

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

1. การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลงและสารสกัดจากพืชในการป้องกันกำจัดเสี้ยนดินในห้องปฏิบัติการ

1.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างเสี้ยนดิน

สำรวจแปลงพืชผักอินทรีย์ในแต่ละพื้นที่ที่พบมีการเข้าทำลายของเสี้ยนดิน จากนั้นขุดดินเพื่อเก็บทั้งตัวอย่างดินและเสี้ยนดินใส่กล่องพลาสติกแล้วนำกลับมาจำแนกชนิดและเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

1.2 การคัดเลือกและทดสอบเชื้อจุลินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการควบคุมเสี้ยนดินในระดับห้องปฏิบัติการ

1.2.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการควบคุมเสี้ยนดิน

1) เชื้อรากำจัดแมลงที่ใช้ทดสอบเป็นเชื้อราที่มีจำหน่ายเป็นการค้า หรือเป็นเชื้อราที่มูลนิธิโครงการหลวง หรือสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) แนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกผักอินทรีย์ในพื้นที่ใช้ เช่น *Beauveria bassiana* และ *Metarhizium anisopliae*

2) ไล่เดือนฝอย ที่ใช้ทดสอบเป็นชนิดที่มีจำหน่ายเป็นการค้า หรือเป็นชนิดที่แนะนำให้เกษตรกรผู้ปลูกผักอินทรีย์ในพื้นที่ใช้ เช่น *Steinernema carpocapsae*

3) สารสกัดจากพืช ที่ใช้ทดสอบควรได้จากพืชที่พบได้ทั่วไปในพื้นที่ หรือมีราคาไม่สูง หาได้ง่ายหรือหาซื้อได้ทั่วไป คือ ยาสูบและหางไหล

การเตรียมสารสกัดจากพืชยาสูบทำโดยนำชิ้นส่วนของยาสูบมาทำการบดสับหรือปั่นให้เป็นชิ้นเล็กละเอียดแล้วแช่น้ำสะอาดในอัตราส่วน 9:1 มิลลิลิตรต่อกรัม (น้ำสะอาด:ยาสูบ) สกัดด้วยน้ำนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกกากด้วยผ้าขาวบางแล้วบรรจุในขวดเพื่อใช้ทดสอบ (ศุภกร และคณะ, 2560)

การเตรียมสารสกัดจากหางไหลสด นำรากหางไหลสด 1.5 กิโลกรัม ทบให้แหลกแล้วแช่น้ำสะอาดประมาณ 10 ลิตร แช่ไว้ 24 ชั่วโมงแล้วนำมากรอง (สำนักงานเกษตรจังหวัดพระนครศรีอยุธยา, 2552)

1.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ และสารสกัดจากพืชในการควบคุมเสี้ยนดินในระดับห้องปฏิบัติการ วางแผนการทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการแบบ CRD (completely randomized design) 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 เชื้อรา *Beauveria bassiana* ทางการค้า พีพี-เบ็บ อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 เชื้อรา *Metarhizium anisopliae* ทางการค้า พีพี-เมทา อัตรา 200 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ไล่เดือนฝอย ทางการค้า เช่น นีมาไซท์ อัตรา 100 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 สารสกัดจากยาสูบ

กรรมวิธีที่ 5 สารสกัดหางไหล

กรรมวิธีที่ 6 ขุดควบคุม (น้ำเปล่า)

ทำการทดสอบโดยพ่นเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดลงบนเสี้ยนดินในระยะตัวเต็มวัยจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำ โดยตรงในจานแก้ว (petri dish) รองด้วยกระดาษกรอง และบรรจุก้อนสำลีหยดด้วยน้ำหวานเพื่อเป็นแหล่งอาหารเสี้ยนดิน พ่นสารด้วยเครื่องพ่นแบบปั๊มลม (air brush sprayer) ปริมาตรในการพ่นโดยตรง 0.5 มิลลิลิตร (ศุภกร และคณะ, 2560)

บันทึกข้อมูล โดยตรวจนับจำนวน เสี้ยนดินที่ตายหลังพ่นสาร 1, 3, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของเสี้ยนดินของแต่ละกรรมวิธี สำหรับเชื้อจุลินทรีย์ ตรวจนับจำนวน เสี้ยนดินหลังจากพ่นเชื้อ 3, 5 และ 7 วัน

1.3 การวิเคราะห์ข้อมูล แปลงค่าจำนวนเสี้ยนดินที่ตายในทุกกรรมวิธีเป็นเปอร์เซ็นต์การตายตามสูตร

$$\% \text{การตาย} = \frac{(\text{จำนวนเสี้ยนดินก่อนทดสอบ} - \text{จำนวนเสี้ยนดินหลังทดสอบ}) \times 100}{\text{จำนวนเสี้ยนดินก่อนทดสอบ}}$$

ถ้ามีการตายของกรรมวิธีควบคุม (control) มากกว่า 5 % ให้ทดลองใหม่

ถ้ามีการตายของกรรมวิธีควบคุม (control) อยู่ในช่วง 0-5 % ให้ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายของเสี้ยนดิน ด้วย Abbott's formula ดังนี้

$$\text{Abbott's formula, } Pt = \frac{Po - Pc}{100 - Pc} \times 100$$

Pt = % Corrected mortality

Po = % Observed mortality

Pc = % Control mortality

1.4 หลังจากคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของเสี้ยนดินของแต่ละกรรมวิธี นำกรรมวิธีที่ได้จากการทดสอบ การควบคุมเสี้ยนดินในระดับห้องปฏิบัติการที่ให้ผลไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ นำไปทดสอบในสภาพแปลงทดลองต่อไป

2. ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์กำจัดแมลงและสารสกัดจากพืชที่คัดเลือกในแปลงปลูกผักอินทรีย์ของมูลนิธิโครงการหลวง

2.1 การเลือกพื้นที่ปลูกพืชผักอินทรีย์เป็นพื้นที่ศึกษาทดสอบ

ทำการเลือกพื้นที่ปลูกผักอินทรีย์ของมูลนิธิโครงการหลวงอย่างน้อย 2 พื้นที่ โดยเลือกพื้นที่ที่มีการปลูกผักอินทรีย์ และมีการพบเสี้ยนดินเข้าทำลายในพืช โดยระยะเวลาการสำรวจในช่วงที่เริ่มมีการปลูกผักอินทรีย์จนถึงระยะของการเก็บเกี่ยว

2.2 รวบรวมข้อมูลภูมิอากาศที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ ในพื้นที่เพื่อประกอบการวิเคราะห์

2.3 การทดสอบเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชที่คัดเลือก ในแปลงปลูกผักอินทรีย์

เลือกกรรมวิธีที่เหมาะสมมีประสิทธิภาพในการควบคุมเสียนดินจากห้องปฏิบัติการที่ให้ผลการทดลองไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อดำเนินการทดสอบในแปลงปลูกผักอินทรีย์ที่พบมีการเข้าทำลายของเสียนดินอย่างน้อย 2 พื้นที่ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 4 ซ้ำ ใช้อัตราและความเข้มข้นเดียวกันกับที่ทดสอบในระดับห้องปฏิบัติการ เริ่มพ่นเมื่อพบตัวเสียนดินในแปลงผักโดยพ่นให้ถูกตัว และพ่นซ้ำทุก 7 วันจนเก็บเกี่ยว บันทึกความเสียหายของพืชผักที่เกิดจากการเข้าทำลายของเสียนดิน ตั้งแต่หลังพ่นจนถึงระยะเก็บเกี่ยว รวมทั้งบันทึกข้อมูลค่าใช้จ่ายของแต่ละวิธี

วิเคราะห์ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การตายของแมลงในการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืช วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของผลผลิตในแปลงทดสอบ

3. ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเสียนดินในแปลงปลูกผักอินทรีย์ของมูลนิธิโครงการหลวง

3.1 การศึกษาการควบคุมเสียนดินโดยวิธีกลในแปลงปลูกผักอินทรีย์

1) เปรียบเทียบการทดลองแบบ T-test ประกอบ 2 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 กับดักน้ำมันแบบตะกร้า

วางกับดักเหยื่อน้ำมันในแปลงปลูกผักที่เคยพบมีการเข้าทำลายของเสียนดิน โดยใช้ตะกร้าพลาสติกกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร บรรจุดินที่ผสมกับน้ำมันปาล์ม 50-100 มิลลิลิตร ขุดวางโดยรอบแปลงปลูกผัก วางกับดักห่างกันประมาณ 2.5 เมตร (ดัดแปลงจาก Berghoff *et al.* 2002; Weissflog *et al.*, 2000) เริ่มวางกับดักตั้งแต่ย้ายต้นกล้า

กรรมวิธีที่ 2 กับดักน้ำมันแบบขวด

เป็นวิธีการที่เกษตรกรปฏิบัติโดยทั่วไปเมื่อพบเสียนดินในแปลงผัก โดยใช้ขวดแก้วขนาด 150 มิลลิลิตร บรรจุน้ำมันปาล์ม 50 มิลลิลิตร ขุดวางโดยรอบแปลงโดยให้บริเวณปากขวดอยู่ในระดับเดียวกับผิวดิน วางกับดักห่างกันประมาณ 2.5 เมตร วางกับดักตั้งแต่ย้ายต้นกล้า

2) ตรวจสอบกับดักทั้งสองกรรมวิธีเพื่อเปรียบเทียบจำนวนการเข้าของเสียนดิน และตรวจนับความเสียหายของผักตั้งแต่เริ่มปลูกจนเก็บเกี่ยว

3) วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของผลผลิตในแปลงทดสอบ และต้นทุนของแต่ละกรรมวิธี

3.2 ศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดเสี้ยนดินโดยวิธีผสมผสานในแปลงปลูกผักอินทรีย์

1) คัดเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเสี้ยนดินจากห้องปฏิบัติการที่ให้ผลการทดลองไม่น้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ โดยนำมาใช้ร่วมกับวิธีกล วางแผนการทดลองแบบ RCBD ประกอบด้วย 4 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ คือ

- | | |
|---------------|--------------------------------------|
| กรรมวิธีที่ 1 | เชื้อจุลินทรีย์+กับดัก |
| กรรมวิธีที่ 2 | สารสกัดจากพืช+กับดัก |
| กรรมวิธีที่ 3 | เชื้อจุลินทรีย์+สารสกัดจากพืช+กับดัก |
| กรรมวิธีที่ 4 | ชุดควบคุม |

2) ตรวจนับความเสียหายของผักตั้งแต่เริ่มปลูกจนเก็บเกี่ยว

3) วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความเสียหายของผลผลิตในแปลงทดสอบ และต้นทุนของแต่ละกรรมวิธี

4. วิเคราะห์และสรุปผลการป้องกันกำจัดเสี้ยนดินและต้นทุนของแต่ละกรรมวิธี

รวบรวมผลการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์และสารสกัดจากพืชที่มีประสิทธิภาพทำให้เสี้ยนดินตายในระดับห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบการควบคุมเสี้ยนดินในพื้นที่ และวิธีการควบคุมเสี้ยนดินโดยวิธีกลในแปลงปลูกผักอินทรีย์ รวมทั้งรวบรวมข้อมูลต้นทุนของแต่ละกรรมวิธี

สถานที่ดำเนินการวิจัย/เก็บข้อมูล

1. ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงทุ่งหลวง อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่
2. สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการสาขาวิชากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่