

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

1.1 แมลงที่ใช้ในการวิจัย

ผีเสื้อหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* (Hubner)) จากกลุ่มงาน
วิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร ทำการเลี้ยงขยายพันธุ์
ในห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูพืชและพืชเส้นใย กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงแมลงในห้องทดลอง

- ขวดพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร สูง 5.5 เซนติเมตร
พร้อมฝาปิด
- โหลแก้วทรงกระบอก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร
สูง 13 เซนติเมตร
- ผ้าขาวบาง
- ปากคีบขนาดเล็ก
- พู่กันเบอร์ 2 คู่
- ไปเปต ขนาด 10 มิลลิเมตร และ 1 มิลลิเมตร
- กระบอกตวง ขนาด 1000 มิลลิเมตร
- ปีกเกอร์ ขนาด 50, 100, 500 มิลลิเมตร
- เครื่องปั่นอาหาร
- กระดาษชำระ

1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำอาหารเทียม จากสูตรและวิธีการของ Shorey (1966)
และ Henneberry และคณะ (1966) โดยนำมาดัดแปลงส่วนประกอบบางอย่าง

1.3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำอาหาร เคียมสำหรับหนอนผีเสื้อ			
ถั่วเขียว	(Mung bean)	195	กรัม
ยีสต์แห้ง	(Dried brewer yeast)	15	กรัม
กรดซอร์บิก	(Sorbic acid)	1.875	กรัม
เมทิล พาราเบนโซเอท	(Methyl parabenzoate)	3.75	กรัม
คลอรีน คลอไรด์	(Choline chloride)	0.75	กรัม
กรดแอสคอร์บิก	(ascorbic acid)	4.50	กรัม
เคซีน	(casein)	4.50	กรัม
วิตามิน โดเอท ฟอติฟิเคชัน	(vitamin diet fortification)	10	ซีซี.
ฟอร์มาลดีไฮด์	(formaldehyde)	3	ลูกบาศก์เซนติเมตร
วุ้น	(agar)	18	กรัม
น้ำกลั่น	(distilled water)	1125	ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงผีเสื้อ

- มัลติวิตามิน (multivitamin) 2-5%

2. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- วัสดุยางสำหรับหยดเฟอโรโมนสังเคราะห์ (rubber dispenser)
- ขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร
- ไปเปต ขนาด 50 และ 100 ไมโครลิตร
- เล้าไม้ลวก
- จานพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร
- แผ่นพลาสติกใส
- ท่อประปา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร สูง 4 เซนติเมตร
- กระดาษแข็งสีน้ำตาล
- เทียนไขสีเหลืองชนิดแผ่น ใช้สำหรับเคลือบกับดักเพื่อกันน้ำ
- กาวเหนียว (stickem : bird tangel foot)
- พัดลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 นิ้ว

- พัดลมดูดอากาศ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว
- เครื่องวัดความเร็วของกระแสลม (E.T.A. 3000) ภาพที่ 1
- เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer)
- กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (steromicroscope Bauch and lomb)

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในภาคสนาม

- ถังพลาสติก
- ปากคีบ
- ปากกาเลเบล
- ขวดแก้ว และแอลกอฮอล์ 70% สำหรับดองแมลง
- กล้องถ่ายรูป

4. สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- เฟอโรโมนสังเคราะห์ของผีเสื้อหนอนกระทู้หอม คือ cis, trans-9,12 - tetradecadien-1-ol acetate (Z,E-9,12-TDDA) และ cis-9-tetradecen-1-ol (Z-9-TDOL)
- Hexane
- γ -BHT
- Sevin 85 % WP
- talcum powder
- แอลกอฮอล์ 70%

การเตรียมสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศของผีเสื้อหนอนกระทู้หอม
สารเคมีที่ใช้

1. สารละลาย A คือ Z,E-9,12-TDDA
2. สารละลาย B คือ Z-9-TDOL
3. สารละลาย BHT
4. สารละลาย hexane

อุปกรณ์

1. วัสดุสำหรับหัดเฟอโรโมน

2. ไมโครไพเปต (micropipette) 50 และ 100 ไมโครลิตร
3. ไพเปต ขนาด 5 มิลลิลิตร
4. ขวดแก้ว ขนาด 10 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ไพเปตสารละลาย A คือ Z,E,-9,12-TDDA จำนวน 50 ไมโครลิตร

สารละลาย B คือ Z-9-TDOL จำนวน 5 ไมโครลิตร

สารละลาย hexane จำนวน 2.5 มิลลิลิตร

สารละลาย BHT จำนวน 5 ไมโครลิตร

บรรจุลงในขวดแก้วขนาด 10 มิลลิลิตร แล้วผสมให้รวมเป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน จะได้สารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศของผีเสื้อหนอนกระทู้หอมระหว่าง Z,E-9,12-TDDA และ Z-9-TDOL ในอัตราส่วน 10 : 1 แล้วทำการไพเปตส่วนผสมของเฟอโรโมนบรรจุลงในขวดสำหรับหยดจำนวน 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้เฟอโรโมนซึมเข้าในขวดสำหรับหยดแล้ว เก็บไว้โดยห่อด้วยแผ่นอลูมิเนียมและนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

ตารางที่ 2 การเตรียมสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน

อัตราส่วนของ เฟอโรโมน	สารละลาย Z,E-9,12-TDDA (μ l)	สารละลาย Z-9-TDOL (μ l)	สารละลาย hexane (ml)	สารละลาย BHT (μ l)
10:1	50	5	2.5	5
10:2	50	10	2.5	5
10:4	50	20	2.5	5
10:8	50	40	2.5	5

วิธีการเตรียม ทำเช่นเดียวกับการเตรียมสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในอัตราส่วน 10:1

วิธีดำเนินงาน

1. การศึกษาประสิทธิภาพของกับดักเฟอโรโมนในการดักผีเสื้อหนอนกระทู้หอม แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 การศึกษาประสิทธิภาพของชนิดของกับดักที่เหมาะสมในการดักผีเสื้อหนอนกระทู้หอม (ภาพที่ 2)

ทำการศึกษาโดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มเป็นบล็อกโดยสมบูรณ์ (RCB) ทำการทดลองในส่วนผักของนายกิมเสียง แซ่เจา ที่อำเภอบางกรวย จังหวัดนนทบุรี เริ่มการทดลองเมื่อเดือนมกราคม 2526 ถึงเดือนเมษายน 2526 โดยใช้สารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศของผีเสื้อหนอนกระทู้หอม Z,E-9,12-TDDA (Z,E-9,12-tetradecadien-1-ol acetate) และ Z-9-TDOL (Z-9-tetradecen-1-ol) ในอัตราส่วน 10:1 ในสารละลาย hexane

0.1 มิลลิลิตร ติดกับดัก การศึกษาออกแบบกับดักเฟอโรโมน 6 แบบ โดยใช้กับดัก 3 ชนิด

1. กับดักแบบกาวเหนียว (sticky trap) ที่ใช้ในการศึกษามี 3 แบบ คือ

1.1 กับดักแบบซูอีคอน (Zoecon) มีหลังคาและฐานซึ่งใช้สำหรับตากาวเป็นรูปสามเหลี่ยม ขนาดด้านกว้าง 22 เซนติเมตร ด้านยาว 28 เซนติเมตร วางเฟอโรโมนไว้ที่ฐานกลางกับดัก (ตัดแปลงจากกับดักแบบซูอีคอน (Zoecon) บริษัทซูอีคอน ประเทศสหรัฐอเมริกา)

1.2 กับดักแบบสามเหลี่ยม (triangular trap) เป็นกับดักรูปสามเหลี่ยม ด้านฐานมีแผ่นกระดาษกาวเหนียววางไว้สำหรับดักแมลง ล้อมตรงรอบอยู่ ด้านกว้างมีขนาด 15.2 เซนติเมตร ด้านยาว 25.4 เซนติเมตร แขนงเฟอโรโมนไว้ตรงกลางด้านบน

1.3 กับดักแบบสี่เหลี่ยม (parallelepiped trap) เป็นกับดักรูปสี่เหลี่ยมขนมเปียกปูน ด้านฐานใช้สำหรับตากาวเหนียวไว้รองรับแมลง ด้านกว้างมีขนาด 14 เซนติเมตร ด้านยาว 24 เซนติเมตร แขนงเฟอโรโมนไว้ตรงกึ่งกลางด้านบน

กับดักทั้ง 3 แบบนี้ทำด้วยกระดาษแข็งสีน้ำตาลซึ่งชุบด้วยเทียนไขเพื่อป้องกันน้ำ และเพื่อให้รูปทรงคงที่

2. กับดักแบบแห้ง (dry trap) ที่ใช้ในการศึกษา มี 2 แบบ คือ

2.1 กับดักแบบถุงพลาสติก (sleeve trap) ประกอบด้วยถุงพลาสติกยาว 50 เซนติเมตร ติดต่อกับท่อ พลาสติกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ใช้เป็นที่ดักผีเสื้อและ

ภายในถุงพลาสติกใส่อ่าง เคมีกำจัดแมลง เพื่อฆ่าแมลงที่ตกลงไป คือ เซพวิน 85 % ผสมแป้งผสมยาในอัตราส่วน 1:1 ด้านบนมีจานพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ใช้เป็นที่ติดเฟอโรโมน (เกศรา สีระจรรยา และคณะ, 2525)

2.2 กับดักแบบกระป๋อง (can trap) เป็นรูปทรงกระบอกมีฝาปิดสนิท ทำด้วยสังกะสี มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 24 เซนติเมตร สูง 30 เซนติเมตร รอบด้านนอกรูปทรงกระบอกเจาะรู 4 ด้าน ตรงข้ามกันเป็นรูปกรวยเข้าไปมีเส้นผ่าศูนย์กลางด้านนอก 10 เซนติเมตร ทำเป็นรูปกรวยเข้าไป ด้านในโดยใช้มุ้งลวดทำเป็นกรวยเส้นผ่าศูนย์กลางด้านใน 1.5 เซนติเมตร กรวยลึก 7.5 เซนติเมตร ภายในกับดักจะมีที่ตั้งเฟอโรโมนโดยตั้งอยู่ระหว่างกรวยทั้ง 4 อัน เพื่อให้กระแสมพัดพากลิ่นเฟอโรโมนแพร่กระจายออกไปได้ (สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ, 2523)

3. กับดักแบบน้ำ (water trap) ที่ใช้ในการศึกษามี 1 แบบ ประกอบด้วยกระป๋องพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 8.5 เซนติเมตร มีจานพลาสติกสำหรับติดเฟอโรโมนที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร ภายในกระป๋องบรรจุน้ำและหยดน้ำมันลงบนน้ำเพื่อกันแมลงที่ตกลงไปบินหนีออกมาได้

กับดักแต่ละแบบที่ใช้ในการทดลองจะทำ 3 ซ้ำ แล้วทำการลุ่มกับดักแต่ละแบบจัดเป็น 3 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มจะมีกับดักอยู่ 6 แบบ ติดตั้งกับดักในแปลงทดลองเดียวกัน โดยวางกับดักแต่ละอันห่างกัน 20 เมตรโดยประมาณ ทำการเก็บและนับจำนวนผีเสื้อหนอนกระทู้หอมจากกับดักทุก ๆ 3 วัน ขณะเดียวกันทำการย้ายกับดักทุก ๆ แบบในแต่ละกลุ่มไปในทิศทางเดียวกัน เพื่อให้กับดักทุกอันอยู่ในตำแหน่งที่เหมือนกัน บันทึกผลและเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากทุกกับดักทุกแบบมาคำนวณค่าความแตกต่างทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกับดักแต่ละแบบในการดักจับผีเสื้อหนอนกระทู้หอมโดยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) (ภาพที่ 3)

1.2 การศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ การศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ Z,E-9, 12-TDDA และ Z-9-TDOL ทำการทดลองที่สวนผักของนายทองสุข แซ่ลิ่ม อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี เมื่อเดือนมีนาคม 2526 ถึงเดือนกรกฎาคม 2526 โดยใช้สารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศทั้ง 2 ชนิด ในอัตราส่วนต่าง ๆ กัน ดังนี้ คือ 10 : 1 , 10 : 2 , 10 : 4 และ 10 : 8

(ตารางที่ 2) แล้วหดยกลงในวัสดุสำหรับหดยด์เฟอโรโมนเพศ วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 แต่ละอัตราส่วนทำ 3 ซ้ำ โดยติดตั้งกับดักแบบถุงพลาสติก ซึ่งสูง 1.50 เมตรเหนือพื้นดิน แล้วทำการลุ่มติดตั้งกับดักในแปลงทดลองเดียวกันโดยวางกับดักห่างกัน 20 เมตรโดยประมาณ ทำการเก็บผีเสื้อออกจากกับดักทุก ๆ 3 วัน วิธีปฏิบัติทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบประสิทธิภาพของอัตราส่วนความเข้มข้นของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศชนิดต่าง ๆ โดยวิธี DMRT (ภาพที่ 4)

1.3 การศึกษาอายุการใช้งานของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ

ทำการทดลองในสวนผักของนายประภิต กาญจนเจริญนนท์ อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี เมื่อเดือนมีนาคม 2526 ถึงเดือนสิงหาคม 2526 วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 โดยใช้อัตราส่วนของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ Z,E-9,12-TDDA และ Z-9-TDOL ในอัตราส่วน 10 : 1 ติดตั้งกับดักแบบถุงพลาสติกซึ่งสูง 1.50 เมตรเหนือพื้นดิน โดยหดยด์สารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศลงในวัสดุสำหรับหดยด์ แล้วนำไปเก็บไว้ในสภาพธรรมชาติให้มีอายุ 5 , 4 , 3 , 2 , 1 และ 0 สัปดาห์ อายุเฟอโรโมนเพศแต่ละสัปดาห์ทำ 3 ซ้ำ เมื่อเฟอโรโมนมีอายุครบกำหนดแล้วนำกับดักไปติดตั้งในแปลงทดลอง วิธีปฏิบัติและวิธีวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 และ 1.2

2. การศึกษาปัจจัยทางกายภาพที่มีอิทธิพลต่อการบินเข้ากับดักของผีเสื้อหมอนกระพุ่มหมอบแบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ขั้นตอน ดังนี้

2.1 การศึกษาตำแหน่งความสูงของกับดัก (ภาพที่ 5)

การศึกษาระดับความสูงของกับดักที่เหมาะสมในการดักผีเสื้อทำการทดลองในสวนผักของนายประภิต กาญจนเจริญนนท์ อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี เมื่อเดือนมีนาคม 2526 ถึงเดือนมิถุนายน 2526 วางแผนการทดลองแบบ RCB โดยใช้กับดักแบบถุงพลาสติกที่ระดับความสูงต่าง ๆ กัน คือ 0.5 , 1.0 , 1.5 , 2.0 และ 2.5 เมตร เหนือพื้นดิน การทดลองแต่ละความสูงทำ 3 ซ้ำ ติดสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในอัตราส่วนความเข้มข้นเท่ากับ 10 : 1 ทำการลุ่มติดตั้งกับดักในแปลงทดลองและเก็บผีเสื้อออกจากกับดักทุก ๆ 3 วัน วิธีการปฏิบัติและวิธีวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.2 การศึกษาช่วงเวลาการบินเข้ากับดัก

ช่วงเวลาการบินเข้ากับดักเฟอโรโมนทำการทดลองที่สวนผักนายประภิต แซ่ลิ้ม อำเภอบางแค จังหวัดกรุงเทพมหานคร เมื่อวันที่ 25 เมษายน 2526 ถึงวันที่ 29 เมษายน 2526

ติดตั้งกับดักแบบถุงพลาสติก ที่ระดับความสูง 1.50 เมตร 4 กับดักโดยวางแผนการทดลองแบบ RCB ติดตั้งกับดักในแปลงทดลองโดยวางกับดักห่างกัน 20 เมตรโดยประมาณ ทำการเก็บผีเสื้อออกจากกับดักทุก ๆ 2 ชั่วโมง เริ่มการทดลองตั้งแต่ 18.00 น. - 06.00 น. รวม 6 ครั้ง ทำการทดลองติดต่อกัน 5 คืน บันทึกผลและนำข้อมูลไปวิเคราะห์โดยวิธี DRMT

2.3 การศึกษาเพศของผีเสื้อที่เข้ากับดัก

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ นำผีเสื้อที่ได้จากแต่ละกับดักในแปลงทดลองเดียวกันมาทำการจำแนกเพศ โดยการดูลักษณะภายนอก ขนาดรูปร่าง และลักษณะของจำนวนเฟรนูลัม (frenulum) บนปีกหลังของผีเสื้อ และขณะเดียวกันทำการผ่าตัดดูอวัยวะเพศ (genitalia) โดยใช้มีดผ่าตัด 2 ปล้องสุดท้ายของส่วนท้องของผีเสื้อและใช้เข็ม เขี่ยดูอวัยวะเพศภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ

2.4 การศึกษาอิทธิพลของดวงจันทร์ อุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณน้ำฝน ต่อการเข้ากับดักของผีเสื้อ

ติดตั้งกับดักแบบถุงพลาสติก จำนวน 4 กับดักที่ระดับความสูง 1.50 เมตรเหนือพื้นดินโดยวางกับดักห่างกัน 20 เมตรโดยประมาณ ทำการทดลองในสวนผักนายสุชาติ กาญจน-เจริญนท์ อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี เมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2526 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2527 ทำการเก็บผีเสื้อออกจากกับดักทุก ๆ 3 วัน บันทึกผลพร้อมบันทึกข้อมูลของอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณน้ำฝนรวมทั้งอิทธิพลของดวงจันทร์ แล้วนำมาแสดงความสัมพันธ์โดยการแสดงกราฟ

3. การศึกษาพฤติกรรมทางเพศของผีเสื้อต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในท่อลม

การเพาะพันธุ์แมลงเพื่อใช้ในการทดลอง

หนอนกระทู้หอมที่ใช้ในการทดลอง ได้จากการออกไปเก็บจากแปลงทดลองที่อำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยใช้พืชอาหารตามธรรมชาติ คือ ใบหอมเลี้ยงจนกระทั่งหนอนเข้าดักแด่ ทำการแยก เพศของดักแด่ตัวผู้และตัวเมียออกจากกัน แล้วปล่อยให้ตัวผู้ตัวเมียออกเป็นตัวเต็มวัย จับคู่ตัวผู้และตัวเมียของตัวเต็มวัยใส่ในโหลแก้วที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร ด้านบนของโหลแก้วปิดด้วยกระดาษเนื้อเยื่อที่มึนและภายในโหลแก้ววางกระดาษเนื้อเยื่อไปตามด้านข้างของโหลแก้วเพื่อให้แมลงวางไข่ โดยโหลแก้ววางอยู่บนชั้นพลาสติกที่บรรจุน้ำภายในปริมาตร 1 ใน 3 เพื่อให้ความชื้น ที่ปากชั้นจะมีผ้าขาวบางปิดอยู่ ภายในโหลแก้วมีสารละลายวิตามิน (multivitamin syrup) ที่มีความเข้มข้น

ประมาณ 2.5% เพื่อใช้เป็นอาหารตัวเต็มวัย แล้วนำไปเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ตัวเต็มวัยผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป พบว่าตัวเต็มวัยจะวางไข่ที่ข้างของโหลแก้วเป็นกลุ่ม ๆ และอาจวางไข่ไว้ด้านบนบ้าง นำไข่ที่มีอายุ 2 วัน มาแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite ที่มีความเข้มข้น 0.5 % ประมาณ 5 นาที จากนั้นนำไปล้างในภาชนะที่มีน้ำไหลผ่านอยู่ตลอดเวลา ประมาณ 15-20 นาที นำไข่ขึ้นจากน้ำและซับน้ำออกให้แห้ง เก็บไว้จนกระทั่งไข่มีสีคล้ำจวนจะฟักนำไปวางบนผิวหน้าของอาหารเทียมสำหรับเลี้ยงหนอน พอหนอนโตสัก 2-3 วัน ทำการแยกหนอนโดยให้อาหารเทียม 1 ขวด มีหนอนอยู่ 2-3 ตัว ในการเลี้ยงหนอนด้วยอาหารเทียม อาจทำการเปลี่ยนอาหารเพียงครั้งเดียวหรือไม่ต้องเปลี่ยนเลย จนกระทั่งหนอนเข้าดักแด้

การเตรียมอาหารเทียมเพื่อไข่เลี้ยงหนอน

ตัวเขียวที่ใช้ในการเตรียมอาหารเทียมนั้นบดให้ละเอียดแล้วกรองด้วยตะแกรงร่อน ในการเตรียมทำการชั่งส่วนประกอบต่าง ๆ ตามสูตรที่กล่าวข้างต้น สำหรับน้ำหนัก 1125 มิลลิลิตร ทำการแบ่งออกเป็นสองส่วน คือ ส่วนแรกจำนวน 900 มิลลิลิตร ใช้ในการผสมกับส่วนประกอบของอาหารชนิดต่าง ๆ น้ำหนักส่วนที่สองจำนวน 225 มิลลิลิตร ใช้ในการต้มกับวัน น้ำหนักส่วนจำนวน 900 มิลลิลิตร เทลงในเครื่องปั่น เติมน้ำเครื่องปั่นแล้วค่อย ๆ เติมส่วนผสมของตัวเขียวบด , ยีสต์แห้ง , เมทิล พาราเบนโซเอท, พอร์มาลดีไฮด์ และสารละลายของโคซิน คลอไรด์ ลงไปตามลำดับ เติมน้ำเครื่องปั่นติดต่อกันไปประมาณ 3-5 นาที จากนั้นน้ำหนักส่วนจำนวน 225 มิลลิลิตร ไปต้มจนเดือดแล้วจึงเทวันลงไปเคี่ยวต่อจนวันเดือดอีกครั้ง แล้วนำมาผสมกับส่วนที่อยู่ในเครื่องปั่นต่อไป เมื่อผสมลงในส่วนผสมของอาหารในเครื่องปั่นแล้ว เติมน้ำเครื่องปั่นต่อไป จนกระทั่งอุณหภูมิของอาหารที่อยู่ในเครื่องปั่นต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส จึงค่อยเติมกรดซอกซิก, กรดแอสคอร์บิก, เคซีน และ วิตามิน ไตเอท ฟอสฟอรัส ลงไป ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพของอาหารจากความร้อน เติมน้ำเครื่องปั่นจนส่วนผสมทั้งหมดรวมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปเทใส่ขวดพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร สูง 5.5 เซนติเมตร โดยเทอาหารเทียมลงไปให้มีปริมาตรอาหารเป็น $\frac{1}{3}$ ของปริมาตรขวดพลาสติก จากนั้นปิดฝาขวดพลาสติกซึ่งเจาะรูไว้เพื่อช่วยระบายความชื้นออกจากภายในขวด แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 20 องศาเซลเซียส จะเก็บอาหารไว้ได้นานประมาณ 1 เดือน อาหารเทียมที่เก็บไว้ในตู้เย็นเมื่อจะนำมาเลี้ยงหนอนต้องทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของอาหารเทียมเท่ากับอุณหภูมิของห้องเสียก่อน

เมื่อเลี้ยงหนอนในอาหารเทียม โดยเลี้ยงหนอน 1 ตัว/ขวด จนกระทั่งหนอนเจริญเติบโตและเข้าดักแด้แล้ว แยกเอาดักแด้ออกมาแยกเพศ ดูเพศผู้และเพศเมีย คัดเลือกเอาเฉพาะดักแด้ที่เป็นเพศผู้ที่มีลักษณะสมบูรณ์เท่านั้นไปเลี้ยงต่อ จนกระทั่งกลายเป็นผีเสื้อตัวผู้ แล้วคัดเลือกเอาเฉพาะผีเสื้อเพศผู้ที่มีลักษณะแข็งแรงและสมบูรณ์ดีเท่านั้น เพื่อนำไปทำการศึกษาถึงพฤติกรรมทางเพศต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในท่อม

วิธีการศึกษา (ภาพที่ 6)

นำผีเสื้อเพศผู้ที่มีอายุประมาณ 2-3 วัน มาทำการศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศในท่อม ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ล่าขาแมลงศัตรูฝ้ายและพืชเลี้ยงในกองกัญและสัตว์วิทยา กรมวิชาการเกษตร ท่อมจะประกอบไปด้วยท่อที่ทำด้วยพลาสติกใส ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 59 เซนติเมตร ยาว 2 เมตร ใช้เป็นที่ทำการทดลอง มีพัดลมเป่าอากาศเข้าไปในท่อมพลาสติก 1 ตัว และพัดลมดูดอากาศออกจากท่อ 1 ตัว พัดลมเป่าอากาศเข้าไปในท่อจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 8 นิ้ว (220 วัตต์) พัดลมดูดอากาศมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 นิ้ว (110 วัตต์) ทางด้านหน้าจะมีพัดลมเป่าอากาศเข้าไปและห่างจากพัดลมออกมา 50 เซนติเมตร จะมีแผ่นวงกลมที่ทำด้วยหลอดกาแฟสีขาวโดยนำหลอดกาแฟมาตัดให้มีความยาว 5 เซนติเมตร แล้วนำมามัดรวมกันเป็นวงกลมให้มีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 59 เซนติเมตร เพื่อให้กระแสลมที่พัดผ่านเข้าไปเป็นประหล่มที่ตรงและมีความเร็วค่อนข้างสม่ำเสมอ และติดกับแผ่นวงกลมของหลอดกาแฟจะมีมุ้งลวดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับแผ่นหลอดกาแฟกันอยู่ 2 ชั้น แต่ละชั้นห่างกัน 5 เซนติเมตร เพื่อทำหน้าที่กรองกระแสลมจากแผ่นวงกลมหลอดกาแฟให้กระแสลมที่ผ่านมานั้นสม่ำเสมอขึ้น ทางด้านล่างจะมีพัดลมดูดอากาศออกเพื่อให้กระแสลมมีการเคลื่อนที่ผ่านออกมาได้สม่ำเสมอ ก่อนที่จะถึงพัดลมดูดอากาศออกจะมีมุ้งลวดชั้นที่ 3 ที่มีขนาดเดียวกันกันอยู่ 1 ชั้น ห่างจากพัดลมดูดอากาศประมาณ 50 เซนติเมตร ระหว่างมุ้งลวดชั้นที่ 2 และชั้นที่ 3 จะห่างกัน 2 เมตร ซึ่งใช้เป็นที่ทดลองศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองของผีเสื้อเพศผู้ต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศภายในท่อม ภายในบริเวณที่ทำการทดลองจะมีตำแหน่งการแขวนเฟอโรโมนโดยแขวนห่างจากมุ้งลวดชั้นที่ 2 ประมาณ 10 เซนติเมตร ส่วนบริเวณที่ปล่อยแมลงเข้าไปจะปล่อยแมลงเข้าทางด้านล่าง โดยทำประตูเปิด ปิดทางด้านข้าง การปล่อยแมลงโดยทำทรงเล็ก ๆ ไล่แมลงเข้าไป 10 ตัว

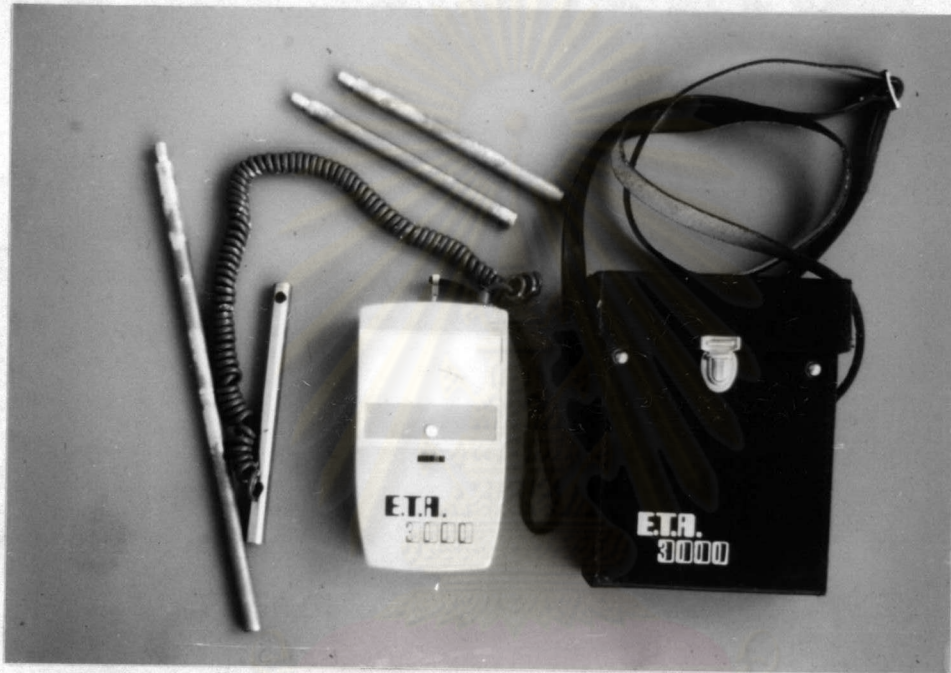
ก่อนทำการทดลองต้องมีการวัดความเร็วของกระแสลมโดยใช้เครื่องวัดความเร็วของกระแสลม (E.T.A 3000) การวัดกระแสลมที่พัดผ่านเข้ามาในบริเวณที่ทำการทดลอง คือระหว่าง

มังลวดชั้นที่ 2 และชั้นที่ 3 มีความเร็วเท่ากับ 0.4-0.6 เมตร/วินาที ใช้ในการทดลอง การทดลองทำในห้องที่ใช้ไฟสีแดง แล้วปล่อยแมลงเข้าไปภายในท่อลม จากนั้นแขวนเฟอโรโมน แล้วทำการศึกษาดูลักษณะการแสดงการตอบสนองต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ โดยดู ลักษณะการบิน และลักษณะการตอบสนอง ก่อนได้รับกลิ่นและขณะได้รับกลิ่นของสารสังเคราะห์ เฟอโรโมนเพศ

ในกลุ่มควบคุม ปล่อยแมลงเข้าไปภายในท่อลมที่ไม่ได้แขวนสารสังเคราะห์เฟอโรโมน เพศ แล้วทำการศึกษาถึงพฤติกรรมการแสดงออกของแมลงขณะนั้น เปรียบเทียบกับขณะที่ได้รับกลิ่น เฟอโรโมนเพศ



ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



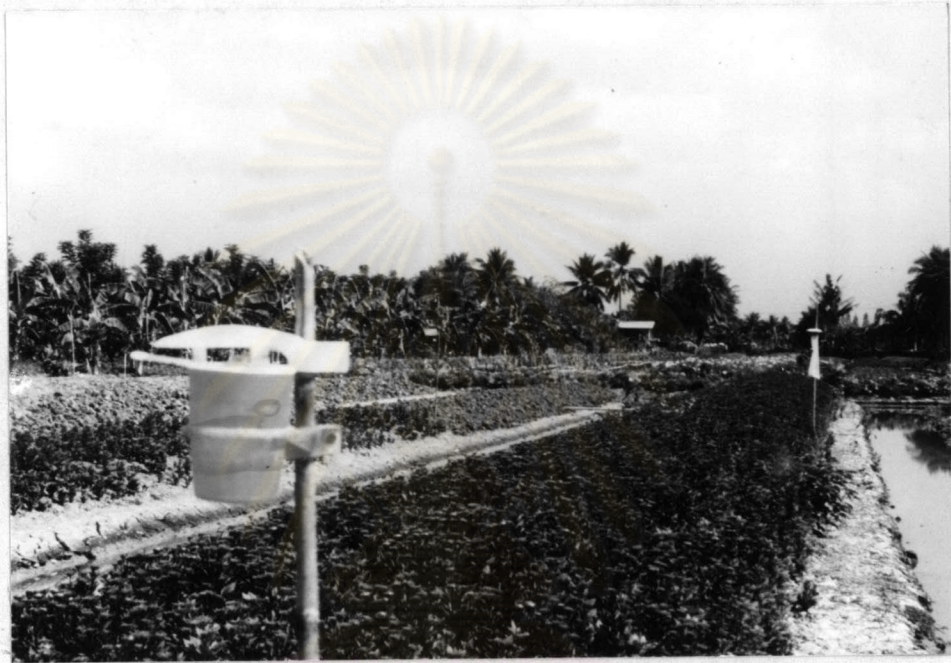
ภาพที่ 1 เครื่องมือวัดความเร็วกระแสลม (E.T.A. 3000)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 2 กั้บดักเฟอโรโมนชนิดต่าง ๆ

- ก. คือ กั้บดักแบบจูอีคอน
- ข. คือ กั้บดักแบบสี่เหลี่ยม
- ค. คือ กั้บดักแบบสามเหลี่ยม
- ง. คือ กั้บดักแบบถุงพลาสติก
- จ. คือ กั้บดักแบบน้ำ
- ฉ. คือ กั้บดักแบบกระป๋อง



ภาพที่ 3 การวางตำแหน่งของกับดักชนิดต่าง ๆ ในแปลงทดลอง โดยการสุ่มเลือก
กับดักชนิดต่าง ๆ แล้วนำไปติดตั้งในแปลงทดลอง

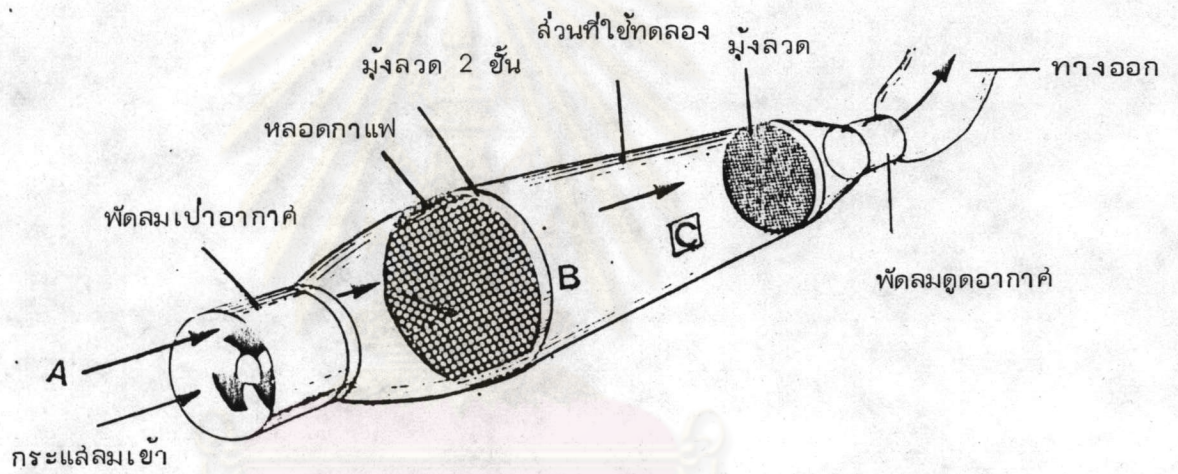
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4 การศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นของสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ
4 อัตราส่วน ติดตั้งกับกับดักในแปลงทดลอง



ภาพที่ 5 การศึกษาระดับความสูงของกับดักที่แตกต่างกันในการดักจับ
ผีเสื้อหนอนกระทู้หอมในแปลงทดลอง



ภาพที่ 6 ท่อลม (wind tunnel) ที่ใช้ในการศึกษาพฤติกรรมการแสดงการตอบสนอง
ต่อสารสังเคราะห์เฟอโรโมนเพศ A หัวลูกศรเป็นทางเข้าของกระแลม
B และ C เป็นตำแหน่งของสารล่อและจุดที่ปล่อยแมลง