บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ขั้นตอนการศึกษาชนิดของศัตรูแคคตัสในเขตอำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี

ลงพื้นที่ปลูกแคคตัสในเขตอำเภอเมือง จังหวัดจันทบุรี ทำการเก็บข้อมูลศัตรูพืชในแคคตัส (โรค แมลง ไร สัตว์ศัตรูพืช) เดือนละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 5 เดือน นำตัวอย่างศัตรูแคคตัสที่เก็บได้เข้าห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณีเพื่อจัดจำแนกชนิด ตามวิธีของ มยุรา สุนย์วีระ (2560) ทำการบันทึกชนิดของศัตรูพืช และชนิดของแคคตัสที่ถูกเข้าทำลาย

3.2 ขั้นตอนการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากพืช 5 ชนิด คือกระวาน กุหลาบ ตะไคร้ เร่ว และสาบเสือ และสารชีวภัณฑ์ 2 ชนิดคือบิวเวอร์เรีย และเมธาไรเซียม ในการควบคุมเพลี้ยหอยแคคตัส

3.2.1 การเตรียมสารสกัด

นำส่วนของพืชที่นำมาสกัดน้ำมันหอมระเหย ได้แก่ หน่อกระวาน ดอกกุหลาบ เหง้าตะไคร้ เหง้าเร่ว และใบสาบเสือมาทำความสะอาดโดยการล้างน้ำ และนำไปผึ่งให้แห้ง และนำไปสกัดน้ำมันหอมระเหยด้วยเครื่องกลั่นไอน้ำ หลังจากนั้นทำการปรับความเข้มข้นเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2 ขั้นตอนการเลี้ยงเพลี้ยหอยชนิด *Diaspis echinocacti*

ขั้นตอนการเลี้ยงทำการประยุกต์ตามวิธีของ ชุลีรัตน์ รังสรรค์ ปิยะวรรณ สุทธิประพันธ์ และเยาวลักษณ์ จันทร์บาง (2559) โดยการเก็บโดยการตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยจากต้นแคคตัสสายพันธุ์ปราสาทนางฟ้ายักษ์ บริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี มาวางบริเวณต้นเสมา เพลี้ยหอยทำการวางไข่ โดยตัวอ่อนจะมีการเคลื่อนย้ายมาที่ต้นเสมา หลังจากนั้นนำตัวเพลี้ยหอยที่ต้นเสมา มาศึกษาประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยต่อการตายของเพลี้ยหอย

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำมันหอมระเหยที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการตายของเพลี้ยหอย *D. echinocacti* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ทำการทดลองด้วยการประยุกต์ใช้วิธีการ Filter paper contact (Yang *et al*., 2004) วางแผนการทดลองแบบ CRD ประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยจากพืช 5 ชนิดคือกระวาน กุหลาบ ตะไคร้ เร่ว และสาบเสือ ความเข้มข้น 2.55 และ 5.10 µg/cm^2 ส่วน Negative control คือน้ำกลั่น Positive control คือ Imidacoprid 10% w/v ในแต่ละสิ่งทดลองมี 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้หน่วยทดลองใช้เพลี้ยหอย 10 ตัว เริ่มทำการทดลองโดยใช้ คือ Imidacoprid 10% w/Autopipet หยดสิ่งทดลองความเข้มข้น 2.55 µg/cm^2 และ 5.10 µg/cm^2 ใส่กระดาษกรอง Whatman® No1 ที่วางอยู่ในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5.0 ซม. สูง 1.2 ซม. จากนั้นใช้พู่กันทำการเขี่ยเพลี้ยหอยด้วยความความระมัดระวังจำนวน 10 ตัวลงกระดาษทดลอง หลังหยดสารแล้วเริ่มทำการบันทึกการตายของเพลี้ยหอยในเวลา 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาที ทำการย้ายเพลี้ยหอย ใส่จานทดลองใหม่ที่รองด้วยกระดาษกรองและตรวจสอบการตายของเพลี้ยหอยที่เวลา 5, 10 15, 30, 60 และ 120

นาที ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ โดยดูการเคลื่อนไหวของขา หนวด ถ้าไม่เคลื่อนไหวให้บันทึกว่าตาย จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ผลตามแผนการทดลองที่วางไว้ และหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย DMRT หาค่า LT_{50}

หมายเหตุ : แบบเสนอโครงการวิจัยผู้วิจัยทำการบันทึกการตายที่เวลา 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาที และพบว่าน้ำมันหอมระเหยจากพืชทุกชนิดส่งผลทำให้เพลี้ยหอยตาย 100 เปอร์เซ็นต์หลังการทดลองที่ 5 นาที ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการทดลองเพิ่มโดยการทำการบันทึกการตายที่เวลา 10, 30, 60, 90, 120 และ 180 วินาที

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี