

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### 1. การศึกษาชีววิทยาของหนอนนกยักษ์

นำลำข้าวสาลีใส่ลงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด  $17 \times 24 \times 9$  เซนติเมตร ที่มีการติดแถบพลาสติกใส ขนาดประมาณ  $3 \times 10$  เซนติเมตร ด้วยสก็อตเทป ตรงบริเวณส่วนที่เป็นด้านกว้าง ไว้บนพื้นกล่อง เพื่อให้ตัวเต็มวัยเพศเมียวางไข่ จำนวน 5 กล่อง โดยใส่ลำข้าวสาลีสูงจากพื้นกล่อง ประมาณ 3 มิลลิเมตร ปล่อยตัวเต็มวัยของหนอนนกยักษ์ จำนวน 10 คู่ ทิ้งไว้ 1 คืน ให้เพศเมียวางไข่ได้แถบพลาสติก

นำตัวเต็มวัยและลำข้าวสาลีออก ไปเลี้ยงกล่องในกล่องใหม่ เพื่อตรวจหาและนับจำนวนไข่ ส่วนไข่ของด้วงหนอนนกยักษ์ ที่ถูกวางในวันเดียวกัน ที่มีจำนวน 100 ฟอง ให้นำสำลีชุบน้ำ มาวางไว้ภายในกล่องเพื่อให้ความชื้นแก่ไข่ โดยไม่ทำการเคลื่อนย้ายไข่ เพราะไข่มีลักษณะบอบบาง แดงง่าย ตรวจสอบดูไข่ทุกวันเพื่อทราบระยะฟักของไข่ เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวหนอน ให้นำหนอนที่ฟักในวันเดียวกันแยกเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร ปิดด้วยฝาพลาสติกเจาะเป็นช่องระบายอากาศที่ปิดด้วยผ้าใยแก้ว (ภาพที่ 1) ใส่ลำข้าวสาลีลงไปสูงประมาณ 2 เซนติเมตร ให้ฟักทองสดหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด  $0.5 \times 0.5$  มิลลิเมตร เพื่อเป็นแหล่งความชื้น ทุก 2 วัน ทำการบันทึกลักษณะและขนาดของไข่ ตัวหนอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย และระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต สังเกตการลอกคราบและเก็บคราบ เพื่อนำไปวัดขนาดหัวกะโหลกด้วย Ocular micrometer และทำการวัดความยาวลำตัวด้วยไม้บรรทัดทุกครั้งเมื่อพบการลอกคราบ เมื่อตัวเต็มวัยออกจากดักแด้ ให้นำตัวเต็มวัยมาแยกเป็นคู่ ๆ (เพศเมีย 1 ตัว เพศผู้ 1 ตัว) และเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด  $11 \times 11 \times 7$  เซนติเมตร ที่มีการติดแถบพลาสติก ขนาดประมาณ  $2.5 \times 8$  เซนติเมตร ด้วยสก็อตเทป ตรงบริเวณส่วนที่เป็นด้านกว้าง ไว้บนพื้นกล่อง เพื่อล่อให้เพศเมียวางไข่ ตรวจสอบปริมาณไข่ และบันทึกจำนวนไข่ที่เพศเมียวางในทุก ๆ วัน จนกระทั่งตัวเต็มวัยตายหมด ข้อมูลความกว้างของหัวกะโหลกของหนอนที่ได้นำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างวัยของหนอนกับขนาดความกว้างหัวกะโหลกโดยวิธี Simple Linear Regression เพื่อเปรียบเทียบกับกฎของ Dyar's Law (Demerec, 1994)



ภาพที่ 1 กล่องเลี้ยงแมลงที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงหนอนนกยักษ์ *Zophobas morio* Fabricius

### 1.1 การศึกษาเพื่อสร้างตารางชีวิต

ในการทดลองนี้ทำการเลี้ยงหนอนนกยักษ์ 2 ชุด คือชุดที่หนึ่งเพื่อทำการศึกษา Biological life table และชุดที่สองเพื่อศึกษาถึง Partial ecological life table

#### 1.1.1 Biological life table

นำไข่ซึ่งได้มาจากการศึกษาทางชีววิทยา โดยใช้ไข่ที่ได้ในวันนั้นรวม 100 ฟอง นำมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร วิธีการเลี้ยงเช่นเดียวกับการศึกษาทางชีววิทยา ทำการตรวจนับและเปลี่ยนอาหารทุก 7 วัน ติดตามดูการเจริญเติบโตสู่ระยะต่าง ๆ จนเป็นตัวเต็มวัย เมื่อเป็นตัวเต็มวัย ตรวจนับจำนวนตัวเต็มวัยที่เกิดขึ้นให้นำมาแยกเป็นคู่ ๆ และเลี้ยงในกล่องพลาสติกขนาด 11 x 11 x 7 เซนติเมตร ที่มีการติดแถบพลาสติก ขนาดประมาณ 4 x 8 เซนติเมตร ด้วยสก็อตเทป ตรงบริเวณส่วนที่เป็นด้านกว้าง ไว้บนพื้นกล่อง เพื่อล่อให้ตัวเมียมาวางไข่ ตรวจปริมาณไข่ และบันทึกจำนวนไข่ที่ตัวเมีย วางในทุก ๆ วัน จนกระทั่งตัวเต็มวัยตายหมด นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติต่าง ๆ แล้วสร้างตารางชีวิตแบบ Biological life table ตามวิธีที่อธิบายไว้โดย อินทวัฒน์ (2548) คือ

อัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (net reproductive rate) :  $R_0 = \sum l_x m_x$

ชั่วอายุขัยของกลุ่ม (cohort generation time) :  $T_c = \frac{\sum l_x m_x \cdot X}{\sum l_x m_x}$

ค่าสัมประสิทธิ์การเพิ่มทางกรรมพันธุ์ (innate capacity of increase) :  $r_c = \frac{\log_e R_0}{T_c}$

อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (finite rate of increase) :  $\lambda = e^{r_c}$

### 1.1.2 Partial ecological life table

ทำในลักษณะเดียวกับการทดลองทางชีววิทยา และติดตามการเปลี่ยนแปลงทุกระยะ บันทึกจำนวนที่รอดชีวิตในแต่ละวัย นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติต่าง ๆ แล้วนำมาสร้างตารางชีวิตแบบ Partial ecological life table

## 2. การศึกษาพืชอาหารของหนอนนกยักษ์

ทำการคัดเลือกตัวหนอนวัยที่ 1 ที่มีอายุ 1 วัน เลือกตัวหนอนที่สมบูรณ์แข็งแรง ใส่ลงในกล่องพลาสติกทรงกระบอกขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 13.5 เซนติเมตร สูง 14 เซนติเมตร ด้านบนเจาะเป็นช่องระบายอากาศที่ปิดด้วยผ้าใยแก้ว โดยใส่ตัวหนอน 10 ตัวต่อกล่อง ใช้จำนวน 3 กล่องต่อ 1 กรรมวิธี โดยบรรจุอาหารในแต่ละกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	ถั่วเขียวบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 2	ถั่วเหลืองบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 3	กากถั่วเหลือง
กรรมวิธีที่ 4	ข้าวสารข้าวเจ้าบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 5	ข้าวสารข้าวกล้องบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 6	ลูกเดือยบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 7	ข้าวฟ่างบดอย่างหยาบ
กรรมวิธีที่ 8	อาหารไก่
กรรมวิธีที่ 9	แป้งสาลี
กรรมวิธีที่ 10	รำข้าวสาลี

ทำการบันทึกจำนวนตัวหนอนที่รอดชีวิต วัดขนาดความยาวลำตัว และนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณค่าทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของหนอนในแต่ละกรรมวิธี และบันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของห้องปฏิบัติการในระหว่างการทดลอง

### 3. การศึกษาอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงหอนนกกัยกัษ์

ทำการคัดเลือกอาหารที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองในข้อ 2 จำนวน 2 ชนิด นำมาผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1 แล้วนำมาใช้เลี้ยงหอนนกกัยกัษ์ เพื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสม โดยการนำตัวหอนวัยที่ 1 ที่มีอายุ 1 วัน ที่สมบูรณ์แข็งแรง นำมาเลี้ยงในกล่องพลาสติกใสทรงกระบอกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร ฝาด้านบนเจาะเป็นช่องระบายอากาศที่ปิดด้วยผ้าใยแก้ว ใส่หอนนกกัยกัษ์ 1 ตัวต่อกล่อง จำนวน 20 กล่องต่อ 1 กรรมวิธี โดยให้อาหารแต่ละกรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1	อาหารที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดสอบในข้อ 2
กรรมวิธีที่ 2	อาหารที่ตีรองลงมาที่ได้จากการทดสอบในข้อ 2
กรรมวิธีที่ 3	อาหารที่ใช้ในกรรมวิธีที่ 1 และ 2 ผสมกันในอัตราส่วน 1 : 1

ให้อาหารแต่ละกรรมวิธีในปริมาณที่เท่ากัน โดยปริมาณอาหารจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อหอนนกกัยกัษ์เปลี่ยนวัย ให้ฟักทองสด ขนาด 5 x 5 มิลลิเมตร ทุก ๆ 2 วัน เพื่อเป็นแหล่งให้ ความชื้น ทำการบันทึกลักษณะและขนาดของหอน ดักแด้ ตัวเต็มวัย และระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของแมลง นอกจากนี้ ทำการชั่งน้ำหนักดักแด้หอนนกกัยกัษ์ที่เพิ่งเข้าดักแด้ใหม่ ๆ ด้วย

### 4. ศึกษาศักยภาพในการใช้หอนนกกัยกัษ์ เป็นอาหารของมวนพิฆาต *E. furcellata*

เป็นการศึกษาการเจริญเติบโตและการขยายปริมาณของมวนพิฆาต *E. furcellata* เมื่อเลี้ยงด้วย ดักแด้หอนนกกัยกัษ์ เปรียบเทียบกับดักแด้หอนนกกัยกัษ์ โดยนำไข่ของมวนพิฆาต จำนวน 100 ฟอง มาไว้เลี้ยงในกล่องพลาสติกเลี้ยงแมลงขนาด 11 x 11 x 7 เซนติเมตร นำสำลีชุบน้ำกลั่นวางไว้ เพื่อให้ความชุ่มชื้น ตรวจสอบดูไข่ทุกวัน เมื่อไข่ฟักออกเป็นตัวอ่อนวัยที่ 1 ปล่อยให้ตัวอ่อนอยู่รวมกันไปก่อน จนตัวอ่อนลอกคราบเข้าสู่วัยที่ 2 จึงทำการแยกไปเลี้ยงในกล่องพลาสติกทรงกระบอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สูง 4.5 เซนติเมตร กล่องละ 1 ตัว วางสำลีชุบน้ำกลั่นไว้ภายใน (ภาพที่ 2) ให้ดักแด้ของหอนนกกัยกัษ์ เป็นอาหารสำหรับตัวอ่อนของมวนในแต่ละกล่อง ทำการบันทึกระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของมวนพิฆาตเพื่อศึกษาวงจรชีวิต สำหรับการศึกษานี้เพื่อให้ได้ค่าต่าง ๆ ของคุณลักษณะทางชีววิทยาของมวนพิฆาต ซึ่งได้แก่ อัตราการขยายพันธุ์สุทธิ (net reproductive rate of increase,  $R_0$ ) อัตราการเพิ่มโดยกรรมพันธุ์ (capacity for increase,  $r$ ) อัตราการเพิ่มที่แท้จริง (finite rate of increase,  $\lambda$ ) และชั่วอายุขัยของกลุ่ม (cohort

generation time,  $T_g$ ) ทำการตรวจนับและบันทึกจำนวนตัวอ่อนของมวนพิฆาตที่อยู่รอดทุกวัน จนกระทั่งตัวอ่อนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย จึงได้นำตัวเต็มวัยไปใส่ในกล่องพลาสติกขนาด 11 x 11 x 7 เซนติเมตร กล่องละ 5 คู่โดยประมาณ เพื่อให้ตัวเต็มวัยจับคู่ผสมพันธุ์และวางไข่ บันทึกจำนวนตัวเต็มวัยที่มีชีวิตอยู่และจำนวนไข่ที่วางทุกวันจนกระทั่งตัวเต็มวัยตายหมด ข้อมูลที่บันทึกได้นำมาสร้างเป็นตารางชีวิตแบบ biological life table ตามวิธีการของ Napompeth (1973) ต่อไป และทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้ แต่ใช้ด้กแค้หนอนนก ในการเลี้ยงมวนพิฆาตแทนหนอนนกยักษ์ ข้อมูลที่ได้จาก 2 การทดลองนี้ นำมาเปรียบเทียบกันทางสถิติเพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของอาหารที่ใช้เลี้ยงมวนพิฆาตต่อไป



ภาพที่ 2 กล่องเลี้ยงแมลงที่ใช้ในการทดลองเลี้ยงมวนพิฆาต *Eocanthecona furcellata* (Wolff)