บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- Sound analyzer(1/3 octave band real-time analyzer model SA-30)
- Anechoic chamber(model AR-22L)
- Condenser microphone and preamplifers (model UC-11A/27)
- Class 1 compliant sound calibrator(model IEC-60942)
- Random noise generator(model SF-06)
- ลำโพงความถี่สูง (model TE-450)
- กล้อง stereo microscope
- เครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- เครื่องดูดแมลง
- เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
- เครื่องทำความสะอาดเมล็ด (air-screen cleaner)
- ตู้อบ (hot air oven)
- นาฬิกาจับเวลา

3.2 การเตรียมเมล็ดถั่วเขียว

1. งานทดลองนี้ใช้ถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72

2. ทำความสะอาดเมล็ดถั่วเขียวด้วยเครื่องทำความสะอาดเมล็ดพันธุ์ชนิดลมเป่า เพื่อคัดแยกเมล็ดที่ไม่พึงประสงค์ทั้งในด้านขนาด น้ำหนัก รวมทั้งสิ่งเจือปนต่างๆออกจากเมล็ด

3. นำเมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว ใส่ในถุงพลาสติกพร้อมทั้งปิดผนึกปากถุงให้สนิทถุงละ 1 กิโลกรัมนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่งโมง เพื่อกำจัดแมลงชนิดต่างๆ ที่ปะปนมากับเมล็ดถั่วเขียวจากนั้นจึงเก็บรักษาเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเพื่อเป็นการป้องกันการเข้าทำลายซ้ำของแมลงศัตรูในโรงเก็บอีกครั้งหนึ่ง

4. นำเมล็ดถั่วเขียวมาตรวจสอบความชื้นด้วยวิธีอบลมร้อนโดยนำเมล็ดมาชั่งน้ำหนักสด แล้วนำไปอบลดความชื้นในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาชั่งน้ำหนักแห้ง เพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดโดยใช้สูตรดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ - น้ำหนักเมล็ดหลังอบ}}{\text{น้ำหนักเมล็ดก่อนอบ}} \times 100$$

5. ปรับความชื้นของเมล็ดถั่วเขียวให้ได้ประมาณ 15 ± 1 เปอร์เซ็นต์

3.3 การเตรียมแมลงสำหรับการศึกษา

เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว จากโรงเก็บเมล็ดถั่วเขียว แล้วนำมาเพาะขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ โดยนำเมล็ดถั่วเขียวที่ปราศจากแมลงใส่ในกล่องพลาสติกขนาด14×18×6 เซนติเมตรแล้วปล่อยตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวจำนวน 500 ตัวต่อกล่องปิดด้วยฝากล่องที่ตรงกลางฝาจะเจาะเป็นช่องสี่เหลี่ยมแล้วบุด้วยผ้าตาข่ายถี่ ๆ ไว้แล้วผนึกด้วยกระดาษกาวเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลงศัตรูโรงเก็บชนิดอื่นๆปล่อยให้แมลงผสมพันธุ์และวางไข่ 1 วัน หลังจากนั้นแยกเอาแมลงออก ซึ่งระยะไข่ ตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ของแมลงจะมีอายุใกล้เคียงกันแล้วนำแมลงชุดนี้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

ห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ห้องปฏิบัติการกีฏวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

3.5 การวางแผนการทดลอง

การวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Least Significant Difference (LSD) ด้วยโปรแกรม SX v.7 และหาสมการความสัมพันธ์แบบ Regression Analysis, Multiple Regression Analysis และ Polynomial Analysis โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 หาความสัมพันธ์ระหว่างคลื่นเสียงกับระยะการเจริญเติบโตของด้วง ถั่วเขียว

วิธีการดำเนินงาน

1.1 การศึกษาวงจรชีวิต

นำเมล็ดถั่วเขียวใส่ในถุงพลาสติกพร้อมทั้งปิดผนึกปากถุงให้สนิทนำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่งโมงเพื่อกำจัดแมลงชนิดต่าง ๆ ที่ปะปนมากับเมล็ดถั่วเขียว และนำเมล็ดถั่วเขียวชุดนี้มาเลี้ยงด้วงถั่วเขียวโดยปล่อยตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียวจำนวน 3,000 ตัว ในสัดส่วนของตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศผู้เท่ากับเพศเมีย ใส่ลงในกล่องพลาสติก ใสขนาด 14 x 18 x 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เซนติเมตร ที่บรรจุเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 จำนวน 1,000 กรัม ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้แมลงผสมพันธุ์และ วางไข่ในเมล็ดถั่วเขียว หลังจากนั้นจับแมลงออก คัดเลือกเมล็ดถั่วเขียวที่มีไข่ของด้วงถั่วเขียวจำนวน 1 ฟองต่อ 1 เมล็ด ออกมานำไปใส่ในกล่องพลาสติก เพื่อใช้ในการศึกษาวงจรชีวิต

- ระยะไข่ นำเมล็ดถั่วเขียวจากข้างต้นใส่จานทดลองโดยการทดลองนี้ใช้เมล็ดถั่วเขียวที่ถูกแมลงวางไข่จำนวน 20 เมล็ดโดยจะทำเครื่องหมายของเมล็ดตั้งแต่เมล็ดที่ 1 ถึงเมล็ดที่ 20 บันทึกระยะเวลาในแต่ละหมายเลขว่าไข่จะฟักเป็นตัวหนอนภายในกี่วันโดยนำมาตรวจดูภายใต้กล้อง stereo microscope ทุกวันโดยสังเกตลักษณะภายนอกรวมถึงการเปลี่ยนแปลงในแต่ละวันของไข่

- ระยะหนอน นำเมล็ดถั่วเขียวที่มีไข่ของแมลงมาสุ่มแกะวันละ 20 เมล็ดภายใต้กล้อง stereo microscope ทุก ๆ วันเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงในแต่ละวันจนกว่าตัวหนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้

- ระยะดักแด้ นำเมล็ดถั่วเขียวที่มีตัวหนอนของแมลงมาสุ่มแกะวันละ 20 เมล็ดภายใต้กล้อง stereo microscope ทุกๆวันเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงในแต่ละวันจนกว่าดักแด้จะกลายเป็นตัวเต็มวัย

- ระยะตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศผู้จำนวน 10 ตัว และตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศเมียจำนวน 10 ตัวใส่หลอดทดลอง บันทึกระยะเวลาจนกว่าแมลงจะตายจนหมด

1.2 การบันทึกระดับความดังของเสียงซึ่งเกิดจากด้วงถั่วเขียวระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ

การทดลองโดยคัดเลือกเมล็ดถั่วเขียวที่มีไข่ของด้วงถั่วเขียว 1 ฟองต่อ 1 เมล็ด จำนวน 250ฟองต่อ 1 ซ้ำรวม 4 ซ้ำโดยมีชุดควบคุมเป็นเมล็ดถั่วเขียวที่ไม่มีการปล่อยแมลงในเมล็ดเป็นตัวเปรียบเทียบ นำเมล็ดดังกล่าวใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของแมลงในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย นำบีกเกอร์ที่บรรจุเมล็ดในแต่ละชุดการทดลองไปวางไว้ภายในตู้ควบคุมเสียง(anechoic chamber) และเสียบตัวไมโครโฟน (condenser microphone) สำหรับเป็นตัววัดเสียงของแมลง โดยจะบันทึกเสียงทุกๆ 1 วินาที เป็นเวลา 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึก 125 มิลลิวินาที ที่ช่วงความถี่ 1,000, 1,250, 1,600, 2,000, 2,500, 3,150, 4,000, 5,000, 6,300, 8,000 และ 10,000 Hz โดยใช้เครื่อง sound analyzer (SA-30) เป็นตัววิเคราะห์คลื่นเสียงที่บันทึกได้ และตรวจวัดเสียงทุก 2 วัน ณ ตำแหน่งเดิมทุกครั้งตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงแมลงเจริญเป็นตัวเต็มวัย ส่วนในระยะตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวจะทำการตรวจวัดเสียงทุกๆวันเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วเลือกช่วงความถี่เสียงเพียงหนึ่งความถี่ที่สามารถรับฟังเสียงของแมลงได้มากที่สุดนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความดังของเสียงกับระยะการเจริญเติบโตของด้วงถั่วเขียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

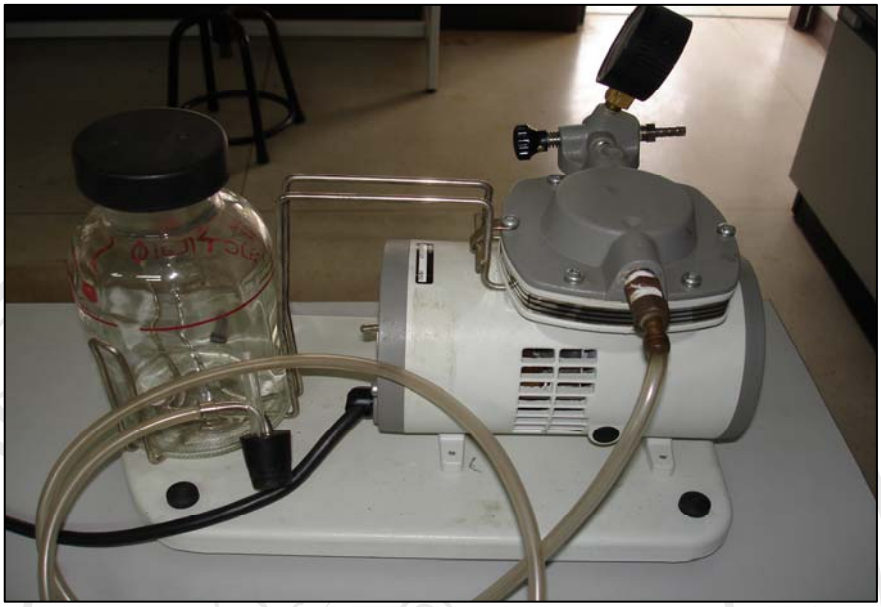
1.3 ปริมาณความเสียหายจากการเข้าทำลายของด้วงถั่วเขียว

การทดลองโดยปล่อยตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวจำนวน 150, 250, 350, 450 และ 550 ตัว ในสัดส่วนของตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศผู้เท่ากับเพศเมียใส่ลงในกล่องพลาสติกใสขนาด 14 x 18 x 6 เซนติเมตร ที่บรรจุเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 จำนวน 500 กรัม จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี โดยมีชุดควบคุมเป็นเมล็ดถั่วเขียวที่ไม่มีการปล่อยแมลงในเมล็ดเป็นตัวเปรียบเทียบ และปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายในห้องปฏิบัติการที่มีอุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้แมลงผสมพันธุ์และวางไข่ในเมล็ดถั่วเขียว หลังจากนั้นจับแมลงออก และนำเมล็ดดังกล่าวใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของแมลงในระยะหนอน นำบีกเกอร์ที่บรรจุเมล็ดในแต่ละชุดการทดลองไปวางไว้ภายในตู้ควบคุมเสียง (anechoic chamber) และเสียบตัวไมโครโฟน (condenser microphone) สำหรับเป็นตัววัดเสียงตรงบริเวณกึ่งกลางบีกเกอร์ ให้มีความลึกประมาณ 15เซนติเมตร จากระดับผิวหน้าเมล็ดบันทึกเสียงจากการกินอาหาร หรือการเคลื่อนที่ของแมลงซึ่งเข้าทำลายอยู่ในเมล็ดถั่วเขียว โดยจะบันทึกเสียงทุกๆ 1 วินาที เป็นเวลา 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึก 125 มิลลิวินาที ที่ช่วงความถี่เสียงที่เหมาะสมที่สุดจาก 1.2 โดยใช้เครื่อง sound analyzer (SA-30) เป็นตัววิเคราะห์คลื่นเสียงที่บันทึกได้ และตรวจวัดเสียงทุก 2 วัน ณ ตำแหน่งเดิมทุกครั้งตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงแมลงเปลี่ยนเป็นตัวเต็มวัยบันทึกจำนวนตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวที่เกิดขึ้นหลังสิ้นสุดการทดลอง และเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดถั่วเขียวที่เกิดจากการเข้าทำลายของตัวหนอนด้วงถั่วเขียวโดยนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียวมาชั่งน้ำหนักที่หายไป ซึ่งเป็นเปอร์เซ็นต์ความเสียหายคำนวณจากสมการ

$$\% \text{ สูญเสียน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ดตอนเริ่มการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมล็ดหลังการทดลอง}}{\text{น้ำหนักเมล็ดตอนเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของด้วงถั่วเขียว และความเสียหายกับระดับความดังของเสียงที่ตรวจวัดได้ในระยะตัวหนอน

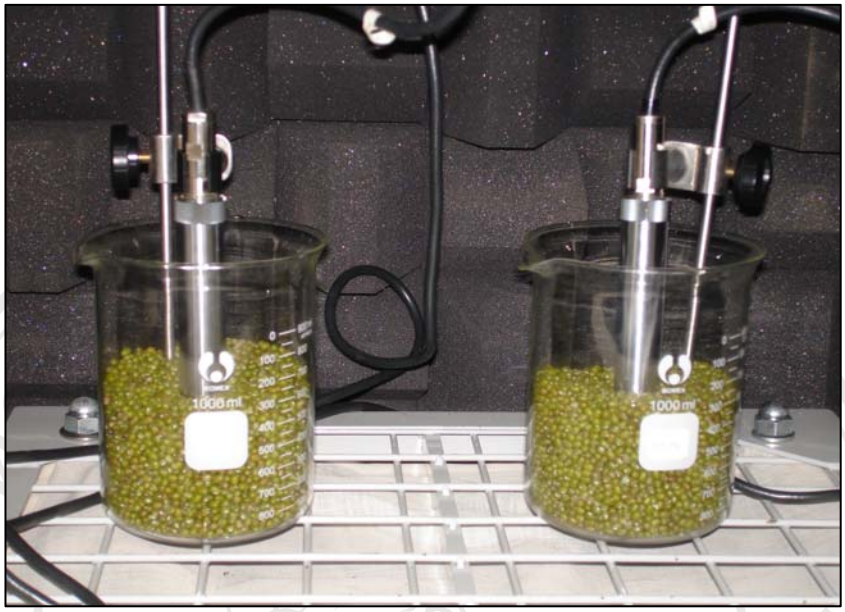
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 1 เครื่องดูดแมลง

ภาพที่ 2 ตู้ควบคุมเสียง (anechoic chamber)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 3 ไมโครโฟน (condenser microphone)

ภาพที่ 4 เครื่อง sound analyzer (SA-30)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 หาความสัมพันธ์ระหว่างระดับคลื่นเสียงที่เกิดจากแมลงกับจำนวนประชากรตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียว

วิธีการดำเนินงาน

ทำการทดลองโดยปล่อยตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวจำนวน 100, 200, 300, 400 และ 500 ตัวในสัดส่วนของตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศผู้เท่ากับเพศเมียปล่อยลงในเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท72 จำนวน 500 กรัม ที่บรรจุลงในบีกเกอร์ที่บรรจุเมล็ดในแต่ละชุดการทดลองไปวางไว้ภายในตู้ควบคุมเสียง และเสียบตัวไมโครโฟน สำหรับเป็นตัววัดเสียงตรงบริเวณกึ่งกลางบีกเกอร์ให้มีความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จากระดับผิวหน้าเมล็ด บันทึกเสียงจากการทำกิจกรรมต่างๆ ของแมลง เช่น การเคลื่อนที่ โดยจะบันทึกเสียงทุก 1 วินาที เป็นเวลา 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึก 125 มิลลิวินาที ที่ช่วงความถี่ที่เหมาะสมที่สุดจากการทดลองที่ 1.2 โดยใช้เครื่อง sound analyzer (SA-30) เป็นตัววิเคราะห์คลื่นเสียงที่บันทึกได้ และตรวจวัดเสียงทุก ๆ วันเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วนำค่าระดับความดังของเสียงที่วัดได้จากความถี่มาคำนวณการรวมระดับเสียง บันทึกคลื่นเสียงที่เกิดจากแมลงกับจำนวนประชากร

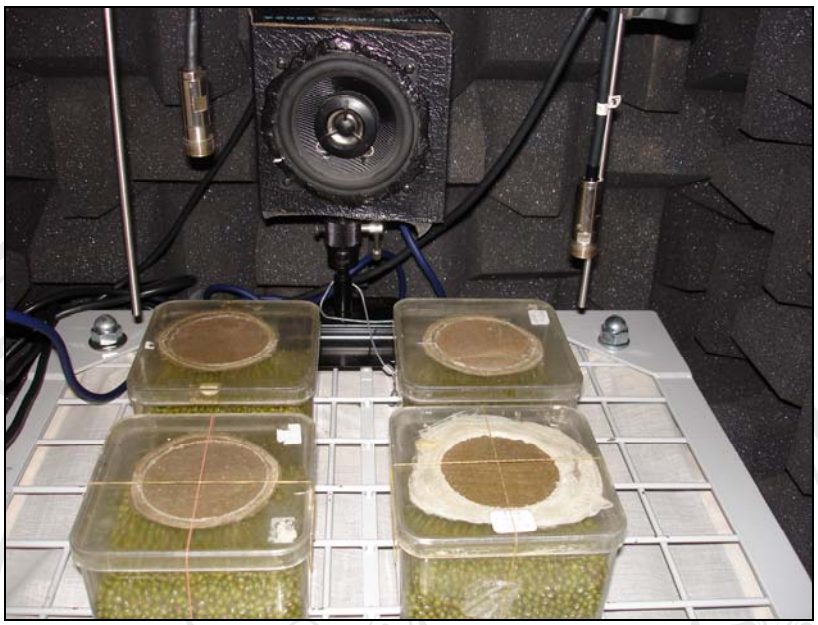
จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของด้วงถั่วเขียวตัวเต็มวัย และระดับคลื่นเสียงที่ตรวจวัดได้

การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับคลื่นเสียงที่ช่วงความถี่ต่าง ๆ กับพฤติกรรมการวางไข่ การกินอาหาร และการเพิ่มจำนวนของตัวเต็มวัยด้วงถั่วเขียว

วิธีการดำเนินงาน

การทดลองนี้ใช้เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 จำนวน 250 กรัม ปล่อยตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศผู้จำนวน 100 ตัว และตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวเพศเมียจำนวน 100 ตัว ต่อซ้ำ เป็นจำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี ใส่ในกล่องพลาสติก จากนั้นนำกล่องพลาสติกแต่ละกล่องไปวาง ณ ตำแหน่งที่กำหนดไว้ในตู้ควบคุมเสียงแล้วติดตั้งลำโพงเสียงความถี่สูงบริเวณตรงกลางฝา และต่อเข้ากับเครื่อง random noise generator ปล่อยคลื่นเสียงที่ระดับความถี่ 2, 4 และ 8 kHz เป็นระยะเวลา 3 และ 7 วันโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ซึ่งเป็นเมล็ดถั่วเขียวที่มีตัวเต็มวัยของด้วงถั่วเขียวอาศัยอยู่ โดยไม่มีการใช้คลื่นเสียง หลังจากนั้นนำแมลงออก เพื่อใช้ประเมินดูการตอบสนองในด้านของการวางไข่ของแมลงด้วยการหาอัตราการวางไข่ โดยการนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียวมาตรวจนับจำนวนไข่ของด้วงถั่วเขียวที่เกิดขึ้น พร้อมทั้งตรวจสอบการกินอาหารของแมลงด้วยการหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่สูญเสียไปของเมล็ดถั่วเขียวที่เกิดจากการเข้าทำลาย โดยการนำตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียว มาชั่งน้ำหนักที่หายไป และดูการตอบสนองในด้านของการเพิ่มจำนวนของแมลงด้วยการนับจำนวนตัวเต็มวัยของแมลงที่เกิดขึ้นใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 5 การวางกล่องพลาสติกในตู้ควบคุมเสียง

ภาพที่ 6 เครื่อง random noise generator

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 7 ลำโพงเสียงความถี่สูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved