

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

##### 3.1 การเก็บตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า

ดักจับผีเสื้อไหมป่าในช่วงเวลากลางคืน ในบริเวณพื้นที่ที่ทำการศึกษาวิจัยที่ต่าง ๆ รวม 6 พื้นที่ ช่วงเวลาระหว่าง เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2548 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 พื้นที่ในจังหวัด เชียงใหม่ ได้แก่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแมริม, ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน อำเภอเมือง, ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงป่าเกี๊ยะ อำเภอเชียงดาว และพื้นที่ ในจังหวัดแม่ฮ่องสอน คือ พื้นที่เกษตรกรรมติดป่าเสื่อมโทรม นอกเขตชุมชนในเขตอำเภอปางมะผ้าและอำเภอปาย โดยการล่อผีเสื้อไหมป่าด้วยกับดักแสงไฟ (ภาพที่ 4) ที่ประกอบด้วยผ้าสีขาวจึง เป็นฉากสำหรับให้ผีเสื้อมาเกาะพัก และหลอดโคมไฟ ได้แก่ หลอดไฟแสงจันทร์และหลอดรังสีอุลตราไวโอเลต เมื่อผีเสื้อไหมป่าบินมาเล่นแสงไฟในกับดัก จับตัวอย่างแมลงด้วยสวิงโฉบ บันทึก ข้อมูลจำนวนของแมลงทั้งหมดในแต่ละชนิดที่บินเข้ามาในกับดัก เพื่อนำข้อมูลนี้ไปวิเคราะห์การ กระจายพันธุ์และความเด่นในแต่ละฤดูกาล คือ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว ผีเสื้อไหมป่าเพศเมียที่ จับได้รีบเก็บไว้ในกระดาษสามเหลี่ยมทันที เพื่อป้องกันการชำรุดจากการเคลื่อนไหวของผีเสื้อ ตัวอย่างเพศเมียเก็บทั้งที่ยังมีชีวิตแบบไม่ให้เคลื่อนไหวได้เพื่อนำไปใช้ในการเก็บไข่ ในขั้นตอนการ เพาะเลี้ยงต่อไป เมื่อทำการเก็บไข่จากผีเสื้อเพศเมีย จนผีเสื้อเพศเมียตายแล้ว ตัวอย่างผีเสื้อจึงนำไป เก็บรักษาตามขั้นตอนการเก็บรักษาตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างเพศผู้เมื่อจับได้ทำการฆ่าทันที โดยความ จำเป็นของการเก็บตัวอย่างเพื่อนำตัวอย่างที่เก็บได้ไปวินิจฉัยหาชื่อที่ถูกต้องทางอนุกรมวิธาน



ภาพที่ 4 กับดักแสงไฟที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า

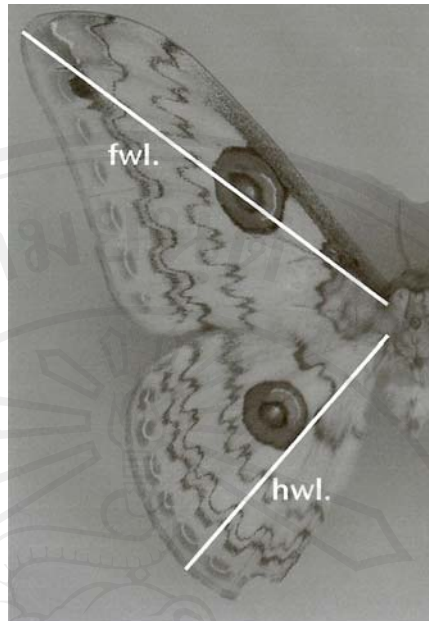
### 3.2 การเก็บรักษา และการศึกษารายละเอียดจากตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า

จัดรูปร่างของตัวอย่างผีเสื้อไหมป่าตัวเต็มวัยที่ได้มาตามแนวทางของ ศานิต (2547) (ภาพที่ 5) ศึกษารายละเอียดจากตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า แต่ละชนิดที่ได้จัดรูปร่างและอบจนแห้งดีแล้ว โดยการวินิจฉัยทางอนุกรมวิธาน (identification) เพื่อตรวจสอบจำนวนชนิดพันธุ์ว่ามีการเปลี่ยนแปลงจากข้อมูลเดิมที่เคยมีผู้รายงานไว้หรือไม่ รวมถึงบันทึกข้อมูลและวัดขนาดโดยเฉลี่ยของโครงสร้างบางอย่าง เช่น ความยาวลำตัว ความยาวจากโคนปีกหน้าจนถึงปลายปีกหน้า (forewing length) ตามแนวทางของ Naumann *et al.* (2008) (ภาพที่ 6) แต่เนื่องจากผีเสื้อไหมป่ามีขนาดใหญ่ การวัดความยาวช่วงปีก (wing span) นั้นค่าที่ได้มักมีความคลาดเคลื่อนอันเนื่องมาจากวิธีการการจัดรูปร่างตัวอย่างแมลง ในการศึกษานี้จึงใช้ความยาวจากโคนปีกหน้าจนถึงปลายปีกหน้า รวมถึงหาอัตราส่วนระหว่างค่าเฉลี่ยของความยาวลำตัวต่อค่าเฉลี่ยความยาวจากโคนปีกหน้าจนถึงปลายปีกหน้า เป็นต้น รวมถึงถ่ายภาพลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่าง ๆ



ภาพที่ 5 การจัดรูปร่างของตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า

จากนั้นนำข้อมูลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างผีเสื้อไหมป่า มาวิเคราะห์เพื่อหาลักษณะการแพร่กระจายพันธุ์ทางภูมิศาสตร์ (geographic distribution) ช่วงฤดูกาล (seasonal period) ช่วงเวลาในการออกบินของตัวเต็มวัย (flight pattern) และความหลากหลายทางชีวภาพ (biodiversity)



Text-Fig. 1: Measurement methods (distances) for forewing length (fwl.) and hindwing length (hwl.) used in the text.

### ภาพที่ 6 การวัดความยาวจากโคนปีกจนถึงปลายปีก

ที่มา: Naumann *et al.* (2008)

โดยข้อมูลจากการเก็บตัวอย่าง สามารถนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพของผีเสื้อไหมป่า เป็นรายพื้นที่ที่ได้ทำการศึกษา แบ่งกลุ่มพื้นที่ที่ทำการศึกษาตามระดับความสูง นำข้อมูลที่ได้ มาคำนวณค่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพ ของ Shannon-Wiener (Shannon , 1948) ได้จาก สูตร

$$\text{Shannon-Wiener's index of diversity (H')} = - \sum_{i=1}^S (n_i/N) \times \ln (n_i/N)$$

เมื่อ  $n_i$  คือ จำนวนตัวอย่างในชนิด  $i$

$N$  คือ จำนวนตัวอย่างทุกชนิดที่ได้ทำการเก็บทั้งหมด

$S$  คือ จำนวนชนิดทั้งหมดที่พบ

หลังจากเสร็จสิ้นการศึกษาวิจัยแล้ว ตัวอย่างที่เก็บได้ในช่วงระยะเวลาที่ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากสวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ได้นำไปเก็บรักษาไว้ที่สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ ส่วนตัวอย่างที่เหลือทั้งหมดเก็บรักษาไว้ที่ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### 3.3 การเพาะเลี้ยงผีเสื้อไหมป่าพันธุ์พื้นเมือง (ดัดแปลงวิธีการจาก Gardiner, 1982)

3.3.1 การเก็บไข่ นำผีเสื้อไหมป่าเพศเมียที่จับได้จากธรรมชาติ ใส่ในซองกระดาษพับรูปสามเหลี่ยมทั้งที่ยังมีชีวิต (ภาพที่ 7) มาใส่ไว้ในกล่องพลาสติกที่มีการทำช่องระบายอากาศช่องละ 1 ตัว ทิ้งไว้ให้วางไข่ สังเกตและบันทึกการวางไข่ของผีเสื้อเพศเมีย เมื่อวางไข่จนหมดแล้ว จึงทำการแยกตัวแม่ผีเสื้อออก บันทึกลักษณะพื้นฐานของไข่ จำนวนไข่ต่อผีเสื้อเพศเมีย 1 ตัว และขนาดของไข่โดยเฉลี่ย ไข่เป็นข้อมูลศึกษาต่อไป



ภาพที่ 7 การเก็บไข่ผีเสื้อไหมป่า

### 3.3.2 การเพาะเลี้ยงผีเสื้อไหมป่าแต่ละระยะ

#### ระยะหนอน

ระยะหนอนวัยอ่อน เมื่อหนอนฟักออกจากไข่ บันทึกจำนวนและวัดหาขนาดโดยเฉลี่ยของหนอนแรกฟัก จนกระทั่งไข่ฟักจนหมด ทำการทดสอบการเลือกใช้พืชอาหารในการเพาะเลี้ยงโดยนำใบพืชอาหารทุกชนิด ที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกับชนิดพืชอาหารที่เคยมีผู้รายงานการใช้เพาะเลี้ยงหนอนผีเสื้อไหมป่าตามเอกสารอ้างอิง เช่น Gardiner (1982) และ Peigler and Naumann (2003) [ใช้แนวทางในการจำแนกชนิดของพืชอาหารจาก ไชมอน และคณะ (2543); เต็ม (2544); Keng (1969)] นำหนอนแรกฟักจำนวนหนึ่ง ใส่ในกล่องรวมกันกับใบพืชอาหารที่ต้องการทดสอบ สังเกตการตอบสนองของหนอนว่ากัดกินใบพืชชนิดใดดีที่สุด จึงตัดสินใจใช้ใบพืชชนิดนั้นในการเพาะเลี้ยง เลี้ยงจนกระทั่งหนอนผีเสื้อไหมป่าพัฒนาเข้าสู่วัยสุดท้าย ระหว่างการเพาะเลี้ยงนั้นวัดขนาดโดยเฉลี่ยของหนอนวัยต่าง ๆ จดบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต และลักษณะของหนอนวัยต่าง ๆ ในแต่ละชนิด เมื่อหนอนมีการเจริญเติบโตพัฒนาเป็นหนอนวัยแก่ขึ้นและมีขนาดใหญ่ขึ้น แยก

เลี้ยงในกล่องขนาดใหญ่ขึ้น เพื่อให้ความหนาแน่นและจำนวนหนอนในแต่ละกล่องลดลง ลดการ  
 แย่งแย่งที่จะเกิดขึ้นในประชากรของหนอนที่ทำการเพาะเลี้ยง โดยเลี้ยงด้วยใบพืชอาหารชนิด  
 เดียวกันกับที่ใช้เลี้ยงเมื่อแรกเริ่ม จนกระทั่งหนอนเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้

**ระยะดักแด้** เมื่อหนอนเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ทำการแยกรังดักแด้ออกจากกล่องที่ใช้เลี้ยง  
 หนอน รอนจนกระทั่งผีเสื้อฟักออกจากรังดักแด้

**ระยะตัวเต็มวัย** นำผีเสื้อใหม่ป่าตัวเต็มวัยไปใส่ไว้ในกล่องพลาสติกที่มีการทำช่องระบาย  
 อากาศกล่องใหม่ที่สะอาด จำนวน 1 คู่ต่อ 1 กล่อง สังเกตและบันทึกการผสมพันธุ์ เพื่อใช้ข้อมูลที่  
 บันทึกได้ในกรเพาะเลี้ยงต่อไป



ภาพที่ 8 การเพาะเลี้ยงผีเสื้อใหม่ป่าระยะหนอน

### 3.4 สถานที่และระยะเวลาที่ทำการวิจัย

#### - พื้นที่ในการสำรวจ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ระดับความสูงประมาณ 350 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ระดับความสูงประมาณ 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ ระดับความสูงประมาณ 1,400 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

ศูนย์วิจัยเกษตรที่สูงป่าเกี๊ยะ อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ระดับความสูงประมาณ 1,500 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

พื้นที่รอบข้างชุมชนขนาดเล็กบางแห่ง ในเขตอำเภอปาย จังหวัดแม่ฮ่องสอน ระดับความสูงประมาณ 1,400 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

พื้นที่รอบข้างชุมชนขนาดเล็กบางแห่ง ในเขตอำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน ระดับความสูงประมาณ 700 เมตรจากระดับน้ำทะเลปานกลาง

#### - พื้นที่ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงผีเสื้อไหมป่า

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

- ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย กรกฎาคม พ.ศ. 2548 ถึง มกราคม พ.ศ. 2552