



วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีการทั่วไป

เก็บหนอนแมลงวันแดงที่กักกันอยู่ในแสงขาวและดำลึกลงจากสภาพธรรมชาติ เพื่อนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ในห้องทดลอง ให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับการทดลองในระยะต่างๆ อาหารที่ใช้เลี้ยงตัวเต็มวัยประกอบด้วย yeast hydrolysate ผสมน้ำผึ้งในอัตราส่วน 3:1 และน้ำตาลก้อน ส่วนอาหารที่ใช้เลี้ยงหนอน จะใช้ผลแมลงวันแดง แดงล้าน และมะละกที่เป็นพืชอาหารของแมลงหนอนเวียนกันไป

ในการทดลองที่ต้องทำเครื่องหมายแมลง เพื่อให้สามารถแยกแยะแมลงเป็นรายตัวได้ จะนำแมลงไปแช่เย็นราว 1 นาที เพื่อให้เคลื่อนไหวช้าลง แล้วใช้ไม้จิ้มฟันตะยาทาเล็บในการทำเครื่องหมายบนส่วนอก ซึ่งได้ทดสอบแล้วว่าไม่มีผลเสียต่อแมลง

ในการศึกษาพฤติกรรมเพศของแมลงวันแดงในห้องปฏิบัติการ จะทำในช่วงเวลาโพลีเพล็กซ์ประมาณ 40 นาที ก่อน จนถึง 20 นาที หลังดวงอาทิตย์ตกดิน โดยอาศัยแสงตามธรรมชาติ ระหว่างช่วงเวลาดังกล่าว ตัวผู้จะกระพือปีกและมีการเผชิญหน้ากับตัวผู้ตัวอื่น การกระพือปีกเป็นการส่งสัญญาณที่มีความสำคัญในการดึงดูดตัวเมีย และกระตุ้นการจับคู่ผสมพันธุ์ (Poramarcom 1988) โดยจะดำเนินการศึกษาทดลองตามลำดับดังนี้คือ (1) การทดสอบความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์และการดึงดูดตัวเมีย (2) การคัดเลือกตัวผู้ที่มีความสามารถในการจับคู่ผสมพันธุ์ต่างกันเป็น 4 ประเภท (3) วัดความสามารถของตัวผู้เหล่านี้ในการดึงดูดตัวเมีย และระยะเวลาที่ตัวผู้แต่ละประเภทกระพือปีก (4) วิธีการประยุกต์ใช้ไฟโรโมนตัวผู้เพื่อดึงดูดตัวเมียมาจำกัด

การทดสอบความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์และดึงดูดตัวเมีย

การทดสอบนี้ประกอบด้วยทดลองต่อเนื่อง 2 ชุด โดยในชุดแรกเป็นการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์ แล้วตามด้วยการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมีย ส่วนการทดลองชุดที่ 2 เป็นการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมื่อก่อนแล้วจึงตามด้วยการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์ การสลับลำดับการทดลองเช่นนี้เพื่อควบคุมผลที่อาจเกิดขึ้นจากประสบการณ์และมีต่อพฤติกรรมทางเพศของตัวผู้

ชุดที่ 1. การประเมินความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์ แล้วตามด้วยการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมีย

โดยปล่อยให้ตัวผู้และตัวเมีย 12 คู่ผสมพันธุ์กัน ในถังพลาสติกทรงกระบอกที่แสงผ่านเข้าได้ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 20 ซม. ความจุประมาณ 1 แกลลอนหรือ 4 ลิตร ทำทั้งหมด 25 ชั่วโมงเป็นทดลองตัวผู้จำนวน 300 ตัว โดยจับคู่ผสมพันธุ์ออกทุกวัน ประมาณ 20 นาทีหลังดวงอาทิตย์ตกดิน เช้าวันรุ่งขึ้นจะปล่อยตัวผู้ที่ได้จับคู่ผสมพันธุ์กลับเข้าไปในกรงทดลองเดิม พร้อมกับเปลี่ยนตัว

เมือชุดใหม่อีก 12 ตัวซึ่งเป็นจำนวนเท่ากับตัวผู้ โดยเปลี่ยนทุกวัน ทำการทดลองเช่นนี้ต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน จนสามารถคัดเลือกได้ตัวผู้ที่สามารถผสมพันธุ์กับตัวเมีย 0, 1, 2 และ 3 ครั้ง ครอบคลุมทุกประเภท แล้วจะใช้ตัวผู้เหล่านี้ในการทดสอบเพื่อประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมีย

ในการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมีย จะใส่ตัวผู้แต่ละประเภทในถุงผ้าโปร่งทรงกระบอกขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 ซม. สูง 5-6 ซม. ซึ่งฟิโรโมนระเหยออกไปได้ถุงละ 1 ตัว จำนวน 4 ถุง นำไปแขวนให้กระจายสม่ำเสมอบนกิ่งของต้นฝรั่งที่ปลูกในกระถาง ซึ่งวางไว้ในกรงตาข่ายขนาด $100 \times 100 \times 100$ ลบ. ซม. ปลอ่ยตัวเมียที่เจริญเติบโตทางเพศแล้วเข้าไปในกรงตาข่ายนี้ 40 ตัว/ซ้ำ ทำการทดลองนาน 1 ชม. จับตัวเมียที่ตอบสนองโดยลงเกาะถุงซึ่งมีตัวผู้ออกจากกรงและนับจำนวน ทำการทดสอบตัวผู้ทั้งหมด 25 กลุ่ม

ชุดที่ 2. การประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมีย แล้วตามด้วยการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการจับคู่ผสมพันธุ์

ทำการทดลองเพื่อประเมินความสามารถของตัวผู้ในการดึงดูดตัวเมียทำนองเดียวกับชุดที่ 1 แล้วจึงแบ่งตัวผู้ตามจำนวนตัวเมียที่มันดึงดูด เป็น 2 ประเภท ได้แก่ “ไม่ดึงดูด” คือตัวผู้ที่ไม่สามารถดึงดูดตัวเมียได้เลย และ “ดึงดูด” คือตัวผู้ที่สามารถดึงดูดตัวเมียได้ 1 ตัวขึ้นไป ปรากฏว่าได้ตัวผู้ประเภทละ 45 ตัว สำหรับการประเมินความสามารถในการจับคู่ผสมพันธุ์ต่อไป

ในการประเมินความสามารถของตัวผู้ในการผสมพันธุ์ จะใส่ตัวผู้ที่ “ดึงดูด” “ไม่ดึงดูด” และตัวเมีย อย่างละ 1 ตัวในกรงขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม. สูง 8 ซม. ตรวจสอบที่กผลการจับคู่ผสมพันธุ์เมื่อตัวผู้ตัวใดตัวหนึ่งได้ผสมพันธุ์ หรือผ่านไป 5 วัน โดยไม่มีการผสมพันธุ์ ขึ้นกับว่ากรณีใดเกิดขึ้นก่อน

การคัดเลือกตัวผู้ที่มีความสามารถในการผสมพันธุ์

การคัดเลือกตัวผู้ที่จับคู่ผสมพันธุ์ จะทำโดยทำเครื่องหมายตัวผู้และตัวเมีย 12 คู่ ที่เจริญเติบโตทางเพศแล้ว แต่ยังไม่ผสมพันธุ์ แล้วปล่อยเข้าไปให้ผสมพันธุ์กัน ในถังพลาสติกทรงกระบอกที่แสงผ่านเข้าได้ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 ซม. สูง 20 ซม. ความจุประมาณ 1 แกลลอนหรือ 4 ลิตร ทำทั้งหมด 30 ซ้ำ รวมเป็นทดลองตัวผู้จำนวน 360 ตัว ให้น้ำและอาหารตามปกติทุกวัน จะงดให้อาหารในช่วงทดลอง ตรวจสอบที่กผลและจับคู่ผสมพันธุ์ออกทุกวัน ประมาณ 20 นาทีหลังดวงอาทิตย์ตกดิน เพราะเมื่อแสงลงวันแดงผสมพันธุ์ช่วงเวลาโพล้เพล้ของวันก็จะยังคงจับคู่อยู่ระยะหนึ่ง หรือบางคู่อาจคงจับคู่อยู่นานจนได้รับแสงในเวลาเช้าจึงแยกกัน เช้าวันรุ่งขึ้นจะปล่อยตัวผู้ที่ได้จับคู่ผสมพันธุ์กลับเข้าไปในกรงทดลองเดิม พร้อมกับเปลี่ยนตัวเมียชุดใหม่อีก 12 ตัวซึ่งเป็นจำนวนเท่ากับตัวผู้ โดยเปลี่ยนทุกวัน ทำการทดลองเช่นนี้ต่อเนื่องเป็นเวลา 7 วัน จนสามารถคัดเลือกได้ตัวผู้ที่สามารถผสมพันธุ์กับตัวเมีย 0, 1, 2 และ 3 ครั้ง ครอบคลุมทุกประเภท การทดลองเช่นนี้เปิดโอกาสให้ตัวผู้มีการแข่งขัน

กัน และตัวเมียได้แสดงความชอบในการยอมรับตัวผู้ ซึ่งจะมีผลต่อความสำเร็จในการผสมพันธุ์ของตัวผู้

การคัดเลือกตัวผู้ที่สามารถผลิตและปล่อยฟีโรโมนเพศดึงดูดตัวเมียได้จำนวนมาก

คัดเลือกแมลงวันแดงตัวผู้ที่ได้ผสมพันธุ์กับตัวเมีย 0, 1, 2 และ 3 ครั้ง นำไปใส่ในถุงผ้าโปร่งทรงกระบอกขนาดเล็ก เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-4 ซม. สูง 5-6 ซม. ซึ่งฟีโรโมนระเหยออกไปได้สูงละ 2-3 ตัว นำไปแขวนให้กระจายสม่ำเสมอบนกิ่งของต้นฝรั่งที่ปลูกในกระถาง ซึ่งวางไว้ในกรงตาข่ายขนาด $100 \times 100 \times 100$ ลบ. ซม. กำหนดหมายเลขบนใบและกิ่งสำหรับแขวนถุง ปล่อยตัวเมียที่เจริญเติบโตทางเพศแล้วเข้าไปในกรงตาข่ายนี้ 40 ตัว/ชั่วโมง โดยทดลองตัวผู้ประเภทละ 5 ตัว/ชั่วโมง ทำ 5 ชั่วโมง ตัวเมียทุกตัวมีโอกาสเท่ากันในการบินเข้าไปหาตัวผู้ โดยไม่ถูกรบกวนจากพฤติกรรมก้าวร้าวระหว่างตัวผู้ หรือความพยายามในการเข้าจับคู่ผสมพันธุ์กับตัวเมีย สังเกตและบันทึกจำนวนครั้งที่ตัวเมียลงเกาะถุงที่มีตัวผู้ และระยะเวลาที่ตัวผู้สามารถระพือปีกส่งสัญญาณเพศปล่อยฟีโรโมนเพศดึงดูดตัวเมียได้ เพื่อเปรียบเทียบว่าตัวผู้ประเภทต่างๆ จะเป็นตัวผู้ที่มีความสามารถในการระพือปีกส่งฟีโรโมนเพศดึงดูดตัวเมียได้ดีแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร

การตัดสินใจว่าตัวเมียใดถูกดึงดูดเข้าหาตัวผู้ จะต้องเป็นตัวเมียที่บินลงเกาะถุงที่มีตัวผู้ระพือปีกอยู่ภายใน และตัวเมียยังคงเกาะถุงอยู่อย่างน้อย 1 นาที บันทึกจำนวนครั้งที่ตัวเมียลงเกาะถุง และจำนวนตัวเมียที่ลงเกาะถุงซึ่งมีตัวผู้ ก่อนจับตัวเมียที่ตอบสนองออกจากกรง

ศึกษาวิธีการประยุกต์ใช้ฟีโรโมนเพศผู้เพื่อดึงดูดตัวเมียมากำจัด

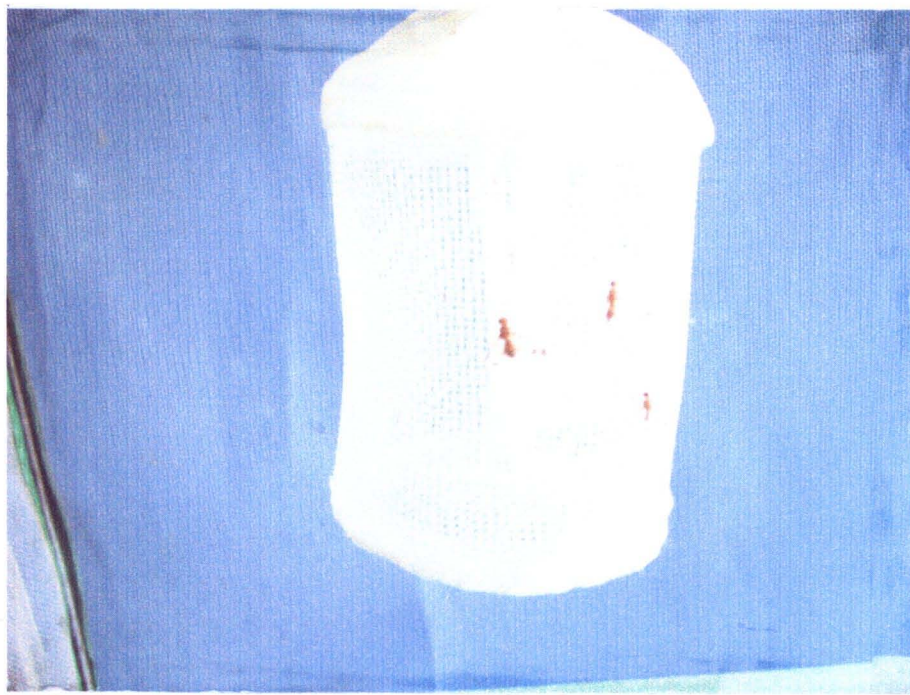
ทำการทดลอง 2 ชั้น ชั้นแรกนำตัวผู้ที่ได้ผสมพันธุ์กับตัวเมีย 0, 1, 2 และ 3 ครั้ง ใส่ในถุงผ้าโปร่งโดยทดลองเหมือนข้างต้น เพื่อหาว่าตัวผู้แต่ละประเภทสามารถผลิตและปล่อยฟีโรโมนเพศดึงดูดตัวเมียได้เป็นจำนวนเท่าไร

ชั้นที่ 2 ทำถุงผ้าโปร่งขนาดเล็กต่างกัน 2 ใบ ซึ่งซ้อนกันได้โดยตัวถุงไม่สัมผัสกัน นำถุงชั้นนอกไปชุบยาฆ่าแมลงปล่อยให้แห้ง ก่อนจะนำตัวผู้ที่ได้ผสมพันธุ์กับตัวเมีย 0, 1, 2 และ 3 ครั้ง ใส่ในถุงใบในซึ่งมีขนาดเล็กกว่า โดยใส่สูงละ 2-3 ตัว แล้วนำไปซ้อนไว้ข้างในถุงที่ชุบยาฆ่าแมลงโดยไม่ให้ตัวถุงสัมผัสกัน แล้วนำไปแขวนให้กระจายสม่ำเสมอบนกิ่งต้นฝรั่งที่ปลูกในกระถาง ซึ่งวางไว้ในกรงตาข่ายขนาด $100 \times 100 \times 100$ ลบ. ซม. ทดลองตัวผู้ประเภทละ 5 ตัว/ชั่วโมง ปล่อยตัวเมียที่เจริญเติบโตทางเพศแล้วเข้าไปในกรงตาข่ายนี้ 50 ตัว/ชั่วโมง ทำ 5 ชั่วโมง โดยปล่อยไว้นาน 1 คืนเพื่อให้ตัวเมียที่มาเกาะถุงชั้นนอกเพราะถูกดึงดูดด้วยตัวผู้ซึ่งระพือปีกอยู่ในถุงชั้นใน ได้สัมผัสยาฆ่าแมลงจนร่วงตาย (ภาพที่ 1)

เนื่องจาก malathion เป็นยาฆ่าแมลงชนิดหนึ่งในกลุ่ม organophosphate ที่ถูกเลือกใช้สำหรับป้องกันกำจัดแมลงวันผลไม้โดยตรง ใช้ผสมกับ protein hydrolysate เป็นเหยื่อพิษ (Roessler 1989)

หรือใช้ผสมกับสารล่อ cue lure หยดบนสำลีหรือกระดาษแขวนไว้ในกับดักแมลงวันผลไม้แบบ Steiner (Vargas et al. 2003) ดังนั้น malathion 83% EC จึงถูกเลือกใช้ในครั้งนี้เพื่อศึกษาการใช้ร่วมกับฟีโรโมนเพศผู้เพื่อดึงดูดแมลงวันแดงตัวเมียมากำจัด

การเก็บและนับจำนวนตัวเมียที่ร่วงตายเพราะได้สัมผัส malathion จะทำโดยการวางไว้ใต้ถุงผ้าโปร่งซึ่งบรรจุตัวผู้แต่ละประเภท สำหรับรองรับตัวเมียที่มากาะถุงตัวผู้และร่วงตายขณะที่ยังเกาะถุงอยู่ ข้อมูลส่วนที่จะขาดไปคือตัวเมียที่ตายนอกบริเวณถาด ซึ่งเป็นตัวเมียที่ได้สัมผัสยาฆ่าแมลงแล้วไม่ตายทันที แต่เคลื่อนย้ายไปที่ส่วนอื่นของกรงและตายในภายหลัง



ภาพที่1 แมลงวันแดงตัวเมียที่ถูกดึงดูดมากาะถุงชั้นนอกและสัมผัส malathion

