

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การสำรวจปริมาณของมอดหนวดยาระหว่างการเก็บรักษา

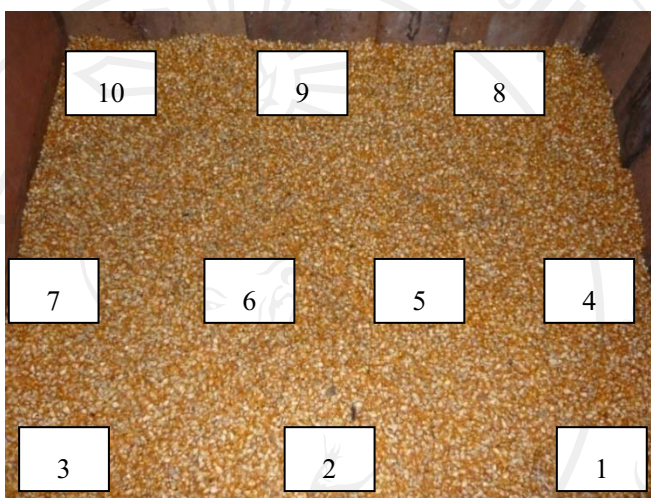
การสำรวจปริมาณของมอดหนวดยาระหว่างการเก็บรักษาในไซโล

การทดลองนี้มีจุดประสงค์ในการสำรวจการเข้าทำลายของมอดหนวดยวในไซโลระหว่างรอรับซื้อผลผลิตจากเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์รายย่อย ซึ่งใช้เวลาในการรวบรวมผลผลิตจนเต็มไซโลขนาด 3,000 ตัน เป็นเวลาประมาณ 1-2 เดือน ทำการศึกษาในไซโลเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน สำรวจทุก ๆ 2 สัปดาห์ จำนวน 4 ครั้ง รวมระยะเวลา 2 เดือน ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2550 ถึงเดือนมกราคม 2551 ทำการเก็บตัวอย่างโดยใช้หลาวส้อมตัวอย่าง (graingier) สุ่มจากส่วนบนของไซโลที่บรรจุข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จนเต็มพอดี สุ่มกระจาย 6 จุด ทั้งบริเวณจากกลางกอง 2 จุด และบริเวณริมกอง 4 จุด ในระดับความลึก 1.2 เมตร จำนวน 3 ซ้ำต่อครั้ง ซ้ำละ 1 กิโลกรัม นำตัวอย่างที่ได้ไปร่อนตะแกรง บันทึกข้อมูลจำนวนมอดหนวดยวที่พบ ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลการสำรวจ ดังนี้

การสำรวจปริมาณของมอดหนวดยาระหว่างการเก็บรักษาในยุ้งฉาง

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อสำรวจปริมาณมอดหนวดยวหลังจากทำการเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ DK 888 จำนวน 1,000 กิโลกรัม เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในโรงเก็บแบบยุ้งฉางของเกษตรกรขนาด 4x4 ตารางเมตร แบบเทกองบนพื้นไม้ หลังคามุงสังกะสี ขนาดของกองข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 1x1 ตารางเมตร อำเภอดอกคำใต้ จังหวัดพะเยา ระหว่างเดือนธันวาคม 2551 ถึงเดือนมิถุนายน 2552 ทำการสุ่มตัวอย่างทุก ๆ เดือน โดยสุ่มกระจายทั่วในกองข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 750 กรัมต่อจุด ทำการสุ่มทั้งหมด 10 จุด (ภาพ 3.1) ที่ระดับความลึก 1 เมตร วัดความชื้น และอุณหภูมิของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ บันทึกผลการทดลอง จากนั้นนำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่สุ่มได้ไปร่อนด้วย

ตะแกรงขนาด 40 Mesh เพื่อแยกมอดหนวดยาวและแมลงอื่น ๆ ที่พบออกจากข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ นับจำนวนตัวเต็มวัยของมอดหนวดยาวที่พบ บันทึกผลการทดลอง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



ภาพ 3.1 แผนผังการสุ่มข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในถังฉาง

3.2 การศึกษาปริมาณของมอดหนวดยาวและการเข้าทำลายของมอดหนวดยาวต่อคุณภาพของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณของมอดหนวดยาวและการเข้าทำลายของมอดหนวดยาวต่อคุณภาพข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจากเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นระยะเวลา 6 เดือน ในสภาพห้องปฏิบัติการ

การเตรียมมอดหนวดยาวสำหรับการทดลอง

ทำการเก็บตัวอย่างมอดหนวดยาวจากไซโลเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ อำเภอบ้านธิ จังหวัดลำพูน นำมาเลี้ยงในสภาพห้องปฏิบัติการ ตามวิธีการของ Flinn (2008) คือ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์อากาศ 75 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นปล่อยมอดหนวดยาวตัวเต็มวัยคละเพศลงไปในอาหาร โดยที่อาหารได้มาจากการนำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีความชื้น 13 เปอร์เซ็นต์ ไปบด ผสมกับ Brewer's yeast ในอัตราส่วนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์บด 300 กรัม ต่อ Brewer's yeast ¼ ช้อนโต๊ะ ปล่อยให้ไว้ประมาณ 5 วัน หลังจากนั้นนำอาหารไปร่อนด้วยตะแกรง

ขนาด 40 Mesh เพื่อแยกแผลงออกจากอาหาร ส่วนที่อยู่ด้านบนของตะแกรงคือ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ตกตลอดจากตะแกรง และส่วนที่ตกตลอดมาจากตะแกรงประกอบด้วย ตัวเต็มวัยของมอดหนวดยาว เมล็ดที่แตกหัก และฝุ่นผงซึ่งมีไข่ของมอดหนวดยาวปะปนอยู่ ทำการแยกตัวเต็มวัยของแผลงออกโดยการใช้ฟูกันเจียแยกตัวเต็มวัยออกมา ส่วนเศษของเมล็ดที่แตกหักและฝุ่นผงปล่อยให้ไว้นจนกระทั่งไข่พัฒนาเป็นตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย ใช้ระยะเวลาประมาณ 30-35 วัน จะได้มอดหนวดยาวที่มีอายุใกล้เคียงกัน ทำการร่อนมอดหนวดยาวตัวเต็มวัย เมื่อตัวเต็มวัยมีอายุไม่เกิน 2 สัปดาห์ สำหรับนำไปทดลองต่อไป

การเตรียมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สำหรับการทดลอง

ในการทดลองนี้ใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ DK 888 โดยที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมดจะถูกนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อฆ่าไข่แผลงหรือแผลงอื่นที่อาจติดมากับเมล็ดก่อน หลังจากนั้นทำการเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 200 กรัม ซึ่งภายในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม (ภาพ 3.2) จะมีข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อยู่ 2 ลักษณะคือ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เต็มเมล็ดรวมถึงเมล็ดที่เสียหายบางส่วน และเมล็ดเสียมากจำนวน 164 กรัม (ภาพ 3.3) (เมล็ดจะไม่ตกตลอดที่ตะแกรงขนาด 40 Mesh) และข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีลักษณะเป็นเมล็ดแตกหัก 6 กรัม (ภาพ 3.4) (เมล็ดจะตกตลอดที่ตะแกรงขนาด 40 Mesh) ความชื้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไม่เกิน 15.5 เปอร์เซ็นต์ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลักษณะดังกล่าวเป็นการจำลองลักษณะของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ชั้นสอง คือ มีเมล็ดแตกหัก 3 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดเสียบางส่วน และเมล็ดเสียมากรวมกันประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ (กระทรวงพาณิชย์, 2544)



ภาพ 3.2 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม (ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เต็มเมล็ด เมล็ดที่เสียหายบางส่วนและเมล็ดเสียมาก 164 กรัม รวมกับเมล็ดแตกหัก 6 กรัม) ตามลักษณะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ชั้นสอง



ภาพ 3.3 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เต็มเมล็ด เมล็ดที่เสียหายบางส่วนและเมล็ดเสียมาก



ภาพ 3.4 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีลักษณะเป็นเมล็ดแตกหัก

ทำการเก็บรักษาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในกล่องพลาสติกทรงกระบอกขนาด 250 มิลลิตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของกล่อง 9 เซนติเมตร ความสูงของกล่อง 9.5 เซนติเมตร ที่ทำการเจาะฝากล่องพลาสติกเป็นรูวงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร แล้วใช้ผ้าขาวบางปิดส่วนที่เจาะรูไว้เพื่อใช้เป็นที่ระบายอากาศ ทำการปล่อยมอดหนวดยาว (กะเพศ) 6 กรรมวิธี คือ

กรรมวิธีที่ 1 ไม่มีมอดหนวดยาว (ชุดควบคุม) ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

กรรมวิธีที่ 2 มีมอดหนวดยาว 4 ตัว ต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

กรรมวิธีที่ 3 มีมอดหนวดยาว 8 ตัว ต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

กรรมวิธีที่ 4 มีมอดหนวดยาว 12 ตัว ต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

กรรมวิธีที่ 5 มีมอดหนวดยาว 16 ตัว ต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

กรรมวิธีที่ 6 มีมอดหนวดยาว 20 ตัว ต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม

ตัวอย่างทุกกล่องจะถูกเก็บรักษาไว้ในสภาพที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ โดยทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสภาพที่

เหมาะสมต่อการพัฒนาของมอดหนวดยาว (Pestweb, 2008) ทุกกรรมวิธีทำการเตรียมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีแมลงทำลาย และเก็บรักษาไว้เพื่อวัดความเสียหาย และจำนวนของแมลงทุกเดือน โดยตัวอย่างที่นำมาวัดหรือถูกรบกวนแล้วจะไม่มีกรนำมาวัดซ้ำในเดือนต่อไป แต่ละกรรมวิธีทำการทดลอง 3 ซ้ำ ทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษาในแต่ละเดือนของแต่ละกรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาว ตัวอย่างจะถูกนำไปร่อนที่ตะแกรงขนาด 40 Mesh จะได้ส่วนต่าง ๆ ของตัวอย่างดังนี้ ส่วนของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่อยู่บนตะแกรง เมล็ดแตกหักที่ตกลงจากตะแกรง ฟันผง และมอดหนวดยาว หลังจากนั้นนำไปศึกษาข้อมูลดังนี้

3.2.1 การศึกษาปริมาณของมอดหนวดยาว

วิธีการทดลอง ดังนี้

เพิ่มขึ้นในรุ่นลูกของมอดหนวดยาว

เป็นการศึกษาจำนวนของมอดหนวดยาวที่มีชีวิตหลังจากปล่อยมอดหนวดยาวเพื่อดูการเจริญเติบโต โดยนำมอดหนวดยาวที่ได้จากการร่อนตะแกรงของแต่ละกรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาวในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม ไปตรวจนับจำนวนมอดหนวดยาวที่มีชีวิต จดบันทึกผลการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูล

เปอร์เซ็นต์การตายของมอดหนวดยาว

ทำการตรวจนับมอดหนวดยาวที่ไม่มีชีวิตหลังจากการร่อนด้วยตะแกรงของแต่ละกรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาวไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การตายจาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย (mortality)} = \frac{\text{จำนวนมอดหนวดยาวที่ตาย}}{\text{จำนวนมอดหนวดยาวที่มีชีวิต} + \text{จำนวนมอดหนวดยาวที่ตาย}} \times 100$$

จดบันทึกผลการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.2 การศึกษาการเข้าทำลายของมอดหนวดยาวต่อคุณภาพข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

3.2.2.1 ความชื้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ความชื้นมีผลต่อน้ำหนักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เนื่องจากเมล็ดมีคุณสมบัติไฮโกรสโคปิก ดังนั้นจำเป็นต้องทำการตรวจสอบความชื้นเพื่อนำไปคำนวณหาน้ำหนักแห้งของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และเป็นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เมื่อมีการเข้าทำลายของมอดหนวดยาว โดยใช้วิธีการทดสอบแบบมาตรฐานคือ วิธีการอบด้วยความร้อน (จงจันทร์, 2529) โดยการ

1. สุ่มตัวอย่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และเมล็ดแตกหัก
2. บดตัวอย่างให้ละเอียด
3. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 5 กรัม 4 ซ้ำ
4. นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างที่อบออกจากตู้อบใส่ในโหลสุญญากาศเป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที เพื่อให้ตัวอย่างที่อบมีอุณหภูมิลดลง
6. ชั่งหาน้ำหนักหลังอบ
7. คำนวณหาปริมาณความชื้นได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ด} = \frac{\text{น้ำหนักสดของเมล็ด} - \text{น้ำหนักแห้งของเมล็ด}}{\text{น้ำหนักสดของเมล็ด}} \times 100$$

8. จัดบันทึกผลการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3.2.2.2 เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

เมื่อร่อนแยกตัวอย่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เก็บรักษาในกรรมวิธีปล่อยมอดหนวดยาวที่ความหนาแน่นต่าง ๆ นำส่วนที่เป็นเมล็ดเต็ม เมล็ดแตกหัก และฟูนผง คำนวณหาน้ำหนักแห้งจากความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นของเมล็ดและน้ำหนักของเมล็ด (ชุมพล, 2533) จากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{น้ำหนักแห้งของเมล็ด} = \frac{\text{น้ำหนักของเมล็ดที่มีความชื้น} \times 100 - \text{เปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ด}}{100}$$

จะได้ข้อมูลน้ำหนักแห้งของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เมล็ดแตกหัก และฝุ่นผง ทำการจดบันทึกข้อมูล คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแตกหัก และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักฝุ่นผง หลังจากการเข้าทำลายของมอดหนวดยาวในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จดบันทึกผลการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.3 ประเมินความเสียหายจากการเข้าทำลายเอนโดสเปิร์มในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของมอดหนวดยาว

เนื่องจากมอดหนวดยาวเป็นแมลงที่เข้าทำลายในส่วนของเอนโดสเปิร์มซึ่งมีผลต่อความงอกและควมมีชีวิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ดังนั้นจึงได้ทำตรวจสอบโดยใช้วิธีการทดสอบความงอกของเมล็ดตามวิธีมาตรฐานสมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2003) และการตรวจสอบควมมีชีวิตของเมล็ดโดยวิธีทางเคมี โดยจะใช้วิธีเตตราโซเลียม (ISTA, 2003)

โดยมีวิธีการทดลอง ดังนี้

3.2.3.1 การทดสอบความงอกของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

วิธีการทดสอบความงอก (ISTA, 2003) สามารถทำได้ดังต่อไปนี้

1. สุ่มตัวอย่างเมล็ด 200 เมล็ด โดยแบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด
2. นำกระดาษเพาะเมล็ด (paper towel) แช่น้ำ หลังจากนั้นนำกระดาษไปผึ่ง เพื่อไม่ให้ในกระดาษเพาะเมล็ดมีน้ำมากเกินไป
3. นำเมล็ดไปเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด โดยวางเมล็ดบนกระดาษ 2 ชั้น แล้วปิดทับเมล็ดด้วยกระดาษเพาะอีกชั้นหนึ่ง ม้วนกระดาษที่มีเมล็ดอยู่ภายใน
4. นำไปไว้ในตู้เพาะ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำอยู่อย่างสม่ำเสมอ เพื่อไม่ให้กระดาษเพาะแห้ง
5. ทำการประเมินผลการทดสอบความงอก 2 ครั้ง คือ การนับครั้งแรก (first count) 4 วัน หลังเพาะ นำม้วนกระดาษมาเปิดออก ตรวจสอบต้นกล้าปกติ เมล็ดที่เหลิบบนวัสดุเพาะม้วนกลับไว้ แล้วนำไปดำเนินการทดสอบต่อ จนกว่าจะถึงการนับครั้งสุดท้าย (final count) 7 วัน หลังเพาะ นำเมล็ดที่ทดสอบในวัสดุเพาะออกมาตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ เมล็ดคุดน้ำแต่ไม่งอก เมล็ดแข็ง และเมล็ดตาย แล้วคำนวณจำนวนต้นกล้าปกติเป็นเปอร์เซ็นต์ความงอก
6. จดบันทึกผลการทดลอง เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.3.2 การตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดโดยวิธีทางเคมี

โดยใช้วิธีเตตราโซเลียม (ISTA, 2003) มีวิธีการปฏิบัติเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. เตรียมเมล็ด สุ่มตัวอย่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน 50 เมล็ด 4 ซ้ำ นำไปแช่ในน้ำกลั่นให้เมล็ดมีการดูดน้ำประมาณ 8-16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส
2. เตรียมเมล็ดเพื่อย้อมสี เมล็ดที่ผ่านการดูดน้ำจนอยู่ในระดับที่พอเหมาะแล้ว ทำการผ่าครึ่งเมล็ดตามยาว (bisect longitudinally) คือ การผ่าครึ่งเมล็ดให้ผ่านส่วนของคัพภะตามแนวยาวเพื่อให้เมล็ดอยู่ในลักษณะที่ส่วนต่าง ๆ ภายในเมล็ดสามารถดูดซึมสารละลายเตตราโซเลียมได้อย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ
3. การย้อมสี (staining) เตรียมสารละลายเตตราโซเลียม โดยใช้เกลือเตตราโซเลียม (2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride หรือ bromide) 1 กรัม ต่อ น้ำ 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์
4. นำเมล็ดที่ได้เตรียมการเพื่อการย้อมสี ไปแช่ในสารละลายของเกลือเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ต้องให้เมล็ดแช่ในอยู่ในสารละลายตลอดเวลาของการย้อมสี และมีสารละลายของเกลือเตตราโซเลียมมากพอ การย้อมสีควรทำในที่มืด อุณหภูมิในการย้อมสีควรอยู่ระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30-60 นาที
5. การประเมินผล เมล็ดที่ผ่านการย้อมสีนำมาล้างน้ำ และแช่ไว้ในน้ำตลอดเวลา เพื่อป้องกันการเปลี่ยนสี แล้วจึงนำมาประเมินผลนำเมล็ดมาตรวจดูลักษณะการติดสีของคัพภะและต้นอ่อน ซึ่งเป็นส่วนประกอบทางโครงสร้างที่สำคัญของเมล็ด สำหรับเมล็ดพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ส่วนเอนโดสเปิร์มไม่จำเป็นต้องติดสี แต่ส่วนที่สำคัญคือ สคิวิเทลลัม และต้นอ่อนต้องติดสี ที่สำคัญคือบริเวณที่เชื่อมต่อระหว่างสคิวิเทลลัมและต้นอ่อนจะต้องติดสีด้วย จดบันทึกจำนวนเมล็ดที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต เพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทดลองที่ 3.2.1, 3.2.2 และ 3.2.3 วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design) ที่มี 2 ปัจจัยประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 กรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาว 5 วิธี ได้แก่ กรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาวที่ 0 (ชุดควบคุม), 4, 8, 12, 16 และ 20 ตัวต่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 200 กรัม แต่ละกรรมวิธีทำ 3 ซ้ำ

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาการเก็บรักษา 6 ระยะ ได้แก่ ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือน

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.2.4 ประเมินความเสียหายของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากมอดหนวดยาว แบบ count and weigh method

การศึกษานี้เป็นการศึกษาความเสียหายของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ระหว่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ทำการปล่อยมอดหนวดยาว และไม่ทำการปล่อยมอดหนวดยาวที่มีผลการต่อเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ โดยสุ่มตัวอย่างข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ออกมาจำนวน 100 เมล็ด ของแต่ละกรรมวิธีการปล่อยมอดหนวดยาว แล้วนับจำนวนเมล็ดแยกออกเป็น 2 ลักษณะ คือ จำนวนเมล็ดดีและจำนวนเมล็ดเสีย โดยที่เมล็ดดีคือ เมล็ดที่ยังไม่ถูกมอดหนวดยาวเข้าทำลาย ส่วนเมล็ดเสียคือเมล็ดที่มีร่องรอยการเข้าทำลายของมอดหนวดยาว หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักเมล็ดแต่ละพวกแล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความเสียหายโดยน้ำหนัก (Adams, 1976) จากสูตร

$$\% \text{ Weigh loss} = \frac{(U \text{ Nd}) - (D \text{ Nu}) \times 100}{U (\text{Nd} + \text{Nu})}$$

เมื่อ	U	=	น้ำหนักของเมล็ดดี
	Nu	=	จำนวนของเมล็ดดี
	D	=	น้ำหนักของเมล็ดเสีย
	Nd	=	จำนวนของเมล็ดเสีย

3.2.5 การเกิดเชื้อราบนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การศึกษากการเกิดเชื้อราบนข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ทำการปล่อยมอดหนวดยาว และไม่ปล่อยมอดหนวดยาว โดยใช้วิธี agar method (ประเทือง, 2538; ประสาทพร, 2534) ทำได้ดังต่อไปนี้

1. นำเมล็ดมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์เจือจาง 1:4 โดยปริมาตร (volume) นาน 5-10 นาที
2. วางเมล็ดที่ฆ่าเชื้อแล้วบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) วางเมล็ด 10 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ
3. นำไปบ่ม (incubate) 5-8 วัน

4. ตรวจสอบหาเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ด วิธีนี้สามารถจำแนกชนิดของเชื้อราได้ด้วยตาเปล่า คือ ดูจากสีและลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อรา

3.3 ระดับการเข้าทำลายข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของมอดหนวดยาว

จุดประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาการจำลองลักษณะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลักษณะที่แตกต่างกันต่อระดับการเข้าทำลายของมอดหนวดยาว

ในการทดลองวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design ที่มี 2 ปัจจัย ประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 ลักษณะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 5 ลักษณะ ได้แก่ ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เต็มเมล็ด เมล็ดแตกหัก เมล็ดร้าวเนื่องจากเครื่องกล เมล็ดผ่าครึ่ง และเมล็ดที่ถูกแมลงชนิดอื่นเข้าทำลายก่อน

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาการเก็บรักษา 5 ระยะ ได้แก่ ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์

การเตรียมมอดหนวดยาวสำหรับการทดลอง

โดยใช้มอดหนวดยาวอายุประมาณ 2 สัปดาห์ ซึ่งได้จากการเตรียมมอดหนวดยาวในการทดลองที่ 2

การเตรียมข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สำหรับการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการจำลองลักษณะข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่สามารถพบได้ทั่วไป 5 ลักษณะ ซึ่งได้แก่

ลักษณะที่ 1 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เต็มเมล็ด (ชุดควบคุม)

ลักษณะที่ 2 เมล็ดแตกหัก

ลักษณะที่ 3 เมล็ดแตกร้าวเนื่องจากเครื่องกล

ลักษณะที่ 4 เมล็ดผ่าครึ่ง

ลักษณะที่ 5 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ถูกแมลงชนิดอื่นเข้าทำลายก่อน ได้แก่ ค้างงวงข้าวโพดเข้าทำลาย

โดยที่ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งหมดจะถูกนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เพื่อฆ่าไข่แมลงหรือแมลงอื่นที่อาจติดมากับเมล็ดก่อน

วิธีการทดลอง

นำข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 5 ลักษณะอย่างละ 10 เมล็ด ใส่ไว้ในกล่องพลาสติกทรงกระบอก ขนาด 250 มิลลิเมตร ที่ทำการเจาะฝาด้านบนกล่อง แล้วปิดทับด้วยผ้าขาวบาง แล้วทำการปล่อยมอด หนอนหวายจำนวน 20 ตัว กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ทำการประเมินทุก ๆ สัปดาห์ โดยศึกษาลักษณะของการเข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของมอดหนอนหวาย คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเข้าทำลาย โดยพื้นที่ แล้วประเมินเป็นระดับเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของมอดหนอนหวาย แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ได้แก่

ระดับ 1 ไม่พบการเข้าทำลาย	0	เปอร์เซ็นต์
ระดับ 2 พบการเข้าทำลาย	1-20	เปอร์เซ็นต์
ระดับ 3 พบการเข้าทำลาย	21-40	เปอร์เซ็นต์
ระดับ 4 พบการเข้าทำลาย	41-60	เปอร์เซ็นต์
ระดับ 5 พบการเข้าทำลาย	61-80	เปอร์เซ็นต์
ระดับ 6 พบการเข้าทำลาย	81-100	เปอร์เซ็นต์

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (comparison of means) โดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์