

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

การจำแนกชนิดของผีเสื้อศัตรูยาสูบ

ทำการเก็บรวบรวมชนิดของผีเสื้อศัตรูยาสูบในโกดังเก็บใบยาสูบแห้ง จากการใช้กับดัก กาวเหนียวฟีโรโมนเพศ moth trap pheromone dispenser, (Art. No. 220-69192) (*Ephestia elutella*), borgwaldt flaver, Schnackenburgallee 15 22525, Hamburg, Germany ซึ่งเป็นฟีโรโมนสำหรับ ดึงดูดผีเสื้อ *Ephestia elutella*, *Ephestia kuehniella* และ *Plodia interpunctella* โดยใช้ฟีโรโมนเพศ ในกับดักสามเหลี่ยมสูงประมาณ 13.5 เซนติเมตร ภายในกับดักสามเหลี่ยมทาด้วยกาวเหนียวยี่ห้อ บีเทิลกลู นำกับดักสามเหลี่ยมติดเสาโกดังที่ระดับความสูงจากฐาน 1.5 เมตร ภายในโกดัง จำนวน 2 จุด ได้แก่ 1) สถานียาสูบแม่โจ้ ต.หนองหาร อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 2) สถานีใบยาปากทาง ต.สันมหาพน อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ 3) สถานีใบยาสันมหาพน ต.สันมหาพน อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่ 4) สถานีใบยาแม่เลน ต.ออนกลาง อ.แม่ออน จ.เชียงใหม่ และ 5) สถานีใบยาห้วยไซ ต.ห้วยยาบ อ.บ้านธิ จ.ลำพูน แล้วทำการสุ่มตัวอย่างผีเสื้อศัตรูยาสูบ ที่ได้จากกับดักกาวเหนียวฟีโรโมนเพศ มา วิเคราะห์จำแนกชนิด และเก็บรวบรวมตัวเต็มวัยของผีเสื้อศัตรูยาสูบในโกดังเก็บใบยาสูบแห้งตาม ผนังโกดัง และกองกระสอบใบยาสูบแห้ง นำตัวอย่างผีเสื้อเพศผู้ที่รวบรวมได้มาศึกษาอวัยวะ สืบพันธุ์ (male genitalia) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่นิยมนำมาใช้จำแนกชนิดของผีเสื้อ

ดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชากีฏวิทยา ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะ เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยนำตัวอย่างผีเสื้อเพศผู้มาผ่าตัดแยกชิ้นอวัยวะส่วนท้องออก แล้วนำไปแช่ใน 10% KOH อบด้วยความร้อนประมาณ 3 - 4 ชั่วโมง จากนั้นจึงเฉพาะ genitalia มา ทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า และแช่ในแอลกอฮอล์ 75 และ 95 เปอร์เซ็นต์ อย่างละประมาณ 5 นาที จากนั้นนำมาวางบนสไลด์ จัดรูปร่าง genitalia ให้สวยงาม นำไปอบด้วยความร้อนเพื่อให้ตัวอย่าง แห้ง หลังจากที่ได้สไลด์ genitalia แล้วนำมาถ่ายรูปใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป และจำแนกชนิด โดยเปรียบเทียบกับภาพถ่าย genitalia จากข้อมูลการจำแนกชนิดผีเสื้อยาสูบของ Boone (2005) มา ใช้ประกอบการวิเคราะห์ชนิดของผีเสื้อ ตลอดจนส่งตัวอย่างไปจำแนกเพิ่มเติมที่ห้องปฏิบัติการ Department of Entomology, Kansas State University, Kansas, U.S.A. และคุณ สุนัดดา เชาวลิค นักกีฏวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

การเพาะเลี้ยงหนอนของผีเสื้อศัตรูยาสูบด้วยอาหารเทียมเพื่อเพิ่มปริมาณ

เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยของผีเสื้อศัตรูยาสูบในโกดังเก็บใบยาสูบแห้ง ช่วงเดือนสิงหาคม ถึงเดือนกันยายน มาทำการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้อง ปลอ่ยผีเสื้อคละเพศจำนวน 20 ตัว ในขวดโหลขนาด 4x19.5 เซนติเมตร ให้สำลีชุบน้ำฝึ้งเพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัย หลังจากผีเสื้อผสมพันธุ์ และตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ ทำการเก็บไข่ทุกวันจนผีเสื้อหยุดการวางไข่ นำไข่ของผีเสื้อที่มีอายุเท่ากัน (ไข่วันเดียวกัน) ปลอ่ยให้ไข่ฟักเป็นตัวหนอน และนำไปเลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 18x25x10 เซนติเมตร ด้วยอาหารเทียม ซึ่งอาหารเทียมสูตรนี้ใช้สำหรับเลี้ยงหนอนผีเสื้อ *Plodia interpunctella* ประกอบด้วย ข้าวสาลีบดหยาบ บริวเวอร์ยีสต์ กรดซอร์บิกกรดเบนโซอิก กลีเซอริน น้ำฝึ้ง และน้ำ ปริมาณ 200 กรัม (Jenson *et al.*, 2009, 2010) จากนั้นนำมาใส่ในกล่องพลาสติกทึบแสง ขนาด 46x60x42 เซนติเมตร ที่มีสารละลายเกลือเข้มข้นเพื่อปรับความชื้นสัมพัทธ์เป็น 75 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นประมาณ 20 วัน เมื่อหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ แยกเก็บดักแด้ออกมาใส่กล่องเลี้ยงแมลงกล่องใหม่ รอการเป็นระยะตัวเต็มวัยเพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป ทำการเก็บรวบรวมตัวเต็มวัยผีเสื้อเพิ่มเติม เพื่อไม่ให้เกิดการผสมพันธุ์ในประชากรรุ่นเดียวกัน และลดปัญหาในการวางไข่และการเจริญเติบโตที่ไม่สมบูรณ์

การศึกษาชีววิทยาของผีเสื้อศัตรูยาสูบ

ศึกษาวงจรชีวิต การเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยของผีเสื้อศัตรูยาสูบ ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต ศึกษาอัตราการวางไข่ และอัตราการฟักไข่ของผีเสื้อ เมื่อเลี้ยงด้วยใบยาแห้งเวอร์จิเนีย เบอร์เลย์ เทอร์กิช และอาหารเทียม

นำผีเสื้อคละเพศจำนวน 20 ตัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในข้างต้น ใส่ในขวดโหลขนาด 4x19.5 เซนติเมตร หลังจากผีเสื้อผสมพันธุ์และตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ ทำการเก็บรวบรวมไข่ของผีเสื้อที่มีอายุเท่ากัน (ไข่วันเดียวกัน) จำนวน 200 - 300 ฟอง ใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 18x25x10 เซนติเมตร จำนวน 4 กล่อง ซึ่งแต่ละกล่องใส่ใบยาแห้งเวอร์จิเนีย เบอร์เลย์ เทอร์กิช จำนวนอย่างละ 50 กรัม และอาหารเทียม จำนวน 200 กรัม ทำการเก็บข้อมูลโดยตรวจดูไข่ บันทึกระยะเวลาการฟักของไข่ เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน สุ่มวัดระยะการเจริญของหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย จำนวน 20 ตัว บันทึกลักษณะรูปร่าง ขนาดความยาว คราบหุ้มกะโหลก ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต และเก็บข้อมูลอัตราการวางไข่ อัตราการฟักไข่ โดยนำตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียที่ออกจากดักแด้จำนวน 5 คู่ คู่ละ 1 กล่อง เลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 14x18x7 เซนติเมตร ทำการตรวจนับและบันทึกจำนวนไข่ ในแต่ละวันจนกระทั่งตัวเต็มวัยวางไข่และตายหมด ทำการตรวจนับไข่ภายใต้กล้องสเตอริโอไมโครสโคป นำข้อมูลมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ศึกษาความเสียหายที่เกิดจากหนอนผีเสื้อศัตรูยาสูบ

นำหนอนผีเสื้อวัยที่ 1 ใส่นอกกล่องเลี้ยงแมลงขนาด 18x25x10 เซนติเมตร เจาะฝากล่องแมลง และปิดด้วยตาข่ายเพื่อให้มีการระบายอากาศภายในกล่อง ใส่นอนผีเสื้อจำนวน 50 ตัว ที่มีใบยาแห้งเวอร์จิเนีย เบอร์เลย์ และเตอร์กิช จำนวน 50 กรัม ซึ่งทำให้ใบยาชื้น โดยจะนำใบยาสูบแต่ละประเภทใส่นอกกล่องพลาสติกทึบแสง ขนาด 46x60x42 เซนติเมตร ที่มีน้ำเปล่าอยู่ในกล่อง ใส่นอกกล่องประมาณ 1 - 2 คืบพอให้ใบยาชื้น ศึกษาใบยาแห้งประเภทละ 4 ชั่วโมง ทำการบันทึกจำนวนตัวหนอนที่รอดชีวิตและรอยการเข้าทำลายทุกวัน จนถึงหนอนวัยที่ 5 เข้าระยะดักแด้ และหาค่าความเสียหายโดยการชั่งน้ำหนักใบยาและหาค่าความชื้นของใบยา (กฤษณวรรณ และประไพพรรณ, 2532) ทั้งก่อนและหลังการทดลอง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved