

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การเลี้ยงเพิ่มปริมาณมอดแป้งในระยะเวลาเจริญเติบโตต่าง ๆ เพื่อใช้ในการทดลอง

นำมอดแป้งมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการซึ่งมีอุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65-75 เปอร์เซ็นต์ โดยการใส่มอดแป้งตัวเต็มวัย (คละเพศ) ประมาณ 300-400 ตัว ใส่ลงในขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตร (ภาพ 3.1) ที่บรรจุข้าวสารหักประมาณ 350 กรัม ที่ผ่านการแช่แข็งมาแล้วเพื่อกำจัดแมลงชนิดอื่นที่ติดมาจากนั้นปล่อยให้มีการผสมพันธุ์ และวางไข่เป็นเวลา 3-5 วัน แล้วทำการร่อนไข่โดยใช้ตะแกรงขนาดช่อง 250 ไมโครเมตร คัดแยกมอดแป้งตัวเต็มวัย และไข่ออกจากข้าวสารหักโดยใช้ฟุ้งกันคัดแยกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สำหรับการเลี้ยงมอดแป้งในระยะหนอนเพื่อใช้ในการทดลอง ทำการเลี้ยงเช่นเดียวกันกับระยะไข่ แต่เปลี่ยนอาหารจากข้าวสารหักเป็นแป้งสาลีผสมยีสต์ ในอัตราส่วน 95:5 ปล่อยให้ระยะเวลาที่ไข่ไว้ประมาณ 3-10 วัน เพื่อให้ไข่ฟักเป็นหนอน ส่วนระยะดักแด้ใช้เวลา 21-40 วัน เพื่อให้ไข่พัฒนาเป็นหนอน และเข้าดักแด้ ในระยะตัวเต็มวัยใช้เวลา 45 วัน เพื่อให้แมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย ในการคัดแยกหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยออกจากแป้งสาลีผสมยีสต์จะใช้ตะแกรงขนาดช่อง 1.5 มิลลิเมตร



ภาพ 3.1 ขวดโหลแก้วมีฝาปิดเป็นตาข่ายถี่ ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตรที่บรรจุข้าวสารหัก ประมาณ 350 กรัม เพื่อใช้เลี้ยงแมลงในระยะไข่ (ซ้าย) บรรจุแป้งสาลีผสมยีสต์เพื่อใช้เลี้ยงแมลงในระยะหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย (ขวา)

กล่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์

เตรียมกล่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 3.2) โดยใช้กล่องพลาสติกที่มีฝาปิด นำสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เข้มข้น เทปบริเวณก้นกล่องประมาณ 2 ลิตร ขนาดกว้าง 17 นิ้ว ยาว 25 นิ้ว สูง 14 นิ้ว โดยให้สารละลายสูงจากก้นกล่องพลาสติก 2-3 นิ้ว วางแผ่นวัสดุที่มีความแข็งแรงรองรับบริเวณก้นกล่องไว้สำหรับบรรจุวัสดุการทดลอง



ภาพ 3.2 กล่องควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์

สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น

การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น เพื่อปรับสภาพบรรยากาศให้มีความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ส่วนผสมโซเดียมคลอไรด์ 279 กรัม ผสมกับน้ำ 725 มิลลิลิตร (Greenspan, 1977)

การเตรียมสารเมโรพรีน

สารเมโรพรีน เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโต ในกลุ่ม terpenoid ผลิตโดย บริษัท Wellmark International (1501 E. Woodfield Rd., Suite 2000 West, Schaumburg, IL, 60173, USA.) ชื่อการค้า Diacon II® (33.3% EC 300 mg/ml) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.0, 2.5 และ 5.0 ppm (ภาพ 3.3) ดังนี้

1. ทำ stock solution โดยดูดสารเมโรพรีนด้วยปิเปต 1 มิลลิลิตร ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ทำการคนสารด้วยแท่งแก้ว
2. ดูดสารละลายเมโรพรีนด้วยปิเปต 2.5 มิลลิลิตร จาก stock solution ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ทำการคนการด้วยแท่งแก้ว จะได้สารเมโรพรีนความเข้มข้น 1.0 ppm

3. คูณสารละลายเมโทพรีนด้วยปิเปต 6.25 มิลลิลิตร จาก stock solution ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ทำการคนการด้วยแท่งแก้ว จะได้สารเมโทพรีนความเข้มข้น 2.5 ppm

4. คูณสารละลายเมโทพรีนด้วยปิเปต 12.5 มิลลิลิตร จาก stock solution ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตรขนาดความจุ 100 มิลลิลิตร ทำการคนการด้วยแท่งแก้ว จะได้สารเมโทพรีนความเข้มข้น 5.0 ppm



ภาพ 3.3 สารเมโทพรีน ชื่อการค้า Diacon II[®] ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.0, 2.5 และ 5.0 ppm

1. การทดสอบประสิทธิภาพของสารเมโทพรีน ในการป้องกันกำจัดมอดแป้ง

การทดลองนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเมโทพรีนในการป้องกันกำจัดมอดแป้ง โดยทำการฉีดพ่นสารเมโทพรีน ในระดับความเข้มข้น 0, 1.0, 2.5 และ 5.0 ppm ลงบนข้าวสารหัก คลุกให้ทั่ว นำมอดแป้งระยะต่าง ๆ ได้แก่ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ปล่อยลงในกรรมวิธีต่างๆ ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัว นับจำนวนแมลงที่ตายในแต่ละชุดการทดลอง หากพบแมลงตายในชุดควบคุม จะนำเปอร์เซ็นต์การตายในกรรมวิธีต่าง ๆ มาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายใหม่ โดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) นับจำนวนแมลงรุ่นลูก หลังจากปล่อยแมลง 5 สัปดาห์ เนื่องจากวงจรชีวิตของมอดแป้งในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมอดแป้งจะมีอายุครบวงจรชีวิตภายใน 20-40 วัน (ชุมพล, 2533) และมอดแป้งจะมีการพัฒนาจากไข่จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 19-20 วัน (Arbogast, 2000) ดังนั้นระยะเวลาในการปล่อยให้มอดแป้งเจริญเติบโตและให้จำนวนรุ่นลูกในระยะเวลา 5 สัปดาห์จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการทดลอง จัดการทดลองแบบ split plot design โดยมีระยะการเจริญเติบโตของมอดแป้ง 4 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เป็น main plot และระดับความเข้มข้นของสารเมโทพรีน 4 ระดับคือ 0, 1.0, 2.5 และ 5 ppm เป็น subplot เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย LSD (Least Significant Difference)

เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality)

ทำการบันทึกเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริงตามสูตร

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

2. ความคงทนของสารเมโทพรีนหลังจากคลุกข้าวสารที่เก็บในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดลองนี้เพื่อศึกษาหาความคงทนของสารเมโทพรีนที่ใช้ในการป้องกันกำจัดมอดแป้งหลังจากที่ฉีดพ่นแล้ว โดยเลือกศึกษากับมอดแป้ง ระยะเวลาที่มีความทนทานต่อเมโทพรีนมากที่สุด จากผลจำนวนแมลงที่ตายต่ำสุดจากการทดลองแรก ทำการเตรียมเมล็ดข้าวสารหักจำนวน 300 กรัม ฉีดพ่นด้วยสารเมโทพรีนที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.5 และ 5.0 ppm สำหรับการตรวจนับในระยะเวลา 1, 2, 4 และ 6 เดือน (ภาพ 3.4) ปล่อยแมลงลงไป 30 ตัว ต่อ 1 ชุดการทดลอง ทำ 4 ซ้ำ นับจำนวนแมลงที่ตายในกรรมวิธีต่าง ๆ และหากพบแมลงตายในชุดควบคุม จะนำเปอร์เซ็นต์การตายในกรรมวิธีต่าง ๆ มาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายใหม่ โดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) นับจำนวนแมลงรุ่นลูก หลังจากปล่อยแมลง 5 สัปดาห์ จัดการทดลองแบบ split plot design โดยมีระยะเวลาในการเก็บรักษา ได้แก่ 1, 2, 4 และ 6 เดือน เป็น main plot และระดับความเข้มข้นของสารเมโทพรีน 4 ระดับคือ 0, 1.0, 2.5 และ 5 ppm เป็น sub plot เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย LSD (Least Significant Difference)



ภาพ 3.4 การเก็บรักษาเมล็ดข้าวที่ถูกฉีดพ่นด้วยสารเมโทพรีน เป็นเวลา 1, 2, 4 และ 6 เดือน ในกล่องความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์

3. ประสิทธิภาพของสารเมโรพรีนบนวัสดุพื้นผิวชนิดต่าง ๆ

การทดลองนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารเมโรพรีนบนวัสดุพื้นผิวที่ใช้ทำโรงเก็บในประเทศไทย โดยทดสอบประสิทธิภาพของเมโรพรีนที่ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.5 และ 5.0 นีดพ่นลงบนวัสดุพื้นผิวของโรงเก็บ 4 ชนิด (กรรมวิธี) ได้แก่ ซีเมนต์ (cement) แผ่นไม้เนื้อแข็ง (wood) แผ่นสังกะสี (galvanized plate) และแผ่นแก้ว (glass) (ภาพ 3.5) โดยใช้อัตราสารเมโรพรีน 0.01 มิลลิลิตรต่อตารางเมตร ทดสอบกับระยะตัวเต็มวัยและระยะไข่มอดแป้ง นับจำนวนแมลงที่ตายในกรรมวิธีต่าง ๆ และหากพบแมลงตายในชุดควบคุม จะนำเปอร์เซ็นต์การตายในกรรมวิธีต่าง ๆ มาคำนวณปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายใหม่ โดยใช้ Abbott's formula (Abbott, 1925) นับจำนวนแมลงรุ่นลูก หลังจากปล่อยแมลง 5 สัปดาห์ จัดการทดลองแบบ split plot design โดยมี วัสดุพื้นผิวชนิดต่าง ๆ 4 ชนิด ที่พื้นสารเคมี ได้แก่ ซีเมนต์ (cement) แผ่นไม้เนื้อแข็ง (wood) แผ่นสังกะสี (galvanized plate) และแผ่นแก้ว (glass) เป็น main plot และระดับความเข้มข้นของสารเมโรพรีน 4 ระดับคือ 0, 1.0, 2.5 และ 5 ppm เป็น sub plot เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย LSD (Least Significant Difference)



ภาพ 3.5 อุปกรณ์ และชนิดของวัสดุพื้นผิว

- ก. แก้วพลาสติกวงกลมใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร
- ข. ปูนซีเมนต์ซ่อมเอนกประสงค์ ตราเสือมอร์ตาร์ ที่นำมาใช้ในการทดลอง
- ค. ซีเมนต์เทลงในแก้วพลาสติกใสวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร
- ง. ไม้เนื้อแข็งตัดเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร
- จ. แผ่นสังกะสีตัดเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร
- ฉ. แผ่นแก้วตัดเป็นรูปวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร