



อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ก. พืชและสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง

1. ไสกรร, Hydra littoralis ได้รับจากห้องปฏิบัติการ Biological Control แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. ลูกน้ำยุงลาย, Ae. aegypti และยุงบ้าน, C. quinquefasciatus ได้รับไขยุงจากห้องปฏิบัติการ Biological Control แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
3. Golden Hamster, Mesocricetus auratus (Waterhouse) ได้รับจากห้องปฏิบัติการ Biological Control แผนกวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. ลูกไร, Moina macrocopa ี่ได้จากตลาดสามย่าน และราชเทวี
5. สาหร่ายหางกระรอก, Hydrilla verticillata จากสระน้ำคณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. อาหารสัตว์ทดลอง

1. 5% Sucrose solution
2. เศษผงอาหารหนูของบริษัท F.E. Zuelling
3. ลูกไร, Moina macrocopa

ค. เครื่องแก้ว

1. Beaker ขนาด 1000, 600 มิลลิลิตร
2. Dropper
3. Petri-dish ขนาด 15 x 100 มม.
4. กระจกปิดฝาอ่างเลี้ยงลูกน้ำยุงขนาด 26 x 36 x 0.3 ซม.
5. คุปลาขนาด 31.5 x 20.5 x 21 ซม. พร้อมฝาปิด

## เครื่องมืออื่น ๆ

1. อ่างเพาะลูกน้ำยุงขนาด 24 x 29 x 11 ซม.
2. กล่องพลาสติกขนาด 8.5 x 5 x 4 ซม.
3. ถ้วยพลาสติกขนาด 90 มล.
4. กรงเลี้ยงยุงขนาด 44 x 44 x 65 ซม.
5. สวิงชอนลูกน้ำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 32, 17 และ 9 ซม.
6. สำลี
7. พู่กัน
8. กรงใส่ Hamster สำหรับให้เลือดยุง
9. น้ำประปาที่ dechlorinated น้ำฝน, น้ำสระ และน้ำเสีย
10. Water checker ของ Horiba Model U-7

## วิธีดำเนินการทดลอง

ก. การเลี้ยงยุงลาย, Ae. aegypti และยุงบ้าน, C. quinquefasciatus ทองที่เลี้ยงมีอุณหภูมิ 28-30°C ทำการเพาะไข่ยุงในอ่างเพาะลูกน้ำยุงขนาด 24 x 29 x 11 ซม. ใส่น้ำได้ประมาณ 56,000 ลบ.ซม. (ปริมาตร 2 ใน 3 ของอ่าง) ไข่ยุงลายเป็นฟองเดี่ยว ๆ ติดอยู่บนกระดาษฟาง เมื่อนำลงเพาะในอ่างต้องกดให้จมอยู่ที่ผิวน้ำ ไข่ยุงบ้านปล่อยให้ลอยเห็นเป็นแพอยู่บนผิวน้ำ ไข่ยุงลายจะฟักออกเป็นตัวภายในระยะเวลาต่าง ๆ กัน หลังจากที่น้ำไขลงฟักซึ่งขึ้นอยู่กับเวลาที่เก็บไข่ไว้ ถ้าเก็บไข่ไว้ 1-2 วัน จะใช้เวลาในการฟักออกเป็นตัว 24-48 ชั่วโมง ถ้าเก็บไข่ 1-2 สัปดาห์ จะฟักออกเป็นตัวภายใน 1-3 ชั่วโมง แต่ถ้าเก็บไข่ไว้นานเกินไป เพอร์เซ็นต์การฟักออกเป็นตัวจะลดลง ไข่ยุงบ้านมักจะฟักออกเป็นตัวภายใน 24 ชั่วโมง หลังจากยุงวางไข่และไข่ยุงฟักออกเป็นตัวแล้วให้อาหารอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง โดยให้เศษอาหารหนูโรยให้ครั้งละน้อย ๆ เพราะถ้าโรยให้มากเกินไป จะทำให้น้ำในอ่างเป็นเมือก ทำให้ลูกน้ำยุงตาย ฉะนั้นในขณะที่เลี้ยงลูกน้ำ ถ้าพบว่าน้ำเป็นเมือกจะต้องเปลี่ยนน้ำใหม่ทันที

การเจริญเติบโตของลูกน้ำยุง แบ่งเป็น 4 ระยะดังนี้

ลูกน้ำระยะที่ 1 ตัวลูกน้ำมีขนาดเล็กยาวประมาณ 0.2 ซม. ประกอบด้วยเส้นขนต่าง ๆ แต่ยังไม่เจริญอย่างเต็มที่ ส่วนหัวจะมีปุ่มแหลมคม (sharp spine) อยู่ตอนปลายของหัว สำหรับค้ำให้เปลือกไขแตกออก ซึ่งลูกน้ำระยะอื่น ๆ ไม่มี ระยะนี้จะกินเวลาประมาณ 1-2 วัน

ลูกน้ำระยะที่ 2 จะมีรูปร่างลักษณะใหญ่กว่าระยะที่ 1 มีขนาดประมาณ 0.4-0.5 ซม. แตกต่าง ๆ ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่ ระยะนี้จะกินเวลา 3-4 วัน แล้วลอกคราบ

ลูกน้ำระยะที่ 3 รูปร่างลักษณะใหญ่กว่าระยะที่ 2 มีขนาดประมาณ 0.8 ซม. แตกต่าง ๆ บางส่วนยังไม่เจริญเต็มที่ ถึงกระนั้นก็มีขนขึ้นทุก ๆ ส่วนของตัวลูกน้ำอย่างสมบูรณ์ ระยะนี้จะกินเวลาประมาณ 3-4 วัน แล้วลอกคราบ

ลูกน้ำระยะที่ 4 ลูกน้ำระยะนี้เป็นระยะเจริญเติบโตเต็มที่ ขนต่าง ๆ จะเจริญอย่างสมบูรณ์ และมีขนาดใหญ่กว่าลูกน้ำทุกระยะ มีขนาดประมาณ 1 ซม. ระยะนี้จะกินเวลา 3-4 วัน ก็จะลอกคราบเข้าสู่ระยะตัวโม่ง

ตัวโม่ง เป็นระยะสุดท้ายของการดำรงชีวิตอยู่ในน้ำ และเป็นระยะที่จะสิ้นสุดในการลอกคราบ ซึ่งระยะนี้จะมีอายุราว 2-3 วัน ก็จะลอกคราบกลายเป็นตัวเต็มวัย

ในระยะที่ลูกน้ำเป็นตัวโม่งใช้ dropper คุ้ยย้ายมาใส่กล่องพลาสติก นำไปตั้งให้เป็นตัวเต็มวัยในกรงเลี้ยงยุง เมื่อเป็นตัวเต็มวัยแล้วเลี้ยงด้วยน้ำตาล (sucrose 5%) โดยใส่ในถ้วยพลาสติกซึ่งมีฝาเจาะรูได้ สำหรับจุ่มแทงสำลึหลอดน้ำตาลเอาไว้ในกรงเลี้ยงยุง แล้วต้องเปลี่ยนทุก ๆ 2 วัน เพราะน้ำตาลจะบูด หลังจากเป็นตัวเต็มวัย 2-3 วัน ยุงจะเริ่มผสมพันธุ์และต้องการเลือด ซึ่งจำเป็นในการวางไข่ที่สมบูรณ์ การให้ยุงกินเลือดทำโดยนำ hamster มาให้ยุงกัดเลือดในวันที่ 4-5 หลังจากเป็นตัวเต็มวัย hamster นี้ถูกตัดขนบางส่วนออกและใส่กรงขนาดพอดีตัว เพื่อให้ยุงกัดเลือดได้ง่าย ยุงลายกินเลือดในเวลากลางวัน ส่วนยุงบ้านกินเลือดในเวลากลางคืน เมื่อยุงกินเลือดอิ่มแล้ว นำ hamster ออกแล้วนำ beaker ขนาด

600 มล. ใส่น้ำประมาณ 125 มล. (1 ใน 4 ของ beaker) พันดำนในถ้วยกระดาษฟาง สำหรับให้ยุงลายวางไข่ ส่วนยุงบ้านใช้กล่องพลาสติกขนาด 8.5 x 5 x 4 ซม. ใส่น้ำลงไป 2 ใน 3 ของกล่อง ตั้งไว้ให้ยุงวางไข่ เก็บไข่ยุงลายวางไข่แล้ว 2-3 วัน ไข่สามารถเก็บไว้ในที่แห้งได้ ส่วนไข่ยุงบ้านเมื่อวางไข่แล้ว ต้องเก็บออกและปล่อยให้ฟักเป็นตัวเลยเพราะเก็บไว้ไม่ได้ เนื่องจากไข่จะฟุ้งหมด

### ข. วิธีการเลี้ยงไฮครา

คัดแปลงวิธีเลี้ยงมาจาก Galtsoff และคณะ 1937 นำตู้เลี้ยงปลาขนาด 31.5 x 20.5 x 21 ซม. ใส่น้ำประปาที่ทิ้งไว้ให้ chlorine ตกตะกอนแล้วเป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน ใส่น้ำลงไปใต้แกสสำหรับวางกระรอกเพื่อเป็นตัวให้ออกซิเจน นำไฮคราที่ต้องการเลี้ยงใส่ลงไป เริ่มแรกต้องทดสอบน้ำก่อนว่าเหมาะสำหรับเลี้ยงไฮคราหรือไม่ โดยใส่ไฮคราลงไป 4-5 ตัว ทิ้งไว้สักครู่แล้วสังเกตอาการของไฮคราถ้ามีการยืดขยายตัวได้เต็มที่ แสดงว่าน้ำนั้นเหมาะสมในการเลี้ยง แต่ถ้าไฮคราไม่ยืดขยายตัว หดสั้น แสดงว่าน้ำนั้นไม่เหมาะสมสำหรับเลี้ยงไฮครา

เมื่อทดสอบได้น้ำที่จะเลี้ยงไฮคราแล้ว ก็นำไฮครามาปล่อยลงไป และให้อาหารแก่ไฮคราทุกวัน อาหารที่ใช้เลี้ยงไฮคราคือ ลูกไร หลังจากให้อาหารแก่ไฮคราเสร็จแล้วจะมีเศษตะกอนต่าง ๆ ตกอยู่ที่ก้น หา dropper มาดูดทิ้งไป แล้วเติมน้ำลงไปเพิ่มไม่ให้อุณหภูมิเปลี่ยนแปลง ในไม่ช้าไฮคราที่เลี้ยงไว้จะเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว

### ค. ศึกษาชีววิทยามางประการของไฮครา

1. อัตรากการแตกหน่อของไฮครา แยกไฮคราออกจาก stock 1 ตัว ใส่ใน petri-dish ขนาด 15 x 100 มม. ใส่น้ำประปาที่ dechlorinated แล้ว 10 มม. ให้อาหารแก่ไฮคราทุกวัน ตลอดจนรักษาและทำความสะอาดน้ำที่เลี้ยงไฮคราอยู่เสมอ ๆ สังเกตดูการแตกหน่อเมื่อได้ไฮคราตัวใหม่ จะแยกเอามาศึกษาดูว่าในช่วงระยะเวลา 5 สัปดาห์จะให้ไฮคราตัวใหม่กี่ตัว การทดลองนี้ทำ 25 ครั้ง

2. ศึกษาความทนและการอยู่รอดของไฮคราในสภาวะ ของน้ำประปา น้ำฝน น้ำสระ และน้ำเสีย (ที่มีปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ (DO) ต่ำกว่า 4 ppm) ใช้กล่องพลาสติกขนาด 8.5 x 5 x 4 ซม. ใส่ น้ำชนิดต่าง ๆ 2 ใน 3 ของกล่อง โดยนำพวกนี้ไว้วัดอุณหภูมิ, pH และ DO ก่อนเรียบร้อยแล้ว โดยใช้ Water checker ของ Horiba Model U-7 แยกไฮคราจาก stock 1 ตัว ใส่ในกล่องพลาสติกตั้งทิ้งไว้โดยไม่ให้อาหาร สังเกตอาการต่าง ๆ ของไฮครา และดูว่าถึงวันถึงจะตาย ทดลองนี้ทำ 25 ซ้ำ

3. ศึกษาพฤติกรรมในการกินลูกน้ำยุงของไฮครา ใช้ petri-dish ขนาด 15 x 100 มม. ใส่ น้ำประปาที่ dechlorinated แล้ว 10 มม. ใช้ลูกน้ำระยะต่าง ๆ 30 ตัวต่อไฮครา 3 ตัว สังเกตพฤติกรรมต่าง ๆ ในการกินลูกน้ำยุง

ง. ศึกษาประสิทธิภาพและความสามารถของไฮคราในการกำจัดลูกน้ำยุงในสภาพของน้ำประปา น้ำฝน น้ำสระ\* และน้ำเสีย\*\*

1. ลูกน้ำยุงลายใช้ petri-dish ขนาด 15 x 100 มม. ใส่ น้ำชนิดต่าง ๆ ลงไป 10 มม. แต่ละ dish ใส่ไฮครา 1 ตัวเป็นจำนวน 50 ชุด (replications) และอีก 50 ชุด ใช้เป็น control โดยไม่ใส่ไฮคราทั้ง 100 ชุด ใส่ลูกน้ำยุงลายระยะที่ 1 ลงไป ชุดละ 30 ตัว (ใส่ลูกน้ำยุงลายชุดละ 30 ตัว ทำการทดลองอย่างคร่าว ๆ ก่อนแล้วว่า 30 ตัวของลูกน้ำยุงลายที่ใส่เป็นจำนวนที่พอเหมาะที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายเหตืออยู่ในแต่ละระยะ) พร้อมอาหารภายหลัง 24 ชั่วโมง ทำการตรวจนับลูกน้ำยุงที่ถูกทำลาย ทำแบบเดียวกับข้างต้น แต่เปลี่ยนลูกน้ำเป็นระยะที่ 2, 3, 4 และตัวโม่ง

005082

\* น้ำสระ เป็นน้ำที่ไต่จากบริเวณสระน้ำหลังตึกชีววิทยาเก่า คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

\*\* น้ำเสีย เป็นน้ำที่แช่ผักน้ำ ใบไม้ต่าง ๆ หมักไว้จนขึ้นฝ้า แล้วจึงนำมาใช้ในการ ทดลอง

2. ลูกน้ำยุงบ้าน ทำการทดลองเช่นเดียวกับ 1. แต่ใส่ลูกน้ำยุงบ้านแต่ละระยะลงไป ชุดละ 25 ตัว (ใส่ลูกน้ำยุงบ้านชุดละ 25 ตัว ได้ทำการทดลองอย่างคร่าว ๆ ก่อนแล้วว่า 25 ตัวของลูกน้ำยุงบ้านที่ใส่เป็นจำนวนที่พอเหมาะที่ทำให้ลูกน้ำยุงบ้านเหลืออยู่ในแต่ละระยะ)

จ. ศึกษาผลของ alternative prey ที่มีต่อประสิทธิภาพการทำลายลูกน้ำยุงลาย และยุงบ้าน alternative prey ที่ใช้คือ ลูกไร ทำการทดลองเหมือนข้อ ง. แต่ใส่ลูกไรลงไปด้วยในจำนวนที่พอเหมาะ คูณลงใน 24 ชั่วโมง ว่าผลแตกต่างกันอย่างไรกับข้อ ง

ฉ. ศึกษาความสัมพันธ์ของพืชน้ำและไฮคราว่า มีผลต่อประสิทธิภาพการทำลายลูกน้ำยุงลายและยุงบ้าน พืชน้ำที่ใช้คือสาหร่ายหางกระรอก ที่ต่างสิ่งที่ไม่ต้องการออกเรียบร้อยแล้ว ทำการทดลองเหมือนข้อ ง. แต่ใส่สาหร่ายหางกระรอกลงไปด้วย คูณลงใน 24 ชั่วโมง ว่าแตกต่างกันอย่างไรกับข้อ ง.

ช. สูตรการคำนวณที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

1. การหาค่าเฉลี่ยทางคณิตศาสตร์ (Mean หรือ  $\bar{X}$ ) ใช้สูตร

$$\bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

2. การหาค่า Standard deviation (S.D.) ใช้สูตร

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \left(\frac{\sum x_i}{n}\right)^2}{n-1}} \quad \text{สำหรับข้อมูลที่มีน้อยกว่า 30 ชุด (n < 30)}$$

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \left(\frac{\sum x_i}{n}\right)^2}{n}} \quad \text{สำหรับข้อมูลที่มีมากกว่า 30 ชุด (n > 30)}$$

### 3. Chi-square ( $\chi^2$ ) สูตรตารางสำเร็จแบบ 2 x 2

	A	B	รวม
X	a	b	a+b
Y	c	d	c+d
	a+c	b+d	N

$$\chi^2 = \frac{(|ad-bc| - \frac{1}{2}N)^2 N}{(a+b)(a+c)(b+d)(c+d)} \dots\dots\dots (\text{ดูน 2519})$$

ความหมายของอักษรย่อในสูตร

- $\bar{x}$  = ค่าเฉลี่ยเลขคณิต
- S.D. = Standard deviation
- $X_i$  = ข้อมูลตัวที่ 1
- n = จำนวนกลุ่มตัวอย่าง
- $\chi^2$  = Chi-square
- X = ทรีทเมนต์ชนิดที่ 1
- Y = ทรีทเมนต์ชนิดที่ 2
- A = ลูกน้ำยุงที่ตาย
- B = ลูกน้ำยุงที่ไม่ตาย
- a, c = จำนวนเปอร์เซ็นต์ตาย
- b, d = จำนวนเปอร์เซ็นต์ที่รอดตาย
- N = ผลรวมของข้อมูลทั้งหมด