

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ก. อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงแมลง ขนาดกว้าง 14 นิ้ว ยาว 24 นิ้ว สูง 16 นิ้ว
2. คานหลังและคานข้างทั้งสองคานบุด้วยลวดตาข่าย
2. กล้องพลาสติกสีเหลี่ยม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้ว สูง 2.5 นิ้ว มีฝาปิด
3. กล้องพลาสติกสีเหลี่ยม ขนาดกว้าง 5.5 นิ้ว ยาว 7.5 นิ้ว สูง 3 นิ้ว
4. ผาขาวบาง
5. จุกพลาสติกขนาดใหญ่ กว้าง 12 นิ้ว ยาว 15 นิ้ว
6. สนสามใบ (*Pinus kesiya* Rolye)
7. ถาดอะลูมิเนียม ขนาดกว้าง 12 นิ้ว ยาว 16 นิ้ว พร้อมดิน
8. กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมปาว์ และ สเตอริโอ (compound and stereo microscope)
9. สไลด์และกระจกปิดสไลด์ (slide and cover glass)
10. เครื่องมือผ่าตัด 1 ชุด
11. สารเคมีสำหรับทำสไลด์ถาวร (permanent slide)

ข. วิธีการเลี้ยงแมลงเพื่อศึกษาชีวประวัติ

เก็บรวบรวมตัวหนอนและรังด้งักแคตตอนภูเขา จากป่าสวนสนในเขตตำบลบ่อหลวง หลักกิโลเมตรที่ 43, 44, 45 ถนนสายฮอด-แม่สะเรียง อำเภอฮอด และ คอยสุเทพ-ปุย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ใส่กล้องพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 นิ้ว สูง 2.5 นิ้ว มีฝาปิด หรือกรณีพบตัวหนอนจำนวนมาก ไข่อัง

พลาสติกขนาดใหญ่ โดยจับแยกกันไว้ในแต่ละต้น บันทึกจำนวนตัวหนอนและคักแค้ที่สำรวจพบในแต่ละครั้ง แล้วนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิเฉลี่ย $28 \pm 0.16^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยร้อยละ 80 ± 0.24 แยกตัวหนอนระยะใกล้เคียงกันเลี้ยงบนกิ่งสนสามใบที่มีความยาวใบสนประมาณ 15-20 ซม. ในกิ่งสนกิ่งหนึ่งมีจำนวนใบสน 20-30 กระจุใบ (fascicles) และมีตัวหนอนจำนวน 8-10 ตัวต่อ 1 กิ่ง กิ่งสนนี้จุ่มในกล่องพลาสติกที่ใส่น้ำเพื่อให้ใบสกปรกอยู่เสมอ แล้วรองด้วยกระดาษดูดน้ำที่ใส่น้ำ เพื่อให้ตัวหนอนทิ้งตัวลงไปเข้าคักแค้ที่กิน วางถาดนี้

ในกรงเลี้ยงแมลง (ภาพที่ 1) ทำการเปลี่ยนใบสนทุก ๆ 3 วัน โดยนำกิ่งสนกิ่งใหม่และที่ตัวหนอนเพื่อให้คักแค้มากินใบสนที่ใหม่, แล้วศึกษา ขนาด อายุ ลักษณะภายนอกและศึกษาพฤติกรรมของตัวหนอนขณะที่มีการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตไปจนเป็นคักแค้ ตัวหนอนที่นำมาเลี้ยงเพื่อศึกษามีทั้งหมด 8 รุ่น จำนวน 432 ตัว

สำหรับรังคักแค้ (cocoon) แยกใส่กล่องพลาสติกกล่องละ 1 รัง แล้วปิดฝา และศึกษาลักษณะภายนอก ขนาด และ อายุของคักแค้จนออกเป็นต่อสนภูเขา ระยะตัวเต็มวัย เพศผู้หรือเพศเมีย หรือเป็นแมลงเบียน ส่วนรังคักแค้ที่ออกเป็นแมลงเบียนแยกไว้ในขวดทางหาก ขวดละ 1 รัง เพื่อนำมาวิเคราะห์ห้วงค์และชนิดของแมลงเบียนเหล่านั้น

ตัวเต็มวัยของต่อสนภูเขาที่ออกจากคักแค้ นำมาศึกษา ขนาด อายุ พฤติกรรมการผสมพันธุ์ และการวางไข่ การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์, ไข่ 2 วิธีคือ วิธีแรกใช้เพศเมีย 1 ตัวต่อเพศผู้ 1-3 ตัว และอีกวิธีหนึ่งใช้เพศเมีย 1 ตัว ที่ไม่มีเพศผู้เลยใส่กล่องพลาสติกสี่เหลี่ยม มีฝาปิดที่เจาะรูกว้าง ใช้ผ้าขาวบางครอบรอบฝาปิดนี้ เพื่อให้อากาศถ่ายเทได้ ภายในกล่องพลาสติกมีกิ่งสนสามใบจุ่มในกล่องพลาสติกที่ใส่น้ำ ใบสนนี้ใช้ความยาวประมาณ 15-18 ซม. จำนวน 20 ใบต่อหนึ่งกิ่ง เพื่อให้เพศเมียวางไข่ กิ่งสนจะเปลี่ยนใหม่ทุกวันจนกว่าแมลงจะหยุด

วางไข่หรือตายไป กิ่งสนที่แมลงวางไข่แล้วในแต่ละวันแยกไว้ในกรงเลี้ยงต่างหากและศึกษาลักษณะการวางไข่บนใบสน จำนวนไข่ที่เพศเมียแต่ละตัววางในวันหนึ่ง ๆ วัชขนาด อายุและศึกษาการเจริญเติบโตของไข่ตั้งแต่เริ่มแรกจนฟักออกเป็นตัวหนอนภายใต้กล้องสเตอริโอ

ค. การศึกษาสัณฐานวิทยาของตัวเต็มวัย

1. สัณฐานวิทยาภายนอก ใช้ตัวเต็มวัยของต่อสนภูเขาเพศผู้จำนวน 30 ตัว เพศเมีย 30 ตัว แมลงเบียน 13 ตัว โดยศึกษากายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดคอมแพนและสเตอริโอ และนำส่วนโครงสร้างของหนวด ปีก ขา และอวัยวะสืบพันธุ์ทั้งเพศผู้และเพศเมียมาทำสไลด์ถาวร วิธีการทำโดยใช้ส่วนต่าง ๆ เหล่านี้จุ่มในเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้นร้อยละ 15, 35, 50, 70, 90, 95, บิวทิลแอลกอฮอล์ (buthyl alcohol), บิวทิลแอลกอฮอล์ผสมไซลีน (xylene) อัตราส่วน 1:1 ไปตามลำดับเพื่อเอาน้ำออกจากตัวแมลง ใช้เวลาประมาณ 15 นาทีในแต่ละขั้นตอน แล้วนำส่วนต่าง ๆ เหล่านี้จุ่มในไซลีน ใช้เวลาประมาณ 5-8 นาที เพื่อให้โครงสร้างนั้นใสแล้ววางส่วนต่าง ๆ นั้นบนสไลด์ หยดพิคโคไลต์ (piccolyte) ลงไปพร้อมบีกทับด้วยกระดาษมิลส์ไลค์ นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 5-7 วัน ส่วนการศึกษาสัณฐานวิทยาภายนอกของแมลงเบียนใช้วิธีการเดียวกัน แต่กรณีที่โครงสร้างนั้นเห็นรายละเอียดไม่ชัดเจนก็นำไปฟอกสีโดยการต้มกับสารละลายโปตัสเซียมไฮดรอกไซด์ (potassium hydroxide:KOH) 10% นาน 10-15 นาที ก่อนที่จะนำมาทำสไลด์ถาวร

2. สัณฐานวิทยาภายใน ของตัวเต็มวัยต่อสนภูเขา ศึกษากระบบทางเดินอาหารระบบประสาท ระบบไหลเวียนโลหิต ระบบหายใจ ระบบกล้ามเนื้อ และระบบสืบพันธุ์ โดยการผ่าตัดกายใต้กล้องสเตอริโอ ซึ่งใช้เพศผู้จำนวน 8 ตัว

เพศเมียจำนวน 30 ตัว วิธีการผ่าตัด โดยนำปากคีบลงไฟที่ตะเกียงอัลกอฮอล์ให้ร้อน แล้วตะขี้ผึ้งในถาดซึ่งผึ้งให้เหลวและผึ้งตัวเต็มวัยโดยเร็ว ทั้งให้เย็น ใช้เข็มเย็บขี้ผึ้งออกจากตัวเต็มวัย พร้อมกับใช้ใบมีดผ่าตัดผ่าแผ่นแข็งค้ำข้างลำตัวออกแล้วเสารละลายบูแอง (bain's solution) ลงไปให้ท่วมตัวแมลง ซึ่งสารนี้จะทำให้อวัยวะภายในแข็งตัว และเห็นชัดเจนยิ่งขึ้น (ข้อควรระวังสารนี้จะทำให้แสบตาได้) จากนั้นก็ใช้เข็มเย็บ เขี่ยดูอวัยวะต่าง ๆ พร้อมวาดภาพประกอบและบันทึกผลการศึกษา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved