

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาข้อมูลเบื้องต้นก่อนการทดลอง

นำแมลงที่ใช้ในการศึกษาวิจัย ได้แก่ ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton) และ แตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. จากห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ดำเนินการทดลองตั้งแต่ เดือน มีนาคม 2546 ถึง ธันวาคม 2548 โดยทดสอบข้อมูลเบื้องต้น ดังต่อไปนี้

1.1 ผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

1.1.1 การทดสอบเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ผีเสื้อข้าวสาร

เพื่อจะทราบว่า ไข่ของผีเสื้อข้าวสารก่อนการทดลองมีการฟักเป็นตัวหนอนกี่เปอร์เซ็นต์ โดยการสุ่มไข่ผีเสื้อข้าวสาร อายุ 1 วัน จำนวน 100 ฟอง มาวางลงบนจานแก้วที่โรยด้วยรำละเอียดเล็กน้อย หลังจากนั้นบันทึกเปอร์เซ็นต์การฟักทุกวัน (ประมาณ 3 วัน ตามอายุการฟักของไข่) ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

1.1.2 การทดสอบขนาดของไข่ผีเสื้อข้าวสาร

เพื่อจะทราบว่า ขนาดของไข่ผีเสื้อข้าวสารก่อนและหลังการทดลองมีขนาดแตกต่างกันหรือไม่ นำไข่ผีเสื้อข้าวสาร ที่ได้จากการสุ่มจำนวน 100 ฟอง วัดขนาดความกว้างและความยาวภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

1.1.3 การทดสอบจำนวนไข่ของผีเสื้อข้าวสารต่อน้ำหนักไข่ 0.05 กรัม

จากข้อมูลห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ในการเลี้ยงผีเสื้อข้าวสาร ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.1 กรัม (ประมาณ 2,000 ฟอง) ต่อรำละเอียดที่ใช้เลี้ยง 1 กิโลกรัม สำหรับการศึกษาครั้งนี้ ใช้ไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.05 กรัม ดังนั้นก่อนการทดลองจึงต้องทราบจำนวนไข่ผีเสื้อข้าวสารน้ำหนัก 0.05 กรัม โดยการชั่งไข่ผีเสื้อข้าวสาร 0.05 กรัม วางลงบนจานแก้ว หลังจากนั้นนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ใช้ปลายพู่กันเบอร์ 1 เขี่ยนับจำนวนไข่ บันทึกจำนวนไข่ที่ได้ในแต่ละซ้ำ ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

1.1.4 การทดสอบการฟักเป็นตัวเต็มวัยของผีเสื้อข้าวสาร

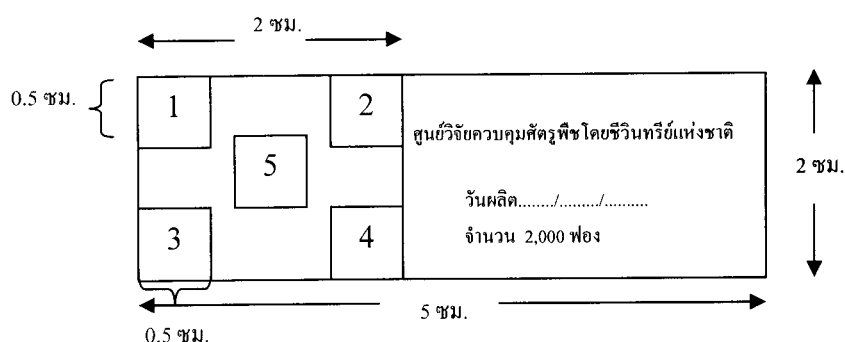
เพื่อจะทราบเปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัยของดักแด้ผีเสื้อข้าวสาร ทดสอบโดยการนำดักแด้ของผีเสื้อข้าวสารในกล่องเลี้ยงจากกล่องเลี้ยง 5 กล่องที่ผลิตวันเดียวกัน จำนวน 20 ฟัก มาใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 15x15x10 ซม.³ หลังจากนั้นบันทึกการฟักเป็นตัวเต็มวัย และนับจำนวนตัวผู้และตัวเมียที่ได้ทุกวัน ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

1.1.5 การทดสอบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของผีเสื้อข้าวสาร

ในการตรวจสอบพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนผีเสื้อข้าวสาร ต้องมีการนำระยะหนอนมาวัดพัฒนาการตลอดการเจริญเติบโต แต่เพื่อไม่ให้เป็นการกระทบกระเทือนหนอนในกล่องเลี้ยงเกินไป และเพื่อสะดวกต่อการปฏิบัติงานจึงบันทึกพัฒนาการของหนอนที่อายุ 10, 20 และ 30 วัน ดังนั้นจึงต้องมีข้อมูลเบื้องต้น ด้านเปอร์เซ็นต์รอดของหนอนผีเสื้อข้าวสารในการเลี้ยงปกติของห้องปฏิบัติการ จึงตรวจสอบโดยการนำไข่ผีเสื้อข้าวสาร จำนวน 100 ฟอง ไรยลงบนรำละเอียด (ผ่านการรมสารฟอสฟีนเพื่อกำจัดแมลงชนิดอื่นๆ ในรำละเอียด เป็นเวลา 1 สัปดาห์) ที่บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 15x15x10 ซม.³ หลังจากนั้นบันทึกการรอดชีวิตของผีเสื้อข้าวสารทุก 10 วัน ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

1.2 แตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp.

ทดสอบเปอร์เซ็นต์การเบียน เปอร์เซ็นต์การฟัก และสัดส่วนเพศของแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. ก่อนที่นำไปใช้ในการทดลอง โดยนำกระดาษหนา 100 แกรม มาตัดให้มีขนาด 2x5 ซม.² นำกระดาษที่ตัดไว้แล้วมาทากาวติดขอบด้านหนึ่งไว้ให้มีขนาด 2x2 ซม.² หลังจากนั้นนำไข่ผีเสื้อข้าวสารที่เลี้ยงด้วยรำละเอียดไรยลงบนกระดาษให้เต็มเรียงเป็นชั้นเดียวในส่วนที่ทากาวไว้แล้ว จากนั้นนำไปผ่านแสง UV 15 นาที (แผ่นไข่อาศัย) นำแผ่นไข่อาศัย จำนวน 3 แผ่นเย็บติดกันไปใส่ในหลอดทดลองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 ซม. ภายในมีแผ่นแตนเบียนไข่ที่อยู่ในระยะดักแด้ พร้อมฟักในวันรุ่งขึ้น 1 แผ่น ใช้ฟูกันจุ่มน้ำผึ้ง 10% ทาหลอดแก้วด้านในไว้เป็นอาหารของแตนเบียน นำสำลีปิดปากหลอดทดลอง ปลอ่ยให้เบียนนาน 24 ชม. ไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ถูกเบียนเปลี่ยนเป็นสีดำภายใน 3 วัน นำแผ่นไข่ที่ถูกเบียนใส่ในหลอดทดลองใหม่ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเบียน เปอร์เซ็นต์การฟัก โดยสุ่มทั้งหมด 5 จุด ขนาดพื้นที่จุดละ 0.25 ซม.² (ภาพที่ 3.1) และนับจำนวนตัวเต็มวัยของแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. และสัดส่วนเพศที่ได้ในแต่ละวัน ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ



ภาพที่ 3.1 ตำแหน่งการสุ่มนับ 5 จุดจากแผ่นแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp.

2. การศึกษาดารงชีวิตของผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

ศึกษาดารงชีวิตของผีเสื้อข้าวสารจากระยะไข่ถึงตัวเต็มวัย ในห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ช่วงเดือนกันยายน – ธันวาคม 2548 นำไข่ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 50 ฟอง มาวางลงบนจานแก้ว ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ซม. หลังจากนั้นโรยรำละเอียดใหม่ๆ ปริมาณเล็กน้อยและเพิ่มปริมาณขึ้นทุกวันเมื่อหนอนผีเสื้อข้าวสารอายุมากขึ้น บันทึกพัฒนาการการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวสารทุกวันโดยใช้ฟูกันเบอร์ 1 และปลายเข็มหมุด นับจำนวนด้วยการเขี่ยอาหารออกจากผีเสื้อข้าวสารระยะต่างๆ เลี้ยงจนกระทั่งตัวเต็มวัยตาย บันทึกเปอร์เซ็นต์การฟักของไข่ น้ำหนัก ความกว้างของหัวกะโหลก ความยาวและความกว้างของหนอน น้ำหนัก ความยาวและความกว้างของดักแด้ สัดส่วนเพศ ระยะเวลาพัฒนาการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวสาร และจำนวนการรอดชีวิตของผีเสื้อข้าวสาร ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

3. การศึกษาผลของอาหารต่อพัฒนาการของผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

3.1 ผลของชนิดอาหารต่อพัฒนาการของผีเสื้อข้าวสาร

ศึกษาผลการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวสารจากอาหารชนิดต่างๆ ได้แก่ ปลายข้าว ข้าว ปลายข้าวเหนียว รำละเอียด และรำหยาบ (ภาพที่ 3.2) ก่อนการทดลองนำอาหารใส่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ $-15 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นาน 3 สัปดาห์ เพื่อกำจัดแมลงชนิดอื่นที่ติดมากับอาหาร หลังจากนั้นนำชั่งน้ำหนักอาหารที่เลี้ยงตามกรรมวิธีที่ทดสอบ ใส่อาหารในกล่องพลาสติกขนาด $30 \times 20 \times 10$ ซม.³ ชั่งไข่ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 0.05 กรัม (ประมาณ $1,296 \pm 40.24$ ฟอง) นำมาโรยบนอาหารและนำกล่องเลี้ยงไปวางไว้ในห้องเพาะเลี้ยงผีเสื้อข้าวสารที่อุณหภูมิห้อง $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ทดสอบระหว่างเดือนพฤษภาคม – กรกฎาคม 2546

อาหารที่ใช้ทดสอบตลอดการทดลองเป็นอาหารที่นำมาจากโรงสีที่สี่เสร็จใหม่ๆ จากโรงสีสหกรณ์ จังหวัดขอนแก่น โดยสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบ แบ่งเป็น 10 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

- กรรมวิธีที่ 1) ปลายข้าวข้าว 700 กรัม
- กรรมวิธีที่ 2) ปลายข้าวเหนียว 700 กรัม
- กรรมวิธีที่ 3) รำละเอียด 700 กรัม
- กรรมวิธีที่ 4) รำหยาบ 700 กรัม
- กรรมวิธีที่ 5) ปลายข้าวข้าว+ ปลายข้าวเหนียว (350 กรัม + 350 กรัม)
- กรรมวิธีที่ 6) ปลายข้าวข้าว + รำละเอียด (350 กรัม + 350 กรัม)
- กรรมวิธีที่ 7) ปลายข้าวข้าว + รำหยาบ (350 กรัม + 350 กรัม)
- กรรมวิธีที่ 8) ปลายข้าวเหนียว + รำละเอียด (350 กรัม + 350 กรัม)

กรรมวิธีที่ 9) ปลาขี้ขาวเหนียว + ร้าหยาบ (350 กรัม + 350 กรัม)

กรรมวิธีที่ 10) ร้าละเอียด + ร้าหยาบ (350 กรัม + 350 กรัม)

บันทึกผลการทดลองดังนี้ ระยะหนอน เมื่อหนอนมีอายุ 10, 20 และ 30 วัน บันทึกน้ำหนัก วัดความกว้างหัวกะโหลก ความยาวและความกว้างของหนอน ระยะดักแด้ บันทึกน้ำหนัก ความยาว และความกว้างของดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย บันทึกจำนวนของตัวเต็มวัย สัดส่วนเพศที่ได้ และ อัตราการวางไข่ของผีเสื้อ สุ่มวัดจากกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ

นำข้อมูลที่ได้หาค่าการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (Relative Growth Rate) จากสูตรของ Omkar and Srivastava (2003) ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{Relative Growth Rate (RGR)} &= \frac{\text{fresh weight gained}}{\text{instar duration}} \\ &= \frac{W_2 - W_1}{T_2 - T_1} \end{aligned}$$

เมื่อ W คือ น้ำหนัก มีหน่วยเป็น มก.

T คือ ช่วงอายุ มีหน่วยเป็น วัน

W_2 และ W_1 คือ น้ำหนักแมลงที่อายุ T_2 และ T_1



ก.



ข.



ค.



ง.

ภาพที่ 3.2 ชนิดของอาหารที่นำมาเลี้ยงผีเสื้อข้าวสาร *Corcyra cephalonica* (Stainton)

ก. ปลาขี้ขาวจ้าว

ข. ปลาขี้ขาวเหนียว

ค. ร้าละเอียด

ง. ร้าหยาบ

3.2 ผลของปริมาณอาหารและอุณหภูมิต่อการพัฒนาการของผีเสื้อข้าวสาร

จากการทดลองข้อ 3.1 พบว่า อาหารสูตรที่ 3 (รำละเอียด) เป็นอาหารที่ดีที่สุดและเหมาะสมในการเลี้ยงผีเสื้อข้าวสาร แต่การรอดชีวิตของผีเสื้อข้าวสารตัวเต็มวัยอยู่ในระดับที่ต่ำกว่า 50% จึงได้ศึกษาเกี่ยวกับผลของปัจจัยอื่นๆ ที่อาจมีผลต่อการเจริญเติบโตและการรอดชีวิตของผีเสื้อข้าวสาร จึงทดสอบผลกระทบของปริมาณอาหาร อุณหภูมิ ต่อการพัฒนาการเจริญเติบโตผีเสื้อข้าวสาร โดยนำไข่ผีเสื้อข้าวสารจำนวน 1,000 ฟอง ปล่อยลงในกล่องพลาสติกขนาด 20x10x10 ซม.³ ที่บรรจุอาหาร 300, 500 และ 700 กรัม ทดสอบในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4 ระดับ คือ ที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 40°C ทดลองจำนวน 4 ซ้ำ

บันทึกผลการทดลองระยะหนอน ดังนี้ เมื่อหนอนมีอายุ 10, 20 และ 30 วัน บันทึกน้ำหนัก วัดความกว้างหัวกะโหลก ความยาวและความกว้างของหนอน ระยะดักแด่ บันทึกน้ำหนัก ความยาวและความกว้างของดักแด่ และระยะตัวเต็มวัย บันทึกจำนวนของตัวเต็มวัย สัดส่วนเพศ และอัตราการวางไข่ของผีเสื้อ

4. ผลของไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ได้จากอาหารสูตรต่างๆ ต่อการเบียนของแตนเบียนไข่

Trichogramma sp.

นำไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ (จากข้อ 3.1) มาทดสอบการเบียนและการฟักของแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. ในห้องควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 1 °C ในระหว่างเดือนกรกฎาคม – สิงหาคม 2546 โดยนำกระดาษหนา 100 แกรม มาตัดให้มีขนาด 1x5 ซม.² นำกระดาษที่ตัดไว้แล้วมาทากาวติดขอบด้านหนึ่งไว้ให้มีขนาด 1x2 ซม.² หลังจากนั้นนำไข่ผีเสื้อข้าวสารที่ได้จากอาหารสูตรต่างๆ จำนวน 100 ฟอง ปล่อยบนกระดาษให้เต็มเรียงเป็นชั้นเดียวในส่วนที่ทากาวไว้แล้ว จากนั้นนำไปผ่านแสง UV 15 นาที และนำไปใส่ในหลอดทดลองที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ซม. ที่มีแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. ระยะตัวเต็มวัย อายุ 1 วัน จำนวน 10 คู่ ใช้ฟุ้งกันจุ่มน้ำผึ้งทาหลอดแก้วด้านในไว้เป็นอาหารของแตนเบียนไข่เล็กน้อย นำสำลีปิดปากหลอดทดลอง บันทึกเปอร์เซ็นต์การเบียน เปอร์เซ็นต์การฟัก และนับจำนวนตัวเต็มวัยของแตนเบียนไข่ *Trichogramma* sp. และสัดส่วนเพศที่ได้ในแต่ละวัน ทดลองจำนวน 20 ซ้ำ

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

5.1 ใช้แผนการทดลองแบบสมบูรณ์ (CRD)

5.2 นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างด้วย Duncan's New Multiple Test ที่ 95% ($P \leq 0.05$) และ ที่ 99% ($P \leq 0.01$) โดยใช้โปรแกรม SAS (Statistical Analysis System)