

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การส่งตัวอย่างช่อใบลำไยหจกและช่อใบลำไยดีเพื่อนำไปแยกสารสกัด

เก็บช่อใบลำไยที่แสดงอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาดและช่อใบลำไยปกติมาล้างฝุ่นออกผึ่งให้แห้งจากนั้นส่งตัวอย่างไปทำการแยกสารละลายสกัดหยาบ โดยได้รับความอนุเคราะห์จาก ดร. จินดา เต็มบรรจง ภาควิชาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ ฯ เป็นผู้ดำเนินการสกัดสารจากช่อใบหจก โดยการแช่ใบลำไยแต่ละชนิดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน (hexane) เอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) และเอทานอล (ethanol) กรอง ทำ 2 ครั้ง จากนั้นระเหยตัวทำละลายออกเหลือประมาณ 500 มิลลิลิตร นำสารละลายสกัดหยาบ 6 สารละลายไปสกัดด้วยสารละลายกรดเบส แล้วนำมาศึกษาองค์ประกอบของสารละลายสกัดหยาบขั้นต้นโดยใช้เทคนิค Thin Layer Chromatography (TLC) สารสกัดหยาบส่วนหนึ่งได้นำมาทดสอบกับต้นกล้าลำไยในห้องปฏิบัติการภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อพิสูจน์สาเหตุที่ทำให้เกิดอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาด

3.2 การพิสูจน์สาเหตุที่ทำให้เกิดอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาด

ทำการพิสูจน์สาเหตุที่ทำให้เกิดอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาด โดยใช้สารสกัดหยาบจากช่อใบลำไยที่แสดงอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาด และปล่อยไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

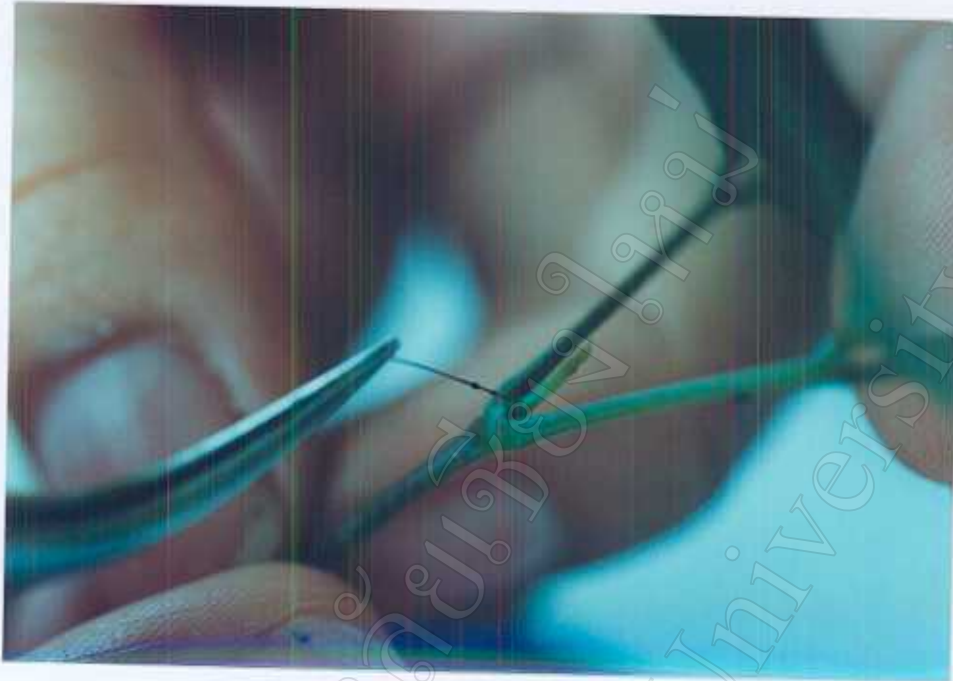
การทดสอบสารสกัดจากช่อใบลำไยที่แสดงอาการหจกกับต้นกล้าลำไย

ในใบลำไยที่แสดงอาการหจกอาจมีสารพิษของไรหรือสารพิษของเชื้อโรคไฟโตพลาสมา จึงได้ทดสอบนำสารสกัดจากช่อใบลำไยที่แสดงอาการหจกเป็นพุ่มไม้กวาดกับต้นกล้าลำไย โดยนำเมล็ดลำไยพันธุ์เบ็ญเขียวมาล้างให้สะอาด จากนั้นเพาะเมล็ดลำไยลงในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อจนกระทั่งต้นกล้าลำไยมีอายุได้ 13 วัน จนถึง 1 เดือน ย้ายต้นกล้าลำไยลงกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร จึงนำต้นกล้าลำไยมาทดสอบกับสารสกัดต่าง ๆ ด้วยวิธีการดังนี้

วิธีการที่ 1. การทดสอบสารสกัดโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงลงลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียว นำสารละลายที่สกัดจากใบลำไยที่แสดงอาการพุ่มไม้กวาดและใบลำไยปกติมาจำนวน 6 ชนิด มาทดลองโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) จุ่มสารสกัดแต่ละชนิดแล้วแทงลงบนยอดของต้นกล้า ลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียวจำนวน 10 ครั้งต่อต้น และ 20 ครั้งต่อต้น จำนวนสารละ 5 ชั่ว โดยใช้ชุดควบคุม 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัด และชุดที่ 2 ปล่อยไรจำนวน 10 ตัวต่อต้น เป็นจำนวน 10 ต้น เพื่อใช้ตรวจอาการหงิก สารสกัดมี 6 ชนิดด้วยกัน คือ

1. สารละลายสกัดหยาบเฮกเซนจากใบคิ คือ สารที่สกัดจากลำไยใบคิที่แช่ใน hexane (HN)
2. สารละลายสกัดหยาบเฮกเซนจากใบหงิก คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหงิกที่แช่ใน hexane (HA)
3. สารละลายสกัดหยาบเอทิลอะซีเตทจากใบคิ คือ สารที่สกัดจากลำไยใบคิที่แช่ใน CHCl_3 (CN)
4. สารละลายสกัดหยาบเอทิลอะซีเตทจากใบหงิก คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหงิกที่แช่ CHCl_3 (CA)
5. สารละลายสกัดหยาบเอทานอลจากใบคิ คือ สารที่สกัดจากลำไยใบคิที่แช่ใน ETOH (EN)
6. สารละลายสกัดหยาบเอทานอลจากใบหงิก คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหงิกที่แช่ใน ETOH (EA)

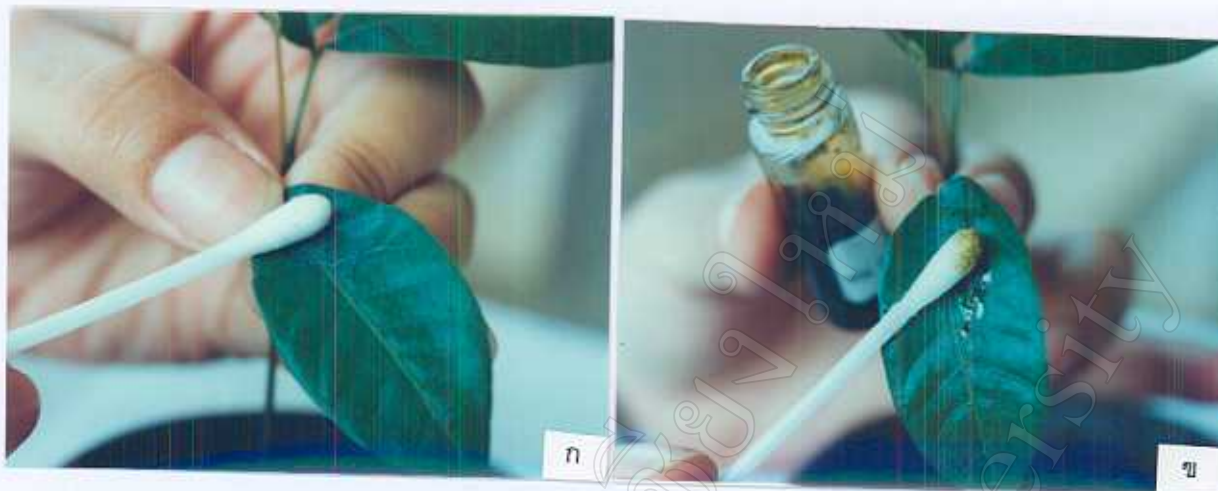
วิธีการที่ 2. การทดสอบสารสกัดโดยใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงลงลำไยพันธุ์ต่าง ๆ นำต้นกล้าลำไยพันธุ์ค้อ พันธุ์เบ็ญจเขียวและพันธุ์ชมพู อายุประมาณ 1 เดือน มาทดสอบกับ สารสกัด 6 ชนิด ซึ่งเป็นชุดเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยใช้ปากคีบเข็มขนาดเล็ก (micropin) แล้วจุ่ม สารสกัดแทงลงบนยอดของต้นกล้าลำไย 20 ครั้งต่อต้น จำนวนสารละ 5 ต้น ดังแสดงในภาพที่ 3 โดยใช้ชุดควบคุม 2 ชุด ชุดที่ 1 ใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดและชุดที่ 2 ปล่อยไรจำนวน 10 ตัวต่อต้น ทั้งหมด 10 ต้นต่อพันธุ์ ซึ่งจะใช้ต้นกล้าลำไยรวมทั้งหมด 45 ต้นต่อพันธุ์



ภาพที่ 3. วิธีการใช้เข็มขนาดเล็ก (micro-pin) แทะลงบนยอดของคั่นกล้าลำไย

วิธีการที่ 3. การใช้คาร์โบรันดัมทำให้เกิดแผลบนใบลำไยก่อนทาสารสกัดลงบนแผลนั้น

นำคั่นกล้าลำไยอายุ 17 วัน มาทดสอบกับสารสกัดจำนวน 6 ชนิด ซึ่งเป็นสารชุดเดียวกับ การทดลองที่ 1 โดยการใช้คาร์โบรันดัม (ผง Silicon carbide มีส่วนประกอบคือถ่านกับทรายที่มีความละเอียด 500-600 mesh ซึ่งช่วยให้เกิดแผลบนใบพืช และสามารถทำให้สารสกัดเข้าไปภายใน เซลล์พืชได้สะดวกโดยที่ขบวนการต่าง ๆ ของพืชดำเนินไปตามปกติ) ทาบนใบลำไยดังภาพที่ 4 (ก) จากนั้นใช้สำลีชุบสารสกัด 6 ชนิดทาลงบนใบลำไยบริเวณแผล จำนวนสารละ 5 คั่นดังแสดงในภาพ ที่ 4 (ข) โดยใช้น้ำเปล่าเป็นชุดควบคุมจากนั้นนำคั่นกล้าลำไยไปเลี้ยงไว้ในโรงตาข่าย สังเกตการ เปลี่ยนแปลงของคั่นกล้าลำไยทุกสัปดาห์



ภาพที่ 4. วิธีการใช้คาร์โบรันคัมทาบบริเวณใบลำไยเพื่อให้เกิดแผล (ก) แล้วทาด้วยสารสกัด จนครบ
ทั้ง 6 ชนิด (ข)

วิธีการที่ 4. การฉีดสารสกัดและน้ำคั้นจากช่อหึงลงบนต้นกล้าลำไย

4.1) นำสารสกัดจากใบลำไย 6 ชนิด ชุคเกี่ยวกับการทดลองที่ 1 มาผสมกับ acetone 1 มิลลิลิตร ซึ่งจะได้น้ำหนักของสารสกัดดังต่อไปนี้

1. สารละลายสกัดหยาบเฮกเซนจากใบดี คือ สารที่สกัดจากลำไยใบดีที่แช่ใน hexane (HN) 0.039 กรัม
2. สารละลายสกัดหยาบเฮกเซนจากใบหึง คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหึงที่แช่ใน hexane (HA) 0.037 กรัม
3. สารละลายสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากใบดี คือ สารที่สกัดจากลำไยใบดีที่แช่ใน CHCl_3 (CN) 0.034 กรัม
4. สารละลายสกัดหยาบเอทิลอะซิเตทจากใบหึง คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหึงที่แช่ใน CHCl_3 (CA) 0.037 กรัม
5. สารละลายสกัดหยาบเอทานอลจากใบดี คือ สารที่สกัดจากลำไยใบดีที่แช่ใน ETOH (EN) 0.035 กรัม
6. สารละลายสกัดหยาบเอทานอลจากใบหึง คือ สารที่สกัดจากลำไยใบหึงที่แช่ใน ETOH (EA) 0.037 กรัม

ฉีดสารละลายสกัด 6 ชนิดลงบนยอดของต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียวอายุ 13 วัน ด้วยเครื่องฉีด (microapplicator) ปริมาตร 1 ไมโครลิตรต่อต้น ดังแสดงในภาพที่ 5 และใช้ชุดควบคุม 2 ชุดคือ ชุดที่ 1 ฉีดด้วยน้ำกลั่น และชุดที่ 2 ปล่อยไรงานวน 10 ตัวต่อต้น ทุกกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ



ภาพที่ 5. วิธีการฉีดสารสกัดลงบนต้นกล้าลำไยด้วยเครื่อง microapplicator

4.2) ฉีดสารจากน้ำคั้นช่อใบและช่อดอกสดที่แสดงอาการหงิกงอลงบนต้นกล้าลำไย

นำช่อใบและช่อดอกสดจากต้นกล้าลำไยที่แสดงอาการหงิกงอลงในโถรงบดสารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยใช้ช่อใบและช่อดอกหงิกอย่างละ 5 กรัม ผสม acetone 1 มิลลิลิตร กรองเอาน้ำที่ได้มาฉีดลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียวอายุ 13 วัน ด้วยเครื่องฉีด (microapplicator)

วิธีการที่ 5. การทดสอบการใช้น้ำคั้นสด (sap) จากต้นหงิกฉีดลงบนต้นกล้าลำไย

ใช้น้ำคั้นสดจากต้นหงิกฉีด (inject) ลงบนต้นกล้าลำไย ด้วยการนำช่อใบหงิก และดอกหงิกของต้นกล้าลำไยที่แสดงอาการพุ่มไม้กวาดอย่างละ 5 กรัม มาบดลงในโถรงบดสารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยผสมน้ำกลั่นดังภาพที่ 6 จากนั้นฉีดสารสกัดน้ำคั้นที่ได้ลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียว

วิธีการที่ 5. การทดสอบการใช้น้ำคั้นสด (sap) จากต้นหจิกฉีดลงบนต้นกล้าลำไย

ใช้น้ำคั้นสดจากต้นหจิกฉีด (inject) ลงบนต้นกล้าลำไย ด้วยการนำช่อใบหจิก และดอกหจิก ของต้นกล้าลำไยที่แสดงอาการพุ่มไม้กวาดอย่างละ 5 กรัม มาบดลงในโถรงบดสารที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้ว โดยผสมน้ำกลั่นดังภาพที่ 6 จากนั้นฉีดสารสกัดน้ำคั้นที่ได้ลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เขียวเขียว อายุ 40 วัน ด้วยเครื่อง microapplicator ใช้หัวขนาดเล็กจำนวนต้นละ 1 ไมโครลิตร ทำทั้งหมด 15 ต้นโดยปล่อยไร่จำนวน 10 ตัวต่อต้น เพื่อใช้บันทึกผล



ภาพที่ 6. การใช้โถรงบดสารบดช่อใบและช่อดอกหจิก

วิธีการที่ 6. การทดสอบการใช้น้ำคั้นจากปุ้มปม ฉีดลงบนต้นกล้าลำไย

นำปุ้มปม บนช่อใบลำไยพันธุ์เขียวเขียวดังภาพที่ 7 มาบดด้วยโถรงบดสารจำนวน 5 กรัม ผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร กรองเอาน้ำที่ได้มาฉีดลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เขียวเขียวอายุ 21 วัน ด้วย เครื่อง microapplicator ต้นละ 1 ไมโครลิตร จำนวน 20 ต้น ใช้ชุดควบคุม 2 ชุด ชุดที่ 1 ฉีดด้วย น้ำกลั่น จำนวน 20 ต้น และชุดที่ 2 ปล่อยไร่จำนวน 10 ตัวต่อต้นทั้งหมด 10 ต้น



ภาพที่ 7. แสดงปุ่มปม ของช่อใบลำไยที่เกิดจากการเข้าทำลายของไร

วิธีการที่ 7. การทดสอบฉีดสารละลายไรบดลงบนต้นกล้าลำไย

การทดลองฉีด (inject) สารละลายไรบดในแอลกอฮอล์ และสารละลายไรบดในน้ำกลั่นลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เขียวเขียวอายุ 44 วัน (ไรอาจปล่อยสารพิษหลังจากที่บดไรลงในสารละลาย) โดยทำการเขี่ยไรจากช่อใบลำไยที่แสดงอาการพุ่มแจ้ จำนวน 1,000 ตัวบดลงน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร และเขี่ยไรจำนวน 1,000 ตัวบดลงในแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตรดังภาพที่ 8 นำสารละลายที่ได้ฉีดลงบนต้นกล้าลำไยด้วยเครื่อง microapplicator ต้นละ 1 ไมโครลิตร ชุดควบคุมฉีดด้วยน้ำกลั่น และแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนกรรมวิธีละ 12 ต้น และปล่อยไร 10 ตัวต่อต้น จำนวน 12 ต้น



ภาพที่ 8. การเขี่ยโรลแล้วบดลงในแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

วิธีการที่ 8. การทดสอบฉีดจากสารสกัดจำนวน 4 ชนิด ลงบนต้นกล้าลำไย

นำสารสกัดจากพืชครั้งที่ 3 จำนวน 4 ชนิดคือ

1. EN-phenolic acid คือ phenolic acid ที่สกัดได้จากส่วน crude ของ ethanol จากลำไยใบคี่ 98 มิลลิกรัม
2. EA-phenolic acid คือ phenolic acid ที่สกัดได้จากส่วน crude ของ ethanol จากลำไยใบหงิก 96 มิลลิกรัม
3. HN-phenolic acid คือ phenolic acid ที่สกัดได้จากส่วน crude ของ hexane จากลำไยใบคี่ 35 มิลลิกรัม
4. HA-phenolic acid คือ phenolic acid ที่สกัดได้จากส่วน crude ของ hexane จากลำไยใบหงิก 91 มิลลิกรัม

นำสารทั้ง 4 ชนิดละลายในแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนสารละ 1 มิลลิลิตร แล้วฉีดลงบนต้นกล้าลำไยอายุ 13 วัน ด้วยเครื่องฉีด microapplicator จำนวนต้นละ 1 ไมโครลิตร รวมทั้งหมดสารละ 6 ต้นสำหรับชุดควบคุมฉีดด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 4 ต้น และปล่อยไว้ 20 ตัวต่อต้นจำนวน 4 ต้น บันทึกผลทุก 1 สัปดาห์

วิธีการที่ 9. การทดลองไรบดลงบนยอดต้นกล้าลำไย

เตรียมต้นกล้าลำไยพันธุ์เขียวเขียวอายุประมาณ 2 เดือน และ 6 เดือน มาทดลองโดยการใส่เข็มเขียวขนาดเล็ก (micropin) เขี่ยไรจากข้อใบลำไยที่แสดงอาการพุ่มไม้กวาดแล้วบดตัวไรลงบนยอดให้ตัวแตก จากนั้นจึงใช้เข็มแทงบริเวณที่บดไว้เพื่อให้ของเหลวในตัวไรซึมเข้าตามรอยแผลบริเวณยอดของต้นกล้าลำไยโดยทำการบดตัวไรแล้วแทงลงบนยอดทั้งหมด 3 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์ ดังต่อไปนี้

-ต้นกล้าลำไยอายุ 2 เดือน บดตัวไรแล้วใช้เข็มแทงลงบนยอด 50 ตัวต่อต้นต่อ 1 ครั้ง จำนวน 15 ต้น ชุดควบคุมปล่อยไร 50 ตัวต่อต้น จำนวน 15 ต้น

-ต้นกล้าลำไยอายุ 6 เดือน บดตัวไรแล้วใช้เข็มแทงลงบนยอด 50 ตัวต่อต้นต่อ 1 ครั้ง จำนวน 12 ต้น ชุดควบคุม ปล่อยไร 50 ตัวต่อต้น จำนวน 12 ต้น

วิธีการที่ 10. การพ่นสารสกัด 6 ชนิดลงบนต้นกล้าลำไย

พ่นสารสกัด 6 ชนิดด้วยเครื่อง machine atomizer (air brush) ลงบนต้นกล้าลำไยพันธุ์เขียวเขียวอายุ 19 วัน คังภาพที่ 9 โดยนำสารสกัดที่ได้มาละลายด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการพ่นสารจำนวนต้นละ 0.1 มิลลิลิตร มีชุดควบคุม 2 ชุด ชุดที่ 1 พ่นด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ และชุดที่ 2 ปล่อยไร 20 ตัวต่อต้น ทำทั้งหมดอย่างละ 10 ซ้ำ โดยทำการพ่นทุกสารติดต่อกันเป็นเวลา 2 วัน วันละ 3 ครั้ง โดยใช้สารสกัด 6 ชนิดดังต่อไปนี้

1. สาร No.1 สารละลายได้จากสาร EN-neutral ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 มิลลิลิตร
2. สาร No.2 สารละลายได้จากสาร EN-phenolic ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 มิลลิลิตร
3. สาร No.3 สารละลายได้จากสาร EA-phenolic ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 มิลลิลิตร
4. สาร No.4 สารละลายได้จากสาร HN-phenolic ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 มิลลิลิตร
5. สาร No.5 สารละลายได้จากสาร EA-neutral ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 8 มิลลิลิตร
6. สาร No.6 สารละลายได้จากสาร HA-phenolic ด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 6 มิลลิลิตร



ภาพที่ 9. วิธีการพ่นสารสกัดด้วยเครื่อง machine atomizer ลงบนต้นกล้าลำไย

วิธีการที่ 11. การพ่นสารสกัด EA-phe 3 ลงบนต้นกล้าลำไย

นำสารสกัด EA-phe 3 ซึ่งเป็นสารประกอบประเภทฟีนอล (phenol) โดยเป็นสารสกัดหยาบของ ethanol:acetone 1:1 จากใบลำไยหึง นำมาเจือจางด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 20 มิลลิลิตรจากนั้นพ่นด้วยเครื่องพ่น machine atomizer บนต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญจเขียวอายุ 16 วัน จำนวน ต้นละ 0.1 มิลลิลิตร ทั้งหมด 25 ต้น โดยพ่นวันละ 3 ครั้ง จำนวน 7 ครั้ง จนหมดสาร สำหรับชุดควบคุมพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 10 ต้น และปล่อยไร 25 ตัวต่อต้น จำนวน 12 ต้น

จากการทดลองทดสอบสารสกัดจากต้นลำไยที่แสดงอาการหึงด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ ได้สรุปวิธีการทดสอบสารสกัดจากต้นหึง และต้นดี และการปล่อยไรไว้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2. สรุปการทดลองสารสกัดจากต้นหูกและต้นดี และการปล่อยไร

การทดลอง	วันที่ทดลอง	วิธีการทดลอง	จำนวนต้นทดลอง
1.	23 มีนาคม 2543	Micropin+ สารสกัด 6 ชนิด+พันธุ์คอ	35
		Micropin+ น้ำกลั่น+พันธุ์คอ	5
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์คอ	10
2.	25 มีนาคม 2543	Micropin+ สารสกัด 6 ชนิด+พันธุ์คอ	35
		Micropin+ น้ำกลั่น+พันธุ์คอ	5
		Micropin+ สารสกัด+พันธุ์เบี้ยวเขียว	35
		Micropin+ น้ำกลั่น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	5
		Micropin+ สารสกัด+พันธุ์ชมพู	35
		Micropin+ น้ำกลั่น+พันธุ์ชมพู	5
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์คอ	10
ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	10		
ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์ชมพู	10		
3.	27 มีนาคม 2543	คาร์โบรันคัม+สารสกัด 6 ชนิด+พันธุ์คอ	35
		คาร์โบรันคัม+น้ำกลั่น+พันธุ์คอ	5
4.	21 เมษายน 2543	microapplicator+สารสกัด 6 ชนิด+พันธุ์เบี้ยวเขียว	24
		microapplicator+น้ำคั้น ใบหูก(sap)+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
		microapplicator+น้ำคั้นดอกหูก(sap)+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
		microapplicator+น้ำกลั่น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
		microapplicator+acetone+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
5.	21 เมษายน 2543	microapplicator+น้ำคั้น ใบหูก(sap)+พันธุ์เบี้ยวเขียว	15
		microapplicator+น้ำคั้นดอกหูก(sap)+พันธุ์เบี้ยวเขียว	15
		microapplicator+น้ำกลั่น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	15
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	15
6.	29 เมษายน 2543	microapplicator+น้ำคั้นปุ่มปมบด+พันธุ์เบี้ยวเขียว	20
		microapplicator+น้ำกลั่น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	20
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	10

ตารางที่ 2. (ต่อ)

การทดลอง	วันที่ทดลอง	วิธีการทดลอง	จำนวน ต้น ทดลอง
7.	9 มิถุนายน 2543	microapplicator+ไรคองในน้ำกลั่น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	12
		microapplicator+ไรคองในแอลกอฮอล์ 50%+พันธุ์เบี้ยวเขียว	12
		microapplicator+แอลกอฮอล์ 50 %+พันธุ์เบี้ยวเขียว	12
		ปล่อยไร 10 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	12
8.	19 สิงหาคม 2543	Microapplicator+สารสกัด 4 ชนิด+พันธุ์เบี้ยวเขียว	24
		Microapplicator+แอลกอฮอล์ 50%+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
		ปล่อยไร 20 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	4
9.	1 พฤศจิกายน 2543	บดไรลงบนยอดแล้วใช้เข็มแทงบริเวณที่บดไร ครั้งละ 50 ตัว+พันธุ์ เบี้ยวเขียว จำนวน 3 ครั้งห่างกัน 1 สัปดาห์	
		-ลำไยอายุ 2 เดือน	15
		-ลำไยอายุ 6 เดือน	12
		ปล่อยไร 50 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	
		-ลำไยอายุ 2 เดือน	15
		-ลำไยอายุ 6 เดือน	12
10.	31 มกราคม 2544	Machine atomizer+สารสกัด 6 ชนิด+พันธุ์เบี้ยวเขียววันละ 3 ครั้ง จำนวน 2 วัน	72
		Machine atomizer+แอลกอฮอล์ 50%+พันธุ์เบี้ยวเขียววันละ 3 ครั้ง จำนวน 2 วัน	12
		ปล่อยไร 30 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	10
11.	15 มีนาคม 2544	Machine atomizer+สารสกัด EA+พันธุ์เบี้ยวเขียว พ่นวันละ 3 ครั้ง	25
		Machine atomizer+แอลกอฮอล์ 50%+พันธุ์เบี้ยวเขียว พ่นวันละ 3 ครั้ง	10
		ปล่อยไร 25 ตัว/ต้น+พันธุ์เบี้ยวเขียว	12

3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการฟักไข่ และอัตราการอยู่รอดของไรและจำนวนยอดที่แสดงอาการหงิกบนลำไยพันธุ์ต่าง ๆ

3.3.1 ผลของอุณหภูมิต่าง ๆ ที่มีผลต่อการฟักไข่ของไร

นำต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญเขียว พันธุ์แก้ว พันธุ์ค้อ และพันธุ์ชมพู อายุ 14 วัน จำนวนพันธุ์ละ 6 ต้น ตัดใบออกจนเหลือแต่ยอดอ่อน จากนั้นแช่ไรภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอไมโครสโคปที่กำลังขยาย 40 เท่า ด้วยเข็มแช่ที่ทำจากขนตามนุษย์ จำนวน 20 ตัวต่อต้น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เพื่อให้ไรวางไข่ จากนั้นแช่ตัวเต็มวัยออกจนหมดแล้วนำต้นกล้าลำไยเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 15 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส โดยทิ้งไว้อุณหภูมิละ 7 วัน จึงนำต้นกล้าออกจากตู้เพื่อทำการนับตัวอ่อนที่ฟักออกจากไข่

3.3.2 อัตราการอยู่รอดของไรและจำนวนยอดหงิกบนลำไยพันธุ์ต่าง ๆ

นำต้นกล้าลำไยพันธุ์เบ็ญเขียว พันธุ์แก้ว พันธุ์ค้อ และพันธุ์ชมพู อายุ 15 วัน จำนวนพันธุ์ละ 6 ต้น ตัดใบออกจนเหลือแต่ยอดอ่อน จากนั้นแช่ไรด้วยเข็มแช่ที่ทำจากขนตามนุษย์ จำนวน 20 ตัวต่อต้น ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไรวางไข่ จากนั้นแช่ตัวเต็มวัยออกจนหมดวาดรูปแสดงตำแหน่งของไข่ไร เพื่อความสะดวกในการบันทึกผล ตรวจสอบจำนวนตัวอ่อน จำนวนตัวเต็มวัย จนถึงจำนวนไข่ในรุ่นถัดไปทุก 24 ชั่วโมง และตรวจอาการผิดปกติของพืชทุก 15 วัน เป็นระยะเวลา 90 วัน