บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 การศึกษาการตายของด้วงงวงข้าวโพดระยะต่าง ๆ เมื่อได้รับคลื่นความถี่วิทยุ

ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ หาระยะการเจริญเติบโตของด้วงงวงข้าวโพดที่มีอัตราการตายน้อยที่สุดเมื่อได้รับคลื่นความถี่วิทยุ โดยทำการทดลองกับด้วงงวงข้าวโพดทุกระยะการเจริญเติบโต (ระยะ ไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) ระยะไข่ อายุ 5 วัน ระยะหนอน อายุ 20 วัน ระยะดักแด้อายุ 4 วัน และตัวเต็มวัยหลังออกจากเมล็ดเป็นเวลา 20 วัน โดยแยกทำแต่ละระยะ ๆ ละ 5 ซ้ำ ๆ ละ 30 ตัว ใส่ลงในถุงพลาสติกชนิด polyethylene บรรจุเมล็ดข้าวโพด ความชื้นเมล็ด 12 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1,000 กรัม ทำการปิดผนึกถุงพลาสติกแล้วนำไปผ่านคลื่นวิทยุ ที่มีความถี่คลื่น 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 680 วัตต์ เป็นเวลา 120 วินาที หลังจากที่เมล็ดข้าวโพดที่มีแมลงระยะต่าง ๆ ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ จะปล่อยให้แมลงพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ตรวจนับตัวเต็มวัยที่รอดชีวิต ในแต่ละกรรมวิธีหลังจากเก็บรักษาเมล็ดข้าวโพดที่มี แมลงในระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย เป็นเวลา 6, 4, 2 และ 1 สัปดาห์ตามลำดับ ซึ่งแมลงในระยะ ไข่ หนอน ดักแด้จะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย ส่วนกรรมวิธีที่ใช้ตัวเต็มวัยจะตรวจนับจำนวนแมลงที่รอดหลังจากได้รับคลื่นความถี่วิทยุเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และทำการนับแมลงในรุ่นลูกที่เกิดจากตัวเต็มวัยดังกล่าวในกรรมวิธีต่าง ๆ โดยปล่อยให้แมลงเจริญต่อไปอีก 6 สัปดาห์พร้อมกับตรวจวัดความเสียหายของเมล็ดข้าวโพด

3.1.1 การเตรียมเมล็ดข้าวโพดเพื่อใช้เลี้ยงด้วงงวงข้าวโพด

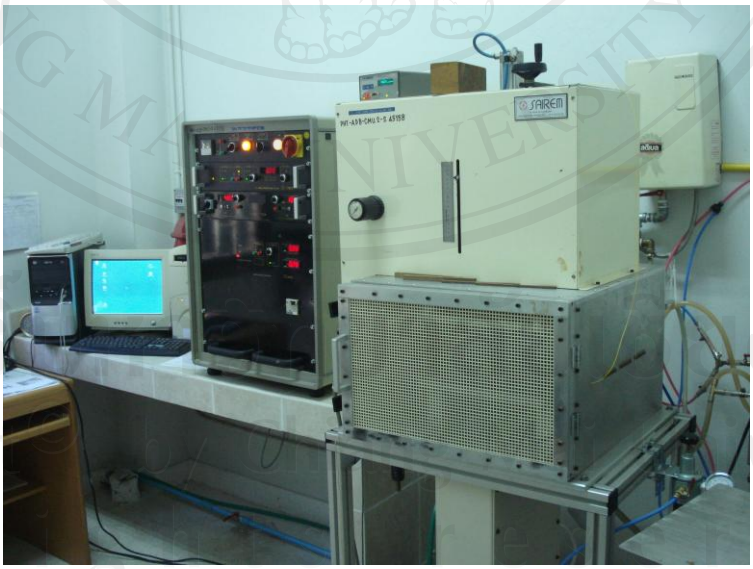
นำเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผลิตและจำหน่ายเป็นการค้าจากบริษัท อาร์. พี. เอ็ม. กรุ๊ฟ ความชื้นของเมล็ดประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 3.1) โดยนำเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มาเป่าทำความสะอาดฝุ่นและสิ่งเจือปนขนาดเล็กจากนั้นนำมาแช่แข็งเป็นเวลา 5 วัน เพื่อกำจัดแมลงที่อาจติดมาด้วย จากนั้นนำเมล็ดข้าวโพดมาไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอุณหภูมิของเมล็ดข้าวโพดเพิ่มขึ้นเท่าอุณหภูมิห้องแล้วทำการปรับความชื้นเมล็ดให้มีความชื้นประมาณ 16-18 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและวางไข่ของด้วงงวงข้าวโพด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 3.1 เมล็ดข้าวโพดที่นำมาใช้ในการทดลอง

3.1.2 เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ

เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ (สร้างและปรับปรุงโดย Institute of Agriculture Engineering University of Gottingen, Germany) ที่มีความถี่ของคลื่นวิทยุ 27.12 MHz (ภาพ 3.2)



ภาพ 3.2 เครื่องกำเนิดคลื่นความถี่วิทยุ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.3 บรรจุภัณฑ์ที่ใช้บรรจุเมล็ดข้าวโพดเพื่อนำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุ

ถุงพลาสติกชนิด polyethylene ขนาด ความกว้าง 8 นิ้ว ยาว 12 นิ้ว ทำการบรรจุเมล็ดข้าวโพดน้ำหนัก 1,000 กรัม ปิดผนึกด้วยความร้อน (ภาพ 3.3)

ภาพ 3.3 ถุงพลาสติก polyethylene บรรจุข้าวโพดน้ำหนัก 1,000 กรัม

3.1.4 การเลี้ยงและเพิ่มปริมาณด้วงงวงข้าวโพดในระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ เพื่อใช้ในการทดลอง

จากลักษณะภายนอกของด้วงงวงข้าวโพด มีความใกล้เคียงกับด้วงงวงข้าวซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของทั้งสองชนิดนี้โดยดูความแตกต่างของอวัยวะสืบพันธุ์ (genitalia) อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของด้วงงวงข้าวโพด โพรงฐานของอวัยวะสืบพันธุ์ (aedeagus) เป็นรูปโค้งรูปโค้งรี คล้ายกรวย มีร่องยาว (ภาพ 3.4 ซ้าย) ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียมีลักษณะเป็นรูปตัววาย ส่วนฐานมีขนาดกว้าง ปลายโค้งขึ้นเล็กน้อยและส่วนยอดเรียวแหลม (ภาพ 3.4 ขวา)

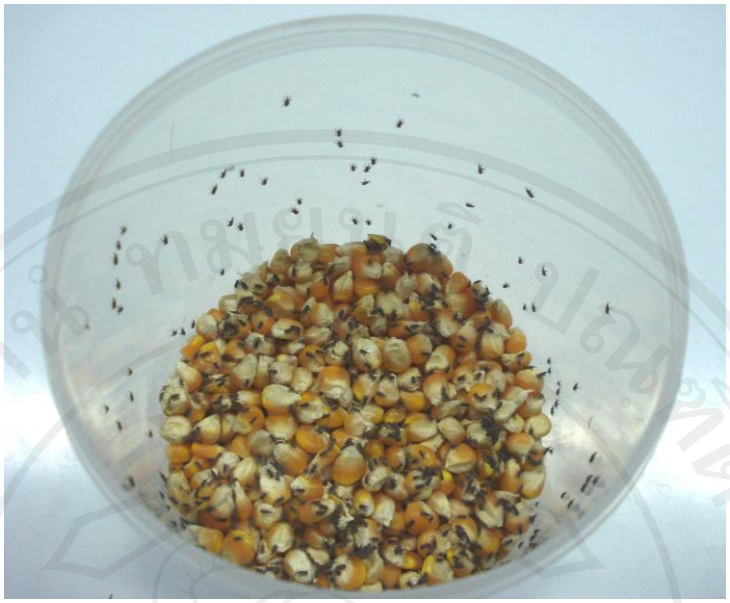
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพ 3.4 ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (ซ้าย) และอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (ขวา) ด้วงงวงข้าวโพด (*S. zeamais*)

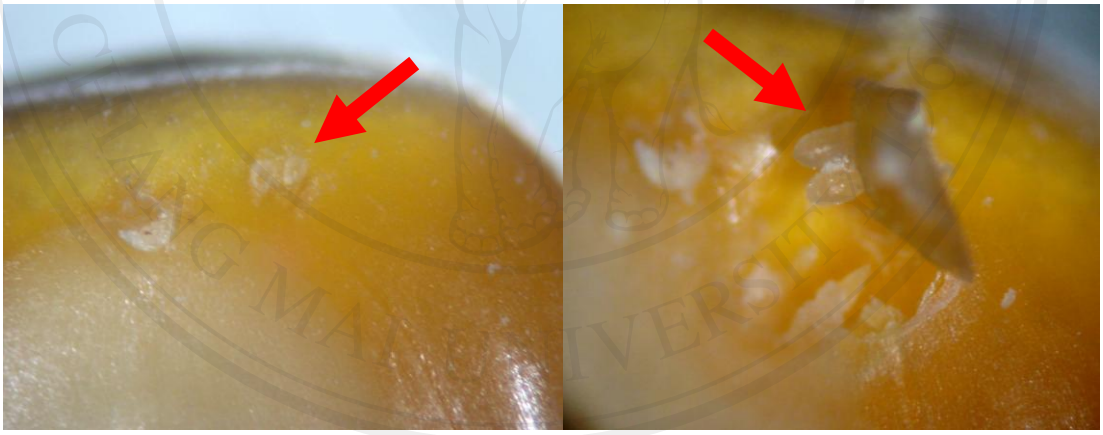
ระยะไข่

นำด้วงงวงข้าวโพดประมาณ 500 ตัวคละเพศ ลงในเมล็ดข้าวโพด ประมาณ 200 กรัม เพื่อให้แมลงวางไข่ ประมาณ 5 วัน ในโหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตร (ภาพ 3.5) จากนั้นร่อนแยกตัวเต็มวัยออก นำเมล็ดข้าวโพดที่มีไข่ของด้วงงวงข้าวโพดอยู่ภายใน แล้วนำมาคัดแยกเมล็ดที่มีการวางไข่ (ภาพ 3.6) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ตำแหน่งที่มีการวางไข่ภายในจะมีสีขาวขุ่นเข้มกว่าซึ่งลักษณะนี้สามารถแยกเมล็ดข้าวโพดที่มีไข่ออกจากเมล็ดข้าวโพดปกติได้ ไข่ของด้วงงวงข้าวโพดมีขนาดเล็กมาก มีสีขาว กลม รี (ภาพ 3.7)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

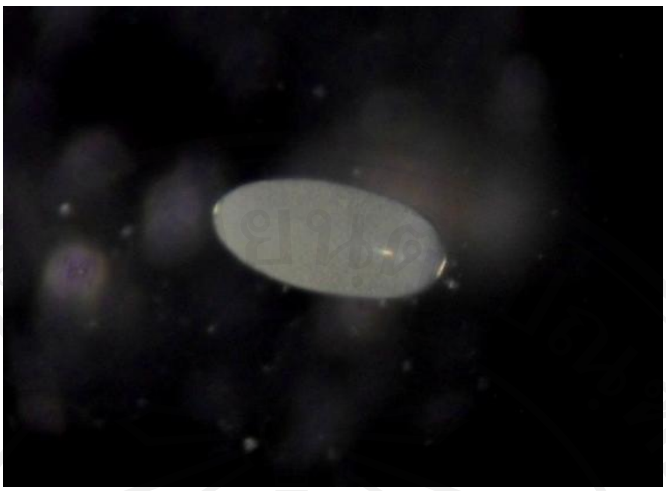


ภาพ 3.5 ด้วงงวงข้าวโพด (*S. zeamais*) ที่เลี้ยงเพื่อให้ผสมพันธุ์และวางไข่



ภาพ 3.6 เมล็ดข้าวโพดที่มีการวางไข่ของด้วงงวงข้าวโพด (egg plug)

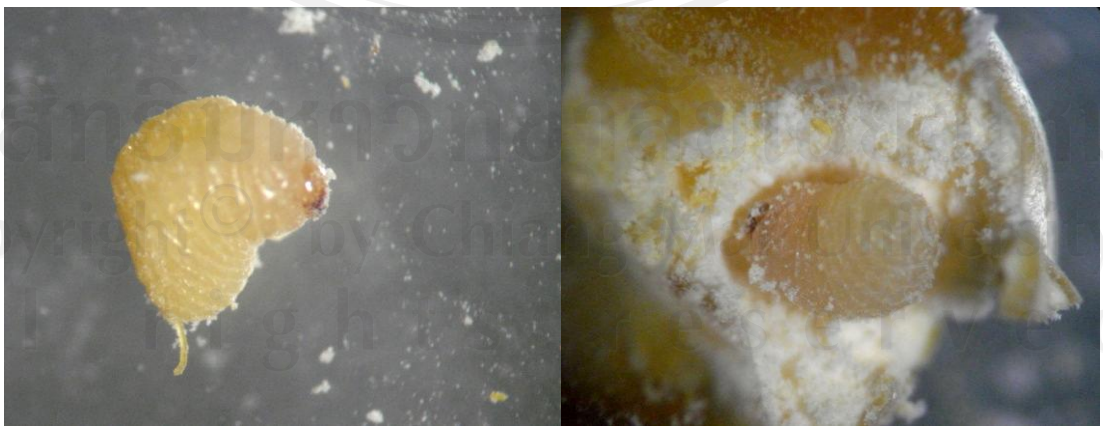
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพ 3.7 รูปร่างลักษณะไข่ของด้วงงวงข้าวโพด

ระยะหนอน

การเตรียมระยะหนอนของด้วงงวงข้าวโพด ทำเช่นเดียวกับการเตรียมระยะไข่ โดยนำเมล็ดที่มีการวางไข่ของแมลงใส่ในโหลพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 เซนติเมตร สูง 15 เซนติเมตรปล่อยให้ไข่ฟักเป็นตัวหนอนใช้เวลา 5-7 วัน โดยนำโหลพลาสติก ที่ใส่เมล็ดข้าวโพดที่มีไข่ของแมลง บ่มไว้ในกล่องพลาสติกที่ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส หนอนระยะแรกมีสีขาวขนาดเล็ก อาศัยกัดกินภายในเมล็ดตลอด จนกระทั่งเจริญเติบโตเต็มที่ ลำตัวหนอนจะมีสีครีมอ่อน แผ่นหลัง อก มีสีน้ำตาลแก่ขึ้น ลำตัวมีลักษณะป้อมและผิวหนังย่น (ภาพ 3.8)

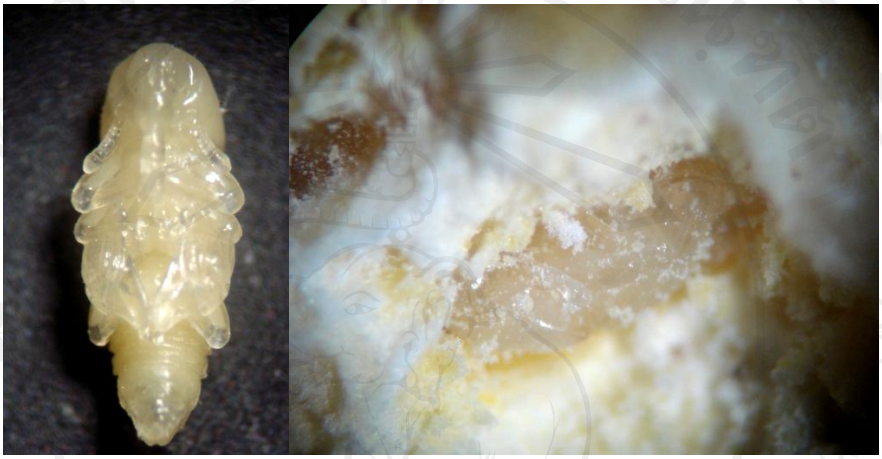


ภาพ 3.8 รูปร่างลักษณะด้วงงวงข้าวโพดระยะหนอน (ซ้าย) และหนอนที่อยู่ในเมล็ดข้าวโพด (ขวา)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระยะดักแด้

การเตรียมระยะดักแด้ของด้วงงวงข้าวโพด ทำเช่นเดียวกับการเตรียมแมลงในระยะไข่ โดยให้เมล็ดข้าวโพดที่มีการวางไข่ของแมลงอายุประมาณ 25-30 วัน เพื่อให้หนอนเข้าสู่ระยะดักแด้อยู่ภายในเมล็ด ลักษณะดักแด้เป็นแบบ exarate คือ อวัยวะส่วน ปาก หนวด ปีก และขา ไม่ติดกับลำตัว แต่ยืดออกจากลำตัวชัดเจน (ภาพ 3.9)



ภาพ 3.9 รูปร่างลักษณะด้วงงวงข้าวโพดระยะดักแด้ (ซ้าย) และดักแด้ที่อยู่ในเมล็ดข้าวโพด (ขวา)

ระยะตัวเต็มวัย

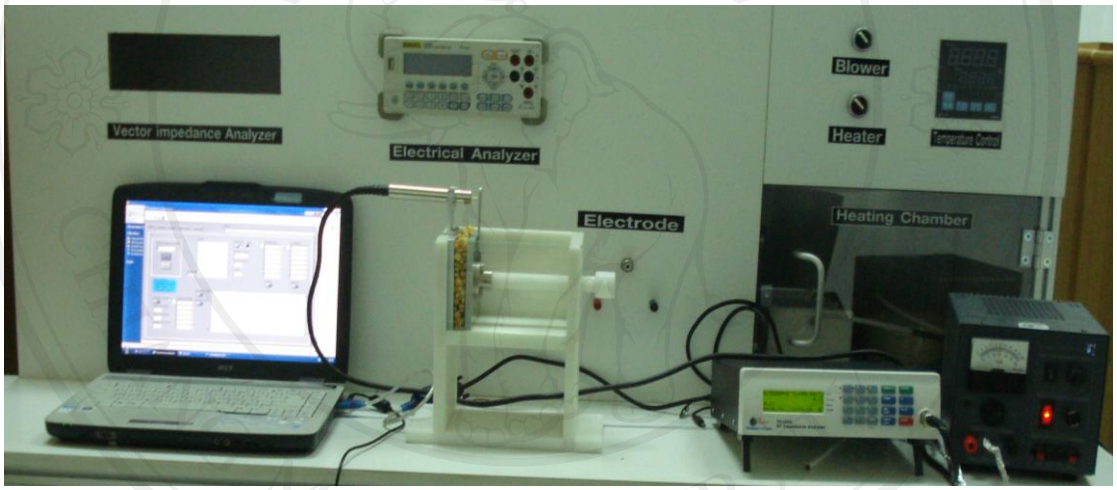
การเตรียมระยะตัวเต็มวัยของด้วงงวงข้าวโพด ทำเช่นเดียวกับการเตรียมแมลงในระยะไข่ โดยให้เมล็ดข้าวโพดที่มีการวางไข่ของแมลง รอให้ไข่ฟักเป็นตัวหนอน ดักแด้ และพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยออกมา ใช้เวลาตั้งแต่ระยะไข่ถึงตัวเต็มวัยประมาณ 6 สัปดาห์ (ภาพ 3.10)

ภาพ 3.10 รูปร่างลักษณะตัวเต็มวัยด้วงงวงข้าวโพด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.1.5 การศึกษาคุณสมบัติไดอิเล็กทริกของด้วงงวงข้าวโพด

วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อหา ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และค่าแฟกเตอร์การสูญเสีย (dielectric loss factor) ที่มีความถี่คลื่น 27 MHz โดยทำการทดลองกับด้วงงวงข้าวโพดทุกระยะการเจริญเติบโต (ระยะไข่ หนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย) และเมล็ดข้าวโพดความชื้นเมล็ด 12 เปอร์เซ็นต์ ระยะไข่ อายุ 5 วัน ระยะหนอน อายุ 20 วัน ระยะดักแด้อายุ 4 วัน และตัวเต็มวัยหลังจากออกนอกเมล็ดอายุ 20 วัน โดยแยกทำแต่ละระยะใส่เมล็ดข้าวโพดที่มีด้วงงวงข้าวโพดในระยะต่าง ๆ ระยะละ 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำบรรจุเมล็ดข้าวโพด 105 กรัม ลงในตัวเก็บประจุแบบแผ่นเพลทคู่ขนานที่มีระยะห่างของเพลท 1.5 เซนติเมตร ทำการวัดค่าคุณสมบัติไดอิเล็กทริก (ภาพ 3.11)



ภาพ 3.11 เครื่องวัดค่าคุณสมบัติไดอิเล็กทริก

วิธีการวัดอัตราการตายของด้วงงวงข้าวโพดในการทดลอง

นำด้วงงวงข้าวโพดทุกระยะการเจริญเติบโตและ เมล็ดข้าวโพดที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติกแล้วผ่านคลื่นความถี่วิทยุ นำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยระยะไข่ใช้เวลาประมาณ 6 สัปดาห์ ระยะหนอน 4 สัปดาห์ ระยะดักแด้ 2 สัปดาห์ และระยะตัวเต็มวัย 1 สัปดาห์ ตามลำดับ จากนั้นทำการตรวจนับตัวเต็มวัยที่รอดชีวิต จำนวนแมลงที่ตายได้จากจำนวนแมลงที่รอดหักลบด้วยจำนวนแมลงที่นำมาทดสอบ ก่อนที่จะผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (30 ตัว) และคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายในชุดที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ โดยนำค่ามาปรับเปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality) ด้วย (Abbott, 1925) ในกรณีที่พบแมลงตายในชุดควบคุม (ไม่ผ่านคลื่น) หาความแตกต่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของด้วงงวงข้าวโพด จำนวนแมลงรุ่นลูก (F1) โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย Tukey HSD

เปอร์เซ็นต์การตายที่แท้จริง (corrected mortality)

$$\text{corrected mortality} = \frac{\text{percent of test mortality} - \text{percent of control mortality} \times 100}{100 - \text{percent of control mortality}}$$

จำนวนรุ่นลูก (F1)

ตรวจนับแมลงรุ่นลูกหลังจากที่ด้วงงวงข้าวโพดได้รับคลื่นความถี่วิทยุ ด้วงงวงข้าวโพดที่รอดและสามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้อาจยังคงมีความแข็งแรงและสามารถให้ลูกได้ทำให้เมล็ดข้าวโพดยังคงถูกทำลายจากแมลงที่รอดเหลือและแมลงในรุ่นลูก ทำการนับแมลงในรุ่นลูกที่เกิดจากตัวเต็มวัยในกรรมวิธีต่าง ๆ โดยปล่อยให้แมลงเจริญต่อไปอีก 6 สัปดาห์คำนวณค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์รุ่นลูก

การวัดความเสียหายของเมล็ดข้าวโพดจากด้วงงวงข้าวโพด

ทำการสุ่มตรวจนับความเสียหายของเมล็ดข้าวโพดจากการเข้าทำลายด้วงงวงข้าวโพดที่รอดเหลือหลังจากได้รับคลื่นความถี่วิทยุและแมลงในรุ่นลูกโดยปล่อยให้แมลงเจริญต่อไปอีก 6 สัปดาห์ ทำการสุ่มนับเมล็ดข้าวโพด ในแต่ละกรรมวิธี จำนวน 1,000 เมล็ดต่อซ้ำ คำนวณค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ความเสียหายโดยเมล็ด (ภาพ 3.12)

ภาพ 3.12 ลักษณะความเสียหายของเมล็ดข้าวโพดจากการเข้าทำลายด้วงงวงข้าวโพด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 การศึกษาระดับพลังงานคลื่นความถี่วิทยุและเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดด้วงงวงข้าวโพด

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาระดับพลังงานและระยะเวลาที่ต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดด้วงงวงข้าวโพดได้อย่างสมบูรณ์ โดยนำแมลงระยะการเจริญเติบโตที่มีอัตราการตายน้อยที่สุดในการทดลองที่ 3.1 มาทดลองศึกษาประสิทธิภาพของคลื่นความถี่วิทยุในช่วงระดับพลังงาน และระยะเวลาต่าง ๆ โดยนำเมล็ดข้าวโพดปริมาณ 1,000 กรัม ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ มาบรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene พร้อมกับด้วงงวงข้าวโพด (ระยะที่มีอัตราการตายน้อยที่สุดเมื่อได้รับคลื่นความถี่วิทยุ) จำนวน 30 ตัว นำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่ 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 700, 730, 750, 780 และ 810 วัตต์ เป็นเวลา 60, 120, 180 และ 240 วินาทีเปรียบเทียบกับแมลงที่ตายโดยไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ (ชุดควบคุม) รวม 20 กรรมวิธี (5 ระดับพลังงาน x 4 ระยะเวลา) ทุกกรรมวิธีทำ 5 ซ้ำ หาความแตกต่างเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของด้วงงวงข้าวโพดโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ทำการนับแมลงในรุ่นลูกที่เกิดจากตัวเต็มวัยในกรรมวิธีต่าง ๆ โดยปล่อยให้แมลงเจริญต่อไปอีก 6 สัปดาห์พร้อมกับตรวจวัดความเสียหาย จัดการทดลองแบบแฟกทอเรียล วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย Tukey HSD

3.3 การศึกษาผลของคลื่นความถี่วิทยุต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด

นำเมล็ดข้าวโพด ปริมาณ 1,000 กรัม ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์มาบรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene นำไปผ่านคลื่นความถี่วิทยุที่ 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 780 วัตต์ เป็นเวลา 240 วินาที ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดข้าวโพดเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์แบบเชิงประมาณ (proximate analysis) ซึ่งทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด 6 ประเภท คือ

ความชื้น (moisture) (ISTA, 1999)

โปรตีน (crude protein)

ไขมัน (crude fat)

เยื่อใย (crude fiber)

เถ้า (ash)

สารสกัดที่ปราศจากไนโตรเจน (nitrogen free extract)

จากนั้นนำผลมาคำนวณหาค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ (AOAC, 2005)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์ความชื้น (moisture content) (ISTA, 1999)

วิเคราะห์ความชื้นของเมล็ดข้าวโพด โดยนำตัวอย่างเมล็ดข้าวโพด มาบดละเอียดเป็นผง แล้วนำไปชั่ง 5 $\pm$ (0.0005) กรัม แล้วทำการอบตัวอย่างข้าวโพดพร้อมกล่องอะลูมิเนียม (can) ด้วยความร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส ระยะเวลานาน 4 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(A-B) \times 100}{C}$$

A= น้ำหนักกล่องอะลูมิเนียมพร้อมฝาชั่งรวมตัวอย่างก่อนอบ

B= น้ำหนักกล่องอะลูมิเนียมพร้อมฝาชั่งรวมตัวอย่างหลังอบ

C= น้ำหนักเมล็ดข้าวโพดบดที่นำมาวิเคราะห์

การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด (AOAC, 2005)

นำเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ 27.12 MHz ที่ระดับพลังงาน 780 วัตต์ เป็นเวลา 240 วินาที มาตรวจสอบคุณภาพเทียบกับกรรมวิธีที่ไม่ผ่านคลื่นความถี่วิทยุ ทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวโพด คือ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า ภายใต้ห้องปฏิบัติการศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ศวท-มช.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved