Thai Society of Agricultural Engineering Journal Vol. 22 No. 1 (2016), 46-55

วารสารสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย
ปีที่ 22 ฉบับที่ 1 (2559) 46-55
Available online at www.tsae.asia

บทความวิจัย

ISSN 1685-408X

การศึกษาความสามารถของการใช้วิธีสุญญากาศเพื่อการกำจัดด้วงงวงข้าวโพด

Study on the Efficacy of Vacuum Treatment for Disinfesting *Silophilus zeamais*

ธีรเดช เดชทองจันทร์[1], วัชรพล ชยประเสริฐ[1]*, เอนก สุขเจริญ[2]

Teeradech Dechthongjun[1], Watcharapol chayapasert[1]*, Anak Sukcharoen[2]

[1]ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร, คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 73140

[1]Department of Agricultural Engineering, Faculty of Engineering at Kamphaengsaen, Kasetsart University - Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140

[2]ฝ่ายเครื่องจักรกลการเกษตรแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 73140

[2]National Agricultural Machinery Center, Kasetsart University – Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140

*Corresponding author: Tel: +66-34-351-896, Fax: +66-34-351-896, E-mail: fengwpc@ku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของการใช้วิธีสุญญากาศเพื่อการกำจัดแมลงปนเปื้อนในข้าวเปลือก ซึ่งเป็นแนวทางใหม่สำหรับการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บในประเทศไทย โดยประเมินผลกระทบของระยะเวลากำจัด, ความดัน และอุณหภูมิต่อเปอร์เซ็นต์การตายของ *Sitophilus zeamais* (ด้วงงวงข้าวโพด) เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอย่างแมลง 2 ชุด คือ แมลงระยะไข่ (อายุ 0 – 2 d) และระยะตัวเต็มวัย (คละเพศ) (อายุมากกว่า 7 d) ถูกประเมินที่ 4 ระดับความดัน คือ 50±10, 100±10, 300±10 และ 500±10 mmHg และที่อุณหภูมิแวดล้อม 3 ระดับ คือ 20, 30 และ 40°C LT_{99} (lethal exposure time ที่เปอร์เซ็นต์การตาย 99%) ของแมลงระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยมีค่าอยู่ในช่วง 15.29 – 198.97 และ 1.22 – 130.86 h ตามลำดับ ที่เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน ระยะไข่ของ *S. zeamais* มีความต้านทานต่อสภาวะสุญญากาศมากกว่าระยะตัวเต็มวัย นอกจากนี้ เมื่อความดันต่ำลงและ/หรืออุณหภูมิสูงขึ้น วิธีสุญญากาศมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ความสามารถในการกำจัดแมลงของวิธีสุญญากาศ ถูกเปรียบเทียบกับวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยทำทดลองกำจัดแมลงในโครงสร้างถุง PVC บรรจุข้าวเปลือก 150 kg ที่อุณหภูมิห้อง วิธีสุญญากาศที่ความดันภายในโครงสร้างไม่เกิน 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d มีความสามารถในการกำจัด *S. zeamais* เทียบเคียงได้กับวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อพิจารณาผลของงานวิจัยนี้ร่วมกับผลการทดลองของนักวิจัยกลุ่มอื่นๆ คณะผู้วิจัยให้ข้อเสนอแนะว่า การใช้วิธีสุญญากาศในการกำจัด *S. zeamais* ควรใช้ความดันภายในโครงสร้างที่ต่ำกว่า 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d

คำสำคัญ: วิธีสุญญากาศ, ด้วงงวงข้าวโพด, ระยะเวลากำจัด

Abstract

The objective of this research was to study the effects of exposure time, pressure and surrounding temperature on the mortality of eggs and adults of *Sitophilus zeamais*. Eggs (0 – 2 d) and adults (> 7 d) of *S. zeamais* were exposed to different combinations of four pressures (50±10, 100±10, 300±10 and 500±10 mmHg) and three temperatures (20, 30 and 40°C). The LT_{99} (lethal exposure time at 99% mortality) of eggs and adults were in ranges of and 15.29 – 198.97 1.22 – 130.86h, respectively. At the same pressure and temperature, eggs were more tolerant to vacuum than adults stage. Decreasing pressure and/or increasing temperature led to a higher efficacy of the vacuum treatment. In order to compare the efficacy of vacuum treatment against carbon dioxide fumigation, trials were conducted in PVC enclosures containing 150 kg of paddy at room temperature. Vacuum treatment at 100±10 mmHg for 8 d yielded higher insect mortality rates comparable to those of carbon dioxide fumigation. Considering the findings in the present study and those established by other researchers, exposure time of at least 8 d at pressure lower than 100±10 mmHg is recommended for disinfesting *S. zeamias*.

Keywords: Vacuum treatment, *Sitophilus zeamais*, Exposure time

1 บทนำ

ในระหว่างการเก็บรักษา ผลผลิตกลุ่มของธัญพืชโดยเฉพาะข้าวมักเกิดความเสียหาย ซึ่งมีสาเหตุหลักมาจากการเข้าทำลายของแมลงศัตรูในโรงเก็บ (stored-product insect pests) เช่น *Rhyzopertha dominica* (มอดข้าวเปลือก), *Sitophilus oryzae* (ด้วงงวงข้าว), *Sitophilus zeamais* (ด้วงงวงข้าวโพด) และ *Corcyra cephalonica* (ผีเสื้อข้าวสาร) วิธีสุญญากาศเป็นวิธีกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บด้วยวิธีการควบคุมความดันภายในโครงสร้างปิดที่ต่ำกว่าบรรยากาศ ซึ่งปริมาณออกซิเจนในโครงสร้างจะต่ำลงถึงระดับที่เป็นอันตรายต่อการมีชีวิตของแมลง (Navarro, 2006) นอกจากนี้ ระดับความดันต่ำกว่าบรรยากาศได้ถูกใช้ทดสอบกับแมลงศัตรูในโรงเก็บที่อุณหภูมิแวดล้อมต่างๆ กัน (Calderon et al., 1966; Navarro and Calderon, 1972; Mbata and Phillips, 2001a; Mbata et al., 2004) ในต่างประเทศ วิธีสุญญากาศถูกใช้ร่วมกับโครงสร้างปิดในระดับการค้า เพื่อเก็บรักษาผลผลิตธัญพืช (Navarro et al., 2001; Finkelman et al., 2003a)

การรมยา (fumigation) เป็นวิธีการควบคุมแมลงศัตรูในโรงเก็บที่นิยมและถูกใช้อย่างแพร่หลาย ซึ่งสารรมที่นิยมใช้ ได้แก่ เมทิลโบรไมด์ (methyl bromide), ฟอสฟีน (phosphine) และซัลฟูริลฟลูออไรด์ (sulfuryl fluoride) สารเมทิลโบรไมด์ถูกควบคุมและยกเลิกการใช้ตามข้อกำหนดของพิธีสารมอนทรีออล (UNEP, 2000) เนื่องจากโมเลกุลของก๊าซเมทิลโบรไมด์จะทำลายชั้นบรรยากาศโอโซน (atmospheric ozone layer) สารซัลฟูริลฟลูออไรด์ (sulfuryl fluoride) เป็นสารรมที่ยังไม่ถูกใช้อย่างแพร่หลาย ในขณะที่ สารฟอสฟีนที่อยู่ในรูปของอลูมิเนียมฟอสไฟด์ (aluminium phosphide) หรือแมกนีเซียมฟอสไฟด์ (magnesium phosphide) จะมีราคาถูก แต่มีข้อจำกัดในการใช้งาน เช่น การรมด้วยฟอสฟีนจำเป็นต้องใช้เวลานานกว่า 7 d (วัน) ขึ้นไป และปัญหาความต้านทานของแมลงต่อฟอสฟีนที่เพิ่มมากขึ้น (Bell et al., 1984; Bell and Wilson, 1995; Collins et al., 2005; Steuerwald et al., 2006) ด้วยเหตุนี้การหาแนวทางใหม่เพื่อกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บจึงมีความจำเป็น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของการใช้วิธีสุญญากาศเพื่อการกำจัดแมลงปนเปื้อนในข้าวเปลือก ซึ่งเป็นแนวทางใหม่สำหรับการป้องกันและกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บในประเทศไทย โดยประเมินผลกระทบของระยะเวลากำจัด (exposure time), ความดัน และอุณหภูมิ ต่อเปอร์เซ็นต์การตาย (%mortality) ของ *Sitophilus zeamais* ระยะไข่และระยะตัวเต็มวัย

2 อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมแมลงเพื่อใช้ทดสอบ

ระยะไข่และระยะตัวเต็มวัย (คละเพศ) ของ *S. zeamais* ถูกนำมาใช้สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ โดยในการเตรียม *S. zeamais* ระยะไข่ (อายุ 0 – 2 d) ทำโดยการปล่อย *S. zeamais* ระยะตัวเต็มวัย (คละเพศ) ที่มีอายุมากกว่า 7 d จำนวน 1,500 ตัวเพื่อให้วางไข่บนข้าวกล้อง 200 g (กรัม) ที่บรรจุในขวดขยายพันธุ์ ซึ่งเป็นขวดพลาสติกขนาด 950 ml (มิลลิลิตร) เป็นเวลา 2 d และเลี้ยงที่สภาวะห้อง หลังจากนั้น ทำการย้ายตัวเต็มวัยออกจากข้าวกล้องให้หมดก็จะได้ข้าวกล้องที่ถูกวางไข่ นำข้าวกล้องดังกล่าวมาแบ่งบรรจุในขวดเก็บตัวอย่างแมลงขนาด 20 ml ปริมาณขวดละ 10 g สำหรับการเตรียมตัวอย่างแมลงระยะตัวเต็มวัย ก่อนการทดลอง 1 d *S. zeamais* ระยะตัวเต็มวัย (คละเพศ) ที่มีอายุมากกว่า 7 d จะถูกคัดแยกจากขวดขยายพันธุ์ไปสู่ขวดพลาสติกเก็บตัวอย่างแมลงขนาด 20 ml ที่บรรจุข้าวกล้อง 5 g จำนวนขวดละ 30 ตัว ขวดเก็บตัวอย่างแมลงทั้งหมดเป็นขวดพลาสติก ที่ฝาขวดถูกเจาะรูประมาณ 5 mm (มิลลิเมตร) และถูกปิดด้วยตาข่ายสเตนเลส (stainless steel mesh) ขนาด 100 mesh/inch (ช่องต่อนิ้ว)

2.2 การศึกษาผลกระทบของระยะเวลากำจัด, ความดัน และอุณหภูมิ ต่อการตายของแมลง

การทดลองนี้ศึกษาผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* 2 ระยะการเจริญเติบโตคือ ระยะไข่ (อายุ 0 – 2 d) และระยะตัวเต็มวัย (คละเพศ) (อายุมากกว่า 7 d) ที่ 4 ระดับความดัน คือ 50±10, 100±10, 300±10 และ 500±10 mmHg และที่อุณหภูมิแวดล้อม 3 ระดับ คือ 20, 30 และ 40°C ตัวอย่างแมลงทั้งระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยถูกแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม โดยที่ กลุ่มที่ 1 – 6 คือ ตัวอย่างที่ถูกทดลอง และกลุ่มที่ 7 คือ ตัวอย่างควบคุม แต่ละกลุ่มประกอบด้วยขวดเก็บตัวอย่างแมลงขนาด 20 ml จำนวน 10 ขวด ซึ่งแต่ละขวดถูกกำหนดให้เป็นตัวอย่าง 1 ซ้ำ ของแต่ละเงื่อนไขการทดลอง ตัวอย่างแมลงทั้ง 7 กลุ่ม ถูกบรรจุในขวดสุญญากาศ (ขวดอะลูมิเนียมปิดด้วยฝาเกลียวปิดสนิทขนาด 1,750 ml) ขวดสุญญากาศที่บรรจุตัวอย่างแมลงกลุ่มที่ 1 – 6 ถูกต่อกับระบบความคุมความดันและเก็บรักษาไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิเป้าหมาย±1°C Figure 1 แสดงตัวอย่างขวดสุญญากาศที่ถูกติดตั้งเข้ากับระบบควบคุมความดันด้วยท่อพลาสติกชนิด polyurethane (PU) ระบบควบคุมความดันมีชุด PLC (programmable logic controller) (FPG-C32T, Panasonic Electric Works Europe AG, Holzkirchen, Germany), ปั๊มสุญญากาศขนาด 1 hp (IM 235D, manufacturer unknown) และเซ็นเซอร์วัดความดัน

(AP-41, Keyence Corp., Osaka, Japan) เป็นส่วนประกอบหลัก ซึ่งระบบสามารถควบคุมให้ความดันภายในขวดสุญญากาศอยู่ภายใน ±10 mmHg ของความดันเป้าหมายตลอดระยะเวลาการทดลอง อุณหภูมิของอากาศภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิถูกบันทึกด้วย temperature data logger (H08- 003- 02, Onset Computer Corp., Massachusetts, U.S.A.) ทุกๆ 5 min (นาที) ความดันภายในขวดสุญญากาศถูกบันทึกทุกๆ 2 min โดยระบบควบคุมความดัน แมลงกลุ่มที่ 7 จะถูกเก็บรักษาไว้ที่สภาวะห้อง เพื่อใช้เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการทดลองในระหว่างการทดลอง ตัวอย่างแมลงทั้งระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยถูกสุ่มเก็บออกจากการทดลอง 1 กลุ่ม/ครั้ง (จำนวนการสุ่มทั้งหมด 6 ครั้ง) ระยะเวลาของการสุ่มเก็บตัวอย่าง (i.e., exposure time) จะอยู่ในช่วง 15 min – 336 h ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยของการทดลองนั้นๆ ได้แก่ ระยะการเจริญเติบโตของแมลง ความดัน และอุณหภูมิแวดล้อม ตัวอย่างแมลงระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยที่ผ่านการทดลองแล้ว จะถูกเก็บรักษาที่สภาวะห้อง และถูกตรวจสอบจำนวนแมลงที่ถูกกำจัด เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การตาย

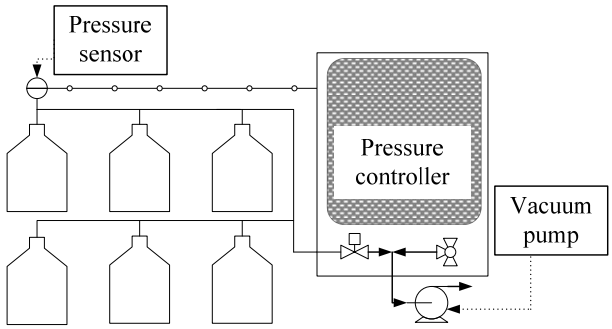

Figure 1 Pressure control system used in this study.

2.3 การเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดแมลง

คณะผู้วิจัยเปรียบเทียบความสามารถในการกำจัดแมลงของวิธีสุญญากาศ กับวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) โดยทำทดลองกำจัดแมลงในโครงสร้างถุง PVC (polyvinyl chloride) ที่อุณหภูมิห้อง โดยความสามารถในการกำจัดแมลงจะถูกพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* ระยะไข่ และระยะตัวเต็มวัย โครงสร้างถุงขนาด 1.8 m (เมตร) × 2.0 m จำนวน 2 ถุง ซึ่งภายในบรรจุข้าวเปลือกปริมาณ 150 kg ถูกสร้างจากแผ่นพลาสติก PVC หนา 0.2 mm เชื่อมปิดด้วยความร้อน (Figure 2) ข้าวเปลือกถูกบรรจุอยู่ในกระสอบป่านกระสอบละ 25 kg จำนวน 6 กระสอบ โครงสร้างถุงที่ 1 ถูกใช้ทดลองร่วมกับวิธีสุญญากาศที่ระดับความดัน 500±10, 300±10 และ 100±10 mmHg (ทำการทดลองจำนวน 1, 1 และ 3 ครั้ง ตามลำดับ) ซึ่งถูกควบคุมโดยระบบควบคุมความดันที่กล่าวไว้ในหัวข้อ 2.2 จากการทดลองในหัวข้อ 2.2 ที่อุณหภูมิ 20°C LT_{99} ของ *S. zeamais* ระยะไข่มีค่าอยู่ที่ 198.97 h หรือประมาณ 8 d ดังนั้น การทดลองด้วยวิธีสุญญากาศแต่ละครั้งจะใช้เวลา 8 d ในขณะที่ โครงสร้างถุงที่ 1 อยู่ในระหว่างการทดลองด้วยวิธีสุญญากาศแต่ละครั้ง โครงสร้างถุงที่ 2 ถูกใช้ทดลองกำจัดแมลงด้วยวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ นาน 14 d ควบคู่กัน โดยที่การทดลองทั้ง 2 วิธี เริ่มต้น ณ เวลาเดียวกัน Food and Fertilizer Technology Center (2015) แนะนำให้รักษาความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ให้สูงกว่า 35% เป็นเวลาอย่างน้อย 15 d ในงานวิจัยนี้ ความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ถูกควบคุมให้อยู่ระหว่าง 40–70% ด้วยระบบควบคุมความเข้มข้นซึ่งมีชุด PLC (FPG-C32T, Panasonic Electric Works Europe AG, Holzkirchen, Germany), เซ็นเซอร์วัดความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Single-AGM plus, Sensors Europe GmbH, Erkrath, Germany) และถังก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อัดความดัน เป็นส่วนประกอบหลัก Figure 2 แสดงการติดตั้งอุปกรณ์ต่างๆ เข้ากับโครงสร้างถุง PVC

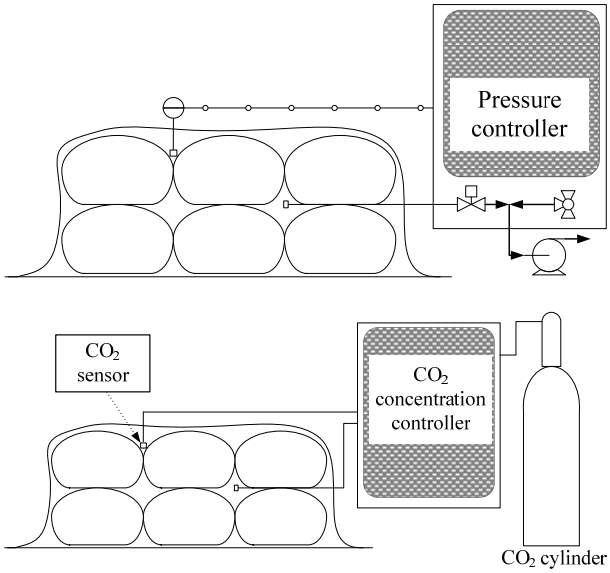

Figure 2 PVC enclosures filled with 150 kg of paddy under vacuum treatment (top) and carbon dioxide fumigation (bottom).

การทดลองแต่ละครั้งมีตัวอย่างแมลง 2 ระยะการเจริญเติบโต คือ ระยะไข่ (อายุ 0 – 2 d) และระยะตัวเต็มวัย (อายุ > 7 d) ของ *S. zeamais* ชุดละ 30 ขวดเก็บตัวอย่างแมลง (การเตรียมตัวอย่างแมลงถูกอธิบายอยู่ในหัวข้อ 2.1) ตัวอย่างแมลงแต่ละชุดถูกสุ่มแบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ขวดเก็บตัวอย่าง ตัวอย่างกลุ่ม

ที่ 1 คือ ตัวอย่างควบคุม ซึ่งไม่ผ่านการทดลองกำจัดแมลง และจะถูกเก็บรักษาในสภาวะห้อง ตัวอย่างกลุ่มที่ 2 และ 3 จะถูกวางไว้ภายในโครงสร้างถุง PVC ในการทดลองกำจัดแมลงด้วยวิธีสุญญากาศและวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตามลำดับ ค่าความดันและความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในโครงสร้างถุงจะถูกบันทึกทุกๆ 2 และ 8 min ตามลำดับ อุณหภูมิบรรยากาศภายนอกโครงสร้างถุง PVC ถูกบันทึกด้วย temperature data logger logger (H08-003-02, Onset Computer Corp., Massachusetts, U.S.A.) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (i.e., วันสุดท้ายของการทดลอง) ตัวอย่างแมลงที่ผ่านการทดลองจะถูกเก็บรักษาในสภาวะห้อง และถูกนับจำนวนแมลงที่ถูกกำจัดเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การตายต่อไป

2.4 การคำนวณและวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การตายของตัวอย่างแมลง

ทำการสุ่มตัวอย่างแมลงระยะตัวเต็มวัย หลังจากการทดลอง 1 d โดยแมลงจะถูกคัดแยกและนับจำนวนแมลงที่รอดชีวิต (แมลงที่เคลื่อนไหวได้) และแมลงที่ตาย (แมลงที่ไม่เคลื่อนไหว) เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงระยะตัวเต็มวัยใน 1 ขวดเก็บตัวอย่างแมลงจะถูกคำนวณด้วยสมการที่ 1

$$\%\text{mortality}_{\text{adult}} = \frac{\text{KA}}{\text{TA}} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ KA คือ จำนวนแมลงตัวเต็มวัยที่ตาย และ TA คือ จำนวนแมลงระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดใน 1 ขวดเก็บตัวอย่าง (i.e., 30 ตัว) ตัวอย่างแมลงระยะไข่จะถูกคัดแยกและนับจำนวนแมลง เมื่อเวลาผ่านไป 40 d หลังการจากเริ่มการทดลองนั้นๆ และเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงระยะไข่ใน 1 ขวดเก็บตัวอย่างแมลงจะถูกคำนวณด้วยสมการที่ 2

$$\%\text{mortality}_{\text{egg}} = \frac{\text{TE-SE}}{\text{TE}} \times 100 \quad (2)$$

สำหรับการคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงระยะไข่สามารถทำได้โดยการนับจำนวนแมลงระยะหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ที่เกิดหลังจากการทดลอง 40 d โดยกำหนดให้จำนวนแมลงทั้งหมดที่พบในกลุ่มการทดลองคือ SE และจำนวนแมลงที่พบทั้งหมดในกลุ่มควบคุมคือ TE ดังนั้น เปอร์เซ็นต์การตายของระยะไข่จึงถูกคำนวณจากผลต่างระหว่างจำนวนของไข่แมลงที่ฟักตัวในกลุ่มควบคุมและจำนวนไข่แมลงที่ฟักตัวในกลุ่มการทดลอง (i.e., TE ลบด้วย SE)

นอกจากนี้ ผลการทดลองในหัวข้อ 2.2 จะถูกวิเคราะห์หาค่า LT (lethal exposure time) ที่เปอร์เซ็นต์การตาย 50, 90 และ 99% (i.e., LT_{50}, LT_{90} และ LT_{99} ตามลำดับ) ด้วยการวิเคราะห์ Probit (Probit analysis) (Vincent, 2015) โดย ที่แต่ละเงื่อนไขการทดลอง เปอร์เซ็นต์การตายของแมลงในแต่ละกลุ่ม (i.e., ทั้งหมด 7 กลุ่ม) ถูกกำหนดให้เป็นค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงทั้ง 10 ขวดเก็บตัวอย่างในแต่ละกลุ่ม

3 ผลและวิจารณ์

3.1 ผลของระยะเวลากำจัด, ความดัน และอุณหภูมิแวดล้อมต่อเปอร์เซ็นต์การตายของแมลง

Figure 3 เป็นตัวอย่างผลการทดลองในหัวข้อ 2.2 ซึ่งถูกแสดงในรูปของข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* เทียบกับระยะเวลากำจัดที่ 4 ระดับความดันและอุณหภูมิ 20°C โดยทั่วไปที่ทุกอุณหภูมิและทุกความดัน เปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อแมลงอยู่ภายใต้สภาวะสุญญากาศนานขึ้น (i.e., ระยะเวลากำจัดเพิ่มขึ้น) อย่างไรก็ตาม ในการทดลองที่ระดับความดัน 300±10 และ 500±10 mmHg คณะผู้วิจัยพบว่าไม่มีแมลงเกิดขึ้นภายในขวดเก็บตัวอย่างไข่แมลงที่ถูกสุ่มเก็บจากการทดลอง จึงเป็นสาเหตุให้ไม่สามารถคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงระยะไข่ใน Figure 3c และ 3d ได้ Table 1 และ Table 2 แสดงค่า LT_{50}, LT_{90} และ LT_{99} ของ *S. zeamais* ระยะไข่และระยะตัวเต็มวัย ตามลำดับ LT_{99} ของแมลงระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยมีค่าอยู่ในช่วง 15.29 – 198.97 และ 1.22 – 130.86 h ตามลำดับ ทั้งนี้ ในการทดลองที่อุณหภูมิ 20 และ 30°C, และความดัน 300±10 และ 500±10 mmHg คณะผู้วิจัยไม่สามารถหาค่า LT ของ *S. zeamais* ได้เนื่องจาก 1) มีจำนวนจุดข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงไม่เพียงพอ หรือ 2) คณะผู้วิจัยพบว่าไม่มีแมลงเกิดขึ้นภายในขวดเก็บตัวอย่างแมลงระยะไข่ที่ถูกสุ่มเก็บจากการทดลอง (Figure 3c และ 3d)

ที่เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน ระยะไข่ของ *S. zeamais* มีความต้านทานต่อสภาวะสุญญากาศมากกว่าระยะตัวเต็มวัย ยกตัวอย่าง เช่น ที่อุณหภูมิ 40°C และความดัน 300±10 mmHg *S. zeamais* ระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยมีค่า LT_{99} เท่ากับ 66.51 และ 21.71 h ตามลำดับ นอกจากนี้ เมื่อความดันต่ำลงและ/หรืออุณหภูมิสูงขึ้น วิธีสุญญากาศมีประสิทธิภาพสูงขึ้น โดยสังเกตได้จากค่า LT_{50}, LT_{90} และ LT_{99} ที่ต่ำลง ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Navarro et al. (2002) Finkelman et al. (2004) และ Mbata et al. (2005) ซึ่งทดลองกำจัด *Lasioderma serricorne*, *Calloso-*

bruchus. maculates, *Ephestia cautella*, *Plodia interpunctella* และ *Tribolium castaneum* ด้วยวิธีสุญญากาศ ซึ่งพบว่าความสามารถในการกำจัดแมลงด้วยวิธีสุญญากาศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความดันลดลงและ/หรืออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ยกตัวอย่างเช่น ที่ความดัน 100 mmHg ระยะไข่ของ *L. serricorne* มี LT_{99} ลดลงจาก 136.0 ไปเป็น 75.0 และ 40.0 h เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 18 ไปเป็น 25 และ 30°C ตามลำดับ, และที่อุณหภูมิ 30°C ระยะไข่ของแมลงชนิดนี้มีค่า LT_{99} ลดลงเป็น 75.0 h ที่ความดัน 25 mmHg นอกจากนี้ แมลงแต่ละชนิดจะมีค่า LT_{99}แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

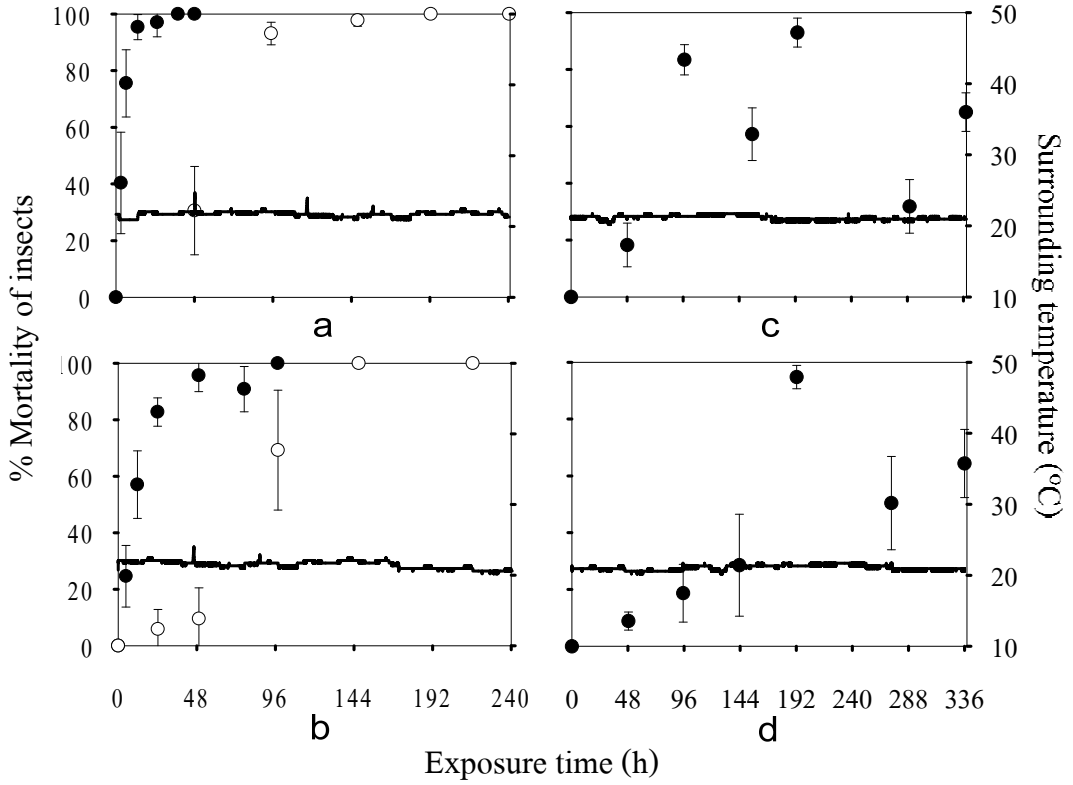

Figure 3 %mortality of *S. zeamais* adults (black dots) and eggs (white dot) and surrounding temperature (solid line) during the vacuum treatment experiment at 20°C and (a) 50±10, (b) 100±10, (c) 300±10 และ (d) 500±10 mmHg.

Table 1 Lethal exposure time at 50, 90 and 99%mortality of *S. zeamais* eggs as a result of the Probit analysis.

Pressure (mmHg)	Lethal exposure time (LT) (h)		
	LT_{50} (lower – upper)	LT_{90} (lower – upper)	LT_{99} (lower – upper)
	20°C		
50	55.22 (53.634 – 56.896)	77.44 (74.050 – 81.647)	102.02 (95.409 – 110.651)
100	73.05 (63.429 – 83.223)	126.87 (108.939 – 157.335)	198.97 (159.913 – 279.970)
300	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
500	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
	30°C		
50	27.61 (22.962 – 31.686)	60.13 (52.659 – 71.539)	113.41 (91.252 – 157.750)
100	31.72 (28.408 – 35.237)	62.11 (54.435 – 73.530)	107.41 (88.387 – 140.173)
300	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
500	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]

Pressure (mmHg)	Lethal exposure time (LT) (h)		
	LT_{50} (lower – upper)	LT_{90} (lower – upper)	LT_{99} (lower – upper)
	40°C		
50	10.08 (9.311 – 10.884)	12.68 (11.636 – 14.598)	15.29 (13.552 – 19.095)
100	6.30 (5.593 – 6.928)	12.79 (10.448 – 14.842)	22.79 (18.845 – 30.092)
300	26.09 (21.659 – 29.158)	43.69 (41.314 – 46.595)	66.51 (59.388 – 80.418)
500	21.58 (18.965 – 24.548)	41.66 (35.497 – 51.611)	71.22 (56.620 – 98.860)

[a]The Probit analysis could not be conducted either because 1) the number of %mortality data points were not sufficient or 2) there were no hatched eggs found in the sample.

Table 2 Lethal exposure time at 50, 90 and 99%mortality of *S. zeamais* adults as a result of the Probit analysis.

Pressure (mmHg)	Lethal exposure time (LT) (h)		
	LT_{50} (lower – upper)	LT_{90} (lower – upper)	LT_{99} (lower – upper)
	20°C		
50	3.65 (3.084 – 4.188)	10.78 (9.340 – 12.912)	26.08 (20.417 – 36.497)
100	9.63 (8.059 – 11.223)	40.54 (34.125 – 49.944)	130.86 (98.078 – 190.373)
300	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
500	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
	30°C		
50	0.31 (0.234 – 0.387)	1.52 (1.199 – 2.107)	5.56 (3.632 – 10.503)
100	3.32 (2.907 – 3.691)	8.37 (7.597 – 9.415)	17.81 (14.947 – 22.474)
300	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
500	(-)[a]	(-)[a]	(-)[a]
	40°C		
50	0.25 (0.223 – 0.274)	0.61 (0.544 – 0.701)	1.27 (1.050 – 1.612)
100	0.51 (0.486 – 0.528)	0.82 (0.784 – 0.870)	1.22 (1.135 – 1.333)
300	5.83 (5.467 – 6.177)	12.03 (11.468 – 12.674)	21.71 (20.014 – 23.865)
500	14.86 (12.903 – 16.998)	29.08 (24.741 – 36.072)	50.26 (39.846 – 70.330)

[a]The Probit analysis could not be conducted either because 1) the number of %mortality data points were not sufficient or 2) there were no hatched eggs found in the sample.

Mbata and Phillips (2001b) และ Mbata et al. (2004; 2005) แสดงข้อสังเกตว่า การที่แมลงตายในสภาวะสุญญากาศ เกิดจากผลกระทบทางกายภาพ (physiological effect) ที่เกิดขึ้นในสภาวะสุญญากาศ เนื่องจากความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนมีระดับต่ำลง Navarro and Calderon (1979) วัดอัตราการหายใจของ *E. cautella* ระยะดักแด้ ภายใต้สภาวะความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนที่ถูกควบคุม ผลการทดลองของนักวิจัยกลุ่มนี้สนับสนุนข้อสังเกตดังกล่าวคือ เมื่อระดับความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนเท่ากัน อัตราการหายใจของแมลงมีแนวโน้มเป็นไปในทางเดียวกัน โดยไม่ขึ้นอยู่กับระดับความดันบรรยากาศ ยกตัวอย่างเช่น เมื่อความดันถูกควบคุมให้อยู่ที่ 61 และ 760 mmHg แต่ความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนที่ทั้ง 2 ระดับความดัน ถูกควบคุมให้อยู่ที่ 1% แมลงที่ทั้ง 2 ระดับความดันหายใจด้วยอัตราที่เกือบเท่ากันและมีเปอร์เซ็นต์การตายเกือบเท่ากัน Emekci et al. (2002, 2004) พบว่าอัตราการหายใจของ *T. castaneum* และ *Rhyzopertha dominica* ระยะไข่แปรผันตามระดับความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศ และอัตราการหายใจของแมลงระยะตัวเต็มวัยลดลงอย่างชัดเจนเมื่อความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศน้อยกว่า 3% ซึ่งผลการทดลองนี้สนับสนุนข้อสังเกตของ Mbata and Phillips (2001b) และ Mbata et al. (2004; 2005) ทั้งนี้ Finkelman et al. (2003b) และ Navarro (2006) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศมีความสัมพันธ์กับระดับความดันบรรยากาศ

ในลักษณะเส้นตรงคือ ที่ระดับความดัน 50, 100, 300 และ 500±10 mmHg ความเข้มข้นก๊าซออกซิเจนมีค่าเป็น 1.4, 2.8, 8.3 และ 13.8% ตามลำดับ ดังนั้น มีความเป็นได้สูงว่า การใช้วิธีสุญญากาศเพื่อการกำจัดแมลงปนเปื้อนในข้าวเปลือกควรดำเนินการที่ความดันไม่เกิน 100±10 mmHg ซึ่งความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนมีแนวโน้มต่ำกว่า 3%

3.2 ผลการทดลองกำจัดแมลงในโครงสร้างถุง PVC

Figure 4บน และ 4ล่าง แสดงความดันและความเข้มข้นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในโครงสร้างถุง PVC ในระหว่างการทดลอง Table 3 แสดงสรุปผลการทดลองกำจัดแมลงในโครงสร้างถุง PVC อุณหภูมิแวดล้อมภายนอกโครงสร้างถุง PVC มีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพอากาศและช่วงเวลาของการทดลอง ซึ่งค่าอุณหภูมิต่ำสุด (22.48–25.95°C) และสูงสุด (29.5–38.32°C) (data not shown) เมื่อครบ 8 d ของการทดลองวิธีสุญญากาศ เปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* ระยะตัวเต็มวัยจากกลุ่มตัวอย่างควบคุมของการทดลองครั้งที่ 1–5 มีค่าเท่ากับ 9.82, 4.35, 9.76, 4.69 และ 8.99% ตามลำดับ นอกจากนี้จำนวนแมลงในระยะชีวิตอื่นๆ (i.e., หนอน ดักแด้และตัวเต็มวัย,) ที่เกิดขึ้นในตัวอย่างควบคุมของ *S. zeamais* ระยะไข่ ของการทดลองครั้งที่ 1 – 5 มีค่าเท่ากับ 38.2, 14.2, 9.4, 10.7 และ 11.4 ตัวต่อขวดเก็บตัวอย่างแมลง ตามลำดับ

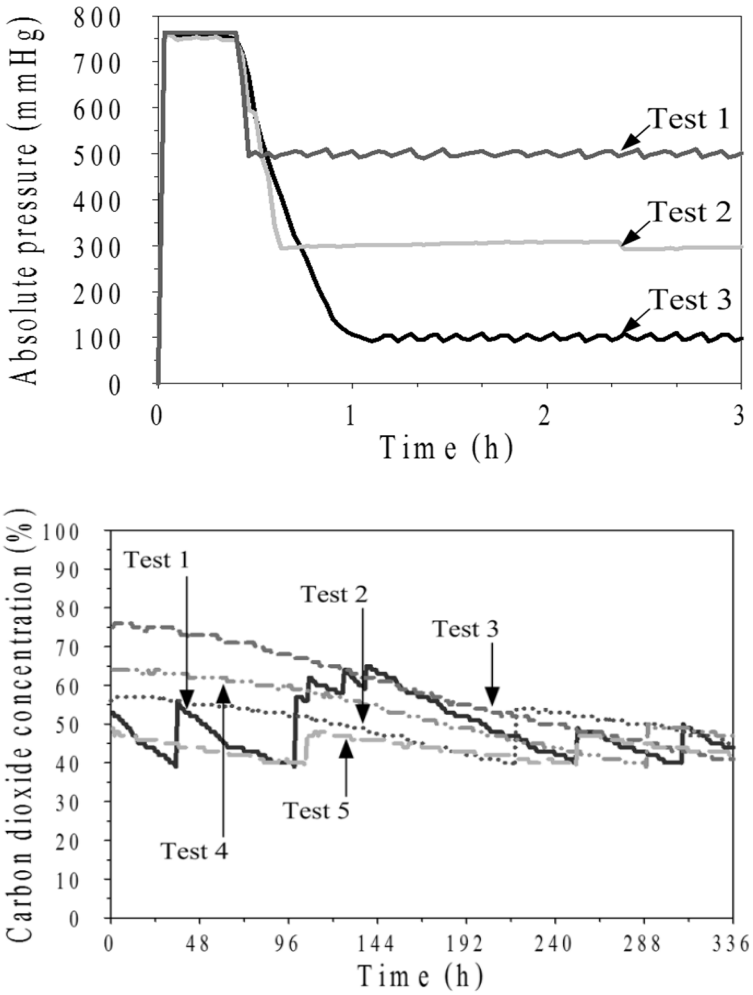

Figure 4 Absolute pressures inside PVC bags during the few first hours of the vacuum treatments (upper) and gas concentrations during the carbon dioxide fumigation trials (lower).

ในการทดลองครั้งที่ 1 และ 2 วิธีสุญญากาศไม่สามารถกำจัดทั้งระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยของ *S. zeamais* ทั้งหมดได้ ซึ่งเปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* ระยะไข่เท่ากับ 39.01 และ 80.2% และระยะตัวเต็มวัยเท่ากับ 9.36 และ 80.99% ตามลำดับ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลการทดลองก่อนหน้า (Figure 3c และ 3d) คือ ที่อุณหภูมิ 20 และ 30°C ที่ความดัน 300±10 และ 500±10 mmHg วิธีสุญญากาศไม่สามารถกำจัดระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยของ *S. zeamais* ได้ทั้งหมดภายใน

ระยะเวลาของการทดลอง (i.e., สูงสุด 336 h) เมื่อความดันลดลงเป็น 100 ±10 mmHg ในการทดลองที่ 3–5 ทั้งระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยถูกกำจัดทั้งหมด หลังจากผ่านการรมด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นเวลา 14 d *S. zeamais* ทั้ง 2 ระยะการเจริญเติบโตในทุกการทดลองมีเปอร์เซ็นต์การตาย เป็น 100% ผลการทดลองการกำจัดแมลงทั้ง 2 วิธี แสดงให้เห็นว่าวิธีสุญญากาศที่ความดันภายในโครงสร้างไม่เกิน 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d มีความสามารถในการกำจัด *S. zeamais* เทียบเคียงได้กับวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

โครงสร้าง Cocoon® (SVC-010, GrainPro Inc., Ltd., Concord, Massachusetts, USA) ถูกผลิตจากแผ่นพลาสติกพอลิโพรไพลีน (polypropylene) และแบ่งออกเป็นส่วนล่างและส่วนบนที่ถูกเชื่อมกันด้วยซิป (zipper) Navarro et al. (2001) และ Finkelman et al. (2002; 2003a) ทดลองกำจัด *E. cautella*, *P. interpunctella* และ *T. castaneum* ที่เกือบทุกระยะการเจริญเติบโต โดยทำการทดลองในโครงสร้าง Cocoon® ซึ่งบรรจุเมล็ดโกโก้ 5,650–13,000 kg นักวิจัยกลุ่มดังกล่าวพบว่าที่ความดัน 23–75 mmHg แมลงเกือบทั้งหมดมีเปอร์เซ็นต์การตายเป็น 100% เมื่อเวลาผ่านไป 3 d หลังจากเริ่มต้นการทดลอง เมื่อพิจารณาผลของงานวิจัยนี้ (i.e., ที่ 20°C LT_{99} ของระยะไข่ของ *S. zeamais* เท่ากับ 198.97 h หรือประมาณ 8 d) ร่วมกับผลการทดลองของ Navarro et al. (2001) และ Finkelman et al. (2002; 2003a) คณะผู้วิจัยให้ข้อเสนอแนะว่า การใช้วิธีสุญญากาศในการกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บควรใช้ความดันภายในโครงสร้างที่ต่ำกว่า 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d

Table 3 %mortality of *S. zeamais* as a result of the vacuum treatment and carbon dioxide fumigation trials in PVC bags.

Parameter	Test 1	Test 2	Test 3	Test 4	Test 5
Pressure level (mmHg)	500±10	300±10	100±10	100±10	100±10
$\%motality_{adult}$	9.36	80.99	100	100	100
$\%motality_{egg}$	39.01	80.28	100	100	100
Concentration (%)	39 – 65	39 – 57	41 – 76	39 – 65	39 – 49
$\%motality_{adult}$	100	100	100	100	100
$\%motality_{egg}$	100	100	100	100	100

4 สรุป

งานวิจัยนี้ศึกษาผลกระทบของระยะเวลากำจัด, ความดัน (50 – 500 mmHg) และอุณกภูมิ (20 – 40°C) ที่มีต่อเปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* ระยะไข่และระยะตัวเต็มวัย LT_{99} ของแมลงระยะไข่และระยะตัวเต็มวัยมีค่าอยู่ในช่วง 15.29 – 198.97 และ 1.22 – 130.86 h ตามลำดับ โดยทั่วไปที่ทุกอุณหภูมิและทุกความดัน เปอร์เซ็นต์การตายของ *S. zeamais* มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อแมลงอยู่ภายใต้สภาวะสุญญากาศนานขึ้น ที่เงื่อนไขการทดลองเดียวกัน ระยะไข่ของ *S. zeamais* มีความต้านทานต่อสภาวะสุญญากาศมากกว่าระยะตัวเต็มวัย นอกจากนี้ เมื่อความดันต่ำลงและ/หรืออุณหภูมิสูงขึ้น วิธีสุญญากาศมีประสิทธิภาพสูงขึ้น วิธีสุญญากาศที่ความดันภายในโครงสร้างไม่เกิน 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d มีความสามารถในการกำจัด *S. zeamais* เทียบเคียงได้กับวิธีรมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อพิจารณาผลของงานวิจัยนี้ร่วมกับผลการทดลองของนักวิจัยกลุ่มอื่นๆ คณะผู้วิจัยให้ข้อเสนอแนะว่า การใช้วิธีสุญญากาศในการกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บควรใช้ความดันภายในโครงสร้างที่ต่ำกว่า 100±10 mmHg และระยะเวลากำจัดไม่น้อยกว่า 8 d

5 กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2554 รหัสโครงการวิจัย ว-ท(ด) 195.54 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณฝ่ายเครื่องจักรกลการเกษตรแห่งชาติ และภาควิชาวิศวกรรมเกษตร คณะวิศวกรรมศาสตร์ กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ได้อนุเคราะห์สถานที่และสาธารณูปโภคอื่นๆ สำหรับการดำเนินงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณ ดร. ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ กองวิจัยพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรม

วิชาการเกษตร ที่ได้อนุเคราะห์แมลงสำหรับการทดลอง ขอขอบคุณคุณกัลยา หนูขำ สำหรับความช่วยเหลือในการทำการทดลอง

6 เอกสารอ้างอิง

Bell, C.H., Wilson, S.M., 1995. Phosphine tolerance and resistance in Trogoderma granarium everts (Coleoptera:Dermestidae). Journal of Stored Products Research 31, 199-205.

Bell, C.H., Wilson, S.M., Banks, H.J., 1984. Studies on the toxicity of phosphine to tolerant stages of Trogoderma granarium everts (Coleoptera: Dermestidae). Journal of Stored Products Research 20, 111-117.

Calderon, M., Navarro, S., Donahaye, E., 1966. The effect of low pressures on the mortality of six stored-product insect species. Journal of Stored Products Research 2, 135-140.

Collins, P.J., Daglish, G.J., Pavic, H., Kopittke, R.A., 2005. Response of mixed-age cultures of phosphine-resistant and susceptible strains of Lesser Grain Borer, Rhyzopertha dominica, to phosphine at a range of concentrations and exposure periods. Journal of Stored Products Research 41, 373–385.

Emekci, M., Navarro, S., Donahaye, E., Rindner, M., Azrieli, A., 2002. Respiration of Tribolium castaneum (Herbst) at reduced oxygen concentrations. Journal of Stored Products Research 38, 413-425.

Emekci, M., Navarro, S., Donahaye, E., Rindner, M., Azrieli, A., 2004. Respiration of Rhyzopertha dominica (F.) at reduced oxygen concentrations. Journal of Stored Products Research 40, 27-38.

Finkelman, S., Navarro, S., Isikber, A., Dias, R., Azrieli, A., Rindner, M., Lotan, Y., Debruin, T., 2002. Application of vacuum to sealed flexible containers: A viable alternative to disinfestation of durable commodities with methyl bromide. In: Batchelor, T.A., Bolivar, J.M. (Eds), Proceedings of the International Conference on Alternatives to Methyl Bromide, 5-8 March 2002, Sevilla, Spain, pp. 145-149.

Finkelman, S., Navarro, S., Lotan, Y., Debruin, T., Isikber, A.A., Rindner, M., Dias, R., Azrieli, A., 2003a. Insect control of cocoa pests using a novel vacuum approach. In: Credland, P.F. et al. (Eds), Proceedings of the Eighth International Working Conference on Stored Product Protection, 22-26 July 2002, York, UK, CAB International, Wallingford, UK, pp. 579-582.

Finkelman, S., Navarro, S., Rindner, M., Dias, R., Azrieli, A., 2003b. The use of portable systems to control insect pests by low pressures. In: Navarro, S. et al. (Eds), the IOBC WPRS Working Group “Integrated Protection in Stored Products”, 16-19 September 2003, Kusadasi, Turkey, pp. 233–239.

Finkelman, S., Navarro, S., Rindner, M., Dias, R., Azrieli, A., 2004. Effect of low pressures on the survival of three cocoa pests at 30°C.Journal of Stored Products Research 40, 499-506.

Food and Fertilizer Technology Center, 2015. Carbon dioxide fumigation technique to control insect pests in stored products. Available at: http://www.agnet.org/htmlarea_file/library/20110716183913/pt2004015.pdf. Accessed 30 August 2015.

Mbata, G.N., Johnson, M., Phillips, T.W., Payton, M., 2005. Mortality of life stages of Cowpea Weevil (Coleoptera: Bruchidae) exposed to low pressure at different temperatures. Journal of Economic Entomology 98, 1070–1075.

Mbata, G.N., Phillips, T.W., 2001a. Prospects of low pressure for use in the disinfestation of stored-products. In: Donahaye, E.J. et al. (Eds), Proceedings of an International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, Fresno, CA, Executive Printing Services, Clovis, CA, pp. 285-295.

Mbata, G.N., Phillips, T.W., 2001b. Effects of temperature and exposure time on mortality of stored-product insects exposed to low pressure. Journal of Economic Entomology 94, 1302-1307.

Mbata, G.N., Phillips, T.W., Payton, M., 2004. Mortality of eggs of stored-product insects held under vacuum: effects of pressure, temperature, and exposure time. Journal of Economic Entomology 97, 695-702.

Navarro, S., 2006. Modified atmospheres for the control of stored-product insects and mites. In Insect Management for Food Storage and Processing, 105–146. St. Paul: AACC International.

Navarro, S., Calderon, M., 1972. Exposure of Ephestia cautella (Wlk.) (Lepidoptera, Phycitidae) to low pressures: Effects on adults. Journal of Stored Products Research 8, 209-212.

Navarro, S., Calderon, M., 1979. Mode of action of low atmospheric pressures on Ephestia cautella (Wlk.) pupae. Separatum EXPERIENTIA 35, 2.

Navarro, S., Donahaye, J.E., Dias, R., Azrieli, A., Rindner, M., Phillips, T., Noyes, R., Villers, P., Debruin, T., Truby, R., Rodriguez, R., 2001. Application of vacuum in a transportable system for insect control. In: Donahaye, E.J. et al. (Eds), Proceedings of an International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, 29 October - 3 November 2000, Fresno, CA, Executive Printing Services, Clovis, CA, pp. 307-315.

Navarro, S., Finkelman, S., Donahaye, E., Dias, R., Rindner, M., Azrieli, A., 2002. Integrated storage pest control methods using vacuum or CO_2 in transportable systems. In: Adler, C. et al. (Eds), Proceedings of the IOBC WPRS Working Group “Integrated Protection in Stored Products”, 3-5 September 2001, Lisbon, Portugal, IOBC/WPRS, pp. 207-214.

Steuerwald, R., Dierks-Lange, H., Schmitt, S., 2006. Rapid bioassay for determining the phosphine tolerance. In: Lorini, I. et al. (Eds), Proceedings of the Ninth International Working Conference on Stored Product Protection, 15-18 October 2006, Campinas, São Paulo, Brazil, Brazilian Post-harvest Association, Passo Fundo, RS, Brazil, pp. 306-311.

UNEP, 2000. The Montreal protocol on substances that deplete the ozone layer. Available at: http://ozone.unep.org/en/treaties-and-decisions/montreal-protocol-substances-deplete-ozone-layer. Accessed 12 August 2015.

Vincent, K., 2015. Probit analysis. Available at: http://userwww.sfsu.edu/~efc/classes/biol710/probit/ProbitAnalysis.pdf. Accessed 17 August 2015.