บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

การเตรียมข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ในการเลี้ยงผีเสื้อข้าวเปลือก

เก็บตัวอย่างผีเสื้อข้าวเปลือกจากแหล่งเก็บรักษาข้าวเปลือก ของเกษตรกรในพื้นที่อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณในห้องปฏิบัติการ โดยนำข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แช่แข็ง 5-7 วัน เพื่อกำจัดแมลงอื่นที่ปะปนมา จากนั้นทิ้งไว้ให้อุณหภูมิของเมล็ดข้าวเปลือกเพิ่มขึ้นจนเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วทำการปรับความชื้นเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแมลง

การเพิ่มปริมาณผีเสื้อข้าวเปลือกในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ เพื่อใช้ในการทดลอง

การเลี้ยงผีเสื้อข้าวเปลือกในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพันธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ของแมลง โดยใช้กล่องพลาสติกปิด ขนาดกว้าง 12 นิ้ว ยาว 25 นิ้ว สูง 12 นิ้ว บรรจุสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นบริเวณก้นกล่อง ประมาณ 1.5 ลิตร มีชั้นวางด้านในป้องกันไม่ให้เมล็ดข้าวเปลือกหรือแมลงเปียกสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ หลังจากนั้นนำข้าวเปลือกใส่ในกล่องพลาสติกทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.5 เซนติเมตร สูง 14.5 เซนติเมตร สำหรับเลี้ยงแมลง 200 กรัม จากนั้นจับตัวเต็มวัยของผีเสื้อข้าวเปลือกด้วย aspirator ประมาณ 100 ตัว นำไปปล่อยในกล่องพลาสติกทรงกลมพร้อมข้าวเปลือกที่เตรียมไว้ ปล่อยให้ผีเสื้อข้าวเปลือกวางไข่ และเจริญเป็น หนอน และดักแด้

ระยะไข่ คัดแยกข้าวเปลือกที่มีไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกออกมา ปล่อยให้เจริญเป็นหนอนและดักแด้ซึ่งใช้เวลาเวลาประมาณ 25 วัน สังเกตระยะดักแด้ได้จากลักษณะเมล็ดข้าวเปลือก โดยก่อนจะเข้าดักแด้หนอนจะกัดเปลือกของข้าวเปลือกเป็นรูปวงกลม จนเหลือแต่เยื่อบาง ๆ แล้วจึงเข้าดักแด้ ใส่เมล็ดข้าวที่มีดักแด้ของผีเสื้อข้าวเปลือก ลงในกล่องพลาสติกทรงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 13.5 เซนติเมตร สูง 14.5 เซนติเมตร พร้อมข้าวเปลือกที่สะอาดและผ่านการปรับความชื้นแล้ว ปล่อยให้ดักแด้ใน stock culture ของผีเสื้อข้าวเปลือกเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย ใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน หลังจากออกเป็นตัวเต็มวัยแล้วผีเสื้อข้าวเปลือกจะจับคู่ผสมพันธุ์ และวางไข่บนเมล็ดข้าวเปลือก หรือวางตามขั้วเมล็ด และกลีบรองเมล็ด วิธีนี้ทำให้ได้ผีเสื้อข้าวเปลือกที่มาวางไข่ไม่ซ้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

หรือตายจากการดูดด้วย aspirator เพราะอาจมีผลกระทบกับผีเสื้อทำให้มีการวางไข่ที่น้อยลงได้ ไข่จะเปลี่ยนสีเป็นชมพูอ่อนอมส้มและแดงอมส้มเมื่อใกล้ฟักเป็นหนอน ระยะไข่ปกติ 4-6 วัน ระยะไข่ที่ใช้ทดลองหลังจากผีเสื้อตัวเมียวางไข่อายุประมาณ 2-3 วัน โดยใช้ forceps คัดแยกข้าวเปลือกที่มีไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ เพื่อใช้ในงานทดลองต่อไป

ระยะหนอน ทำเช่นเดียวกับการเตรียมผีเสื้อข้าวเปลือกในระยะไข่ โดยปล่อยให้แม่ผีเสื้อวางไข่บนข้าวเปลือกที่สะอาด และรอจนกระทั่งเป็นตัวหนอนใช้เวลา 4-6 วัน เห็นหนอนวัยแรกเป็นสีชมพูอมส้ม ขนาดลำตัวยาว 1 มิลลิเมตร หนอนเคลื่อนที่อย่างว่องไว ไต่อยู่บริเวณเมล็ดข้าวเปลือก ซึ่งในการทดลองจะเลือกใช้หนอนอายุ 14-16 วัน หลังจากระยะไข่ โดยสังเกตจากเมล็ดข้าวเปลือก มีรูเจาะเข้าโดยการส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ นำเมล็ดข้าวที่มีระยะหนอนมาใช้ในการทดลอง

ระยะดักแด้ ใช้วิธีเดียวกับระยะหนอนแต่ทิ้งไว้ประมาณ 20-25 วัน หลังจากระยะไข่ เพื่อให้หนอนเข้าดักแด้ ซึ่งระยะดักแด้จะมองเห็นเมล็ดข้าวเปลือกพร้อมร่องรอยที่หนอนกัดเป็นวงกลมโดยเห็นเป็นเยื่อบาง ๆ ชัดเจนมากกว่าระยะหนอน

วิธีการเตรียมผีเสื้อข้าวเปลือกระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ เพื่อใช้วัดคุณสมบัติไดอิเล็กทริก

นำข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มาปรับความชื้นให้เป็น 15 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นความชื้นต่ำสุดที่สามารถเพิ่มปริมาณแมลงและนำมาทดสอบได้ กรณีที่ข้าวเปลือกความชื้นต่ำกว่านี้พบว่าไม่สามารถกระตุ้นให้แมลงวางไข่จนมากพอที่จะนำมาทดสอบได้ ซึ่งอาจส่งผลต่อการวัดคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของข้าวเปลือก และข้าวเปลือกที่มีแมลง

วิธีการวัดคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของเมล็ดข้าวเปลือก และเมล็ดข้าวเปลือกที่มีผีเสื้อข้าวเปลือกทั้ง 3 ระยะ (ไข่ หนอน และดักแด้) โดยใช้ข้าวเปลือก 50 กรัม ต่อผีเสื้อข้าวเปลือก 400 ตัว การเตรียมแมลงเพื่อใช้วัดคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของระยะไข่ คือ เลือกผีเสื้อข้าวเปลือกระยะดักแด้อายุประมาณ 25 วัน จำนวน 400 ตัว ใส่ลงไปในข้าวสะอาด 50 กรัม ที่ปรับความชื้นไว้แล้ว รอให้ดักแด้ของผีเสื้อข้าวเปลือกเจริญเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน รอให้ตัวเต็มวัยจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ประมาณ 2-3 วัน หลังจากนั้นปล่อยตัวเต็มวัยทิ้ง นำข้าวเปลือก 50 กรัม ที่มีไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกไปวัดค่าไดอิเล็กทริก สำหรับการเตรียมแมลงเพื่อวัดคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของระยะหนอน และระยะดักแด้ทำเช่นเดียวกับระยะไข่ คือ นำผีเสื้อข้าวเปลือกระยะดักแด้อายุประมาณ 25 วัน จำนวน 400 ตัว รอให้ดักแด้ของผีเสื้อข้าวเปลือกเจริญเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน รอให้ตัวเต็มวัยจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ จนเจริญเติบโตไปเป็นระยะหนอนเพื่อใช้สำหรับวัดค่าไดอิเล็กทริกที่อายุประมาณ 14-16 วัน และวัดค่าไดอิเล็กทริกของดักแด้อายุประมาณ 25 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของข้าวเปลือกและผีเสื้อข้าวเปลือกระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของข้าวเปลือกและระยะการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวเปลือก ที่ความชื้นข้าวเปลือก 15 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองกับผีเสื้อข้าวเปลือก 3 ระยะ (ระยะไข่อายุประมาณ 2-3 วัน ระยะตัวหนอนอายุประมาณ 14-16 วัน และระยะดักแด้อายุประมาณ 25 วัน) โดยใช้เครื่องวิเคราะห์อิมพีแดนซ์ความแม่นยำสูง (impedance analyzer) หัววัดแบบ open-ended coaxial วัดที่ช่วงความถี่ 0-50 MHz ที่ระยะเพลท 2 ระยะ คือ 1.00 และ 1.50 เซนติเมตร บรรจุเมล็ดเต็มระยะห่างระหว่างแผ่นเพลท (แผ่นเพลทอะลูมิเนียมขนาด 10×10 เซนติเมตร) วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียล โดยศึกษา 2 ปัจจัยได้แก่ ปัจจัยแรกคือ ผีเสื้อข้าวเปลือก 3 ระยะ และเมล็ดข้าวเปลือกที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ และปัจจัยที่สอง คือ ย่านความถี่ 3 ระดับ (13.27, 27.55 และ 41.84 MHz) ในแต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 5 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าที่ได้ด้วย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

การทดลองที่ 2 การศึกษาระยะการเจริญเติบโตของผีเสื้อข้าวเปลือกที่มีความทนทานต่อคลื่นความถี่วิทยุ

นำผีเสื้อข้าวเปลือกระยะไข่ ระยะหนอน และระยะดักแด้ มาทดลองโดยในแต่ละระยะใช้จำนวน 30 ตัว ใส่ลงในกลางถุงกระสอบป่าน ขนาด 20 x 25 เซนติเมตร พร้อมกับเมล็ดข้าวเปลือกที่มีความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นความชื้นที่ยอมรับได้ในการเก็บรักษาข้าวเปลือก และแมลงสามารถเจริญเติบโตได้ น้ำหนัก 800 กรัม นำไปผ่าน RF 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 700 วัตต์ เวลา 120 วินาที เพื่อหาระยะทนทานที่แมลงสามารถอยู่รอดได้มากที่สุด ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ตรวจสอบแมลงหลังจากเก็บรักษาไว้ 4 สัปดาห์ และแมลงรุ่นลูกหลังจากเก็บไว้อีก 4 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบกับชุดที่ไม่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ (ชุดควบคุม) นำมาคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายโดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) ข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าที่ได้ด้วย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 การศึกษาอัตราการใช้คลื่นความถี่วิทยุในอุณหภูมิและระยะเวลาเหมาะสมที่ทำให้ผีเสื้อข้าวเปลือกตายอย่างสมบูรณ์

นำผีเสื้อข้าวเปลือกระยะทนทาน หรือพบการตายน้อยที่สุดจากการทดลองแรก จำนวน 30 ตัว ใส่ในภาชนะบรรจุกระสอบป่าน ขนาด 20 x 25 เซนติเมตร พร้อมกับบรรจุข้าวเปลือกความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์ เต็มถุงน้ำหนัก 800 กรัม นำไปผ่าน RF 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 700 วัตต์ ระยะเวลาในการให้พลังงานคือ 120, 140, 160, 180, 200 และ 220 วินาที วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) แต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 4 ซ้ำ คำนวณเปอร์เซ็นต์การตายของผีเสื้อข้าวเปลือก

วิธีการวัดการตายของผีเสื้อข้าวเปลือก

ตรวจนับจำนวนแมลงระยะตัวเต็มวัยที่รอดตาย จำนวนแมลงที่ตายได้จากจำนวนแมลงที่รอดลบด้วยจำนวนแมลงที่นำมาทดสอบก่อนที่จะผ่านคลื่น (30 ตัว) และคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การตายในชุดที่ผ่านคลื่นโดยนำมาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) (Abbott, 1925)

ซึ่งแสดงในสมการนี้

$$\text{Corrected Mortality} = \frac{\text{\% test mortality - \% control mortaltity}}{\text{100 - \% control mortality}} \times 100$$

การศึกษาคุณภาพข้าวเปลือกที่ได้รับคลื่นความถี่วิทยุ

ทำการเตรียมข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ตรวจวัดความชื้นก่อนนำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่ 27.12 MHz ที่ระดับอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 ตรวจสอบบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของข้าวโดยตรวจสอบคุณภาพการสี (เปอร์เซ็นต์ข้าวกล้อง,ข้าวขาว และต้นข้าว) สีของเมล็ดข้าวโดยวัดค่าความขาวและค่าสีเหลือง (L*และ b*) โดยใช้เครื่องวัดสี (Colorquest XE Hunter Lab, USA) ความชื้นมาตรฐานเปียก และวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลส ด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าที่ได้ด้วย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยใช้โปแกรม SPSS 17 วิเคราะห์ทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ และสถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved