

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์การทดลอง

- Sound analyzer (1/3 Octave Band Real-Time Analyzer Model SA-30) ของบริษัท RION
- Anechoic chamber (Model AR-22L) ของบริษัท RION
- Condenser microphone and Preamplifiers ขนาด 1 นิ้ว (Model UC-11A/27) ของบริษัท RION
- Class 1 Compliant Sound Calibrator (Model IEC 60942) ของบริษัท RION
- กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope
- เครื่องชั่งละเอียด ทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- เครื่องบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Data Logger)
- ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
- เครื่องแบ่งแยกเมล็ด (Conical divider)
- เครื่องทำความสะอาดเมล็ด (Air-screen cleaner)
- ตู้อบ (Hot air oven)
- นาฬิกาจับเวลา

3.2 การเตรียมเมล็ดข้าวเปลือก

1. งานทดลองนี้ใช้ข้าวเปลือกพันธุ์หอมมะลิ 105 จากเกษตรกรใน อำเภอสนป่าตอง จังหวัด เชียงใหม่
2. ทำความสะอาดเมล็ดข้าวเปลือกด้วยเครื่องทำความสะอาดเมล็ดพันธุ์ชนิดลมเป่า เพื่อคัดแยกเมล็ดที่ไม่พึงประสงค์ทั้งในด้านขนาด น้ำหนัก รวมทั้งสิ่งเจือปนต่างๆ ออกจากเมล็ด
3. นำเมล็ดข้าวเปลือกที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว ใส่ในถุงพลาสติกใสพร้อมทั้งปิดผนึกปากถุงให้สนิทถุงละ 1 กิโลกรัม นำไปเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -10°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดแมลงชนิดต่างๆที่ปะปนมากับเมล็ดข้าวเปลือก จากจึงนั้นเก็บรักษาเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 5°C เพื่อเป็นการป้องกันการเข้าทำลายซ้ำของแมลงศัตรูในโรงเก็บอีกครั้งหนึ่ง

4. นำเมล็ดมาตรวจสอบความชื้นด้วยวิธีอบลมร้อน (Hot-air oven method) โดยการนำเมล็ดข้าวเปลือกมาชั่งน้ำหนักสด แล้วนำไปอบลดความชื้นในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาชั่งหาน้ำหนักแห้งเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดโดยใช้สูตรดังนี้

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

5. ปรับความชื้นของเมล็ดข้าวเปลือกให้ได้ประมาณ 14 ± 1 เปอร์เซ็นต์

6. หาน้ำหนัก 1,000 เมล็ด หรือ (thousand grain mass : TGM) ก่อนเริ่มการทดลองโดยสุ่มเมล็ดจากตัวอย่างข้าวเปลือกที่จะใช้ในการทดลองด้วยเครื่องแบ่งแยกเมล็ด นำมานับให้ได้ 1,000 เมล็ด ทำซ้ำ 10 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.3 การเตรียมแมลงสำหรับการศึกษา

เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวเปลือก จากโรงเก็บสหกรณ์การเกษตร อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ ส่วนด้วงวงข้าว ด้วงวงข้าวโพด และมอดข้าวเปลือก ได้จากการเพาะขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ

3.4 สถานที่ทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการสถานวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.5 การวางแผนการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี Least Significant Difference (LSD), Regression Analysis และ Multiple Regression Analysis ด้วยโปรแกรม SPSS v.10 โดยแบ่งเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาลักษณะคลื่นเสียงจากการเข้าทำลายของผีเสื้อข้าวเปลือก ตัวงวงข้าว ตัวงวงข้าวโพด และมอดข้าวเปลือกในเมล็ดข้าวเปลือก

1.1 การบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของแมลง

การบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของผีเสื้อข้าวเปลือก ตัวงวงข้าว ตัวงวงข้าวโพด และมอดข้าวเปลือก ที่เข้าทำลายเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์หอมมะลิ 105 ในทุกระยะการเจริญเติบโตโดยทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ตามวิธีการดังนี้

1.1.1 ผีเสื้อข้าวเปลือก

- นำตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวเปลือกใส่หลอดทดลองหลอดละ 20 ตัว ปิดปากหลอดด้วยจุกกระดาษที่ขูดปล่อยทิ้งไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผีเสื้อจะผสมพันธุ์และวางไข่ติดอยู่บนกระดาษซึ่งวิธีการนี้จะทำให้ได้ไข่ที่มีอายุแตกต่างกันไม่เกิน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงเก็บไข่ที่ติดบนกระดาษออกโดยใช้ฟู่กันเขี่ยไข่ลงบนจานทดลอง

- คัดเลือกไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกที่มีสภาพสมบูรณ์ 100 ฟอง โดยตรวจดูภายใต้กล้อง stereo microscope นำไข่ใส่ลงในตัวอย่างเมล็ดข้าวเปลือกจำนวน 500 กรัม ให้มีการกระจายตัวของไข่อย่างสม่ำเสมอทั่วทั้งตัวอย่างแล้วจึงนำเมล็ดดังกล่าวใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของแมลงในระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

- นำบีกเกอร์ที่บรรจุตัวอย่างเมล็ดในแต่ละชุดการทดลองไปวางไว้ในตู้ควบคุมเสียง (anechoic chamber) และเสียบตัวไมโครโฟน (condenser microphone) สำหรับเป็นตัวรับเสียงตรงบริเวณกึ่งกลางบีกเกอร์ให้มีความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จากระดับผิวหน้าเมล็ด

- บันทึกเสียงที่เกิดจากการกินอาหารหรือการเคลื่อนที่ของแมลง ซึ่งเข้าทำลายอยู่ภายในเมล็ดข้าวเปลือก โดยจะบันทึกเสียงทุก 1 วินาที เป็นเวลาทั้งหมด 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึกเสียง 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 ตำแหน่งเดิมทุกครั้งตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงวันที่แมลงกลายเป็นตัวเต็มวัย

1.1.2 ตัวงวงข้าว และ ตัวงวงข้าวโพด

- นำตัวเต็มวัยของตัวงวงข้าวหรือตัวงวงข้าวโพดจำนวน 500 ตัว ใส่ลงในกล่องพลาสติกใสขนาด $5 \times 7.5 \times 4.5$ เซนติเมตร ที่บรรจุเมล็ดข้าวเปลือกอยู่ 50 กรัม คลุมปากกล่องด้วยผ้าตาข่ายสีขาว ปล่อยทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 30

องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้แมลงผสมพันธุ์และวางไข่บนเมล็ดข้าวเปลือก

- นำเมล็ดดังกล่าวมาผสมรวมกับเมล็ดข้าวเปลือกอีก 450 กรัม โดยให้มีการกระจายตัวของแมลงอย่างสม่ำเสมอในตัวอย่าง ใส่เมล็ดลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับบันทึกลักษณะคลื่นเสียงของแมลงในระยะไข่ ระยะตัวหนอน และระยะดักแด้ สำหรับการศึกษาในระยะตัวเต็มวัยจะใช้แมลงตัวเต็มวัยจำนวน 100 ตัว ปล่อยลงในเมล็ดข้าวเปลือก 500 กรัม ที่บรรจุในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- นำตัวอย่างทดลองมาตรวจวัดเสียงของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ตามวิธีการทดลองในข้อ 1.1.1

1.1.3 มอดข้าวเปลือก

- นำตัวเต็มวัยของมอดข้าวเปลือก จำนวน 500 ตัว ใส่ลงในกล่องพลาสติกใสขนาด $5 \times 7.5 \times 4.5$ เซนติเมตร ที่บรรจุเมล็ดข้าวเปลือก 50 กรัม คลุมปากกล่องด้วยผ้าตาข่ายสีขาว ทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้แมลงผสมพันธุ์และวางไข่ในตัวอย่างเมล็ดข้าวเปลือก

- นำเมล็ดดังกล่าวมาผสมรวมกับเมล็ดข้าวเปลือกอีก 450 กรัม โดยให้มีการกระจายตัวของแมลงอย่างสม่ำเสมอในตัวอย่าง ใส่เมล็ดลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับบันทึกลักษณะของคลื่นเสียงในระยะไข่ ระยะตัวหนอน และระยะดักแด้ สำหรับการศึกษาในระยะตัวเต็มวัยจะใช้มอดข้าวเปลือกตัวเต็มวัย 100 ตัว ปล่อยลงในเมล็ดข้าวเปลือก 500 กรัม ที่บรรจุในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

- นำตัวอย่างทดลองมาตรวจวัดเสียงของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ตามวิธีการทดลองในข้อ 1.1.1

1.2 การศึกษาวงจรชีวิต

การศึกษาวงจรชีวิตของผีเสื้อข้าวเปลือก ค้างคาวข้าว ค้างคาวข้าวโพด และมอดข้าวเปลือก ด้านพัฒนาการของแมลงในแต่ละระยะการเจริญเติบโต เพื่อเป็นข้อมูลประกอบการตรวจวัดเสียงของแมลง โดยการทดลองทุกขั้นตอนจะเลี้ยงแมลงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์

1.2.1 ผีเสื้อข้าวเปลือก (ปรากฏ, 2542)

- ระยะไข่ คัดเลือกไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกที่มีสภาพสมบูรณ์ 100 ฟอง จำนวน 4 ซ้ำ เก็บใส่จานทดลองพร้อมทั้งบันทึกเวลาในระยะนี้จนกว่าไข่จะฟักเป็นตัวหนอนจนหมด

- ระยะตัวหนอน นำตัวหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกจำนวน 100 ตัว ใส่ลงในเมล็ดข้าวเปลือกที่ตัดข้าวออกเมล็ดละ 1 ตัว จำนวน 100 เมล็ด 4 ชั่วโมง บันทึกช่วงเวลาในระยะตัวหนอนตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงระยะสุดท้ายของหนอนก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยสังเกตจากที่เปลือกหุ้มเมล็ดข้าวจะปรากฏรูที่มีเยื่อบางๆ ปิดอยู่ซึ่งแสดงว่าเป็นระยะสุดท้ายของตัวหนอนผีเสื้อข้าวเปลือก

- ระยะดักแด้ นำเมล็ดข้าวเปลือกที่มีดักแด้ของผีเสื้อข้าวเปลือกอยู่ในจากการทดลองข้างต้น 100 ตัว จำนวน 4 ชั่วโมง เก็บใส่ในจานทดลอง พร้อมทั้งบันทึกช่วงเวลาในระยะนี้จนกว่าดักแด้จะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย

- ระยะตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟักออกมาจากเมล็ดใส่ลงในหลอดทดลองจำนวน 100 ตัว 4 ชั่วโมง ปิดปากหลอดด้วยผ้าตาข่ายสีขาว ปล่อยให้ไว้นานกว่าตัวผีเสื้อข้าวเปลือกตายจนหมดและบันทึกระยะเวลาในช่วงนี้

1.2.2 ค้างวงงข้าว และ ค้างวงงข้าวโพด

- ระยะไข่ นำตัวเต็มวัยของค้างวงงข้าวหรือค้างวงงข้าวโพดจำนวน 500 ตัว ปล่อยให้ลงในกล่องพลาสติกใสขนาด $5 \times 7.5 \times 4.5$ เซนติเมตร ที่บรรจุเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์หอมมะลิ 105 จำนวน 50 กรัม ทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจดูภายใต้กล้อง stereo microscope ด้วยการใส่แสงสว่างส่องผ่านเมล็ด คัดเลือกเมล็ดที่มีการวางไข่ของแมลงใส่ในจานทดลองโดยสังเกตจากผิวเมล็ดจะปรากฏรอยการวางไข่ขนาดเล็ก การทดลองนี้ใช้เมล็ดที่ถูกแมลงวางไข่ 20 เมล็ด จำนวน 5 ชั่วโมง บันทึกช่วงเวลาในระยะนี้จนตัวหนอนฟักออกจากไข่ สังเกตจากเมล็ดจะปรากฏรอยกัดกินของตัวหนอนเป็นทางจากจุดที่วางไข่

- ระยะตัวหนอน นำเมล็ดที่มีตัวหนอนเข้าทำลายอยู่ในจากการทดลองข้างต้น จำนวน 20 ตัว 5 ชั่วโมง ปล่อยให้ตัวหนอนเจริญต่อไปภายในเมล็ด พร้อมทั้งบันทึกเวลาจนกว่าตัวหนอนจะเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยสุ่มแกะเมล็ดเพื่อดูการเข้าดักแด้ของแมลง

- ระยะดักแด้ นำเมล็ดข้าวที่มีดักแด้ของแมลงจากการทดลองข้างต้นจำนวน 20 ตัว 5 ชั่วโมง เก็บใส่จานทดลอง พร้อมทั้งบันทึกเวลาจนกว่าดักแด้เป็นตัวเต็มวัย

- ระยะตัวเต็มวัย นำตัวเต็มวัยใส่หลอดทดลองที่มีเมล็ดข้าวกล้อง 10 กรัม หลอดละ 20 ตัว จำนวน 5 ชั่วโมง บันทึกเวลาจนกว่าแมลงจะตายจนหมด

1.2.3 มอดข้าวเปลือก

- ระยะไข่ นำตัวเต็มวัยของมอดข้าวเปลือกจำนวน 200 ตัว ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีเมล็ดข้าวเปลือก 10 กรัม ปิดปากหลอดทดลองด้วยผ้าตาข่ายสีขาว ทิ้งไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจหาการวางไข่ของแมลงภายใต้กล้อง stereo microscope จากนั้นจึงเก็บรวบรวมไข่ใส่จานทดลองจำนวน 10 ฟอง 5 ชั่วโมง บันทึกเวลาจนกว่าไข่จะฟักจนหมด

- ระยะตัวหนอน นำตัวหนอนจากการทดลองข้างต้นปล่อยลงบนเมล็ดข้าวเปลือกที่ตัดข้าวเปลือกออกเพื่อให้หนอนเข้าไปอาศัยภายในเมล็ดได้ง่ายขึ้นจำนวน 1 ตัวต่อเมล็ด ทั้งหมด 10 ตัว 5 ชั่วโมงที่กชชวตั้งแต่วันที่หนอนฟักออกจากไข่จนถึงวันที่เข้าสู่ระยะดักแด้

- ระยะดักแด้ นำดักแด้จากการทดลองข้างต้นทั้งที่อยู่ภายในและภายนอกเมล็ด จำนวน 10 ตัว 5 ชั่วโมงที่กชชวตั้งแต่วันที่ระยะเวลาจนกว่าดักแด้จะกลายเป็นตัวเต็มวัย

- ระยะตัวเต็มวัย นำมอดข้าวเปลือกตัวเต็มวัยจากการทดลองข้างต้นใส่ในหลอดทดลองที่มีเมล็ดข้าวเปลือก 10 กรัม หลอดละ 10 ตัว จำนวน 5 ชั่วโมงที่กชชวตั้งแต่วันที่ระยะเวลาจนกว่าแมลงจะตายหมด

การทดลองที่ 2 การประเมินจำนวนประชากรของหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกที่อาศัยอยู่ในเมล็ดข้าวเปลือกด้วยการตรวจวัดเสียง

การทดลองนี้แบ่งกรรมวิธี (treatment) ตามระดับความแตกต่างของจำนวนตัวหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกที่เข้าทำลายอยู่ภายในเมล็ดข้าวเปลือกจำนวน 500 กรัม เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีแมลงเข้าทำลายอยู่ภายในเมล็ด ซึ่งจะได้การทดลองทั้งหมด 11 กรรมวิธี และ 3 ชั่วโมงต่อกรรมวิธี ตามวิธีการทดลองดังนี้

1. เตรียมไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกตามวิธีการเตรียมแมลงใน การทดลองที่ 1

2. นำเมล็ดข้าวเปลือกใส่กล่องพลาสติกใสขนาด $19 \times 28 \times 10$ เซนติเมตรกล่องละ 500 กรัม ต่อมาจึงใส่ไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกลงไปในกลุ่มจำนวน 100 200 300 400 500 600 700 800 900 และ 1,000 ฟอง โดยมีชุดควบคุม (control) เป็นเมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่มีแมลงเข้าทำลายอยู่ภายใน ปล่อยทิ้งไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อป้องกันความเสียหายที่จะเกิดขึ้นกับไข่ในระยะแรก

3. นำเมล็ดข้าวเปลือกในแต่ละชุดการทดลองใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นภาชนะที่ใช้ใส่ตัวอย่างเมล็ดตลอดการทดลองคลุมปากบีกเกอร์ด้วยผ้าตาข่ายสีขาว โดยก่อนนำเมล็ดข้าวเปลือกใส่ในบีกเกอร์ต้องคลุกเคล้าเมล็ดเบาๆ เพื่อให้มีการกระจายตัวของแมลงอย่างสม่ำเสมอภายในตัวอย่างเมล็ด เก็บบีกเกอร์นี้ในสภาพห้องปฏิบัติการพร้อมทั้งบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตลอดการทดลอง

4. นำบีกเกอร์ไปวางไว้ในตู้ควบคุมเสียง และเสียบไมโครโฟนที่เป็นตัวรับเสียงบริเวณกึ่งกลางบีกเกอร์ให้มีความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จากระดับหน้าผิวเมล็ด

5. บันทึกเสียงที่เกิดจากการกินอาหารหรือการเคลื่อนที่ของแมลง ภายในเมล็ดข้าวเปลือก โดยบันทึกเสียงของแมลงทุก 1 วินาที เป็นเวลาทั้งหมด 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึก

เสียง 125 มิลลิวินาที ต่อหนึ่งตัวอย่าง 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 และใช้เครื่อง Sound analyzer (SA-30) เป็นตัววิเคราะห์คลื่นเสียงที่บันทึกได้ และตรวจวัดเสียงทุก 2 วัน ณ ตำแหน่งเดิมทุกครั้งตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงวันที่แมลงกลายเป็นตัวเต็มวัย

6. นำค่าระดับความดังของเสียงที่วัดได้จากทุกช่วงความถี่ มาคำนวณการรวมระดับเสียงตามวิธีการของ Harris (Harris, 1991)

7. บันทึกจำนวนตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวเปลือกที่เกิดขึ้นหลังสิ้นสุดการทดลอง และหาความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนของผีเสื้อข้าวเปลือกกับระดับความดังของเสียงในช่วงระยะเวลาเจริญต่างๆ ของแมลงด้วยวิธี regression และ multiple regression analysis

การทดลองที่ 3 การประเมินความสูญเสียของเมล็ดข้าวเปลือกจากการเข้าทำลายของหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกด้วยการตรวจวัดเสียง

การทดลองนี้แบ่งกรรมวิธี (treatment) ตามระดับความเสียหายของเมล็ดข้าวเปลือกที่เกิดจากการเข้าทำลายของตัวหนอนผีเสื้อข้าวเปลือก โดยความเสียหายของเมล็ดจะแตกต่างกันอยู่ 10 ระดับ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เมล็ดไม่เกิดความเสียหายจากการเข้าทำลายของแมลง ซึ่งจะได้การทดลองทั้งหมด 11 กรรมวิธี และ 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี ตามวิธีการทดลองดังนี้

1. นำเมล็ดข้าวเปลือกใส่กล่องพลาสติกใสขนาด $19 \times 28 \times 10$ เซนติเมตรกล่องละ 500 กรัม ต่อมาปล่อยตัวเต็มวัยผีเสื้อข้าวเปลือกคละเพศเข้าไปในกล่องจำนวน 50 100 150 200 250 300 350 400 450 และ 500 ตัว โดยมีชุดควบคุม (control) ที่ไม่มีแมลงอยู่ในตัวอย่างเมล็ด ทั้งไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการเพื่อให้ผีเสื้อข้าวเปลือกผสมพันธุ์และวางไข่เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำเอาตัวผีเสื้อข้าวเปลือกออกให้หมด

2. ทิ้งตัวอย่างข้าวเปลือกที่มีไข่ของผีเสื้อข้าวเปลือกไว้ประมาณ 48 ชั่วโมง เพื่อให้ไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนและเจาะเข้าไปอาศัยอยู่ในเมล็ดข้าวเปลือก

4. นำเมล็ดข้าวเปลือกใส่บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร กลุ่มปากบีกเกอร์ด้วยผ้าตาข่ายสีขาว โดยก่อนนำเมล็ดข้าวเปลือกใส่ในบีกเกอร์ต้องคลุกเคล้าเมล็ดเบาๆ เพื่อให้เกิดการกระจายตัวของหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกอย่างสม่ำเสมอภายในตัวอย่างเมล็ด

5. นำบีกเกอร์ไปวางไว้ในตู้ควบคุมเสียง และเสียบไมโครโฟนที่เป็นตัวรับเสียงบริเวณกึ่งกลางบีกเกอร์ให้มีความลึกประมาณ 15 เซนติเมตร จากระดับผิวหน้าเมล็ด

6. บันทึกเสียงที่เกิดจากการกินอาหารหรือการเคลื่อนไหวของแมลง ซึ่งเข้าทำลายอยู่ภายในเมล็ดข้าวเปลือก โดยจะบันทึกเสียงทุก 1 วินาที เป็นเวลาทั้งหมด 10 นาที และใช้ความเร็วในการสุ่มบันทึกเสียง 125 มิลลิวินาที ต่อหนึ่งตัวอย่าง 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 และใช้เครื่อง Sound analyzer (SA-30) เป็นตัววิเคราะห์คลื่นเสียง และตรวจวัดเสียงทุก 2 วัน ณ ตำแหน่งเดิมทุกครั้งตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองไปจนถึงวันที่แมลงกลายเป็นตัวเต็มวัย

7. นำค่าระดับความดังของเสียงที่วัดได้จากทุกช่วงความถี่มาคำนวณการรวมระดับเสียงตามวิธีการของ Harris (Harris, 1991)

8. บันทึกเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของเมล็ดข้าวเปลือก ที่เกิดจากการเข้าทำลายของตัวหนอนผีเสื้อข้าวเปลือกในแต่ละวัน โดยการนำตัวอย่างเมล็ดข้าวเปลือกหลังจากการบันทึกเสียงมาชั่งน้ำหนักที่หายไปก็จะได้เปอร์เซ็นต์ความเสียหายในแต่ละตัวอย่าง ดังนี้

$$\% \text{weight loss} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ดตอนเริ่มการทดลอง} - \text{น้ำหนักเมล็ดตอนหลังการทดลอง}}{\text{น้ำหนักของเมล็ดตอนเริ่มการทดลอง}} \times 100$$

9. บันทึกเปอร์เซ็นต์ความสูญเสียของเมล็ดข้าวเปลือกทั้งหมดหลังสิ้นสุดการทดลอง ตามวิธีการ Thousand Grain Mass Methods หรือ TGM Methods ซึ่งคิดค้นขึ้นมาโดย Proctor และ Rowley ในปี ค.ศ. 1983 มีวิธีการ ดังนี้ (ชุมพล, 2533)

- เมื่อสิ้นสุดการทดลองแบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน ด้วยเครื่องแบ่งแยกเมล็ด โดยเมล็ดข้าวเปลือกส่วนแรกจะนำไปหาค่าความชื้นเมล็ดด้วยวิธีการอบด้วยลมร้อน (Hot-air oven method) เมล็ดข้าวเปลือกส่วนที่เหลือจะใช้สำหรับหาค่าเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย

- การหาเปอร์เซ็นต์ความเสียหายโดยวิธี TGM นี้ในแต่ละตัวอย่างต้องสุ่มเมล็ดข้าวเปลือกจำนวน 1,000 เมล็ด โดยทำ 5 ซ้ำ แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งแบบละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง จากนั้นจึงนำมาหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก (TGM) ในแต่ละตัวอย่างตามสูตรดังนี้

$$\text{TGM} = \frac{10 m (100-H)}{N}$$

เมื่อ m = น้ำหนัก 1,000 เมล็ด
 H = ความชื้นของเมล็ด
 N = จำนวนของเมล็ด

- นำค่า TGM ของเมล็ดข้าวเปลือกก่อนการทดลอง ซึ่งใช้วิธีการเดียวกันในขั้นตอนของการเตรียมเมล็ด และค่า TGM หลังการทดลอง มาเปอร์เซ็นต์ความเสียหายโดยน้ำหนักดังนี้

$$\% \text{weight loss} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

เมื่อ M_1 = ค่าของ TGM ของเมล็ดก่อนเริ่มการทดลอง
 M_2 = ค่าของ TGM ของเมล็ดก่อนหลังการทดลอง

10. หาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความเสียหาย กับระดับความคงของเสียงที่วัดได้ในแต่ละระยะการเจริญโดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบ regression และ multiple regression analysis

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved