

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาวงจรชีวิตของไร Tetranychus sp. ได้ทำภายในตู้กระจกขนาด 14" x 24" x 13" ซึ่งได้รักษาอุณหภูมิประมาณ 29.5° ซ. มีพิสัย (range) 28 - 31 ซ. และความชื้น 67.5 % มีพิสัย 59 - 76 % ภายในตู้แบ่งเป็นชั้น ๆ (รูปที่ 2) สำหรับเป็นที่วาง petridish ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 ซม. ซึ่งใช้เป็นภาชนะสำหรับเลี้ยง ปูพื้นจาน petridish ด้วยกระดาษซับซึ่งตัดเป็นรูปวงกลมเท่าจานและใส่น้ำประมาณ จานละ 2 c.c บนกระดาษซับ เพื่อให้ความชื้นตลอดเวลาแก่ใบมะม่วง ใบมะม่วงที่ไม่แก่เกินไป เลือกใบที่สะอาดปราศจากสัตว์อื่นอาศัยอยู่ มีฝุ่นละอองบ้างเล็กน้อย โดยนำใบที่เลือกแล้ว คงรักษาสภาพเดิม (ห้ามเข็ดหรือปัดสิ่งต่าง ๆ บนใบมะม่วงออก) ตัดขนาดกว้าง 3 ซม. ยาว 5 ซม. และทารอบใบด้วยสารเหนียว ซึ่งมีชื่อว่า PERFUME PASTE ทารอบรอยตัดให้มีความหนาพอเป็นสันขึ้นมา เพื่อกั้นมิให้ตัวไรหนี นำใบมะม่วงที่เตรียมดังที่กล่าวมาแล้ว วางบนจาน petridish ซึ่งรองด้วยกระดาษซับ เสร็จแล้วจึงใส่ไว้ในตู้กระจกที่ทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง จากการนำไรชนิดตัวผู้และตัวเมีย 1 คู่ มาเลี้ยงใน petridish ที่เตรียมดังที่กล่าวมาแล้ว จนได้ off - spring ปริมาณมากพอ เพื่อเป็น stock และหาวิธีการจนสามารถเลี้ยงให้รอดได้ จึงเริ่มการทดลองดังต่อไปนี้ โดยการตรวจดูวันละ 2 ครั้ง เวลา 9.00 น. ในตอนเช้า และในตอนบ่าย เริ่ม เมื่อ 14.00 น. - 16.00 น.

การศึกษาวางจรรชีวิต

โดยเขียนทั้งตัวผู้และตัวเมีย จากที่เลี้ยงไว้ 1 คู่ ใส่ลงในใบมะม่วงที่เตรียมไว้เรียบร้อยแล้ว เพื่อให้ผสมพันธุ์และวางไข่ โดยตรวจดูการวางไข่ และจดจำนวนไข่ที่ได้ในแต่ละวัน แล้วเขียนตัวเมียและตัวผู้ใส่ใน petridish จานใหม่ที่เตรียมไว้อีก เพื่อดูการวางไข่ในวันต่อมา ทำเช่นนี้ทุกวันจนตัวเมียเลิกวางไข่ ไข่ที่ได้จากตัวเมียและตัวผู้คน ไข่ไว้ในตู้กระจกที่ทำการทดลอง เพื่อดูระยะไข่ เมื่อ larva พักออกจากไข่ จดเวลาไว้ และแยก larva ที่ได้ใส่จาน petridish ที่เตรียมไว้จานละ 1 ตัว จน larva พักออกจากไข่หมดทุกใบ การที่แยกไว้จานละตัว เพื่อศึกษาระยะ larva, protonymph, deutonymph จนเป็น adult โดยดูจากการลอกคราบแต่ละครั้ง เมื่อเป็นตัวเต็มวัย (adult) สังเกตและนับจำนวนตัวผู้ตัวเมีย จากตัวผู้และตัวเมียที่ได้ นำมาผสมพันธุ์ ดำเนินการทดลองดังที่ได้กล่าวมาแล้ว เมื่อได้ larva จึงนำมาแยกเลี้ยงเป็นจำนวน 3 การทดลอง (replication) การทดลองละ 15 ตัว จากการจัดการทดลองนี้จะทำให้ทราบระยะ immature stage ต่าง ๆ ของไรชนิดนี้ ดังตารางที่ 1, 2 และ 3

การศึกษา mated female และ mated male

นำตัวผู้และตัวเมียจากที่เลี้ยงไว้ในห้องทดลอง มาเป็นจำนวน 15 คู่ แยกให้ผสมพันธุ์กัน จานละ 1 คู่ เพื่อดูการวางไข่ของตัวเมียแต่ละตัวในแต่ละวัน นอกจากนี้ยังศึกษาระยะ preoviposition, oviposition ; off - spring / female; fecundity, longevity ทั้งของตัวผู้และตัวเมีย ศึกษาเช่นนี้ 3 ครั้ง จดผลข้อมูลที่ได้ในแต่ละครั้งอย่างละเอียด ดังตารางที่ 7, 8 และ 16

000282

การศึกษา unmated female และ unmated male.

จากการแยกเลี้ยง larva ในห้องทดลอง เมื่อได้ตัวเมีย 15 ตัว และตัวผู้ 15 ตัว โดยแยกเลี้ยงตั้งแต่วัย larva จนเป็นตัวเต็มวัยก็แยกเลี้ยงต่อไป ทำ 3 การทดลอง (replication) ทั้งชนิดตัวผู้และตัวเมีย สำหรับตัวผู้ศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมและอายุยาวนาน (adult longevity) สำหรับไข่ที่ได้จาก unmated female จะต้องเลี้ยงต่อไปจนโตเป็นตัวเต็มวัย ทั้ง 3 การทดลอง เพื่อดูความแตกต่างระหว่าง unmated female และ mated female ในเรื่อง preoviposition, oviposition period, off - spring /female; fecundity, sex of off - spring ดังตารางที่ 9, 10, 11, 13 และ 19

การศึกษา morphology และขนาดของไร

การศึกษาเรื่อง morphology, description ของไรตัวรวมทั้งการวัดขนาด ได้ใช้น้ำยา Hoyer's ในการ mounting ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้

distilled water	25 c.c.
gum arabic	15 gm.
chloral hydrate	100 gm.
glycerine	10 gm.

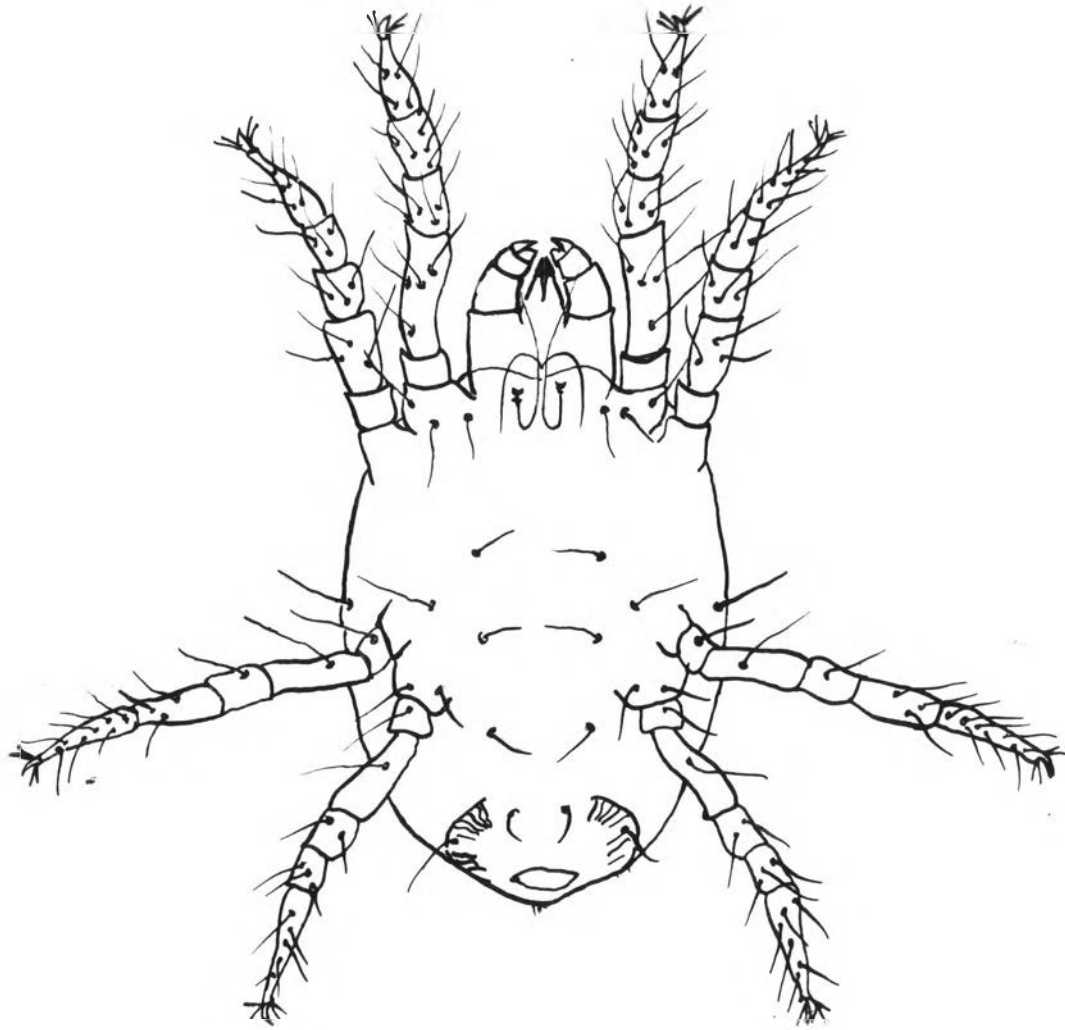
ในการเตรียมน้ำยาเพื่อใช้ในการศึกษานี้เตรียมเป็น 4 เท่าของสัดส่วนที่บอกกล่าวข้างต้น

โดยใช้น้ำกลั่น 100 c.c ใส่ใน beaker ที่ใหญ่พอควร ต่อจากนั้นใส่ gum arabic ซึ่งโคหนัก 60 gm. ลงในน้ำกลั่นทิ้งไว้ให้ละลายจนหมดแล้วจึงใส่ chloral hydrate 400 gm. ค่อย ๆ ใส่ทีละน้อย และช่วยคนเพื่อให้

ละลายจนหมด แล้วจึงใส่ glycerine 40 gm. ปล่อยให้ละลายจนอิ่มตัว แล้วจึงกรองด้วย glass wool เพื่อให้ solution สะอาดปราศจากฝุ่นผง นำยาที่เตรียมไว้เมื่อกรองแล้วใส่ขวดปิดจุกให้แน่น ไว้ใช้ในการ preservation นำยานี้เป็น modified media ใช้ในการ clear และ mount specimen โดยไม่ต้องผ่านการ dehydration ของ alcohol ตามวิธีการทำ slides.

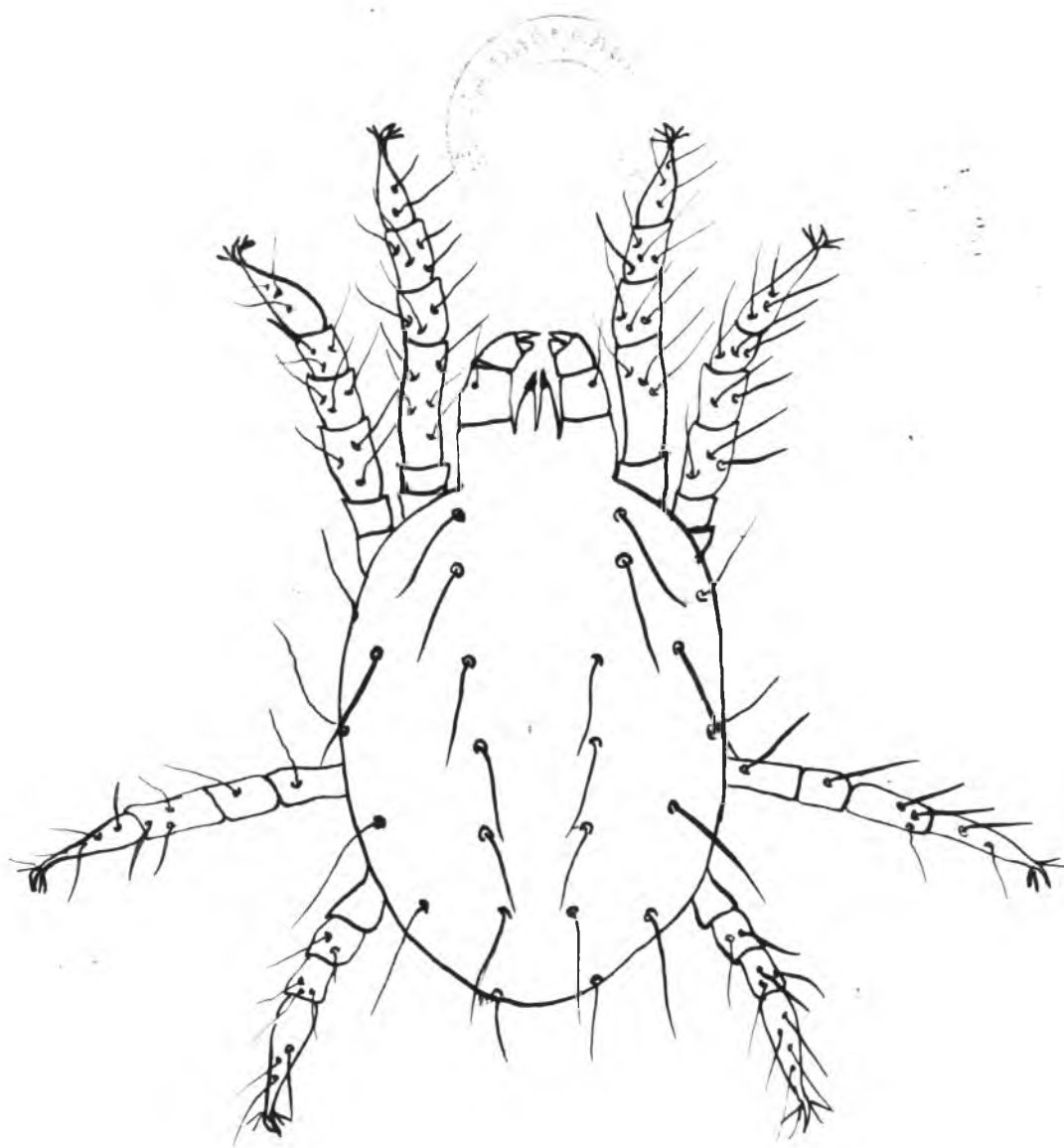
การเตรียม specimens.

ใช้พู่กันเขี่ยตัวไร ใส่ใน alcohol 70 % เพื่อฆ่าและล้างตัวไรให้สะอาด เมื่อตัวไรตาย และสะอาดดีแล้ว จึงเขี่ยวางบน slides ที่ทำความสะอาดด้วย 70 % alcohol ตรวจดูไรอีกครั้งด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อจัด specimen ให้อยู่ในท่าทางายก้นท้อง (ventral) ขึ้น ซึ่งจะสังเกตเห็นได้จาก coxa ของขาและ specimen ที่นำมาศึกษาควรจะมีสมบูรณ์ด้วยอวัยวะต่างๆ ครบทุกส่วน แล้วจึงหยด Hoyer's solution ลงข้าง ๆ specimen 1 หยด แล้วปิดด้วย cover glass ใญ่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.6 ซม. ซึ่งเช็ดสะอาดด้วย 70 % alc.เช่นเดียวกัน การ mount slide ควรจะจัดให้ specimen อยู่ตรงกลาง slide เนื่องจากตัวเล็กมาก เพื่อความสะดวกในการศึกษาค้นคว้าด้วยกล้องจุลทรรศน์ เมื่อเตรียม slide เรียบร้อยแล้วจึงนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้งเพื่อสำรวจการวาง specimen ถูกต้องหรือไม่ เพราะขณะที่ปิด cover glass ตัวไรอาจพลิกคว่ำเอาทางด้านหลัง (dorsal) ขึ้นและขาทั้ง 4 คู่ของไรควรยืดแผ่ออกอย่างสวยงาม โดยการนำ slide มาวางบน heater plate ประมาณ 1 - 2 นาที หรือ อังไฟ Bunsen เพื่อให้ระยาง ยึดออก เมื่อ label slide ทุกอันเรียบร้อย จึงนำมาเก็บไว้ในตู้อบ ประมาณ 3 - 4 อาทิตย์ ถ้ายังไม่แห้งก็อบต่อไป ตู้อบ และ heater plate มีอุณหภูมิประมาณ 40 - 50 C เมื่อได้ slide ที่เสร็จสมบูรณ์ จึงนำมาศึกษาทาง morphology ต่อไป ทั้งตัวผู้และตัวเมีย



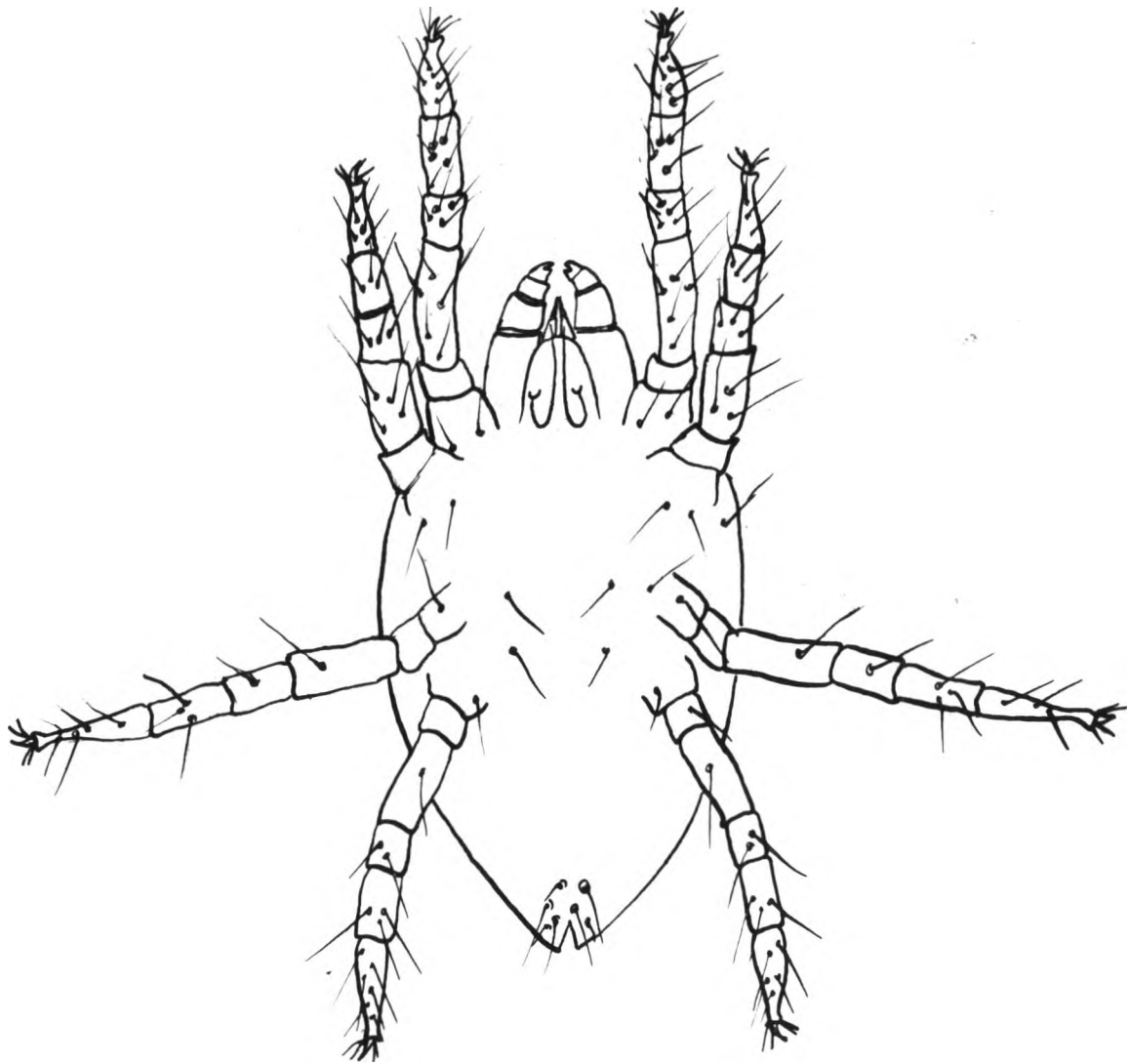
รูปที่ 3 TETRANYCHUS sp.

ตัวเมีย (FEMALE) ด้านท้อง (VENTRAL)



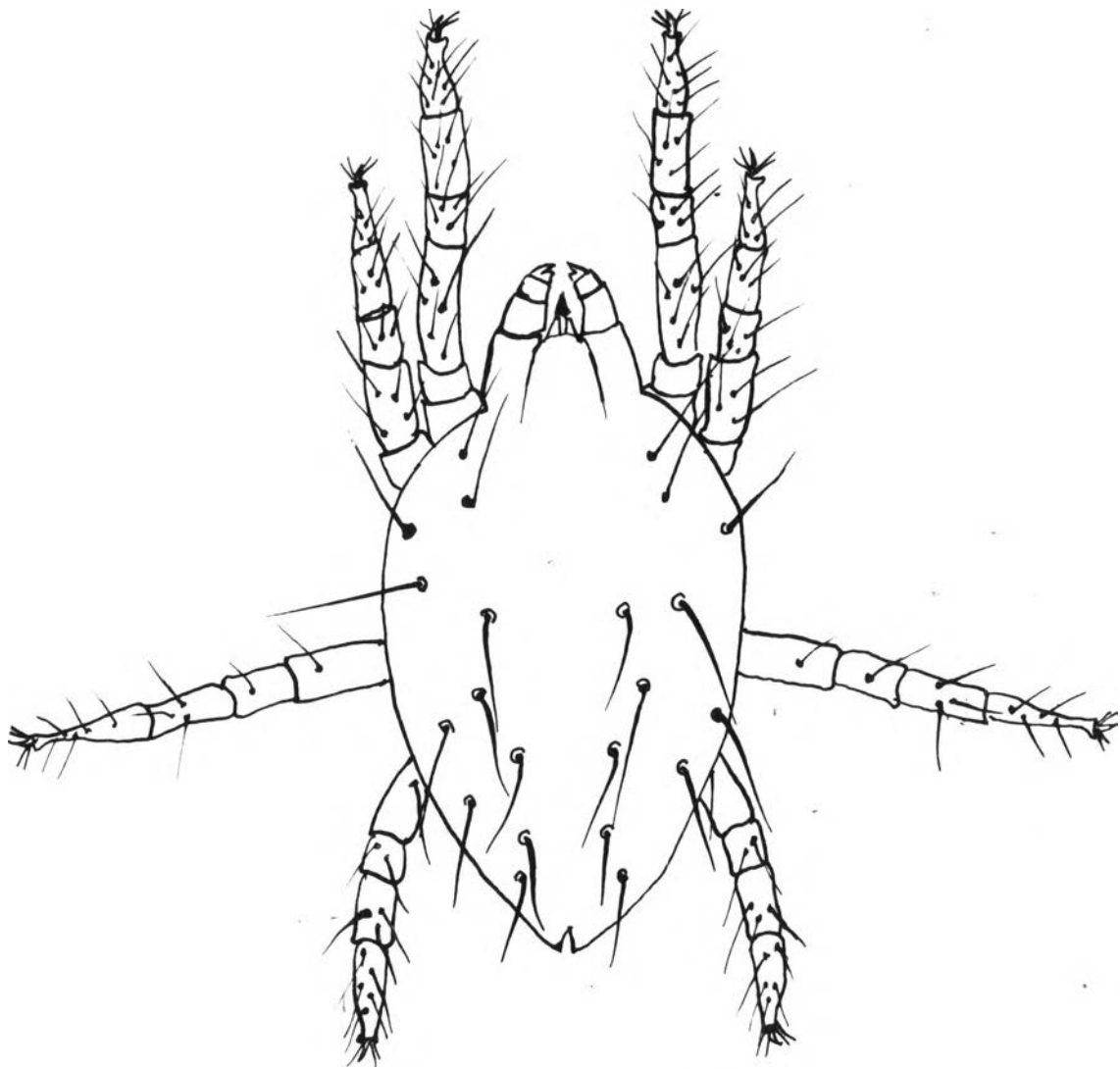
รูปที่ 4 TETRANYCHUS sp.

ตัวเมีย (FEMALE) ด้านหลัง (DORSAL)



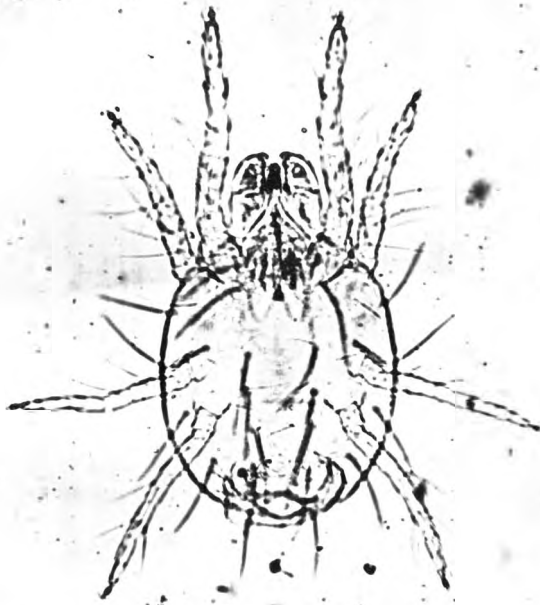
รูปที่ 5 TETRANYCHUS sp.

ตัวผู้ (male) ด้านท้อง (ventral).



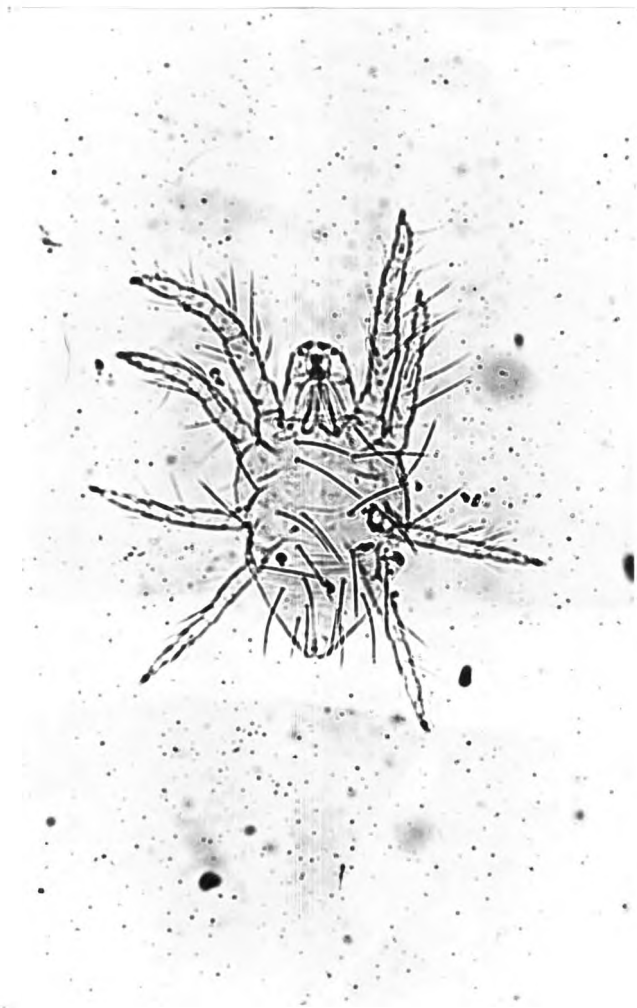
รูปที่ 6 TETRANYCHUS sp.

ตัวผู้ (male) ด้านหลัง (dorsal).



รูปที่ 7 TETRANYCHUS sp.

ตัวเมีย (FEMALE)



รูปที่ 8 TETRANYCHUS sp.
ตัวผู้ (MALE)