952)

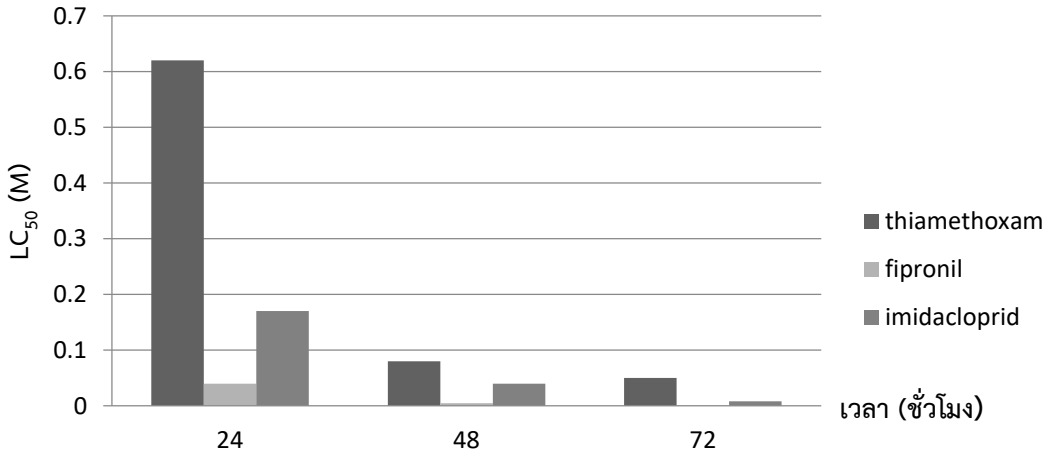
บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1.ค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid

จากการศึกษาแบ่งช่วงเวลาในการหาค่า LC_{50} เป็น 3 ช่วงเวลา คือ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง โดยค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam เท่ากับ 0.62 โมลาร์, 0.08 โมลาร์ และ 0.05 โมลาร์ ตามลำดับ ค่า LC_{50} ของสาร fipronil เท่ากับ 0.04 โมลาร์, 0.005 โมลาร์ และ 0.0006 โมลาร์ ตามลำดับ และค่า LC_{50} ของสาร imidacloprid เท่ากับ 0.17 โมลาร์, 0.04 โมลาร์ และ 0.008 โมลาร์ตามลำดับ ตามตารางที่ 4-1 และภาพที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 ค่า LC_{50} สาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ

สาร	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง
Thiamethoxam (M)	0.62	0.08	0.05
Fipronil (M)	0.04	0.005	0.0006
Imidacloprid (M)	0.17	0.04	0.008



ภาพที่ 4-1 ค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid

4.2. เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในขั้นตอนการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding)

เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ที่เวลา 3, 6, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ที่เกิดจากสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ความเข้มข้นต่างๆ แสดงดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีดที่เวลา 3, 6, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

	ความเข้มข้นของสาร thiamethoxam (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.00
6	0.00	3.33	0.00	0.00	1.70	0.00	5.00
24	0.00	1.63	0.00	0.00	0.00	0.00	20.35
48	0.00	3.52	0.00	0.00	0.00	12.10	41.37
72	0.00	5.26	0.00	0.00	1.79	22.84	61.37
	ความเข้มข้นของสาร fipronil (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.00	5.00
6	0.00	0.00	1.70	1.70	1.70	15.00	10.00
24	0.00	0.00	0.00	1.63	1.63	40.69	71.21
48	0.00	0.00	0.00	0.00	3.52	63.81	98.24
72	0.00	0.00	3.47	1.79	5.26	80.74	100.00
	ความเข้มข้นของสาร imidacloprid (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3	0.00	1.70	0.00	0.00	1.70	0.00	0.00
6	0.00	1.70	1.70	1.70	1.70	0.00	0.00
24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	3.36	23.70
48	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	22.44	51.71
72	0.00	1.79	3.47	3.47	3.47	29.79	68.42

4.3 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test)

เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ที่เกิดจากสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ความเข้มข้นต่างๆแสดงดังตาราง 4-3

ตารางที่ 4-3 เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีดที่เวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

	ความเข้มข้นของสาร thiamethoxam (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0.00	0.00	26.70	33.30	38.30	43.30	50.00
	ความเข้มข้นของสาร thiamethoxam (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0.00	0.00	38.96	64.39	64.39	69.48	76.30
72	0.00	0.00	54.42	89.47	87.68	89.47	94.74
	ความเข้มข้นของสาร fipronil (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24	0.00	1.70	43.30	40.00	63.30	71.70	73.30
48	0.00	11.80	69.48	72.84	76.30	83.01	89.83
72	0.00	24.53	87.68	91.21	92.95	89.47	100.00
	ความเข้มข้นของสาร imidacloprid (M)						
ชั่วโมง	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
24	0.00	3.30	33.30	36.70	50.00	40.00	53.30
48	0.00	10.17	49.14	62.67	66.12	72.84	88.10
72	0.00	31.58	71.89	78.95	86.00	84.21	87.68

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

5.1.ค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid

ผลการศึกษาเปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในช่วงความเข้มข้นที่มี LC_{50} (definitive test) (ตารางที่ 4-3) พบว่าสารทั้งสามชนิด จะทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดมากขึ้น เมื่อสารที่ใช้มีความเข้มข้นและเวลาทดลองที่มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

จากค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าสาร fipronil มีค่า LC_{50} น้อยที่สุด ถัดมาจึงเป็นสาร imidacloprid และ thiamethoxam ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1) ซึ่งมีความสอดคล้องกับค่า LC_{50} ของงานวิจัยก่อนหน้าของ Alves และคณะ (2014**)** ที่ได้ทำการศึกษาผลกระทบของสาร fipronil, imidacloprid และ thiamethaxam ต่อความสามารถในการอยู่รอดและสืบพันธุ์ของแมลงหางดีดชนิด *Folsomia candida* จากค่า LC_{50} ที่ได้จึงสามารถอภิปรายได้ว่าสาร fipronil ที่ความเข้มข้นต่ำสามารถเริ่มทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีด ในขณะที่สาร imidacloprid และ thiamethoxam ซึ่งมีค่า LC_{50} สูงกว่าสาร fipronil จะทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดในความเข้มข้นที่สูงกว่า จากผลการศึกษาค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam พบว่าสาร thiamethoxam มีผลกระทบต่ำต่อแมลงหางดีดหรืออาจไม่ก่อให้เกิดการตายของแมลงหางดีด เมื่อใช้สารในความเข้มข้นตามมารตฐาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ช่วงเวลา 24 ชั่วโมงซึ่งมีค่า LC_{50} สูงที่สุด

เมื่อพิจารณาที่ช่วงเวลาพบว่าสารทั้งสามชนิดจะมีค่า LC_{50} สูงที่สุดที่ 24 ชั่วโมง และลดลงที่ 48 และ 72 ชั่วโมงตามลำดับ และเมื่อพิจารณาที่ค่า LC_{50} ของสารทั้งสามชนิด พบว่าค่า LC_{50} ของสารทั้งสามชนิดที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมงมีค่าสูงกว่าความเข้มข้นที่ใช้มาตรฐานในการควบคุมแมลงศัตรูพืชนั่นคือ 0.0002 โมลาร์ จึงอาจกล่าวได้ว่าสารทำสามชนิดจะก่อให้เกิดการตายของแมลงหางดีดเมื่อมีการใช้สารทั้งสามชนิดที่ความเข้มข้นเกินกว่ามาตรฐานเท่านั้น จากผลการศึกษานี้จึงสามารถอภิปรายได้ว่าสารทั้งสามชนิดมีความปลอดภัยต่อแมลงหางดีดถ้าหากใช้อย่างถูกต้องตามความเข้มข้นมาตรฐาน

อย่างไรก็ตามเนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาในช่วงเวลาสั้นๆ (สูงสุดที่ 72 ชั่วโมง) และเป็นการศึกษาในห้องปฏิบัติการ จึงไม่สามารถอภิปรายได้ถึงผลกระทบในระยะยาวและผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจริงในธรรมชาติ จากงานวิจัยก่อนหน้าของ El-Naggar และ Zidan (2013) ที่ได้ทำการศึกษาผลกระทบของสาร imidacloprid และ thiamethoxam ต่อสัตว์ในดินในพื้นที่ที่ใช้เพาะปลูกฝ้าย เป็นระยะเวลา 1 ปี พบว่าสารทั้งสองชนิดทำให้เกิดการกระจายตัวของแมลงหางดีด

เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยผู้วิจัยได้อภิปรายว่าเนื่องจากไรผู้ล่าของแมลงหางดีดลดจำนวนลง เนื่องจากไม่สามารถทนต่อสารเคมีทั้งสองชนิดได้ แต่จากงานวิจัยของ Peck (2009) ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของสาร imidacloprid ต่อสัตว์หน้าดินและในดิน ในพื้นที่เพาะปลูก เป็นระยะเวลา 5 ปี กลับพบว่าสาร imidacloprid ทำให้การกระจายตัวของแมลงหางดีดลดลงถึง 46.8 เปอร์เซ็น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จากงานวิจัยของทั้งสองคณะ พบว่าให้ผลการศึกษาที่ขัดแย้งกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าในช่วง 1 ปีแรกของการใช้สารเคมี แมลงหางดีดอาจมีความสามารถในการทนต่อสารทั้งสองชนิดได้มากกว่าสัตว์ในดินชนิดอื่นๆ จึงทำให้มีการกระจายตัวมาก แต่เมื่อใช้สารดังกล่าวเป็นเวลานาน อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของดิน ซึ่งไม่เหมาะสมต่อแมลงหางดีดจึงทำให้การกระจายตัวลดลง นอกจากนั้นยังอาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วยเช่นสภาพภูมิอากาศและชนิดของแมลงหางดีดที่อาจทนต่อสารเคมีดังกล่าวได้ไม่เท่ากัน

5.2. เปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (Abbott's formula) ในขั้นตอนการหาช่วงความเข้มข้นที่คาดว่ามี LC_{50} (range finding)

จากผลการศึกษาเปอร์เซ็นอัตราการตายของแมลงหางดีด (ตารางที่ 4-2) พบว่าสาร fipronil จะเริ่มทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 2×10^{-6} โมลาร์ ที่ 6 ชั่วโมงเป็นต้นไป โดยพบว่าที่ความเข้มข้นสูงขึ้นและเวลาที่มากขึ้นจะทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดที่สูงขึ้น จากผลการศึกษาจึงคาดว่าช่วงค่า LC_{50} ของสาร fipronil น่าจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-4} ถึง 2×10^{-2} โมลาร์ โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้อัตราการตายของแมลงหางดีดเท่ากับศูนย์ ที่เวลา 3 ชั่วโมงเท่ากับ 2×10^{-4} โมลาร์ ที่เวลา 6, 24, 48 และ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 2×10^{-7} โมลาร์ จึงอาจกล่าวได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นความเข้มข้นของสาร fipronil ที่เริ่มทำให้แมลงหางดีดตายจะยิ่งมีค่าลดลง

สาร imidacloprid จะเริ่มทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 2×10^{-3} โมลาร์ ที่ 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป และพบว่าที่ 72 ชั่วโมง แมลงหางดีดจะมีการตายมากขึ้นที่ความเข้มข้นมากกว่าหรือเท่ากับ 2×10^{-6} โมลาร์ ซึ่งสามารถอภิปรายได้ว่าอาจเกิดจากการที่สาร imidacloprid มีความสามารถในการออกฤทธิ์ที่ช้าจึงทำให้เกิดการตายของแมลงหางดีดที่ความเข้มข้นต่ำกว่าความเข้มข้นในช่วงแรก จากผลการศึกษาจึงคาดว่าช่วงค่า LC_{50} ของสาร imidacloprid น่าจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-3} ถึง 2×10^{-1} โมลาร์ โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้อัตราการตายของแมลงหางดีดเท่ากับศูนย์ที่เวลา 3 และ 6 ชั่วโมง เท่ากับ 2×10^{-2} โมลาร์ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 2×10^{-3} โมลาร์ และที่ 72 ชั่วโมง มีค่าน้อยกว่า 2×10^{-7} โมลาร์ จึงอาจกล่าวได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นความเข้มข้นของสาร imidacloprid ที่เริ่มทำให้แมลงหางดีดตายจะยิ่งมีค่าลดลง

สาร thiamethoxam พบว่าจะเริ่มเกิดการตายของแมลงหางดีดที่ความเข้มข้น 2×10^{-2} โมลาร์ ที่เวลา 3 ชั่วโมง และที่ 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป พบว่าเริ่มมีการตายของแมลงหางดีดมากขึ้นที่ความเข้มข้นที่มากกว่าหรือเท่ากับ 2×10^{-3} โมลาร์ นอกจากนั้นยังพบว่าที่ความเข้มข้น 2×10^{-7} โมลาร์ ที่ 6 ชั่วโมงเป็นต้นไป มีการตายของแมลงหางดีดเกิดขึ้น ถึงแม้ว่าที่ความเข้มข้น 2×10^{-6} โมลาร์ และ 2×10^{-5} โมลาร์ จะไม่มีการตายของแมลงหางดีด ซึ่งน่าจะมีสาเหตุมาจากความความผิดพลาดในการทดลองที่เกิดจากปัจจัยที่อยู่เหนือการควบคุม จากผลการศึกษาจึงคาดว่าช่วงค่า LC_{50} ของสาร thiamethoxam น่าจะอยู่ในช่วงความเข้มข้น 2×10^{-3} ถึง 2×10^{-1} โมลาร์ โดยความเข้มข้นสูงสุดที่ทำให้อัตราการตายของแมลงหางดีดเท่ากับศูนย์ที่เวลา 3, 6 และ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2×10^{-3} โมลาร์ ที่เวลา 48 ชั่วโมงเท่ากับ 2×10^{-4} โมลาร์ และที่ 72 ชั่วโมงเท่ากับ 2×10^{-5} โมลาร์ จึงอาจกล่าวได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นความเข้มข้นของสาร thiamethoxam ที่เริ่มทำให้แมลงหางดีดตายจะยิ่งมีค่าลดลง

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ

6.1. สรุปผลการศึกษา

จากผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ใช้ในระดับความเข้มข้นมาตรฐานไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดวงศ์ Entomobryidae โดยพบว่าความเข้มข้นของสารทั้งสามชนิดที่ทำให้แมลงหางดีดตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง มีค่าสูงกว่าความเข้มข้นมาตรฐานที่ใช้ในภาคเกษตรกรรม

จากผลการศึกษาพบว่าความเข้มข้นสูงที่สุดของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ที่ทำให้อัตราการตายของแมลงหางดีดเท่ากับศูนย์จะมีค่าลดลงเมื่อเวลาผ่านไปมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

6.2. ข้อเสนอแนะ

6.2.1. ข้อเสนอแนะสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์

การศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเลือกใช้สารเคมีในกลุ่มนี้ต่อการเพาะปลูกในภาคเกษตรกรรม เพื่อวิเคราะห์ถึงผลกระทบต่อสัตว์ในดินที่ไม่ใช่เป้าหมาย อนึ่งในการศึกษานี้ใช้แมลงหางดีดเป็นตัวแทนของสัตว์ในดิน เพื่อพิจารณาถึงความเหมาะสมในการใช้สารกำจัดแมลงศัตรูพืชอย่างถูกวิธีและส่งผลกระทบน้อยที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตที่ไม่ใช่เป้าหมายและสิ่งแวดล้อม

6.2.2. ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในอนาคต

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษาถึงผลกระทบของสาร thiamethoxam, fipronil และ imidacloprid ต่ออัตราการตายของแมลงหางดีดในระยะสั้น (สูงสุดที่ 72 ชั่วโมง) ทำให้ยังไม่ทราบถึงผลกระทบในระยะยาวอย่างแน่ชัด นอกจากนั้นควรที่จะมีการศึกษาผลกระทบของสารทั้งสามชนิดต่อสัตว์ในดินชนิดอื่นๆ เพิ่มเติม และควรศึกษาสารกำจัดแมลงศัตรูพืชในกลุ่มที่มีความใกล้เคียงกันเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต เพื่อศึกษาว่าผลกระทบของสารดังกล่าวมีแนวโน้มสอดคล้องหรือขัดแย้งจากผลการศึกษาของสารในกลุ่มนี้หรือไม่

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

ธนพล สุตโต โสภาค จันทฤทธิ์ และ อธิราช หนูสีดำ. 2558. การสำรวจเบื้องต้นเพื่อศึกษาแมลงหางดีดในเขตพื้นที่อนุรักษ์เขาคอหงส์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุรเชษฐ จามรมาน. 2547. คู่มือผู้ควบคุมการใช้วัตถุอันตรายเพื่อใช้รับจ้าง. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. นนทบุรี.

ภาษาอังกฤษ

Abbott W. S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. Journal of Economic Entomology. 18,(2): 67-265.

Alves P. R. L., Cardoso E. J. B. N., Martines A. M., Sousa J. P., and Pasini A. 2014. Seed Dressing Pesticides on Springtails in Two Ecotoxicological Laboratory Tests. Ecotoxicology and Environmental Safety. 105(1): 65-71.

Carpenter D., Hodson M., Eggleton P., and Kirk C. 2008. The Role of Earthworm Communities in Soil Mineral Weathering: A Field Experiment. Mineralogical Magazine. 72(1): 33-36.

Coleman D. C., Crossley D. A., and Hendrix P. F. 2004. Secondary Production: Activities of Heterotrophic Organisms—the Soil Fauna. In Fundamentals of Soil Ecology (Second Edition). Burlington: Academic Press.

Coleman D. C., and Wall D. H. 2015. Chapter 5 - Soil Fauna: Occurrence, Biodiversity, and Roles in Ecosystem Function. In Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston: Academic Press.

Correia M. E. F., Camara R., Ferreira C. R, Resende A. S., Anjos L. H. C., and Pereira M.G. 2018. Soil Fauna Changes across Atlantic Forest Succession. Comunicata Scientiae 9(2): 74-162.

de Groot G. A., Jagers op Akkerhuis G. A. J. M., Dimmers W. J., Charrier X., and Faber J. H. 2016. Biomass and Diversity of Soil Mite Functional Groups Respond to Extensification of Land Management, Potentially Affecting Soil Ecosystem Services. Frontiers in Environmental Science. 4(15).

El-Naggar J., and Zidan N. 2013. Field Evaluation of Imidacloprid and Thiamehoxam against Sucking Insects and Their Side Effects on Soil Fauna. Journal of Plant Protection Research 53(4).

Filser, J. 1994. The Effects of the Systemic Fungicide Aktuan on Collembola under Field Conditions. Acta Zoologica Fennica 195: 32-34.

Finney D. J. 1952. Probit Analysis: A Statistical Treatment of the Sigmoid Response Curve. Cambridge university press, cambridge.

Gibbons D., Morrissey C., and Mineau P. 2015. A Review of the Direct and Indirect Effects of Neonicotinoids and Fipronil on Vertebrate Wildlife. Environmental Science and Pollution Research International. 22(1): 18-103.

Gupta R. C., and Milatovic D. 2014. Chapter 23 - Insecticides. In Biomarkers in Toxicology. Boston: Academic Press.

Hopkin S. P. 1997. Biology of the Springtails:(Insecta: Collembola). OUP Oxford.

Jeschke P., and Nauen R. 2008. Neonicotinoids—from Zero to Hero in Insecticide Chemistry. Pest Management Science. 64(11): 98-1084.

Jeschke P., Nauen R., Schindler M., and Elbert A. 2011. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59(7): 908-2897.

Kagabu S. 2011. Discovery of Imidacloprid and Further Developments from Strategic Molecular Designs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59(7): 96-2887.

Khan H. A. A., Akram W., Iqbal J., and Naeem-Ullah U. 2015. Thiamethoxam Resistance in the House Fly, Musca Domestica L.: Current Status, Resistance Selection, Cross-Resistance Potential and Possible Biochemical Mechanisms. Public Library of Science One. 10(5).

Matsuda K., Shimomura M., Ihara M., Akamatsu M., and Sattelle D. B. 2005. Neonicotinoids Show Selective and Diverse Actions on Their Nicotinic Receptor Targets: Electrophysiology, Molecular Biology, and Receptor Modeling Studies. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 69(8): 52-1442.

Mulvey J., and Cresswell J. E. 2020. Time-Dependent Effects on Bumble Bees of Dietary Exposures to Farmland Insecticides (Imidacloprid, Thiamethoxam and Fipronil). Pest Management Science.

Nauen R., Jeschke P., and Copping L. 2008. In Focus: Neonicotinoid Insecticides Editorial. Pest Management Science 64(11): 81-1081.

Peck D. 2009. Long-Term Effects of Imidacloprid on the Abundance of Surface- and Soil-Active Nontarget Fauna in Turf. Agricultural and Forest Entomology. 11: 19-405.

Pisa L. W., Amaral-Rogers V., Belzunces L. P., Bonmatin J. M., Downs C. A., Goulson D., Kreutzweiser D. P., et al. 2015. Effects of Neonicotinoids and Fipronil on Non-Target Invertebrates. Environmental Science and Pollution Research. 22(1): 68-102.

Rusek J. 1998. Biodiversity of Collembola and Their Functional Role in the Ecosystem. Biodiversity & Conservation. 7(9): 19-1207.

Rust M. K. 2016. Insecticide Resistance in Fleas. Insects. 7(1): 10.

Sánchez-Bayo F., Tennekes H., and Goka K. 2013. Impact of Systemic Insecticides on Organisms and Ecosystems. Insecticides. 365-414.

Scheu S., and Simmerling F. 2004. Growth and Reproduction of Fungal Feeding Collembola as Affected by Fungal Species, Melanin and Mixed Diets. Oecologia. 139(3): 53-347.

Simon-Delso N., Amaral-Rogers V., Belzunces L. P., Bonmatin J. M., Chagnon M., Downs C., Furlan L., et al. 2015. Systemic Insecticides (Neonicotinoids and Fipronil): Trends, Uses, Mode of Action and Metabolites. Environmental Science and Pollution Research. 22(1): 5-34.

Sinclair J. L., and Ghiorse W. C. 1989. Distribution of Aerobic Bacteria, Protozoa, Algae, and Fungi in Deep Subsurface Sediments. Geomicrobiology Journal. 7(1): 15-31.

Smith J., Catchot A., Musser F., and Gore J. 2013. Effects of Aldicarb and Neonicotinoid Seed Treatments on Twospotted Spider Mite on Cotton. J Econ Entomol 106: 15-807-15.

Szczepaniec A., Creary S. F., Laskowski K. L., Nyrop J. P., and Raupp M. J. 2011. Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid Causes Outbreaks of Spider Mites on Elm Trees in Urban Landscapes. Public Library of Science One. 6(5): e20018.

Vadakattu G., and Yeaters G.W. 1997. Soil Microfauna as Indicators of Soil Health. 33-201.

Wen Y., Liu Z., Bao H., and Han Z. 2009. Imidacloprid Resistance and Its Mechanisms in Field Populations of Brown Planthopper, Nilaparvata Lugens Stål in China. Pesticide Biochemistry and Physiology. 94(1): 36-42.

Wikipedia contributors. 2020. Fipronil. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 12:53, May 15, 2020, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Fipronil&oldid=952745060

Wikipedia contributors. 2020. Imidacloprid. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 12:55, May 15, 2020, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Imidacloprid&oldid=952745066

Wikipedia contributors. 2020. Thiamethoxam. Wikipedia, The Free Encyclopedia. Retrieved 12:46, May 15, 2020, from https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Thiamethoxam&oldid=952745102

Wood T. J., and Goulson D. 2017. The Environmental Risks of Neonicotinoid Pesticides: A Review of the Evidence Post 2013. Environmental Science and Pollution Research. 24(21): 325-17285.

Zeng C. X., and Wang J. J. 2010. Influence of Exposure to Imidacloprid on Survivorship, Reproduction and Vitellin Content of the Carmine Spider Mite, Tetranychus Cinnabarinus. Journal of insect science. 10: 20.

Zhang C., Yi X., Chen C., Tian D., Liu H., Xie L., Zhu X., Huang M., and Ying G. G. 2020. Contamination of Neonicotinoid Insecticides in Soil-Water-Sediment Systems of the Urban and Rural Areas in a Rapidly Developing Region: Guangzhou, South China. Environment International. 139: 105719.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร thiamethoxam

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	1	1
48 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	2	5
72 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	3	6
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	2
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	2
24 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	0	4
48 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	1	5
72 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	1	6
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
48 ชั่วโมง	1	1	1	0	0	1	2
72 ชั่วโมง	1	1	1	1	0	3	6
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0

6 ชั่วโมง	0	0	0	0	1	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	1	0	0
48 ชั่วโมง	0	0	0	0	2	3	3
72 ชั่วโมง	0	0	1	0	2	3	5
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	1	0	0	0	4
48 ชั่วโมง	0	0	1	2	0	2	6
72 ชั่วโมง	1	2	1	2	1	5	8
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	0	1
6 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	0	1
24 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	0	4
48 ชั่วโมง	0	2	0	0	0	0	5
72 ชั่วโมง	1	2	0	0	1	1	7

ภาคผนวกที่ 2 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร fipronil

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	8
48 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	5	10
72 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	7	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	3	3
24 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	6	8
48 ชั่วโมง	1	0	1	0	0	6	10
72 ชั่วโมง	1	0	1	0	2	8	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	1
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	4	6
48 ชั่วโมง	1	0	0	0	1	7	9
72 ชั่วโมง	1	1	0	0	1	8	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีด (ตัว) ที่ตายในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	0
6 ชั่วโมง	0	0	1	1	1	4	0

24 ชั่วโมง	0	0	1	1	1	7	7
48 ชั่วโมง	0	0	1	1	1	9	10
72 ชั่วโมง	0	0	1	2	1	9	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีด (ตัว) ที่ตายในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	1
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	1
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	1	5	7
48 ชั่วโมง	0	0	0	0	2	8	10
72 ชั่วโมง	1	1	1	1	2	10	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีด (ตัว) ที่ตายในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	2
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	2
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	2	6
48 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	4	10
72 ชั่วโมง	1	1	2	0	0	7	10

ภาคผนวกที่ 3 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (range finding) ของสาร imidacloprid

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	1	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	1	1	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	1	1	0	0	0	0
48 ชั่วโมง	0	1	1	0	0	3	5
72 ชั่วโมง	0	1	1	0	0	3	5
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	1	4
48 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	1	7
72 ชั่วโมง	1	0	0	2	1	2	8
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
48 ชั่วโมง	1	0	0	0	0	2	3
72 ชั่วโมง	1	1	1	0	0	2	8
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	1	1	0	0

24 ชั่วโมง	0	0	0	1	1	1	4
48 ชั่วโมง	0	0	0	1	1	1	5
72 ชั่วโมง	0	0	1	1	1	3	6
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	4
48 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	5	6
72 ชั่วโมง	1	1	1	0	2	7	8
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-7}	2×10^{-6}	2×10^{-5}	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
3 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
6 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	0	0
24 ชั่วโมง	0	0	0	0	0	1	3
48 ชั่วโมง	0	2	0	0	0	3	6
72 ชั่วโมง	1	1	1	2	1	3	7

ภาคผนวกที่ 4 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร thiamethoxam

ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0	0	2	6	4	4	6
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	0	2	5	3	7	7

72	0	0	5	9	8	9	8
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0	0	4	2	4	3	6
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	0	4	9	7	7	7
72	0	0	6	9	10	9	10
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0	0	2	2	4	3	5
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	0	3	5	5	8	9
72	0	0	3	8	6	8	9
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0	0	3	4	4	6	6
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	0	4	5	8	5	9
72	0	0	5	10	9	10	10
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่ม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}

	ควบคุม						
24	0	0	2	4	4	4	6
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	1	7	9	8	6	6
72	0	1	7	10	10	9	10
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	8×10^{-2}	2×10^{-1}	5×10^{-1}	8×10^{-1}	1×10^{-0}
24	0	0	3	2	3	5	6
ชั่วโมง	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร thiamethoxam (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-1}
48	0	0	4	6	8	9	8
72	1	0	8	8	10	9	10

ภาคผนวกที่ 5 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร fipronil

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	0	2	1	8	8	7
48 ชั่วโมง	0	0	5	3	6	7	10
72 ชั่วโมง	0	0	10	8	10	10	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	0	7	5	7	9	9
48 ชั่วโมง	0	0	8	10	9	10	10
72 ชั่วโมง	0	2	10	10	10	10	10

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	0	4	4	8	8	10
48 ชั่วโมง	0	0	6	6	8	9	10
72 ชั่วโมง	0	0	6	10	10	10	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	0	4	4	7	5	5
48 ชั่วโมง	0	2	7	7	7	4	9
72 ชั่วโมง	0	5	9	9	9	7	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	1	6	5	3	7	8
48 ชั่วโมง	0	3	6	7	10	8	8
72 ชั่วโมง	0	5	8	9	10	8	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร fipronil (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-4}	4×10^{-3}	8×10^{-3}	1.2×10^{-2}	1.6×10^{-2}	2×10^{-2}
24 ชั่วโมง	0	1	5	5	5	6	4
48 ชั่วโมง	0	3	8	9	5	9	8
72 ชั่วโมง	1	5	10	9	8	9	10

ภาคผนวกที่ 6 จำนวนแมลงหางดีดที่ตายในแต่ละช่วงเวลา (definitive test) ของสาร imidacloprid

เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 1						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}

24 ชั่วโมง	0	0	0	3	4	5	10
48 ชั่วโมง	0	0	5	3	6	7	10
72 ชั่วโมง	0	1	8	9	8	9	8
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 2						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}
24 ชั่วโมง	0	0	3	4	8	5	8
48 ชั่วโมง	0	0	3	6	9	7	10
72 ชั่วโมง	0	2	7	9	9	7	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 3						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}
24 ชั่วโมง	0	0	3	5	5	3	4
48 ชั่วโมง	0	1	5	7	9	5	10
72 ชั่วโมง	0	1	8	9	10	8	10
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 4						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}
24 ชั่วโมง	0	0	3	5	4	3	3
48 ชั่วโมง	0	0	5	7	6	8	5
72 ชั่วโมง	0	5	5	9	8	9	9
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 5						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}
24 ชั่วโมง	0	2	5	4	5	3	5
48 ชั่วโมง	0	2	6	7	6	9	7
72 ชั่วโมง	0	5	6	7	10	9	7
เวลา	จำนวนแมลงหางดีดที่ตาย (ตัว) ในชุดการทดลองสาร imidacloprid (M) ซ้ำที่ 6						
	กลุ่มควบคุม	2×10^{-3}	4×10^{-2}	8×10^{-2}	1.2×10^{-1}	1.6×10^{-1}	2×10^{-1}

24 ชั่วโมง	0	0	6	1	4	5	2
48 ชั่วโมง	0	4	6	8	4	8	7
72 ชั่วโมง	1	7	10	8	8	9	7