

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมต้นพันธุ์สตรอเบอร์

พันธุ์สตรอเบอร์ที่ใช้ในงานทดลอง 6 พันธุ์ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกเป็นการค้าในปัจจุบัน คือ 1) พันธุ์พระราชทาน 16 2) พันธุ์พระราชทาน 20 3) พันธุ์พระราชทาน 50 4) พันธุ์พระราชทาน 70 5) พันธุ์เนียวโฮ และ 6) พันธุ์เซลวา นำมาปลูกในกระถางพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของปากกระถาง 6 นิ้ว ความสูง 6 นิ้ว เก็บไว้ในโรงเรือน ให้อุณหภูมิ 20–20–20 ทุกสัปดาห์ จำนวน 1 กรัม ต่อน้ำ 0.5 ลิตรต่อต้น ปลูกในดินที่เตรียมเหมือนกัน นำมาวางแบบสุ่มคละกัน พันธุ์ละ 10 ต้น (ภาพ 2)

3.2 การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ไรสองจุด

การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ไรสองจุดเพื่อเพิ่มปริมาณไรสองจุดให้มากพอทดลองงานทดลอง โดยนำไรสองจุดจากต้นกุหลาบในสถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ มาเลี้ยงโดยใช้ใบถั่วดำ (*Vigna sinensis* Saviev) เป็นอาหาร โดยเก็บใบจากต้นถั่วดำอายุประมาณ 1 เดือน ใช้ผู้กันเชื้อตัวไรลงบนใบถั่วฝักยาวซึ่งวางอยู่บนสำลีชุบน้ำที่วางในภาชนะที่หล่อน้ำตลอดเวลา (ภาพ 3) และวางบนชั้นอยู่ใต้แสงไฟฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน เมื่อใบถั่วดำเหี่ยวหรือซีดเพราะมีไรอยู่หนาแน่นเกินไปจึงย้ายไรลงไปในใบถั่วดำใบใหม่ โดยตัดใบถั่วใบเก่าเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปวางทับคว่ำบนใบใหม่ (ภาพ 4) ไรสองจุดจะเคลื่อนย้ายตัวเองจากใบเก่าสู่ใบใหม่ ทั้งไว้ประมาณ 2 วัน จึงเก็บใบเก่าที่แห้งแล้วทิ้ง จากใบเก่าที่มีไรอยู่หนาแน่น 1 ใบ จะขยายไรสองจุดไปบนใบถั่วใบใหม่ได้ 3–4 ใบ

3.3 การศึกษาปริมาณไข่ อายุขัยของไรสองจุดเพศเมีย และอัตราความเสียหายบนใบสตรอเบอร์พันธุ์ต่าง ๆ

การทดลองครั้งที่ 1 ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน พ.ศ. 2543 ศึกษาปริมาณไข่และอายุขัยของไรสองจุดเพศเมียบนใบสตรอเบอร์ ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการที่หน่วยงานอารักขาพืชบนที่สูง มูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่ ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 23.25 ± 2.16

องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 72.43 ± 9.73 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ฟูกันเขี่ยไรสองจุดเพศเมีย ในระยะพักตัวของตัวอ่อนวัยที่ 3 (quiescent deutonymph) (ภาพ 5) มาแยกเลี้ยงเดี่ยว ๆ บนใบ สตรอเบอร์รี่ใบที่ 3 นับจากยอด ซึ่งตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร ด้วย cork borer ในแต่ละซีกของใบ โดยไม่ตัดผ่านเส้นกลางใบ นำใบที่ตัดแล้วมาวางบนสำลีชุบน้ำที่วางใน ก่อ่งพลาสติกที่แบ่งเป็นช่อง แต่ละช่องมีขนาด 3×5 เซนติเมตร (ภาพ 6) แล้วจึงเขี่ยไรสองจุดตัว เต็มวัยเพศผู้มาใส่ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงเพื่อให้ผสมพันธุ์กับตัวเต็มวัยเพศเมียที่ลอกคราบใหม่ ๆ จากนั้น จึงเขี่ยไรเพศผู้ออก ทำการบันทึกจำนวนไข่ที่เพศเมียผลิตทุก ๆ 24 ชั่วโมง ไข่ที่ทำการบันทึกแล้วจะ เขี่ยออก ทำการบันทึกไข่ที่วางแต่ละวัน จนกระทั่งเพศเมียตาย และบันทึกจำนวนวันที่ไข่วางไข่ ทำ การทดลอง พันธุ์ละ 20 ซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ หาความแตกต่างของจำนวนไข่ที่วางและ จำนวนวันที่ไข่วางไข่ โดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย โปรแกรม SX 4.1

การทดลองครั้งที่ 2 ทำการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ – มีนาคม พ.ศ. 2544 โดย ศึกษาปริมาณไข่และอัตราการเสียหายของใบสตรอเบอร์รี่ 6 พันธุ์ ทำการทดลองเหมือนการทดลอง แรก แต่เปลี่ยนเป็นใช้ไรสองจุดตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 2 วัน (ภาพ 7) เขี่ยลงบนใบสตรอเบอร์รี่จำนวน 10 ตัวต่อใบ นำมาวางแบบสุ่มตลอดบนโต๊ะในห้องปฏิบัติการซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ย 23.54 ± 1.33 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 65.08 ± 3.64 เปอร์เซ็นต์ ทำการบันทึกผลที่ 72 ชั่วโมงหลัง เขี่ยไรสองจุดลงบนใบสตรอเบอร์รี่ ทำการบันทึกจำนวนไข่ในแต่ละใบ สำหรับอัตราการเสียหาย (damage scar) จะบันทึกอัตราการเสียหายโดยนับจุดที่เกิดจากไรสองจุดทำลายทางด้านหลังใบ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ หาความแตกต่างของจำนวนไข่ที่วางและอัตราการเสียหายของใบ สตรอเบอร์รี่โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย โปรแกรม IRRISTAT



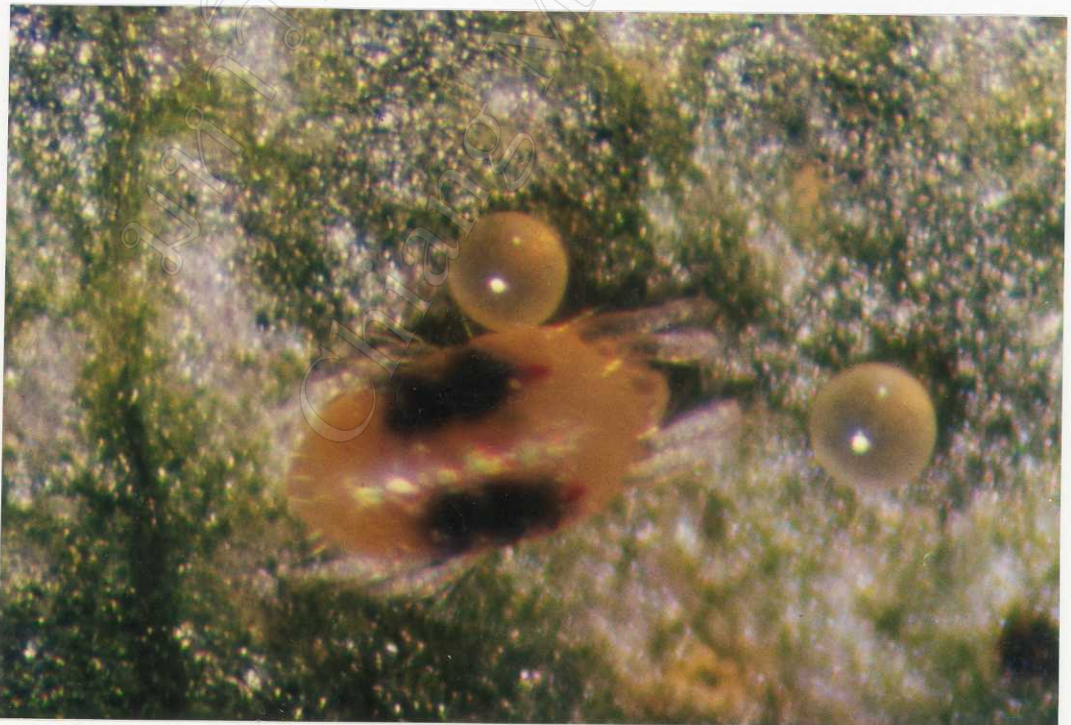
ภาพ 3 ต้นพันธุ์สตรอเบอร์รี่ที่เตรียมไว้ใช้ในการทดลอง



ภาพ 4 การเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ไวรัสสองจุดบนใบถั่วดำซึ่งวางอยู่บนสำลีชุบน้ำวางในถาด



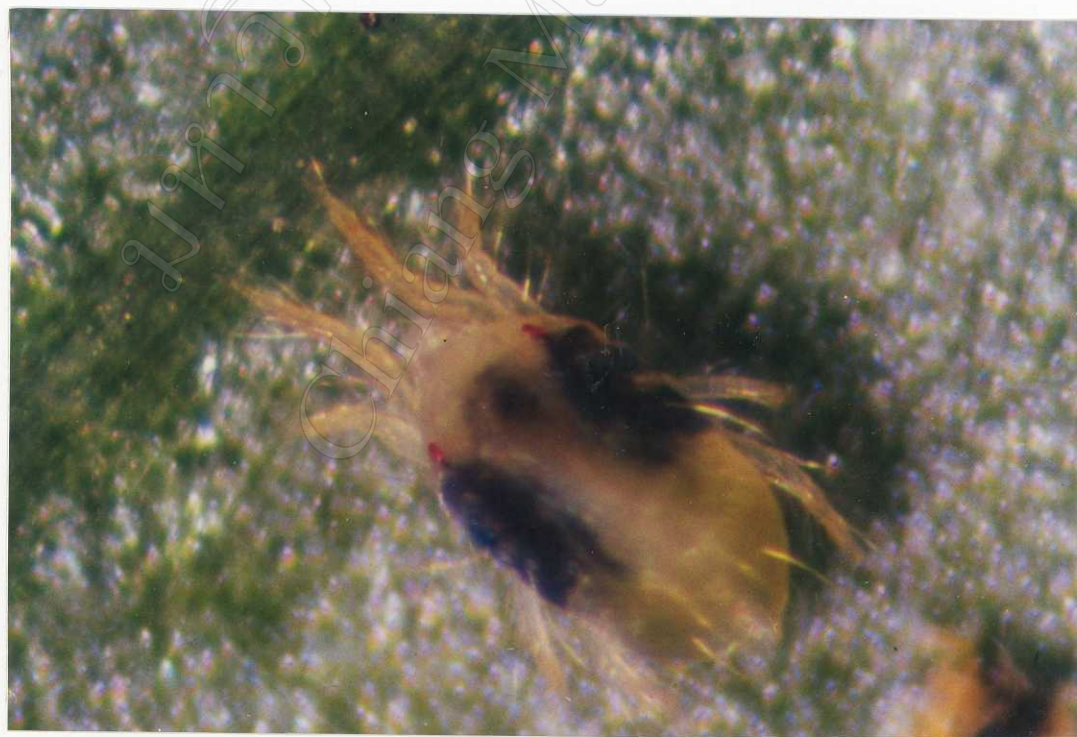
ภาพ 5 การเปลี่ยนใบถั่วดำใบที่มีโรยู่หนาแน่นไปบนใบถั่วฝักยาวใหม่เพื่อเพาะเลี้ยงขยายไรสองจุดให้ได้ปริมาณมากเพื่อใช้ในการทดลอง



ภาพ 6 ไรสองจุดเพศเมียในระยะพักตัวของตัวอ่อนวัยที่ 3 (quiescent deutonymph)



ภาพ 7 การแยกโรมาเลียงบนใบสตรอเบอร์รี่ที่ตัดเป็นวงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร



ภาพ 8 โรสองจุดตัวเต็มวัยเพศเมียอายุ 2 วัน

3.4 การศึกษาการเพิ่มจำนวนประชากรไรสองจุด เมื่อเลี้ยงบนใบสตรอเบอร์รี่พันธุ์ต่าง ๆ 6 พันธุ์

ใช้พู่กันเขี่ยไรสองจุดเพศเมียในระยะพักตัวของตัวอ่อนวัยที่ 3 (quiescent deutonymph) มาแยกเลี้ยงเดี่ยว ๆ บนใบสตรอเบอร์รี่ใบที่ 3 นับจากยอด ซึ่งตัดเป็นวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.7 เซนติเมตร โดยวางใบสตรอเบอร์รี่บนสำลีชุบน้ำที่วางในกล่องพลาสติกที่แบ่งเป็นช่อง โดยแต่ละช่องมีขนาด 3 x 5 เซนติเมตร (ภาพ 6) แล้วนำไรสองจุดตัวเต็มวัยเพศผู้มาใส่ ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ผสมพันธุ์กับตัวเต็มวัยเพศเมียที่ลอกคราบใหม่ ๆ จากนั้นจึงเขี่ยไรเพศผู้ออก ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิเฉลี่ย 23.25 ± 2.16 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 72.43 ± 9.73 เปอร์เซ็นต์ ทำการบันทึกข้อมูล 10 วันหลังปล่อยไร โดยบันทึกจำนวนไรที่รอดชีวิตทั้งหมด ไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย แต่ละพันธุ์ทำ 10 ซ้ำ ทำการทดลอง 3 ครั้ง ทำการทดลองตั้งแต่เดือนมีนาคม - พฤษภาคม นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม IRRISTAT เมื่อกรรมวิธีของแต่ละตัวแปรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

3.5 การศึกษาความชอบเข้าทำลายของไรสองจุดต่อสตรอเบอร์รี่พันธุ์ต่าง ๆ

นำต้นสตรอเบอร์รี่ทั้ง 6 พันธุ์ดังกล่าวมาแล้วข้างต้น มาปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของปากกระถาง 6 นิ้ว ปลูกในดินที่เตรียมเหมือนกัน ให้ปุ๋ยสูตร 20-20-20 สัปดาห์ละครั้ง จำนวน 1 กรัม ค่อน้ำ 0.5 ลิตรต่อต้น นำมาวางในโรงเรือน โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ต้น (ภาพ 8) เมื่อปลูกต้นสตรอเบอร์รี่ลงกระถางได้ 3 เดือน จึงนำไรสองจุดตัวเต็มวัยเพศเมียที่เลี้ยงไว้บนใบถั่วในห้องปฏิบัติการมาปล่อย จำนวน 50 ตัว ต่อซ้ำ (ภาพ 9) ทำการบันทึกที่ 7, 14, 21, และ 28 วันหลังปล่อยไร บันทึกจำนวนไรที่มีชีวิตทั้งหมด ไข่ ตัวอ่อน และตัวเต็มวัย จากใบกลางของช่อใบที่ 3 นับจากยอด ต้นละ 1 ใบ (ภาพ 10) ทำการทดลองระหว่างเดือนมีนาคม - เมษายน พ.ศ. 2543 โดยทำการทดลองที่สถานีทดลองเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม SX 4.1 เมื่อกรรมวิธีของแต่ละตัวแปรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบตามวิธี Least Significant Difference (LSD)



ภาพ 9 การวางกระถางปลูกลูกสตอเบอรี่ทั้ง 6 พันธุ์ในการทดลองความชอบเข้าทำลายของไรสองจุดต่อสตอเบอรี่พันธุ์ต่างๆ



ภาพ 10 การปล่อยไรสองจุดตัวเต็มวัยเพศเมียที่เลี้ยงบนใบถั่วดำในห้องปฏิบัติการจำนวน 50 ตัวต่อต้น



ภาพ 11 ใบกลางจากช่อใบที่ 3 นับจากยอดที่ใช้ในการเก็บข้อมูล

3.6 การศึกษาปริมาณไรสองจุดที่เข้าทำลายสตรอเบอร์รี่พันธุ์ต่าง ๆ 5 พันธุ์ ในสภาพแปลงปลูก

ปลูกสตรอเบอร์รี่พันธุ์ต่าง ๆ 5 พันธุ์ในสภาพแปลงปลูก คือ 1) พันธุ์พระราชทาน 16 2) พันธุ์พระราชทาน 20 3) พันธุ์พระราชทาน 50 4) พันธุ์พระราชทาน 70 และ 5) พันธุ์เนียวโฮ โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ต้น (ภาพ 11) โดยปลูกสตรอเบอร์รี่แบบยกแปลง ฐานแปลงกว้าง 80 เซนติเมตร สันแปลงกว้าง 60 เซนติเมตร ระยะปลูก 25 x 30 เซนติเมตร ใน 1 ซ้ำประกอบด้วยแปลงปลูก 2 แปลง โดยปลูกสตรอเบอร์รี่พันธุ์ละ 10 ต้นต่อแปลง ปลูกในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2542 และบันทึกจำนวนไรในเดือน มกราคม - เมษายน พ.ศ. 2543 โดยทำการทดลองที่สถานีทดลองเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เก็บข้อมูลทุก ๆ 2 สัปดาห์ จำนวน 7 ครั้ง บันทึกจำนวนไรจากใบกลาง ของช่อใบที่ 3 นับจากยอด ต้นละ 1 ใบ จำนวน 10 ต้นต่อซ้ำ นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม SX 4.1 เมื่อกรรมวิธีของแต่ละตัวแปรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบตามวิธี Least Significant Difference (LSD)



ภาพ 12 แปลงปลูกสตรอเบอร์รี่การทดลองปริมาณไรสองจุดที่เข้าทำลายสตรอเบอร์รี่พันธุ์ต่าง ๆ ในสภาพแปลงปลูก

3.7 การศึกษาลักษณะของใบสตรอเบอร์รี่แต่ละพันธุ์

นำใบสตรอเบอร์รี่แต่ละพันธุ์มานับจำนวนและวัดความยาวของเส้นขนโดยตัดใบให้มีขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร แล้วนำมาส่องกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า พันธุ์ละ 10 ซ้ำ เพื่อนำไปเปรียบเทียบความหนาแน่นและความยาวของเส้นขนใต้ใบสตรอเบอร์รี่แต่ละพันธุ์ โดยใช้ใบกลางจากช่อใบที่ 3 นับใบละ 2 จุด ด้านข้างปลายใบ 1 ตำแหน่ง และ ด้านข้างฐานใบ 1 ตำแหน่ง (ภาพ 12) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยโปรแกรม SX 4.1 เมื่อกรรมวิธีของแต่ละตัวแปรมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นำค่าเฉลี่ยมาเปรียบเทียบตามวิธี Least Significant Difference (LSD)



ภาพ 13 ตำแหน่งที่ใช้ในการนับเส้นขนบนใบสตรอเบอร์รี่