

บทที่ ๓ วิธีการดำเนินการทดลอง

การทดลอง ศึกษาการใช้เชื้อราบิวเวอเรียและเชื้อราเมตาไรเซียมในการควบคุมแมลงศัตรู ผักกาดขาว วางแผนการทดลอง CRD (Completely Randomized Design) โดยมี ๔ กรรมวิธี ๗ ละ ๔ ซ้ำ ซ้ำละ ๓๐๐ ต้น โดยสำรวจต้นผักกาดขาวซ้ำละ ๒๐ ต้น พืชที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ ผักกาดขาวใหญ่

๓.๑ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

๓.๑.๑ อุปกรณ์การปลูกผักกาดขาว

- | | |
|--|--------------------------------|
| ๑. เครื่องวัด pH | ๒. แกลบดิบ |
| ๓. ปุ๋ยหมัก | ๔. บัวรดน้ำ |
| ๕. เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาว | ๖. ระบบน้ำสปริงเกอร์ |
| ๗. สายยาง | ๘. เชื้อราไตรโคเดอร์มาพร้อมใช้ |
| ๙. กระบอทดวง | ๑๐. จอบ/เสียม |
| ๑๑. ตลับเมตร | ๑๒. กะละมัง |
| ๑๓. เชือกฟาง | ๑๔. ตาชั่ง |
| ๑๕. เชื้อราบิวเวอเรียพร้อมใช้ | ๑๖. เชื้อราเมตาไรเซียมพร้อมใช้ |
| ๑๗. ปุ๋ยเคมี สูตร ๔๖ - ๐ - ๐ และ สูตร ๑๕ - ๑๕ - ๑๕ | |

๓.๒ วิธีการศึกษา

๓.๒.๑ การวางแผนการศึกษา

ดำเนินการทดลองในแปลงเรียนรู้ภายในศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตร ด้านอารักขาพืช จังหวัด นครราชสีมา วางแผนการทดลอง CRD (Completely Randomized Design) โดยมี ๔ กรรมวิธี ๗ ละ ๔ ซ้ำ ๗ ดังนี้

กรรมวิธีที่ ๑ = ไม่มีการฉีดพ่น

กรรมวิธีที่ ๒ = เชื้อราบิวเวอเรีย

กรรมวิธีที่ ๓ = เชื้อราเมตาไรเซียม

กรรมวิธีที่ ๔ = เชื้อราบิวเวอเรียและเชื้อราเมตาไรเซียม

กรรมวิธีที่ ๒ ฉีดพ่นเชื้อราบิวเวอเรีย ในอัตรา ๒๐๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร ฉีดพ่นทุกๆ ๕ วัน

กรรมวิธีที่ ๓ ฉีดพ่นเชื้อราเมตาไรเซียม ในอัตรา ๒๐๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร ฉีดพ่นทุกๆ ๕ วัน

กรรมวิธีที่ ๔ ฉีดพ่นเชื้อราบิวเวอเรีย ในอัตรา ๒๐๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร และเชื้อราเมตาไรเซียม ใน อัตรา ๒๐๐ กรัมต่อน้ำ ๒๐ ลิตร ฉีดพ่นทุกๆ ๕ วัน

๓.๓ ขั้นตอนการดำเนินงานและการปฏิบัติการสหกิจศึกษา

ขั้นตอนที่ ๑ การผลิตหัวเชื้อบิวเวอเรียและหัวเชื้อเมตาไรเซียมมี ๓ ขั้นตอน ได้แก่ การผลิตขยายหัวเชื้อจากอาหารวุ้น การผลิตขยายหัวเชื้อจากเมล็ดธัญพืช และการผลิตขยายเชื้อจากเมล็ดธัญพืช ซึ่งมีกระบวนการดังนี้

การผลิตหัวเชื้อบิวเวอเรีย

๑) การผลิตขยายหัวเชื้อจากอาหารวุ้น Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเก็บตัวอย่างแมลงที่ตายเพาะเชื้อราบิวเวอเรียหรือหัวเชื้อบิวเวอเรียนำมาเลี้ยงในวุ้นอาหาร (PDA) โดยต้องผ่านกระบวนการและวิธีการที่ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้ออื่นก่อน

๒) การผลิตขยายหัวเชื้อบนอาหารแข็ง (เมล็ดธัญพืช) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดอาหารวุ้น PDA ที่มีเชื้อบิวเวอเรียเจริญอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

๓) การผลิตขยายเชื้อราบิวเวอเรีย คือการนำเชื้อราบิวเวอเรียที่เจริญอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่างมาขยายต่อในเมล็ดข้าวฟ่าง

การผลิตหัวเชื้อเมตาไรเซียม

๑) การผลิตขยายหัวเชื้อจากอาหารวุ้น Potato Dextrose Agar (PDA) โดยเก็บตัวอย่างแมลงที่ตายเพาะเชื้อราเมตาไรเซียมหรือหัวเชื้อเมตาไรเซียมนำมาเลี้ยงในวุ้นอาหาร (PDA) โดยต้องผ่านกระบวนการและวิธีการที่ทำให้เชื้อบริสุทธิ์ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้ออื่นก่อน

๒) การผลิตขยายหัวเชื้อบนอาหารแข็ง (เมล็ดธัญพืช) โดยใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดอาหารวุ้น PDA ที่มีเชื้อเมตาไรเซียมเจริญอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

๓) การผลิตขยายเชื้อราเมตาไรเซียม คือ การนำเชื้อราเมตาไรเซียมที่เจริญอยู่ในเมล็ดข้าวฟ่างมาขยายต่อในเมล็ดข้าวฟ่าง

ขั้นตอนที่ ๒ วัสดุ-อุปกรณ์และวิธีการผลิตขยายเชื้อรา

๒.๑ วัสดุ-อุปกรณ์และวิธีการผลิตขยายเชื้อราบิวเวอเรีย

วัสดุ-อุปกรณ์

- | | |
|------------------------------|---------------------------------------|
| ๑. หม้อหุงข้าวไฟฟ้า | ๒. ทัพพีตักข้าว |
| ๓. ยางวง | ๔. เข็มฉีดยา เบอร์ ๑๘ |
| ๕. ไชริงค์พลาสติกขนาด ๕ ซีซี | ๖. ถังพลาสติกทึบร้อน ขนาด ๘x๑๒ นิ้ว |
| ๗. เครื่องชั่งน้ำหนัก | ๘. แอลกอฮอล์ ๙๕% |
| ๙. แอลกอฮอล์ ๗๐% | ๑๐. ตะเกียงแอลกอฮอล์ |
| ๑๒. กระจกฉีดยา | ๑๓. ข้าวสาร (แนะนำข้าวที่เก่าและแข็ง) |
| ๑๔. หัวเชื้อราบิวเวอเรีย | |

วิธีการผลิตขยายเชื้อราบิวเวอเรีย

๑. เทข้าวสารลงในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า ล้างน้ำให้สะอาด ๔ ครั้ง (ครั้งที่ ๔ ให้เหลือน้ำจากกันหม้อหุงข้าวประมาณ ๑ ซม.)

๒. นำไปหุง จับเวลา ๕ นาที คนข้าวให้เข้ากัน จับเวลาอีก ๕ นาที คนข้าวให้เข้ากัน พอข้าวสุกคนข้าวให้เข้ากันอีก ๑ ครั้ง

๓. ใช้แอลกอฮอล์ ๗๐% ใส่กระบอกล้างทำความสะอาดทัฟฟ์ที่ใช้ตัด ฉีดพ่นพื้นที่จุดที่วางถุงข้าวที่ตัด ฉีดพ่นมือของคนทำ ต้องเน้นเรื่องความสะดวก
๔. ตักข้าวใส่ถุงขณะร้อน ถุงละประมาณ ปริมาณ ๒๐๐ กรัม มัดปากถุงวางฝั่งให้ข้าวอุ่นหรือเย็นๆ
๕. นำตะเกียงแอลกอฮอล์ เต็มแอลกอฮอล์ ๙๕% สำหรับลนเข็มฉีดเชื้อ
๖. ใส่หัวเชื้อลงในถุงข้าว ประมาณ ๑ ซ้อนชา (ลนปากขวดก่อนและหลังเทหัวเชื้อทุกครั้ง) รัดปากถุงด้วยยางวง เขย่าให้เข้ากัน
๗. ลนเข็มฉีดยา เจาะรูประมาณ ๖๐-๑๒๐ รู ห่างจากยางวงประมาณ ๑ นิ้ว วางบ่มในห้องอุณหภูมิห้องปกติ
๘. นำไปบ่มในที่ร่มไม่โดนแสงแดด บริเวณที่มีอากาศถ่ายเทได้ดีอุณหภูมิต่ำประมาณ ๒๕ องศาเซลเซียส แต่ไม่เกิน ๓๕ องศาเซลเซียสเป็นเวลา ๖ - ๗ วัน (ระหว่างที่บ่ม ขยำเพื่อตัดสั้นใยทุก ๓ วัน)
๙. นำเชื้อราบิวเวอเรียที่ได้ไปใช้ทันที หรือเก็บในตู้เย็นช่องธรรมดาได้ไม่เกิน ๑๔ วัน

๒.๒ วัสดุ-อุปกรณ์และวิธีการผลิตขยายเชื้อราเมตาไรเซียม

วัสดุ-อุปกรณ์

- | | |
|---------------------------|---------------------------------------|
| ๑. หม้อหุงข้าวไฟฟ้า | ๒. ทัฟฟ์ตัดข้าว |
| ๓. ยางวง | ๔. เข็มฉีดยา เบอร์ ๑๘ |
| ๕. ไม้พาย | ๖. ถุงพลาสติกทนร้อน ขนาด ๘x๑๒ นิ้ว |
| ๗. แอลกอฮอล์ ๗๐% | ๘. แอลกอฮอล์ ๙๕% |
| ๙. กระบอกล้างน้ำ | ๑๐. ตะเกียงแอลกอฮอล์ |
| ๑๑. หัวเชื้อราเมตาไรเซียม | ๑๒. ข้าวสาร (แนะนำข้าวที่เก่าและแข็ง) |

ขั้นตอนการผลิต

๑. เทข้าวสารลงในหม้อหุงข้าวไฟฟ้า ล้างน้ำให้สะอาด ๔ ครั้ง (ครั้งที่ ๔ ให้เหลือน้ำจากกันหม้อหุงข้าวประมาณ ๑ ซม.)
๒. นำไปหุง จับเวลา ๕ นาที คนข้าวให้เข้ากัน จับเวลาอีก ๕ นาที คนข้าวให้เข้ากัน พอข้าวสุกคนข้าวให้เข้ากันอีก ๑ ครั้ง
๓. ใช้แอลกอฮอล์ ๗๐% ใส่กระบอกล้างทำความสะอาดทัฟฟ์ที่ใช้ตัด ฉีดพ่นพื้นที่จุดที่วางถุงข้าวที่ตัด ฉีดพ่นมือของคนทำ ต้องเน้นเรื่องความสะดวก
๔. ตักข้าวใส่ถุงขณะร้อน ถุงละประมาณ ปริมาณ ๒๐๐ กรัม แล้วใส่คอขวดแล้วยึดด้วยลวดให้แน่น จากนั้นวางฝั่งให้ข้าวอุ่นหรือเย็นๆ
๕. นำถุงข้าวที่เย็นแล้วไปเข้าตู้เย็นประมาณ ๒๐ นาที
๖. ใส่หัวเชื้อลงในถุงข้าว ประมาณ ๑ ซ้อนชา (ลนปากขวดก่อนและหลังเทหัวเชื้อทุกครั้ง) แล้วปิดด้วยลวด เขย่าให้เข้ากัน วางบ่มในห้องอุณหภูมิห้องปกติ

๗. นำไปบ่มในที่ร่มไม่โดนแสงแดด บริเวณที่มีอากาศถ่ายเทได้ดีอุณหภูมิต่ำ ประมาณ ๒๕ องศาเซลเซียส แต่ไม่เกิน ๓๕ องศาเซลเซียสเป็นเวลา ๖ - ๗ วัน (ระหว่างที่บ่ม ขยำ เพื่อตัดสั้นใยทุก๓ วัน)

๘. นำเชื้อราเมตาโรเซียมที่ได้ไปใช้ทันที หรือเก็บในตู้เย็นช่องธรรมดาได้ไม่เกิน ๑๔ วัน

(ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดนครราชสีมา , ม.ป.ป.)

๓.๓.๑ การปลูก

๑. เตรียมแปลงปลูกผักกาดขาวโดยการไถ ๒ ครั้ง
๒. ขึ้นแปลงปลูกผักกาดขาว ขนาดกว้าง x ยาว = ๑ x ๓ เมตร จำนวน ๑๖ แปลง
๓. เตรียมส่วนผสมเพื่อรองพื้นในแปลงปลูกผักกาดขาวโดยใช้เชื้อราไตรโคเดอร์มา รำละเอียด และปุ๋ยหมัก อัตราส่วน ๑ : ๔ : ๑๐๐ ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน นำส่วนผสมที่ได้หว่านลงในแปลง ๆ ละ ๓ กิโลกรัม ผสมคลุกเคล้าลงดินให้เข้ากัน
๔. โรยแกลบดิบ ๖ กิโลกรัมต่อแปลง
๕. คลุมฟางข้าวทุกแปลง
๖. นำเมล็ดผักกาดขาวหยอดลงปลูกรวม ๑๖ แปลง ระยะปลูก ๑๐ x ๓๐ เซนติเมตร รดน้ำให้ชุ่ม
๗. การปฏิบัติดูแลรักษา เช่น รดน้ำ ใส่ปุ๋ยเคมี กำจัดวัชพืช
๘. การเก็บเกี่ยว เมื่ออายุ ๔๐ วัน ซึ่งเป็นระยะที่ผักกาดขาวโตเต็มที่ได้น้ำหนักดี เก็บในเวลาเช้าจะช่วยลดการสูญเสียน้ำในผักกาดขาว

๓.๓.๒ การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลโดยการ วัดความสูง จำนวนใบ ร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง จำนวนแมลง และน้ำหนักสดค่น้ำ เก็บข้อมูลอาทิตย์ละ ๒ ครั้งคือ วันอังคารและวันศุกร์ เก็บข้อมูลในช่วงเวลา ๐๖.๐๐ - ๐๗.๓๐ น ทำการเก็บข้อมูล ๑๑ ครั้ง

๓.๔ การเก็บรวบรวมข้อมูล

สำรวจแปลงพร้อมเก็บข้อมูลผักกาดขาวทุกวันอังคารและวันศุกร์เวลา ๐๖.๐๐ - ๐๗.๓๐ น. จำนวน ๑๑ ครั้ง โดยเก็บข้อมูลต่าง ๆ ดังนี้

๑. ความสูงของต้น
๒. จำนวนใบ
๓. ร่องรอยการเข้าทำลายของแมลง
๔. จำนวนแมลงที่พบ สำรวจและเก็บข้อมูล
๕. น้ำหนักของผลผลิตค่น้ำสด (วันที่เก็บเกี่ยว)

ตารางที่ ๑ การสำรวจแปลงผักกาดขาว

ครั้งที่	วันที่
๑	๓ มกราคม ๒๕๖๓
๒	๗ มกราคม ๒๕๖๓
๓	๑๐ มกราคม ๒๕๖๓
๔	๑๔ มกราคม ๒๕๖๓
๕	๑๗ มกราคม ๒๕๖๓
๖	๒๑ มกราคม ๒๕๖๓
๗	๒๔ มกราคม ๒๕๖๓
๘	๒๘ มกราคม ๒๕๖๓
๙	๓๑ มกราคม ๒๕๖๓
๑๐	๔ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๓
๑๑	๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๓

๓.๕ การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ผลทางสถิติที่ใช้ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างกรรมวิธี โดยใช้ค่า Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

๓.๖ สถานที่ดำเนินการทดลอง

ดำเนินการศึกษาภายในแปลงเรียนรู้ ศูนย์ส่งเสริมเทคโนโลยีการเกษตรด้านอารักขาพืช จังหวัดนครราชสีมา เลขที่ ๔๙๐ หมู่ ๑๐ ตำบลโคกกรวด อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา

๓.๗ ระยะเวลาการวิจัย

ตั้งแต่วันที่ ๒๖ ธันวาคม ๒๕๖๒ - วันที่ ๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๖๓