

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์ และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ
2. สไลด์และกระจกปิกสไลด์
3. เครื่องมือผ่าตัด 1 ชุด
4. สแตนเลส คิลล์
5. ตะเกียงอัลกอฮอล์
6. ปีกเกอร์
7. กรงเลี้ยงแมลงขนาดกว้าง 35 เซนติเมตร ยาว 60 เซนติเมตร สูง 75 เซนติเมตร
8. กล้องเลี้ยงแมลง ซึ่งทำด้วยลวดตาข่ายที่มีจำนวนช่องสี่เหลี่ยม 9 ช่อง ต่อ 1 ตารางเซนติเมตร และฐานทำด้วยแผ่นอลูมิเนียม เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัส กว้างด้านละ 7.5 เซนติเมตร ใช้ลวดผูก ลวดตาข่ายให้ติดกับแผ่นอลูมิเนียมที่มุมหนึ่ง (ภาพที่ 2)
9. กล้องพลาสติก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร สูง 6.25 เซนติเมตร
10. ยางขาวบาง
11. ไฮโกรมิเตอร์
12. เอทิลแอลกอฮอล์ 35%, 50%, 85%, 95% และ ส่วนผสมระหว่าง เอทิลแอลกอฮอล์ 95% กับนิวซิลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1:1 นิวซิลแอลกอฮอล์
13. ไซลีน (Xylene)

14. บุนนัง (Buin)
15. แคนาดา บัลซัม (Canada balsam)
16. สีมอแรก คามีน (Borax camine)
17. โพรเทสเซียไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 10%
18. แมลงวันเหาหัว (H. equina)
19. วัวแกง (Bos bunteng birmanicus)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

ศึกษาชีวประวัติและพฤติกรรมของแมลงวันเหว

1. การเลี้ยงแมลงวันเหว

เก็บรวบรวมตัวเต็มวัยของแมลงวันเหว จากศูนย์ศึกษาธรรมชาติ และสัตว์ป่าเชิงคอยสเทพ โดยเลือกตัวเมียที่ส่วนท้องมีขนาดใหญ่ และมีส่วนท้ายของ puparium ยื่นออกมาพ้นช่องเพศ ส่วนที่ยื่นออกมาจะมีสีดำ ยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร ที่บริเวณปลายเป็นแอ่ง นำตัวเต็มวัยดังกล่าวใส่ในกรงเลี้ยงแมลง มันก็จะปล่อย puparium ออกมาตามช่องหู ในโพรงถุงน้ำ หรือทิ้งไว้บนพื้นกรง เก็บ puparium ไว้ในกล่องพลาสติกกล่องละ 1 อัน ปิดฝากล่องด้วยผ้าขาวบาง ให้แน่น เมื่อ puparium ออกเป็นตัวเต็มวัย ก็นำมาจับคู่ผสมพันธุ์ในกล่องเลี้ยงแมลง โดยใช้ตัวเมีย 1 ตัวต่อตัวผู้ 1 ตัว เป็นจำนวน 20 คู่ วิธีการให้อาหารแมลงนั้น นำกล่องเลี้ยงแมลงวางบนตัววุ้นแดง แล้วย่อย ๆ เลื่อนแผ่นอะลูมิเนียมออก เพื่อให้แมลงคุกกินเลือดจิ้งจกจนอิ่ม (ภาพที่ 3) โดยให้อาหารแมลงทุก ๆ 2-4 ชั่วโมงตลอดการทดลอง แล้วแต่ความเหมาะสมของอายุ ศึกษาด้วยการสังเกต พร้อมกับจับบันทึกและถ่ายภาพชีวิตพฤติกรรมของตัวเต็มวัย ได้แก่ พฤติกรรมการกินอาหาร การผสมพันธุ์ การปล่อย puparium และการฟักออกเป็นตัวเต็มวัย

2. ศึกษาความสามารถในการออกอาหารของตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟักออกเป็นตัว กับตัวเต็มวัยที่ผ่านการกินเลือดจากตัววุ้นแดงมาแล้ว ทดลองโดยนำตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟักออกเป็นตัวที่มีอายุเท่ากัน จำนวน 40 ตัว ตัวผู้ 20 ตัว ตัวเมีย 20 ตัว จากห้องทดลองมาใส่กรงเลี้ยงแมลงและให้ออกอาหาร สังเกตพร้อมทั้งจับบันทึกระยะเวลาเป็นวันของการออกอาหารของตัวเต็มวัย จนถึงตาย และนำตัวเต็มวัยจากตัววุ้นแดงที่ผ่านการกินเลือดแล้ว จำนวน 40 ตัว ตัวผู้ 20 ตัว ตัวเมีย 20 ตัว มาทดลองสังเกตและบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับตัวเต็มวัยที่เพิ่งฟักออกเป็นตัว

เลี้ยงแมลงวันเหวที่อุณหภูมิเฉลี่ย 28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 84 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการทดลอง

3. การศึกษาสัณฐานวิทยาของแมลงวันเหาวัว

3.1 การศึกษาลักษณะรูปร่างภายนอก (external morphology)

การศึกษาลักษณะรูปร่างภายนอกของตัวเต็มวัยของแมลงวันเหาวัว ได้แก่ ลักษณะของ หัว หนวด ปาก อก ปีก halteres ท้อง และอวัยวะเพศภายนอกของแมลงตัวผู้ และตัวเมีย วิธีการศึกษานั้นเอาส่วนต่าง ๆ ของแมลงดังกล่าวมาทำสไลด์ถาวร เพื่อนำไปศึกษาส่วนประกอบและโครงสร้างของอวัยวะต่าง ๆ ของแมลง และกล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ หลังจากนั้นนำมาวาดภาพ และถ่ายภาพ

วิธีการทำสไลด์ถาวรของอวัยวะที่หนา มีความเข้มของสีมาก เช่น หัว อก ท้อง ต้องนำมาต้มในโปแตสเซียมไฮโครอไซค์ ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10-20 นาที เพื่อฟอกสีออกให้เห็นโครงสร้างชัดเจน ง่ายต่อการศึกษารายละเอียด ส่วนอวัยวะที่บางใส มีความเข้มของสีน้อย เช่น หนวด ปาก ปีก halteres และอวัยวะเพศภายนอกของแมลงตัวผู้ และตัวเมีย ไม่ต้องฟอกสี นำชิ้นส่วนของแมลงมาแช่ในน้ำยารักษาสภาพ (bain) ประมาณ 20-30 นาที แล้วล้างออกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 35% ใช้เวลาประมาณ 20-30 นาที หลังจากนั้นก็ใช้สารต่อไปตามลำดับเพื่อให้แทนที่น้ำ ได้แก่ เอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 35%, 50%, 70%, 85%, 95% ส่วนผสมของเอทิลแอลกอฮอล์ 95% กับ ปิวริลแอลกอฮอล์ ในอัตราส่วน 1:1 และแช่ในปิวริลแอลกอฮอล์ ในแต่ละความเข้มข้นใช้เวลาประมาณ 10 นาที ต่อมานำโครงสร้างนั้นแช่ในไซลีน เพื่อให้ได้ใช้เวลาประมาณ 10-30 นาที จึงนำโครงสร้างเหล่านี้ไปวางบนกระจกสไลด์ หยด canada balsam ปิดทับด้วยแผ่นกระจกปิดสไลด์ นำไปอบให้แห้งในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 10-15 วัน

3.2 การศึกษาลักษณะรูปร่างของระบบอวัยวะภายใน

(internal morphology)

การศึกษาลักษณะรูปร่างของระบบอวัยวะภายในทั้งตัวผู้และ

ตัวเมีย โดยการผ่าไ้กลองจุลทัศน์แบบสเตอริโอ ได้แก ระบบย่อยอาหาร (digestive system) ระบบประสาท (nervous system) ระบบการหมุนเวียนของโลหิต (circulatory system) ระบบหายใจ (respiratory system) ระบบกล้ามเนื้อ (muscular system) และระบบสืบพันธุ์ (reproductive system) โดยนำตัวเต็มวัยมาผ่าไ้กลองจุลทัศน์แบบสเตอริโอ ในแต่ละระบบใช้ตัวผู้ 20 ตัว และตัวเมีย 20 ตัว จากนั้นศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะภายนอกของระบบสืบพันธุ์ของแมลงตัวเมื่อก่อนการผสมพันธุ์ โดยผ่าตัดตัวเมีย เพื่อศึกษาระบบสืบพันธุ์หลังจากออกจาก puparium อายุ 1, 2, 3, 4 5 วัน จำนวน 15 ตัว ส่วนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะภายนอกของระบบสืบพันธุ์ หลังการผสมพันธุ์จนถึงการปล่อย puparium ศึกษาโดยผ่าตัดตัวเมียที่ได้รับการผสมแล้วอายุ 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 วันตามลำดับ จำนวน 16 ตัว สำหรับการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของ pupa นั้น ผ่า puparium อายุ 1, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วันตามลำดับ รวมทั้งหมด 35 อัน โดยนับวันที่ puparium ออกจากตัวเมียเป็นวันที่ 1 จากนั้นทำเป็นสไลด์ถาวร แล้วศึกษารายละเอียดของโครงสร้างต่าง ๆ ด้วยกลองจุลทัศน์ กลองจุลทัศน์แบบสเตอริโอ และนำมาถ่ายภาพ

วิธีการทำสไลด์ถาวร คล้ายกับวิธีที่กล่าวมาแล้ว แต่หลังจากการแทนที่น้ำด้วยเอซัลอัลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 70% แล้วจึงย้อมด้วยสี borax carmine ประมาณ 30 วินาที-1 นาที เพื่อให้เห็นโครงสร้างของอวัยวะชัดเจน แล้วล้างสีด้วยเอซัลอัลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้น 85% แล้วใช้เอซัลอัลกอฮอล์แทนที่น้ำต่อไปตามลำดับ