

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. กรงเลี้ยงแมลงขนาด $60 \times 60 \times 100$ เซนติเมตร
2. โกรเรื่องมุ้งตาข่ายพลาสติกขนาด $2 \times 2 \times 2$ เมตร มีขนาดความถี่ 60 ช่อง/นิ้ว (Mesh)
3. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด $19 \times 28 \times 11$ เซนติเมตร
4. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด $13.5 \times 18.8 \times 7$ เซนติเมตร
5. กล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร
6. ตู้ควบคุมแสงและอุณหภูมิ
7. กล้องจุลทรรศน์แบบ Stereo microscope และ Compound microscope
8. กล้องถ่ายภาพ
9. แผ่นสไลด์รวมดาวและสไลด์หลุม
10. จานแก้ว (petridish) เส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร
11. ขวดดองแมลงขนาด 1 dram (10 มิลลิลิตร)
12. กระถาง
13. เทียนปักแมลงเบอร์ 0
14. พู่กันเบอร์ 2 และ 5
15. เอทิลแอลกอฮอล์ 75 เปอร์เซ็นต์
16. สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์
17. สำลี
18. พองน้ำ
19. กระดาษชำระ
20. น้ำกลั่นและหลอดหยด
21. ตันถั่วฝักยาวอายุ 2-3 สัปดาห์
22. ตันถั่วฝักยาวอายุ 25 วัน
23. ตันแตงกวาอายุ 25 วัน
24. แปลงปลูกถั่วฝักยาวทดลอง

**Central Library
Prince of Songkla University**

25. แมลงวันหนอนชอนใบ *L. sativae*

26. แมลงตัวเปี้ยน *H. varicornis*

วิธีการ

1. การศึกษาลักษณะทางชีววิทยาของแมลงตัวเปี้ยน *H. varicornis*

ทำการศึกษาที่ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวนทรีแห่งชาติ (ภาคใต้) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ระหว่างเดือนธันวาคม 2542 ถึงเดือนธันวาคม 2544 ในสภาพห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 23-37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-95 เปอร์เซ็นต์

เพาะเลี้ยงแมลงวันหนอนชอนใบ *L. sativae* ในกรงเลี้ยงแมลงขนาด $60 \times 60 \times 100$ เซนติเมตร โดยใส่แมลงวันหนอนชอนใบจำนวน 100-150 คู่/กรง ใช้ต้นถั่วฝักยาวที่เพาะเมล็ดในถุงเพาะชำขนาด 8×10 เซนติเมตร อายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ จำนวน 24-30 ต้น/กรง ให้เป็นพืชอาหารของตัวเต็มวัยแมลงวันหนอนชอนใบและเป็นที่สำหรับวางไข่ โดยให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ชูบฟองน้ำเป็นอาหารร่วมด้วย ทำการเปลี่ยนถ่ายต้นถั่วฝักยาวทุก 24 ชั่วโมง ต้นที่ได้รับการวางไข่แล้วจะนำไปตั้งพักไว้ในโรงเรือนมุ้งตาข่ายขนาด $2 \times 2 \times 2$ เมตร เพื่อให้หนอนชอนใบเจริญเติบโตใช้สำหรับการทดลองและเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ ซึ่งการขยายพันธุ์ต่อไปจะทำโดยการตัดใบถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบระยะสุดท้ายก่อนการเข้าดักแด้ (ประมาณ 6 วันหลังการวางไข่) ใส่ไว้ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $19 \times 28 \times 11$ เซนติเมตร รองพื้นกล่องเลี้ยงแมลงด้วยกระดาษชำระเพื่อซับน้ำซึ่งคายออกจากการวางไข่ อาจจะมีมากเกินไปทำให้ใบเน่าเสียได้ง่าย เมื่อหนอนชอนใบจะมาเข้าดักแด้ที่พื้นกล่องหมดแล้ว เรียกดักแด้เพื่อรวบรวมใส่กล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร รอให้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัยและนำไปใช้เพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ต่อไป

การเพาะเลี้ยงแมลงตัวเปี้ยน *H. varicornis* จะเลี้ยงในกรงเลี้ยงแมลงขนาด $60 \times 60 \times 100$ เซนติเมตร โดยใส่แมลงตัวเปี้ยนจำนวน 25-30 คู่/กรง ใส่ต้นถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบอยู่บนใบที่ได้จากการเพาะเลี้ยง (ประมาณ 5 วันหลังการวางไข่) จำนวน 12-15 ต้น/กรง เพื่อให้แมลงตัวเปี้ยนใช้สำหรับการวางไข่และให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหารร่วมด้วย เปลี่ยนถ่ายต้นถั่วฝักยาวทุก 24 ชั่วโมง ต้นถั่วฝักยาวที่หนอนชอนใบถูกแมลงตัวเปี้ยนวางไข่แล้วจะนำไปตั้งพักในโรงเรือนมุ้งตาข่ายขนาด $2 \times 2 \times 2$ เมตร และรอให้แมลงตัวเปี้ยนเจริญเติบโต หลังจากนั้นประมาณ 4 วัน ตัดใบถั่วฝักยาวที่มีแมลงตัวเปี้ยนเจริญอยู่บนใบใส่ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $19 \times 28 \times 11$ เซนติเมตร รอให้แมลงตัวเปี้ยนฟักออกจากการดักแด้ นำตัวเต็มวัยของแมลงตัวเปี้ยนที่ได้ไปใช้สำหรับการทดลองและเพาะขยายพันธุ์ต่อไป

1.1 วัสดุจัดซื้อ

- 1.1.1 นำใบถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบ *L. sativae* ระยะที่ 2 กำลังจะเข้าสู่ระยะที่ 3 (ประมาณ 5 วันหลังการวางไข่) จำนวนมากพอ (มากกว่า 20 ตัว) ใส่ลงไปในกล่องเลี้ยงเมล็ดขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร จำนวน 10 กล่อง แต่ละกล่องมีเมล็ดตัวเปลี่ยน *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียที่เพิ่งฟักออกจากดักแด้และจับคู่ให้ผสมพันธุ์กันแล้วเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ชูบฟองน้ำเป็นอาหาร ห่อก้านใบถั่วฝักยาวด้วยสำลีชูบฟองน้ำเพื่อให้ความชื้นกับใบพืชป้องกันใบเหี่ยว บันทึกรายละเอียดของวันที่ทดลองในแต่ละกล่อง
- 1.1.2 ทุก 12 ชั่วโมง เปลี่ยนถ่ายตัวเต็มวัยเมล็ดตัวเปลี่ยนจากกล่องเลี้ยงเมล็ดเดิมใส่กล่องเลี้ยงเมล็ดกล่องใหม่ที่มีหนอนชอนใบระยะที่ 2 บนใบถั่วฝักยาวและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหาร
- 1.1.3 ทุก 12 ชั่วโมง สูมเอาใบถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบซึ่งคาดว่าถูกเปลี่ยนแล้ว มาตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เมื่อพบไข่หรือหนอนของเมล็ดตัวเปลี่ยนจะใช้เข็มเจียรอยชอนให้เปิดออกและใช้พุกันเบอร์ 2 เขี่ยเอาเมล็ดตัวเปลี่ยนลงบนแผ่นสไลด์ เพื่อตรวจสอบรายละเอียดและบันทึกกระบวนการเจริญเติบโตภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope โดยจะใช้เมล็ดตัวเปลี่ยนจำนวน 20 ตัว ในการศึกษาระยะเวลาเจริญเติบโตทุก ๆ 12 ชั่วโมง สำรวจเมล็ดในกล่องที่ยังไม่ได้นำไปตรวจสอบจะเก็บไว้และนำไปตรวจสอบดูระยะเวลาเจริญเติบโตของเมล็ดตัวเปลี่ยนในครั้งต่อ ๆ ไป
- 1.1.4 เมื่อเมล็ดตัวเปลี่ยนเจริญเติบโตเป็นดักแด้ในใบถั่วฝักยาวแล้ว ทำการตรวจสอบดักแด้ในใบพืชจำนวน 64 ตัวเดียว ทุก 12 ชั่วโมง จนกว่าดักแด้จะพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยในที่สุด
- 1.1.5 บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโต

1.2 อายุขัย ความสามารถในการผลิตลูกและอัตราส่วนเพศลูกที่ได้ของเมล็ดตัวเปลี่ยน

- 1.2.1 จับคู่ผสมพันธุ์เมล็ดตัวเปลี่ยน *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียที่เพิ่งฟักออกจากดักแด้จำนวน 10 คู่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละคู่ให้ผสมพันธุ์กันในกล่องเลี้ยงเมล็ดขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตรและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ชูบฟองน้ำเป็นอาหาร

- 1.2.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำใบถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบ *L. sativae* ระยะที่ 2 กำลังจะเข้าสู่ระยะที่ 3 จำนวนมากพอก (มากกว่า 20 ตัว) ใส่ลงไปในกล่องเลี้ยงแมลงแต่ละกล่อง โดยที่ก้านใบถั่วฝักยาวจะห่อด้วยสำลีชูบัน้ำเพื่อให้ความชื้นป้องกันใบเหี่ยวก่อนที่แมลงตัวเปลี่ยนจะพัฒนาการเจริญเติบโตเต็มที่ เจียนรายละเอียดของวันที่ทดลองในแต่ละกล่อง
- 1.2.3 ทำการเปลี่ยนถ่ายแมลงตัวเปลี่ยนลงสู่กล่องเลี้ยงแมลงกล่องใหม่ที่ใส่หนอนชอนในระยะที่ 2 บนใบถั่วฝักยาวและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์ ทุก 24 ชั่วโมง จนกว่าแมลงตัวเปลี่ยนจะตายหมดจึงบันทึกจำนวนวันที่ตัวเต็มวัยแมลงตัวเปลี่ยนแต่ละเพศมีชีวิตอยู่ได้
- 1.2.4 กล่องเลี้ยงแมลงที่มีหนอนชอนใบซึ่งถูกแมลงตัวเปลี่ยนวางไว้แล้วจะเก็บไว้บนชั้นวางเพื่อรอให้แมลงตัวเปลี่ยนเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัยอย่างมาก โดยหยดน้ำให้ความชื้นที่สำลีห่อก้านใบทุกวันจนกว่าใบถั่วฝักยาวจะเหี่ยยวหรือร่วงหล่นจากก้านใบ
- 1.2.5 นับจำนวนแมลงตัวเปลี่ยนที่เจริญอยู่เป็นตัวเต็มวัยโดยแยกเพศของลูกที่ได้
- 1.2.6 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าเฉลี่ย
- 1.3 ระยะของหนอนชอนใบที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนและการกินโดยแมลงตัวเปลี่ยน
- 1.3.1 ทำการศึกษาแบบ no choice test จับคู่สมพันธ์แมลงตัวเปลี่ยน *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียจำนวน 45 คู่ โดยแต่ละคู่ให้ผสมพันธุ์กันในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตรและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 1.3.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำใบถั่วฝักยาวที่มีหนอนชอนใบ *L. sativae* ระยะที่ 1 2 และ 3 อย่างละ 20 ตัว ใส่ลงในกล่องเลี้ยงแมลงเพื่อให้แมลงตัวเปลี่ยนวางไว้และกินหนอนชอนใบเป็นอาหาร และที่ก้านใบถั่วฝักยาวจะใช้สำลีชูบัน้ำห่อให้ความชื้นเพื่อป้องกันใบถั่วฝักยาวเหี่ยยว โดยแบ่งการทดลองเป็น 3 สิ่งทดลอง ซึ่งกำหนดให้
- 1.3.2.1 สิ่งทดลองที่ 1 คือหนอนชอนใบระยะที่ 1 จำนวน 15 กล่อง
- 1.3.2.2 สิ่งทดลองที่ 2 คือหนอนชอนใบระยะที่ 2 จำนวน 15 กล่อง
- 1.3.2.3 สิ่งทดลองที่ 3 คือหนอนชอนใบระยะที่ 3 จำนวน 15 กล่อง

- 1.3.3 หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการเปลี่ยนถ่ายแมลงตัวเบียนออกจากรกล่อง นำไปถัวผึ้ก yayaw ไปตรวจนับจำนวนหนอนชนิดที่ถูกกินได้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope และเก็บใบถัวใส่กล่องไว้ตามเดิม หยดน้ำให้ความชื้นที่ก้านใบถัวผึ้ก yayaw และรอจนกว่าแมลงตัวเบียนจะพอกอกมาเป็นตัวเต็มวัย
- 1.3.4 นับจำนวนแมลงตัวเบียนที่พอกอกมาทั้งหมด
- 1.3.5 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบจำนวนลูกแมลงตัวเบียนที่ได้และจำนวนหนอนชนิดที่ถูกกินในหนอนชนิดไปแต่ละระยะการเจริญเติบโตโดยใช้วิธี DMRT

1.4 การเบียนและการกินของแมลงตัวเบียนที่ระดับความหนาแน่นแตกต่างกันของหนอนชนิดใน

- 1.4.1 จับคู่ผสมพันธุ์แมลงตัวเบียน *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียจำนวน 60 คู่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละคู่ให้ผสมพันธุ์กันในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตรและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหาร
- 1.4.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำไปถัวผึ้ก yayaw ที่มีหนอนชนิด *L. sativae* ระยะที่ 2 กำลังจะเข้าสู่ระยะที่ 3 จำนวน 10 20 30 และ 40 ตัว ใส่ลงในกล่องเลี้ยงแมลงเพื่อให้แมลงตัวเบียนวางไข่และกินเป็นอาหาร ที่ก้านใบถัวผึ้ก yayaw จะห่อตัวยำลีชูบหน้าเพื่อให้ความชื้นป้องกันใบเหี่ยว ทำการศึกษาทั้งสิ้น 15 ชั้วโมงแต่ละความหนาแน่น โดยแบ่งการทดลองเป็น 4 สิ่งทดลอง กำหนดให้
- 1.4.2.1 สิ่งทดลองที่ 1 คือหนอนชนิดในความหนาแน่น 10 ตัว/กล่อง จำนวน 15 กล่อง
- 1.4.2.2 สิ่งทดลองที่ 2 คือหนอนชนิดในความหนาแน่น 20 ตัว/กล่อง จำนวน 15 กล่อง
- 1.4.2.3 สิ่งทดลองที่ 3 คือหนอนชนิดในความหนาแน่น 30 ตัว/กล่อง จำนวน 15 กล่อง
- 1.4.2.4 สิ่งทดลองที่ 4 คือหนอนชนิดในความหนาแน่น 40 ตัว/กล่อง จำนวน 15 กล่อง
- 1.4.3 หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง ทำการเปลี่ยนถ่ายแมลงตัวเบียนออกจากรกล่องเลี้ยงแมลงและนำไปถัวผึ้ก yayaw ไปตรวจนับจำนวนหนอนชนิดที่ถูกกินได้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope และเก็บใบถัวผึ้ก yayaw ใส่กล่องไว้ตามเดิม

หยดน้ำให้ความชื้นที่ก้านใบถ้าฝักยาวและรากนกว่าแมลงตัวเดียวจะพังออกมาก เป็นตัวเต็มวัย

- 1.4.4 นับจำนวนแมลงตัวเดียวที่พังออกมากทั้งหมด
- 1.4.5 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบจำนวนลูกแมลงตัวเดียวที่ได้และจำนวนหนอนซ่อนใบที่ถูกกินที่ความหนาแน่นของหนอนซ่อนใบในระดับต่างกันโดยใช้วิธี DMRT

1.5 อุณหภูมิและจำนวนวันในการยึดอายุการเก็บรักษาตักแต้มแมลงตัวเดียว

- 1.5.1 ตัดใบถ้าฝักยาวที่มีตักแต้มของแมลงตัวเดียว (โดยตัดเอาเฉพาะบริเวณที่มีตักแต้มอยู่เท่านั้นเพื่อลดพื้นที่) ใส่ลงกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร จำนวน 30 ตักแต้ม/กล่อง เพื่อนำไปใช้ศึกษาที่ระดับอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ 10 และ 15 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 10 และ 15 วัน
- 1.5.2 นำกล่องใส่ตักแต้ม 4 กล่อง (ชั้น) วางในตู้ควบคุมแสงและอุณหภูมิ (growth chamber) ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน จากนั้นจึงเอาออกมาระหว่างอุณหภูมิห้อง ทำข้อวิธีการเดียวกันนี้ที่อุณหภูมิเดิมแต่วремะเวลาที่วางนาน 10 และ 15 วัน
- 1.5.3 ทำข้อในข้อ 1.5.2 แต่ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิห้อง
- 1.5.4 จากข้อ 1.5.2, 1.5.3 เมื่อตักแต้มอยู่ในสภาพอุณหภูมิห้องแล้ว ทุก 24 ชั่วโมง นำกล่องใส่ตักแต้มมาตรวจนับดูว่ามีการฟักออกมากเป็นตัวเต็มวัยหรือไม่ หากมีบันทึกวันที่ จำนวนแมลงตัวเดียวและตรวจส่วนหนึ่งกว่าจะไม่มีการฟักออกจากตักแต้ม
- 1.5.5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลและเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี DMRT

1.6 จำนวนหนอนซ่อนใบที่ตัวเต็มวัยแมลงตัวเดียวเป็นกินตลอดชีวิต

- 1.6.1 จับคู่ผสมพันธุ์แมลงตัวเดียว *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียจำนวน 10 คู่ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละคู่ให้ผสมพันธุ์กันในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตรและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหาร
- 1.6.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำไปถ้าฝักยาวที่มีหนอนซ่อนใบ *L. sativae* ระยะที่ 2 กำลังจะเข้าสู่ระยะที่ 3 จำนวน 10 ตัว ใส่ลงในกล่องเลี้ยงแมลงเพื่อให้แมลงตัวเดียว

กินเป็นอาหาร โดยที่ก้านใบถั่วฝักยาวจะใช้สำลีชูบัน้ำห่อให้ความชื้นเพื่อป้องกัน
ใบถั่วฝักยาวเหี่ยว

- 1.6.3 เปลี่ยนถ่ายแมลงตัวเบียนลงกล่องเลี้ยงแมลงกล่องใหม่ที่มีหนอนชนิดในระยะที่ 2 อุ่นและให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหารทุก 24 ชั่วโมง จนกว่า
แมลงตัวเบียนเพศเมียจะตาย
- 1.6.4 นำไปถั่วฝักยาวที่มีหนอนชนิดในถุงแมลงตัวเบียนกินแล้วมาตรวจสอบได้กล่อง
จุดทรงศ์แบบ stereo microscope เพื่อนับจำนวนหนอนชนิดในที่ถุงกินในแต่
ละวัน
- 1.6.5 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่าเฉลี่ย

2. การทดสอบประสิทธิภาพแมลงตัวเบียน *H. varicornis* ในการควบคุมหนอนชนิดใน

2.1 สภาพห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบประสิทธิภาพการกินและการเบียนของแมลงตัวเบียนในสภาพห้องปฏิบัติ-
การที่อุณหภูมิ 23-37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 60-95 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน
เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการกินและการเบียนในแต่ละวัน

- 2.1.1 จับคู่ผู้สมพันธ์แมลงตัวเบียน *H. varicornis* เพศผู้และเพศเมียจำนวน 20 คู่ เป็น
เวลา 24 ชั่วโมง โดยแต่ละคู่เลี้ยงในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $7 \times 10 \times 5$ เซนติเมตร
และให้สารละลายน้ำผึ้ง 10 เปอร์เซ็นต์เป็นอาหาร
- 2.1.2 เมื่อครบ 24 ชั่วโมง นำไปถั่วฝักยาวที่มีหนอนชนิดใน *L.sativae* ระยะที่ 2 กำลัง
จะเข้าสู่ระยะที่ 3 จำนวน 30 ตัว ลงในกล่องเลี้ยงแมลงที่มีแมลงตัวเบียนอุ่น ที่
ก้านใบถั่วฝักยาวจะให้ความชื้นโดยการห่อด้วยสำลีชูบัน้ำ
- 2.1.3 เปลี่ยนถ่ายแมลงตัวเบียนลงกล่องเลี้ยงแมลงกล่องใหม่ทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3
วัน ส่วนกล่องเลี้ยงแมลงที่หนอนชนิดในถุงกางไว้แล้วนั้นจะนำไปตรวจภายในได้
กล่องจุดทรงศ์แบบ stereo microscope เพื่อนับจำนวนหนอนที่ถุงกิน จากนั้น
จะเก็บใส่กล่องเดิมเพื่อรอให้แมลงตัวเบียนเจริญเป็นตัวเต็มวัยออกมาก โดยหยด
น้ำเพื่อให้ความชื้นที่สำลีทุกวันจนกว่าใบถั่วฝักยาวจะเหี่ยวหรือร่วงหล่นจากก้าน
ใบ
- 2.1.4 นับจำนวนดักแด้ของแมลงวันหนอนชนิดในบริเวณก้นกล่องและจำนวนแมลงตัว
เบียนที่เจริญออกมากเป็นตัวเต็มวัย

- 2.1.5 วิเคราะห์ผลเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดไปที่ถูกกิน จำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดไปที่ถูกเปลี่ยน และจำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดไปที่ถูกควบคุมโดยแมลงตัวเปลี่ยนในแต่ละวันเป็นระยะเวลา 3 วัน โดยใช้วิธี DMRT (ตารางภาคผนวก ก)

2.2 สภาพมังงาดข่ายพลาสติก

ทำการศึกษาในโรงเรือนมังงาดข่ายพลาสติกบริเวณศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวนทรีย์แห่งชาติ (ภาคใต้) ระหว่างเดือนมิถุนายน – ธันวาคม 2544 อุณหภูมิ 24-40 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-100 เปอร์เซ็นต์

- 2.2.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 สิ่งทดลอง 2 ชั้น ในโรงเรือนมังงาดข่ายพลาสติกขนาด $2 \times 2 \times 2$ เมตร เพื่อเปรียบเทียบระหว่างมังงาดข่ายที่ไม่มีการปล่อยแมลงตัวเปลี่ยนกับมังงาดข่ายที่ปล่อยแมลงตัวเปลี่ยนในระดับแตกต่างกัน
- 2.2.2 ทำการศึกษากับพืช 2 ชนิดที่ใช้เป็นพืชอาศัยของหนอนชนิดไปคือ ถั่วฝักยาวและแตงกวา โดยพืชแต่ละชนิดจะทำการทดลองแยกกันในแต่ละมังงาด เพื่อดูว่าประสิทธิภาพของแมลงตัวเปลี่ยนในพืชทั้ง 2 ชนิดนี้มีความสอดคล้องกันหรือไม่
- 2.2.3 ปลูกถั่วฝักยาวและแตงกวาแต่ละชนิดลงในถุงเพาะชำขนาด 12×24 เซนติเมตร ถุงละ 1 ต้น จำนวน 25 ถุงต่อมังงาด วางเรียงกัน 5 แถว แถวละ 5 ถุง และปักไม้เพื่อให้ถั่วฝักยาวและแตงกวาอยู่ต่ำๆ
- 2.2.4 เมื่อถั่วฝักยาวและแตงกวาอายุ 25 วัน ปล่อยแมลงวันหนอนชนิดไปทั้งเพศผู้และเพศเมียจำนวน 200-300 ตัวต่อมังงาดในสัดส่วนที่เท่า ๆ กัน เพื่อให้แมลงวันหนอนชนิดไปลงทำลายพืชทดลอง
- 2.2.5 หลังจากปล่อยแมลงวันหนอนชนิดไปแล้ว 4 วัน ทำการศึกษาโดยกำหนดให้
- 2.2.5.1 สิ่งทดลองที่ 1 คือมังงาดข่ายที่ไม่มีการปล่อยแมลงตัวเปลี่ยน (control) จำนวน 2 มังงาด
- 2.2.5.2 สิ่งทดลองที่ 2 คือมังงาดข่ายที่ปล่อยแมลงตัวเปลี่ยนจำนวน 40 คู่ จำนวน 2 มังงาด
- 2.2.5.3 สิ่งทดลองที่ 3 คือมังงาดข่ายที่ปล่อยแมลงตัวเปลี่ยนจำนวน 100 คู่ จำนวน 2 มังงาด
- 2.2.6 หลังจากปล่อยแมลงตัวเปลี่ยนไปแล้ว 1 และ 3 วัน สูมเก็บใบถั่วฝักยาวและใบแตงกวาจากแต่ละมังงาด จำนวนมังงาด 10 จุด จุดละ 1 ใบ (ใบถั่วฝักยาว 1 จุดมี 3 ใบ

ย่อย แต่งกว่า 1 จุดมี 1 ใบ) เก็บใบถั่วฝักยาวไว้ในกล่องเลี้ยงแมลงขนาด $13.7 \times 18.8 \times 7$ เซนติเมตร ส่วนใบแต่ง瓜จะเก็บไว้ในajanแก้วที่รองพื้นด้วยกระดาษข้าวสำหรับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ก้านใบถั่วฝักยาวและใบแต่ง瓜จะห่อก้านใบเพื่อให้ความชื้นด้วยสาลีชูบัน้ำปองกันใบพืชเที่ยว

- 2.2.7 นำไปถั่วฝักยาวและใบแต่ง瓜ที่เก็บจากแต่ละจุดไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo microscope เพื่อนับและบันทึกจำนวนหนอนชนิดใบที่ถูกกินแล้วนำใบพืชเก็บรักษาไว้ตามเดิมเพื่อให้หนอนชนิดใบและแมลงตัวเบียนเจริญเติบโตต่อไป
- 2.2.8 นับจำนวนแมลงวันหนอนชนิดใบและแมลงตัวเบียนที่เจริญออกมากเป็นตัวเต็มวัย
- 2.2.9 วิเคราะห์ผลเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดใบที่ถูกกิน จำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดใบที่ถูกเบียน และจำนวนและเปอร์เซ็นต์หนอนชนิดใบที่ถูกควบคุมโดยแมลงตัวเบียนระหว่างมุ้งตาข่ายที่ไม่มีการปล่อยแมลงตัวเบียนกับมุ้งตาข่ายที่มีการปล่อยแมลงตัวเบียนจำนวน 40 และ 100 คู่ ในพืชแต่ละชนิดชนิดโดยใช้วิธี DMRT (ตารางผนวก ก)

2.3 สภาพไร่

ทำการศึกษาในพื้นที่ ต. ท่าชุมวง อ. รัตภูมิ จ. สงขลา ระหว่างเดือนมกราคม - กุมภาพันธ์ 2545 อุณหภูมิ 21-37 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่แปลงละประมาณ 800 ตารางเมตร ปลูกถั่วฝักยาวจำนวน 8 แท่ง แฉลัง 65 หลุม ซึ่งพื้นที่ในการปลูกถั่วฝักยาวแต่ละแปลงจะห่างกันประมาณ 1 กิโลเมตรและมีสภาพแวดล้อมใกล้เคียงกัน

- 2.3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 2 สิ่งทดลอง โดยทำการศึกษาในแปลงปลูกถั่วฝักยาวจำนวน 2 แปลง กำหนดให้
- 2.3.1.1 แปลงทดลองที่ 1 เป็นแปลงถั่วฝักยาวที่ไม่มีการปล่อยแมลงตัวเบียน *H. varicornis* (control)

2.3.1.2 แปลงทดลองที่ 2 เป็นแปลงถั่วฝักยาวที่มีการปล่อยแมลงตัวเบียน *H. varicornis* จำนวน 3,000 คู่

- 2.3.2 เมื่อถั่วฝักยาวอายุประมาณ 25 วัน สรุเม็ดใบถั่วฝักยาวจากแต่ละแปลงทดลองมาจำนวนแปลงละ 20 จุด จุดละ 1 ใบ (3 ใบ/yield) เพื่อสำรวจประชากรหนอนชนิดใบและแมลงตัวเบียนที่มีอยู่ในธรรมชาติ

- 2.3.3 ปล่อยเมลงตัวเบียน จำนวน 3,000 คู่ ในแปลงทดลองที่ 2 โดยปล่อยเมลงตัวเบียนลงในแปลงถัวฝักยาวทุกແrewปลูก แควลະ 8 จุด จุดละประมาณ 46-50 คู่ แต่ละจุดห่างกัน 7 ต้น (ภาพที่ 1)
- 2.3.4 ผู้เก็บใบถัวฝักยาวจากแปลงทดลองที่ 1 และ 2 หลังจากปล่อยเมลงตัวเบียนในแปลงทดลองที่ 2 ไปแล้ว 1 และ 3 วัน จำนวนแปลงละ 20 จุด จุดละ 1 ใบ (3 ใบ/yield) โดยเก็บใส่กล่องเดี้ยงเมลงขนาด $13.7 \times 18.8 \times 7$ เซนติเมตร และใช้สำลีชูบัน้ำห่อที่ก้านใบถัวฝักยาวเพื่อให้ความชื้น
- 2.3.5 นับจำนวนตัวเต็มวัยของเมลงวนหนองอนชนในแปลงและจำนวนเมลงตัวเบียนแต่ละชนิดที่เจริญออกมาเป็นตัวเต็มวัย
- 2.3.6 วิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนและเปอร์เซ็นต์เมลงตัวเบียนที่ได้จากการทำลายหนองอนชนในจากแปลงทดลองที่ปล่อยและไม่ปล่อยเมลงตัวเบียน *H. varicornis* โดยใช้ T-test และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนเมลงตัวเบียนและเปอร์เซ็นต์การทำลายหนองอนชนในพั้งก่อนปล่อยและหลังปล่อยเมลงตัวเบียนในแปลงที่ปล่อยเมลงตัวเบียน *H. varicornis* โดยใช้วิธี DMRT (ตารางผนวก ก)

แมวที่ 1	× × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 2	× × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 3	× × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 4	× × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 5	× × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 6	× × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 7	× × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×
แมวที่ 8	× × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × × × × × O × ×

ภาพที่ 1 แผนผังการปล่อยแมลงตัวเมี้ยน *Hemiptarsenus varicornis* ในแปลงปลูกรักษาพืชประจำปี 800 ตารางเมตร

× = ต้นถั่วฝักยาว

O = ต้นถั่วฝักยาวที่ปล่อยแมลงตัวเมี้ยน *H. varicornis*