ว.เกษตรศาสตร์ (วิทย.) 28:535-544(2537)

วงจรชีวิตและวิธีเพาะเลี้ยงหนอนแดง (*Chironomus plumatisetigerus*) ในห้องทดลอง

Laboratory Studies on the Life Cycle and Breeding of the Midge, *Chironomus plumatisetigerus* (Diptera : Chironomidae)

เฉลียว กุวังคะดิลก[1]

Chaliow Kuvangkadilok

ABSTRACT

The adults of *Chironomus plumatisetigerus* can be bred in the laboratory for at least 9 generations, by using mating cages 37x37x37 cm^3, 30.5x30.5x30.5 cm^3, 20.5x20.5x20.5 cm^3 and 10.5x10.5x 10.5 cm^3 in size. The adults will mate readily in a cage 10.5x10.5x 10.5 cm^3 while only some successful matings between individuals have been obtained in the larger cages. In addition, the number of males in mating cages seemed to affect the success of crosses. For the parental crosses and the F_1 self-crosses, at least 25 males were required, while for the self-crosses of F_2 and the following generations only 10 males were needed. Laboratory egg masses were collected and checked for fertility and hatchability. The fertility and hatchability of the egg masses of F_1 and the other generations were rather high (>93%), therefore, the laboratory conditions did not seem to affect the breeding mechanisms of *Ch. plumatisetigerus.*

The life cycle of *Ch. plumatisetigerus* comprises of fourstages, as found in other dipterous insects, of which the longest is the larval stage. The female larvae have larger head capsule structures as compared to those of the male, hence it seems that the male and female larvae have different growth rates.

Key words : generation, fertility, hatchability, head capsule

บทคัดย่อ

หนอนแดง *Chironomus plumatisetigerus* สามารถผสมและเพาะเลี้ยงในห้องทดลองได้ติดต่อกันจนถึงลูกรุ่นที่ 9 โดยทำการทดลองผสมพันธุ์ภายในกรงขนาดต่างๆ กัน ดังนี้คือ ขนาด 37x37x37 ลูกบาศก์เซนติเมตร 30.5x30.5x30.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร 20.5x20.5x20.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ 10.5x10.5x10.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Dept. of Biology, Faculty of Science. Mahidol University Bangkok 10400, Thailand.

จากการทดลองพบว่าแมลงหนอนแดงจะผสมและวางไข่อย่างสม่ำเสมอในกรงขนาดเล็กสุด (10.5x10.5x10.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ได้ดีกว่ากรงขนาดใหญ่ นอกจากนี้จำนวนตัวผู้ในกรงยังมีผลต่อความสำเร็จของการผสมพันธุ์ด้วย ในการผสมรุ่นพ่อแม่(P) และลูกรุ่นที่ 1 (F_1) ด้วยกันเองจะต้องใช้ตัวผู้อย่างน้อยที่สุด 25 ตัว แต่ในการผสมลูกรุ่นที่ 2 (F_2) และรุ่นถัดไปใช้ตัวผู้เพียง 10 ตัวเท่านั้น เมื่อศึกษาเปอร์เซนต์ของไข่ที่ถูกผสมและออกเป็นตัวของลูกแต่ละรุ่นพบว่ามีเปอร์เซนต์ค่อนข้างสูง (>93%) และไม่แตกต่างกันมาก จึงดูเสมือนว่าสภาวะของห้องทดลองไม่มีผลต่อกลไกการผสมพันธุ์และเพาะพันธุ์ของแมลงหนอนแดง *Ch. plumatisetigerus*

วงจรชีวิตของหนอนแดงมี 4 ระยะ ระยะตัวหนอนเป็นระยะที่ยาวนานที่สุด จากการศึกษาการเจริญเติบโตของตัวอ่อนโดยการวัดขนาดของกระโหลกส่วนหัว (head capsule) พบว่าหัวกระโหลกของเพศเมียมีขนาดใหญ่กว่าเพศผู้ ซึ่งเป็นสิ่งชี้ให้เห็นว่าตัวเมียและตัวผู้มีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน

คำนำ

หนอนแดง (blood worm) เป็นชื่อเรียกตัวอ่อนของแมลงในวงศ์ย่อย Chironominae สกุล Chironomus เหตุที่เรียกว่า "หนอนแดง"เนื่องจากตัวมันมีสีแดงเพราะมีสารฮีโมโกลบิน อยู่ในเลือด (Thompson and English, 1966) หนอนแดงพบอยู่ตามแหล่งน้ำทั่วๆไปทั้งใน เขตหนาว อบอุ่น และร้อน (Oliver, 1971) หนอนชนิดนี้ขยายพันธุ์เป็นจำนวนมากและจะฝังตัวอยู่ในโคลนหรือเศษใบไม้ที่ทับถมกันตามก้นแหล่งน้ำที่มีระดับความตื้นลึกต่างกัน เช่น คู หนอง ลำคลอง ทะเลสาบ และอาจพบในน้ำเค็มด้วย (Miall and Hammond, 1900) หนอนแดงบางชนิดสามารถสร้างปลอกหุ้มตัวซึ่งปลอกนี้จะฝังอยู่ในโคลนหรือยึดติดกับของแข็งต่างๆที่อยู่ในน้ำ เช่น หิน และกิ่งไม้ ปลอกหุ้มตัวสร้างมาจากเศษวัสดุที่อยู่ตามแหล่งน้ำ เช่น ดิน ทราย และเศษใบไม้ เศษวัสดุเหล่านี้จะถูกสานให้ยึดติดกันด้วยเส้นใยไหมที่หลั่งมาจากต่อมน้ำลายของมัน (Walshe, 1951) หนอนแดงต่างชนิดกันหรือแม้แต่ชนิดเดียวกันอาจสร้างปลอกหุ้มตัว ที่มีรูปร่างต่างกัน ทั้งนี้เพื่อตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่มันอาศัยอยู่ (Jonasson and Kristiansen, 1967) ถ้าแหล่งน้ำที่มันอาศัยมีอากาศเพียงพอและถ่ายเทได้ดีพร้อมทั้งมี อาหารอุดมสมบูรณ์ หนอนแดงจะอาศัยอยู่ในปลอกตลอดเวลา อาหารของมันคือสัตว์ตัวเล็กๆ และเศษพืชที่ตายแล้วรวมทั้งวัสดุที่เน่าเปื่อย

ตัวเต็มวัยของหนอนแดงคือแมลงที่มีรูปร่างลักษณะคล้ายยุง แต่ลักษณะลำตัวบอบบางกว่า และอวัยวะสำหรับดูดอาหาร (proboscis) ไม่ค่อยเจริญและสั้นกว่ายุง หนอนแดงไม่ดูดเลือดคนหรือสัตว์เป็นอาหาร และไม่เป็นพาหะนำโรคใดๆ ทั้งสิ้น อย่างไรก็ตามตัวอ่อนของมันมีคุณค่าทางเศรษฐกิจโดยเป็นอาหารที่สำคัญของปลาและสัตว์น้ำหลายชนิด

หนอนแดงที่พบในแหล่งน้ำบริเวณกรุงเทพมหานครมีหลายชนิด ชนิดที่พบมากมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Chironomus plumatisetigerus* จากการศึกษาโพลีทีนโครโมโซม (polytene chromosome) ในเซลล์ต่อมน้ำลายของหนอนแดงชนิดนี้พบว่ามีโครโมโซม 4 คู่ (2n=8) โดยเป็นแบบเมตาเซนตริก (metacentric) 3 คู่ และแบบอะโครเซนตริก (acrocentric) 1 คู่ นอกจากนี้ยังพบพาราเซนตริกอินเวอร์ชัน (paracentric inversion) 6 แห่งบนแขนโครโมโซม 5 แขน (Kuvangkadilok, 1985)

ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาวงจรชีวิตและวิธีเพาะเลี้ยงหนอนแดงชนิดนี้ภายในห้องทดลองในประเทศไทย ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงหนอนแดงในห้องทดลองจะเป็นประโยชน์ในการศึกษาพันธุศาสตร์ อณูพันธุศาสตร์ ชีวเคมี และพฤติกรรมของแมลงชนิดนี้ต่อไปในอนาคต นอกจากนี้หนอนแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องทดลองยังเป็นประโยชน์ในการศึกษาสภาวะแวดล้อมทางธรรมชาติที่เกี่ยวกับสารพิษที่เจือปนในน้ำ โดยการใช้หนอนแดงเป็นตัวทดสอบ เพื่อบ่งชี้สภาวะน้ำเสียได้อีกด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองผสมและเพาะพันธุ์หนอนแดง

หนอนแดงที่ใช้ในการทดลองได้มาจากคูข้างทางรถไฟหลังคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ส่วนมากจะอยู่ในระยะตัวอ่อนวัยสาม (third instar larvae) และวัยสี่ (fourth instar larvae) นำหนอนแดงซึ่งอยู่ในอ่างพลาสติครูปทรงกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้นอ่างประมาณ 14 เซนติเมตร และบรรจุน้ำคูประมาณครึ่งอ่างมาเลี้ยงในห้องทดลองที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงสว่าง 12 ชั่วโมง และมืด 12 ชั่วโมง ปิดอ่างด้วยฝาที่บุผ้าโปร่งซึ่งเจาะรูตรงกลางสำหรับสอดสายพลาสติคที่นำออกซิเจนจากเครื่องปั๊มอากาศเข้า อาหารที่ใช้เลี้ยงหนอนแดงคืออาหารหนูบดละเอียดประมาณ 0.2 กรัม สำหรับอาทิตย์ต่อไปให้อาหารหนูประมาณ 0.4 กรัม ทุกอาทิตย์ นอกจากนี้ต้องฉีกกระดาษชำระขนาด 21.5x12.5 เซนติเมตร ที่ผ่านการแช่ใน absolute ethanol และตากแห้งแล้วลงไปในอ่าง 2 แผ่น สำหรับเป็นที่ยึดเกาะและเป็นวัสดุในการสร้างปลอกหุ้มตัวของหนอนแดง

หลังจากนั้นตรวจเช็คโพลีทีนโครโมโซมของหนอนแดง จนแน่ใจว่าหนอนแดงที่นำมาเลี้ยงเป็น *Ch. plumatisetigerus*(Kuvangkadilok, 1985) เลี้ยงหนอนแดงให้เจริญ เติบโตต่อไปเรื่อยๆ จนถึงขั้นเป็นตัวเต็มวัย นำหนอนแดงตัวผู้และตัวเมียใส่ในกรงผสมพันธุ์ที่มีขนาดต่างกันดังนี้คือ ขนาด 37x37x37 ลูกบาศก์เซนติเมตร 30.5x30.5x30.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร 20.5x20.5x20.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ 10.5x10.5x10.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในการทดลองผสมพันธุ์หนอนแดงจะใช้จำนวนตัวผู้ต่างกันแต่จำนวนตัวเมียคงที่ โดยทำการทดลอง 6 ครั้ง แต่ละครั้งจะใช้ตัวผู้จำนวนครั้งละ 1 ตัว, 5 ตัว, 10 ตัว, 15 ตัว, 20 ตัว 25 ตัว และ 30 ตัว ต่อตัวเมีย 10 ตัว ทุกการทดลอง ภายในกรงผสมพันธุ์ใส่ภาชนะเล็กๆ ซึ่งบรรจุน้ำประมาณครึ่งสำหรับเป็นที่วางไข่ของตัวเมีย พร้อมทั้งใส่ขวดเล็กๆ ที่มีสำลีชุบน้ำหวาน (สารละลายของน้ำอ้อย) อุดปากขวดเพื่อเป็นอาหารของแมลง และต้องคอยเติมน้ำหวานบนสำลีทุกวัน ตรวจเช็คทุกวันว่าตัวเมียวางไข่หรือไม่ แยกกลุ่มไข่ (egg mass) แต่ละกลุ่มใส่ในหลอดแก้วขนาด 15x2.5 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุน้ำประมาณหนึ่งในสามของหลอดแก้ว หลังจากนั้นตรวจศึกษากลุ่มไข่แต่ละกลุ่มภายใต้กล้องสเตริโอโดยนับจำนวนไข่ทั้งหมด จำนวนไข่ที่ถูกผสมและจำนวนไข่ที่ฟักออกเป็นตัว ทั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการผสม พันธุ์ของหนอนแดงในรุ่นลูกแต่ละรุ่น

ศึกษาวงจรชีวิตของหนอนแดง

หลังจากไข่เริ่มออกเป็นตัวอ่อน แล้วจึงนำไข่แต่ละกลุ่มพร้อมทั้งตัวอ่อนประมาณ 50-60 ตัวมาแยกเลี้ยงในอ่างพลาสติคที่บรรจุน้ำกลั่น 1.5 ลิตร วิธีการเลี้ยงทำตามวิธีของ Martin *et al.* (1980) โดยการเติมสารละลายต่อไปนี้ลงไปในน้ำกลั่นคือ 1%$NaHCO_3$, 5%NaCl, 1%$CaCl_2$, 0.2%KH_2PO_4, 1%$MgSO_4$ และ 1.8% $MgCl_2$ ในปริมาณ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่นหนึ่งลิตร นอกจากนี้เติม 0.1%$FeCl_3$ หรือ $FeSO_4$ ลงไปในปริมาณ 0.2 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่นหนึ่งลิตร แล้วฉีกกระดาษชำระที่แช่ใน absolute ethanol และตากแห้งแล้วลงไป 3 แผ่น ถ้าเห็นว่ากระดาษชำระที่ใส่ลงไปยังไม่เพียงพอสำหรับการสร้างปลอกหุ้มตัวหนอนแดง ให้ฉีกเพิ่มลงไปอีกพร้อมทั้งให้อาหารหนูบดละเอียด 0.2 กรัม และอาทิตย์ต่อไปให้อาทิตย์ละ 0.4 กรัม นอกจากนี้ต้องให้ออกซิเจนแก่หนอนแดงโดยผ่านทางสายยางที่ต่อกับเครื่องปั๊มอากาศ หลังจากเลี้ยงหนอนได้ 2 อาทิตย์ เติมน้ำกลั่นผสมสารละลายลงไปในอ่างน้ำอีกประมาณ 0.5 ลิตร เลี้ยงหนอนแดงให้เจริญเติบโตจนถึงขั้นเป็นตัวเต็มวัย และทำการผสมเพื่อเพาะหนอนแดงรุ่นต่อไป

ในการศึกษาวงจรชีวิตของหนอนแดงนั้น ทำได้โดยแยกตัวอ่อนแต่ละตัวที่เพิ่งออกจากไข่มาเลี้ยงในภาชนะแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 เซนติเมตร และสูง 5 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำกลั่นผสมสารละลายปริมาณ 25 มิลลิลิตร พร้อมทั้งให้อาหารหนูบดละเอียดอาทิตย์ละ 0.1 กรัม ศึกษาสังเกตการเปลี่ยนแปลงและการเจริญเติบ

โตของหนอนแดงทุกวัน พร้อมทั้งวัดขนาด ความกว้าง และความยาวของกระโหลกส่วนหัวของหนอนแดงเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สำหรับการแยกเพศของหนอนแดงกระทำโดยตรวจเพศภายใต้กล้องสเตริโอ ดูลักษณะโครงสร้างที่ต่างกันของเพศผู้และเพศเมียซึ่งอยู่ทางด้านล่างของปล้องสุดท้ายของลำตัว (Martin, 1962; Miall and Hammond, 1900)

ผล

1. การผสมพันธุ์และการเพาะพันธุ์หนอนแดง

ในการผสมพันธุ์รุ่นพ่อแม่และรุ่นลูกรุ่นที่ 1 ด้วยกันเอง ถ้าใช้จำนวนตัวผู้น้อยกว่า 25 ตัว จะไม่ได้ผลโดยตัวเมียจะวางไข่ที่ไม่ได้รับการผสม แต่การทดลองที่ใช้ตัวผู้ไม่น้อยกว่า 25 ตัว ตัวเมียจะวางไข่ที่รับการผสมและไข่ฟักออกเป็นตัว แต่เมื่อทำการผสมตัวผู้และตัวเมียของลูกรุ่นที่ 2 และรุ่นถัดไป จำนวนตัวผู้ที่ใช้ในการผสมจะลดลงเหลือเพียง 10 ตัวก็สามารถได้ไข่ที่รับการผสม อย่างไรก็ตามถ้าใช้จำนวนตัวผู้เพิ่มขึ้นจะทำให้ตัวผู้มีโอกาสผสมกับตัวเมียมากขึ้น และทำให้ได้จำนวนกลุ่มไข่เพิ่มขึ้นด้วย

ขนาดของกรงจะมีผลต่อการผสมพันธุ์เช่นกัน ตัวผู้จะผสมกับตัวเมียมากขึ้นในกรงที่มีขนาดเล็ก ทั้งนี้สังเกตุจากจำนวนกลุ่มไข่ในกรงขนาดเล็กสุด (10.5x 10.5x10.5 ลบ.ซม.) จะมีจำนวนมากกว่าในกรงขนาดใหญ่กว่าทั้งๆ ที่ใช้ตัวผู้จำนวนเท่ากัน

ในการทดลองนี้สามารถผสมและเพาะเลี้ยงหนอนแดงจนถึงลูกรุ่นที่ 9 และได้ศึกษานับจำนวนไข่ในแต่ละกลุ่มของไข่ในลูกแต่ละรุ่น พร้อมทั้งคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่และหาเปอร์เซนต์เฉลี่ยของไข่ที่ถูกผสมและฟักออกเป็นตัวจากการทดลองจำนวน 6 ครั้ง ของการผสม ตัวผู้ 25 ตัว ต่อตัวเมีย 10 ตัว ในกรงขนาด 10.5x10.5x10.5 ลบ.ซม. (Table 1) ผลปรากฏว่าจำนวนไข่เฉลี่ยของลูกรุ่นที่ 1 มีจำนวนมากกว่าลูกรุ่นอื่นๆ ในทำนองเดียวกัน เปอร์เซนต์ของไข่ที่รับการผสมและออกเป็นตัวของลูกรุ่นที่ 1 มีค่าสูงกว่าลูกรุ่นถัดไป อย่างไรก็ตามเปอร์เซนต์ของไข่ที่ถูกผสมและออกเป็นตัวของลูกแต่ละรุ่นมีค่ามากกว่า 93% จึงนับได้ว่า การทดลองผสมและเพาะพันธุ์หนอนแดงในห้องทดลองประสบความสำเร็จ แต่ขนาดของหนอนแดง ของลูกรุ่นหลังๆ เล็กกว่าลูกรุ่นแรกๆ อย่างเห็นได้ชัด

Table 1 Fertility and hatchability of laboratory egg masses of *Chironomus plumatisetigerus.*

Generation	Number of egg	Average snumber of eggs	Average fertility (%)	Average hatchability (%)
F_1	87-693	474.33(27)	99.36	98.95
F_2	100-593	330.96(30)	97.36	97.02
F_3	119-762	399.40(40)	95.35	94.67
F_4	79-666	339.17(122)	97.72	96.82
F_5	55-724	295.69(58)	95.13	94.38
F_6	75-586	293.37(54)	97.15	95.51
F_7	68-428	238.40(35)	94.85	93.79
F_9	158-491	310.50(14)	96.94	96.46

() number of egg masses

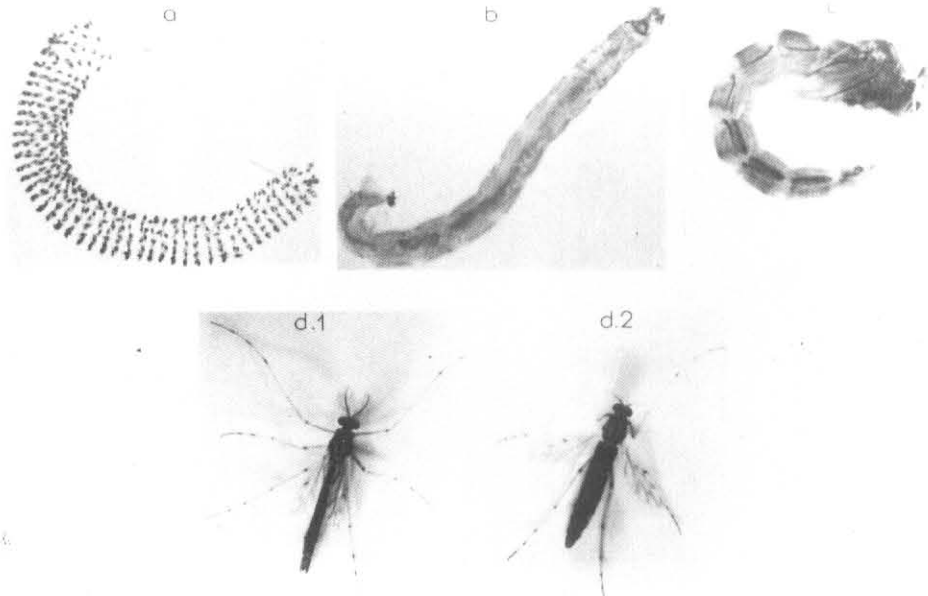

Figure 1 1a. Egg mass of *Chironomus plumatisetigerus.*
1b. Larva. 1c. Pupa.
1d.1 Adult, male. 1d.2 Adult, female.

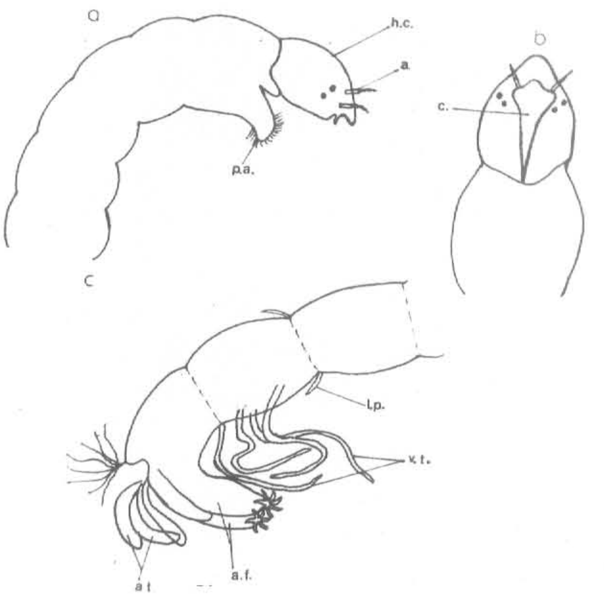

Figure 2 Larva of *Chironomus plumatisetigerus.*
2a. Side view of a larva showing head and the first five segments.
2b. Dorsal view of the head showing the slightly dark "V" anteriorly.
2c. Side view of a larva showing the last three segments.
a : antenna, a.f. : anal feet, a.t. : anal tubule,
c : clypeus, h.c. : head capsule, l.p. : lateral projection,
p.a. : prothoracic appendage, v.t. : ventral tubule.

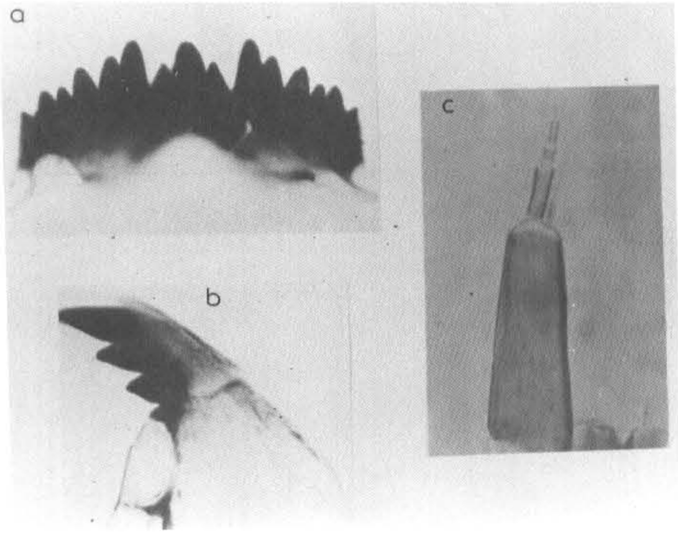

Figure 3 3a. Labial plate of alarva of *Chironomus plumatisetigerus* showing the rather pointed central tooth and the distinct first lateral teeth.
3b. Mandible of a larva showing the pointed teeth and the complete fourth teeth.
3c. Antenna of a larva showing five segments.

2. วงจรชีวิตของหนอนแดง

วงจรชีวิตของหนอนแดงเริ่มจากไข่เป็นตัวเต็มวัยค่อนข้างสั้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตัวผู้มีวงจรชีวิตประมาณ 25 วันในขณะที่วงจรชีวิตของตัวเมียประมาณ 27 วัน วงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะดังนี้คือ ระยะไข่ ตัวอ่อน ตัวดักแด้ และตัวเต็มวัย

ไข่ ลักษณะไข่เป็นรูปยาวรีและโปร่งใส (Figure 1a) ไข่เรียงกันเป็นแถววกกลับไปกลับมาภายในวุ้นเหนียวซึ่งหุ้มไข่ทั้งหมดไว้จึงทำให้ไข่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม กลุ่มไข่มีขนาดต่างกัน บางกลุ่มมีขนาดใหญ่และมีไข่เป็นจำนวนมาก ปลายทั้งสองของกลุ่มไข่จะงอโค้งเข้าหากันจึงทำให้กลุ่มไข่มีรูปร่างลักษณะคล้ายรูปเกือกม้า ปลายข้างหนึ่งของกลุ่มไข่มีเส้นวุ้นยาวยื่นออกมาเพื่อเป็นที่ยึดกับของแข็งในน้ำเช่นกิ่งไม้และใบไม้ในช่วงขณะที่ตัวเมียกำลังวางไข่ เพื่อเป็นการป้องกันไม่ให้กลุ่มไข่ลอยไปตามน้ำ หลังจากที่ตัวเมียวางไข่วันแรกไข่ที่ถูกผสมจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเจริญเป็นตัวอ่อนอย่างรวดเร็ว ซึ่งสามารถศึกษาและสังเกตุการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ชัดเจนภายใต้กล้องสเตริโอ พอเข้าวันที่ 3 ตัวอ่อนเริ่มทยอยออกจากไข่และตัวอ่อนจะออกจากไข่ทุกใบหมดภายในวันที่ 4 ตัวอ่อนที่ออกจากไข่ใหม่ๆ จะเกาะอยู่บนวุ้นที่หุ้มไข่และกินวุ้นเป็นอาหาร ต่อมาจึงจะเริ่มว่ายเป็นอิสระในน้ำ

ตัวอ่อน ตัวอ่อนของหนอนแดงประกอบด้วยส่วนหัวและลำตัว (Figure 1b และ Figure 2a) หัวหนอนแดงค่อนข้างเล็กและมีเปลือกแข็งหุ้ม ด้านบนของกระโหลกส่วนหัวประกอบด้วยแผ่นแข็ง 3 แผ่น คือ แผ่นกลาง 1 แผ่น และแผ่นข้าง 2 แผ่น แผ่นกลางเรียกว่า clypeus (Figure 2b) มีลักษณะเป็นรูปสามเหลี่ยมสีดำหรือสีน้ำตาลที่มีความเข้มต่างกัน หนอนแดงต่างชนิดกันจะมีลักษณะสีของ clypeus ต่างกัน ซึ่งลักษณะสีของ clypeus เป็นลักษณะเฉพาะของหนอนแดงแต่ละชนิด clypeus ของหนอนแดง *Ch. plumatisetigerus* มีสีน้ำตาลขนาดความเข้มปานกลาง ตรงด้านปลายของ clypeus มีริมฝีปากบน (labrum) ที่ยื่นออกและหดเข้าได้ บนขอบริมฝีปากล่าง (labium) มีฟันดำ 15 ซี่เรียงกันเป็นแถว (Figure 3a) ฟันบริเวณตรงกลางจะมีลักษณะแหลมคม ส่วนแผ่นแข็งทางด้านข้างของส่วนหัว 2 แผ่นนั้นมีตา 2 คู่ หนวด 1 คู่ และขากรรไกร 1 คู่ ขากรรไกรของหนอนแดงค่อนข้างแข็งเคลื่อนไหวได้และมีฟันแหลม 4 ซี่เรียงกัน (Figure 3b) หนวดของหนอนแดงค่อน

ข้างเล็กประกอบด้วยปล้อง 5 ปล้องต่อกัน (Figure 3c) ลำตัวของหนอนแดงมีลักษณะผอมยาวเรียวและเป็นปล้องมีทั้งหมด 12 ปล้อง (Figure 1a) ปล้องลำตัว 3 ปล้องแรกที่ถัดหัวลงมาจะตรงกับบริเวณที่เป็นส่วนอกของตัวเต็มวัย อวัยวะสืบพันธุ์อยู่ทางด้านล่างของปล้องสุดท้ายคือปล้องที่ 12 ต้องดูด้วยกล้องสเตริโอจึงจะเห็น นอกจากนี้ยังมี blood gill ซึ่งทำหน้าที่เกี่ยวกับการหายใจอยู่ตรงปล้อง ลำตัวส่วนท้าย หนอนแดงมี blood gill 2 ชนิด คือ ventral blood gill (ventral tubule) 2 คู่ซึ่งเป็นเส้นยาวและอ่อนพับงอได้อยู่ทางด้านล่างของปล้องที่ 11 (Figure 2c) และ anal blood gill (anal tubule) ซึ่งเป็นเส้นสั้นๆ 2 คู่อยู่ตรงปลายสุดของปล้องที่ 12 นั่นคืออยู่ท้ายสุดของลำตัว นอกจากนี้ตรงบริเวณรอยต่อระหว่างปล้องที่ 10 และ 11 แต่ละข้างมีเส้นเล็กสั้นยื่นออกมาเรียกว่า lateral projection ซึ่งหนอนแดงบางชนิดจะไม่มีเส้นคู่นี้ หนอนแดงเคลื่อนที่ได้โดยการใช้ prothoracic appendage และ anal feet prothoracic appendage คือส่วนที่ยื่นออกมาทางด้านล่างของปล้องอกปล้องแรก (Figure 2a) บริเวณตรงปลายของ prothoracic appendage ประกอบไปด้วยเส้นเล็กๆที่ยื่นออกมาเป็นจำนวนมากและมีลักษณะคล้ายขอ ดังนั้นนอกจาก prothoracic appendage จะมีหน้าที่ช่วยในการเคลื่อนที่ของหนอนแดงแล้วมันยังมีหน้าที่จับอาหารและยึดเกาะด้วย anal feet อยู่เป็นคู่ทางด้านล่างของปล้องสุดท้ายของลำตัวค่อนข้างแข็ง และตรงปลายมีเส้นที่มีลักษณะคล้ายหนามโค้งยื่นออกมา (Figure 2c) anal feet มีหน้าที่ยึดเกาะและช่วยในการเคลื่อนที่ของหนอนแดงเช่นกัน

การเจริญเติบโตของตัวอ่อนแบ่งเป็น 4 วัยคือ วัยแรก สอง สาม และ สี่ ซึ่งจะมีการลอกคราบก่อนที่จะเปลี่ยนวัยทุกครั้ง สังเกตการเปลี่ยนวัยและการเจริญเติบโตได้โดยการวัดขนาดความกว้างและความยาวของกระโหลกส่วนหัวของตัวอ่อน

ตัวอ่อนวัยแรก ตัวอ่อนวัยนี้ใช้เวลา 2-3 วัน ตัวอ่อนระยะนี้มีความรู้สึกต่อแสงไวมาก ตัวยังไม่มีสีแดง เมื่อมันเริ่มว่ายเป็นอิสระก็จะเริ่มสร้างปลอกหุ้มตัวโดยใช้กระดาษเยื่อและเศษอาหารคลุกเคล้ากัน ปลอกหุ้มตัวติดอยู่บริเวณก้นอ่างและด้านข้างของอ่าง ตัวอ่อนบางตัวจะฝังตัวเองอยู่ระหว่างชั้นของกระดาษเยื่อ จากการศึกษาการเจริญเติบโตของตัวอ่อนโดยการวัดขนาดความกว้างและยาวของกระโหลกส่วนหัวของตัวอ่อนเพศผู้และเพศเมียอย่างละ 20 ตัว ผลปรากฏว่าความกว้างเฉลี่ยของกระโหลกส่วนหัวของเพศผู้ประมาณ 89 ไมครอน และยาวเฉลี่ยประมาณ 110 ไมครอน ส่วนกระโหลกส่วนหัวของเพศเมียมีความกว้างและยาวเฉลี่ย ประมาณ 90 ไมครอน และ 111 ไมครอน (Table 2)

ตัวอ่อนวัยสอง ตัวอ่อนอยู่ระยะนี้ประมาณ 2 วัน ตัวอ่อนเริ่มมีสีแดง หลังการลอกคราบของตัวอ่อนวัย

Table 2 Growth and development of the head capsules of male and female larvae of Chironomus plumatisetigerus.

Larvalstage	Larvalperiod (days)	Headcapsule(averageinmicrons)			
		width		length	
		male	female	male	female
Firstinstar	2	89.3	90.2	110.3	111.0
Secondinstar	2	168.0	171.2	199.5	206.3
Thirdinstar	2	294.0	352.0	388.5	460.2
Fourthinstarmale	7-8	441.0	504.0	598.5	682.5
female	9-10				

แรกขนาดความกว้างและความยาวของกระโหลกส่วนหัวจะขยายใหญ่ขึ้น ในเพศผู้มีความกว้างและยาวเฉลี่ย 168 และ 199 ไมครอน ส่วนเพศเมียมีความกว้างและยาวเฉลี่ย 171 และ 206 ไมครอน

ตัวอ่อนวัยสาม ใช้เวลาประมาณ 2 วัน ตัวอ่อนระยะนี้เจริญเติบโตเร็วมากค่าเฉลี่ยความกว้างและยาวของกระโหลกส่วนหัวของเพศผู้เท่ากับ 294 และ 388 ไมครอน ในขณะที่เพศเมียมีความกว้างและยาวเฉลี่ยประมาณ 352 และ 460 ไมครอน เริ่มเห็นอวัยวะสืบพันธุ์เป็นตุ่มเล็กๆ แต่ยังแยกเพศไม่ได้ว่าเป็นเพศผู้หรือเพศเมีย

ตัวอ่อนวัยสี่ วัยนี้อวัยวะสืบพันธุ์เจริญอย่างรวดเร็วและจะเจริญเต็มที่ตอนปลายระยะจึงทำให้สามารถแยกเพศได้ชัดเจน ตัวอ่อนอยู่ในระยะนี้นานกว่าระยะอื่นๆ แต่ระยะเวลาจะต่างกันระหว่างเพศผู้และเพศเมีย เพศผู้อยู่ในระยะนี้สั้นกว่าเพศเมียโดยใช้เวลาเพียง 7-8 วัน ในขณะที่เพศเมียใช้เวลา 9-10 วัน ดังนั้นเพศผู้จะเจริญเป็นตัวดักแด้และเป็นตัวเต็มวัยก่อนเพศเมียประมาณ 2 วัน นอกจากนี้เพศผู้มีขนาดเล็กกว่าเพศเมียอย่างเห็นชัด จากการวัดขนาดของกระโหลกส่วนหัวปรากฏว่าตัวผู้มีความกว้างเฉลี่ยประมาณ 441 ไมครอน และ ยาวเฉลี่ยประมาณ 598 ไมครอน ส่วนตัวเมียกว้างเฉลี่ยประมาณ 504 ไมครอนและยาวเฉลี่ยประมาณ 683 ไมครอน ตัวอ่อนที่อยู่ปลายระยะนี้จะเริ่มเข้าดักแด้และมีการเคลื่อนไหวน้อยลง นอกจากนี้ลำตัวจะหดสั้นลงและปล้องลำตัว 2-3 ปล้องแรกที่ถัดหัวลงมาจะพองใหญ่อย่างเห็นได้ชัด

ดักแด้ ระยะนี้ใช้เวลาเพียง 1 วันเท่านั้น ดักแด้ของหนอนแดงมีลักษณะคล้ายดักแด้ของยุง (ไอ้โม่ง) (Figure 1c) ตัวอ่อนที่เริ่มเข้าดักแด้ใหม่ๆ จะจมอยู่ก้นอ่าง แต่พอเริ่มจะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยมันจะลอยขึ้นมาอยู่บนผิวน้ำ ต่อมาเปลือกหุ้มส่วนนอกทางด้านบนของดักแด้จะแยกออกจากกันซึ่งเป็นทางออกของตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยที่ออกจากเปลือกหุ้มดักแด้ใหม่ๆ จะเกาะตามด้านข้างภาชนะและด้านล่างของฝา สามารถแยกแมลงหนอนแดงเพศผู้ออกจากเพศเมียได้ง่ายเช่นเดียวกับยุงโดยดูลักษณะของหนวดเป็นหลัก ตัวผู้จะมีหนวดเป็นพู่ขนนก (plumose) (Figure 1d.1) แต่หนวดของตัวเมียจะเป็นปล้องสั้นๆ และมีขนน้อย (pilose) (Figure 1d.2) นอกจากนี้ลักษณะลำตัวของเพศผู้และเพศเมียจะแตกต่างกันอย่างเห็นชัด ลักษณะลำตัวของเพศผู้จะยาวเรียวและผอมบางกว่าเพศเมีย เพศเมียมีลำตัวสั้นและอ้วน แมลงหนอนแดงมีขายาวและเห็นเส้นปีกชัดเจน อวัยวะกินอาหารสั้น แมลงหนอนแดงที่เลี้ยงในห้องทดลองมีอายุประมาณ 7-8 วัน

สรุปและวิจารณ์

ช่วงระยะเวลาของการเจริญเติบโตของหนอนแดงขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ อุณหภูมิ (Fisher, 1969 อ้างอิงใน Oliver, 1971) หนอนแดงจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในอุณหภูมิสูง ดังนั้นช่วงวงจรชีวิตของหนอนแดงที่อาศัยในเขตอบอุ่นและเขตร้อนจะสั้นกว่าหนอนแดงที่อาศัยในเขตหนาว อากาศหนาวมีผลให้หนอนแดงหยุดเจริญเติบโต ในสิ่งแวดล้อมที่เป็นน้ำแข็ง (Crisp and Lloyd, 1954) ในห้องทดลองที่อุณหภูมิ 25 องศา เซลเซียส ช่วงวงจรชีวิตของหนอนแดง *Ch. plumatisetigerus* ประมาณ 25-27 วัน ถ้าเลี้ยงหนอนแดงในอุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงกว่านี้มากๆ จะมีผลทำให้ช่วงวงจรชีวิตของมันเปลี่ยนไป อย่างไรก็ตามวงจรชีวิตของตัวเมียจะยาวกว่าของตัวผู้ นอกจากนี้ขนาดของตัวเมียใหญ่กว่าของตัวผู้ซึ่งพบในหนอนแดงชนิดอื่นด้วย เช่น *Ch. plumosus* ตัวเมียจะมีน้ำหนักมากกว่าตัวผู้ (Hilsenhoff, 1966)

ความสำเร็จในการผสมและเพาะพันธุ์หนอนแดง *Ch. plumatisetigerus* ในห้องทดลองซึ่งได้จากการศึกษาเปอร์เซนต์ของไข่ที่ถูกผสมและออกเป็นตัวของลูกรุ่นแรกจนถึงรุ่นที่ 9 พบว่ามีเปอร์เซนต์ค่อนข้างสูง (> 93%) จึงเป็นสิ่งชี้แนะว่าสภาวะภายในห้องทดลอง ไม่ได้เป็นปัจจัยขัดขวางกลไกการผสมพันธุ์หนอนแดงชนิดนี้ ดังได้

มีรายงานทำนองเดียวกันในหนอนแดงชนิดอื่น เช่น *Ch. tepperi* ซึ่งสามารถผสมและเพาะเลี้ยงในห้องทดลองได้อย่างน้อยที่สุดจำนวน 13 รุ่น (Scharf, 1969 อ้างอิงใน Martin and Porter, 1977) ปัจจัยสำคัญที่ดูเหมือนจะมีผลต่อความสำเร็จในการผสมพันธุ์คือจำนวนตัวผู้ที่ผสม ถ้ามีตัวผู้เป็นจำนวนน้อยจะไม่ได้ผล ได้มีรายงานผลที่คล้ายคลึงกันใน *Ch. oppositus* ซึ่งต้องใช้ตัวผู้ อย่างน้อยที่สุด 20 ตัว จึงจะได้ไข่ที่ถูกผสม (Martin and Lee, 1981) ในการผสมรุ่นแรกๆ ของการทดลองนี้ต้องใช้ตัวผู้เป็นจำนวนมากกว่าการผสมรุ่นหลังๆ และต้องทำการทดลองหลายครั้งจึงจะประสบผลสำเร็จ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในระยะแรกๆ หนอนแดงยังไม่สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะภายในห้องทดลอง ต่อมาเมื่อมันสามารถปรับตัวได้แล้วจึงผสมได้ง่ายขึ้นทำให้จำนวนตัวผู้ที่ใช้ในการผสมลดลง นอกจากจำนวนตัวผู้แล้วขนาดของกรงจะมีผลต่อการผสมพันธุ์เช่นกัน ตัวเมียจะวางไข่ที่ถูกผสมอย่างสม่ำเสมอในกรงที่มีขนาดเล็กสุด (10.5x10.5x10.5 ลบ.ซม.) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในบริเวณเนื้อที่ที่จำกัดตัวผู้มีโอกาสพบและผสมกับตัวเมียได้มากกว่าในบริเวณเนื้อที่กว้างๆ และเป็นไปได้ว่าพฤติกรรมในการผสมพันธุ์ของหนอนแดงชนิดนี้อาจจะมีการรวมกลุ่ม (mating swarm) ก่อนที่จะมีการผสมซึ่งการรวม กลุ่มนี้เป็นพฤติกรรมที่พบเป็นส่วนมากในหนอนแดงชนิดอื่น เช่น *Ch. piger* และ *Ch. thummi* (Muhlbradt and Neumann, 1976) และ *Ch. tentans* (Topping and Acton, 1976) กลุ่มที่รวมขึ้นนี้อาจประกอบด้วยตัวผู้ทั้งหมด (Lindeberg 1964) หรือมีทั้งตัวผู้และตัวเมีย (Nielsen, 1962) นอกจากนี้การรวมกลุ่มของมันยังมีความสัมพันธ์กับเครื่องหมายและเวลาด้วย หนอนแดงบางชนิดรวมกลุ่มในเวลากลางวัน แต่บางชนิดรวมกลุ่มในเวลาเช้ามืดหรือพลบค่ำ (Syrjamaki 1964) ในการรวมกลุ่มแมลงหนอนแดงจะจำเครื่องหมายเครื่องหมายที่ต่างกันและปฏิกิริยาที่หนอนแดงมีต่อเครื่องหมายจะเป็นปัจจัยสำคัญในการตัดสินองค์ประกอบของกลุ่มที่รวมกัน (Downes, 1969) ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของหนอนแดง *Ch. plumatisetigerus* ดังนั้นควรจะได้ศึกษาพฤติกรรมการ ผสมพันธุ์ของแมลงชนิดนี้ อย่างน้อยที่สุดพฤติกรรมการรวมกลุ่มของมันก่อนที่จะผสมพันธุ์ทั้งในห้องทดลองและในธรรมชาติต่อไป

ถึงแม้ว่าหนอนแดงชนิดนี้สามารถผสมและเพาะเลี้ยงจนได้ลูกจำนวน 9 รุ่น แต่ขนาดของลูกรุ่นหลังๆ จะเล็กกว่าลูกรุ่นแรกๆ มากทั้งนี้เป็นไปตามหลักพันธุศาสตร์ การผสมภายในสายพันธุ์เดียวกันจะมีโอกาสเพิ่มประชากรที่เป็นโฮโมไซโกตสำหรับยีนด้อยมากขึ้นและมีผลทำให้ได้ลูกที่มีคุณภาพเลวลง ดังนั้นควรจะได้มีการปรับปรุงวิธีการเลี้ยงหนอนแดงในห้องทดลองให้ดีขึ้น เช่น การใส่วิตามินในรูปสารละลายในน้ำเลี้ยงหนอนแดง หรือดัดแปลงอาหารและสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงให้คล้ายคลึงธรรมชาติมากที่สุดก็จะมีส่วนช่วยให้คุณภาพของหนอนแดงรุ่นลูกดีเหมือนกับรุ่นพ่อแม่ ความรู้ในการผสมและเพาะเลี้ยงหนอนแดงในห้องทดลองนี้ สามารถนำไปดัดแปลงหาวิธีการเลี้ยงหนอนแดงที่เหมาะสมในธรรมชาติเพื่อประกอบเป็นอุตสาหกรรมต่อไป ในอนาคตได้

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหิดลที่กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Crisp, G. and L. Lloyd. 1954. The community of insects in a patch of woodland mud. Trans. Roy. Entomol. Soc. London 105 : 269-313.

Downes, J. A. 1969. The swarming and mating flight of Diptera. Ann. Rev. Entomol. 14 : 271-298.

Fisher, J. 1969. Zur Fortpf lanzungsbiologie von *Chironomus nuditarsis*. Str. Rev. Suisse Zool.

76 : 23-55.

Hilsenhoff, W.L. 1966. The biology of *Chironomus plumosus* in Lake Winnebago, Wisconsin. Ann. Entomol. Soc. Amer. 59 : 465-473.

Jonasson, P.M. and J. Kristiansen. 1967. Primary and secondary production in Lake Esrom. Growth of *Chironomus onthracinus* in relation to seasonal cycles of phytoplankton and dissolved oxygen. Int. Revue Ges. Hydrobiol. 52 : 163-217.

Kuvangkadilok, C. 1985. Cytogenetic studies of *Chironomus plumatisetigerus* (Diptera : Chironomidae) in Thailand.J. Sci. Soc. Thailand. 10 : 37-45.

Lindeberg, B. 1964. The swarm of males as a unit for taxonomic recognition in chironomids. Ann. Zool. Fenn. 1 : 72-76.

Martin, J. 1962. Inversion polymorphism in an antarctic species living in a simple environment. Amer. Nat. 96 : 317-318

Martin, J. and B.T.O. Lee. 1981. Problems in speciation of *Chironomus oppositus* Walkerinsouth-eastern Australia. In : Atchley W.R. and D.S. Wood ruff (eds). Essay onevolution and speciation in honor of M.J.D. White. Cambridge University Press, London pp. 241-261.

Martin, J. and D.L. Porter. 1977. Laboratory biology of the rice midge, *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera : Nematocera) :mating behaviour, productivity and attempts at hybridization. J. Aust. Entomol. Soc. 16 : 411-416.

Martin, J., C. Kuvangkadilok, D.H. Peart and B.T.O. Lee. 1980. Multiple sex determining regions in a group of related *Chironomus* species (Diptera : Chironomidae). Heredity 44 : 367-382.

Miall, L.C. and A.R. Hammond. 1900. The structure and life-history of the harlequin fly (Chironomus). Clarendon Press, Oxford.

Muhlbradt, J. and D. Neumann. 1976. Reproduction via optical swarming behavior in sympatric *Chironomus thummi* and *Chironomus piger.* Behavior 58 (3-4) : 272-297.

Nielsen, E.T. 1962. Contributions to the ethology of *Glyptotendipes* Phytotendipes) *paripes* Edwards. Oikos 13 : 48-75.

Oliver, D.R. 1971. Life history of the Chironomidae. Ann. Rev. Entomol. 16 : 211230.

Scharf, B. 1969. Eine weitere, in Labor leicht zuchtbare Chironomus Art. Chironomus 1(7) : 50.

Syrjamaki, J. 1964. Swarming and mating behaviour of *Allochironomus crassiforceps* Kieff. Ann. Zool. Fenn. 1 : 125-145.

Thompson, P.E. and D.S. English. 1966. Multiplicity of hemoglobin in the genus Chironomus (Tendipes). Science 152 : 75-76.

Topping, M.S. and A.B. Acton. 1976. Influence of henvironmental factors on frequencies of certain chromosomal in versions in *Chironomus tentans* Fabricius. Evolution 30 : 170-179.

Walshe, B.M. 1951. The feeding habits of certain chironomid larvae (subfamily Tendipedinae). Proc. Zool. Soc. London 121 : 63-79.