



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

ปริญญา

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการ
เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Developing some Techniques for Using Chironomid Larvulae (Diptera:
in Aquaculture

นามผู้วิจัย เรือเอกนิทัศน์ ทิพย์กองกลาศ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมธี แก้วเนิน, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(อาจารย์กำชัย ลาวัณยวุฒิ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์เชษฐา พิชิตกุล, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่

เดือน

พ.ศ.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Developing some Techniques for Using Chironomid Larvulae (Diptera: Chironomidae) in
Aquaculture

โดย

เรือเอกนิทัศน์ ทิพย์กองลาศ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ)

พ.ศ. 2553

นิทัศน์ ทิพย์กองกลาง, เรือเอก 2553: การพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อการใช้ประโยชน์หนอนแดง
ระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ) สาขาเพาะเลี้ยง
สัตว์น้ำ ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:

รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี, Ph.D. 234 หน้า

หนอนแดงระยะแรกฟักเป็นระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืดที่เพิ่งฟักออกจากไข่ หนอนแดงเป็นอาหารที่สำคัญของสัตว์น้ำจืดในแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงเป็นอาหารปลาสวยงาม ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ผลผลิตหนอนแดงส่วนใหญ่ได้จากการรวบรวมจากธรรมชาติ ซึ่งปัจจุบันปัญหาที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงหนอนแดงคือไม่สามารถควบคุมการวางไข่ของรึ้นน้ำจืดได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้คือ เพื่อพัฒนาเทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ การศึกษาประกอบด้วย 5 ประเด็น ดังนี้ ประเด็นที่ 1 ศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำขนาด 18 ไร่ โดยสำรวจการลอกคราบขึ้นจากรึ้นน้ำจืดด้วยกรงดักรึ้นน้ำจืดทุกๆ 2 เดือน เป็นระยะเวลา 1 ปี รวม 7 ครั้ง ประเด็นที่ 2 ศึกษาคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพาะพันธุ์ พัฒนาการของไข่รึ้นน้ำจืด ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวฟักไข่และความดกของไข่รึ้นน้ำจืด ประเด็นที่ 3 ศึกษาอัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ ประเด็นที่ 4 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยการใช้ความเย็น และประเด็นที่ 5 ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟัก และการใช้ประโยชน์ในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน ดำเนินการศึกษาที่สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ระหว่างเดือนมกราคม 2551-มกราคม 2552

ผลการศึกษาครั้งนี้ ประเด็นที่ 1 พบรึ้นน้ำจืดจำนวน 2 วงศ์ย่อย 15 สกุล และ 22 ชนิด โดยความหลากหลายชนิดและความชุกชุมไม่มีความแตกต่างกันในแต่ละเดือนที่สำรวจ และมีเพียงความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่มีความสัมพันธ์ระดับสูงกับความหลากหลายชนิด ส่วนปัจจัยด้านสภาวะอากาศและคุณภาพน้ำอื่นๆ มีความสัมพันธ์ระดับต่ำถึงปานกลางกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุม ประเด็นที่ 2 พบว่ารึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ โดยอัตราส่วนเพศ สีสองแสง ความเข้มของแสง ช่วงแสง มีผลต่อการเพาะพันธุ์ ในขณะที่ระดับของอาหารธรรมชาติในน้ำไม่มีผล ไข่รึ้นน้ำจืดใช้เวลา 16 ชั่วโมง 30 นาที (ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส) ในพัฒนาการจนฟักออกจากไข่ และความยาวฟักไข่มีความสัมพันธ์กับความดกของไข่ ประเด็นที่ 3 พบว่าหนอนแดงมีอัตราการลดลงเมื่ออัตราความหนาแน่นเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปัจจัยการเจริญเติบโตอื่นๆ และอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมคือ 1 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ประเด็นที่ 4 พบว่าการแช่เย็นไข่รึ้นน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟักโดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ embryonic solution และ 1% trehalose ให้ผลในการเก็บรักษาดีที่สุด และประเด็นที่ 5 พบว่าหนอนแดงระยะแรกฟักมีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน และให้อัตรารอดและการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากโรติเฟอร์ในการอนุบาลลูกปลาหมอ

Nithas Thipkonglars, Lt. 2010: Developing some Techniques for Using Chironomid Larvulae (Diptera: Chironomidae) in Aquaculture. Doctor of Philosophy (Aquaculture), Major Field: Aquaculture, Department of Aquaculture. Thesis Advisor: Associate Professor Wara Taparhudee, Ph.D. 234 pages.

Chironomid (Diptera: Chironomidae) larvulae are newly hatched larvae from eggs. The larval stage of chironomid represents an important natural food for many freshwater fish in natural water bodies, including hobbies fish in aquaculture. Chironomid larvae production mainly collected from natural. The main problem in outdoor culture is unstable in its production causing from diverse natural species, and uncontrollable oviposition in an adult stage. Thus this research aimed to develop chironomid larvulae producing, and using in aquaculture purposes. The study consisted of 5 experiments. The first experiment is surveying a year round monitoring on chironomid diversities and changes in the small reservoir in Ayutthaya province. The sampling was taken every 2 months by using emergence traps. The second experiment, selection of a good performance chironomid species for aquaculture, effect of breeding factors, chironomid egg embryology, and relation between chironomid egg-mass length and fecundity were undertaken. The third experiment, effects of stocking density in chironomid larvae rearing to maturity was evaluated. The fourth experiment, low temperature preservings of chironomid egg and larvulae was conducted. The fifth experiment, the nutritive values study and using of chironomid larvulae as a natural food in climbing perch *Anabas testudineus* larvae nursing were studied. All experiments were conducted at Inland Aquaculture Research Institute in Phra Nakorn Si Ayutthaya among January 2008 to January 2009.

The first experiment result, twenty-two species of chironomids belonging to 15 genera of 2 subfamily were found, species richness and abundant were not different between sampling months. Only water pH showed highly correlated with species richness, but another factor showed low correlation. The second experiment, *Chironomus fuscipes* was the optimal species for culture under laboratory conditions, which light characteristics and sex ratio were affected to oviposition parameters, but oviposition preference in water was not detected when increased natural food levels. The third experiment, the optimal stocking density in chironomid larvae rearing to maturity was 1 individual/cm². The fourth experiment showed chilling preservation with embryonic solution and 1% trehalose were suitable protective media for chironomid egg and larvulae preservations. Finally, the nutritive values of chironomid larvulae contains completely, survival and growth rates of climbing perch larvae reared with chironomid larvulae were not different with rotifers.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วราห์ เทพาหุดี อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ผศ.ดร.เมธิ แก้วเนิน และ อ.ดร.กำชัย ลาวัณยวุฒิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำปรึกษาในการเรียน การค้นคว้าวิจัย ตลอดจนการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์จนกระทั่งเสร็จสมบูรณ์ และกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.เรืองวิทย์ ยืนพันธ์ ประธานการสอบ และ ดร.ปกรณ์ อุ้นประเสริฐ ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ให้คำแนะนำในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) โดย ดร.นภาพร นพรัตน์ภรณ์ ผู้อำนวยการ และคุณหญิงประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ ประธานคณะกรรมการพัฒนาบุคลากรด้านการวิจัยการเกษตร

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จริยา จันทน์ไพแสง ภาควิชาสถิติวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความรู้เกี่ยวกับแมลงน้ำ การเก็บและรักษาตัวอย่าง ดร.รจนา ไวยเจริญ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร ที่ได้แนะนำและให้เอกสารวิจัยเกี่ยวกับการจำแนกริ้นน้ำจืด ดร.วัฒนา ศักดิ์ชูวงศ์ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช ที่ได้ให้คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์สถิติ นายสมหวัง พิมลบุตร สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด และนายฉัตรชัย สุนทวิชัย สำนักงานประมงจังหวัดตาก ที่อนุญาตให้ลาศึกษาต่อ นายสมเกียรติ พงษ์ศิริจันทร์ สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ที่อนุญาตให้ใช้สถานที่วิจัย นางพรรณศรี เชิดชูพันธ์เสรี ที่อนุญาตให้ใช้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำ ขอขอบคุณ นายอรรถพร วงศ์อมฤต ที่อนุญาตให้ที่พักและจัดเตรียมอุปกรณ์วิจัย นายปราโมทย์ เจริญมาก ที่ช่วยเก็บข้อมูล นายนิติกร ผิวฟ่อง ที่สนับสนุนพันธุ์ปลาหมอในช่วงที่ขาดแคลน นายพลชาติ ผิวเณร ที่ให้คำแนะนำและอนุเคราะห์อุปกรณ์เกี่ยวกับการเก็บรักษาไขรี้นน้ำจืด นายสมควร ช่างเฒ่า งานบริการข้อมูล กรมอุทยานแห่งชาติ ที่อนุญาตให้ข้อมูลอุทยานแห่งชาติ และบุคลากรศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดสุพรรณบุรีทุกท่าน ที่ช่วยจัดหาอุปกรณ์วิจัย

สุดท้าย ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด รวมทั้งขอบคุณ ภรรยา พี่สาว น้องสาว หลานๆ และเพื่อนๆ ที่เป็นกำลังใจให้จนสำเร็จการศึกษา

นิทัศน์ ทิพย์กองกลาง

กันยายน 2553

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(6)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(13)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	42
อุปกรณ์	42
วิธีการ	43
ผลและวิจารณ์	71
ผล	71
วิจารณ์	140
สรุปและข้อเสนอแนะ	160
สรุป	160
ข้อเสนอแนะ	164
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	167
ภาคผนวก	197
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	234

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 วงศ์ย่อยและสกุลของรึ้นน้ำจืดที่พบในเขตร้อนของทวีปเอเชีย	10
2 ชนิดของรึ้นน้ำจืดในวงศ์ Chironomidae ที่รายงานว่าพบในประเทศไทย	12
3 วงศ์ย่อยที่สำคัญของหนอนแดงและถิ่นที่อยู่อาศัยที่พบ	15
4 การปรับตัวของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ เพื่อให้ทนทานต่อความแห้งแล้ง	16
5 ระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการของแต่ละระยะของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ	23
6 ชนิดของอาหารที่ให้แก่ลูกปลาหมอวัยอ่อนในช่วงอายุ 4-36 วัน	40
7 เครื่องมือและวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำ	44
8 ชนิดและปริมาณของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยาในแต่ละเดือนที่สำรวจ ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	72
9 ความหลากหลายชนิด ความชุกชุม ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของแซนนอน-วีเนอร์ (H') และค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพิลิว (J') ของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	74
10 ค่าเฉลี่ยของสภาวะอากาศของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	77
11 ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเดือนที่สำรวจ ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552 (ค่าเฉลี่ย+ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	82
12 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r) ระหว่างปัจจัยต่างๆ ของสภาพแวดล้อมกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	87

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
13 จำนวนไข่ต่อฝักไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก ระยะเวลาฟัก ระยะเวลาที่ใช้พัฒนาของตัวหนอนแต่ละระยะ และระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ได้ของตัวเต็มวัยของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ที่รวบรวมจากบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง ที่อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส	90
14 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่มีสัดส่วนเพศต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	93
15 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่มีสีของแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	96
16 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่ระดับความเข้มของแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	99
17 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่ช่วงแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	102
18 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ในน้ำที่มีระดับอาหารธรรมชาติต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	105
19 ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในภาชนะวางไข่ที่มีระดับของอาหารธรรมชาติต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	108
20 ลำดับพัฒนาการของไข่รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่เวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส	112

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
21	อัตราการรอด อัตราส่วนเพศ ความยาวปีก จำนวนไข่ต่อฝักไข่ และเวลาที่ใช้ในพัฒนาการของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	118
22	ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉลี่ยในการเลี้ยงหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน เป็นระยะเวลา 14 วัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	122
23	อัตราการฟักของไข่รี้น้ำจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง 2 วิธี (แช่ในไนโตรเจนเหลวและแช่แข็งธรรมดา) โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	124
24	อัตราการฟักของไข่รี้น้ำจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	128
25	อัตราการรอดของไข่รี้น้ำจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	130
26	ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก	132
27	ปริมาณองค์ประกอบของกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก	133
28	ปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก	134
29	ความยาว น้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลด้วยอาหาร 2 ชนิด ที่ระยะเวลาต่างๆ (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	136

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
30	ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกปลาหมอชัยอ่อนด้วยการให้อาหารในการอนุบาล 2 ชนิด เป็นระยะเวลา 24 วัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)	139
ตารางผนวกที่		
1	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศของสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	198
2	ความยาวฟักไข่และความคืบหน้าของไข่รี้น้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากภาคสนาม	212
3	ความยาวฟักไข่และความคืบหน้าของไข่รี้น้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากการเพาะพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ	218
4	คุณสมบัติจากลักษณะภายนอกของรี้น้ำจืดเพศผู้	219
5	ส่วนผสมของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการเก็บรักษาไข่รี้น้ำจืดและตัวอ่อน หนอนแดงระยะแรกฟัก (หน่วย: กรัมต่อลิตร)	226
6	การเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์ และไรแดง	227
7	การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบของกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์ และไรแดง	228
8	การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์ และไรแดง	229
9	ต้นทุนคงที่ในการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต	230
10	ต้นทุนผันแปรในการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต	231
11	ตารางคำนวณค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต	232
12	ข้อมูลการผลิตที่ใช้ในการหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต	233

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	6
2	47
3	47
4	48
5	48
6	55
7	55
8	56
9	56
10	57
11	57
12	58

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศผู้ขณะทดลองผสมพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง	58
14	ลักษณะการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในน้ำที่มีระดับของอาหารธรรมชาติต่างกัน	59
15	การใช้ถังพลาสติกขนาด 30 ลิตร เพื่อเลี้ยงระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ก่อนนำไปเพาะพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง	59
16	หนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ได้ภายหลังการเลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์	61
17	การใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงในการทดลองเลี้ยงหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์	61
18	ถังไนโตรเจนเหลวที่ใช้ในการแช่แข็งไข่รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i>	65
19	การจัดเรียงหลอดพลาสติกที่ใช้บรรจุไข่รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ก่อนลงแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลว	65
20	การเตรียมในการเก็บรักษาไข่ของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ด้วยวิธีการแช่เย็น	66
21	การเก็บรักษาไข่ของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ด้วยวิธีการแช่เย็น	66
22	ตู้ทดลองที่ใช้ในศึกษาการใช้ตัวอ่อนระยะแรกฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> การอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน	70
23	การชั่งน้ำหนักของลูกปลาหมอภายหลังเสร็จสิ้นในการทดลองใช้ตัวอ่อนระยะแรกฟักของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน	70
24	ความหลากหลายของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	73

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	ความชุกชุมของรินน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	73
26	แผนภาพการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของรินน้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด	75
27	ปริมาณน้ำฝนรายเดือนของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	78
28	ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	78
29	อุณหภูมิอากาศเฉลี่ยของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	79
30	อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยของบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	83
31	ความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	83
32	ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	84
33	ความโปร่งแสงเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	84
34	ความกระด้างเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	85

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
35	ความเป็นต่างเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	85
36	แอมโมเนียรวมเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	86
37	รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> Yamamoto (1990)	91
38	ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของ รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้อง ปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	94
39	ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของ รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้อง ปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	94
40	ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่ รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้ สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	95
41	ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	97
42	ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	97
43	ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รึ้นน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะ ห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	98

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
44	ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	100
45	ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	100
46	ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	101
47	ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	103
48	ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	103
49	ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	104
50	ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	106
51	ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)	106

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
52	ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)	107
53	ลำดับพัฒนาการของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่เวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส	113
54	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่ (เซนติเมตร) และจำนวนไข่ (ฟอง) ของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากธรรมชาติ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	116
55	ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่ (เซนติเมตร) และจำนวนไข่ (ฟอง) ของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่รวบรวมจากการเพาะพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ จังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552	116
56	ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่ออัตราการอดเฉลี่ยของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ	119
57	ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่ออัตราส่วนเพศเฉลี่ยของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยจากหนอนแดงที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ	119
58	ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อความยาวปีกเฉลี่ยของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ	120
59	ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ยของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยจากหนอนแดงที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ	120
60	ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในพัฒนาการของรีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> เพศเมียที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยจากหนอนแดงที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ	121

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
61 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งไนโตรเจนเหลว โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน	126
62 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งธรรมดา โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน	126
63 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด <i>Chironomus fuscipes</i> ที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน	129
64 อัตราการฟักเฉลี่ยของหนอนแดง <i>Chironomus fuscipes</i> ระยะแรกฟักที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน	131
65 ผลของการให้อาหาร 2 วิธี ต่อความยาวเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน	137
66 ผลของการให้อาหาร 2 วิธี ต่อน้ำหนักเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน	137
67 ผลของการให้อาหาร 2 วิธี ต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน	138
68 ผลของการให้อาหาร 2 วิธี ต่ออัตราการรอดเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน	138
69 รูปแบบวงจรการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟัก	163

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ANOVA	=	Analysis of Variance
df	=	degree of freedom
F	=	F-statistic
H	=	Kruskal-Wallis non parametric test
H'	=	Shannon-Wiener's diversity index
J'	=	Pielou's evenness index
ns	=	non significant
P	=	probability
r	=	Pearson's or Spearman's correlation coefficient index
SD	=	standard deviation
SE	=	standard error
λ^2	=	Chi-square test

การพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการ เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Developing some Techniques for Using Chironomid Larvulae (Diptera: Chironomidae) in Aquaculture

คำนำ

หนอนแดงเป็นระยะตัวหนอนของริ้นน้ำจืดซึ่งเป็นกลุ่มของแมลงที่พบได้ทั่วไปในระบบนิเวศน้ำจืดและน้ำกร่อย กระจายอยู่ทั่วโลกตั้งแต่ขั้วโลกไปจนถึงทะเลทราย หนอนแดงในแหล่งน้ำธรรมชาติมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศในแง่การเป็นอาหารที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ในน้ำ ช่วยหมุนเวียนแร่ธาตุที่สะสมอยู่ตามพื้นท้องน้ำให้กลับเข้าสู่ระบบนิเวศอีกครั้ง (Armitage, 1995) นอกจากนี้หนอนแดงยังเป็นแหล่งอาหารมีชีวิตที่สำคัญของปลาและสัตว์น้ำอื่นๆ ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ (Habib *et al.*, 1992; Yusoff *et al.*, 1996) รวมถึงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสวยงาม หนอนแดงจัดเป็นอาหารมีชีวิตที่เป็นแหล่งของโปรตีน (De la Noue and Choubert, 1985) ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ (McLarney *et al.*, 1974) ความต้องการใช้หนอนแดงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสูงขึ้นเรื่อยๆ ในขณะที่ผลผลิตหนอนแดงส่วนใหญ่ได้จากการรวบรวมจากแหล่งน้ำธรรมชาติ ซึ่งมักประสบปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพของผลผลิต เช่น มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก เป็นพาหะของโรคและปรสิต เป็นต้น นักวิจัยได้พยายามศึกษาการเพาะเลี้ยงหนอนแดงโดยใช้อินทรีย์วัตถุต่างๆ เช่น มูลสัตว์ อาหารปลา เป็นต้น ทั้งในห้องปฏิบัติการ (MacLachlan, 1977) และในภาคสนาม (McLarney *et al.*, 1974; Shaw and Mark, 1980; Habib *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามปัญหาสำคัญในการผลิตหนอนแดงก็ยังไม่สามารถผลิตแบบมวลรวม (Mass culture) ได้ เนื่องจากไม่สามารถควบคุมการวางไข่ของริ้นน้ำจืด ซึ่งมีความผันแปรทั้งในด้านชนิดและปริมาณของพ่อแม่พันธุ์ริ้นน้ำจืดในธรรมชาติ (นิทัศน์ และ ศุภมงคล, 2548) การเก็บรวบรวมไข่ริ้นน้ำจืดจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาเติมในระบบการเลี้ยงสามารถเพิ่มผลผลิตหนอนแดงได้มากขึ้น (Konstantinov, 1952, 1954) อย่างไรก็ตามความแปรปรวนจากสภาวะแวดล้อม มีผลต่อปริมาณไข่ริ้นน้ำจืดที่รวบรวมได้เป็นอย่างมาก ดังนั้นการเพาะเลี้ยงริ้นน้ำจืดในสภาวะกักขัง จึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะสามารถรวบรวมไข่ริ้นน้ำจืดเพื่อเพิ่มผลผลิตหนอนแดงได้ ไข่ริ้นน้ำจืดฟักออกเป็นตัวในระยะเวลาแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดและอุณหภูมิ (Armitage *et al.*, 1995) ภายหลังการฟักออกเป็นตัว หนอนแดงระยะแรกฟักว่ายน้ำเป็นอิสระ (Cranston, 2004) นอกจากหนอนแดงระยะแรกฟักสามารถนำไปเลี้ยงต่อเพื่อเป็นหนอนแดง

ขนาดใหญ่ คุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ขนาดลำตัว ลักษณะการว่ายน้ำอย่างต่อเนื่อง และการกระจายตัวในมวลน้ำ ทำให้หนอนแดงระยะแรกฟักอาจถูกใช้เป็นอาหารมีชีวิตในการอนุบาลลูกปลาว่ายอ่อนได้

การอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนในโรงเพาะฟักต้องอาศัยทักษะและเทคนิคเฉพาะในการผลิต นอกจากนี้อาหารมีชีวิตยังมีความสำคัญต่อการอนุบาลเป็นอย่างมาก เนื่องจากสัตว์น้ำวัยอ่อนมีขนาดเล็กมาก บอบบาง และอวัยวะต่างๆ ยังพัฒนาไม่เต็มที่ โดยเฉพาะอวัยวะรับสัมผัสและอวัยวะย่อยอาหาร ทำให้เป็นปัจจัยจำกัดชนิดของอาหารที่นำมาใช้ อาหารมีชีวิตมีข้อดีเหนือกว่าอาหารสังเคราะห์ ในแง่ที่กระตุ้นการกินของสัตว์น้ำวัยอ่อนจากการเคลื่อนไหวอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการกระจายของอาหารในมวลน้ำ ปัจจุบันอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน มีทั้งแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น ไดอะตอม โคพพอด ไรแดง โรติเฟอร์ ตัวอ่อนของปูและหอย เป็นต้น ในขณะที่อาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำจืดวัยอ่อนนั้น มีจำนวนชนิดน้อยกว่าอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการอนุบาลสัตว์ทะเลวัยอ่อนมาก ในขณะที่มีปลาน้ำจืดวัยอ่อนบางชนิด เช่น ปลานุทราศ (Tavarutmaneeagul and Lin, 1988) ปลาหมอ (Doolgindachbaporn, 1994) เป็นต้น ต้องการอาหารมีชีวิตที่มีขนาดเล็ก ซึ่งปัจจุบันนี้มีอาหารมีชีวิตเพียงชนิดเดียวที่นำมาใช้ได้คือโรติเฟอร์ ซึ่ง Dhert *et al.* (2001) รายงานว่าการผลิตโรติเฟอร์เพื่อใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำมักประสบปัญหาดังกันหลายประการเช่น ความไม่แน่นอนของผลผลิต ความลำบากในการจัดการและการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนของปรสิตและเชื้อโรคที่เกิดจากการผลิตอย่างต่อเนื่อง เป็นต้น ดังนั้นหากมีอาหารมีชีวิตชนิดอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับโรติเฟอร์ ก็จะเป็นอาหารมีชีวิตทางเลือกอีกชนิดหนึ่งเพื่อใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำจืดต่อไป

การศึกษาเทคนิคการผลิตและการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มีจุดมุ่งหมายในการพัฒนาเทคนิคการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟัก เพื่อนำไปใช้ในการเลี้ยงหนอนแดงระยะสุดท้าย รวมถึงศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากหนอนแดงระยะแรกฟักในรูปแบบอื่นได้แก่ การนำไปใช้เป็นอาหารมีชีวิตทางเลือกสำหรับลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อนที่มีปากขนาดเล็ก โดยเริ่มตั้งแต่การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในธรรมชาติ การคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดที่เหมาะสม การศึกษาชีววิทยาและปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเพาะพันธุ์ การเก็บรักษาไข่และหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยความเย็น การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟักและการใช้ในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำ
2. ศึกษาการคัดเลือกชนิดและชีววิทยาการเพาะพันธุ์ของรึ้นน้ำจืดชนิดที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ
3. ศึกษาผลของความหนาแน่นต่ออัตราการรอดและคุณลักษณะต่างๆ ของตัวเต็มวัยในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์
4. ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการและสารรักษาสภาพเซลล์ชนิดต่างๆ ในการเก็บรักษาไข่ รึ้นน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยความเย็น
5. ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอชัยอ่อน

การตรวจเอกสาร

รึ้นน้ำจืด

1. อนุกรมวิธาน

รึ้นน้ำจืดมีชื่อสามัญว่า chironomid หรือ midge หรือ non-biting midge เป็นแมลงที่จัดอยู่ในอนุกรมวิธานตามการจำแนกของ Williams and Feltmate (1992) ดังนี้

Superphylum Arthropoda

Phylum Entoma

Subphylum Uniramia

Superclass Hexapoda

Class Insecta

Order Diptera

Suborder Nematocera

Family Chironomidae

รึ้นน้ำจืดเริ่มปรากฏหลักฐานจากซากดึกดำบรรพ์เก่าแก่ที่สุด แสดงว่าเริ่มมีในยุค Lower Jurassic (Ansorge, 1999) ปัจจุบันรึ้นน้ำจืดในวงศ์ (Family) Chironomidae ได้ถูกจำแนกออกเป็น 11 วงศ์ย่อย (Subfamily) ดังนี้ Aphroteniinae, Buchonomyiinae, Chilenomyiinae, Chironominae, Diamesinae, Orthoclaadiinae, Podonominae, Prodiamesinae, Tanypodinae, Telmatogetoninae และ Usabaromyiinae (Spies and Reiss, 1996) ซึ่ง Cranston (2004) กล่าวว่าในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบรึ้นน้ำจืดเพียง 4 วงศ์ย่อยเท่านั้น ได้แก่ Tanypodinae, Orthoclaadiinae, Chironominae และ Diamesinae

2. ชีวประวัติและวงจรชีวิต

รีนน้ำจืดมีวงจรชีวิตที่ประกอบด้วย 4 ระยะ คือ ไข่ หนอน ดักแด้ และ ตัวเต็มวัย โดยมีรายละเอียดของแต่ละระยะดังนี้

2.1 ไข่

รีนน้ำจืดเพศเมียวางไข่ภายหลังการผสมพันธุ์มีลักษณะเป็นฝักไข่ (egg mass) บนผิวหนัง ฝักไข่ประกอบด้วยเม็ดไข่ 20 ถึง 2,000 ฟอง ขึ้นอยู่กับชนิด ปกติคลุมด้วยวุ้นใส ลักษณะของฝักไข่มีหลายแบบ เช่น ยาวเป็นแถบ ขดเป็นเกลียวทรงกระบอก หรือกลมคล้ายหยดน้ำ การจัดเรียงเม็ดไข่ภายในฝักไข่อาจเป็นแบบสุ่ม มีระเบียบตามยาว หรือขดเป็นเกลียว (Armitage *et al.*, 1995) ไข่รีนน้ำจืดมีขนาดความยาวเฉลี่ย 0.3 มิลลิเมตร ความกว้างเฉลี่ย 0.1 มิลลิเมตร (ภาณุ และคณะ, 2527)

2.2 ตัวหนอน

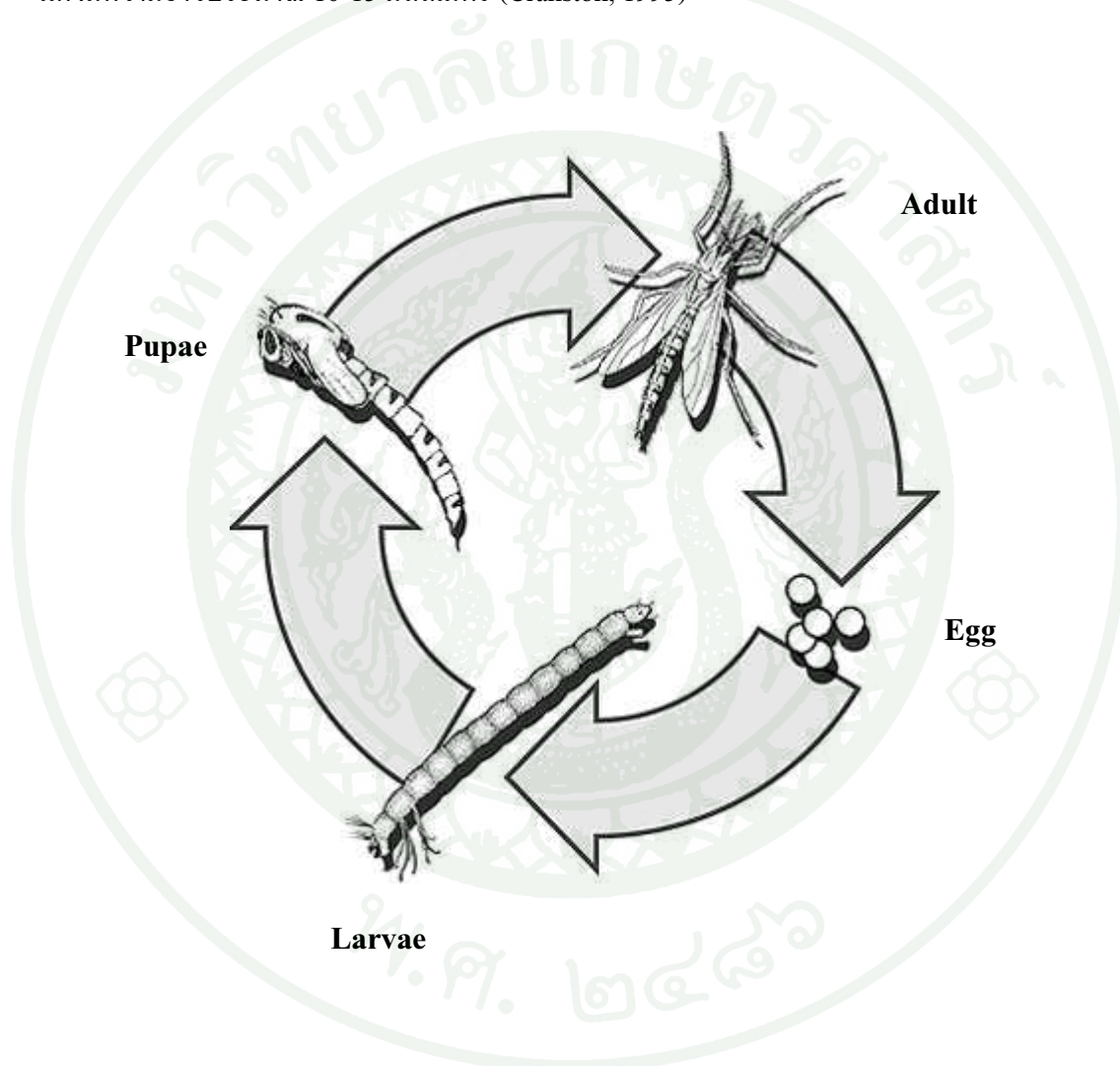
2.2.1 ระยะแรกฟัก

ระยะตัวหนอนของรีนน้ำจืดนิยมเรียกว่าหนอนแดง เนื่องจากบางสกุลเช่น *Chironomus* และ *Polypedilum* ในเม็ดเลือดแดงมีฮีโมโกลบินเป็นองค์ประกอบ หนอนแดงระยะแรกฟักหรือวัยแรกภายหลังจากฟักออกจากไข่มีลักษณะคล้ายแพลงก์ตอน ลำตัวใส มีลักษณะแบน ว่ายน้ำโดยการสับตัว มีการเคลื่อนไหวเกือบตลอดเวลา ทำให้ถูกพัดพาไปตามกระแสน้ำ หนอนแดงระยะแรกฟัก (larvulae) มีขนาดความยาวไม่เกิน 1 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับชนิด หนอนแดงในระยะดังกล่าวนี้สำรวจพบได้น้อย และยากต่อการจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Armitage *et al.*, 1995)

2.2.2 ระยะสุดท้าย

หนอนแดงระยะสุดท้าย (lately instar larvae) สามารถแบ่งออกเป็น 3 วัยย่อย คือ วัยสอง วัยสาม และวัยสี่ แต่ละวัยมีการลอกคราบ 1 ครั้ง หนอนแดงระยะสุดท้ายอาศัยอยู่บริเวณพื้นท้องน้ำ ลำตัวมีสีเข้มขึ้นอยู่กับวัย กระโหลกศีรษะ (head capsule) พัฒนาคืบ ขากรรไกร (mandible) มีลักษณะเฉียงติดกับแผ่นตั้ง (horizontal plane) ไม่มีรูหายใจ (spiracle) มีขาเทียม

(proleg) 1 คู่ ตั้งอยู่ที่อกปล้องแรก หนอนแดงส่วนใหญ่มีขนาดที่พัฒนาดี ประกอบขึ้นจากปล้องจำนวนมาก ตั้งอยู่ที่แก้มส่วนบน (upper gena) ส่วนหัวประกอบด้วยโครงสร้างภายในที่เกี่ยวกับการกินอาหาร ที่สังเกตเห็นได้ชัดเจนที่สุดคือ premento-hypopharynx complex ซึ่งอยู่บนคาง (mentum) ส่วนหน้า แต่ก็พบได้บ่อยๆ ว่าปกคลุม mentum ส่วนหลังบางส่วนหรือเกือบทั้งหมด ลำตัวส่วนมากมีปล้องออกที่กว้างจำนวน 3 ปล้อง และปล้องท้องที่แคบจำนวน 9 ปล้อง เมื่อสิ้นสุดระยะวัยสีหนอนแดงมีความยาวประมาณ 10-15 มิลลิเมตร (Cranston, 1995)



ภาพที่ 1 วงจรชีวิตของริ้นน้ำจืด

ที่มา: Houseman (2005)

2.3 ดักแด้

ระยะดักแด้ของริ้นน้ำจืดมีลักษณะคล้ายๆ ประกอบด้วยส่วนของหัวเชื่อมกับส่วนอก (cephalothorax) และท้อง โดยส่วนของหัวเชื่อมกับส่วนอกประกอบด้วย thoracic horn ซึ่งเป็นอวัยวะช่วยหายใจที่บริเวณอก ส่วนท้องประกอบด้วยปล้องท้อง 9 ปล้อง และด้านล่างของลำตัวที่ตั้งปลายปล้องท้องปล้องสุดท้าย (anal lobe) ในตัวเต็มวัย ระยะดักแด้เริ่มด้วยการลอกคราบ โดยการแยกออกจากโครงร่างตัวหนอนที่ห่อหุ้มอยู่ด้านล่าง หลังจากลอกคราบแล้วดักแด้ยังคงอยู่ในปลอกหุ้มตัว รอจนกระทั่งว่ายน้ำออกไปที่ผิวน้ำเพื่อลอกคราบขึ้นจากน้ำ (emergence) กลายเป็นตัวเต็มวัย (Armitage *et al.*, 1995)

2.4 ตัวเต็มวัย

ระยะตัวเต็มวัยของริ้นน้ำจืดมีลักษณะคล้ายๆ กัน ประกอบด้วย ส่วนหัวที่มีลักษณะกลมและส่วนปากที่ค่อนข้างสั้น มีหนวดที่แสดงออกถึงลักษณะของแต่ละเพศได้ชัดเจนคือ เพศผู้มีหนวดแบบพู่ขนนก (plumose) ที่มีฐานหนวด (scape) แคบ มีข้อต่อหนวด (pedicel) กลม และมีเส้นหนวด (flagellum) จำนวน 11-14 ปล้อง ในขณะที่เพศเมียมีข้อต่อหนวดขนาดเล็กกว่า ไม่มีหนวดแบบพู่ขนนกหรือมีแต่น้อยกว่ามาก ตาของริ้นน้ำจืดเป็นแบบตารวม (compound eyes) มีลักษณะกลมรูปไต (kidney-shaped) ปากประกอบด้วยอวัยวะสำคัญ 4 ส่วนคือ ริมฝีปาก (labrum) กราม (mandibles) ฟัน (maxillae) และริมฝีปากล่าง (labium) ออกของริ้นน้ำจืดเชื่อมติดอยู่กับปีก 1 คู่ และเป็นที่ตั้งของขาจำนวน 3 คู่ อยู่บนแต่ละปล้องของส่วนอกคือ ขาคู่หน้า (forelegs) ขาคู่กลาง (midlegs) และขาคู่หลัง (hindlegs) ส่วนท้องของริ้นน้ำจืดปล้องที่ 8 เป็นที่ตั้งของอวัยวะเพศสืบพันธุ์ (genitalia) ทั้งเพศผู้และเพศเมีย (Armitage *et al.*, 1995)

3. การแพร่กระจาย

3.1 ชนิดของริ้นน้ำจืดที่พบในโลก

นักกีฏวิทยาประมาณการว่าริ้นน้ำจืดในวงศ์ Chironomidae มีอยู่ราว 8,000 ถึง 20,000 ชนิด (Coffman, 1995) และมีการจำแนกและตั้งชื่อแล้วมากกว่า 5,000 ชนิด ปัจจุบันยังคงมีรายงานการพบริ้นน้ำจืดชนิดใหม่ๆ ในระบบนิเวศน์ต่างๆ เพิ่มขึ้นทุกปี (Sasa and Tanaka, 1999; Susana and Sonoda, 2006) ในขณะที่ Oosterbroek (1998) กล่าวว่าในคาบสมุทรมาลาญพบริ้นน้ำจืดที่ตั้งชื่อ

แล้วประมาณ 30 สกุล และมากกว่า 400 ชนิด ส่วน Dudgeon (1999) ได้รวบรวมวงศ์ย่อยและสกุลของรีนน้ำจืดที่พบในเขตร้อนของทวีปเอเชียดังตารางที่ 1

3.2 ชนิดของรีนน้ำจืดที่พบในประเทศไทย

รายงานการพบชนิดของรีนน้ำจืดในประเทศไทยนั้น เริ่มตั้งแต่ Hashimoto *et al.* (1981) ได้ศึกษาชนิดของรีนน้ำจืดที่พบในนาข้าวในภาคต่างๆ ของประเทศไทย และได้รายงานชนิดของรีนน้ำจืดที่พบในประเทศไทย โดยพบชนิดของรีนน้ำจืดที่ตั้งชื่อแล้วจำนวน 24 ชนิด และเป็นชนิดใหม่อีก 7 ชนิด ต่อมา Leardburoos (2001) ได้ศึกษาชนิดสัตว์พื้นท้องน้ำในอ่างเก็บน้ำจังหวัดกาญจนบุรี รายงานว่าพบหนอนแดงจำนวน 2 ชนิด และภายหลังจากเกิดเหตุการณ์คลื่นยักษ์ซึนามิ (tsunami) บริเวณชายฝั่งอันดามันของประเทศไทย Cranston (2007) ได้เข้ามาศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดของรีนน้ำจืด พบรีนน้ำจืดที่ตั้งชื่อแล้วรวม 29 ชนิด ใน 15 สกุล และ 3 วงศ์ย่อย (ตารางที่ 2)

4. ชีววิทยา

4.1 ถิ่นที่อยู่อาศัย

รีนน้ำจืดจัดเป็นกลุ่มของแมลงที่มีการแพร่กระจายกว้างขวาง และพบมากที่สุดในระบบนิเวศน์น้ำจืด คิดเป็นประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแมลงน้ำทั้งหมด (Cure, 1985; Cranston, 1995) รีนน้ำจืดมีความหลากหลายของชนิดและมีความสำคัญต่อระบบนิเวศน์มาก นอกจากนี้รีนน้ำจืดบางชนิดในระยะตัวหนอน (หนอนแดง) สามารถทนอยู่ในน้ำที่มีออกซิเจนต่ำ รวมถึงมีช่วงการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำที่กว้างมาก เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเค็ม ปริมาณสารอินทรีย์ เป็นต้น เนื่องจากเมื่อดูดแดงของหนอนแดงมีฮีโมโกลบินเป็นองค์ประกอบ ทำให้สามารถจับออกซิเจนจากน้ำที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำในแหล่งน้ำที่มีมลภาวะสูงได้ ดังนั้นชนิดของหนอนแดงจึงมีความสัมพันธ์กับสถานะของแหล่งน้ำมาก และการกระจายของหนอนแดงในแหล่งน้ำต่างๆ จึงถูกใช้เป็นดัชนีวัดคุณภาพน้ำมาเป็นเวลานาน (Ashe *et al.*, 1987) หนอนแดงที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำจืดและน้ำกร่อย สามารถอาศัยอยู่ในพื้นที่ท้องน้ำหลายแบบทั้งแหล่งน้ำนิ่งและแหล่งน้ำไหล ซึ่ง Walshe (1948) รายงานว่าหนอนแดงชนิดที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำไหล มีความต้องการออกซิเจนมากกว่าและทนทานต่อการขาดออกซิเจนน้อยกว่าหนอนแดงชนิดที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำนิ่ง รวมทั้งทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้น้อยกว่า สำหรับในบริเวณชายฝั่งริมแม่น้ำที่มีพันธุ์ไม้น้ำขึ้นอย่างหนาแน่น มีรายงานว่าเป็นที่อยู่ของแมลงน้ำ

โดยเฉพาะหนอนแดง ซึ่งพบทั้งที่พันธุ์ไม้น้ำและในตะกอนดินได้พันธุ์ไม้น้ำดังกล่าว โดยพบปริมาณมากกว่าในบริเวณที่ลึกของแม่น้ำถึง 16 เท่า (Menzie, 1980) นอกจากนี้ Cranston (2004) กล่าวว่าในบรรดางศ์ย่อยทั้งหมดของวงศ์ Chironomidae รึ้นน้ำจืดในวงศ์ย่อย Tanypodinae, Orthoclaadiinae และ Chironominae สามารถพบได้ทุกหนทุกแห่งและมีการแพร่กระจายไปทั่วโลก ซึ่งระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืดในวงศ์ย่อย Tanypodinae และ Chironominae สามารถทนต่อการเพิ่มอุณหภูมิและการลดลงของออกซิเจนได้ดี ทำให้พบแพร่กระจายและชุกชุมมากในแหล่งน้ำเขตร้อน ในขณะที่วงศ์ย่อย Orthoclaadiinae ซึ่งมีสมาชิกอยู่เป็นจำนวนมาก ส่วนใหญ่พบมากที่สุดในแหล่งน้ำไหลที่มีออกซิเจนสูง ขณะที่ Williams and Feltnate (1992) ได้รวบรวมวงศ์ย่อยที่สำคัญของหนอนแดงกับถิ่นที่อยู่ที่พบดังตารางที่ 3 นอกจากนี้หนอนแดงบางชนิดยังสามารถปรับตัวโดยใช้วิธีการต่างๆ เพื่อให้ทนต่อสภาวะความแห้งแล้งและการเปลี่ยนแปลงทางสภาวะแวดล้อมที่รุนแรงได้ดังตัวอย่างในตารางที่ 4

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรหนอนแดงในเขื่อนป้องกันน้ำท่วมของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา พบหนอนแดงจำนวน 7 ชนิด หนอนแดงชนิดที่พบมากที่สุดได้แก่ *Cricotopus* spp., *Dicrotendipes* sp. และ *Chironomus* spp. ส่วนหนอนแดงอีก 4 ชนิด มีปริมาณไม่เกิน 7 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด หนอนแดง *Cricotopus* spp. พบทุกเดือนในรอบปีคิดเป็นปริมาณมากกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ ของตัวอย่างทั้งหมด และคิดเป็น 65-99 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณที่พบในแต่ละเดือน เช่นเดียวกับหนอนแดง *Dicrotendipes* sp. ที่พบได้ตลอดทั้งปี แต่ปริมาณประชากรที่พบในแต่ละเดือนอยู่ในช่วงน้อยกว่า 1-34 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณตัวอย่างทั้งหมด สำหรับหนอนแดง *Chironomus* spp. พบเฉพาะในช่วงเดือนกรกฎาคม-พฤศจิกายน แต่ปริมาณที่พบคิดเป็น 28 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณทั้งหมด และพบหนอนแดงมีปริมาณเพิ่มขึ้นในฤดูใบไม้ผลิและฤดูแล้ง ซึ่งน้ำมีอุณหภูมิสูงขึ้น แต่ขณะที่มีฝนตกในพื้นที่ 2-3 มิลลิเมตร ทำให้ประชากรหนอนแดงลดลงอย่างมาก แต่ภายใน 2-4 สัปดาห์ หลังจากฝนตกประชากรของหนอนแดงกลับเพิ่มขึ้นอีก (Ali *et al.*, 1977)

ตารางที่ 1 วงศ์ย่อยและสกุลของรึ้นน้ำจืดที่พบในเขตร้อนของทวีปเอเชีย

วงศ์ย่อย	สกุล		
Tanypodinae	Ablabesmyia	Clinotanypus	Conchapelopia
	Djalmabatista	Fittkauimyia	Krenopelopia
	Labrundinia	Larsia	Macropelopia
	Monopelopia	Nilotanypus	Paramerina
	Procladius	Rheopelopia	Tanypus
	Telmatopelopia	Thienemannimyia	Zavreliomyia
Buchonomyiinae	Buchonomyia		
Podonominae	Boreochlus	Neopodonomus	
Diamesinae	Boreoheptagyia	Diamesa	Potthastia
	Protanypus	Pseudodiamesa	Sympotthastia
Prodiamesinae	Monodiamesa	Odontomesa	
Orthoclaadiinae	Acricotopus	Allotrissocladius	Antillocladius
	Asclerina	Brilla	Bryphaenocladius
	Cardiocladius	Chaetocladius	Corynoneura
	Cricotopus	Epoicocladius	Eukiefferiella
	Eusmittia	Heleniella	Heterotrissocladius
	Krenosmittia	Limnophyes	Metriconemus
	Nanocladius	Orthocladius	Paracricotopus
	Parakiefferiella	Paratrichocladius	Psectrocladius
	Pseudosmittia	Rheocricotopus	Semiocladius
	Smittia	Thalassosmittia	Thienemanniella
	Tvetenia	Xylotopus	
Chironominae	Asachironomus	Baeotendipes	Chernovskii
	Chironomus	Cladopelma	Cladotanytarsus
	Cryptochironomus	Cryptotendipes	Demicryptochironomus
	Dicrotendipes	Einfeldia	Endochironomus

ตารางที่ 1 (ต่อ)

วงศ์ย่อย	สกุล		
	Glyptotendipes	Harnischia	Kiefferulus
	Kloosia	Kribiocosmus	Lauterborniella
	Microchironomus	Micropsectra	Microtendipes
	Neozavrelia	Nilodorum	Parachironomus
	Paracladopelma	Paratanytarsus	Paratendipes
	Polypedilum	Pontomyia	Pseudobrilla
	Rheotanytarsus	Robackia	Shangomyia
	Stempellina	Stempellinella	Stenochironomus
	Stictochironomus	Sublettea	Sumatendipes
	Tanytarsus	Tobachironomus	Tokyobrilla
	Trichotendipes	Virgatanytarsus	Xenochironomus
	Xiaomyia	Zavrelia	Zavreliella
	Zhouomyia		

ที่มา: Dudgeon (1999)

ตารางที่ 2 ชนิดของรึ้นน้ำจืดในวงศ์ Chironomidae ที่รายงานว่าพบในประเทศไทย

ชนิด	แหล่งที่พบ	แหล่งอ้างอิง
วงศ์ย่อย Othocladinae		
<i>Parakiefferiella</i> sp. Kieffer	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
วงศ์ย่อย Tanypodinae		
<i>Ablabesmyia hilli</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>A. moniliformis</i> Fittkau (1962)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>A. notabilis</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Clinotanypus crux</i> (Wiedemann)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>C. obscuripes</i> (de Meijere)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>C. pictidorsum</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Fittkauimyia disparipes</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Larsia albiceps</i> (Johannsen, 1931)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Monopelopia divergens</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Paramerina aucta</i> (Johannsen)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>P. dolosa</i> (Johannsen)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>P. ignobilis</i> (Johannsen)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Tanypus punctipennis</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
วงศ์ย่อย Orthocladinae		
<i>Parakiefferiella</i> sp.	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
วงศ์ย่อย Chironominae		
<i>Chironomus circumdatus</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. crassiforceps</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. dissidens</i> Walker	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. fuscipes</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>C. glauciventris</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. javanus</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>C. nodulosus</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิด	แหล่งที่พบ	แหล่งอ้างอิง
<i>C. tainanus</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. thailandicus</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>C. thummi</i>	อ่างเก็บน้ำ	Leardburoos (2001)
<i>Chironomus</i> sp.	อ่างเก็บน้ำ	Leardburoos (2001)
<i>Cryptochironomus fulvus</i> (Johannsen)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>Dicrotendipes flexus</i> (Johannsen)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>D. formosanus</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>D. pelochloris</i> (Kieffer)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>D. niveicauda</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>D. sarinae</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>D. septemmaculatus</i> (Becker)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Harnischia curtilamella</i> (Malloch)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>H. incidata</i> Townes	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>H. viridula</i> (Linnaeus)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>Kiefferulus barbatitarsis</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>K. calligaster</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>K. longilobus</i> (Kieffer)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Kiefferulus</i> spp.	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Lauterborniella varipennis</i> Coquillett	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>Parachironomus apicalis</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. calopunctus</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. nakhonphanomensis</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. tener</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. tobaquartus</i> Kikuchi & Sasa (1990)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>P. trisetifer</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. truncates</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)

ตารางที่ 2 (ต่อ)

ชนิด	แหล่งที่พบ	แหล่งอ้างอิง
<i>Polypedilum nubifer</i> (Skuse)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>P. vectus</i> (Johannsen)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. suturalis</i> Johannsen	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. yapensis</i> Tokunaga	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>P. 'Thai sp. 1'</i>	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>Rheotanytarsus thailandensis</i> sp.n.	แม่น้ำ	Moubayed (1990)
<i>Tanytarsus atridorsum</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>T. formosanus</i> Kieffer	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)
<i>T. ponapensis</i> Tokunaga	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>T. thaicus</i> sp.n.	แม่น้ำ	Moubayed (1990)
<i>Xenochironomus nigricaudus</i> Hashimoto	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>X. xenolabis</i> (Kieffer)	นาข้าว	Hashimoto <i>et al.</i> (1981)
<i>Zavreliella marmorata</i> (v.d.Wulp)	ที่ลุ่มชายทะเล	Cranston (2007)

ตารางที่ 3 วงศ์ย่อยที่สำคัญของหนอนแดงและถิ่นที่อยู่อาศัยที่พบ

วงศ์ย่อย	เผ่า	ถิ่นที่อยู่
Tanypodinae	Coelotanypodini	เขต littoral ของแหล่งน้ำและทะเลสาบ (น้ำนิ่ง)
	Macropelopiini	แม่น้ำ ลำธาร (น้ำไหล) เขต littoral และ profundal ของทะเลสาบ (น้ำนิ่ง)
	Natarsiini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็ว
	Pentaneurini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็ว เขต lentic ของแหล่งน้ำ (น้ำนิ่ง)
	Tanypodini	เขต lentic ของแหล่งน้ำ (น้ำนิ่ง)
Podonominae	Boreochlini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็ว เขต lentic ของแหล่งน้ำในเขตหนาว (น้ำนิ่ง)
	Podonomini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็วในเขตหนาว
Telmatogetoninae		ที่ราบลุ่มชายทะเลที่มีน้ำขึ้นน้ำลง และปากแม่น้ำ
Buchonomiinae		ไม่ทราบแน่ชัด แต่พบบ่อยในประเทศแถบตะวันออกของทวีปเอเชีย และเขต Palearctic
Diamesinae	Boreoheptagyini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็วในเขตหนาว
	Diamesini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็วในเขตหนาว และบริเวณน้ำพุ
	Protanypini	เขต profundal ของทะเลสาบ
Prodiamesinae		แหล่งน้ำที่ไหลเร็ว พบบ่อยในตะกอน
Orthocladiinae	Clunioini	ทะเล ตามโขดหินชายหาด
	Corynoneurini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็วและไหลช้า เขต littoral ของแหล่งน้ำนิ่ง
	Metriocnemini	พบทั่วไปในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล รวมถึงบริเวณน้ำพุ มูลสัตว์ ที่ราบลุ่มชายทะเลที่มีน้ำขึ้นน้ำลง
	Orthocladiini	พบทั่วไปในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล รวมถึงชายทะเลที่มีน้ำขึ้นน้ำลง
Chironominae	Chironomini	เขต littoral และ profundal ของแหล่งน้ำนิ่ง โดยเฉพาะพื้นที่ตื้นที่เป็นทราย รวมถึงตามพืชน้ำ

ตารางที่ 3 (ต่อ)

วงศ์ย่อย	เผ่า	ถิ่นที่อยู่
Chilenomyiinae Aphroteniinae	Tanytarsini	แหล่งน้ำที่ไหลเร็วและไหลช้า เขต littoral ของ แหล่งน้ำนิ่ง โดยเฉพาะในเขตนํ้ากร่อย ไม่ทราบแน่ชัด พบเฉพาะในประเทศชิลี แหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหล ในแถบซีกโลกใต้ โดยเฉพาะบริเวณพื้นที่ที่น้ำที่เป็นทรายและปก คลุมด้วยตะกอนสารอินทรีย์ รวมถึงลำธารตามหุบ เขาที่กระแสน้ำแรง

ที่มา: Williams and Feltmate (1992)

ตารางที่ 4 การปรับตัวของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ เพื่อให้ทนทานต่อความแห้งแล้ง

ถิ่นที่อยู่	ชนิด	การตอบสนอง	ที่มา
แอ่งน้ำฝน	<i>Polypedilum vanderplanki</i>	cryptobiosis	Hinton (1960)
	<i>Paraborniola tonnoiri</i>	จำศีล สร้างรังหุ้มตัวมิดชิด	Jones (1975)
ดินที่แห้ง	<i>Smittia celtica</i>	จำศีล สร้างรังหุ้มตัวมิดชิด	Delettre (1988)
แอ่งน้ำฝน	<i>Chironomus imicola</i>	อพยพไปอยู่แหล่งน้ำอื่น	McLachlan (1983)
ดินที่แห้ง	<i>Smittia aterrima</i>	อพยพไปอยู่ที่อื่น	Frouz and Kindlmann (2001)
บ่อที่เพิ่งเติมน้ำ ใหม่	<i>Chironomus</i> spp.	อพยพภายในบ่อและ ระหว่างบ่อ	Matena (1990)
ดินที่แห้ง	<i>Fissimentum desiccatum</i>	จำกัดการสูญเสียน้ำ	Cranston and Nolte (1996)

4.2 อาหารและพฤติกรรมการกินอาหาร

หนอนแดงส่วนใหญ่กินแพลงก์ตอนพืช ไคอะตอม และตะกอนอินทรีย์วัตถุเป็นอาหาร มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่กินพืชน้ำและเนื้อไม้ หนอนแดงในวงศ์ย่อย Tanypodinae เป็นผู้ล่าโดยกินหนอนแดงชนิดอื่นๆ เป็นอาหาร ในขณะที่เมื่อหนอนแดงโตเต็มวัยกลายเป็นริ้นน้ำจืด ส่วนปากและระบบทางเดินอาหารจะลดรูป อย่างไรก็ตามริ้นน้ำจืดเกือบทุกชนิดกินคาร์โบไฮเดรตที่เป็นของเหลวหรือกึ่งของเหลว ในรูปของน้ำผึ้งและน้ำหวานจากเกสรดอกไม้ การที่ริ้นน้ำจืดบริโภคสารที่มีพลังงานสูงเหล่านี้ เพื่อพัฒนาระบบการสืบพันธุ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น (Coffman and Ferrington, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Burtt *et al.* (1986) ที่ศึกษาการกินอาหารของริ้นน้ำจืดโดยให้น้ำตาลซูโครสและน้ำตาลกลูโคสเป็นอาหาร พบว่าการที่ริ้นน้ำจืดเพศผู้ได้รับน้ำหวานจะไม่ทำให้ระยะที่มีชีวิตอยู่ได้ (longevity) ยาวนานขึ้น แต่สามารถเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการบินเพิ่มขึ้น 160 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับริ้นน้ำจืดที่ไม่ได้รับน้ำหวาน ในขณะที่ริ้นน้ำจืดเพศเมียกลับให้ผลที่ตรงข้ามกันคือไม่เพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการบิน แต่เพิ่มระยะเวลามีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์

แพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารที่สำคัญของหนอนแดงในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Prevost and Branch, 1959) ดังนั้นความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อจำนวนประชากรของหนอนแดง (Ali *et al.*, 2002) ซึ่ง Ali (1990) ได้ศึกษาชนิดอาหารของหนอนแดง *Chironomus crassicaudatus* ในทะเลสาบทางตอนกลางของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าส่วนใหญ่เป็นพืกร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae หรือ cyanobacteria) โดยพบชนิดของแพลงก์ตองดังกกล่าวในน้ำ 63-87 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด และพบในทางเดินอาหารของหนอนแดง 52-84 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณสารอินทรีย์ทั้งหมด ต่อมา Frouz *et al.* (2004) ได้ศึกษาความชอบในการกินอาหารของหนอนแดง *C. crassicaudatus* ต่อแพลงก์ตอนพืชจำนวน 5 ชนิด พบว่าชอบกินแพลงก์ตอนพืช *Lyngbia cf. aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae*, *Botryococcus braunii*, *Microcystis* sp. และ *Scenedesmus quadricauda* ตามลำดับ ในขณะที่สามารถย่อยแพลงก์ตอนพืช *A. flos-aquae* และ *L. cf. aeruginosa* ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ *Microcystis* sp. และ *S. quadricauda* แต่ไม่สามารถย่อย *B. braunii* ได้ นอกจากนี้ Hirabayashi and Wotton (1999) รายงานว่าหนอนแดงกินอนุภาคต่างๆ แล้วขับออกมาเป็นมูลอัดแน่นจำนวนมาก ซึ่งปริมาณของมูลที่ขับถ่ายออกมามีความสัมพันธ์กับความยาวลำตัว ต่อมาเมื่อมูลดังกล่าวสลายตัวเป็นอนุภาคเล็กๆ ก็จะถูกกินซ้ำอีกหรืออาจนำไปใช้สร้างเป็นปลอกหุ้มตัว ซึ่ง Wotton (1994) กล่าวว่าโดยทั่วไปเมื่อในแหล่งที่อยู่อาศัยมีอาหารที่มีคุณภาพเพียงพอ สัตว์หน้าดินจะหลีกเลี่ยงการกินมูลที่ถูกขับถ่ายออกมา เนื่องจากเป็นอาหารที่มีคุณภาพต่ำและถูกดูดซึมในทางเดิน

อาหารได้น้อย จากการศึกษาอาหารในลำไส้ของหนอนแดง *C. crassicaudatus* พบว่าประกอบด้วย แพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆ ถึง 68 เปอร์เซ็นต์ (Ali, 1990) บางครั้งหนอนแดงกินเศษอาหารที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการเข้าไปเช่น เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า เป็นต้น อาหารเหล่านั้นจะถูกขับออกมาจากทางเดินอาหารอย่างรวดเร็ว ในขณะที่อาหารจำพวกจุลินทรีย์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่น แบคทีเรีย รา โปรโตซัว เป็นต้น หนอนแดงสามารถนำไปสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นได้ (Mclachlan *et al.*, 1979) ขณะที่ Fonseca and Rocha (2004) กล่าวว่าการใช้สาหร่ายสีเขียวในการเลี้ยงหนอนแดงวัยแรกและใช้อาหารปลาสวยงามยี่ห้อ Tetra ในการเลี้ยงหนอนแดงวัยต่อมาพบว่าหนอนแดงมีอัตราการรอดสูง (90-95 เปอร์เซ็นต์)

Narita *et al.* (2003) และ Kiyashko *et al.* (2004) รายงานว่าหนอนแดงที่อาศัยอยู่ในตะกอน อาจใช้มีเทนเป็นแหล่งพลังงานทางอ้อมจากการกินแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในตะกอนพื้นท้องน้ำของทะเลสาบ ซึ่งสามารถออกซิไดซ์มีเทนได้หรืออาจได้รับทางตรงจากจุลินทรีย์ในกลุ่มที่ดำรงชีวิตแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiotic) ที่อยู่ในทางเดินอาหาร ซึ่งมีความสามารถในการออกซิไดซ์มีเทน นอกจากนี้ Eller *et al.* (2005) ได้สนับสนุนแนวคิดดังกล่าวโดยศึกษาวัฏจักรของมีเทนในตะกอนทะเลสาบกับหนอนแดง *Chironomus plumosus* จากทะเลสาบ 2 แห่ง ทางตอนเหนือของประเทศเยอรมัน โดยพบว่ามีแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์มีเทนเพื่อเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญในห่วงโซ่อาหารที่สูงขึ้นไปในทะเลสาบได้

จากการศึกษาประชากรของหนอนแดงภายใต้สภาวะที่มีอาหารจำกัด พบว่าหนอนแดงสามารถเจริญเติบโตได้ แม้อาหารที่ได้รับในแต่ละวันจะลดลงมาก (Yano *et al.*, 1991; Charles *et al.*, 2004) นอกจากนี้ Goldfinch and Carman (2000) ได้ทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าอัตราการย่อยอาหารของหนอนแดงเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณอาหารที่ให้ในช่วงเวลาที่สั้นมากเพียง 1-2 ชั่วโมง

4.3 การสร้างปลอกหุ้มตัว

การสร้างปลอกหุ้มตัวหรือการสร้างรังนับว่าเป็นพฤติกรรมที่มีความสำคัญต่อหนอนแดงมาก ปลอกที่สร้างขึ้นนี้ทำหน้าที่ 4 ประการ คือ (1) ทำให้หนอนแดงได้นับออกซิเจนและอาหารอย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากหนอนแดงสามารถทำให้เกิดกระแสในปลอกหุ้มตัว โดยการโยกตัวแบบไม่มีทิศทาง (undulating movement) ซึ่งช่วยดักอาหารที่อยู่ในน้ำเข้าสู่ปลายเปิดของปลอกหุ้มตัวรวมทั้งขับถ่ายของเสียออก (Walshe, 1951) (2) ป้องกันศัตรูรวมถึงผู้ล่าตามธรรมชาติ เนื่องจากหนอนแดงมีลำตัวสีแดงที่เกิดจากฮีโมโกลบินในเม็ดเลือด ทำให้ศัตรูสามารถเห็นได้ง่าย (Macchiusi and Baker, 1992) (3) ป้องกันหนอนแดงจากสารพิษต่างๆ ที่อยู่ในน้ำและในตะกอน (Halpern *et al.*, 2002) และ (4) ช่วยลดอัตราการแห้ง (desiccation rate) ในหนอนแดงบางชนิด ได้แก่ *Polypedilum vanderplanki* ในการจำศีลในสภาวะแห้ง (anhydrobiosis) เป็นการเพิ่มการมีชีวิตรอด (Kikawada *et al.* 2005)

ตะกอนมีความสำคัญในแง่การเป็นถิ่นที่อยู่อาศัยของหนอนแดง ป้องกันศัตรู และเป็นแหล่งอาหาร แต่ขณะเดียวกันตะกอนยังเป็นแหล่งสะสมของสารพิษในน้ำ ดังนั้นการเลือกชนิดของตะกอนจึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาการและการมีชีวิตรอดของหนอนแดง จากการศึกษาในหนอนแดง *Chironomus riparius* (Meigan, 1804) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตมีความสัมพันธ์กับคุณภาพของอาหารมากกว่าปริมาณสารพิษที่พบในตะกอน และทั้งคุณภาพอาหารและสารพิษในตะกอนเป็นตัวควบคุมการแพร่กระจายของหนอนแดงในถิ่นที่อยู่อาศัย (De Haas *et al.*, 2006)

Xue and Ali (1997) กล่าวว่าหนอนแดงชอบขนาดของตะกอนทรายที่มีขนาดแตกต่างกันในการสร้างปลอกหุ้มตัว จากการศึกษาความชอบดังกล่าวในหนอนแดง *Glyptotendipes paripes* ซึ่งเป็นชนิดของรึ้นน้ำจืดที่ก่อให้เกิดความรำคาญแก่มนุษย์ พบว่าหนอนแดงวัยสี่ที่พบในทะเลสาบธรรมชาติชอบตะกอนทรายที่มีขนาดเล็ก (น้อยกว่า 0.84 ถึง 1.99 มิลลิเมตร) ในการนำไปสร้างปลอกหุ้มตัวและสามารถสร้างเสร็จภายใน 3 ชั่วโมง หนอนแดงชนิดนี้ไม่สามารถสร้างปลอกหุ้มตัวได้จากตะกอนทรายหยาบ (เส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร) ในขณะที่ความยาวของปลอกที่สร้างด้วยตะกอนทรายที่มีขนาดเล็กจะยาวกว่าอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปลอกหุ้มตัวที่สร้างจากตะกอนทรายที่มีขนาดใหญ่กว่า เช่นเดียวกับที่ Mckie (2004) ได้ศึกษาการทำลายปลอกหุ้มตัวของหนอนแดง *Echinocladus martini* และ *Polypedilum australotropicus* พบว่าเมื่อทำลายปลอกหุ้มตัวในหนอนแดงทุกวัยและระยะที่เป็นดักแด้ ทำให้ลดระยะเวลาที่เป็นระยะดักแด้ลง แต่การที่ปลอกหุ้มตัวถูกทำลายลงไม่มีผลหรือมีผลเล็กน้อยต่อขนาดของตัวเต็มวัย จากการศึกษาของ Frouz *et al.*

(2004) พบว่าขนาดของตะกอนสารอินทรีย์มีผลต่ออัตราการรอดของหนอนแดง *G. paripes* โดยหนอนแดงที่อาศัยในตะกอนที่หยาบมีอัตราการรอดสูงกว่าหนอนแดงที่อาศัยในตะกอนที่ละเอียด ซึ่ง Brotas *et al.* (1990) กล่าวว่าขนาดของตะกอนมีผลต่อการซึมผ่านของออกซิเจนลงในตะกอน โดย Berg (1995) และ Chaloner and Wotton (1996) กล่าวว่าตะกอนอินทรีย์วัตถุในแหล่งน้ำจืดส่วนใหญ่มาจากแหล่งก้นตื้นและแหล่งต่างๆ บนพื้นดิน หนอนแดงใช้ตะกอนอินทรีย์วัตถุเป็นแหล่งอาหารและสำหรับสร้างเปลือกหุ้มตัว

4.4 พัฒนาการทางสรีรวิทยาของร่างกาย

ระยะเวลาที่ใช้สำหรับการเจริญเติบโตและพัฒนาการของหนอนแดง จะเปลี่ยนแปลงไปตามอิทธิพลของปัจจัยแวดล้อมต่างๆ โดยเฉพาะอุณหภูมิ (Fischer, 1969; Konstantinov, 1958a) เมื่อปัจจัยอื่นๆ ถูกจำกัดอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้พัฒนาการรวดเร็วว่าการเจริญเติบโต ดังนั้นระยะตัวหนอนที่สมบูรณ์เมื่อพัฒนาการที่อุณหภูมิสูงจะมีขนาดเล็กกว่าเมื่อพัฒนาการที่อุณหภูมิต่ำกว่า (Konstantinov, 1958b) เมื่อไม่คำนึงถึงระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการ รึ้นน้ำจืดจะใช้เวลาส่วนใหญ่อยู่ในระยะตัวหนอน ส่วนระยะที่เป็นไข่ ดักแด้ และตัวเต็มวัยนั้นจะใช้เวลาในแต่ละระยะสั้นมากเพียงไม่กี่วันเท่านั้น ระยะตัวหนอนวัยสี่อาจใช้เวลาตั้งแต่อย่างน้อยกว่า 2 สัปดาห์ ไปจนกระทั่งหลายๆ ปี ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปแหล่งน้ำในเขตอบอุ่น เมื่ออาหารมีปริมาณเพียงพอและคุณภาพสูงทำให้อุณหภูมิของน้ำจืดขนาดเล็กมีช่วงวงจรชีวิตที่สั้นกว่า ระยะตัวเต็มวัยของรึ้นน้ำจืดอาจมีชีวิตอยู่เพียง 2-3 วัน ถึงแม้ว่าอาจมีรึ้นน้ำจืดบางชนิดที่สามารถมีชีวิตอยู่ได้หลายๆ สัปดาห์ ระยะตัวเต็มวัยของรึ้นน้ำจืดทำหน้าที่เพียงการสืบพันธุ์และการแพร่กระจาย (Coffman and Ferrington, 1996) ช่วงวงจรชีวิตของรึ้นน้ำจืดที่เปลี่ยนจากการอาศัยอยู่ในน้ำมาอยู่เหนือน้ำนั้น อวัยวะรับแสงจะพัฒนามากขึ้นเรื่อยๆ โดยเพิ่มความไวต่อแสง โดยเฉพาะขณะที่ระยะตัวหนอนพัฒนาเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย (Babrekar *et al.*, 2004)

Agnew *et al.* (2002) กล่าวว่าผลของการแสดงออกทางลักษณะภายนอกและพันธุกรรมต่อลักษณะชีวประวัติและการแก่งแย่งที่เกิดจากความหนาแน่นนั้น เป็นปัจจัยสำคัญที่มีต่อการเติบโตของประชากร โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์จำพวกแมลง การแก่งแย่งที่เกิดจากความหนาแน่นมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของอัตราการตายในช่วงที่เป็นระยะตัวอ่อน ทำให้สมรรถนะเพศต่ำลง และลดขนาดของตัวเต็มวัย ซึ่งหมายถึงการลอกคราบขึ้นจากน้ำในขณะที่การสะสมอาหารในขณะที่เป็นตัวอ่อนไม่เพียงพอ ทำให้อายุขัยของตัวเต็มวัยสั้นลง

Frouz *et al.* (2002a) ศึกษาพัฒนาการของรึ้นน้ำจืด *Chironomus crassicaudatus* และ *Glyptotendipes paripes* จากระยะไข่จนถึงระยะตัวหนอน ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 31 วัน พบว่าคุณลักษณะภายนอกของส่วนหัว (morphometric head parameter) ได้แก่ ความยาว (length) ความกว้าง (width) ความกว้างของคาง (mentum width) และความยาวช่วงหัว (cephalolabial length) แตกต่างกันทุกวัย จากคุณลักษณะทั้ง 4 ประการ ของรึ้นน้ำจืดทั้งสองชนิด พบว่า head capsule width เป็นดัชนีที่มีความไวที่สุดในการบ่งบอกถึงความแตกต่างระหว่างวัย และ cephalolabial length เป็นดัชนีที่มีความไวมากที่สุดในการบ่งบอกถึงความแตกต่างระหว่างเพศใน ระยะตัวหนอนวัยสี่ โดยค่าคุณลักษณะของกระโหลกในระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืดทั้ง 2 เพศ เป็นไปตาม Dyar's law

Frouz *et al.* (2002b) ทดลองเลี้ยงหนอนแดง *Chironomus crassicaudatus* ที่อุณหภูมิ คงที่ 9 ระดับ ตั้งแต่ช่วง 12.5 ถึง 32.5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าตัวเต็มวัยลอก คราบขึ้นจากน้ำได้ในทุกช่วงอุณหภูมิยกเว้นที่ 12.5 องศาเซลเซียส หนอนแดงพัฒนาการช้าที่สุดที่ อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และพัฒนาการเร็วที่สุดในช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 27.5 องศาเซลเซียส โดยที่ พัฒนาการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และเริ่มช้าลงในช่วงอุณหภูมิ ระหว่าง 20 ถึง 27.5 องศาเซลเซียส และลดลงที่อุณหภูมิสูงกว่า 27.5 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิสูง มีผลยับยั้งพัฒนาการมากที่สุดในระยะตัวหนอนวัยสี่ ซึ่งเป็นช่วงที่ใช้เวลาในพัฒนาการมากที่สุด เพศผู้มีพัฒนาการเร็วกว่าเพศเมีย แต่เพศเมียมีความกว้างกระโหลกและความยาวปีกมากกว่าเพศผู้ ขนาดของตัวเต็มวัยผกผันกับอุณหภูมิทั้งในเพศผู้และเพศเมีย แต่มีผลต่อเพศผู้มากกว่าเพศเมีย หนอนแดงมีขนาดกระโหลกใหญ่ที่สุดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แต่ความกว้างกระโหลกลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่าและต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อพัฒนาการของรึ้นน้ำจืด *Chironomus decorus* พบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วง 10-28 องศาเซลเซียส ทำให้ระยะเวลาหลังจากฟักออกจากไข่ไปจนตัว เต็มวัยขึ้นจากน้ำสั้นลง อัตราการเจริญเติบโตของระยะตัวหนอนเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มจาก 10 เป็น 20 องศาเซลเซียส (Kosalwat, 1985) ต่อมา Steven (1998) ได้ศึกษาการเลี้ยงรึ้นน้ำจืด *C. tepperi* Skuse ที่อุณหภูมิคงที่ในช่วง 12.5 ถึง 37.5 องศาเซลเซียส (ทุก 2.5 องศาเซลเซียส) พบว่ารึ้นน้ำจืด เพศผู้มีพัฒนาการเร็วกว่ารึ้นน้ำจืดเพศเมียอย่างมีนัยสำคัญในทุกช่วงอุณหภูมิที่ศึกษา อัตรา พัฒนาการเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึง 32.5 องศาเซลเซียส แต่กลับลดลงที่อุณหภูมิ 35 องศา เซลเซียส และระยะเวลาการลอกคราบขึ้นจากน้ำของตัวเต็มวัยสั้นลงที่อุณหภูมิ 37.5 องศาเซลเซียส อัตรารอดของตัวเต็มวัยอยู่ในช่วง 10 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์ โดยอัตราตายเกิดขึ้นสูงสุดในระยะดักแด้ที่

ทุกอุณหภูมิ จากการศึกษาของ Tokeshi (1995) พบว่าการเลี้ยงรึ้นน้ำจืด *Cricotopus sylvestris* ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส สามารถมีพัฒนาการของวงจรชีวิตสมบูรณ์ได้ภายในเวลา 28 วัน ในขณะที่ใช้ระยะเวลาเพียง 10 วัน ที่อุณหภูมิ 22-29 องศาเซลเซียส

Lobinske *et al.* (2002) รายงานว่าในการเลี้ยงรึ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* Edwards จากระยะไข่จนถึงระยะตัวหนอนที่อุณหภูมิคงที่ 11 ระดับ ในช่วงระหว่าง 10.0 ถึง 35.0 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ พบว่าไข่รึ้นน้ำจืดไม่ฟักที่อุณหภูมิ 10.0 องศาเซลเซียส ในขณะที่ฟักปกติที่อุณหภูมิ 35.0 องศาเซลเซียส แต่ตัวอ่อนตายหมดเมื่อเข้าสู่ระยะตัวหนอนวัยสอง นอกจากนี้อัตราการพัฒนาเท่ากับ 0 ที่อุณหภูมิประมาณ 9.0 องศาเซลเซียส

McFarlane and McLusky (1972) กล่าวว่าอุณหภูมิในช่วง 5 ถึง 15 องศาเซลเซียส มีผลต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนของหนอนแดง 4 สกุล ได้แก่ *Stictochironomus*, *Glyptotendipes*, *Polypedium* และ *Chironomus* ที่พบในทะเลสาบ Loch Leven ประเทศอังกฤษ ทั้งที่ปรับและไม่ปรับอุณหภูมิก่อนการทดลอง

ตารางที่ 5 ระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการของแต่ละระยะของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ

ชนิด (อุณหภูมิเลี้ยง)	ระยะของพัฒนาการ (วัน)						
	ไข่	ตัว	ตัว	ตัว	ตัวหนอน	ดักแด้	ตัวเต็มวัย
		หนอน	หนอน	หนอน	วัยสี่		
		วัยแรก	วัยสอง	วัยสาม			
<i>Chironomus riparius</i> ¹	2	2	2	3	ขึ้นอยู่กับคุณภาพและปริมาณอาหาร	≤1	1-4
<i>C. plumisetigerus</i> ²	*	2	2	2	7-8 (เพศผู้) 9-10 (เพศเมีย)	*	*
<i>C. tentans</i> (23 องศาเซลเซียส) ³	*	1-4.4	4.4-8.5	8.5-12.5	12.5-	*	*
<i>C. crassiforceps</i> (27 องศาเซลเซียส) ⁴	*	0-2	2-3	3-5	5-8	*	*
<i>C. sancticaroli</i> (19-26 องศาเซลเซียส) ⁵	*	0-4	4-6	6-8	8-14	*	*
<i>C. xanthus</i> (23 องศาเซลเซียส) ⁶	*	0-4	4-6	6-8	8-12	*	*

หมายเหตุ * หมายถึงไม่มีการศึกษา

ที่มา: ¹Charles *et al.* (2004), ²Kuvangkadilok (1994), ³American Society for Testing Materials (2000), ⁴Peck *et al.* (2002), ⁵Trivinho-Strixino and Strixino (1982), ⁶Fonseca and Rocha (2004)

4.5 ความหลากหลายทางชีวภาพ

การประเมินความหลากหลายทางชีวภาพสามารถแสดงผลเป็นค่าต่อหน่วยพื้นที่หรือต่อหน่วยเวลา แต่ไม่สามารถนำค่าดังกล่าวไปใช้คำนวณค่าต่อหน่วยพื้นที่ที่มีขนาดใหญ่กว่าหรือในเวลาที่แตกต่างกันได้ และไม่สามารถนำค่าความหลากหลายทางชีวภาพของแต่ละพื้นที่มารวมกันเพื่อที่จะหาค่าความหลากหลายทางชีวภาพสำหรับพื้นที่ที่มีขนาดใหญ่ได้ (ฉวีวรรณ และคณะ, 2547) นักนิเวศวิทยามักประเมินความหลากหลายทางชีวภาพใน 2 ประเด็น คือ (1) ความหลากหลายชนิด (Species richness) หมายถึง จำนวนชนิด (species) ของสิ่งมีชีวิต และ (2) ความสม่ำเสมอ (abundance หรือ richness) หมายถึง จำนวนตัวของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ ซึ่งความสม่ำเสมอนี้มีความสำคัญเกี่ยวกับความมั่นคงของระบบนิเวศ ซึ่งระบบนิเวศที่มีจำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิตมาก แต่สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีความสม่ำเสมอต่ำนั้นมีความเสี่ยงต่อการล่มสลายได้มาก (ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2547)

มีงานวิจัยหลายๆ เรื่องที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างช่วงเวลาที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำของรึ้นน้ำจืดกับปัจจัยแวดล้อม (Learner *et al.*, 1990; Pinder *et al.*, 1993) ฤดูกาลในการลอกคราบขึ้นจากน้ำของรึ้นน้ำจืดมีความสัมพันธ์กับช่วงเวลาที่เป็ระยะตัวหนอน ซึ่งผันแปรไปตามอุณหภูมิ น้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ช่วงแสง ระดับน้ำ และแหล่งอาหาร (Armitage *et al.*, 1995) ในภูมิภาคที่อากาศอบอุ่นตลอดปี การลอกคราบขึ้นจากน้ำของรึ้นน้ำจืดจะเกิดขึ้นตลอดปี (Corbet, 1964; Macdonald, 1956) อย่างไรก็ตามความผันแปรของฤดูกาลอาจเกี่ยวเนื่องกับปัจจัยแวดล้อมอื่น เช่น ปริมาณน้ำฝน ซึ่งเป็นเหตุให้ปริมาณสารอาหารสูงขึ้น ทำให้ผลผลิตแพลงก์ตอนสูงขึ้นตามไปด้วย ซึ่งอาจมีผลมากกว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ (Cranston *et al.*, 1981) ขณะที่ Wene (1940) รายงานว่าชนิดของดินตะกอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุมีผลต่อความชุกชุมของหนอนแดงในแหล่งน้ำธรรมชาติ ส่วนความเป็นกรดเป็นด่างของดินไม่มีผลต่อความชุกชุม ส่วนปริมาณไนโตรเจนในดินน้อยมาก เช่นเดียวกับที่ De haas *et al.* (2006) รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดง *Chironomus riparius* (Meigan 1804) มีความสัมพันธ์กับคุณภาพของอาหารในตะกอนอินทรีย์วัตถุ ทำให้ปริมาณตะกอนเป็นตัวกำหนดการกระจายตัวของหนอนแดงในถิ่นที่อยู่อาศัย รวมถึงหนอนแดงชอบอาศัยอยู่ในตะกอนที่มีปริมาณสารอาหารสูง ซึ่ง Cranston (2004) รายงานว่าผลผลิตหนอนแดงส่วนใหญ่มาจากหนอนแดงวัยสามและวัยสี่เป็นส่วนใหญ่ และวงจรชีวิตของรึ้นน้ำจืดแต่ละชนิดไม่เท่ากันตั้งแต่ 1 ปี ไปจนถึง 1 สัปดาห์ (Nolte, 1995)

เมื่อกล่าวถึงปัจจัยสภาวะแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของประชากรแมลงน้ำ อุณหภูมินับว่าเป็นปัจจัยแวดล้อมที่สำคัญที่สุดต่อวงจรรอบและความชุกชุมของแมลงน้ำรวมถึงรึ้นน้ำจืด (Ali *et al.*, 1977; Elliot, 1967) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของรึ้นน้ำจืดในแหล่งน้ำท่วมตามฤดูกาลของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่ารึ้นน้ำจืด *Tanytarsus* spp. และ *Chironomus* spp. เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดในช่วงที่น้ำหลากประมาณเดือนเมษายนถึงพฤศจิกายน ซึ่งช่วงระยะเวลาดังกล่าวเป็นช่วงที่รึ้นน้ำจืดก่อให้เกิดความรำคาญกับมนุษย์ ความหนาแน่นของระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืดจะเพิ่มขึ้นอย่างมากภายใน 2-4 สัปดาห์ ภายหลังน้ำหลาก (Ali and Mulla, 1978) ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของประชากรแมลงในลำธารเกิดจากความสัมพันธ์อันซับซ้อนระหว่างปัจจัยภายนอกและภายใน อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่ชัดเจนที่สุดที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงและความชุกชุมตามฤดูกาลของแมลงชีปะขาว (mayflies) และแมลงเกาะหิน (stoneflies) (Elliott, 1967) หรือรึ้นน้ำจืดในเขื่อนป้องกันน้ำท่วม (Ali *et al.*, 1977)

4.6 การสืบพันธุ์

4.6.1 อวัยวะสืบพันธุ์

รังไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus* sp. เพศเมียมีลักษณะเฉพาะ โดยแต่ละข้างของรังไข่ประกอบด้วยแกนกลางที่ขยายออกซึ่งมี ovariole สั้นๆ จำนวนมาก (Miall and Hammond, 1892) เมื่อไข่มีการพัฒนาสมบูรณ์แล้ว ไข่ก็จะเคลื่อนเข้าสู่ท่อนำไข่โดยผ่านกระบวนการตกไข่ (ovulation) หลังจากเกิดการตกไข่และการปฏิสนธิ ก็จะเกิดการวางไข่ภายนอกร่างกายโดยผ่านกระบวนการวางไข่ (oviposition) จากการศึกษาในรึ้นน้ำจืดส่วนใหญ่พบว่าเพศเมียมลอกคราบขึ้นจากน้ำพร้อมๆ กับฟอลลิเคิล (follicle) ที่พัฒนาแล้วหนึ่งในสามส่วนถึงครึ่งหนึ่งของปริมาณไข่ทั้งหมด (Anderson and Hitchock, 1968; Oliver, 1968) รึ้นน้ำจืดบางชนิดในเหล่า Tanytarsini ลอกคราบขึ้นจากน้ำมาพร้อมกับไข่ที่พัฒนาสมบูรณ์แล้ว (Hashimoto, 1957) มีรึ้นน้ำจืดเพียงส่วนน้อยที่สามารถวางไข่โดยไม่ผ่านการปฏิสนธิ (parthenogenesis) ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในเหล่า Tanytarsini และวงศ์ย่อย Orthocladinae นอกจากนี้ยังพบรึ้นน้ำจืดบางชนิดที่สามารถวางไข่ได้เป็นครั้งที่สองได้แก่ รึ้นน้ำจืด *C. nudatarsis* ภายหลังจากไข่ที่พัฒนาแล้วสองในสามส่วนฟอลลิเคิลยังมีการพัฒนาต่อ แต่ยังไม่มีการวางไข่เป็นครั้งที่สาม (Pinder, 1995) ต่อมา Ducrot *et al.* (2004) รายงานว่าเมื่อพิจารณาถึงการใช้พลังงานในการพัฒนาของหนอนแดง *C. riparius* สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ขั้นตอน คือการเจริญเติบโตทางร่างกาย (somatic growth) และการเจริญเติบโตด้านการสืบพันธุ์ (gamatic growth)

อวัยวะสืบพันธุ์ของรึ้นน้ำจืดเพศผู้ประกอบด้วยท่อน้ำเชื้อที่ขยายใหญ่และทำหน้าที่เช่นเดียวกับถุงน้ำเชื้อ (vesicula seminalis) และค่อยๆ แคลลงจนเป็นท่อนิดสเปอรัม (ejaculatory duct) และออกไปสู่อวัยวะเพศผู้ที่มีลักษณะปลายแหลม (aedeagus) และต่อมที่สร้างอาหารเลี้ยงน้ำเชื้อ (accessory gland) (Cranston, 1995)

Sibley *et al.* (2001) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus tentans* พบว่าการเพิ่มขนาดของรึ้นน้ำจืดเพศผู้ เมื่อผสมพันธุ์กับเพศเมียที่มีน้ำหนักคงที่ไม่มีผลต่อความดกของไข่ แต่ทำให้อัตราการฟักเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเพิ่มขนาดของรึ้นน้ำจืดเพศเมีย เมื่อผสมพันธุ์กับเพศผู้ที่มีน้ำหนักคงที่ ทำให้ความดกของไข่เพิ่มขึ้นมาก นอกจากนี้อายุของเพศผู้และเพศเมียที่ผสมพันธุ์ครั้งแรก ความถี่ของเพศผู้ที่เข้าผสม และอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียในการผสมพันธุ์ไม่มีผลต่อความดกของไข่และอัตราการฟัก

Xue *et al.* (1994a) ศึกษาการพัฒนารังไข่ของรึ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* ที่ผสมพันธุ์แล้ว โดยจับจากธรรมชาติในแถบตอนกลางของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา และนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าวางไข่ 1 ฟักไข่ต่อตัวในขณะเริ่มมีแสง จำนวนไข่ต่อฟักไข่เท่ากับ 626 และ 942 ฟอง ในฤดูแล้งและฤดูใบไม้ผลิ ตามลำดับ และพบว่าฟอลลิเคิลภายในรังไข่พบว่าไข่ที่มีการพัฒนาสมบูรณ์แล้วมีปริมาณครึ่งหนึ่งถึงสามในสี่ส่วนของปริมาณไข่ทั้งหมดภายในเวลา 2 วัน ไข่พัฒนาสมบูรณ์ทั้งหมดภายในระยะเวลามากกว่าหรือเท่ากับ 2 วัน และไข่ฟ่อหมดภายในระยะเวลามากกว่าหรือเท่ากับ 4 วัน ภายหลังการลอกคราบขึ้นจากน้ำ

Seward (1980) กล่าวว่ารึ้นน้ำจืด *Chironomus plumosus* มีความดกไข่เท่ากับ 1575.6 ± 130.0 ฟอง ตัวเต็มวัยที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำต้องใช้เวลาในการพัฒนาให้ไข่แก่ ปัจจัยแวดล้อมด้านฤดูกาล ระดับความสูงของพื้นที่และละติจูดที่ตั้งไม่มีผลต่อกระบวนการพัฒนาความสมบูรณ์ของไข่ ในขณะที่ขนาดของตัวเต็มวัยขณะที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำมีผลต่อความดกของไข่

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ในรึ้นน้ำจืด *Chironomus tentans* แสดงให้เห็นว่าการเจริญเติบโตถูกควบคุมโดยชนิดและปริมาณอาหารที่ได้รับจนตลอดชั่วรุ่น ปริมาณอาหารไม่มีผลต่ออัตราการอดในวงจรชีวิตหนึ่งๆ ระยะตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัยมีอัตราการอดเกิน 83 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่จากระยะตัวหนอนไปจนถึงระยะที่สามารถสืบพันธุ์ได้มีอัตราการอดเกิน 65 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งทั้งระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีปริมาณอาหารลดลง ปริมาตรรึ้นน้ำจืดที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำลดลงเมื่อให้อาหารต่ำกว่า 0.42

มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัย แสดงว่า น้ำหนักแห้งของระยะตัวหนอนอย่างน้อย 0.5-0.6 มิลลิกรัมต่อตัว จึงจะสามารถลอกคราบขึ้นจากน้ำ กลายเป็นตัวเต็มวัยได้ จำนวนไข่ต่อเพศเมียลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปริมาณอาหารที่ให้ต่ำกว่า 0.42 มิลลิกรัมต่อตัวต่อวัน แต่เมื่อให้อาหารมากกว่าปริมาณดังกล่าวก็ไม่มีผลต่อความดกไข่ (Sibley *et al.*, 2001)

4.6.2 อัตราส่วนเพศ

Abul-Nasr *et al.* (1970) รายงานว่าอัตราส่วนเพศ (ร้อยละของเพศเมีย) ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus* sp. ที่พบในประเทศอียิปต์เท่ากับ 32.7 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Maeda and Yano (1988) กล่าวว่าอัตราส่วนเพศเมียของรึ้นน้ำจืด *C. kiensis* ในประเทศญี่ปุ่นที่เลี้ยงภายใต้สภาวะกักขังเท่ากับ 52.2 เปอร์เซ็นต์ และจากการดักรึ้นน้ำจืดที่ขึ้นจากน้ำด้วยกรงดักรึ้นน้ำจืดเท่ากับ 42.9 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามอัตราส่วนเพศของรึ้นน้ำจืด *C. kiensis* ที่ดักด้วยกรงดักชนิด Malaise พบว่าส่วนใหญ่เป็นเพศเมียถึง 78.6 เปอร์เซ็นต์ (Maeda and Yano, 1987)

4.6.3 ความดกของไข่

Xue and Ali (1994b) รายงานว่ารึ้นน้ำจืด *Chironomus crassicaudatus*, *Glyptotendipes paripes*, *Diamesa nivoriunda* (Fitch) และ *Procladius bellus* (Loew) เพศเมียที่มีความยาวปีกมาก (ลำตัวใหญ่) มีความดกของไข่มากกว่ารึ้นน้ำจืดที่มีความยาวปีกสั้น (ลำตัวเล็ก) เช่นเดียวกับยุงและแมลงอื่นๆ (Briegal, 1990; Honek, 1993) ซึ่งขนาดของยุงได้รับอิทธิพลจากการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล อุณหภูมิ (Day *et al.*, 1990) อาหารขณะเป็นตัวอ่อน (Briegal, 1990) และช่วงแสง (Lanciani, 1992)

4.6.4 การลอกคราบขึ้นจากน้ำ

รึ้นน้ำจืดตัวเต็มวัยลอกคราบขึ้นจากน้ำ โดยออกบริเวณรอยแยกด้านหน้าของอก ในช่วงที่เป็นดักแด้ ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นรวดเร็วประมาณ 10-30 วินาที หลังจากนั้นตัวเต็มวัยสามารถบินได้ทันที (Nielsen, 1962) ระยะเวลาที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำสัมพันธ์กับระยะเวลาที่เป็นระยะตัวหนอนและความแตกต่างของรูปแบบเช่น การลอกคราบขึ้นจากน้ำพร้อมๆ กันเพียงปีละครั้ง (univoltine) และการลอกคราบขึ้นจากน้ำพร้อมๆ กันหลายครั้งต่อปี (multivoltine) ช่วงที่

ลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ในแต่ละฤดูกาลจะถูกควบคุมด้วยสภาวะแวดล้อมก่อนหน้านั้น และมีความแปรปรวนในแต่ละปี ในภูมิประเทศที่มีอากาศอบอุ่นการลอกคราบขึ้นจากน้ำสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดปี (Cobet, 1964) มีริ้นน้ำจืดหลายชนิดที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำพร้อมๆ กันปีละ 2 ครั้ง (Morgan and Waddell, 1961) การลอกคราบขึ้นจากน้ำมักมีจุดสูงสุดภายหลังพระอาทิตย์ตกดิน หรือในช่วงระหว่างวัน ตอนสายหรือบ่ายอ่อนๆ แต่อย่างไรก็ตามอาจเกิดขึ้นในตอนเช้าตรู่ก็ได้ (Nielsen, 1962) การลอกคราบขึ้นจากน้ำภายหลังพระอาทิตย์ตกดินมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงความเข้มของแสง และอาจเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ (Palmen, 1958) ในขณะที่ Ball and Baker (1995) รายงานว่าในริ้นน้ำจืด *Chironomus tentans* นั้น ศัตรูตามธรรมชาติที่มีอยู่และปริมาณอาหารที่ลดลง เป็นสาเหตุให้เกิดการลอกคราบขึ้นจากน้ำเร็วขึ้น ทำให้ตัวเต็มวัยมีขนาดเล็กลงแต่ไม่มีผลต่อความคดของไข่ เช่นเดียวกับที่ Hatakeyama (1988) รายงานว่าความสำเร็จในการลอกคราบขึ้นจากน้ำและอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Polypedilum nubifer* มีผลจากระดับของทองแดงและปริมาณอาหารที่เพิ่มขึ้น ต่อมา Dawson et al. (2000) รายงานว่าริ้นน้ำจืด *C. tentans* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยเติมไข่ลงเลี้ยงด้วยความหนาแน่น 3 ระดับ คือ 690 (1.1 ฟองต่อตารางเซนติเมตร), 1,043 (1.7 ฟองต่อตารางเซนติเมตร) และ 1,463 (2.4 ฟองต่อตารางเซนติเมตร) น้ำหนักเฉลี่ยของระยะตัวหนอนอายุ 10 วัน ที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูงมีค่ามากกว่าที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นปานกลางและต่ำ ตามลำดับ ความยาวลำตัวหรือความกว้างกระโหลกของระยะตัวหนอนอายุ 10 และ 20 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 ระดับความหนาแน่น การลอกคราบขึ้นจากน้ำมีค่าสูงสุดของตัวเต็มวัยที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นต่ำและปานกลางเกิดขึ้นเมื่อตัวหนอนมีอายุได้ 22 และ 25 วัน ตามลำดับ ในขณะที่ริ้นน้ำจืดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นสูง การลอกคราบขึ้นจากน้ำเกิดขึ้นสูงสุดเมื่อตัวหนอนมีอายุระหว่าง 30 ถึง 33 วัน ในขณะที่ริ้นน้ำจืดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่นต่ำมีอัตราการรอดสูงสุด และน้ำหนักเฉลี่ยของตัวเต็มวัยเป็นปฏิภาคผกผันกับความหนาแน่นในการเลี้ยง ในขณะที่อัตราการลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืดที่เลี้ยงด้วยความหนาแน่น 3 ระดับ ไม่แตกต่างกัน จากการทดลองนี้สรุปว่าอัตราการเติมไข่ในการเลี้ยงที่เหมาะสมเท่ากับ 1 ฟอง/ตารางเซนติเมตร

การลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืดหลายชนิด ได้แก่ *Procladius freemani*, *Dicrotendipes californicus*, *Chironomus decorus* และ *C. frommeri* ในรอบวันขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงของแสง การลอกคราบขึ้นจากน้ำส่วนใหญ่เกิดขึ้นในตอนกลางคืน โดยเฉพาะเวลาพลบค่ำและกลางดึก แต่มีริ้นน้ำจืดบางชนิด ได้แก่ *Tanytarsus* spp. ที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำตลอดวัน แต่จะเกิดมากในตอนเย็นถึงกลางดึก (Ali and Mulla, 1979) เวลาที่การลอกคราบขึ้นจากน้ำในรอบวันเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์สิ่งกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมต่างๆ กับสิ่งกระตุ้นภายในตัวสัตว์ (endogenous

rhythms) ซึ่งพฤติกรรมเหล่านี้นั้นถูกกำหนดและควบคุมโดยนาฬิกาภายใน (internal clock) ที่ตั้งไว้ให้ตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมภายนอก (Corbet, 1964) จากการศึกษาส่วนใหญ่ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิ น้ำและความเข้มแสง เป็นปัจจัยสภาพแวดล้อมสำคัญที่กำหนดการลอกคราบขึ้นจากน้ำในรอบวันของริ้นน้ำจืด ในขณะที่น้ำขึ้นน้ำลงอาจมีผลต่อการลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืดที่อาศัยอยู่ในบริเวณชายฝั่ง (Caspers, 1951) ส่วนการลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำไหล ได้แก่ *Cricotopus bicinctus* (Meigen), *C. sylvestris* (F.), *Chironomus decorus* Johannsen และ *Paralauterborniella subcincta* (Townes) ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในเวลากลางคืนมากกว่าเวลากลางวัน โดยเกิดขึ้นมากที่สุดภายใน 5 ชั่วโมงหลังจากพระอาทิตย์ตกดิน โดยปัจจัยเรื่องอุณหภูมิและความเร็วของกระแส น้ำมีผลน้อยมากต่อการเพิ่มหรือลดปริมาณของการลอกคราบขึ้นจากน้ำ (Ali and Mulla, 1979)

4.6.5 การรวมกลุ่ม

ริ้นน้ำจืดเพศผู้มีการรวมกลุ่มขนาดใหญ่เมื่ออุณหภูมิ ความชื้น และสถานะแสงที่เหมาะสมต่อชนิดนั้นๆ รวมถึงต้องการช่วงเวลาในรอบวันที่แตกต่างกัน เมื่อมีริ้นน้ำจืดมากกว่า 1 ชนิด รวมอยู่ในบริเวณเดียวกัน ทำให้เกิดการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ตลอดเวลา (Atameda County Mosquito Abatement, n.d.) โดยปกติการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์มักเกิดขึ้นในตอนพลบค่ำและถึงจุดที่ริ้นน้ำจืดเพศเมียที่เกาะอยู่ตามพันธุ์ไม้ในบริเวณใกล้เคียง ริ้นน้ำจืดเพศเมียบินเข้าสู่กลุ่มและเกิดการผสมพันธุ์กัน การรวมกลุ่มขนาดใหญ่ทำให้โอกาสในการผสมพันธุ์น้อยกว่าการรวมกลุ่มขนาดเล็ก (Neems *et al.*, 1992) ริ้นน้ำจืดเพศผู้ขนาดใหญ่มีแนวโน้มที่ถูกดึงดูดเข้ารวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์และมีโอกาสที่จะประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์มากกว่า ในขณะที่ริ้นน้ำจืดขนาดเล็กมักพอใจที่จะผสมพันธุ์ใกล้ๆ พื้น (Takamura, 1999) นอกจากนี้ Neems *et al.* (1998) กล่าวว่าริ้นน้ำจืดตัวที่เล็กที่สุดมักได้เปรียบมากที่สุดเมื่อมีการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ เนื่องจากมีความคล่องแคล่วในการจับคู่กับเพศเมีย แต่ริ้นน้ำจืดเพศผู้ที่มีขนาดใหญ่เมื่อไม่ได้รับอาหารมีอายุขัยยืนยาวกว่า รวมถึงสามารถบินรวมกลุ่มได้นานกว่า ในขณะที่ Xue and Ali (1994a) รายงานว่าริ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* เพศเมียที่มีขนาดใหญ่มีจำนวนฟอลลิเคิลและจำนวนไข่ต่อฝักไข่มากกว่าเพศเมียที่มีขนาดเล็ก และไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างความยาวปีกกับอายุ

Tokeshi and Reinhardt (1996) ได้ศึกษาพฤติกรรมการสืบพันธุ์ในริ้นน้ำจืด *Chironomus anthracinus* Zetterstedt พบว่าลำดับในการเข้าผสมพันธุ์ เริ่มต้นจากการเข้าจับ การลงสู่พื้น การเอาส่วนท้ายลำตัวมาต่อกัน และการแยกออก ในการเข้าผสมพันธุ์มีโอกาสสูงที่เพศผู้จะจับ

กับเพศผู้ (homosexual) แสดงให้เห็นว่าการเข้าจับเป็นขบวนการหยาบๆ ในขณะที่เดียวกับการจับกับเพศเมียก็อาจล้มเหลวในการเข้าสู่ขบวนการสืบพันธุ์ที่ถูกต้อง การรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์เกิดขึ้นในบ้นปลายชีวิตของริ้นน้ำจืดเพศผู้ ซึ่งเป็นกลไกที่มีประสิทธิภาพสำหรับริ้นน้ำจืดเพศเมีย เพื่อการผสมพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยที่ริ้นน้ำจืดแต่ละเพศมียุทธศาสตร์ที่แตกต่างกันในการผสมพันธุ์ ริ้นน้ำจืดเพศผู้เน้นการใช้พลังงาน ในขณะที่ริ้นน้ำจืดเพศเมียบินเข้าสู่กลุ่มด้วยความรวดเร็วแต่มีประสิทธิภาพในการผสมพันธุ์ และใช้พลังงานที่เหลืออยู่บินไปหาปริมาณที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของตัวอ่อน ในขณะที่ริ้นน้ำจืดเพศผู้บางชนิดได้แก่ *Tokunagayusurika akamusi* มียุทธวิธีอื่นๆ ในการเข้าผสมพันธุ์ โดยค้นหาเพศเมียที่อาศัยอยู่บริเวณพืชน้ำ ในขณะที่เพศผู้ตัวอื่นๆ จะรอให้เพศเมียบินสู่อากาศ แล้วจึงเข้ารวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ (Takamura, 1999)

จากการศึกษาผลของสีของแสงต่อการดึงดูดริ้นน้ำจืดในบริเวณตอนกลางของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม แสดงให้เห็นว่าริ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes*, *Chironomus crassicaudatus*, *G. holoprasinus*, *Polypedilum halterale* รวมถึงริ้นน้ำจืดชนิดอื่นๆ ถูกดึงดูดมากที่สุดด้วยแสงสีขาว (หลอดไส้หรือหลอดฟลูออเรสเซนต์) รองลงมาเป็นสีเหลืองและสีส้ม แต่ดึงดูดน้อยที่สุดด้วยสีน้ำเงิน สีเขียว และสีแดง (Ali *et al.*, 1986) ในขณะที่พฤติกรรมของริ้นน้ำจืดแตกต่างจากยุง ซึ่งยุงตอบสนองต่อสีเฉพาะหรือความยาวคลื่นในช่วงคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า ในขณะที่ริ้นน้ำจืดตอบสนองต่อความเข้มของแสงมากกว่า (Ali *et al.*, 1984)

4.6.6 การวางไข่

หลังจากที่ริ้นน้ำจืดรวมกลุ่มและผสมพันธุ์กันแล้ว ริ้นน้ำจืดเพศเมียจะวางไข่ที่ผิวน้ำในบริเวณที่มีพืชเกาะตามธรรมชาติ เช่น พืชน้ำ เศษไม้ สะพาน กำแพงหิน เป็นต้น (Armitage *et al.*, 1995) จากการศึกษาของ Xue and Ali (1994b) ซึ่งได้รวบรวมริ้นน้ำจืด *Chironomus crassicaudatus* ที่ผสมพันธุ์แล้วจากทะเลสาบมาศึกษาในห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถวางไข่เป็นครั้งที่สองได้ 57 เปอร์เซ็นต์ จำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 1,338 และ 245 ฟองต่อฝักไข่ ในการวางไข่ครั้งแรกและครั้งที่สองตามลำดับ ริ้นน้ำจืดเพศเมียที่มีขนาดใหญ่มีจำนวนไข่ต่อฝักไข่มากกว่าริ้นน้ำจืดขนาดเล็ก

Stevens *et al.* (2003) ศึกษาการตอบสนองต่อการวางไข่ของริ้นน้ำจืด *Chironomus tepperi* ต่อระดับของสารประกอบไนโตรเจนและสารสกัดชีวภาพ (crude bioextracts)

พบว่ามีการตอบสนองต่อสารประกอบในโตรเจนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยแอมโมเนียมไนเตรท ที่ระดับความเข้มข้น 2-12 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการวางไข่ ส่วนไฮดรอกซิลลาไมด์และ ไฮโดรคลอไรด์เพิ่มอัตราการวางไข่ที่ระดับความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่มีผลที่ระดับความเข้มข้น 2 หรือ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่โซเดียมไนเตรทลดอัตราการวางไข่ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่ไม่มีผลที่ระดับความเข้มข้น 6 หรือ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้รึ้นน้ำจืด *C. tepperi* ตอบสนองต่อสารสกัดชีวภาพต่างๆ กัน โดย หลีกเลี้ยงที่จะวางไข่ในสารละลายที่ประกอบด้วยหนอนแดง *C. tepperi* หรือ *Polypedilum nubiferum* บดละเอียด (1 ตัวต่อ 100 มิลลิตร) รวมทั้งหลีกเลี้ยงการวางไข่ในสารละลายที่ประกอบด้วยหนอนแดงชนิดเดียวกัน ในขณะที่สารละลายที่ประกอบด้วยรึ้นน้ำจืดตัวเต็มวัยบดละเอียดไม่มีผลต่อการวางไข่ ในขณะที่ Hatakeyama (1988) รายงานว่าการเพิ่มการปนเปื้อนของทองแดงไม่มีผลต่อการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด *P. nubifer*

Sibley et al. (2001) ได้ศึกษาความชอบในการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus tentans* ในน้ำจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ น้ำกลั่น น้ำประปา น้ำจากบ่อ และน้ำจากทะเลสาบ ปรากฏว่า อัตราการวางไข่ในน้ำจากแหล่งต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่ร้อยละของจำนวนไข่ต่อฝักไข่ในน้ำจากทะเลสาบสูงกว่าน้ำอีก 3 แหล่ง อย่างมีนัยสำคัญ

การเก็บรักษาไข่และระยะตัวหนอนของแมลงด้วยอุณหภูมิต่ำ

1. ความทนทานของแมลงต่ออุณหภูมิต่ำ

การที่แมลงหลายชนิดสามารถมีชีวิตรอดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เนื่องจากทนทานต่อการแข็งตัวของน้ำภายในเซลล์ โดยกระบวนการทางกายภาพและทางโมเลกุล (Sinclair et al., 2003) รึ้นน้ำจืดบางชนิดได้แก่ *Parochlus steinenii* ที่รวบรวมจากทะเลสาบน้ำจืด มีระยะต่างๆ ในวงจรชีวิตที่สามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำดังนี้ ตัวหนอน -7.4 องศาเซลเซียส ดักแด้ -16.3 องศาเซลเซียส และตัวเต็มวัย -15.3 องศาเซลเซียส โดยพบว่าครึ่งหนึ่งของระยะดังกล่าวตายลงที่ อุณหภูมิ -3, -9 และ -7 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Shimada and Pan, 1991)

2. ชีววิทยาการแช่แข็ง

สิ่งมีชีวิตส่วนใหญ่มีน้ำจำนวนมากเป็นองค์ประกอบ ทำให้ไม่สามารถหลีกเลี่ยงต่อการเกิดน้ำแข็งได้ ในบรรดาสิ่งมีชีวิตทั้งหลายสัตว์เลื้อยคลานและแมลงสามารถทนต่อการแช่แข็งได้ดี เช่น หนอนผีเสื้อสามารถทนต่อการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส ได้ถึง 10 เดือน กบหลายชนิดสามารถทนอยู่ในสภาพที่น้ำในร่างกาย 65 เปอร์เซ็นต์ เป็นน้ำแข็ง เช่นเดียวกับสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดที่สามารถทนต่อสภาวะดังกล่าว โดยการผลิตกลีเซอรอลออกมาจากตับ ทำให้กลีเซอรอลเป็นสารที่ต่อต้านการกลายเป็นน้ำแข็ง โดยการลดการแข็งตัวและทำให้จุดเยือกแข็งต่ำลง เช่นเดียวกับน้ำตาลกลูโคสก็เป็นสารต่อต้านการแข็งตัวเช่นกัน ในขณะที่กบหลายชนิดในทวีปอาร์คติกสามารถสร้างสารอินซูลินเพื่อเร่งการปล่อยกลูโคสและดูดซับเข้าสู่เซลล์เมื่ออุณหภูมิในร่างกายใกล้จุดเยือกแข็ง สารต่อต้านการแข็งตัวทำให้น้ำเกิดการแข็งตัวมีลักษณะคล้ายแก้วแต่ไม่เกิดผลึก ซึ่งเรียกว่า ขบวนการ vitrification การแข็งตัวทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์เนื่องจากการเกิดผลึกน้ำแข็ง แมลงส่วนใหญ่ใช้น้ำตาลเป็นสารต่อต้านการแข็งตัว โดยสภาวะการไม่กินอาหาร เนื่องจากอัตราการเผาผลาญให้เกิดพลังงานต่ำเมื่ออุณหภูมิลดลง และใช้แว็กซ์เคลือบลำตัวเพื่อป้องกันการสูญเสียความร้อนจากร่างกายเมื่ออุณหภูมิต่ำลง ตัวเต็มวัยของด้วงปีกแข็ง (*Pterostichus brevicornis*) ในทวีปอาร์คติกสามารถทนต่ออุณหภูมิที่ลดต่ำกว่า -35 องศาเซลเซียส โดยด้วงชนิดนี้สามารถทนต่อการแช่แข็งในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ -85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยไม่ได้รับบาดเจ็บ (Best, 1990)

กลไกการเกิดผลึกทางกายภาพ เกิดจากน้ำซึ่งมีความหนืดต่ำ เมื่อเกิดการเย็นตัวลงอย่างรวดเร็ว โมเลกุลของน้ำไม่มีเวลาในการจัดเรียงตัวในการเกิดผลึก แต่การแช่แข็งที่เกิดการเปลี่ยนแปลงทันทีทันใด ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งและมีการเพิ่มความหนืดเพียงเล็กน้อยเมื่อเย็นตัวลง ในขณะที่ซิลิกา (SiO_2) ที่หลอมละลายมีความหนืดมาก ความหนืดนี้เป็นผลให้ซิลิกาก่อตัวเป็นโครงร่างโพลีเมอร์ซึ่งมีรูปร่างที่ไม่แน่นอนมากกว่าที่จะจัดเรียงตัวเป็นผลึก เมื่อนำไปแช่เย็นซิลิกาจะค่อยๆ กลายเป็นผลึกช้ามาก มีความหนาแน่นสูงมากและมีปริมาตรน้อย เมื่อให้ความเย็นเร็วขึ้นก็จะเกิดการด้านการเกิดผลึก เนื่องจากความหนืดทำให้ไม่เกิดการเปลี่ยนสถานะ เมื่อได้รับความเย็น ปริมาตรจะค่อยๆ ลดลงและความหนืดจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น การแข็งตัวเริ่มจากภายนอกสู่ภายใน เมื่อความเย็นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทำให้เกิดแรงเครียดขึ้น เนื่องจากด้านในที่อุ่นกว่าทำให้เกิดการหดตัวมากกว่าด้านนอก ทำให้เป็นสาเหตุที่การทำให้เย็นอย่างช้าๆ จึงลดการแตกร้าวของเซลล์ ในขณะที่น้ำตาลซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายซิลิกาที่สามารถเกิดผลึกได้ สารละลายน้ำตาลมีความหนืดมากและมีแนวโน้มก่อตัวเป็นโพลีเมอร์ที่มีรูปร่างไม่แน่นอน แต่มีพันธะระหว่างกันที่อ่อนกว่าซิลิกา ในขณะที่

ที่กลีเซอรอลกับน้ำในร่างกายของมนุษย์มีคุณสมบัติเหมือนน้ำตาลมากกว่าซัลฟิดา แต่มีความซับซ้อนมากกว่าเนื่องจากมีสารอื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น กลีเซอรีน โปรตีน ไขมัน เป็นต้น น้ำยังสามารถเกิดผลึกได้แม้มีการผสมกับกลีเซอรีนหรือสารละลายรักษาสภาพเนื้อเยื่อ สารละลายกลีเซอรีนมีประจุบวกที่อยู่ในสภาวะออกซิเดชันสูง (ประจุ 3 บวก) และมีประจุลบพื้นฐานอยู่มาก (เช่น ซัลเฟต) ทำให้เกิดผลึกได้ดีกว่าสารละลายกลีเซอรีนที่ไม่มีภาวะดังกล่าว ไนเตรตเกิดผลึกได้ดีกว่าคลอไรด์และแมกนีเซียม รวมถึงกลีเซอรีนของสังกะสี (Angell and Sare, 1970)

3. สารรักษาสภาพเซลล์

สารรักษาสภาพเซลล์บางทีก็เรียกว่า antifreeze agent หรือ preservative agent หรือ cryoprotectant เป็นสารเคมีที่ป้องกันไม่ให้เนื้อเยื่อเสียหายในระหว่างการแช่แข็งและการทำให้ละลาย เนื่องจากการแข็งตัวของน้ำภายในและภายนอกเซลล์ ทำให้เสียคุณสมบัติการยอมให้ผ่าน (permeability) ของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane หรือ plasmalemma) (Sorensen, 1979) ซึ่งในขบวนการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง เยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุดโดยการแตกและฉีกขาด นอกจากนี้ความเป็นพิษของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการเก็บรักษาก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่จะต้องคำนึงถึง เนื่องจากอาจทำให้องค์ประกอบของโปรตีนเปลี่ยนโครงสร้างไป (Conlon *et al.*, 1998) สารรักษาสภาพเซลล์มีหลายชนิดได้แก่

3.1 สารละลาย Normal Saline

Normal saline หรือ Isotonic saline เป็นสารละลายซึ่งมีความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.91 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งมีความเข้มข้นของกลีเซอรีนและความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับน้ำเลือด สารละลาย normal saline นิยมใช้ในทางการแพทย์ในกรณีที่คนไข้ไม่สามารถรับประทานอาหารทางปากได้ (Awad *et al.*, 2008) สารละลาย Normal Saline ถูกใช้อย่างกว้างขวางในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยเฉพาะการกระตุ้นการเคลื่อนไหวของน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง (Pukazhenthi *et al.*, 2002) ซึ่งจากการศึกษาของพลชาติ และคณะ (2547) ที่ทดลองเก็บรักษาน้ำเชื้อปลานิลโดยวิธีแช่แข็ง พบว่า 0.85% NaCl ทำให้สเปิร์มเคลื่อนไหวสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลา 96-120 ชั่วโมง

3.2 สารละลาย Modified Fish Ringer Solution

สารละลาย Modified Fish Ringer Solution เป็นสารละลายคลอไรด์ที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบของโซเดียม โปแตสเซียม และแคลเซียม ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับของเหลวภายในเซลล์ของสัตว์ และได้ถูกใช้เป็นน้ำเกลือทางกายภาพในการทดลองเพื่อแช่เนื้อเยื่อของสัตว์ (Ringer, 1887) ซึ่ง Basavaraja and Hegde (2004) รายงานว่าการใช้ Modified Fish Ringer Solution ได้ผลดีที่สุดในการใช้เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของน้ำเชื้อปลาเวียน *Tor khudree* (Sykes) โดยวิธีการแช่แข็ง ต่อมา Wolenski and Hart (2008) ศึกษาการตอบสนองของน้ำเชื้อในการผสมเทียมไข่ปลาหมาลาย *Brachydanio rerio* ใน Modified Fish Ringer Solution พบว่าน้ำเชื้อสามารถเข้าผสมได้ภายใน 3-4 นาที ได้ผลดีกว่าชุดควบคุม

3.3 สารละลาย Embryonic Solution

สารละลาย Embryonic Solution เป็นสารละลายที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อนประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นต่อการพัฒนาของตัวอ่อน ซึ่ง Graye and Mindel (2001) ใช้ Zebrafish Embryonic Solution ในการเก็บรักษาตัวอ่อนของปลาหมาลายในระยะ 16-32 เซลล์ ก่อนที่จะเข้าสู่ระยะบลาสตูลาประมาณ 7 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำไปปฏิสนธิแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง เพื่อศึกษาพัฒนาการและถ่ายภาพระยะการเกิดข้อปล้องของตัวอ่อน

3.4 สารละลายกลูโคส

กลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) กลูโคสมีสูตรโมเลกุล $C_6H_{12}O_6$ เซลล์ของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน และสารเผาผลาญขั้นกลาง (metabolic intermediate) กลูโคสเป็นหนึ่งในผลผลิตหลักของการสังเคราะห์แสง และเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการหายใจของเซลล์ กลูโคสสามารถผลิตเป็นการค้าได้โดยการไฮโดรไลซิสแป้งที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่ง วัตถุดิบที่สามารถใช้ผลิตกลูโคสได้เช่น ข้าว ข้าวโพด มันสำปะหลัง เป็นต้น พลชาติ และคณะ (2547) รายงานว่าเมื่อใช้กลูโคสเป็นส่วนผสมในน้ำยาเก็บรักษาสภาพเซลล์ ทำให้สเปอร์มของปลานิลมีการเคลื่อนไหวได้นานขึ้น

3.5 สารละลายทรีฮาโลส

ทรีฮาโลส (Trehalose; α -D-glucopyranosyl-1, 1- α -D-glucopyranoside) เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) ประกอบด้วยกลูโคส 2 โมเลกุล จับกับตำแหน่ง anomeric carbon ด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) ทำให้ทรีฮาโลสมีคุณสมบัติเป็น non-reducing sugar ซึ่งมีความเสถียรสูง เนื่องต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่นและไม่เป็นพิษกับสิ่งมีชีวิต ทรีฮาโลสพบในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย แมลง พืช สาหร่าย รา และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เป็นต้น ตำแหน่งของทรีฮาโลสในเซลล์แตกต่างกันไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิตได้แก่ ในเซลล์ยีสต์จะพบที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทรีฮาโลสทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมพลังงานให้กับสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ทรีฮาโลสยังมีส่วนสำคัญในการรักษาเซลล์เมมเบรน โดยไฮดรอกซิลกรุป (OH) ของทรีฮาโลสสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับฟอสโฟลิปิดของเซลล์เมมเบรน ซึ่งปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแทนที่น้ำ ในขณะที่เซลล์ของสิ่งมีชีวิตผ่านกระบวนการทำแห้งหรืออยู่ในสภาวะแห้งแล้ง ทำให้เซลล์เมมเบรนสามารถคงรูปอยู่ได้และสารภายในเซลล์ไม่รั่วออกมา (นิรมล และคณะ, 2540)

ทรีฮาโลสนิยมใช้เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ของโปรตีนและเยื่อหุ้มเซลล์จากการแช่เย็น การแช่แข็ง และการละลาย เนื่องจากทรีฮาโลสสามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์โดยการเข้าไปรวมกับฟอสโฟลิปิด โดยปกติเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่มีทรีฮาโลสเป็นส่วนประกอบ 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสามารถทนต่อการสูญเสียน้ำได้โดยสมบูรณ์ โดยทรีฮาโลสสามารถดึงโมเลกุลน้ำเข้าเป็นองค์ประกอบได้มากกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ 2 เท่า (Crowe *et al.*, 2001) ทรีฮาโลสจัดว่าเป็นวัตถุเจือปนอาหารชนิดหนึ่งที่ระดับความปลอดภัยค่อนข้างสูง โดยผ่านการประเมินความปลอดภัยจาก JECFA เมื่อปี ค.ศ.2000 เดิมการผลิตทรีฮาโลสเริ่มสกัดจากแหล่งธรรมชาติ เช่น เห็ด ยีสต์ หรือผักบางชนิด แต่การผลิตทรีฮาโลสเพื่อการค้าได้เริ่มที่ประเทศญี่ปุ่น โดยบริษัท ฮายาชิบารา จำกัด ได้ใช้วิธีการผลิตโดยการย่อยสลายแป้งด้วยเอนไซม์ (นงลักษณ์, 2541)

ปลาหมอ

1. อนุกรมวิธานและชีววิทยา

อนุกรมวิธานของปลาหมोजำแนกตาม Smith (1945) และ Suvatti (1950) ดังนี้

Phylum Chordata

Class Pisces

Subclass Teleostei

Order Labyrinthi

Family Anabantidae

Genus *Anabas*

Species *Testudineus* (Bloch, 1792)

ปลาหมอมียี่ชื้อสามัญว่า หมอ หมอไทย หรือ เสด็จ มีชื้อสามัญอังกฤษว่า Climbing perch (ทั่วไป), Koi (อินเดีย), Puyu (มาเลเซีย, อินโดนีเซีย) มีถิ่นอาศัยกระจายอยู่ทั่วไปในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อินเดีย และจีน ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในลำคลอง ทะเลสาบ บ่อ หนองน้ำ และบริเวณน้ำกร่อย โดยเฉพาะบริเวณที่มีพืชน้ำหนาแน่น ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ เนื่องจากมีอวัยวะช่วยหายใจ เป็นปลาที่มีรสชาติดี และเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Froese and Pauly, 2009) จากการศึกษาสัดส่วนความยาวลำตัวต่อความยาวลำไส้ แสดงว่าปลาหมอเป็นปลากินเนื้อ (สันติชัย, 2514)

2. การสืบพันธุ์และวางไข่

ปลาหมอขนาดโตเต็มวัยสามารถสืบพันธุ์และวางไข่ หลังจากฟักออกเป็นตัวประมาณ 5 เดือน มีขนาดความยาว 9-10 เซนติเมตร น้ำหนัก 30-40 กรัม (กำธร, 2514) ปลาหมอที่เจริญพันธุ์แล้วจะเริ่มวางไข่ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคม ชอบวางไข่ภายหลังได้รับน้ำใหม่จากฝนตก โดยเพศผู้จะสร้างหอดมีลักษณะเป็นฟองอากาศติดกันประมาณ 3-4 นิ้ว (สมโภชน์, 2523) ในขณะที่สันติชัย และ อำพร (2547) รายงานว่าปลาหมอในแถบลุ่มแม่น้ำปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช มีช่วงฤดูวางไข่ในระหว่างเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน

3. การเพาะพันธุ์

3.1 การเตรียมพ่อแม่พันธุ์

การจัดเตรียมพ่อแม่พันธุ์ปลาหมอโดยรวมจากธรรมชาติ หรือจากการเพาะพันธุ์แล้วเลี้ยงไว้ในบ่อพ่อแม่พันธุ์ เช่น บ่อดิน บ่อซีเมนต์ กระชัง เป็นต้น พ่อแม่พันธุ์ปลาหมอที่มีน้ำหนัก 30-120 กรัม มีอายุประมาณ 5 เดือน ขึ้นไปจะสามารถผสมพันธุ์วางไข่ได้ ในขณะที่พ่อแม่พันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงควรมีน้ำหนัก 60-120 กรัม และเป็นปลาที่เจริญเติบโตดีที่สุดในรอบ (สมพงษ์, 2542)

3.2 การคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์

การคัดเลือกแม่พันธุ์ปลาหมอที่มีความพร้อมในการเพาะพันธุ์นั้น เมื่อพิจารณาจากลักษณะภายนอกควรมีท้องอูมเป่งเห็นได้ชัดเจน ช่องเพศขยายใหญ่มีสีแดง เมื่อบีบส่วนท้องเบาๆ จะเห็นไข่มีลักษณะกลมสีเหลืองอ่อน เมื่อบีบแรงจะมีไข่บางส่วนหลุดออกมา ส่วนการคัดเลือกพ่อพันธุ์นั้น ควรเลือกตัวที่ท้องมีลักษณะปกติ เมื่อบีบส่วนท้องตามแนวอ้นทะเบาๆ จะมีน้ำเชื้อสีขาวพุ่งไหลออกมา (สมพงษ์, 2542)

3.3 วิธีการเพาะพันธุ์

ภายหลังการคัดเลือกพ่อแม่พันธุ์ปลาหมอแล้ว สามารถปล่อยให้พ่อแม่ปลาผสมพันธุ์กันเอง โดยใช้น้ำใหม่เป็นตัวกระตุ้นการวางไข่ โดยเพาะพันธุ์ในบ่อซีเมนต์ขนาด 0.5-2.0 ตารางเมตร อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 2: 1 หรือ 3: 1 ขึ้นอยู่กับขนาดของพ่อแม่พันธุ์ หรืออาจใช้วิธีการกระตุ้นการวางไข่โดยการฉีดฮอร์โมน ฮอร์โมนที่ใช้อาจเป็นต่อมใต้สมองปลาในความเข้มข้น 2 โคส (สมพงษ์, 2531) หรือฮอร์โมนสังเคราะห์ Buserelin (ชื่อทางการค้า Suprefact) ความเข้มข้น 20-30 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม ร่วมกับยาเสริมฤทธิ์ Domperidone (ชื่อทางการค้า Motilium-M) ความเข้มข้น 5-9 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแม่ปลา 1 กิโลกรัม แม่ปลาจะวางไข่ภายหลังการฉีดฮอร์โมนประมาณ 6-12 ชั่วโมง (สมพงษ์, 2542)

3.4 ความคกของไข่

ความคกของไข่ปลาหมอขึ้นอยู่กัขนาดแม่ปลาและสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น ปริมาณอาหาร คุณภาพน้ำ เป็นต้น (สมพงษ์, 2542) จากการศึกษาของสมพงษ์ (2531) พบว่า ความสัมพันธ์ ระหว่างความคกของไข่ปลาหมอ (Y) กัน้ำหนัแม่ปลา (X) มีความสัมพันธ์แบบ เส้นตรงคือ $y = 8515.61 + 545.5939x$, $y = -8301.325 + 731.4721x$ และ $y = -20005.05 + 726.9838x$ ในเดือนสิงหาคม กันยายน และตุลาคม มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9224, 0.8625 และ 0.7194 จากตัวอย่างแม่ ปลาขนาด 21.50 – 141.73, 18.36-131.76 และ 14.55-137.41 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่สันติชัย และ อำพร (2547) รายงานว่าปลาหมอขนาดความยาวเฉลี่ย 13.3 ± 2.3 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ย 49.0 ± 32.3 กรัม มีความคกของไข่เฉลี่ย $31,471 \pm 20,010$ ฟอง

3.5 พัฒนาการของไข่และตัวอ่อน

ไข่ปลาหมอเป็นไข่ลอย มีขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 มิลลิเมตร ลักษณะกลม เมื่อ ใต้รับการผสมกับน้ำเชื้อแล้วจะมีสีเหลืองอ่อน เยื่อหุ้มไข่บางชั้นเดียว ไข่แดงกลมขนาดเส้นผ่าน ศูนย์กลาง 0.6 มิลลิเมตร เป็นแบบ telolecithal egg ด้านเวเจทัล โพล (vegetal pole) ภายในมีหยด น้ำมันขนาดใหญ่ (oil globule) และมีหยดน้ำมันขนาดเล็ก (oil droplets) กระจายทั่วไป ส่วนไข่ที่ ไม่ได้รับการผสมมีสีเหลืองอ่อนทึบแสง ขนาดเล็กกว่าไข่ที่ได้รับการผสมเล็กน้อย หลังจากใต้รับ การผสม การแบ่งเซลล์ของไข่เริ่มที่ระยะ คีเลเวจ (cleavage) เกิดเฉพาะบริเวณบลาสโตดิสก์ (blastodisc) เป็นการแบ่งเซลล์แบบ meroblastic การแบ่งเซลล์เกิดตรงบริเวณแอนิมอล โพล (animal pole) ประมาณ 1 ชั่วโมง บลาสโตดิสก์ทางแอนิมอล โพลมีลักษณะหนาที่บนูนออกมาเห็น เป็นเซลล์เดี่ยว ต่อมาเกิดการแบ่งเซลล์ออกเป็นบลาสโตเมอร์ (blastomere) 2, 4, 8, 16, 32, 64 และ 128 เซลล์ ตามลำดับ เซลล์จำนวน 128 เซลล์ ขยายตัวเบียดกันแน่นกลายเป็นระยะมอรูลา (morula) และพัฒนาต่อเป็นระยะบลาสตูลา (blastula) ระยะแกสตรูลา (gastrula) ระยะเกิดปุ่มหัวและปุ่มหาง (head bud and tail bud stage) และระยะเกิดข้อปล้อง (somite stage) หลังจากนั้นตัวอ่อนของลูกปลา จะคืบและฟักออกเป็นตัวในที่สุด หลังจากฟักออกเป็นตัว ตัวอ่อนมีถุงไข่แดง (yolk) ขนาดใหญ่ ทำ ให้ตัวอ่อนลอยอยู่ที่ผิวน้ำ 1-3 วัน ต่อจากนั้นจะเริ่มเคลื่อนที่เป็นอิสระ เนื่องจากครีบต่างๆ มีการ พัฒนามากขึ้นและเริ่มกินอาหาร (สมพงษ์, 2531)

3.6 อัตราการฟักของไข่

สมพงษ์ (2531) ศึกษาการเพาะพันธุ์ปลาหมอโดยการฉีดฮอร์โมนกระตุ้นการวางไข่ พบว่ามีอัตราการผสมเท่ากับ 97.17-97.83 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการฟักเท่ากับ 91.65-94.34 เปอร์เซ็นต์

4. การอนุบาล

ลูกปลาหมอวัยอ่อน (post larva) ภายหลังจากฟักออกจากไข่ มีความยาวประมาณ 1.9 มิลลิเมตร มีถุงไข่แดงขนาดใหญ่ ลูกปลายังไม่กินอาหารจนกว่าถุงไข่แดงยุบเกือบหมดในเวลา 3 วัน ลูกปลาเริ่มกินอาหารเมื่อมีความกว้างปากประมาณ 200-250 ไมครอน เนื่องจากปลาหมอเป็น ปลากินเนื้อ (carnivorous fish) ดังนั้นอาหารที่สอดคล้องกับพฤติกรรมการกินอาหารของลูกปลา หมอในช่วงแรกควรเป็นอาหารมีชีวิต ได้แก่ โปรโตซัว โรติเฟอร์ โคพิพอด ออสตราคอด ไรแดง และตัวอ่อนของแมลง ที่มีขนาดเล็กกว่าปากของลูกปลาวัยอ่อน (กำธร, 2514; สมพงษ์, 2531; Doolgindachbaporn, 1994; Kohinoor *et al.*, 1995) สมพงษ์ (2531) ศึกษาการอนุบาลลูกปลาหมอวัย อ่อนอายุ 3 วัน ด้วยอาหาร 4 ชนิด ได้แก่ โรติเฟอร์ คลอเรลลา ไข่แดงคัมสุก และไรแดง พบว่ามี อัตรารอดภายหลังการอนุบาลเป็นเวลา 7 วัน เท่ากับ 52.67, 13.11, 10.00 และ 7.56 เปอร์เซ็นต์ และมีอัตรารอดภายหลังการอนุบาลเป็นเวลา 14 วัน เท่ากับ 47.22, 0.44, 3.33 และ 3.89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

จากการศึกษาของ Doolgindachbaporn (1994) พบว่าลูกปลาหมออายุ 3-17 วัน กินเฉพาะ อาหารมีชีวิตเท่านั้น แต่ในช่วงอายุ 17-36 วัน ลูกปลาชอบรับอาหารสมทบมากขึ้น จนสามารถกิน อาหารสมทบเพียงอย่างเดียวตั้งแต่อายุ 36 วัน ขึ้นไป โดยพบว่าระดับโปรตีนที่เหมาะสมในอาหาร สมทบในช่วงดังกล่าวเท่ากับ 30.59 เปอร์เซ็นต์ โดยแนะนำชนิดของอาหารที่ใช้อนุบาลลูกปลาหมอ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ชนิดของอาหารที่ให้แก่ลูกปลาหมอในช่วงอายุ 4-36 วัน

ชนิดอาหาร	อายุของลูกปลาหมอ (วัน)	ช่วงเวลาให้อาหาร
โรติเฟอร์	4-10	ทุก 4 ชั่วโมง ในช่วง 9.00-16.00 น.
ไรแดง	8-27	”
อาหารสมทบ	24-36	”

ที่มา: Doolgindachbaporn (1994)

Doolagindachbaporn (1994) ศึกษาการอนุบาลลูกปลาหมอด้วยอัตราความหนาแน่น 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220 และ 240 ตัวต่อลิตร ในน้ำนิ่ง เป็นเวลา 14 วัน ในภาชนะพลาสติกกลมขนาดความจุ 7.5 ลิตร เติมน้ำ 5 ลิตร ให้โรติเฟอร์เป็นอาหารในระหว่างการอนุบาลวันที่ 1-7 ที่ระดับความหนาแน่น 20 ตัวต่อมิลลิตร และให้ไรแดงในการอนุบาลระหว่างวันที่ 5-14 ที่ระดับความหนาแน่น 10 ตัวต่อมิลลิตร พบว่าอัตราการรอดและอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออัตราความหนาแน่นสูงขึ้น สรุปว่าอัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมในการอนุบาลลูกปลาหมอคือ 20 ตัวต่อมิลลิตร

วีระ และคณะ (2546 ก) ทดลองอนุบาลลูกปลาหมอด้วยอัตราความหนาแน่น 2 อัตรา และอาหาร 4 สูตร ในตู้กระจกปริมาตรน้ำ 100 ลิตร เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าลูกปลาหมอที่อนุบาลด้วยอัตราความหนาแน่น 20 ตัวต่อลิตร โดยให้ไข่แดง+คลอเรลลา+โรติเฟอร์+ไรแดง เป็นอาหาร ทำให้ลูกปลามีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด ในขณะที่ลูกปลาที่อนุบาลด้วยอัตราความหนาแน่น 20 ตัวต่อลิตร และให้ไข่แดง+ โรติเฟอร์+ไรแดง เป็นอาหาร ทำให้ลูกปลามีอัตราการรอดสูงสุด

วีระ และคณะ (2546 ข) ทดลองอนุบาลลูกปลาหมอด้วยอาหาร 3 สูตร ในบ่อซีเมนต์ขนาด 15 ตารางเมตร ระดับน้ำลึก 40 เซนติเมตร อัตราความหนาแน่น 1,000 ตัวต่อตารางเมตร เป็นระยะเวลา 42 วัน พบว่าลูกปลาหมอที่อนุบาลด้วย ไข่แดง+โรติเฟอร์+ไรแดง มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุด ในขณะที่ลูกปลาที่อนุบาลด้วยอาหารทั้ง 3 สูตร มีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ

5. การเลี้ยง

ปลาหมอเป็นปลาน้ำจืดที่นิยมเลี้ยงกันในหลายประเทศ ได้แก่ เนปาล อินเดีย มาเลเซีย ไทย กัมพูชา เวียดนาม ฟิลิปปินส์ และอินโดนีเซีย โดยมีเลี้ยงกันใน 2 รูปแบบ คือ การเลี้ยงปลาหมอชนิดเดียว และการเลี้ยงร่วมกับปลาชนิดอื่นๆ ได้แก่ ปลาดุก ปลาจืด ปลาช่อน ปลาสลิด และปลากะตัก ส่วนใหญ่ปลาหมอนิยมเลี้ยงในบ่อดิน นาข้าว และกระชัง (สมพงษ์, 2542)

การวิจัยเกี่ยวกับการเลี้ยงปลาหมอในประเทศไทยนั้นได้ดำเนินการอย่างต่อเนื่อง กำธร (2514) ได้ทดลองเลี้ยงปลาหมอน้ำหนักเฉลี่ย 2 กรัม จำนวน 422 ตัว ในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร ให้อาหารอัตรา 5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว นาน 6 เดือน ได้ปลาน้ำหนักเฉลี่ย 34.55 กรัม มีอัตราการรอด 93.6 เปอร์เซ็นต์ และได้ผลผลิต 436.7 กิโลกรัมต่อไร่ ต่อมา Mangklamanee (1986) รายงานว่าการเลี้ยงปลาหมอด้วยปลาเป็ดบดและให้อาหารเม็ดปลาดุกลอยน้ำเสริม 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์ เริ่มต้นปลามีน้ำหนัก 2.5 กรัม ใช้เวลาเลี้ยง 6 เดือน ได้ผลผลิตปลาขนาด 10-12 ตัวต่อกิโลกรัม ในขณะที่ปลาที่เริ่มต้นเลี้ยงน้ำหนัก 10 กรัม ใช้เวลาเลี้ยง 3-4 เดือน ได้ผลผลิตปลาขนาด 8-10 ตัวต่อกิโลกรัม การทดลองเลี้ยงปลาหมอด้วยอาหารเม็ดลอยน้ำนั้น ศักดิ์ชัย และ ธาณี (2530) รายงานว่าการเลี้ยงปลาหมอน้ำหนักเฉลี่ย 3.54 กรัม และความยาวเฉลี่ย 5.37 เซนติเมตร จำนวน 450 ตัว ด้วยอาหารเม็ดลอยน้ำโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ในถังไฟเบอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เมตร สูง 1.2 เมตร บรรจุน้ำ 1.5 ลูกบาศก์เมตร นาน 20 สัปดาห์ ได้ปลาขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 13.5 กรัม และความยาวเฉลี่ย 9.14 เซนติเมตร และมีอัตราการรอด 43.35 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาศักดิ์ชัย และ ปวีณา (2534) ทดลองเลี้ยงปลาหมอน้ำหนักเฉลี่ย 0.94 กรัม และความยาวเฉลี่ย 2.83 เซนติเมตร ด้วยอาหารเม็ดลอยน้ำโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์ ในถังไฟเบอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เมตร บรรจุน้ำ 1 ลูกบาศก์เมตร ด้วยอัตราความหนาแน่น 100, 200 และ 300 ตัวต่อถัง นาน 24 สัปดาห์ ได้ปลาขนาดน้ำหนักเฉลี่ย 14.76, 12.86 และ 13.49 กรัม ความยาวเฉลี่ย 9.63, 9.38 และ 9.42 เซนติเมตร และมีอัตราการรอด 87.0, 85.0 และ 80.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ต่อมา นำชัย และคณะ (2540) ได้ศึกษาระดับโปรตีนในอาหารและความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาหมอไทยในกระชัง พบว่าควรเลี้ยงด้วยความหนาแน่น 200 ตัวต่อตารางเมตร และเลี้ยงด้วยอาหารที่มีระดับโปรตีน 30 เปอร์เซ็นต์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กรงดำกรีนน้ำจืดแบบลอยน้ำ (คลุมพื้นที่ผิวน้ำ 0.24 ตารางเมตร)
2. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง
4. กล้องถ่ายภาพ
5. ขวดเก็บตัวอย่าง
6. จานแก้ว
7. ปากคืบ
8. เข็มเขี่ย
9. กรงเพาะพันธุ์แมลง
10. ตู้กระจกเลี้ยงปลา
11. กุ้งพลาสติก
12. เครื่องวัดแสง (photometer)
13. อุปกรณ์ตั้งเวลา
14. หลอดไฟและอุปกรณ์
15. เครื่องนับจำนวน (counter)
16. ตู้เย็นชนิดควบคุมอุณหภูมิ
17. ถังไนโตรเจนเหลว (liquid nitrogen)
18. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
19. เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์
20. เทอร์โมมิเตอร์
21. อุปกรณ์วัดความโปร่งแสง (Sacchi disc)
22. ไมโครปิเปต
23. เครื่องวัดออกซิเจนในน้ำ (dissolved oxygen meter)
24. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
25. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรินน้ำจืดในบ่อพักน้ำ

1.1 สถานที่ศึกษา

การศึกษาคความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรินน้ำจืด ได้ดำเนินการศึกษาในบ่อพักน้ำซึ่งมีพื้นที่น้ำประมาณ 18 ไร่ ของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด อำเภอบางไทร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ตั้งอยู่ที่ละติจูด $14^{\circ}08'07''$ N ลองจิจูด $100^{\circ}31'32''$ E โดยมีน้ำตลอดทั้งปี บ่อพักน้ำมีระดับความลึกแตกต่างกันไปตามสภาพของบ่อ โดยมีความลึกเฉลี่ย 5.2 เมตร ($SD \pm 0.54$) และมีสัตว์น้ำจำพวกปลาจืดขนาดใหญ่อาศัยอยู่เล็กน้อย มีพันธุ์ไม้หลายชนิดขึ้นอยู่บริเวณคันดินขอบบ่อพักน้ำและบริเวณชายน้ำ บ่อพักน้ำถูกใช้ในกิจกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของสถาบันฯ การเปลี่ยนแปลงระดับน้ำขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่สูบเข้าจากแม่น้ำเจ้าพระยาเพื่อชดเชยการไ้ การระเหยและการรั่วซึม ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน โดยสูบเข้าในตอนกลางวันทุกๆ วัน (ภาพที่ 2, 3 และ 4)

1.2 การออกแบบกรงคักรินน้ำจืด

กรงคักรินน้ำจืดชนิดลอยน้ำที่ใช้ในการศึกษารั้งนี้ ประดิษฐ์ขึ้นตามรูปแบบของ Lasage and Harrison (1979) โครงสร้างหลักทำด้วยอลูมิเนียมประกอบกับฐานที่เป็นทุ่นโฟม ด้านบนของกรงบุด้วยตาข่ายอลูมิเนียมและยึดติดกับหัวคักที่มีถ่วงน้ำหนักพลาสติกใสคว่ำอยู่ ฐานของกรงครอบคลุมพื้นที่ผิวน้ำเท่ากับ 0.24 ตารางเมตร กรงคักรินน้ำจืดนี้ใช้สำหรับคักตัวเต็มวัยของรินน้ำจืดที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำ เมื่อรินน้ำจืดบินขึ้นสู่ด้านบนของกรงจะเข้าสู่ถ่วงน้ำหนักพลาสติกและถูกคักติดอยู่ (ภาพที่ 5)

1.3 การสุ่มตัวอย่างรินน้ำจืด

วางกรงคักรินน้ำจืดจำนวน 5 ชุด ในบ่อพักน้ำโดยวางกรงคักรินน้ำจืด 1 ชุดต่อจุดสำรวจด้วยวิธีสุ่ม ระยะเวลาศึกษาระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 – มกราคม พ.ศ. 2552 วางกรงคักรินน้ำจืดเป็นระยะเวลา 7 วัน ทุกๆ 2 เดือน หลังจากนั้นจึงรวบรวมรินน้ำจืดที่อยู่ในถ่วงน้ำหนักพลาสติกจากแต่ละกรงคักรินน้ำจืด นำตัวอย่างรินน้ำจืดที่รวบรวมได้มาเก็บรักษาในเอทิล

แอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ก่อนนำไปจำแนกทางอนุกรมวิธานโดยใช้รูปร่างภายนอกเป็นเกณฑ์ ตามคู่มือการจำแนกของ Sasa and Kikuchi (1995) และ Crantons (2004) ที่ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

1.4 การรวบรวมข้อมูลสภาวะอากาศและคุณภาพน้ำ

ข้อมูลสภาวะอากาศที่เกี่ยวข้องได้แก่ ปริมาณน้ำฝนรายเดือน ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิในช่วงระยะเวลาที่ศึกษา ได้จากงานบริการข้อมูล กรมอุตุนิยมวิทยา ที่เก็บและรวบรวมข้อมูลจากสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา (ตารางภาคผนวกที่ 1)

ข้อมูลคุณภาพน้ำที่เกี่ยวข้องได้แก่ อุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความโปร่งแสง ความกระด้าง ความเป็นด่าง และแอมโมเนียรวม โดยตรวจวัดอุณหภูมิและความโปร่งแสงของน้ำ ณ จุดที่วางกรงดักรินน้ำจืดในวันที่เก็บตัวอย่าง และเก็บตัวอย่างน้ำที่ระดับความลึก 30 เซนติเมตร จากผิวน้ำด้วยขวดบีโอดี เพื่อนำไปตรวจวัดและวิเคราะห์คุณภาพน้ำปัจจัยอื่นๆ ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เครื่องมือและวิธีการดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เครื่องมือและวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำปัจจัยต่างๆ

ปัจจัย	หน่วย	เครื่องมือ/วิธีการ	ที่มา
อุณหภูมิ	องศาเซลเซียส	เทอร์โมมิเตอร์	-
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ	มิลลิกรัมต่อลิตร	DO meter HACH model HQ10	-
ความเป็นกรดเป็นด่าง	-	pH meter HACH model Sension3	-
ความกระด้าง	มิลลิกรัมต่อลิตร	EDTA Titrimetric method	AOAC (2000)
ความเป็นด่าง	มิลลิกรัมต่อลิตร	Titrimetric method	AOAC (2000)
แอมโมเนียรวม	มิลลิกรัมต่อลิตร	Phenate method	AOAC (2000)
ความโปร่งแสง	เซนติเมตร	Secchi disk	-

1.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลชนิดและจำนวนตัวของรึ้นน้ำจืดที่เก็บจากแต่ละจุดสำรวจในแต่ละเดือนที่สำรวจไปรวบรวมและคำนวณ เพื่อหาค่าดัชนีความหลากหลายของแซนนอน-วีเนอร์ (Shannon-Wiener's Index, H') เพื่อประเมินความหลากหลายของระบบนิเวศน์ (Magurran, 1988) จากสมการ

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

โดยที่ p_i คืออัตราส่วนความชุกชุมของสิ่งมีชีวิตชนิดที่ $i = (n_i / N)$

ส่วนค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพิลิว (Pielou Evenness Indices; J') (Lugwig and Reynolds, 1988) จากสมการ

$$J' = H' / \ln(S)$$

โดยที่ H' คือค่าดัชนีความหลากหลายของแซนนอน-วีเนอร์

นำผลค่าความหลากหลายชนิด (species richness) และความชุกชุม (abundance) ที่ได้จากการคำนวณ ไปหาความแตกต่างทางสถิติของรึ้นน้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจด้วยวิธี Kruskal-Wallis nonparametric test

นำข้อมูลความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของแต่ละเดือนที่สำรวจไปคำนวณความคล้ายคลึง (similarity) เพื่อสรุปรูปแบบความสัมพันธ์ใน 2 มิติ (dimension) โดยใช้วิธีวิเคราะห์ Principle Component Analysis (PCA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

นำข้อมูลสภาวะอากาศไปหาความแตกต่างทางสถิติของปัจจัยต่างๆ ในแต่ละเดือนที่สำรวจด้วยวิธี Kruskal-Wallis nonparametric test ส่วนข้อมูลคุณภาพน้ำใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยแต่ละตัวกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุมในแต่ละเดือนที่สำรวจโดยใช้วิธีการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของเพียร์สันด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป โดยมีเกณฑ์วัดดังนี้

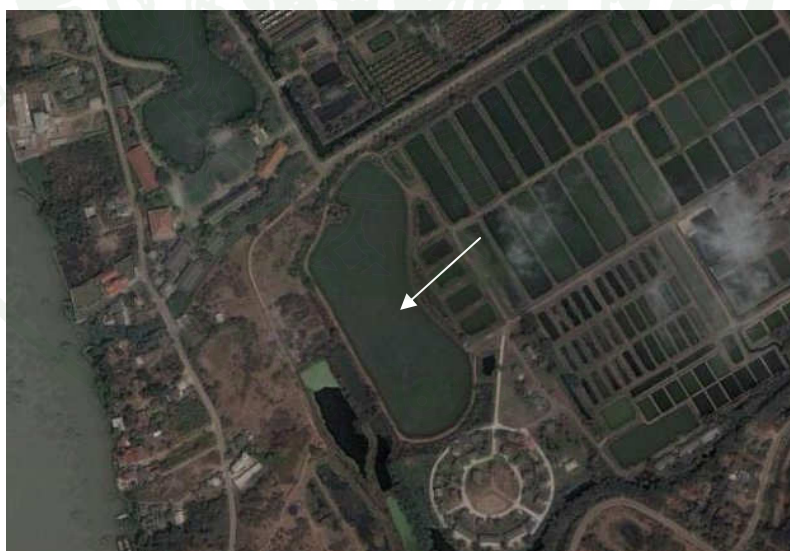
- 1.0 ถึง 0.71 มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับสูง
- 0.70 ถึง 0.31 มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลาง
- 0.30 ถึง 0.01 มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำ
- 0.30 ถึง -0.01 มีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับต่ำ
- 0.70 ถึง -0.30 มีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับปานกลาง
- 1.0 ถึง -0.71 มีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับสูง





ภาพที่ 2 แผนที่แสดงที่ตั้งจังหวัดพระนครศรีอยุธยาซึ่งเป็นสถานที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและความหลากหลายในรอบปีของรีนน้ำจืดในบ่อพักน้ำ

ที่มา: Wikimedia Commons (2009)



ภาพที่ 3 แผนผังการใช้ประโยชน์พื้นที่ของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา และพื้นที่ใกล้เคียง (สรชี้: แสดงบ่อพักน้ำ)

ที่มา: Google Earth (2009)



ภาพที่ 4 สภาพโดยทั่วไปของบ่อพักน้ำขนาด 18 ไร่ ของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ซึ่งมีน้ำตลอดปีและมีพันธุ์ไม้น้ำขึ้นอยู่โดยรอบบริเวณขอบบ่อ



ภาพที่ 5 รูปแบบของกรงดำกรีนน้ำจืดและลักษณะการวางในบ่อพักน้ำ

2. วงจรชีวิตและการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด

2.1 การคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

การศึกษาคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทำการศึกษาเบื้องต้นโดยรวบรวมชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในพื้นที่ฟาร์มเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของเอกชนและหน่วยงานของกรมประมง ในพื้นที่ตัวแทนจากแต่ละภาคของประเทศไทย ได้แก่ ภาคเหนือ (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดเชียงใหม่) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดชัยภูมิ) ภาคกลาง (สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา) ภาคตะวันออก (น้ำใสฟาร์ม จังหวัดปราจีนบุรี) ภาคตะวันตก (ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดกาญจนบุรี) และภาคใต้ (สถานีประมงน้ำจืดจังหวัดนครศรีธรรมราช) ด้วยกับดักแมลงมีแสงไฟล่อ (light trap) พบว่าชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในแต่ละพื้นที่ตัวแทนในแต่ละภาคของประเทศไทยมีความใกล้เคียงกัน จึงทำการสุ่มพื้นที่ตัวแทน โดยได้จังหวัดพระนครศรีอยุธยาเป็นตัวแทน กำหนดวิธีการศึกษาชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในธรรมชาติ โดยรวบรวมรึ้นน้ำจืดขณะเป็นระยะตัวหนอนจากบ่อเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด อำเภอบางไทร จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เพื่อให้แน่ใจว่าได้ชนิดของรึ้นน้ำจืดที่ให้หนอนแดง โดยเก็บตัวอย่างหนอนแดงจากก้นบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง (*Moina macrocopa*) ที่เพาะเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร ภายหลังจากระบายน้ำทิ้งจนหมด (ภาพที่ 6) ทำการสุ่มตัวอย่างบ่อละ 5 จุด แต่ละจุดครอบคลุมพื้นที่ก้นบ่อ 1 ตารางเมตร จากจำนวนบ่อเพาะเลี้ยงไรแดงทั้งหมดจำนวน 7 บ่อ โดยสุ่มตัวอย่างทุกๆ 7 วัน ในระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2550 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551 จำนวน 10 ครั้ง หนอนแดงที่รวบรวมได้ในแต่ละครั้งถูกนำไปเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสขนาด 3,000 ลิตร ภายใต้อาหารและแสงธรรมชาติ ให้คลอเรลลาเป็นอาหารและเพิ่มออกซิเจนในน้ำโดยการเติมอากาศผ่านทางหัวทราย วางกรงดักรึ้นน้ำจืดแบบลอยน้ำจำนวน 2 ชุด ในแต่ละถัง เพื่อรวบรวมรึ้นน้ำจืดตัวเต็มวัยที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำโดยสุ่ม (ภาพที่ 7)

นำรึ้นน้ำจืดที่รวบรวมได้ไปคัดแยกชนิดโดยพิจารณาจากลักษณะภายนอก เช่น สี ลำตัว ลักษณะปีก เป็นต้น หลังจากนั้นจึงนำรึ้นน้ำจืดดังกล่าวไปแยกเลี้ยงเพื่อตรวจสอบคุณลักษณะที่ดี (good performance) โดยเลี้ยงในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด 25x30x35 เซนติเมตร ซึ่งภายในบรรจุภาชนะพลาสติกขนาด 10x15x10 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำสะอาดจำนวน 250 มิลลิลิตร สำหรับให้รึ้นน้ำจืดลงวางไข่ และภายในบรรจุสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์วางในจานแก้วขนาดเล็กเพื่อเป็นอาหารของรึ้นน้ำจืดเพศผู้ (ภาพที่ 8) เมื่อพบการวางไข่ของรึ้นน้ำจืดเพศเมียในภาชนะพลาสติก จึงคัดแยกฟักไข่ นำมานับจำนวนไข่ต่อฟักไข่ และย้ายมาฟักใน

หลอดแก้วขนาดใหญ่ที่มีการให้อากาศเบาๆ ตลอดเวลา เมื่อฟักออกเป็นตัวแล้วจึงนับจำนวนไข่ดี และไข่เสีย เพื่อหาอัตราการฟัก และระยะเวลาฟัก หลังจากนั้นนำหนอนแดงแต่ละชนิด ไปแยกเลี้ยง ในถังไฟเบอร์ขนาด 20 ลิตร (ภาพที่ 9) เพื่อศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการ (development period) และระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ได้ (longevity) ของตัวเต็มวัย พร้อมทั้งเก็บตัวอย่างระยะต่างๆ ระหว่างพัฒนาการ และดองตัวอย่างในเอทานอลความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำไปวัดความกว้าง กระโหลกของระยะตัวหนอน (larvae head capsule width) และความยาวตัว (ตั้งแต่ส่วนหน้าของ กระโหลกไปจนถึงส่วนปลายของปล้องสุดท้ายของลำตัว) ของระยะตัวหนอนวัยต่างๆ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มี micrometric scale โดยสามารถจำแนกได้จากการใช้ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้าง กระโหลกและความยาวลำตัว ต่อจากนั้นจึงนำไปจำแนกทางอนุกรมวิธานของรึ้นน้ำจืดแต่ละชนิด จากตัวอย่างตัวเต็มวัยเพศผู้ นำข้อมูลต่างๆ ที่รวบรวมได้ไปประเมินคุณลักษณะที่ดีเพื่อใช้ในการ เลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดที่จะนำไปใช้ในการศึกษาหัวข้อต่างๆ ต่อไป

2.2 การศึกษาการเพาะพันธุ์

2.2.1 อัตราส่วนเพศ

การทดลองเพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียต่อปริมาณการวางไข่ จำนวนไข่ต่อฟักไข่ และอัตราการฟักในการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design) ที่มี 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ เพื่อศึกษา อัตราส่วนเพศต่างๆ ดังนี้ 1:10, 1:2, 1:1, 3:2 และ 2:1 ดำเนินการในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด 25x30x35 เซนติเมตร ซึ่งภายในบรรจุภาชนะพลาสติกขนาด 10x15x10 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำสะอาดจำนวน 250 มิลลิลิตร ภายในกรงบรรจุลึขุบสารละลายน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ โดยกำหนดให้เพศเมียคงที่จำนวน 40 ตัวต่อกรง ในขณะที่จำนวนเพศผู้เปลี่ยนแปลงไปตามอัตราส่วนเพศดังที่กำหนดในแต่ละชุดทดลอง ดำเนินการทดลองเป็นระยะเวลา 4 วัน ตรวจสอบการวางไข่ของรึ้นน้ำจืดทุกวันเวลา 9.00 น. เมื่อพบการวางไข่จึงแยกฟักไข่ออกมา นับจำนวน และนำไปฟักในหลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อหาอัตราการฟักจากสูตร

$$\text{อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนตัวอ่อนที่ฟักทั้งหมด}}{(\text{จำนวนตัวอ่อนที่ฟักทั้งหมด} + \text{จำนวนไข่ทั้งหมดที่ไม่ฟัก})} \times 100$$

นำข้อมูลจำนวนผักโขม จำนวนไข่ต่อผักโขม และอัตราการฟัก ซึ่งเป็นข้อมูลแบบสถิติอิงพารามิเตอร์ (parametric statistic) โดยแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

2.2.2 ผลของปัจจัยแสง

การทดลองเพื่อศึกษาปัจจัยแสงต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด วางแผนการทดลองแบบสุ่มทดลอง ที่มี 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ เพื่อศึกษาปัจจัยของแสงต่างๆ ดังนี้

ก. สีของแสง (Light Colour)

การทดลองเกี่ยวกับสีของแสง ดำเนินการโดยใช้หลอดไฟแบบไส้ (Incandescent lamp) ขนาด 60 วัตต์ ยกเว้นแสงสีขาวใช้หลอด Cool Daylight ขนาด 11 วัตต์ (ให้กำลังแสงเทียบเท่าหลอดไส้ขนาด 60 วัตต์) จำนวน 4 หลอดต่อกรง เพื่อศึกษาผลของสีต่างๆ ของแสงต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด ดังนี้ สีแดง (red) สีส้ม (orange) สีเขียว (green) สีน้ำเงิน (blue) และสีขาว (white)

ข. ความเข้มของแสง (Light Intensity)

นำผลที่ได้จากการทดลองที่ 2.2.2 (ก) โดยเลือกสีของแสงที่เหมาะสมมาทดลองผลของความเข้มแสงต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด ดังนี้ 250, 500, 750, 1,000 และ 1,250 ลักซ์ โดยกำหนดการวัดความเข้มของแสงที่ระนาบบนสุดของกรงเพาะพันธุ์แมลง ด้วยเครื่องวัดแสง (photometer)

ค. ช่วงแสง (Photo period)

จากนั้นจึงนำผลที่ได้จากการทดลองที่ 2.2.2 (ก และ ข) มาทำการทดลองต่อ โดยเลือกสีและความเข้มของแสงที่เหมาะสม มาทดสอบผลของช่วงแสง (จำนวนชั่วโมงสว่างต่อ

ชั่วโมงมืด) ต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด ดังนี้ 24 สว่าง: 0 มืด, 18 สว่าง: 6 มืด, 12 สว่าง: 12 มืด, 6 สว่าง: 18 มืด และ 0 สว่าง: 24 มืด

ในทุกการทดลองที่เกี่ยวกับแสง ดำเนินการภายใต้ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26.0 ± 1.0 องศาเซลเซียส ทดลองในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด $25 \times 30 \times 35$ เซนติเมตร ซึ่งภายในบรรจุภาชนะพลาสติกขนาด $10 \times 15 \times 10$ เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำสะอาดจำนวน 250 มิลลิลิตร และภายในกรงยังบรรจุถ้ำสำหรับสาหร่ายน้ำตาสูโครสเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำรึ้นน้ำจืดที่เพิ่งลอกคราบขึ้นจากน้ำจำนวน 80 ตัว โดยใช้อัตราส่วนเพศที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2.2.1 ดำเนินการทดลองเป็นระยะเวลา 4 วัน ตรวจสอบการวางไข่ของรึ้นน้ำจืดทุกวันเวลา 9.00 น. เมื่อพบการวางไข่จึงแยกฟักไข่ออกมา นับจำนวน และนำไปฟักในหลอดทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ยาว 10 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 48 ชั่วโมง จึงนำมานับจำนวนภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ เพื่อหาอัตราการฟัก หลังจากที่ยกฟักไข่ออกจากกรงเพาะพันธุ์แล้ว จึงเปลี่ยนถ่ายน้ำในภาชนะพลาสติกทุกครั้ง

นำข้อมูลจำนวนฟักไข่ จำนวนไข่ต่อฟักไข่ และอัตราการฟัก ซึ่งเป็นข้อมูลแบบสถิติอิงพารามิเตอร์ ไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

2.2.3 ผลของระดับอาหารธรรมชาติในน้ำต่อการเลือกวางไข่ของรึ้นน้ำจืด

การทดลองเพื่อศึกษาระดับอาหารมีชีวิตในน้ำต่อความชอบในการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด โดยวัดจากปริมาณของฟักไข่ที่รึ้นน้ำจืดวางไข่ในน้ำที่มีระดับของอาหารมีชีวิตต่าง ๆ กัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ที่มี 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ โดยใช้ความเข้มข้นของเซลล์อาหารธรรมชาติ (*Chlorella* sp.) เป็นปัจจัยทดลองเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังนี้ 0 (ชุดควบคุม), 1, 2, 3 และ 4×10^5 เซลล์/มิลลิลิตร ทำการทดลองโดยวางภาชนะพลาสติกขนาด $10 \times 15 \times 10$ เซนติเมตร จำนวน 5 ใบ ที่เติมอาหารธรรมชาติปริมาตร 250 มิลลิลิตร ตามชุดทดลองที่กำหนด พร้อมติดเครื่องหมาย ในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด $30 \times 45 \times 30$ เซนติเมตร (ใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงในการทดลองทั้งหมดจำนวน 3 ใบ) คัดรึ้นน้ำจืดเพศเมีย (ภาพที่ 12) ที่มีสมบูรณ์และมีขนาดใกล้เคียงกันซึ่งได้รับการผสมพันธุ์กับรึ้นน้ำจืดเพศผู้ (ภาพที่ 13) แล้วเป็นเวลา 24

ชั่วโมง จำนวน 200 ตัว/กรง โดยปล่อยให้รึ้นน้ำจืดในแต่ละกรงวางไข่ในภาชนะที่จัดให้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงตรวจสอบการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด นับจำนวน นำไปฟัก และเปลี่ยนแม่พันธุ์ รึ้นน้ำจืดชุดใหม่แทน พร้อมทั้งเปลี่ยนน้ำในภาชนะที่วางไข่และเปลี่ยนตำแหน่งของภาชนะที่วางไข่ ในแต่ละกรงโดยวิธีการสุม ทำการทดลองติดต่อกันเป็นเวลา 5 วัน ในระหว่างที่ทดลองตรวจสอบ คุณภาพน้ำเพื่อหา อุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นด่าง ความกระด้าง และแอมโมเนียรวมในแต่ละภาชนะก่อนดำเนินการทดลองทุกครั้ง

นำข้อมูลอัตราการวางไข่ไปวิเคราะห์สถิติสำหรับการทดลองแบบไม่อิง พารามิเตอร์ (nonparametric statistic) โดยการทดสอบ Chi-Square (Kruskal-Wallis tests) ที่ระดับ ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ส่วนจำนวนไข่ต่อฟักไข่ และอัตราการฟักซึ่งเป็นข้อมูลแบบ parametric นั้น ทำการแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไป วิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความ แตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

2.3 พัฒนาการของไข่รึ้นน้ำจืด

การศึกษาพัฒนาการของรึ้นน้ำจืด เริ่มการศึกษาโดยนำรึ้นน้ำจืดเพศเมียที่ได้รับการ ผสมพันธุ์แล้วจำนวน 10 ตัว มาใส่ในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด 25x30x35 เซนติเมตร ซึ่งภายใน บรรจุภาชนะพลาสติกขนาด 10x15x10 เซนติเมตร ที่บรรจุน้ำสะอาดจำนวน 250 มิลลิลิตร เมื่อ พบว่ารึ้นน้ำจืดลงวางไข่คอยเฝ้าสังเกตจนวางไข่เสร็จ (ภาพที่ 15) จึงนำฟักไข่มาใส่ในจานแก้ว เพื่อ ศึกษาระยะการพัฒนของไข่ภายในฟักไข่ด้วยกล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพ โดยแบ่งระยะของ พัฒนาการตาม Richards and Davies (1977) และ Peterson (1960) เริ่มตั้งแต่ระยะการแบ่งส่วนลำตัว เป็นข้อปล้อง (Segmentation) ระยะบลาสทูเลชัน (Blastulation) ระยะการเปลี่ยนทางสรีระของตัว อ่อน (Differentiation of Embryo) และระยะฟักออกเป็นตัว (Hatching)

2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่และจำนวนไข่ต่อฟักไข่ของรึ้นน้ำจืด

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่และจำนวนไข่ต่อฟักไข่ ดำเนินการโดยนำฟักไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เก็บรวบรวมจากการวางไข่ใน ธรรมชาติจำนวน 351 ตัวอย่าง และจากการวางไข่ในห้องปฏิบัติการจำนวน 51 ตัวอย่าง นำมาวัด ความยาวของฟักไข่ นับจำนวนไข่ต่อฟักไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ นำข้อมูลที่ได้ไปหา

ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่และจำนวนไข่ต่อฝักไข่ โดยใช้วิธีคำนวณหาสมการ
ถดถอยเชิงเส้นตรง (Linear Regression)





ภาพที่ 6 สภาพก้นบ่อซีเมนต์ที่ใช้เพาะเลี้ยงไรแดงขนาด 50 ตารางเมตร ภายหลังจากระบายน้ำออกซึ่งพบหนอนแดงสร้างปlokหุ้มตัวกระจายอยู่ทั่วไป



ภาพที่ 7 การวางกรงคัดร่อนน้ำจืดในถังไฟเบอร์ขนาด 3,000 ลิตร เพื่อดักจับร่อนน้ำจืดที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำ ในการศึกษาการคัดเลือกชนิดของร่อนน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ



ภาพที่ 8 การใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงในการคัดแยกรีนน้ำจืดแต่ละชนิดภายหลังจากการบ่งชี้จากน้ำ ในการศึกษาการคัดเลือกชนิดของรีนน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ



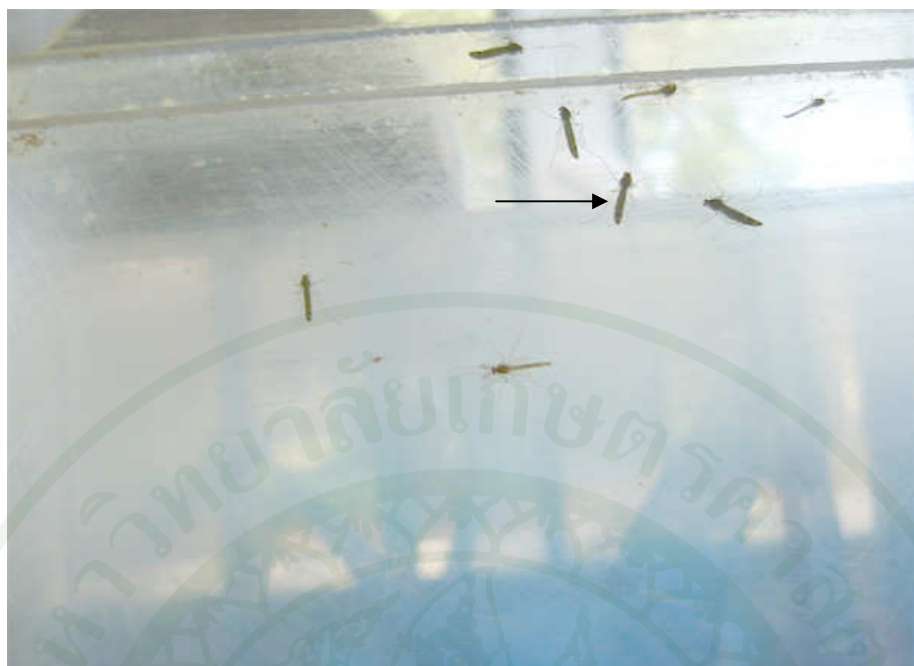
ภาพที่ 9 การใช้ถังไฟเบอร์ขนาด 20 ลิตร ในการศึกษาวงจรชีวิตของรีนน้ำจืดแต่ละชนิดในขณะที่ยังอยู่ในระยะตัวหนอนและดักแด้ เพื่อคัดเลือกชนิดของรีนน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ



ภาพที่ 10 การใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงเพื่อศึกษาอัตราส่วนเพศต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด
Chironomus fuscipes



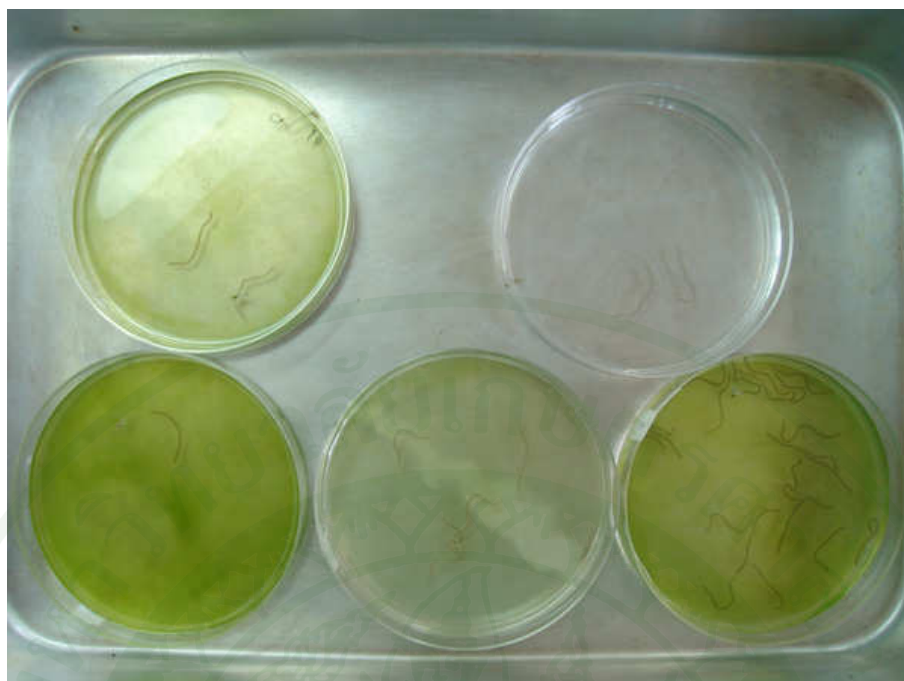
ภาพที่ 11 การใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงเพื่อศึกษาผลของปัจจัยแสงในหัวข้อต่างๆ ต่อการเพาะพันธุ์
รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes*



ภาพที่ 12 รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียขณะทดลองผสมพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง (ศรีชัย)



ภาพที่ 13 รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศผู้ขณะทดลองผสมพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง (ศรีชัย)



ภาพที่ 14 ลักษณะการวางไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในน้ำที่มีระดับของอาหารธรรมชาติต่างกัน



ภาพที่ 15 การใช้ถังพลาสติกขนาด 30 ลิตร เพื่อเลี้ยงระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ก่อนนำไปเพาะพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง

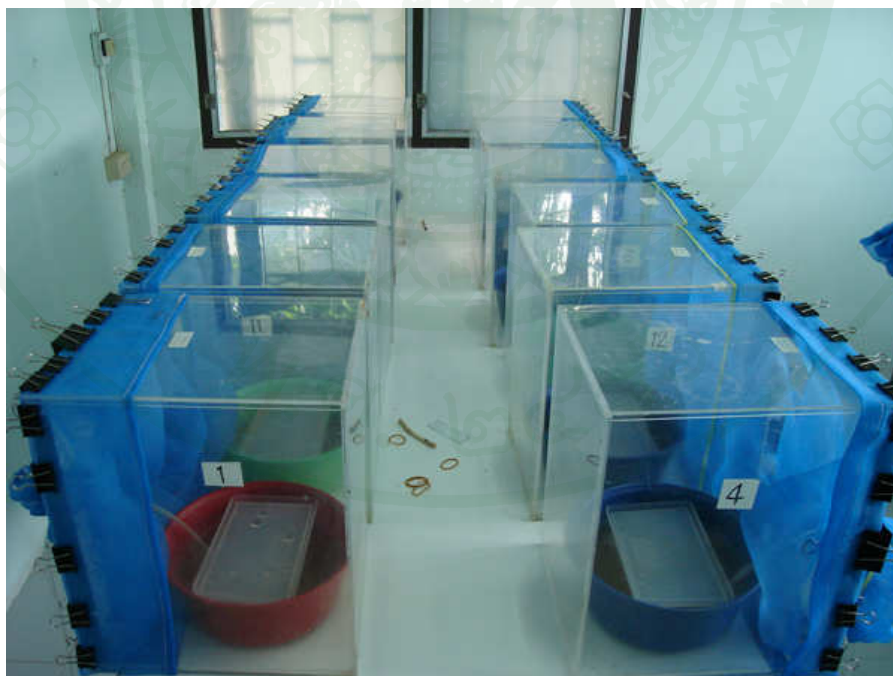
3. อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์

การศึกษาอัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ ดำเนินการโดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ที่มี 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ โดยใช้อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงเป็นปัจจัยทดลอง ดังนี้ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ทดลองในภาชนะพลาสติกกลมที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร (พื้นที่ก้นภาชนะเท่ากับ 314 ตารางเซนติเมตร) รองก้นภาชนะด้วยผงซีโอไลท์ (ซีโอไลท์-สเม็คไทต์ ความละเอียด 200 ช่องตาต่อนิ้ว) สำหรับให้หนอนแดงสร้างปลอกหุ้มตัว เต็มน้ำสะอาดปริมาตร 2 ลิตร พร้อมให้อากาศแรงๆ ผ่านหัวทราย วางภาชนะดังกล่าวในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด 25x30x35 เซนติเมตร เลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ควบคุมอุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ (ภาพที่ 16) ให้อาหารป่น (อาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลาใหญ่ โปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ บดละเอียด) อัตรา 0.04 กรัมต่อตัว ทุกวันตลอดการทดลอง ระหว่างที่ดำเนินการทดลอง เมื่อพบการลอกคราบขึ้นจากน้ำ กลายเป็นตัวเต็มวัย ให้แยกออก บันทึกระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการ นำรีนน้ำจัดเพศผู้ไปวัดความยาวปีกภายใต้กล้องจุลทรรศน์เพื่อหาอัตราการเจริญเติบโต ส่วนเพศเมียไปเพาะพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลงขนาด 30x45x30 เซนติเมตร เพื่อหาจำนวนไข่ต่อฟักไข่ (ภาพที่ 17) ในระหว่างการทดลองทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลอง เช่น อุณหภูมิน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นด่าง ความกระด้าง และแอมโมเนียรวม เพื่อนำข้อมูลไปประกอบการวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำข้อมูลอัตราส่วนเพศ อัตราการเจริญเติบโต จำนวนไข่ต่อฟักไข่ และระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการ ซึ่งเป็นข้อมูลแบบสถิติอิงพารามิเตอร์ ไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป



ภาพที่ 16 หนอนแดง *Chironomus fuscipes* ที่ได้ภายหลังการเลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์



ภาพที่ 17 การใช้กรงเพาะพันธุ์แมลงในการทดลองเลี้ยงหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์

4. การเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟัก

4.1 การเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืด

4.1.1 การเก็บรักษาด้วยวิธีแช่แข็ง

การศึกษากการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดด้วยวิธีแช่แข็ง ดำเนินการวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลสำหรับการทดลองแบบสุ่มตลอด 2x6 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยศึกษา 2 ปัจจัยร่วม ปัจจัยแรกคือการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว (อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส) และการแช่แข็งในตู้เย็น (อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส) ปัจจัยที่สองคือสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการเก็บรักษา ได้แก่ 0.9% normal saline, Modified Fish Ringer's solution, Embryo solution, 2% glucose solution และ 2% trehalose solution (ตารางผนวกที่ 5) มีหน่วยทดลองทั้งหมด 36 หน่วย

สุ่มตัวอย่างฟักไข่จำนวน 3 ฟัก มาวางในจานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร แล้วเติมสารละลายที่ใช้เก็บรักษาปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามชุดทดลองที่กำหนด เติมนยาปฏิชีวนะ penicillin และ streptomycin อัตรา 50 IU และ 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นำไข่เก็บไว้ในตู้เย็นธรรมดาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จึงย้ายฟักไข่ไปใส่ในหลอดพลาสติกขนาดเล็กก่อนนำไปแช่ในถังไนโตรเจน (อังหลอดพลาสติกด้วยโอของไนโตรเจนเหลว ประมาณ 10 นาทีก่อนการแช่แข็ง) (ภาพที่ 18 และ 19) หรือแช่ในช่องแช่แข็งของตู้เย็นตามชุดทดลองที่กำหนด หลังจากนั้นจึงตรวจสอบอัตราการฟักภายหลังการแช่แข็งที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ

นำข้อมูลอัตราการฟักภายหลังการแช่เย็นที่ระยะเวลาต่างๆ ไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation และนำไปทดสอบความเป็นปกติด้วยวิธีการ Kolmogorov-Smirnov Test และความเป็นเอกพันธ์ของความแปรปรวนด้วยวิธีการ Levene Test ก่อนนำไปวิเคราะห์สถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี Tamhane's T2 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

4.1.2 การเก็บรักษาด้วยวิธีแช่เย็น

การศึกษาการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดด้วยวิธีแช่เย็น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ที่มี 6 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ เป็นปัจจัยทดลอง ดังนี้ 0.9% normal saline, Modified Fish Ringer's solution, Embryo solution, 2% glucose solution และ 2% trehalose solution ดำเนินการทดลองโดยสุ่มตัวอย่างฟักไข่จำนวน 3 อัน มาวางในงานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร แล้วเติมสารรักษาสภาพเซลล์ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ตามชุดทดลองที่กำหนด เติมยาปฏิชีวนะ penicillin และ streptomycin อัตรา 50 IU และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำงานแก้วทั้งหมดไปแช่ในช่องแช่เย็นของตู้เย็นธรรมดา (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) (ภาพที่ 20 และ 21) หลังจากนั้นจึงตรวจสอบอัตราการฟักภายหลังการแช่แข็งที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ

นำข้อมูลอัตราการฟักภายหลังการแช่เย็นที่ระยะเวลาต่างๆ ไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์สถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

4.2 การเก็บรักษาหอนแดงระยะแรกฟักด้วยวิธีแช่เย็น

การศึกษาการเก็บรักษาหอนแดงระยะแรกฟักด้วยวิธีแช่เย็น วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด ที่มี 6 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 3 ซ้ำ โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์เป็นปัจจัยทดลอง ดังนี้ 0.9% normal saline, Modified Fish Ringer's solution, Embryo solution, 2% glucose solution และ 2% trehalose solution สุ่มตัวอย่างหอนแดงระยะแรกฟักจำนวน 100 ตัว มาใส่ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายที่ใช้เก็บรักษาปริมาตร 10 มิลลิลิตร ตามชุดทดลองที่กำหนด เติมยาปฏิชีวนะ penicillin และ streptomycin อัตรา 50 IU และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำขวดแก้วรูปชมพู่ทั้งหมดไปแช่ในช่องแช่เย็นของตู้เย็นธรรมดา (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) หลังจากนั้นจึงตรวจสอบอัตราการรอดภายหลังการแช่เย็นที่ระยะเวลา 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง ตามลำดับ

นำข้อมูลอัตราการรอดภายหลังการแช่เย็นที่ระยะเวลาต่างๆ ไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์สถิติโดยการวิเคราะห์ความ

แปรปรวนที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อพบความแตกต่างจึงนำไปหาความแตกต่างระหว่างชุดทดลองด้วยวิธี DMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

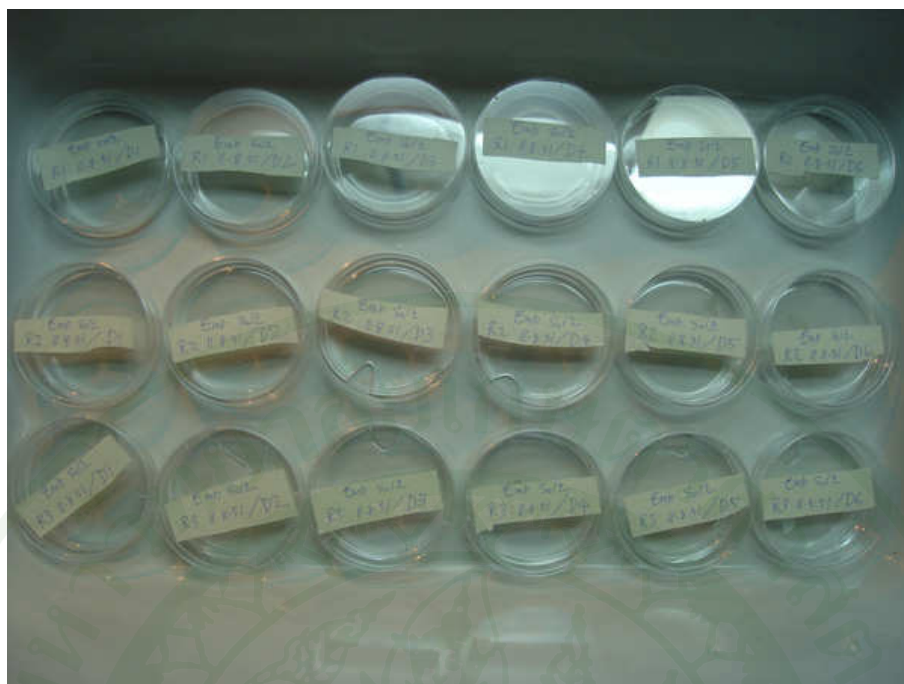




ภาพที่ 18 ถังไนโตรเจนเหลวที่ใช้ในการแช่แข็งไข่รุ่นน้ำจืด *Chironomus fuscipes*



ภาพที่ 19 การจัดเรียงหลอดพลาสติกที่ใช้บรรจุไข่รุ่นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ก่อนลงแช่แข็งในถังไนโตรเจนเหลว



ภาพที่ 20 การเตรียมในการเก็บรักษาไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีการแช่เย็น



ภาพที่ 21 การเก็บรักษาไข่ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีการแช่เย็น

5. คุณค่าทางโภชนาการและการใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

5.1 การเตรียมอาหารมีชีวิตที่ใช้ในการทดลอง

หนอนแดงระยะแรกฟักได้จากการฟักไข่รีนน้ำจืด ซึ่งเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในห้องปฏิบัติการ เมื่อรีนน้ำจืดลงวางไข่ในภาชนะที่เตรียมไว้ภายในกรงเพาะพันธุ์แมลง นำฟักไข่ที่รวบรวมได้ไปฟักในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีการให้อากาศตลอดเวลาผ่านหัวทราย เมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่ จึงแยกตัวอ่อนออกจากเปลือกไข่โดยการเอาหัวทรายออก เปลือกไข่ก็จะลอยขึ้นสู่ผิวน้ำในขณะที่ตัวอ่อนส่วนใหญ่อยู่ที่ก้นและกลางน้ำ จึงสามารถแยกออกจากกันได้โดยง่าย

โรติเฟอร์น้ำจืด (*Branchionus calyciflorus*) ที่ใช้ในการทดลอง ได้จากบ่อเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนของทางสถาบันฯ โดยผลิตในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร เลี้ยงด้วยคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) ทำการเก็บเกี่ยวด้วยสวิงที่ทำด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอนขนาดช่องตา 59 ไมครอน หลังจากนั้นจึงนำไปกรองด้วยผ้ากรองขนาดช่องตา 200 ไมครอน อีกครั้งหนึ่งเพื่อกรองสิ่งปนเปื้อนออก ก่อนที่จะนำไปเก็บไว้ในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง โรติเฟอร์ที่ได้มีขนาดอยู่ระหว่าง 59 – 200 ไมครอน

ไรแดง (*Moina macrocopa*) ที่ใช้ในการทดลอง ได้จากบ่อเพาะเลี้ยงอาหารมีชีวิตของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด เพื่อใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนของทางสถาบันฯ โดยผลิตในบ่อซีเมนต์ขนาด 50 ตารางเมตร เลี้ยงด้วยคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เช่นเดียวกับโรติเฟอร์ เก็บเกี่ยวด้วยสวิงที่ทำด้วยผ้ากรองแพลงก์ตอนขนาดช่องตา 200 ไมครอน หลังจากนั้นจึงนำไปกรองด้วยผ้ากรองขนาดช่องตา 420 ไมครอน อีกครั้งหนึ่งเพื่อกรองสิ่งปนเปื้อนออก ก่อนที่จะนำไปเก็บไว้ในโหลแก้วขนาด 10 ลิตร ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง โรติเฟอร์ที่ได้มีขนาดอยู่ระหว่าง 200 – 420 ไมครอน

5.2 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟัก

ตัวอย่างหนอนแดงระยะแรกฟักที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ เก็บรวบรวมจากการฟักไข่รีนน้ำจืด ซึ่งเลี้ยงพ่อแม่พันธุ์ในห้องปฏิบัติการ เมื่อรีนน้ำจืดลงวางไข่ในภาชนะที่เตรียมไว้ภายในกรงเพาะพันธุ์แมลง นำฟักไข่ไปแยกฟัก เมื่อฟักออกเป็นตัวแล้วจึงกรอง

ด้วยสวิงที่ทำด้วยผ้ากรองเพลงก็ตอนขนาดช่องตา 59 ไมครอน นำหนอนแดงระยะแรกฟักที่รวบรวมได้ไปเก็บในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการที่ห้องปฏิบัติการของบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด เพื่อวิเคราะห์ proximate compositions ของตัวอย่างดังนี้ ความชื้น (AOAC, 2005; method no. 930.15) เถ้า (AOAC, 2000; method no. 942.05) โปรตีน (AOAC, 2005; method no. 981.10) ไขมัน (AOAC, 2005; method no. 954.02) และคาร์โบไฮเดรต (DMSc and ACFS, 2003) การวิเคราะห์กรดอะมิโนของตัวอย่าง (amino acid profiles) ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม AOAC (2005) และการวิเคราะห์กรดไขมันของตัวอย่างใช้วิธีวิเคราะห์ตาม AOAC, 2000 (method no. 996.06) ส่วนคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์และไรแดงนั้นใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์ที่อ้างอิงจากรายงานของ พรพรรณ (2547) ซึ่งใช้โรติเฟอร์และไรแดงที่เพาะเลี้ยงมาจากแหล่งผลิตอาหารมีชีวิตเดียวกัน

5.3 การเตรียมปลาที่ใช้ในการทดลอง

ลูกปลาทอม (*Anabas testudineus*) วัยอ่อนที่ใช้ในการทดลอง ได้จากการเพาะพันธุ์พ่อแม่พันธุ์ด้วยการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนสังเคราะห์จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสุราษฎร์ธานี เลี้ยงลูกปลาในตู้กระจกขนาด 40 ลิตร ภายหลังการฟักออกเป็นตัวประมาณ 3 วัน ลูกปลาจึงเริ่มกินอาหารให้ไข่แดงต้มสุกร่วมกับคลอเรลลาเป็นอาหารวันละ 4 ครั้ง ต่อไปอีก 2 วัน เมื่อลูกปลามีอายุได้ 5 วัน หลังจากฟักออกจากไข่ จึงนำลูกปลาที่ได้ไปใช้ในการทดลอง

5.4 การทดลองและวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดที่มี 2 ชุดทดลอง (treatment) แต่ละชุดทดลองดำเนินการ 6 ซ้ำ (replication) โดยใช้การให้อาหารในแต่ละระยะเป็นตัวแปรในการทดลอง (feeding sequence) ดังนี้ ชุดทดลองแรกให้โรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่สองให้หนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน ต่อจากนั้นทั้งสองชุดการทดลองอนุบาลลูกปลาค่อยๆ ไข่แดงเป็นอาหารจนลูกปลามีอายุ 29 วัน เพื่อเก็บข้อมูลการเจริญเติบโตและความแตกต่างระหว่างชุดทดลอง ดำเนินการทดลองในตู้กระจกขนาด 20 x 25 x 30 เซนติเมตร เติมน้ำ 10 ลิตร ให้อากาศตลอดเวลาผ่านหัวทราย ดำเนินการทดลองภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ (ภาพที่ 22) ปล่อยลูกปลาทอมวัยอ่อนอัตรา 20 ตัวต่อลิตร ระหว่างการทดลองดูดตะกอนออกและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันในอัตราดังนี้ ระหว่างวันที่ 1-7 เปลี่ยนถ่ายน้ำ 30 เปอร์เซ็นต์ และระหว่างวันที่ 8-24 เปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของลูกปลาใน

วันที่ 6, 12, 18 และ 24 ของการทดลอง โดยสุ่มลูกปลาจำนวน 40 ตัวต่อตู้ มาทำการวัดความยาว (total length) และชั่งน้ำหนักรายตัว (final weight) (ภาพที่ 23) เพื่อนำไปคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) จากสูตร อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ = $[\ln \text{ น้ำหนักสุดท้าย} - \ln \text{ น้ำหนักเริ่มต้น}] / \text{จำนวนวันที่ทดลอง} \times 100$ เมื่อสิ้นสุดการทดลองนับจำนวนลูกปลาหมอตีเหลืออยู่ เพื่อนำไปคำนวณอัตราการรอด ในระหว่างการทดลองตรวจวัดคุณภาพเมื่อลูกปลามีอายุ 5, 17 และ 29 วัน เพื่อหาอุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเป็นด่าง ความกระด้าง และ แอมโมเนียรวม

นำข้อมูลอัตราการรอดและอัตราการเจริญเติบโตไปแปลงข้อมูลที่อยู่ในรูปร้อยละด้วยวิธี arcsine square root transformation ก่อนนำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี Student's T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป



ภาพที่ 22 ตู้ทดลองที่ใช้ในการใช้ตัวอ่อนระยะแรกฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน



ภาพที่ 23 การชั่งน้ำหนักของลูกปลาหมอภายหลังเสร็จสิ้นในการทดลองใช้ตัวอ่อนระยะแรกฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

ผลและวิจารณ์

ผล

1. การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของริ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำ

1.1 ความหลากหลายชนิด (Species Richness) และความชุกชุม (Abundance)

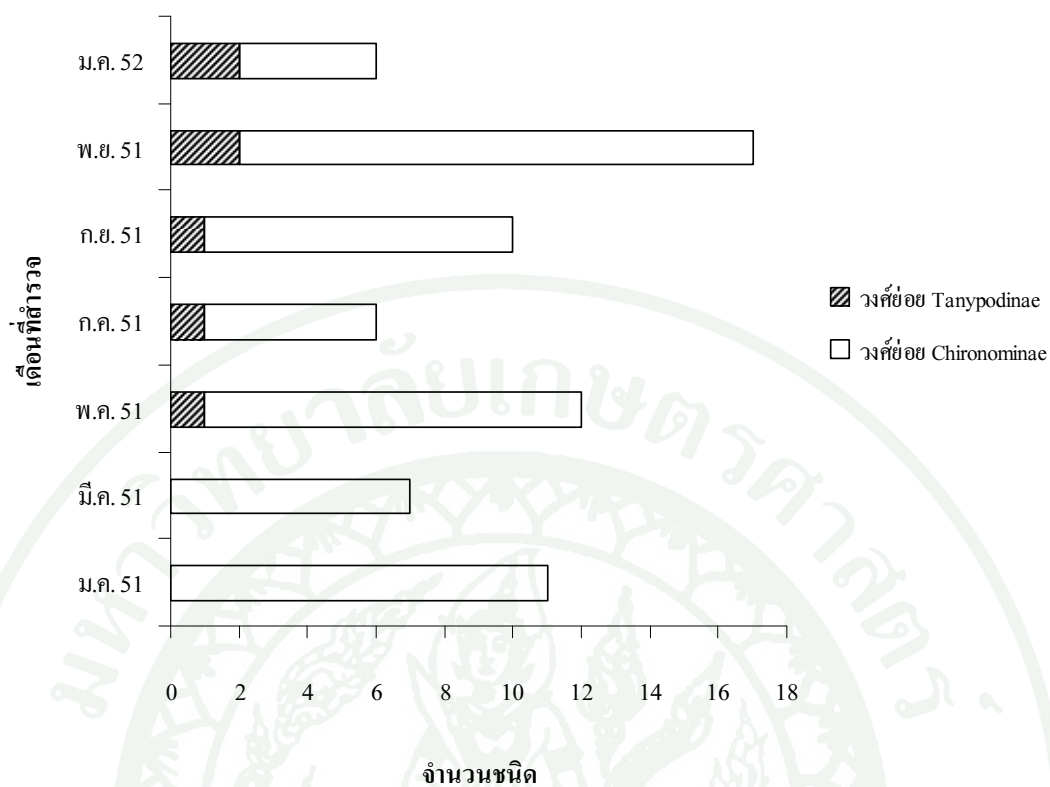
จากการศึกษาความหลากหลายของริ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยาในระหว่างเดือนมกราคม 2551 – มกราคม 2552 เก็บตัวอย่างทุกๆ 2 เดือน รวม 7 ครั้ง (เดือนที่สำรวจ) พบริ้นน้ำจืดทั้งสิ้นจำนวน 2 วงศ์ย่อย 15 สกุล และ 22 ชนิด (ตารางที่ 8) มีริ้นน้ำจืด 20 ชนิด จากทั้งหมด 22 ชนิด ที่ยังไม่มีมีการจำแนกชนิดอย่างชัดเจน พบชนิดของริ้นน้ำจืดในวงศ์ย่อย Chironominae มากที่สุดจำนวน 19 ชนิด (86.4 เปอร์เซ็นต์) รวมทั้งหมด 262 ตัว (96.3 เปอร์เซ็นต์) รองลงมาเป็นริ้นน้ำจืดในวงศ์ย่อย Tanypodinae จำนวน 3 ชนิด (13.6 เปอร์เซ็นต์) รวมทั้งหมด 10 ตัว (3.7 เปอร์เซ็นต์)

ริ้นน้ำจืดที่พบมากที่สุด 5 ชนิด ในบ่อพักน้ำคิดเป็น 61.4 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนชนิดทั้งหมด (167 ตัว จากทั้งหมด 272 ตัว) โดยริ้นน้ำจืด *Chironomus* sp. 2 ในวงศ์ย่อย Chironominae เป็นชนิดที่พบมากที่สุด (50 ตัว หรือคิดเป็น 18.4 เปอร์เซ็นต์ ของริ้นน้ำจืดที่พบทั้งหมด) รองลงมาเป็นริ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ดังนี้ *Nilodurum* sp., *Chironomus* sp. 1, *Chironomus* sp. 3 และ *Camptochironomus* sp. พบจำนวน 36, 29, 28 และ 24 ตัว คิดเป็น 13.2, 10.7, 10.3 และ 8.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทั้งนี้มีริ้นน้ำจืดจำนวน 8 ชนิด (36.4 เปอร์เซ็นต์ ของชนิดที่พบทั้งหมด) ที่พบตัวอย่างน้อยกว่า 5 ตัว และมีริ้นน้ำจืดจำนวน 5 ชนิด (22.7 เปอร์เซ็นต์ ของชนิดที่พบทั้งหมด) ที่พบตัวอย่างเพียงตัวเดียว (ตารางที่ 8, 9 และภาพที่ 24, 25)

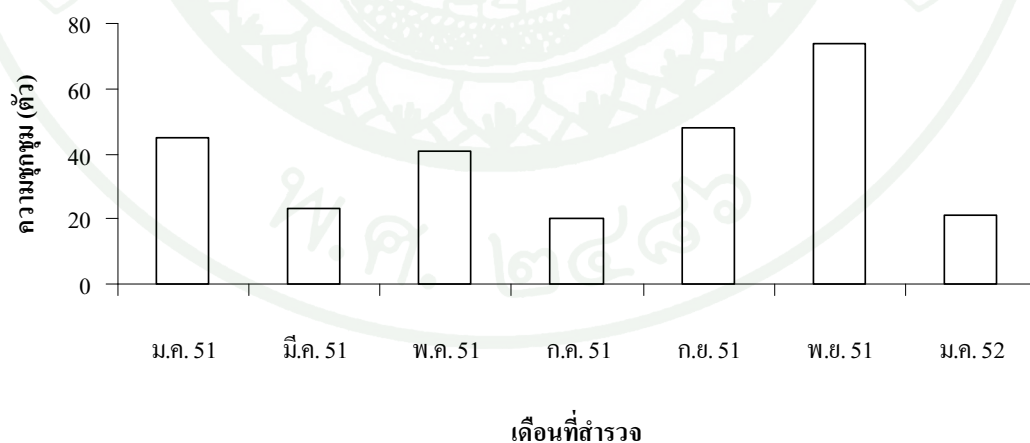
ความหลากหลายชนิดของริ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเดือนที่สำรวจ ($H = 6.66$, $P = 0.25$, $df = 5$) เช่นเดียวกับความชุกชุมซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเดือนที่สำรวจเช่นกัน ($H = 6.55$, $P = 0.26$, $df = 5$)

ตารางที่ 8 ชนิดและปริมาณของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อกักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์
น้ำจืด ในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551- มกราคม พ.ศ. 2552

ชนิด	เผ่า	เดือนที่สำรวจ							รวม (ตัว)
		ม.ค.	มี.ค.	พ.ค.	ก.ค.	ก.ย.	พ.ย.	ม.ค.	
		51	51	51	51	51	51	52	
Tanypodinae									
Conchapelopia sp.	Pentaneurini	0	0	1	1	3	2	1	8
Krenopelopia sp.	Pentaneurini	0	0	0	0	0	1	0	1
Macropelopia sp.	Pentaneurini	0	0	0	0	0	0	1	1
Chironominae									
Baeotendipes sp.	Tanytarsini	0	0	3	3	0	2	0	8
Camptochironomus sp.	Chironomini	10	2	6	0	3	3	0	24
Chironomus fuscipes	Chironomini	0	1	0	3	0	1	0	5
C. javanus	Chironomini	6	0	3	0	3	2	0	14
Chironomus sp. 1	Chironomini	3	2	0	0	11	12	1	29
Chironomus sp. 2	Chironomini	6	3	2	0	15	13	11	50
Chironomus sp. 3	Chironomini	4	12	0	1	0	5	6	28
Chironomus sp. 4	Chironomini	1	0	4	2	0	3	0	10
Chironomus sp. 5	Chironomini	0	0	0	0	2	2	0	4
Chironomus sp. 6	Chironomini	0	0	0	0	2	3	0	5
Cryptochironomus sp.	Chironomini	0	0	7	0	3	6	0	16
Dicrotendipes sp.	Chironomini	1	0	0	0	0	0	0	1
Demicryptochironomus sp.	Chironomini	0	1	3	0	0	0	0	4
Endochironomus sp.	Chironomini	7	2	3	0	0	3	1	16
Harnischia sp.	Chironomini	4	0	1	0	1	1	0	7
Kiefferulus sp.	Chironomini	0	0	0	0	0	1	0	1
Microchironomus sp.	Chironomini	2	0	1	0	0	0	0	3
Nilodorum sp.	Chironomini	0	0	7	10	5	14	0	36
Stenochironomus sp.	Chironomini	1	0	0	0	0	0	0	1
รวม (ตัว)		45	23	41	20	48	74	21	272



ภาพที่ 24 ความหลากหลายชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 25 ความชุกชุมของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

1.2 ค่าดัชนีความหลากหลายของแซนนอน-วีเนอร์ (Shannon-Wiener's Index; H') และค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพิลิว (Pielou Evenness Index; J')

ค่าดัชนีความหลากหลายของแซนนอน-วีเนอร์ (H') ของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552 มีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 2.4441 และมีค่าต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 เท่ากับ 1.2766 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจำนวนชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบทั้งหมดในแต่ละเดือนที่สำรวจไม่เท่ากัน (ตารางที่ 9)

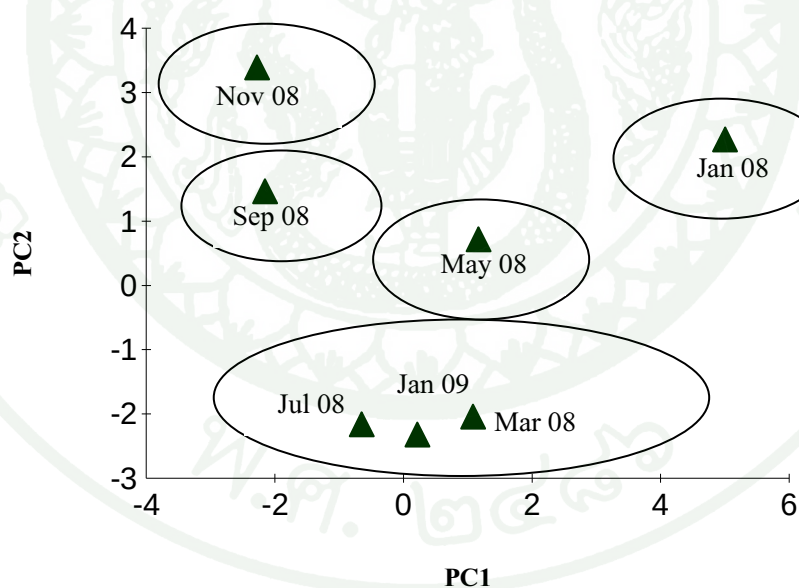
ค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพิลิว (J') ของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำในระหว่างเดือนที่สำรวจมีค่าสูงสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 0.9241 และมีค่าต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 เท่ากับ 0.7125 ซึ่งแสดงถึงการกระจายตัวของรึ้นน้ำจืดแต่ละชนิดในแต่ละเดือนที่สำรวจไม่เท่ากัน (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ความหลากหลาย ความชุกชุม ค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของแซนนอน-วีเนอร์ (H') และค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพิลิว (J') ของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

เดือนที่สำรวจ	ความหลากหลาย (ชนิด)	ความชุกชุม (ตัว)	H'	J'
มกราคม 2551	11	45	2.1640	0.9025
มีนาคม 2551	7	23	1.5149	0.7785
พฤษภาคม 2551	12	41	2.2963	0.9241
กรกฎาคม 2551	6	20	1.4455	0.8068
กันยายน 2551	10	48	1.9754	0.8579
พฤศจิกายน 2551	17	74	2.4441	0.8627
มกราคม 2552	6	21	1.2766	0.7125

1.3 องค์ประกอบชนิด (Species Composition)

การจัดเรียงลำดับความแตกต่างขององค์ประกอบชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552 โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principle Component Analysis: PCA) ซึ่งวัดค่าความแตกต่างในรูปเมตริกซ์ที่คล้ายคลึงกันของความแปรปรวนร่วม เพื่อรวบรวมตัวแปรที่มีความสัมพันธ์กันไว้ในกลุ่มเดียวกัน โดยสามารถจัดเรียงลำดับองค์ประกอบหลักได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เดือนมีนาคมและมิถุนายน พ.ศ. 2551 และเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 กลุ่มที่ 2 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 กลุ่มที่ 3 เดือนกันยายน พ.ศ. 2551 กลุ่มที่ 4 เดือนมกราคม พ.ศ. 2551 และกลุ่มที่ 5 เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 ซึ่งสามารถอธิบายความแปรปรวนได้ 34.3, 27.0, 18.6, 9.1 และ 6.9 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยสรุปรวมทั้ง 5 กลุ่มสามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของรึ้นน้ำจืดได้ 96.0 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 แผนภาพการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของรึ้นน้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด

1.4 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อประชากรรึ้นน้ำจืด

1.4.1 สภาวะอากาศ

ก. ปริมาณน้ำฝนรายเดือน

ปริมาณน้ำฝนรายเดือนในพื้นที่ตั้งบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ที่รวบรวมข้อมูลโดยสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552 พบว่ามีปริมาณน้ำฝนรายเดือนอยู่ในช่วง 0 – 398.2 มิลลิเมตร และปริมาณน้ำฝนรวมทั้ง 13 เดือน เท่ากับ 1,169.6 มิลลิเมตร โดยมีปริมาณน้ำฝนรายเดือนสูงสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551 และมีปริมาณน้ำฝนรายเดือนต่ำสุดในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 และมกราคม พ.ศ. 2552 (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2552; ตารางที่ 10 และภาพที่ 27) จากการทดสอบสถิติพบว่าปริมาณน้ำฝนรายเดือนมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($H = 337.62, P < 0.01, df = 6$)

ข. ความชื้นสัมพัทธ์

ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยในพื้นที่ตั้งบ่อพักน้ำซึ่งได้รับอิทธิพลจากปริมาณน้ำฝนและอุณหภูมิอากาศในแต่ละเดือน จากข้อมูลของสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551- มกราคม พ.ศ. 2552 พบว่ามีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 64.13-83.37 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551 และมีค่าเฉลี่ยต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 (ตารางที่ 10, ภาพที่ 28) จากการทดสอบสถิติพบว่าความชื้นสัมพัทธ์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($H = 0.88, P > 0.05, df = 6$)

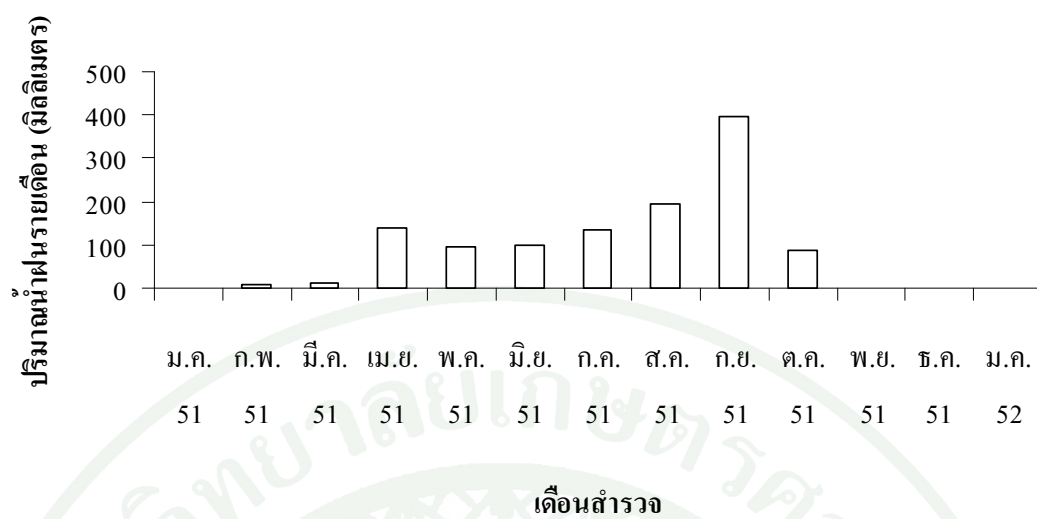
ค. อุณหภูมิอากาศ

อุณหภูมิอากาศเฉลี่ยในพื้นที่ตั้งบ่อพักน้ำที่รวบรวมโดยสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552 พบว่าอยู่ในช่วง 24.03-29.58 องศาเซลเซียส โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดในเดือนเมษายน พ.ศ. 2551 และมีค่าเฉลี่ยต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 (ตารางที่ 10, ภาพที่ 29) จากการทดสอบสถิติพบว่าอุณหภูมิอากาศไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($H = 0.39, P > 0.05, df = 6$)

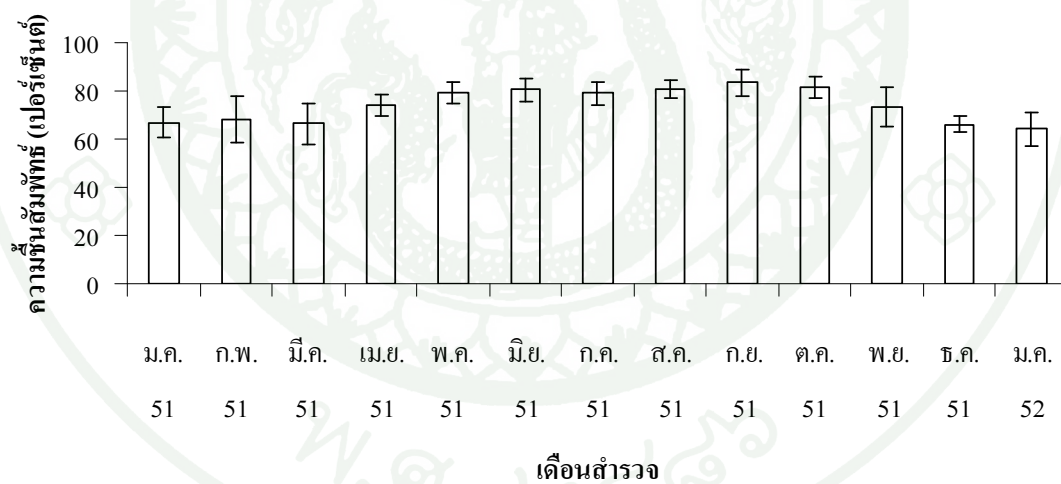
ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยของสภาวะอากาศของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาระหว่างเดือนมกราคม
พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

เดือนที่สำรวจ	สภาวะอากาศ		
	ปริมาณน้ำฝนราย เดือน (มิลลิเมตร)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์±ส่วน เบี่ยงเบนมาตรฐาน)	อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส± ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน)
มกราคม 2551	0.1	67.03±6.60	25.98±1.78
กุมภาพันธ์ 2551	9.4	68.34±9.53	27.09±1.28
มีนาคม 2551	12.1	66.39±8.60	29.14±1.10
เมษายน 2551	137.5	73.97±4.48	29.58±1.32
พฤษภาคม 2551	96.1	79.19±4.56	28.50±1.12
มิถุนายน 2551	100.9	80.47±4.58	28.29±0.99
กรกฎาคม 2551	134.8	79.10±4.79	28.14±0.89
สิงหาคม 2551	194.0	80.68±3.68	28.14±0.89
กันยายน 2551	398.2	83.37±5.28	27.59±1.00
ตุลาคม 2551	85.5	81.58±4.21	28.23±0.95
พฤศจิกายน 2551	1.0	73.23±8.39	25.99±1.60
ธันวาคม 2551	0	66.16±3.37	24.40±1.24
มกราคม 2552	0	64.13±7.09	24.03±2.40

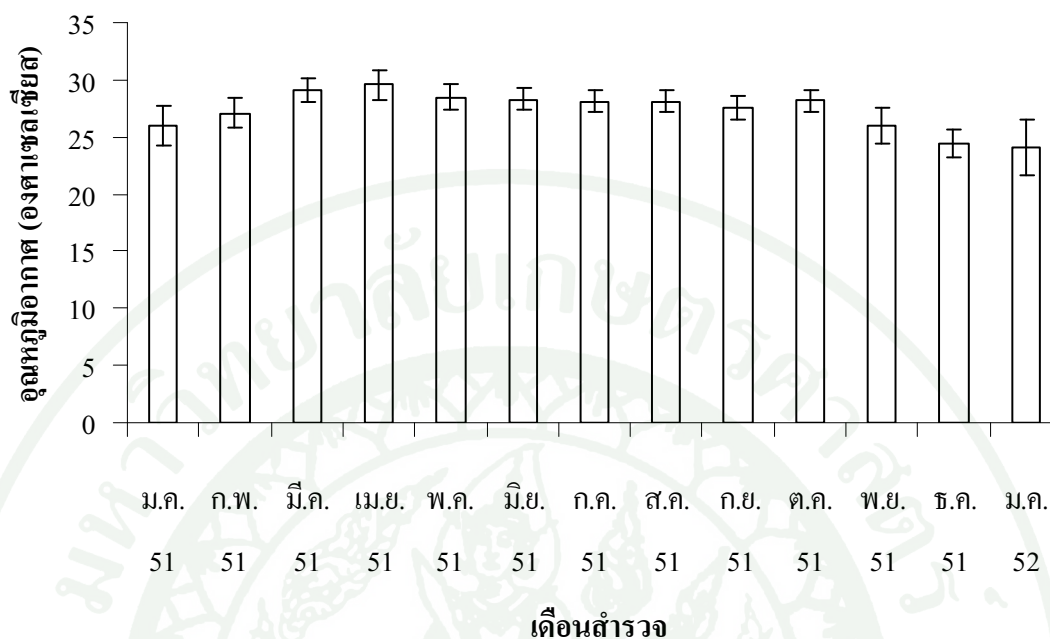
ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2552)



ภาพที่ 27 ปริมาณน้ำฝนรายเดือนของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 28 ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 29 อุณหภูมิอากาศเฉลี่ยของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

1.4.2 คุณภาพน้ำ

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ที่เก็บรวบรวมในแต่ละเดือนที่สำรวจในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 – มกราคม พ.ศ. 2552 จำนวน 7 ครั้ง จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณภาพน้ำพบว่ามีความแตกต่างระหว่างปัจจัย (parameter) ต่างๆ ของคุณภาพน้ำในแต่ละเดือนที่สำรวจดังนี้

ก. อุณหภูมิน้ำ

อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 30.48 องศาเซลเซียส และมีค่าต่ำสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 27.28 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 11 และภาพที่ 30) จากการทดสอบสถิติพบว่าอุณหภูมิน้ำมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 332.92$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

ข. ความเป็นกรดเป็นด่าง

ความเป็นกรดเป็นด่างเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 8.52 และมีค่าต่ำสุดในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 6.82 (ตารางที่ 11 และภาพที่ 31) จากการทดสอบสถิติพบว่าความเป็นกรดเป็นด่างมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 510.88$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

ค. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 6.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าต่ำสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 3.50 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 11 และภาพที่ 32) จากการทดสอบสถิติพบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 350.54$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

ง. ความโปร่งแสง

ความโปร่งแสงเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 32.4 เซนติเมตร และมีค่าต่ำสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 21.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 11 และภาพที่ 33) จากการทดสอบสถิติพบว่าความโปร่งแสงมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 82.63$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

จ. ความกระด้าง

ความกระด้างเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 126.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าต่ำสุดในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2551 เท่ากับ 102.8 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 11 และภาพที่ 34) จากการทดสอบสถิติพบว่าความกระด้างมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 119.03$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

ฉ. ความเป็นต่าง

ความเป็นต่างเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 เท่ากับ 106.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าต่ำสุดในเดือน 87.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 11 และภาพที่ 35) จากการทดสอบสถิติพบว่าความเป็นต่างมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 148.33$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

ช. แอมโมเนียรวม

แอมโมเนียรวมเฉลี่ยมีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 0.074 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีค่าต่ำสุดในเดือนกันยายน พ.ศ. 2551 เท่ากับ 0.024 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 11 และภาพที่ 36) จากการทดสอบสถิติพบว่าแอมโมเนียรวมมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($F = 116.59$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$)

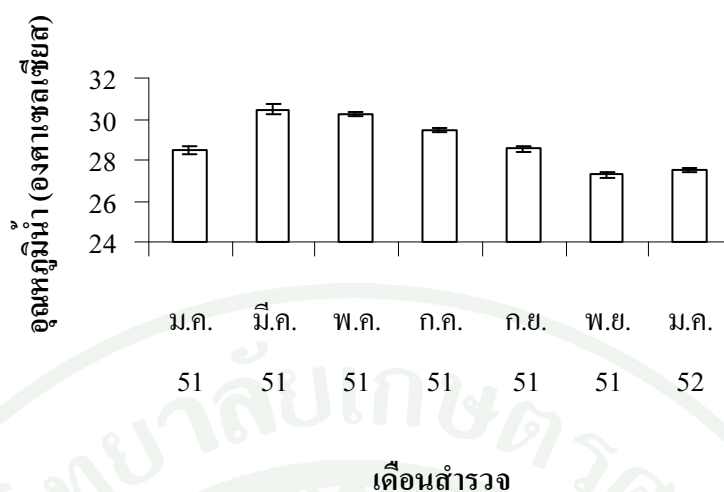
ตารางที่ 11 ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในบ่อบำบัดน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยาในช่วงเดือนที่สำรวจ ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 – มกราคม พ.ศ. 2552 (ค่าเฉลี่ย+ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

เดือนที่สุ่มตัวอย่าง	ปัจจัยของคุณภาพน้ำ (จำนวนจุดสุ่มตัวอย่าง=5)						แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^G
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ^A	ความเป็นกรดเป็นด่าง ^B	ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^C	ความโปร่งแสง (เซนติเมตร) ^D	ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^E	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^F	
มกราคม 2551	28.52±0.19 ^d	7.72±0.11 ^d	6.23±0.24 ^b	30.8±0.84 ^b	126.0±4.24 ^a	100.4±0.89 ^b	0.028±0.001 ^d
มีนาคม 2551	30.48±0.22 ^a	8.12±0.04 ^b	4.03±0.06 ^d	27.6±0.89 ^c	115.2±1.10 ^d	94.4±0.89 ^c	0.039±0.001 ^c
พฤษภาคม 2551	30.24±0.13 ^b	8.52±0.08 ^a	3.50±0.05 ^e	21.6±0.89 ^d	102.8±1.10 ^g	91.6±0.89 ^d	0.064±0.004 ^b
กรกฎาคม 2551	29.44±0.11 ^c	6.74±0.05 ^f	5.32±0.16 ^c	27.4±0.89 ^c	105.6±0.89 ^f	94.8±1.10 ^c	0.038±0.003 ^c
กันยายน 2551	28.56±0.15 ^d	7.86±0.05 ^c	6.45±0.13 ^a	32.4±1.14 ^a	109.6±0.89 ^c	87.2±1.79 ^c	0.024±0.003 ^d
พฤศจิกายน 2551	27.28±0.13 ^c	6.82±0.04 ^f	6.32±0.15 ^{ab}	30.6±0.89 ^b	119.6±0.89 ^c	90.4±0.89 ^d	0.074±0.004 ^a
มกราคม 2552	27.50±0.10 ^f	7.18±0.04 ^e	6.39±0.16 ^{ab}	30.4±0.55 ^b	123.6±0.89 ^b	106.0±1.41 ^a	0.072±0.009 ^a

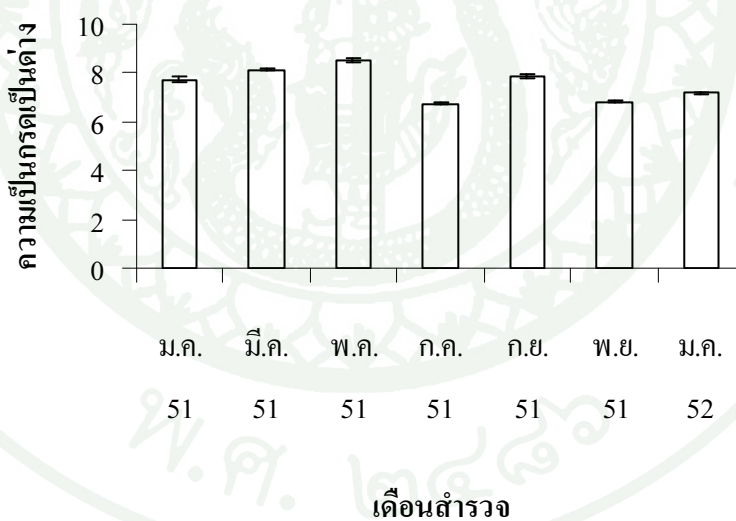
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในกลุ่มเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^A $F = 332.92$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$, ^B $F = 510.88$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$; ^C $F = 350.54$; $df = 6, 24$; $P < 0.01$, ^D $F = 82.63$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$,

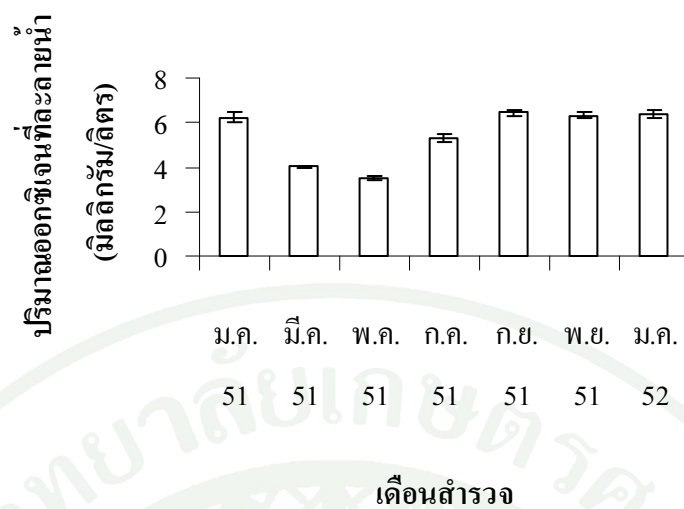
^E $F = 119.03$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$, ^F $F = 148.33$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$, ^G $F = 116.59$; $df = 6, 28$; $P < 0.01$



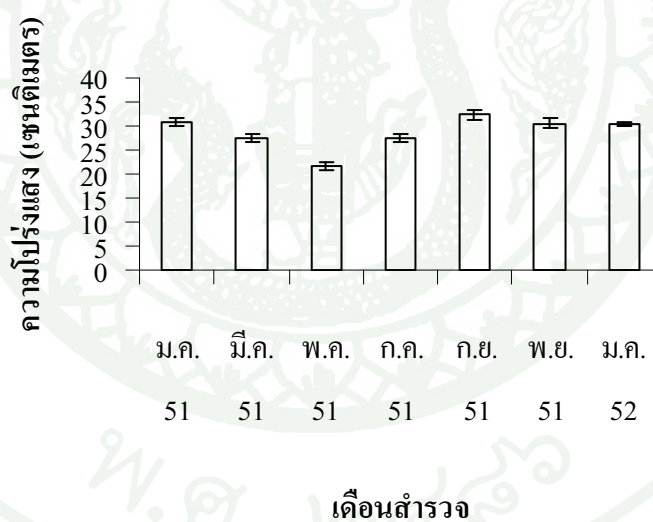
ภาพที่ 30 อุณหภูมิน้ำเฉลี่ยของบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



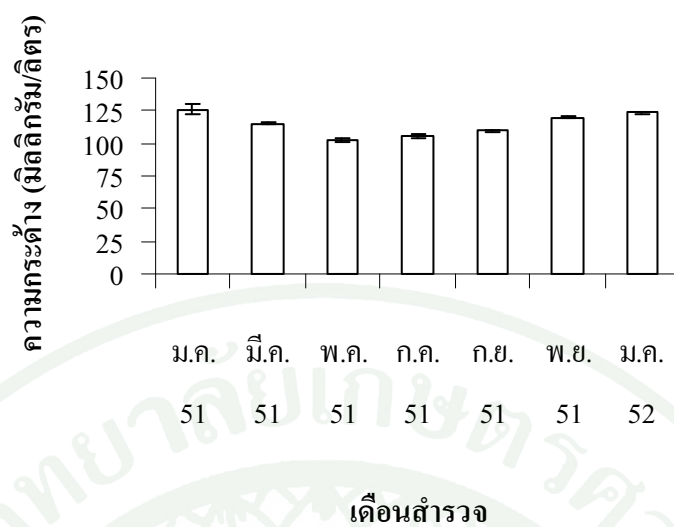
ภาพที่ 31 ความแตกต่างเป็นระดับเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



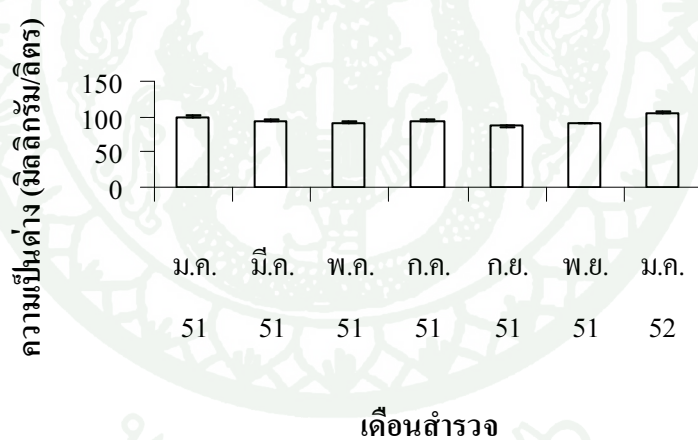
ภาพที่ 32 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำเฉลี่ยในบ่อกักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



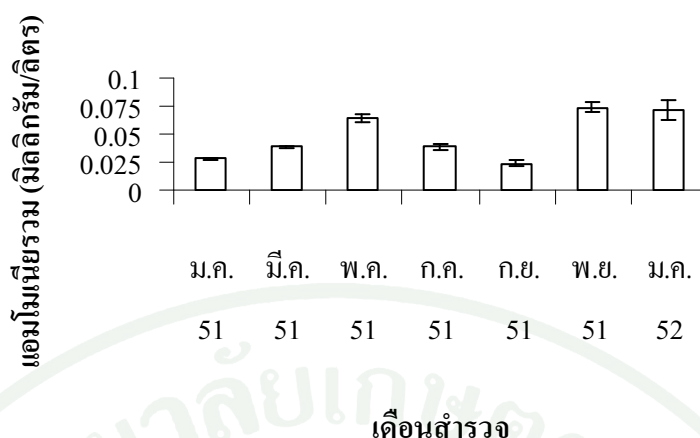
ภาพที่ 33 ความโปร่งแสงเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถานีวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 34 ความกระด้างเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 35 ความเป็นด่างเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 36 แอมโมเนียรวมเฉลี่ยในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดในช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่างระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

1.4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะแวดล้อมกับประชากรรีนน้ำจืด

ก. สภาวะอากาศ

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของเพียร์สัน เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะอากาศกับความหลากหลายและความชุกชุม พบว่าปริมาณน้ำฝนรายเดือนมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำกับความหลากหลาย แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับต่ำกับความชุกชุม ความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำทั้งความหลากหลายและความชุกชุม และอุณหภูมิอากาศมีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับต่ำทั้งความหลากหลายและความชุกชุม โดยที่ข้อมูลด้านสภาวะอากาศตลอดระยะเวลาที่สำรวจทั้ง 3 ปีจ้ยดังกล่าว ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติทั้งความหลากหลายและความชุกชุม ($P > 0.05$; ตารางที่ 12)

ข. คุณภาพน้ำ

จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของเพียร์สัน เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำกับความหลากหลายและความชุกชุม พบว่าอุณหภูมิน้ำมีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับปานกลางทั้งกับความหลากหลายและความชุกชุม ความเป็นกรดเป็นด่างมีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับสูงกับความหลากหลาย แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำกับความ

ชุกชุม ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลางกับความหลากหลายชนิด แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำกับความชุกชุม ความโปร่งแสงและความกระด้างมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำทั้งกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุม ความเป็นด่างมีความสัมพันธ์เชิงลบในระดับปานกลางทั้งกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุม และแอมโมเนียรวมมีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับต่ำกับความหลากหลายชนิด แต่มีความสัมพันธ์เชิงบวกในระดับปานกลางกับความชุกชุม โดยที่ความสัมพันธ์ทุกปัจจัยของคุณภาพน้ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุม ($P > 0.05$; ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r)

ระหว่างปัจจัยต่างๆ ของสภาพแวดล้อมกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของ
รึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด ในช่วงระหว่างเดือน
มกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

ปัจจัยของสภาพแวดล้อม	ความหลากหลายชนิด	ความชุกชุม
สภาวะอากาศ		
ปริมาณน้ำฝนรายเดือน	0.067	-0.082
ความชื้นสัมพัทธ์	0.258	0.218
อุณหภูมิอากาศ	-0.169	-0.097
คุณภาพน้ำ		
อุณหภูมิน้ำ	-0.475	-0.347
ความเป็นกรดเป็นด่าง	-0.870	0.002
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ	0.336	0.136
ความโปร่งแสง	0.260	0.034
ความกระด้าง	0.166	0.098
ความเป็นด่าง	-0.522	-0.493
แอมโมเนียรวม	0.204	0.329

หมายเหตุ * หมายถึงมีความแตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

2. วงจรชีวิตและการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด

2.1 การคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

การศึกษานิชของรึ้นน้ำจืดที่พบในบ่อผลิตอาหารมีชีวิตของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา เพื่อนำมาเปรียบเทียบคุณลักษณะที่ดีในการผลิตหนอนแดงเพื่อใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จากการรวบรวมตัวอย่างหนอนแดงจำนวน 10 ครั้ง ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2550 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551 พบชนิดของรึ้นน้ำจืดทั้งหมดจำนวน 5 ชนิด (จำนวนตัวอย่างรวม 2,049 ตัว) อยู่ในวงศ์ย่อย Chironominae ทั้ง 5 ชนิด คือ *Chironomus javanus* Kieffer, 1924 (1,786 ตัว), *C. fuscipes* Yamamoto, 1990 (151 ตัว), *C. apicatus* (47 ตัว), *Polypedilum* sp. (44 ตัว) และ *Parachironomus fuscipes* (21 ตัว) คิดเป็นร้อยละ 87.16, 7.37, 2.29, 2.14, และ 1.04 ตามลำดับ

เมื่อนำรึ้นน้ำจืดทั้ง 5 ชนิด มาศึกษาวงจรชีวิตภายใต้ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่ารึ้นน้ำจืดแต่ละชนิดมีช่วงวงจรชีวิตแตกต่างกันคือ รึ้นน้ำจืด *Chironomus javanus*, *C. fuscipes* และ *C. apicatus* เพศผู้มีช่วงวงจรชีวิต 15-17, 12-16 และ 15-18 วัน และเพศเมียมีช่วงวงจรชีวิต 17-19, 14-18 และ 17-20 วัน จำนวนไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ย 387.5, 432.3 และ 368.27 ฟอง อัตราการปฏิสนธิเฉลี่ย 94.5, 92.2 และ 95.2 เปอร์เซ็นต์ อัตราการฟักเฉลี่ย 96.8, 95.6 และ 94.9 เปอร์เซ็นต์ และช่วงระยะเวลาฟัก 24-36, 18-20 และ 24-36 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนรึ้นน้ำจืด *Polypedilum* sp. และ *Parachironomus* sp. ไม่วางไข่ในที่กักขังที่จัดไว้ จึงไม่สามารถศึกษาวงจรชีวิตได้ (ตารางที่ 13) เมื่อพิจารณาคุณลักษณะที่ต่างกัน เช่น ความสามารถในการวางไข่ในที่กักขัง จำนวนไข่ต่อฟักไข่ อัตราการฟัก ระยะเวลาฟัก ระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการ และระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ได้ของตัวเต็มวัยแล้ว พบว่ารึ้นน้ำจืด *C. fuscipes* Yamamoto, 1990 มีคุณลักษณะที่ดีมากที่สุดในการบรรดารึ้นน้ำจืดทั้งหมด 5 ชนิด ที่ทำการศึกษา จึงคัดเลือกรึ้นน้ำจืดชนิดดังกล่าวเพื่อนำมาศึกษาในรายละเอียดในหัวข้ออื่นๆ ต่อไป

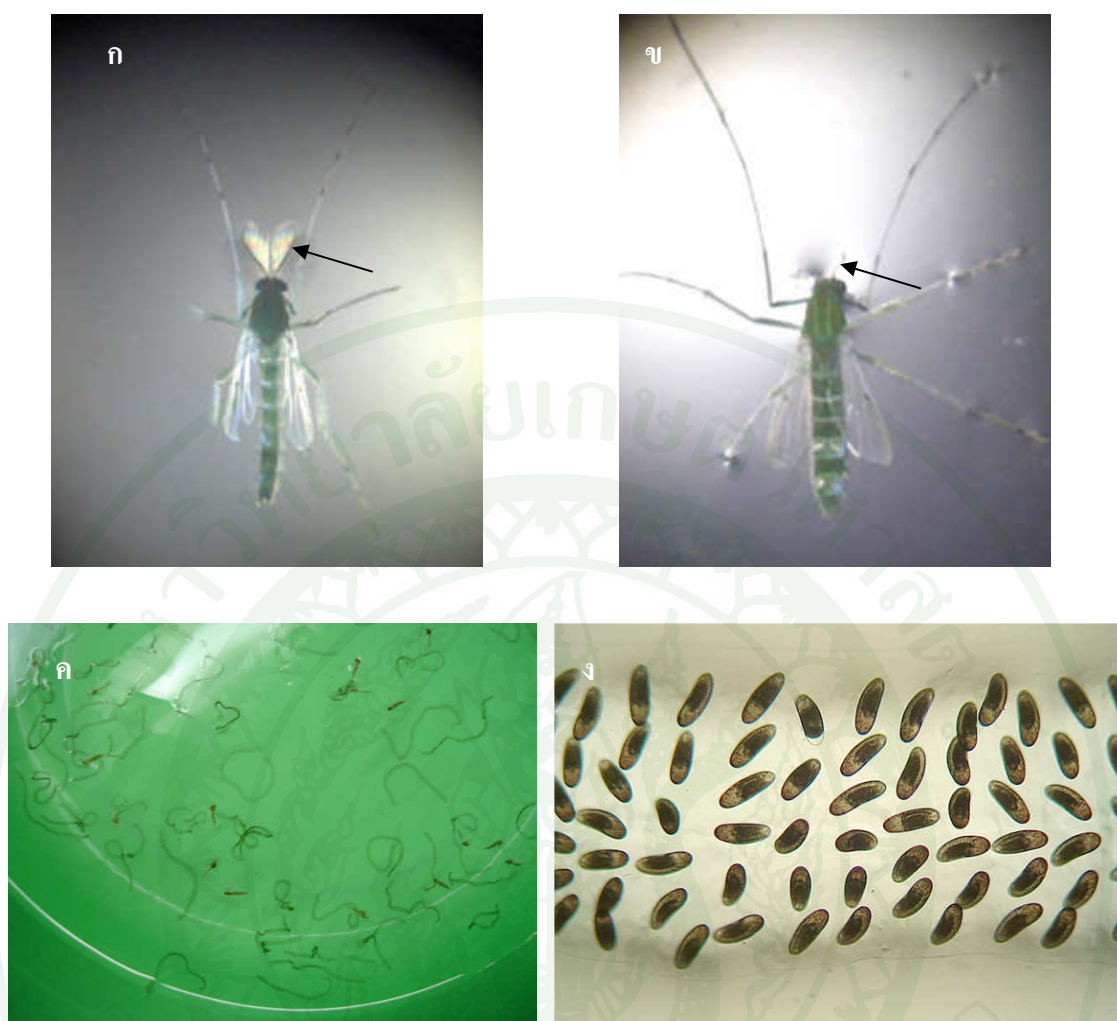
จากการศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่ารึ้นน้ำจืดเพศผู้ (ภาพที่ 37 ก) มีการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ในตอนเช้าตรู่ ซึ่งพฤติกรรมการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ของรึ้นน้ำจืดในกรงเพาะพันธุ์ยังไม่ชัดเจน ขณะที่รึ้นน้ำจืดเพศเมีย (ภาพที่ 37 ข) ส่วนใหญ่วางไข่หลังจากเที่ยงคืนถึงตอนเช้าตรู่ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ จากการสังเกตก่อนการวางไข่รึ้นน้ำจืดเพศเมียจะบินเหนือผิวน้ำในภาชนะพลาสติกที่เตรียมไว้ประมาณ 2-3 วินาที ก่อนที่

จะเกาะที่ริมด้านข้างของภาชนะพลาสติก ในขณะที่บางตัวอาจเกาะที่ผิวน้ำเลย จากนั้นก็จะยกขาหลังขึ้นแนบชิดกันพร้อมกับการขยับส่วนปลายของท้องอย่างต่อเนื่อง และค่อยๆ ปลดปล่อยไขทั้งหมดรวมกันเป็นฝักไข่ ใช้เวลาทั้งหมด 3-5 นาที ไข่มีสีน้ำตาลปกคลุมด้วยวุ้นใส ความยาวของฝักไข่ภายหลังวางไข่ใหม่ๆ มีความยาวอยู่ในช่วง 10.1-124.2 มิลลิเมตร เมื่อวางไข่เสร็จจึงมีน้ำจืดเพศเมียก็ขยับปีกบินอย่างรวดเร็ว และมีการสั่นบริเวณท้องเพื่อขับฝักไข่ที่ติดอยู่ที่ปลายส่วนท้องให้หลุดออกไป ฝักไข่ที่ถูกปล่อยออกจะลอยอยู่บริเวณผิวน้ำในภาชนะวางไข่ และจะค่อยๆ พองออกขยายความยาวอีกเล็กน้อยภายในระยะเวลา 5 นาที ฝักไข่ของริ้นน้ำจืดชนิดนี้มีลักษณะคล้ายเส้นด้ายขณะที่ลอยอยู่ที่ผิวน้ำ (ภาพที่ 37 ค) ไข่มีขนาดความยาว 287.8 ± 2.84 ไมครอน และมีความกว้าง 92.5 ± 2.86 ไมครอน (จำนวน 30 ตัวอย่าง; ภาพที่ 37 ง) เมื่อตัวอ่อนฟักออกจากไข่จะกินวุ้นที่ห่อหุ้มไข่ ก่อนที่จะว่ายน้ำเป็นอิสระออกจากฝักไข่ไปตามกระแสน้ำมีลักษณะคล้ายแพลงก์ตอน หนอนแดงระยะแรกฟักมีขนาดความยาว 614.8 ± 4.04 ไมครอน และมีความกว้าง 273.3 ± 2.54 ไมครอน (จำนวน 30 ตัวอย่าง)

เมื่อนำระยะตัวหนอนของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อสังเกตพฤติกรรมการสร้างปลอกหุ้มตัวและการกินอาหาร พบว่าเมื่อหนอนแดงพบถิ่นที่อาศัยที่พอใจ หนอนแดงจะเคลื่อนไหวในลักษณะบิดตัวเป็นเกลียวในบริเวณที่ตะกอนอินทรีย์วัตถุประมาณ 10-15 นาที หลังจากนั้นจึงค่อยๆ เงี้ยวลง หนอนแดงใช้ส่วนหัวสัมผัสกับตะกอนอินทรีย์วัตถุ ในขณะที่เท้าเทียมด้านท้ายลำตัวยังคงเคลื่อนไหวอย่างอิสระและมีการหยุดพักเป็นช่วงๆ หลังจากนั้นจึงใช้เท้าเทียมด้านท้ายลำตัวยึดติดกับตะกอนอินทรีย์วัตถุ จนมองเห็นหนอนแดงอยู่ปนกับตะกอนอินทรีย์วัตถุ พร้อมทั้งพ่นน้ำลายเหนียวออกมาเป็นสายๆ ต่อจากนั้นจึงส่งน้ำลายดังกล่าวไปด้านท้ายลำตัวโดยการโค้งงอลำตัว เพื่อสร้างโครงสร้างคล้ายหลังคาตลอดความยาวลำตัว และมีการสะสมตะกอนอินทรีย์วัตถุอย่างต่อเนื่อง จนสามารถสร้างปลอกหุ้มตัวที่มีปลายเปิดทั้งสองด้าน เมื่อเกิดความเสียหายกับปลอกหุ้มตัวหนอนแดงก็มีการซ่อมแซมอยู่ตลอดเวลา หนอนแดงจะยื่นส่วนหัวออกมาจากปลอกหุ้มตัวประมาณ 2-3 วินาที เพื่อหาอาหารหรืออินทรีย์วัตถุสำหรับสร้างปลอก โดยการโยกลำตัวจากด้านหน้าไปด้านหลัง (antero-posterior undulations) เพื่อให้น้ำไหลเข้าสู่ปลอกหุ้มตัว ทำให้อนุภาคของอาหารเข้ามาติดกับตาข่ายด้านหน้าของปลอกหุ้มตัว หลังจากนั้นตาข่ายจะถูกม้วนเข้าสู่ด้านในของปลอกหุ้มตัวเป็นครั้งคราว และถูกกลืนเข้าสู่ระบบทางเดินอาหาร โดยใช้เท้าเทียมด้านหน้าและขากรรไกรช่วยในการกลืนอาหาร

ตารางที่ 13 จำนวนไข่ต่อฟักไข่ อัตราการปฏิสนธิ อัตราการฟัก ระยะเวลาฟัก ระยะเวลาที่ใช้พัฒนาของตัวหนอนแต่ละระยะ และระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ได้ของตัวเต็มวัยของริ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ที่รวบรวมจากบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง ที่อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส

ชนิดของริ้นน้ำจืด	จำนวนไข่ต่อฟักไข่ เฉลี่ย (ฟอง)	อัตราการปฏิสนธิ เฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	อัตราการฟักเฉลี่ย (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาฟัก (ชั่วโมง)	ระยะเวลาที่ใช้พัฒนา (วัน)					ระยะเวลาที่มีชีวิตอยู่ได้ ของตัวเต็มวัย (วัน)
					ตัว หนอน วัยแรก	ตัว หนอน วัยสอง	ตัว หนอน วัยสาม	ตัว หนอน วัยสี่ (ผู้)	ตัว หนอน วัยสี่ (เมีย)	
<i>Chironomus javanus</i>	387.5 (278-467)	94.5	96.8	24-36	2	2	2	7-8	8-9	2-3 (ผู้) 3-4 (เมีย)
<i>C. fuscipes</i>	432.3 (271-1,013)	92.2	95.6	18-20	1	1	2	5-6	6-7	3-6 (ผู้) 4-7 (เมีย)
<i>C. apicatus</i>	368.27 (280-462)	95.2	94.9	24-36	2	2	2	7-8	8-10	2-4 (ผู้) 3-4 (เมีย)
<i>Polypedilum</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Parachironomus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-



ภาพที่ 37 ไร่น้ำจืด *Chironomus fuscipes* Yamamoto (1990)

(ก) เพศผู้ (10x) มีขนาดแบบพุงนกก (สรชี้)

(ข) เพศเมีย (10x) มีขนาดเล็ก (สรชี้)

(ค) ฝักไข่

(ง) ไข่ภายในฝักไข่ (40x)

2.2 การศึกษาการเพาะพันธุ์

2.2.1 อัตราส่วนเพศ

การศึกษาอัตราส่วนเพศในการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงในกรงเพาะพันธุ์ภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส) พบว่าอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 1:1 (10:10), 3:2 (15:10) และ 2:1 (20:10) ให้อัตราการวางไข่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่อัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 1:10 และ 1:2 (5:10) รึ้นน้ำจืดมีอัตราการวางไข่ลดลง ($P < 0.01$) อย่างไรก็ตามอัตราส่วนเพศทุกอัตราไม่มีผลต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่และอัตราการฟัก ($P > 0.05$) (ตารางที่ 14 และภาพที่ 38-40)

ตารางที่ 14 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่มีอัตราส่วนเพศต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

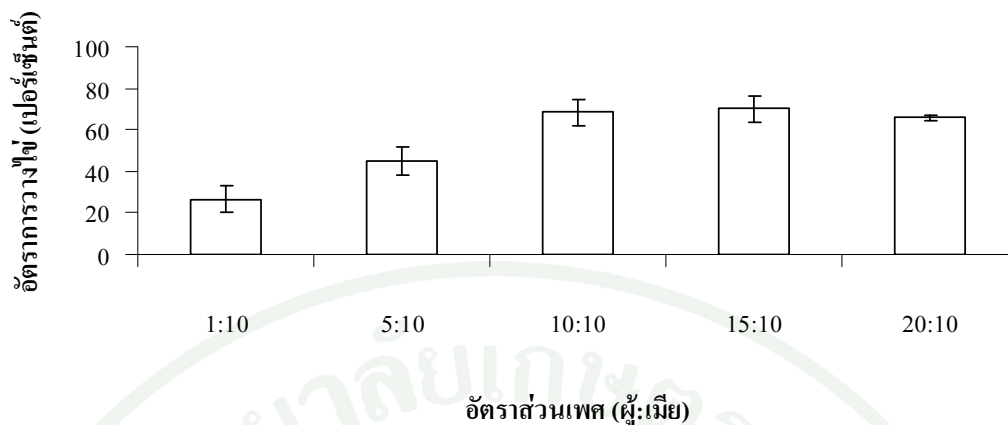
คุณลักษณะ	อัตราส่วนเพศ (ผู้:เมีย)				
	1:10	1:2	1:1	3:2	2:1
อัตราการวางไข่ (เปอร์เซ็นต์) ^A	26.67±6.29 ^c	45.00±6.61 ^b	68.33±6.29 ^a	70.00±6.61 ^a	65.83±1.44 ^a
ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ (ฟอง) ^B	483.75±22.98 ^a	548.25±34.67 ^a	521.14±21.03 ^a	529.07±30.61 ^a	548.98±22.94 ^a
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) ^C	91.78±0.90 ^a	91.70±1.70 ^a	93.43±2.80 ^a	93.55±2.47 ^a	90.17±3.21 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

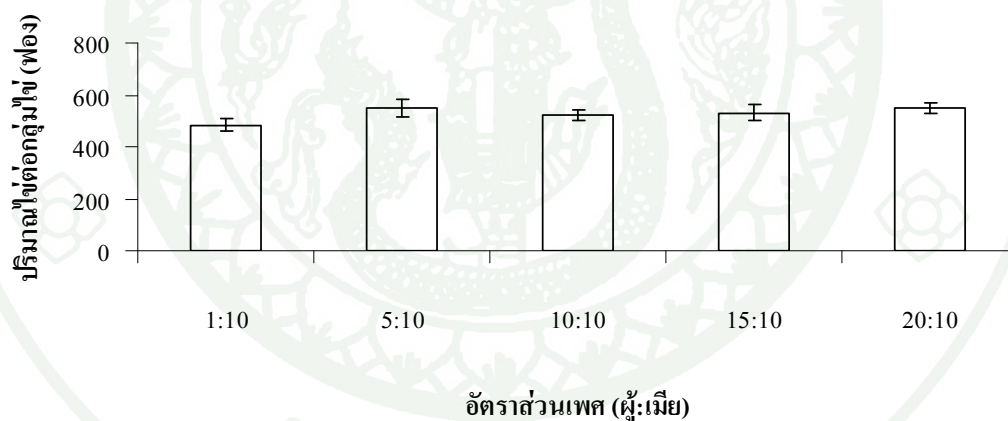
^A $F = 28.72$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$;

^B $F = 2.93$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$;

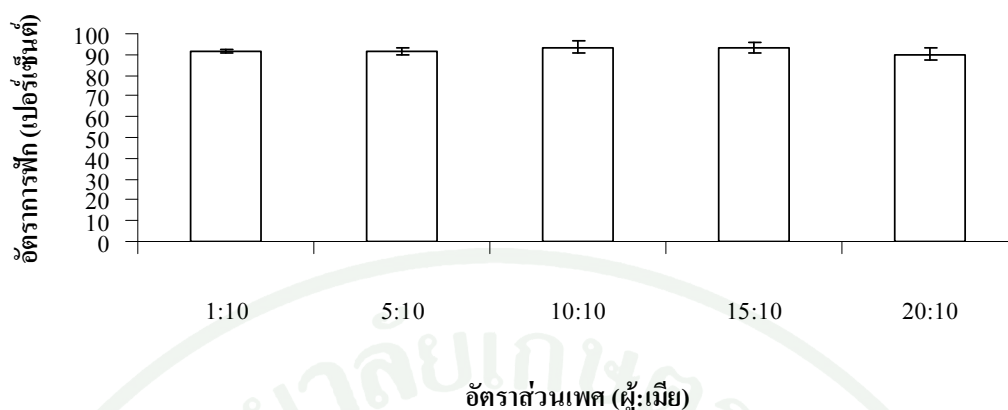
^C $F = 1.06$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$



ภาพที่ 38 ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 39 ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 40 ผลของอัตราส่วนเพศของพ่อแม่พันธุ์ที่ต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)

2.2.2 ผลของแสง

ก. สีของแสง

อัตราการวางไข่ของรีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เพาะพันธุ์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ โดยใช้สีของแสงต่างกัน พบว่าตอบสนองต่อสีขาวมากที่สุด (87.5 เปอร์เซ็นต์) และตอบสนองต่อสีแดงและสีน้ำเงินน้อยที่สุด (0 เปอร์เซ็นต์) (ตารางที่ 15, ภาพที่ 41-43) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) อย่างไรก็ตามจำนวนไข่ต่อฟักไข่และอัตราการฟักไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 15 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่มีสีของแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

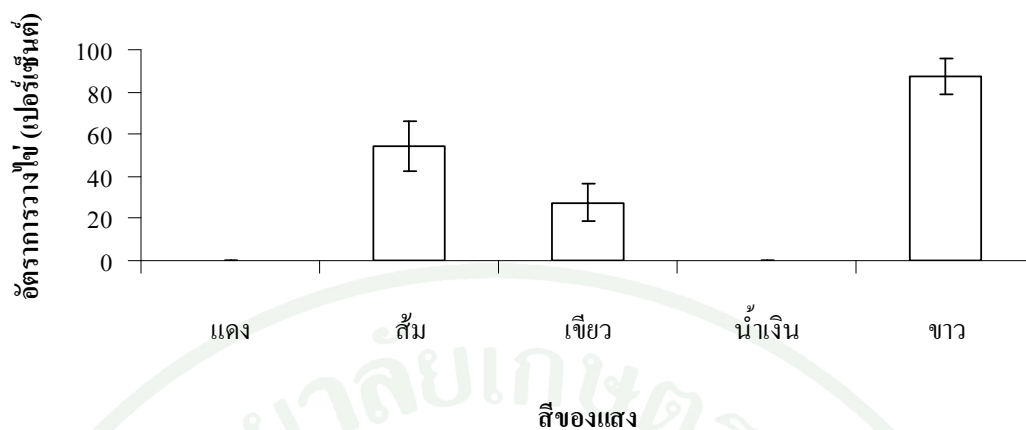
คุณลักษณะ	สีของแสง				
	แดง	ส้ม	เขียว	น้ำเงิน	ขาว
อัตราการวางไข่ (เปอร์เซ็นต์) ^A	0 ^d	54.17±11.82 ^b	27.50±9.01 ^c	0 ^d	87.5±8.66 ^a
ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ (ฟอง) ^B	-	571.02±59.28 ^a	518.37±3.07 ^a	-	512.17±10.51 ^a
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) ^C	-	93.89±2.52 ^a	93.75±2.00 ^a	-	94.58±2.49 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

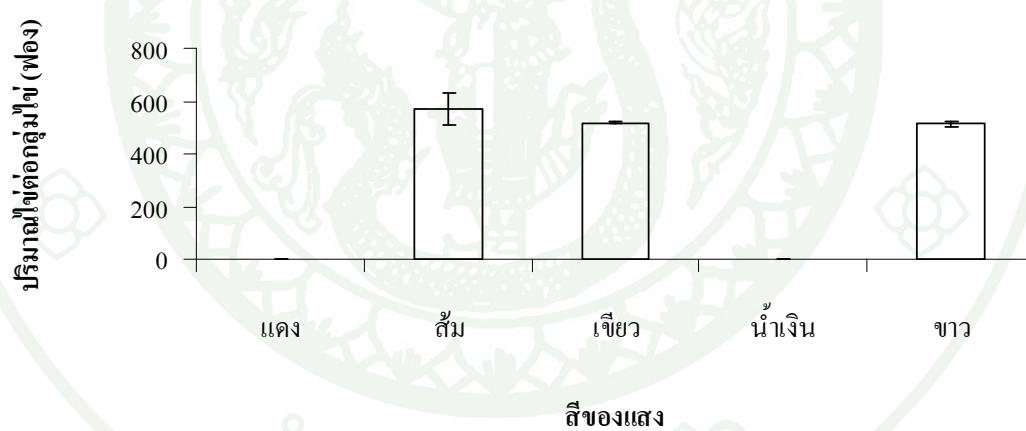
^A $F = 105.30$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$;

^B $F = 355.09$, $df = 2$ and 6 , $P > 0.01$;

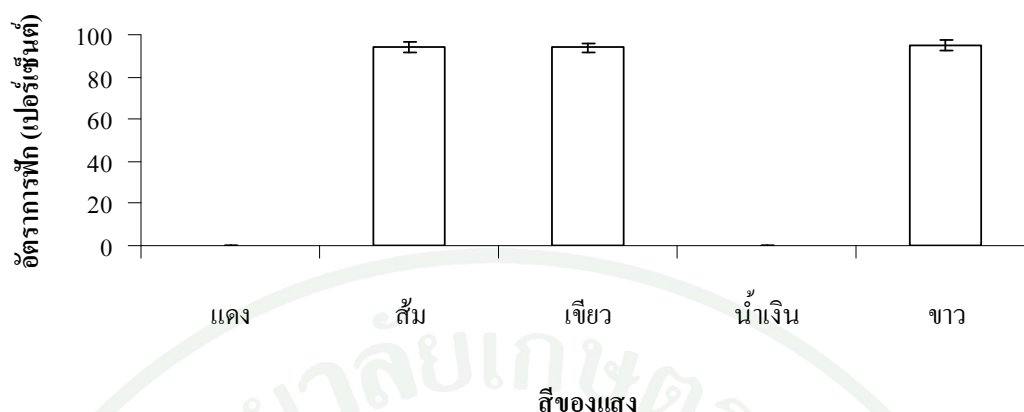
^C $F = 0.12$, $df = 2$ and 6 , $P > 0.05$



ภาพที่ 41 ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 42 ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 43 ผลของสีของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่วุ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)

ข. ความเข้มของแสง

การตอบสนองต่อความเข้มของแสงสีขาว (จากหลอด Cool Daylight) ของไข่วุ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงในกรงเพาะพันธุ์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ ในช่วงความเข้มของแสง 250-1,250 ลักซ์ พบว่าความเข้มของแสงตั้งแต่ 500 ลักซ์ขึ้นไปให้อัตราการวางไข่ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่ที่ความเข้มของแสง 250 ลักซ์ ไข่วุ้นน้ำจืดมีอัตราการวางไข่ต่ำลง ($P < 0.01$) ในขณะที่จำนวนไข่ต่อฟักไข่และอัตราการฟักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 16 และภาพที่ 44-46)

ตารางที่ 16 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่ระดับความเข้มของแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

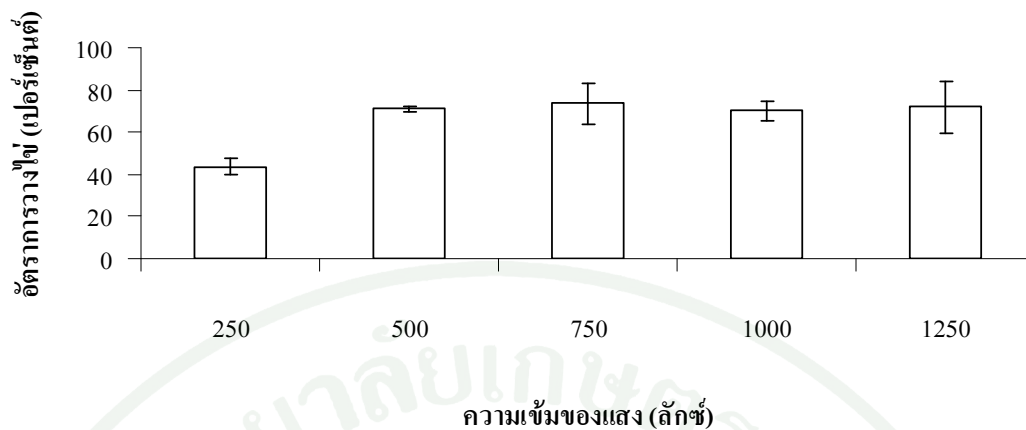
คุณลักษณะ	ความเข้มของแสง (ลักซ์)				
	250	500	750	1,000	1,250
อัตราการวางไข่ (เปอร์เซ็นต์) ^A	43.33±3.82 ^b	70.83±1.44 ^a	73.33±10.10 ^a	70.00±4.33 ^a	71.76±12.33 ^a
ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ (ฟอง) ^B	513.92±13.77 ^a	553.19±37.51 ^a	585.10±22.19 ^a	542.85±54.37 ^a	532.29±36.31 ^a
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) ^C	94.37±3.74 ^a	94.44±2.32 ^a	95.18±0.81 ^a	93.80±1.59 ^a	91.78±0.88 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

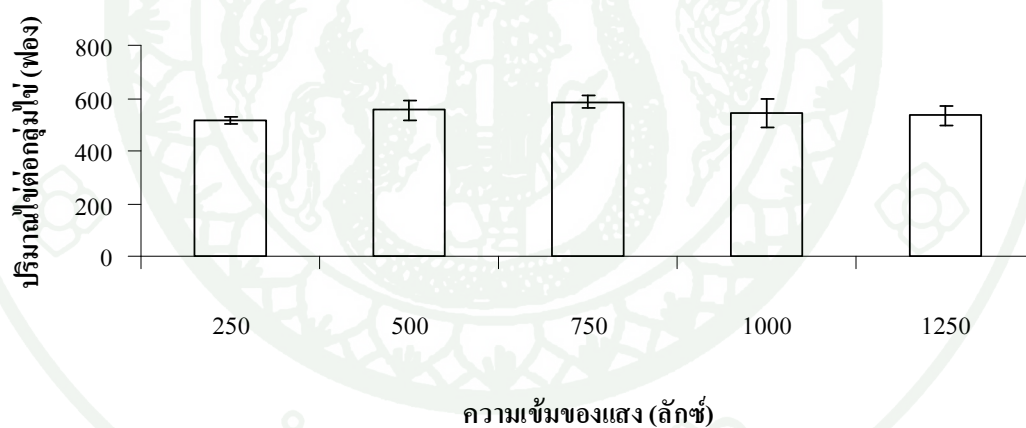
^A $F = 7.35$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$;

^B $F = 1.65$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$;

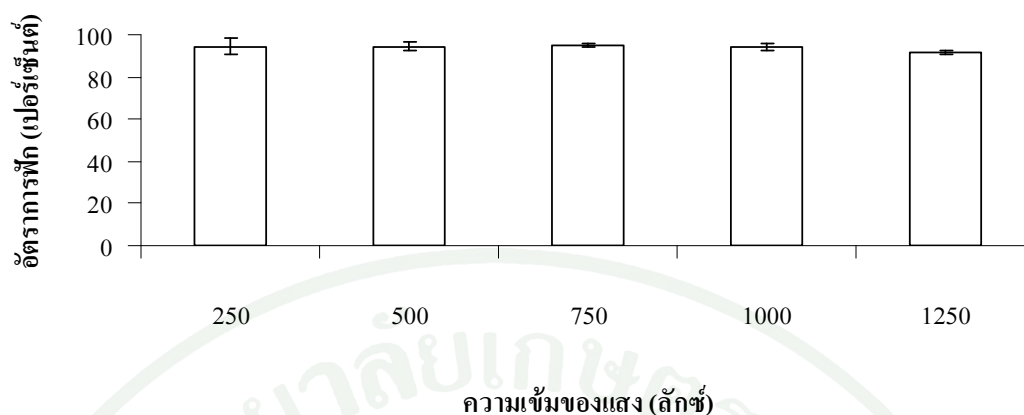
^C $F = 1.08$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$



ภาพที่ 44 ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 45 ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 46 ผลของความเข้มของแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)

ก. ช่วงแสง

การศึกษากการได้รับช่วงแสงแบบต่างๆ กัน (ช่วงการได้รับแสง 0-24 ชั่วโมงต่อวัน) ที่มีแหล่งกำเนิดมาจากแสงสีขาว และมีความเข้มแสง 500 ลักซ์ ต่อรีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงในกรงเพาะพันธุ์ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ พบว่ารีน้ำจืดมีอัตราการวางไข่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยช่วงการได้รับแสงตั้งแต่ 6 ชั่วโมงต่อวัน ให้อัตราการวางไข่ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การเลี้ยงรีน้ำจืดในสภาวะมืดสนิททำให้อัตราการวางไข่และจำนวนไข่ต่อฝักไข่ลดต่ำลง ($P < 0.05$) และไข่ไม่ฟักออกเป็นตัว ($P < 0.01$) (ตารางที่ 17 และภาพที่ 47-49)

ตารางที่ 17 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ที่ช่วงแสงต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

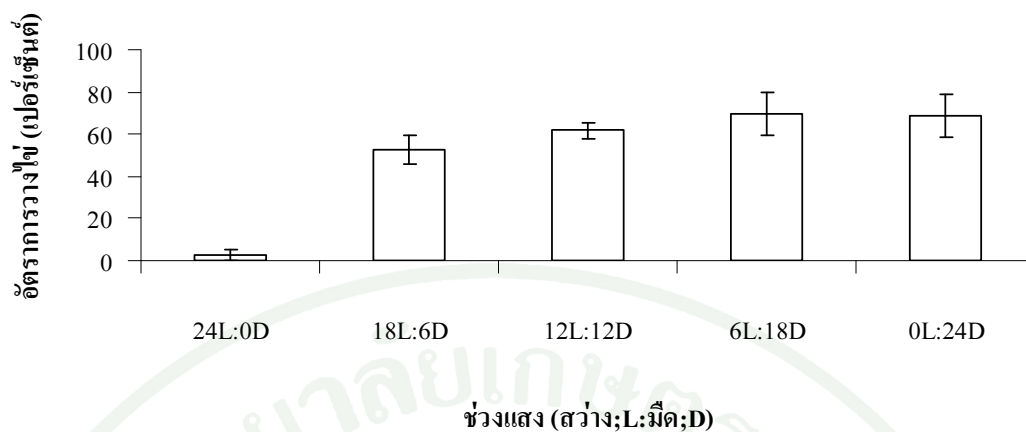
คุณลักษณะ	ช่วงการได้รับแสง (สว่าง; L :มืด; D)				
	24L:0D	18L:6D	12L:12D	6L:18D	0L:24D
อัตราการวางไข่ (เปอร์เซ็นต์) ^A	2.50±2.50 ^b	52.50±6.62 ^a	61.67±3.82 ^a	69.17±10.10 ^a	68.33±10.10 ^a
ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ (ฟอง) ^B	287.47±248.96 ^b	572.22±19.63 ^a	575.97±20.12 ^a	613.86±30.15 ^a	613.15±26.74 ^a
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) ^C	0 ^b	91.56±1.73 ^a	91.49±2.26 ^a	90.98±2.73 ^a	93.23±3.12 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^A $F = 44.57$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$;

^B $F = 4.46$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.05$;

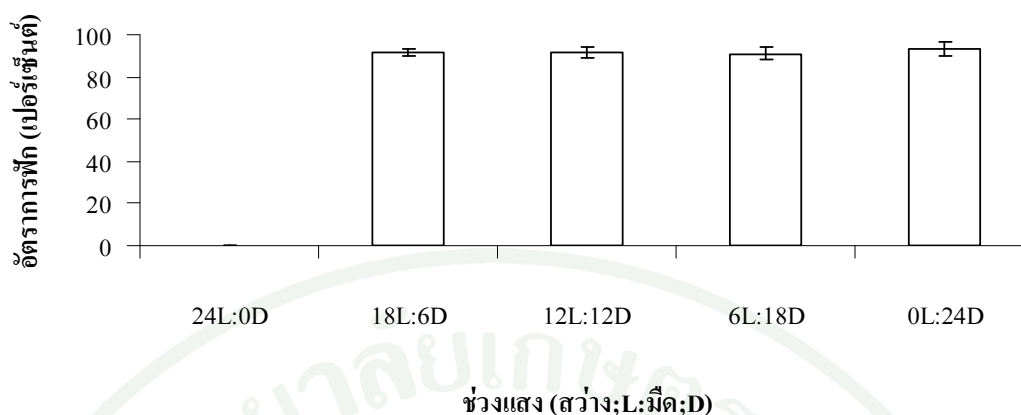
^C $F = 569.41$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$



ภาพที่ 47 ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 48 ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 49 ผลของช่วงแสงที่แตกต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไชรีนน้าจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)

2.2.3 ผลของระดับอาหารธรรมชาติในน้ำต่อการเลือกวางไข่ของไชรีนน้าจืด

การศึกษาการเลือกวางไข่ของไชรีนน้าจืด *Chironomus fuscipes* ในน้ำที่มีความเข้มข้นของอาหารธรรมชาติ (คลอเรลลา) ต่างกันในช่วง $0-4 \times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่าอัตราการวางไข่ของไชรีนน้าจืดไม่มีความสัมพันธ์กับระดับของอาหารธรรมชาติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 18 และภาพที่ 50) เช่นเดียวกับปัจจัยอื่นๆ ของคุณภาพน้ำของน้ำที่จัดเตรียมไว้สำหรับการวางไข่ของไชรีนน้าจืดในแต่ละวันไม่มีความสัมพันธ์กับระดับของอาหารธรรมชาติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 19)

จำนวนไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ยอยู่ในช่วง 529.88-548.58 ฟอง (ตารางที่ 18 และภาพที่ 51) ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ในแต่ละความเข้มข้นของอาหารธรรมชาติ ไข่ที่วางในน้ำที่มีความเข้มข้นอาหารธรรมชาติต่างกันสามารถฟักออกเป็นตัวได้ในทุกความเข้มข้นของอาหารธรรมชาติ (ตารางที่ 18 และ ภาพที่ 52) เช่นเดียวกับอัตราการฟักที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ไชรีนน้าจืดใช้ระยะเวลาฟักออกเป็นตัว 18-24 ชั่วโมง ในทุกชุดการทดลอง (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 18 อัตราการวางไข่ ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ และอัตราการฟักของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียในห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ในน้ำที่มีระดับอาหารธรรมชาติต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

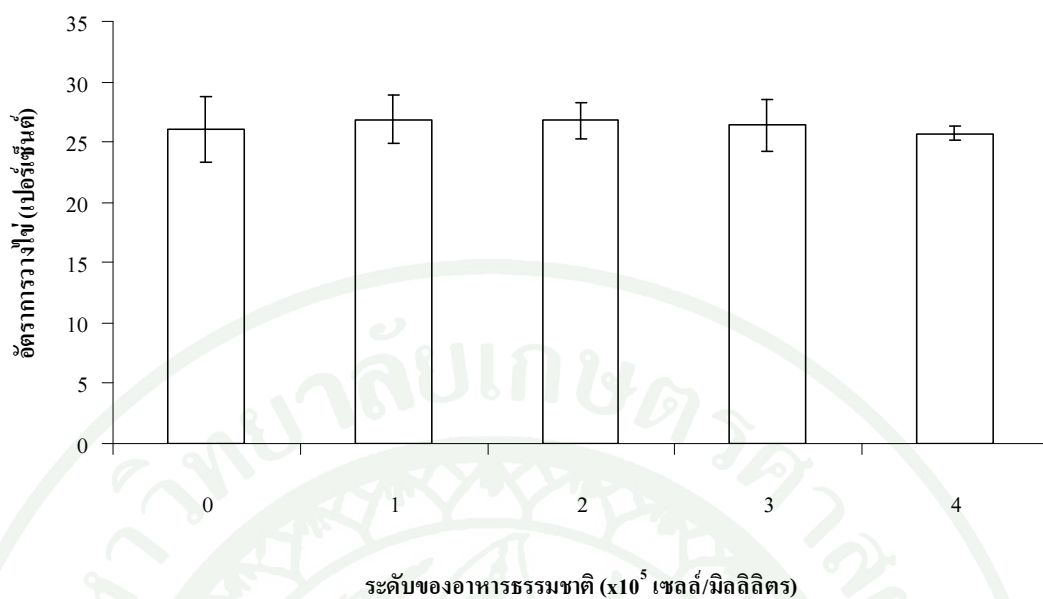
คุณลักษณะ	ระดับอาหารธรรมชาติ (x10 ³ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)				
	O (ชุดควบคุม)	1	2	3	4
อัตราการวางไข่ (เปอร์เซ็นต์) ^A	19.33±3.75	20.50±2.78	20.33±6.12	19.83±2.93	18.83±0.76
ปริมาณไข่ต่อกลุ่มไข่ (ฟอง) ^B	548.58±26.01	540.10±14.20	550.13±177.28	564.93±12.00	529.88±28.00
อัตราการฟัก (เปอร์เซ็นต์) ^C	81.38±14.49	79.71±13.15	80.18±23.96	80.70±12.33	81.73±14.21

หมายเหตุ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

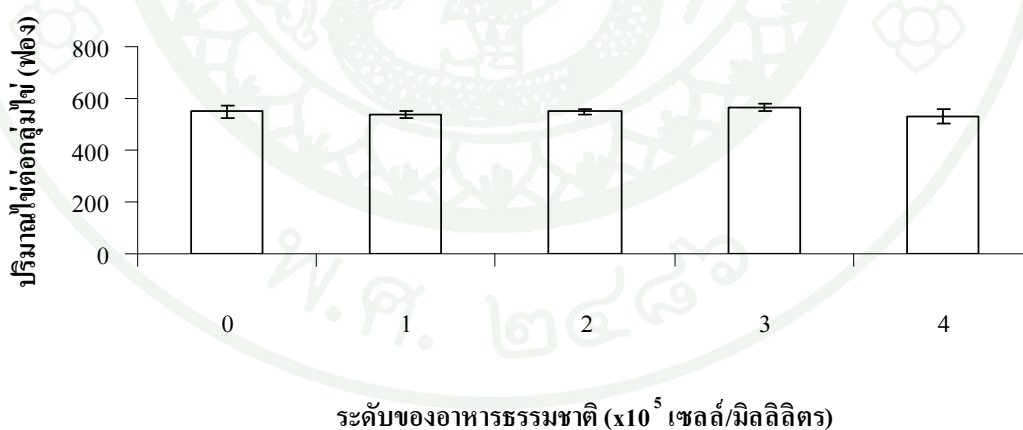
^A $\chi^2 = 1.19$, df = 4, $P > 0.05$;

^B $\chi^2 = 6.27$, df = 4, $P > 0.05$;

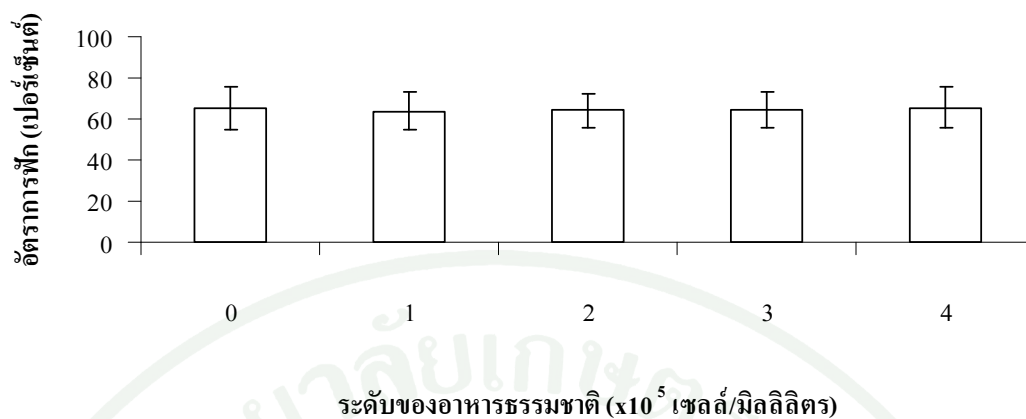
^C $\chi^2 = 1.63$, df = 4, $P > 0.05$



ภาพที่ 50 ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่แตกต่างกันต่ออัตราการวางไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 51 ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่แตกต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ในกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26 ± 1 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 52 ผลของระดับอาหารธรรมชาติที่ต่างกันต่ออัตราการฟักเฉลี่ยของไชรี้น้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากกรงเพาะพันธุ์แมลงภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส)

ตารางที่ 19 ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในภาชนะวางไข่ที่มีระดับของอาหารธรรมชาติต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระดับอาหาร ธรรมชาติ ($\times 10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ปัจจัยของคุณภาพน้ำ					
	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ^A	ความเป็นกรดเป็น ด่าง ^B	ออกซิเจนที่ละลาย น้ำ (มิลลิกรัมต่อ ลิตร) ^C	ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^D	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อลิตร) ^E	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อ ลิตร) ^F
0 (ชุดควบคุม)	28.4±0.23	7.2±0.07	6.2±0.25	168.0±1.41	143.2±1.10	0.008±0.005
1	28.4±0.22	8.7±0.10	7.6±0.46	171.6±2.19	142.4±2.61	0.029±0.006
2	28.3±0.13	8.8±0.16	8.2±0.43	173.6±2.61	146.8±1.79	0.056±0.015
3	28.4±0.13	9.0±0.18	8.3±1.73	178.4±3.85	151.6±2.19	0.074±0.015
4	28.4±0.19	9.1±0.35	9.3±0.57	181.2±5.76	154.8±3.03	0.105±0.036

หมายเหตุ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

^A $\lambda^2 = 0.45$, df = 4, $P>0.05$; ^B $\lambda^2 = 0.164$, df = 4, $P>0.05$; ^C $\lambda^2 = 0.026$, df = 4, $P>0.05$;

^D $\lambda^2 = 0.574$, df = 4, $P>0.05$; ^E $\lambda^2 = 0.278$, df = 4, $P>0.05$; ^F $\lambda^2 = 1.0$, df = 4, $P>0.05$

2.3 พัฒนาการของไข่รีน้ำจืด

จากการศึกษาพัฒนาการของไข่รีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* จนฟักออกเป็นตัว พบว่าลำดับพัฒนาการของรีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ระยะต่างๆ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง รวมระยะเวลา 16 ชั่วโมง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส โดยมีการเปลี่ยนแปลงทางลักษณะปรากฏที่สำคัญดังสรุปในตารางที่ 20

ไข่รีน้ำจืดอยู่ภายใต้ฟักไข่ที่มีลักษณะเป็นเส้นยาวคล้ายเส้นเชือก (string-shaped egg mass) มีการเรียงตัวของเม็ดไข่ภายในฟักไข่ในแนวระนาบแบบขดซ้อนทับไปมา ปกคลุมด้วยสารเหนียวที่หลั่งออกมา (gelatinous secretion) ซึ่งเมื่อคูดซึมน้ำเข้าไปจะทำให้ฟองออกคล้ายวุ้น พัฒนาการของไข่รีน้ำจืดเริ่มต้นทันทีภายหลังการวางไข่ หรืออาจมีการพัฒนาดังแต่อยู่ภายในตัวแม่ ไข่ที่ปฏิสนธิแล้วนิวเคลียสจะอยู่กึ่งกลางเซลล์ของไข่แดงปกคลุมด้วยโปรโตพลาสตอยู่รอบๆ ในระหว่างที่มีการพัฒนา นิวเคลียสจะเคลื่อนย้ายไปสู่รอบนอกของไข่และเริ่มมีโพลาร์บอดี (polar body) เกิดขึ้น หลังจากเกิดการปฏิสนธิแล้วไซโกต (zygote) ของนิวเคลียสจะผ่านเข้าข้างในและเริ่มที่จะเกิดการแบ่งเซลล์ของนิวเคลียสกลายเป็นนิวเคลียสลูก (daughter nuclei) (ภาพที่ 53 ก)

ระยะคลีเวจ (cleavage) และระยะบลาสโตเดิร์ม (blastoderm) สองระยะนี้จะเกิดการแบ่งเซลล์ของไซโกตกลายเป็นนิวเคลียสคลีเวจ (cleavage nuclei) ซึ่งต่อมาจะถูกปกคลุมโดยกลุ่มของโปรโตพลาสต ต่อมาเกิดเป็นเซลล์คลีเวจเป็นจำนวนมาก ส่วนใหญ่จะเคลื่อนย้ายไปสู่ขอบๆ ของไข่และรวมตัวกับ periplasm เกิดเป็นเซลล์ต่อเนื่องกันหรือบลาสโตเดิร์มรอบๆ โยลค์ (yolk) ในขณะที่ขั้วอีกด้านหนึ่งของไข่เกิดการแยกออกกลายเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (germ-cell) ในระยะต่อมาบลาสโตเดิร์มประกอบด้วยชั้นของเซลล์รูปร่างเป็นแท่งทรงสูง (columnar cell) บนด้านล่าง (ventral) ของไข่ เซลล์ที่แบ่งตัวเกิดเป็นเซลล์ไข่แดงปฐมภูมิ (primary yolk cells) ซึ่งกลายมาเป็นการเชื่อมกันของเซลล์ไข่แดงทุติยภูมิ (secondary yolk cells) ที่มาจากการเคลื่อนย้ายเซลล์จากบลาสโตเดิร์ม

ระยะการเกิดแถบตัวอ่อน (germ band) ซึ่งแถบตัวอ่อนเริ่มปรากฏครั้งแรกเป็นแผ่นท้อง (ventral plate) ต่อมาเกิดเป็นเขตที่อยู่นอกตัวอ่อน (extraembryonic field) แถบตัวอ่อนที่เกิดขึ้นเป็นรูปยาวหรือรูปไข่ ซึ่งต่อมาความยาวจะเพิ่มขึ้นตามระยะของการพัฒนา ขึ้นต่อไปของการพัฒนาคือการเปลี่ยนโครงสร้างของแถบตัวอ่อนจากชั้นเดียวมาเป็นสองชั้น โดยปกติจะมีแถบตามยาวเกิดขึ้น 1 คู่ บนแต่ละด้านของแผ่นล่าง (ventral plate) และแยกออกจากแผ่นกลาง (middle plate)

กลายเป็นแผ่นข้าง (lateral plate) จำนวน 2 อัน เกิดการเว้ากลายเป็นร่องตลอดความยาวของแผ่นกลาง ต่อมารอยพับตามยาวจะเจริญปกคลุมแผ่นกลางและร่องก็จะเปลี่ยนเป็นท่อ (ภาพที่ 53 ข)

ระยะการห่อหุ้มตัวอ่อน (embryonic envelops) และการเกิด blastokinesis ส่วนของแถบตัวอ่อนยังไม่เป็นอิสระจากผิวของโบลล์ แต่ต่อมาถูกปกคลุมโดยรอยพับของเยื่อหุ้มไข่ที่เกิดขึ้นจากทางด้านขอบ การเกิดขึ้นของการห่อหุ้มตัวอ่อนและเคลื่อนมาติดกันเรียกว่า blastokinesis ซึ่งแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับการแทรกของแถบตัวอ่อนเข้าไปในโบลล์ ต่อมาโบลล์ก็จะถูกปกคลุมด้วยชั้นเซอโรซา (serosa) ซึ่งเกิดเป็นช่องว่างของนิวเคลียสที่มีขนาดใหญ่และกว้าง ในตอนท้ายของระยะนี้ตัวอ่อนพลิกกลับจากด้านในมาเป็นด้านนอกโดยสมบูรณ์และเริ่มเข้าอยู่ในตำแหน่ง ซึ่งตำแหน่งของตัวอ่อนจะขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอย่างมากในถุงน้ำคร่ำ (amnion) และชั้นเซอโรซา ซึ่งต่อมายุ้งติดกันและหนาขึ้นเรื่อยๆ ดึงตัวอ่อนเข้าไปสู่ด้านขั้วใน (interior pole) ของไข่ เมื่อมีความดันเพิ่มขึ้นพร้อมๆ กับการเจริญเติบโตของตัวอ่อน เป็นเหตุให้ถุงน้ำคร่ำแตกออกที่บริเวณจุดที่เชื่อมกันของชั้นเซอโรซา ส่วนหัวของตัวอ่อนยื่นออกมาทางรอยแยกและหมุนตัวไปรอบๆ ไปทางด้านขั้วหน้า (anterior pole) ของไข่ (ภาพที่ 53 ค)

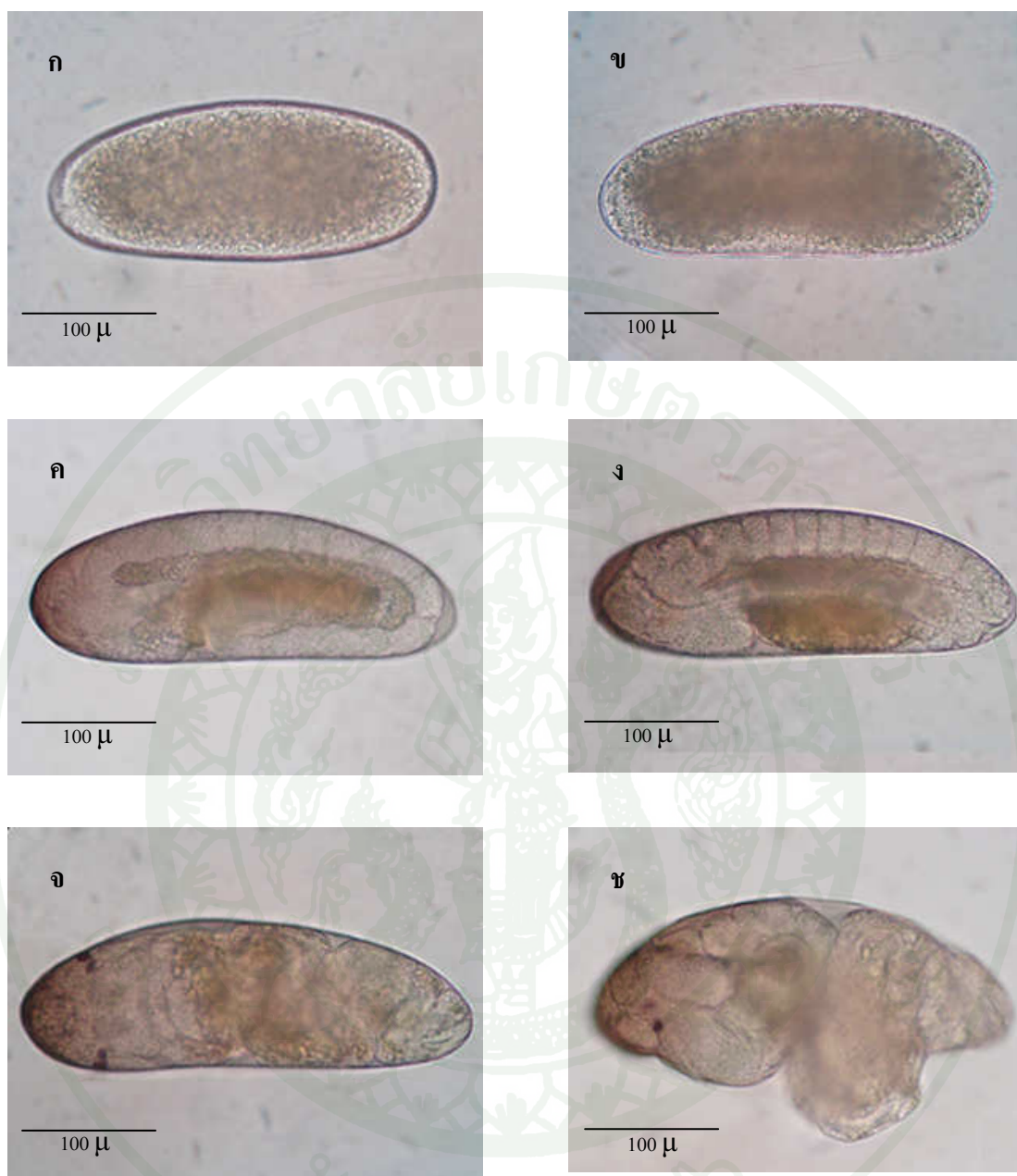
ระยะการเกิดปล้องของตัวอ่อน (segmentation of embryo) ช่วงแรกของระยะนี้มีการพัฒนาของแถบตัวอ่อน ต่อมากลายมาเป็นการแบ่งเป็นร่องตามขวางทำให้เกิดเป็นปล้องๆ จนเกิดเป็นตัวอ่อน (ภาพที่ 53 ง) การเกิดปล้องเกิดขึ้นในคราวเดียวกับการเกิดร่องกระเพาะอาหาร (gastral groove) ตัวอ่อนเริ่มเกิดการแบ่งเป็นส่วนๆ ส่วนหัวปล้องแรก (primary head region) และส่วนลำตัวปล้องแรก (primary trunk region) ส่วนหัวปล้องที่สอง (2nd primary head) เป็นส่วนที่ใช้รับความรู้สึก (antennary segment) ซึ่งคำจูนคู่ของอวัยวะที่จะเจริญเติบโตกลายเป็นหนวด (antenna) ต่อไป ปล้องที่สาม (3rd segment) คือส่วนที่อยู่ระหว่างปล้อง (intercalary segment) ซึ่งคำจูนอวัยวะที่เป็นรยางค์ที่เจริญไม่เต็มที่และจะค่อยๆ หายไป ส่วนของสามปล้องแรก (primary trunk segment) ซึ่งต่อมารวมกับเนื้อเยื่อที่พัฒนามาเป็นหัว (protocephalic region) ซึ่งจะเจริญเป็นหัว (head) ต่อไป สามปล้องดังกล่าวนี้เป็นขากรรไกรล่าง (mandible), ขากรรไกรบน (maxilla) และริมฝีปากบน (labrum) ที่กำลังพัฒนา ส่วนของริมฝีปากบน (labial segment) ในที่สุดก็รวมกันกลายเป็นริมฝีปากบน สามปล้องต่อมาจะเจริญต่อไปกลายเป็นขาที่อก 3 คู่ และกลายเป็นอกในที่สุด ในขณะที่ปล้องที่ยังเหลืออยู่ก็จะกลายเป็นท้องต่อไป ส่วนถัดมาที่ประกอบด้วยปล้อง 10 อัน ที่คำจูนเนื้อเยื่อที่เกิดการสอดเข้าสู่ส่วนกลาง (median invagination) ซึ่งเริ่มเกิดเป็นทางเดินอาหารส่วนปลาย (proctodaeum) ส่วนของปล้องที่ 8 ถึง 10 จะเกิดเป็นอวัยวะสืบพันธุ์ (genitalia) (ภาพที่ 53 จ)

ระยะการห่อหุ้มด้านบนของตัวอ่อนและการสลายตัวของเยื่อหุ้มตัวอ่อน (dorsal closure of the embryo and degeneration of the embryonic envelopes stage) ระยะนี้ตัวอ่อนการพัฒนาเจริญรอบๆ โยลค์ ด้านบนของตัวอ่อนหรือส่วนที่ไม่ใช่ตัวอ่อน (non-embryonic portion) ซึ่งเคยเป็นบลาสโตเดิร์มมาก่อนเริ่มแคบลงเรื่อยๆ การเกิดขึ้นของถุงเยื่อหุ้มน้ำคร่ำส่วนหน้า (dorsal amnioserosal sac) ทำให้เยื่อหุ้มตัวอ่อนแตกออกซึ่งทำให้เกิดการเจริญเติบโตของตัวอ่อน แต่ยังคงมีส่วนที่ยังยึดติดอยู่ต่อมาทำหน้าที่เป็นส่วนที่คอยพยุงด้านบนของโยลค์ ต่อมาก็มีการยุบตัวลงเกิดเป็นกระเปาะท่อ (tubular sac) ซึ่งเรียกกันว่าอวัยวะส่วนหน้าทุติยภูมิ (secondary dorsal organ) ในที่สุดแล้วอวัยวะดังกล่าวก็จะสลายตัวไปและเนื้อเยื่อชั้นนอกของตัวอ่อน (embryonic ectoderm) จะปกคลุมด้านบนอย่างสมบูรณ์ การเกิดขึ้นของเนื้อเยื่อชั้นใน (endoderm) ทำให้เกิดการยกตัวของเนื้อเยื่อชั้นกลาง (mesoderm) ซึ่งมีการเรียงตัวไปเป็นแถบในแนวยาว (longitudinal band) จำนวน 2 อัน เชื่อมต่อข้ามแนวกึ่งกลางด้วยเยื่อบางๆ 1 ชั้น แถบดังกล่าวนี้จะทำหน้าที่ยึดให้แน่นในแนวทแยงมุม ต่อจากนั้นเนื้อเยื่อชั้นกลางจะแยกออกเป็นส่วนต่างๆ (ภาพที่ 53 ข)

ตารางที่ 20 ลำดับพัฒนาการของไชรินน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส

ช่วง	เวลาที่ใช้ในพัฒนาการ	ลักษณะปรากฏ
1	1 ชั่วโมง 10 นาที	เกิดบลาสโตเดิร์มสมบูรณ์
	1 ชั่วโมง 30 นาที	หลังจากเกิดแถบตัวอ่อน มีการพัฒนาโดยการพับซ้อนยกตัวขึ้นไปเหนือตัวตัวอ่อน, procephalic lobes และแผ่นกลาง
	2 ชั่วโมง	เริ่มปรากฏ neutral groove และหนด เสร็จสิ้นการพับซ้อนโดยการยกตัวขึ้นไปเหนือตัวอ่อน
2	2 ชั่วโมง 10 นาที	เริ่มปรากฏรยางค์ปากและรยางค์ลำตัว พร้อมๆ กับ ทางเดินอาหารส่วนหน้า เริ่มปรากฏท่อลมที่เกิดจากการยุบตัวของทางเดินอาหารตอนปลาย
	2 ชั่วโมง 45 นาที	เกิดการยืดยาวออกของรยางค์ต่างๆ ปากทางเข้าของท่อลมซึ่งลดรูปไปเหลือเพียงช่องทางเข้ากลมๆ เรียกว่ารูหายใจ
	3 ชั่วโมง	เกิดการยืดยาวออกของร่องระบบประสาท เกิดการแตกออกของ เยื่อหุ้มตัวอ่อน เริ่มเห็นตัวอ่อนเกิดการแยกของเนื้อเยื่อชั้นใน จากเนื้อเยื่อชั้นกลาง เริ่มเกิดลำไส้เล็กตอนกลาง, mesoblastic somites และช่องว่างภายใน และมีการแบ่งเซลล์ของโปล์เกิดขึ้น
3	3 ชั่วโมง 30 นาที	เริ่มปรากฏอวัยวะส่วนหลัง (dorsal organ)
	7 ชั่วโมง 30 นาที	อวัยวะส่วนหลังเกิดสมบูรณ์
	8 ชั่วโมง 30 นาที	ตาเริ่มมีจุดสี
	9 ชั่วโมง	ตามีจุดสีมากขึ้น เริ่มเห็นเป็นจุดเริ่มต้นของท่ออากาศที่เชื่อมต่อกันเป็นท่อมมีขนาดใหญ่ยาวไปตามลำตัว
	10 ชั่วโมง 30 นาที	ตัวอ่อนมีจุดสีเพิ่มขึ้นอย่างมากและเริ่มมีการเคลื่อนไหวได้เยื่อหุ้มตัวอ่อน
	16 ชั่วโมง 30 นาที	ฟักออกเป็นตัว

- ภาพที่ 53** ลำดับพัฒนาการของรีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่เวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส
- ก. ไข่รีนน้ำจืดภายหลังการวางไข่ (40x)
 - ข. ระยะการเกิดแถบตัวอ่อน (40x)
 - ค. ระยะการห่อหุ้มตัวอ่อนและการเกิด blastokinesis (40x)
 - ง. ระยะการเกิดปล้องของตัวอ่อน (40x)
 - จ. ระยะตัวอ่อนมีจุดสีเพิ่มขึ้นอย่างมากและเริ่มมีการเคลื่อนไหวได้เชื่อมต่อหุ้มตัวอ่อน (40x)
 - ช. ระยะฟักออกเป็นตัว (40x)



2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่และความคดของไข่อ้นน้ำจืด

ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่กับความคดของไข่อ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากธรรมชาติ สามารถเขียนอยู่ในรูปสมการดังนี้

$$Y = 114.858 + 125.084x$$

$$(F=1967.788; a < 0.05; R^2=0.849; n=351)$$

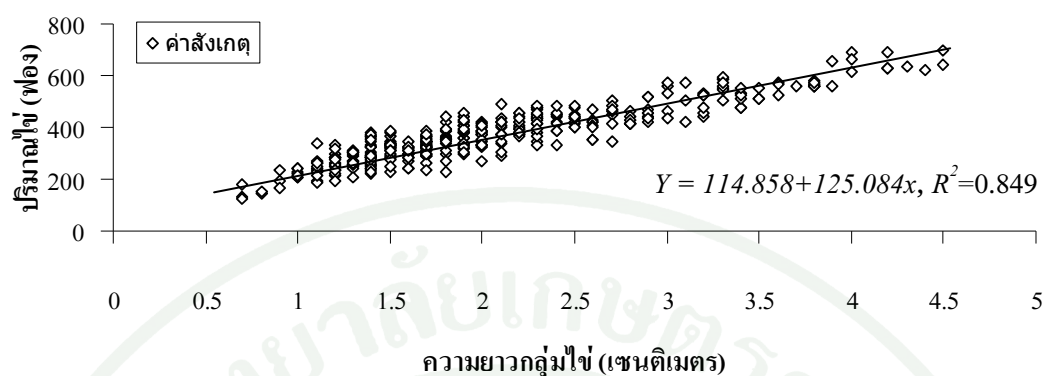
โดยที่ Y คือปริมาณความคดของไข่ (ฟอง) และ x คือความยาวของฝักไข่ (เซนติเมตร) (ภาพที่ 54)

ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่กับความคดของไข่อ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ สามารถเขียนอยู่ในรูปสมการดังนี้

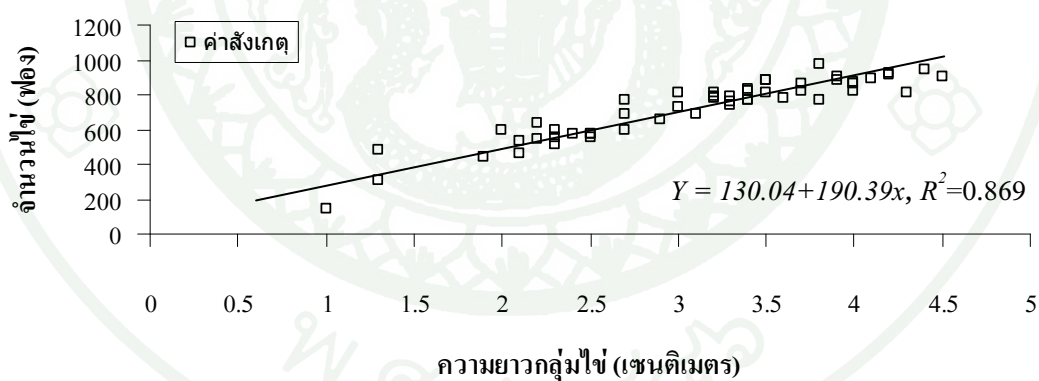
$$Y = 130.04 + 190.39x$$

$$(F=331.773; a < 0.05; R^2=0.869; n=51)$$

โดยที่ Y คือปริมาณความคดของไข่ (ฟอง) และ x คือความยาวของฝักไข่ (เซนติเมตร) (ภาพที่ 55)



ภาพที่ 54 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่ (เซนติเมตร) และจำนวนไข่ (ฟอง) ของ
 รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากธรรมชาติ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
 ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552



ภาพที่ 55 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฟักไข่ (เซนติเมตร) และจำนวนไข่ (ฟอง) ของ
 รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวมจากการเพาะพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ จังหวัด
 พระนครศรีอยุธยาในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 - มกราคม พ.ศ. 2552

3. อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์

การศึกษาอัตราความหนาแน่นในช่วง 0.5-2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตรในการเลี้ยงหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ในห้องปฏิบัติการเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าอัตราการรอด (survival) ของหนอนแดงเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีค่าลดลงเมื่ออัตราความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.01$) โดยที่หนอนแดงที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 0.5 และ 1 ตัวต่อตารางเซนติเมตร มีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่หนอนแดงที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 1.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร มีอัตราการรอดแตกต่างจากหนอนแดงที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 2 และ 2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ($P < 0.01$) ส่วนหนอนแดงที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 2 และ 2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร มีอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 21 และภาพที่ 56)

อัตราส่วนเพศ (sex ratio) ของหนอนแดงตัวเต็มวัยที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำ (ร้อยละของรีนน้ำจืดเพศเมีย) ที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 21 และภาพที่ 57)

การเจริญเติบโตในรูปความยาวปีก (wing length) ของหนอนแดงตัวเต็มวัยที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำ (รีนน้ำจืดเพศผู้) ที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 21 และภาพที่ 58)

จำนวนไข่ต่อฝักไข่ (number of eggs per egg-mass) ของตัวเต็มวัยที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำ (รีนน้ำจืดเพศเมีย) ที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 21 และภาพที่ 59)

ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการ (developmental period) ของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 21 และภาพที่ 60)

การเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองเลี้ยงหนอนแดงด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าอุณหภูมิน้ำอยู่ในช่วง 25.3-26.2 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำอยู่ในช่วง 5.4-5.9 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นกรดเป็นด่างอยู่

ในช่วง 6.4-7.3 ความเป็นค่าอยู่ในช่วง 109.3-126.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ความกระด้างอยู่ในช่วง 162.7-173.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียรวมอยู่ในช่วง 0.02-0.29 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำ (ตารางที่ 22)

ตารางที่ 21 อัตรารอด อัตราส่วนเพศ ความยาวปีก จำนวนไข่ต่อฟักไข่ และเวลาที่ใช้ในพัฒนาการของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

คุณลักษณะ	อัตราความหนาแน่น (ตัวต่อตารางเซนติเมตร)				
	0.5	1	1.5	2	2.5
อัตรารอด (เปอร์เซ็นต์) ^A	70.67±3.89 ^a	60.48±4.90 ^a	20.89±4.04 ^b	10.57±7.83 ^c	6.55±1.00 ^c
อัตราส่วนเพศ (เปอร์เซ็นต์) ^B	58.70±2.59 ^a	57.83±6.32 ^a	55.07±4.35 ^a	56.23±5.70 ^a	56.83±4.68 ^a
ความยาวปีก (มิลลิเมตร) ^C	2.83±0.31 ^a	2.87±0.15 ^a	2.84±0.21 ^a	3.02±0.13 ^a	3.10±0.10 ^a
จำนวนไข่ต่อฟักไข่ (ฟอง) ^D	569.2±56.4 ^a	579.8±43.3 ^a	610.7±39.2 ^a	640.8±42.3 ^a	621.2±29.0 ^a
เวลาที่ใช้ในพัฒนาการ (วัน) ^E	12.47±1.23 ^a	13.13±1.70 ^a	12.73±0.35 ^a	13.17±0.75 ^a	12.27±0.90 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแต่ละแถวของตารางที่ใช้พยัญชนะเดียวกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$)

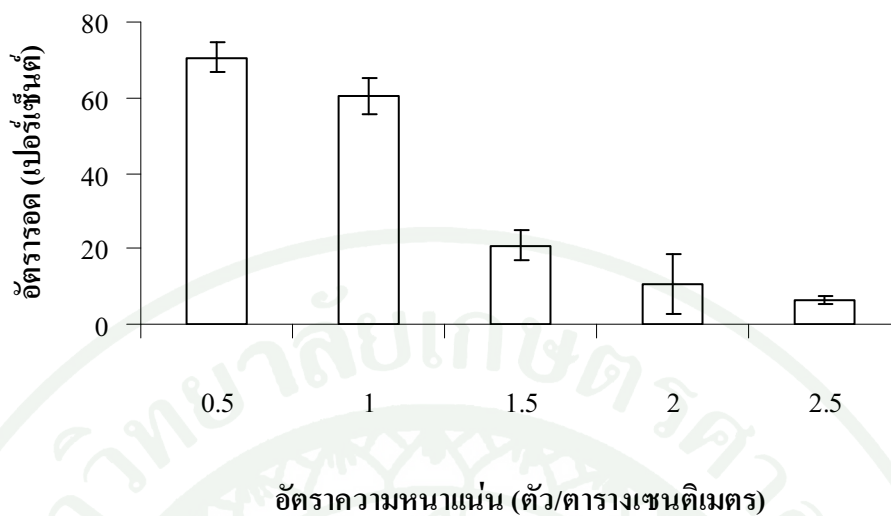
^A $F = 68.13$, $df = 4$ and 10 , $P < 0.01$;

^B $F = 0.246$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$;

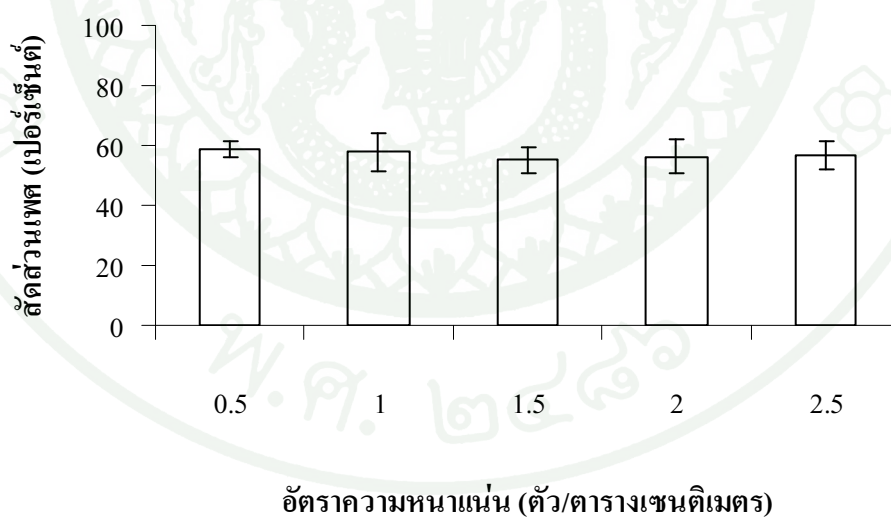
^C $F = 1.166$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$;

^D $F = 1.418$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$;

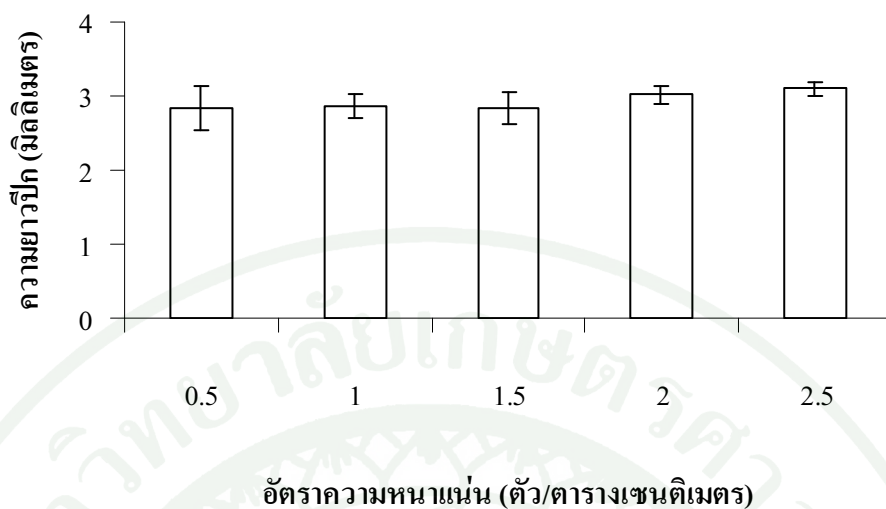
^E $F = 0.403$, $df = 4$ and 10 , $P > 0.05$.



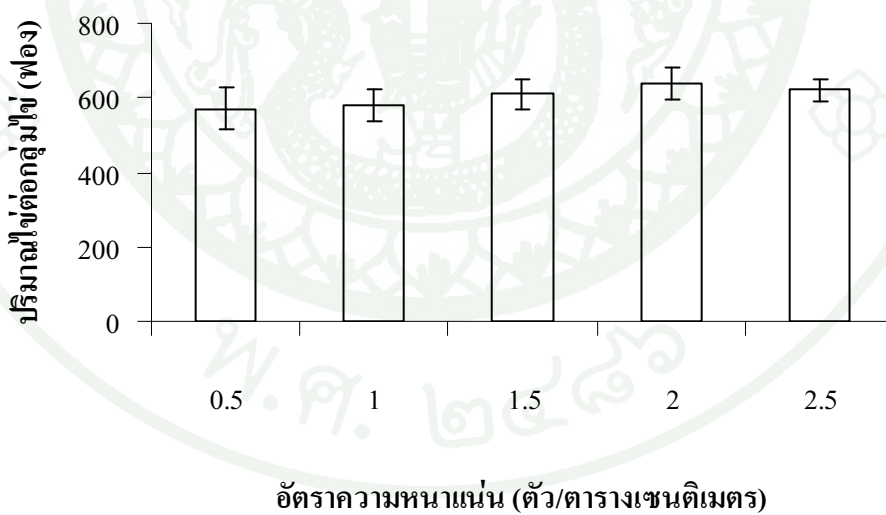
ภาพที่ 56 ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่ออัตราการรอดเฉลี่ยของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ



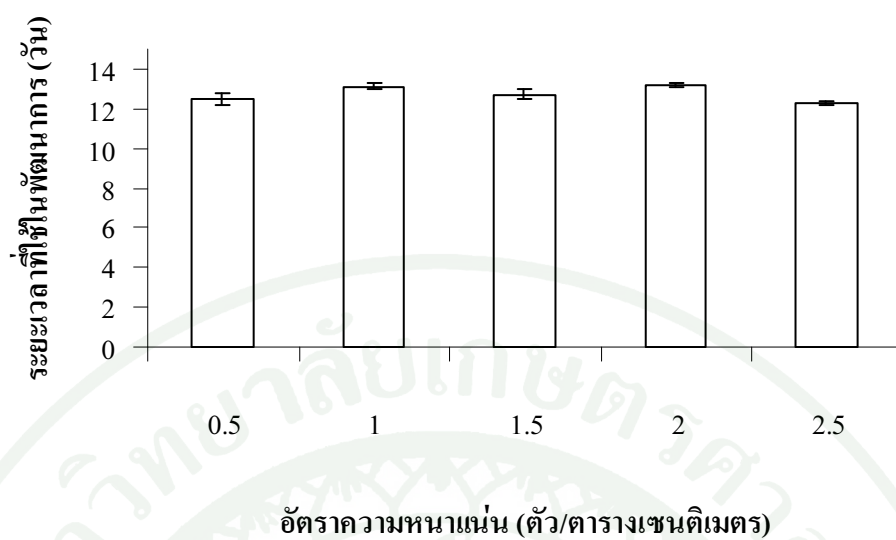
ภาพที่ 57 ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่ออัตราส่วนเพศเฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ



ภาพที่ 58 ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อความยาวปีกเฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ



ภาพที่ 59 ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่เฉลี่ยของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ



ภาพที่ 60 ผลของอัตราความหนาแน่นที่ต่างกันต่อระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการพัฒนาของรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* เพศเมียที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นตัวเต็มวัยที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติ

ตารางที่ 22 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉลี่ยในการเลี้ยงหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติด้วยอัตราความหนาแน่นต่างกันเป็นระยะเวลา 14 วัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระยะเวลา เลี้ยง (วัน)	อัตราความ หนาแน่น (ตัว ต่อตาราง เซนติเมตร)	ปัจจัยคุณภาพน้ำ					
		อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ปริมาณออกซิเจนที่ ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเป็นกรดเป็น ด่าง	ความเป็นค่า (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	0.5	26.1±0.06	5.5±0.10	7.3±0.10	110.7±1.15	171.3±1.15	0.03±0.006
	1	26.1±0.06	5.7±0.35	7.2±0.06	109.3±1.15	172.7±1.15	0.02±0.003
	1.5	26.2±0.06	5.5±0.21	7.3±0.12	110.7±1.15	172.0±2.00	0.02±0.004
	2	26.1±0.06	5.5±0.26	7.2±0.10	110.0±2.00	172.7±1.15	0.03±0.004
	2.5	26.2±0.06	5.9±0.20	7.2±0.06	112.0±2.00	173.3±1.15	0.03±0.003
14	0.5	25.4±0.06	5.5±0.23	6.9±0.10	122.7±3.06	162.7±5.03	0.09±0.026
	1	25.4±0.10	5.5±0.26	6.7±0.15	126.0±2.00	165.3±4.16	0.11±0.031
	1.5	25.4±0.06	5.4±0.26	6.8±0.10	126.0±2.00	166.0±2.00	0.21±0.023
	2	25.3±0.06	5.6±0.30	6.7±0.20	126.7±1.15	164.7±3.06	0.27±0.042
	2.5	25.4±0.06	5.4±0.25	6.4±0.10	126.0±2.00	164.0±2.00	0.29±0.031

4. การเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟัก

4.1 การเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืด

4.1.1 การเก็บรักษาด้วยวิธีแช่แข็ง

การศึกษาการเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีการแช่แข็ง พบว่าการแช่แข็งธรรมดามีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดได้ดีกว่าวิธีการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว โดยที่การแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลวสามารถเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดได้เพียง 24 ชั่วโมง เมื่อใช้ embryonic solution และ 1% trehalose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์และอัตราการฟักของไข่รึ้นน้ำจืดต่ำมากเพียง 0.67 และ 1.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างสารรักษาสภาพเซลล์ทั้งสองชนิด ในขณะที่การแช่แข็งธรรมดาสามารถยืดอายุการเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดได้ถึง 72 ชั่วโมง เมื่อใช้ embryonic solution และ 1% trehalose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์และมีอัตราการฟักของไข่รึ้นน้ำจืดเท่ากับ 12.67 และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างสารรักษาสภาพเซลล์ทั้งสองชนิดเช่นกัน ($P > 0.05$) ส่วนสารรักษาสภาพเซลล์ชนิดอื่นๆ ได้แก่ 0.9% NaCl, modified fish ringer solution และ 2% glucose สามารถเก็บรักษาไข่รึ้นน้ำจืดได้เพียง 24 ชั่วโมง โดยมีอัตราการฟักภายหลังการแช่แข็งธรรมดาเท่ากับ 23.67, 20.00 และ 13.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (17.33 เปอร์เซ็นต์) และไม่มีความแตกต่างระหว่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 23 และภาพที่ 61-62)

ตารางที่ 23 อัตราการฟักของไข่รีนนํ้าจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง 2 วิธี (แช่ในไนโตรเจนเหลวและแช่แข็งธรรมดา) โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

วิธีการแช่แข็ง	สารรักษาสภาพเซลล์	ระยะเวลาเก็บรักษา (ชั่วโมง)					
		0 ^A	24 ^B	48 ^C	72 ^D	96 ^E	120 ^F
ไนโตรเจนเหลว	control	100	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
	0.9% NaCl	100	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
	modified fish ringer solution	100	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
	embryonic solution	100	0.67±0.58 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
	2% glucose	100	0 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
	1% trehalose	100	1.33±0.58 ^c	0 ^c	0 ^c	0	0
แช่แข็งธรรมดา	control	100	17.33±5.03 ^b	0 ^c	0 ^c	0	0
	0.9% NaCl	100	23.67±7.51 ^b	0 ^c	0 ^c	0	0
	modified fish ringer solution	100	20.00±6.24 ^b	0 ^c	0 ^c	0	0
	embryonic solution	100	97.67±1.53 ^a	70.67±4.51 ^a	12.67±8.74 ^a	0	0
	2% glucose	100	13.00±7.00 ^b	0 ^c	0 ^c	0	0
	1% trehalose	100	95.67±3.21 ^a	62.33±10.50 ^b	6.67±3.79 ^a	0	0

ตารางที่ 23 (ต่อ)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในกลุ่มนี้เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

^A $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P > 0.05$;

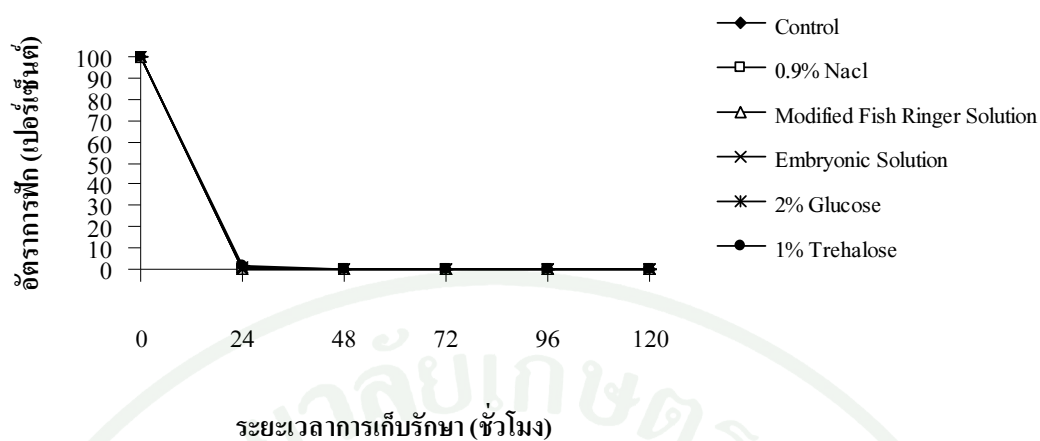
^B $F = 82.57$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P < 0.01$;

^C $F = 67.46$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P < 0.01$;

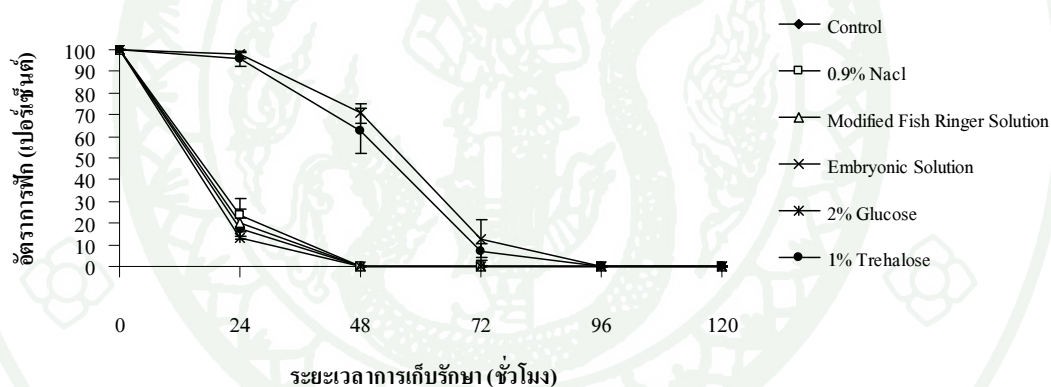
^D $F = 122.25$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P < 0.01$;

^E $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P > 0.05$;

^F $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 24$, $P > 0.05$



ภาพที่ 61 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีนน้ำจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งในโตรเจนเหลว โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน



ภาพที่ 62 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งธรรมดา โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน

4.1.2 การเก็บรักษาด้วยวิธีแช่เย็น

การศึกษาการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีการแช่เย็น พบว่าการใช้ embryonic solution และ 1% trehalose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์สามารถยืดอายุการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยมีอัตราการฟักของไข่รีนน้ำจืดที่เก็บรักษาในสารรักษาสภาพเซลล์ทั้งสองชนิดเท่ากับ 26.00 และ 24.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าการใช้สารรักษาสภาพเซลล์อื่นๆ ($P < 0.01$) และสามารถเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้นานที่สุดเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง แต่มีอัตราการฟักภายหลังการเก็บรักษาเพียง 0.67 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่การใช้ 0.9% NaCl เป็นสารรักษาสภาพเซลล์สามารถเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุมคือ (1.00 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ที่ระยะเวลา 72 ชั่วโมง 0.9% NaCl ให้อัตราการฟักภายหลังการเก็บรักษาไม่แตกต่างจาก embryonic solution แต่น้อยกว่าการใช้ 1% trehalose ส่วนการใช้ modified fish ringer solution และ 2% glucose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์สามารถเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้เพียง 24 ชั่วโมง โดยมีอัตราการฟัก 3.00 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมที่สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 24 และภาพที่ 63)

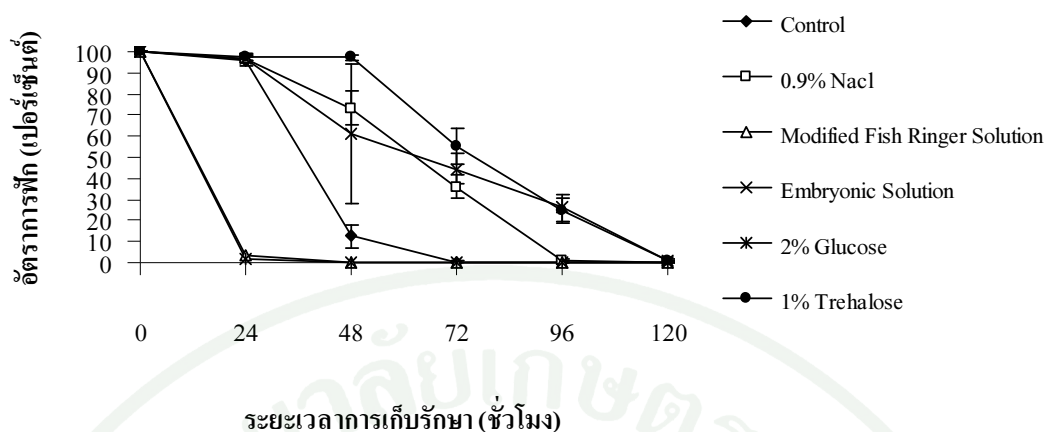
ตารางที่ 24 อัตราการฟักของไข่รีนน้ำจืดที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สารรักษาสภาพเซลล์	ระยะเวลาเก็บรักษา (ชั่วโมง)					
	0 ^A	24 ^B	48 ^C	72 ^D	96 ^E	120 ^F
control	100	95.67±2.52 ^a	12.33±5.51 ^c	0.33±0.58 ^c	0 ^b	0 ^b
0.9% NaCl	100	96.67±1.15 ^a	73.00±7.94 ^b	36.00±5.29 ^b	1.00±1.00 ^b	0 ^b
modified fish ringer solution	100	3.00±1.73 ^b	0 ^d	0 ^c	0 ^b	0 ^b
embryonic solution	100	96.67±1.53 ^a	61.33±32.96 ^b	44.33±7.09 ^b	26.00±6.56 ^a	0.67±0.58 ^a
2% glucose	100	2.00±1.00 ^b	0 ^d	0 ^c	0 ^b	0 ^b
1% trehalose	100	97.67±1.53 ^a	97.33±1.15 ^a	55.00±8.54 ^a	24.33±6.03 ^a	1.00±1.00 ^a

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในกลุ่มเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^A $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P > 0.05$; ^B $F = 710.53$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^C $F = 34.05$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$;

^D $F = 153.88$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^E $F = 77.26$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^F $F = 3.05$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P > 0.05$



ภาพที่ 63 อัตราการฟักเฉลี่ยของไข่รีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน

4.2 การเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยวิธีแช่เย็น

การศึกษาการเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักของรีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีแช่เย็น พบว่าการใช้ embryonic solution เป็นสารรักษาสภาพเซลล์มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง และมีอัตราการรอดภายหลังการแช่เย็น 10.33 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการใช้สารรักษาสภาพเซลล์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.01$) รองลงมาเป็น 1% trehalose ซึ่งมีอัตราการรอดภายหลังการแช่เย็น 1.67 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สารรักษาสภาพเซลล์อื่นๆ ได้แก่ 0.9% NaCl, modified fish ringer solution และ 2% glucose มีอัตราการรอดภายหลังการแช่เย็นต่ำกว่าชุดควบคุม กล่าวคือมีอัตราการรอดที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เท่ากับ 74.33, 0.33 และ 0.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีอัตราการรอดที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง เท่ากับ 81.67 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 25 และภาพที่ 64)

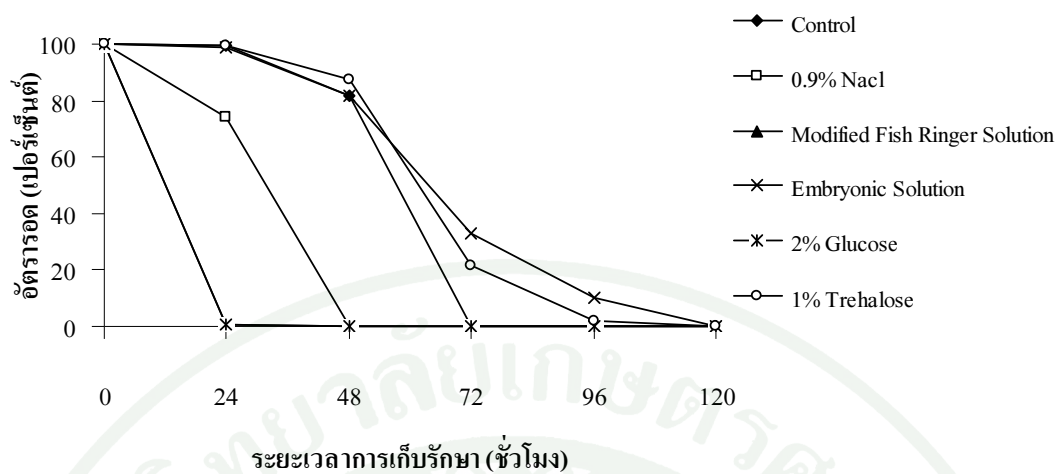
ตารางที่ 25 อัตรารอดของหนอนแดงระยะแรกฟักที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

สารรักษาสภาพเซลล์	ระยะเวลาเก็บรักษา (ชั่วโมง)					
	0 ^A	24 ^B	48 ^C	72 ^D	96 ^E	120 ^F
control	100	99.33±1.15 ^a	81.67±7.51 ^a	0 ^c	0 ^c	0
0.9% NaCl	100	74.33±6.51 ^b	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0
modified fish ringer solution	100	0.33±0.58 ^c	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0
embryonic solution	100	98.67±1.53 ^a	81.67±7.64 ^a	32.67±11.02 ^a	10.33±4.51 ^a	0
2% glucose	100	00.67±0.58 ^c	0 ^b	0 ^c	0 ^c	0
1% trehalose	100	99.33±1.15 ^a	87.33±4.16 ^a	21.67±7.64 ^b	1.67±0.58 ^b	0

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยพยัญชนะต่างกันในกลุ่มนี้เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

^A $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P > 0.05$; ^B $F = 276.39$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^C $F = 294.16$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$;

^D $F = 61.46$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^E $F = 50.02$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P < 0.01$; ^F $F = \text{not available}$, $df = 5 \text{ and } 12$, $P > 0.05$



ภาพที่ 64 อัตราการฟักเฉลี่ยของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟักที่ระยะเวลาต่างๆ (ชั่วโมง) หลังจากการเก็บรักษาด้วยการแช่เย็น โดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ต่างๆ กัน

5. คุณค่าทางโภชนาการและการใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

5.1 คุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟัก

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟัก พบว่ามีโปรตีน 55.62 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.57 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 6.54 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 14.45 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 26) เมื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนพบว่ามีการดะมิโนที่จำเป็นและไม่จำเป็นครบทุกชนิด (ตารางที่ 27) ส่วนกรดไขมันพบทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและชนิดไม่อิ่มตัว (ตารางที่ 28)

เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟักกับโรติเฟอร์และไรแดง พบว่ามีปริมาณความชื้นใกล้เคียงกัน มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าโรติเฟอร์และไรแดง มีปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าไรแดงแต่ต่ำกว่าโรติเฟอร์ และมีปริมาณเถ้าสูงกว่าโรติเฟอร์และไรแดงมาก (ตารางผนวกที่ 6) เมื่อพิจารณาถึงปริมาณกรดอะมิโนชนิดที่จำเป็นและไม่จำเป็นในหนอนแดงระยะแรกฟัก พบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับโรติเฟอร์และไรแดง ยกเว้น Methionine ที่พบในหนอนแดงระยะแรกฟักสูงกว่าโรติเฟอร์และไรแดงมาก (ตารางผนวกที่ 7) ส่วนปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและชนิดไม่อิ่มตัวที่พบในหนอนแดงระยะแรกฟัก มีจำนวนชนิดน้อยกว่าที่พบในโรติเฟอร์และไรแดง แต่พบชนิดของกรดไขมันที่สำคัญคือโอเมกา 3 และ 6 ครบถ้วน โดยมีปริมาณของโอเมกา 3 น้อยกว่าโรติเฟอร์และไรแดงแต่มีปริมาณของโอเมกา 6 มากกว่า (ตารางผนวกที่ 8)

ตารางที่ 26 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟัก

คุณค่าทางอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					สภาพตัวอย่าง
ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	
88.34					น้ำหนักเปียก
11.31	55.62	4.57	6.54	14.45	น้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 27 ปริมาณองค์ประกอบของกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง
Chironomus fuscipes ระยะแรกฟัก

องค์ประกอบกรดอะมิโน	ปริมาณ (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
<i>Essential amino acid</i>	
Arginine	1,905.89
Histidine	1,503.48
Isoleucine	1,188.89
Leucine	2,683.38
Lysine	3,053.72
Methionine	1,201.26
Phenylalanine	2,122.71
Threonine	817.97
Tryptophan	490.24
Valine	1,310.53
<i>Non-essential amino acid</i>	
Alanine	3,099.81
Aspartic acid	3,510.53
Cystine	824.54
Glutamic acid	5,183.67
Glycine	1,891.88
Proline	1,621.35
Serine	766.57
Tyrosine	1,106.57

ตารางที่ 28 ปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง

Chironomus fuscipes ระยะแรกฟัก

องค์ประกอบของกรดไขมัน	ปริมาณ (กรัมต่อ 100 กรัม)
Lauric acid (C12:0)	0.10
Myristic acid (C14:0)	0.19
Myristoleic acid (C14:1)	-
Pentadecanoic acid (C15:0)	-
Palmitic acid (C16:0)	0.67
Palmitoleic acid (C16:1 n-7)	0.19
Heptadecanoic (C17:0)	0.10
Cis-10 Heptadecanoic acid (C17:1)	-
Stearic acid (C18:0)	0.48
Oleic acid (C18:1 n-9)	-
Cis-Vaccenic acid (C18:1 n-7)	-
cis-9,12-Linoleic acid (C18:2 n-6)	1.16
α -Linolenic acid (C18:3 n-3)	0.10
Arachidic acid (C20:0)	0.10
Arachidonic acid (C20:4 n-6)	0.10
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3)	0.29
Docosahexaenoic acid (DHA)	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

5.2 การใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

การอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อนด้วยการใช้อาหารในการอนุบาล 2 ชนิด เป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าเริ่มต้นการทดลองลูกปลาหมอมีความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 4.63 เซนติเมตร และ 0.000474 กรัม เมื่อสิ้นสุดการทดลองลูกปลาหมอวัยอ่อนในชุดทดลองที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่อนุบาลด้วยหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 18.39 และ 17.96 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 117.3 และ 110.7 มิลลิกรัม และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยตลอดการทดลองเท่ากับ 22.92 และ 22.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตในรูปความยาว น้ำหนัก และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดทดลอง ($P>0.05$) (ตารางที่ 29 และภาพที่ 65-67)

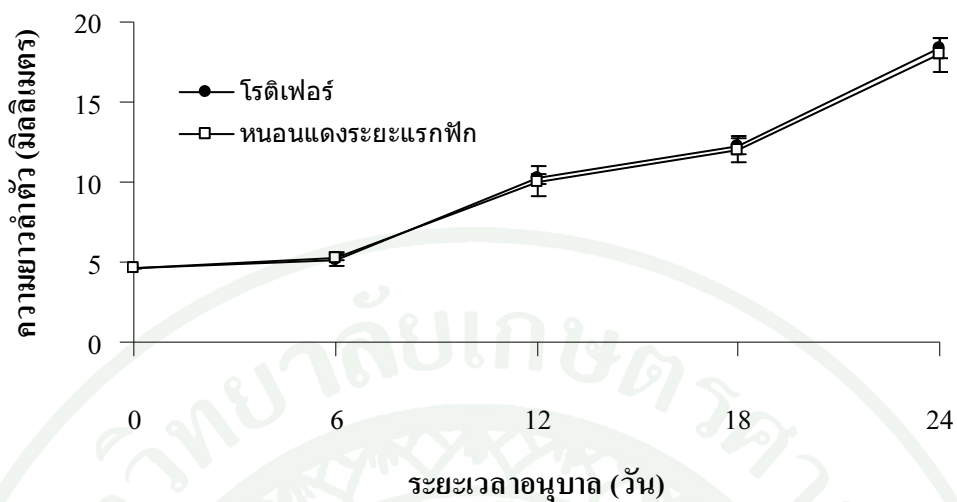
อัตราการเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อนในชุดทดลองที่เลี้ยงด้วยโรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่เลี้ยงด้วยหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน เท่ากับ 47.53 และ 49.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างชุดทดลอง ($P>0.05$) (ตารางที่ 29 และภาพที่ 68)

ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำเฉลี่ยในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อนในชุดทดลองที่เลี้ยงด้วยโรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่เลี้ยงด้วยหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลอง ระหว่างการทดลอง (วันที่ 12 ของการทดลอง) และเสร็จสิ้นการทดลอง (วันที่ 24 ของการทดลอง) อยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (ตารางที่ 30)

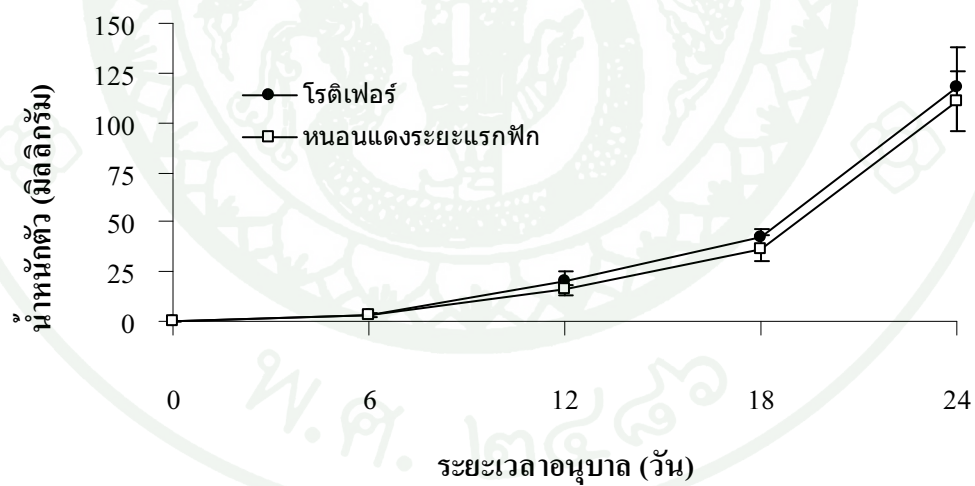
ตารางที่ 29 ความยาว น้ำหนัก อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตราการรอดของลูกปลาหมออ่อนที่อนุบาลด้วยอาหาร 2 ชนิด ที่ระยะเวลาต่างๆ (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระยะเวลาอนุบาล	ชนิดของอาหาร	ความยาว (เซนติเมตร)	น้ำหนัก (มิลลิกรัม)	อัตราการเจริญเติบโต จำเพาะ (%)	อัตราการรอด (%)
วันที่ 0 (เริ่มต้น)	โรติเฟอร์	4.63	0.474	-	100
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	4.63	0.474	-	100
วันที่ 6	โรติเฟอร์	5.19±0.18	3.13±0.780	7.76±1.08	97.67±1.17
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	5.30±0.43	3.15±0.840	7.77±1.01	97.83±0.68
วันที่ 12	โรติเฟอร์	10.20±0.91	20.30±0.509	15.56±1.04	68.67±2.68
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	10.05±0.32	15.70±0.250	14.54±0.61	70.33±2.48
วันที่ 18	โรติเฟอร์	12.28±0.78	42.00±0.390	18.67±0.37	60.75±3.79
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	12.03±0.55	36.30±0.659	18.03±0.68	61.33±2.27
วันที่ 24 (สิ้นสุด)	โรติเฟอร์	18.39±1.03	117.30±20.540	22.92±0.71	47.53±5.59
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	17.96±0.59	110.70±14.940	22.69±0.52	49.28±3.55

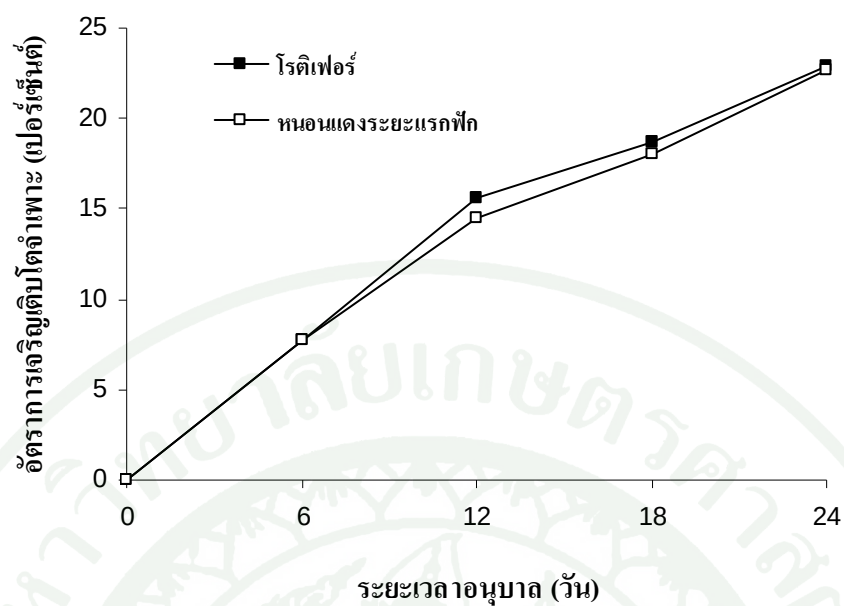
หมายเหตุ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)



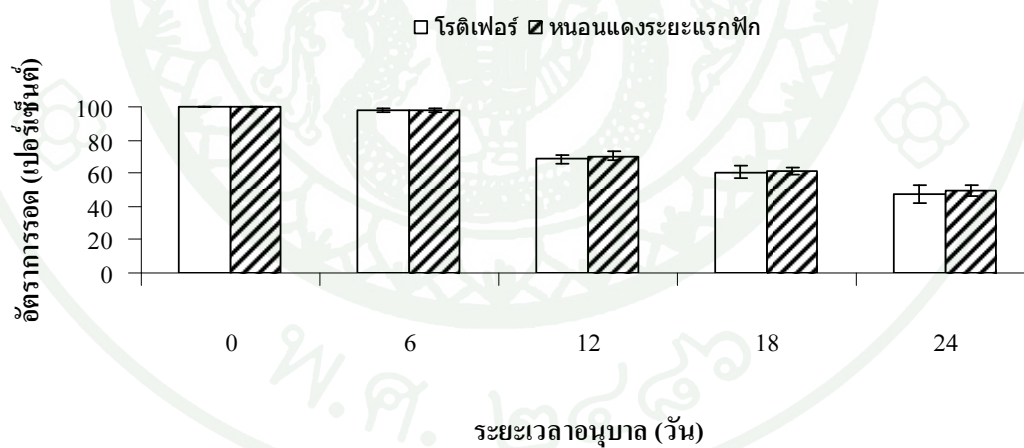
ภาพที่ 65 ผลของการใช้อาหาร 2 ชนิด ต่อความยาวลำตัวเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน



ภาพที่ 66 ผลของการใช้อาหาร 2 ชนิด ต่อน้ำหนักตัวเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน



ภาพที่ 67 ผลของการใช้อาหาร 2 ชนิด ต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน



ภาพที่ 68 ผลของการใช้อาหาร 2 ชนิด ต่ออัตราการรอดเฉลี่ยของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลเป็นระยะเวลา 24 วัน

ตารางที่ 30 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในการอนุบาลลูกปลาหมอด้วยอาหารในการอนุบาล 2 ชนิด เป็นระยะเวลา 24 วัน (ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ระยะเวลา เลี้ยง	อาหารที่ใช้ในการอนุบาล	ปัจจัย					
		อุณหภูมิ(องศา เซลเซียส)	ปริมาณ ออกซิเจนที่ ละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ความเป็นกรด เป็นด่าง	ความเป็นด่าง (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	ความกระด้าง (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)	แอมโมเนียรวม (มิลลิกรัมต่อ ลิตร)
เริ่มต้น	โรติเฟอร์	27.8±0.1	6.4±0.2	7.2±0.2	114.3±3.4	362.1±8.4	0.22±0.07
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	27.7±0.1	6.7±0.6	7.3±0.3	116.5±2.6	361.4±3.2	0.18±0.04
วันที่ 12	โรติเฟอร์	23.0±0.1	5.6±0.5	7.1±0.3	106.8±4.7	350.7±10.3	0.34±0.12
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	23.2±0.2	5.9±0.3	7.0±0.2	110.4±8.2	358.9±7.6	0.42±0.16
วันที่ 24	โรติเฟอร์	25.9±0.1	5.4±0.8	6.9±0.2	108.3±5.3	346.7±8.4	0.53±0.17
	หนอนแดงระยะแรกฟัก	26.0±0.1	5.1±0.8	7.1±0.3	103.2±3.5	352.7±4.8	0.43±0.24

วิจารณ์

1. การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำ

รึ้นน้ำจืดที่สำรวจพบในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551- มกราคม พ.ศ. 2552 ประกอบด้วย 2 วงศ์ย่อย คือ Chironominae และ Tanypodinae ซึ่งจำแนกได้ 15 สกุล และ 22 ชนิด โดยพบรึ้นน้ำจืดในสกุล *Chironomus* มากที่สุด สอดคล้องกับ Cranston (2004) ที่รายงานว่าในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบรึ้นน้ำจืดจำนวน 4 วงศ์ย่อย คือ Chironominae, Orthoclaadiinae, Tanypodinae และ Diamesinae แต่ในการศึกษารั้้นน้ำจืดครั้งนี้ไม่พบวงศ์ย่อย Orthoclaadiinae และ Diamesinae เนื่องจากรึ้นน้ำจืดใน 2 วงศ์ย่อยดังกล่าวส่วนใหญ่พบในแหล่งน้ำไหล ในขณะที่บ่อพักน้ำที่ใช้เป็นที่เก็บตัวอย่างเป็นแหล่งน้ำนิ่ง นอกจากนี้สกุลของรึ้นน้ำจืดที่พบในการศึกษารั้้นน้ำจืดครั้งนี้ เป็นสกุลเดียวกับที่พบในประเทศไทยจากการศึกษาในอดีตจำนวน 5 สกุล ได้แก่ *Chironomus*, *Dicrotendipes*, *Cryptochironomus*, *Harnischia* (Hashimoto *et al.*, 1981) และ *Kiefferulus* (Cranston, 2007) ส่วนสกุลอื่นๆ ที่พบเป็นสกุลที่พบใหม่ในประเทศไทย และทุกสกุลที่พบในการศึกษารั้้นน้ำจืดครั้งนี้เป็นสกุลที่ Dudgeon (1999) รายงานว่าพบในทวีปเอเชีย ในขณะที่จำนวนชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบนั้นแตกต่างกันไปตามแหล่งที่อยู่และขนาดพื้นที่ที่สำรวจ เช่น จากการศึกษาของ Humphries (1938) ในทะเลสาบ Grosser Ploner See ซึ่งมีขนาด 30 ตารางกิโลเมตร พบรึ้นน้ำจืดรวมจำนวน 86 ชนิด เช่นเดียวกับที่ Hare and Carter (1987) ศึกษาในทะเลสาบไนจีเรียในทวีปแอฟริกา พบรึ้นน้ำจืดรวม 80 ชนิด สำหรับรึ้นน้ำจืดในสกุล *Chironomus* ที่พบมากที่สุดในการศึกษารั้้นน้ำจืดครั้งนี้ มีรายงานว่าสามารถพบทั่วไปในแหล่งน้ำต่างๆ แหล่งน้ำที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง รวมถึงแหล่งน้ำที่มีความเป็นกรดเป็นด่างต่ำมาก (Saether, 1979; Henrickson *et al.*, 1982)

การเปลี่ยนแปลงของรึ้นน้ำจืดตลอดช่วงระยะเวลาที่ศึกษา พบว่าความหลากหลายชนิดและความชุกชุมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างเดือนที่สำรวจ ($P > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากได้รับอิทธิพลจากสภาวะแวดล้อมด้านอากาศ ซึ่งจากสถิติอุณหภูมิของอากาศในรอบปีของจังหวัดพระนครศรีอยุธยาไม่แตกต่างกันมากนัก โดย Legendre and Legendre (1998) และ Margalef (1958) กล่าวว่าความหลากหลายชนิดมักได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม ในสภาพแวดล้อมที่ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงทำให้มีจำนวนชนิดมาก รวมทั้งโครงสร้างของสิ่งมีชีวิตภายใต้สภาวะแวดล้อมคงที่ มีสายใยอาหารที่มีความซับซ้อนมากกว่าสภาพแวดล้อมที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีความหลากหลายชนิดของแซนนอน-วีเนอร์ พบว่ามีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.

2551 และมีค่าต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 ในขณะที่ค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพืชก็มียุคสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2551 และมีค่าต่ำสุดในเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 เช่นกัน ซึ่งค่าดัชนีความหลากหลายของแซนดอน-วินเนอร์หรือดัชนีความหลากหลาย (Diversity index) ของประชากรริ้นน้ำจืด เป็นการอธิบายถึงปัจจัยด้านสภาวะแวดล้อมในบ่อพักน้ำในแต่ละเดือนที่สำรวจว่ามีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของริ้นน้ำจืดตลอดวงจรชีวิตหรือไม่ โดยเฉพาะช่วงที่เป็นระยะตัวหนอนซึ่งริ้นน้ำจืดอยู่ในช่วงระยะดังกล่าวนานที่สุด (Armitage *et al.*, 1995) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาสัตว์พื้นท้องน้ำในแหล่งน้ำนิ่งในประเทศไทย เช่น ในบึงบอระเพ็ด (Suraswadi, 1976; สุวดี, 2539) อ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์ (พรรณศรี, 2522) อ่างเก็บน้ำบางพระ (อนุสรณ์, 2523) และอ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภา (ชัชวาลย์ และคณะ, 2538) ที่พบว่าส่วนใหญ่เป็นตัวอ่อนของริ้นน้ำจืด (ระยะตัวหนอน) ซึ่งชนิดของสัตว์หน้าดินที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมถึงหนอนแดงถูกใช้เป็นตัวชี้ในการประเมินคุณภาพน้ำในแหล่งน้ำ โดยที่ Wilhm and Dorris (1968) กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีความหลากหลายของสัตว์หน้าดินในแหล่งน้ำกับภาวะมลพิษของแหล่งน้ำว่า หากค่าดัชนีมีค่ามากกว่า 3 แสดงว่าเป็นแหล่งน้ำสะอาด ค่าดัชนีอยู่ระหว่าง 1-3 แสดงว่าเป็นแหล่งน้ำที่มีมลพิษปานกลาง และถ้าค่าดัชนีมีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าแหล่งน้ำดังกล่าวมีมลพิษสูงมาก แต่ในการศึกษาครั้งนี้ได้สำรวจเฉพาะปริมาณริ้นน้ำจืด ไม่ได้ศึกษารวมถึงสัตว์พื้นท้องน้ำอื่นๆ จึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ ส่วนค่าดัชนีความเท่าเทียมกันทางชนิดของพืชเป็นการบ่งบอกถึงการกระจายตัวของชนิดริ้นน้ำจืดในแต่ละเดือนที่สำรวจ ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ค่าดัชนีมีค่าค่อนข้างต่ำหมายถึงว่าองค์ประกอบชนิดของริ้นน้ำจืดที่พบในแต่ละเดือนสำรวจมีความคล้ายคลึงกันน้อย โดยเมื่อพิจารณาถึงการจัดเรียงลำดับความแตกต่างขององค์ประกอบชนิด พบว่าสามารถจำแนกออกได้เป็น 5 กลุ่ม โดยกลุ่มที่มีความสำคัญสูงสุดคือกลุ่มเดือนมีนาคมและมิถุนายน พ.ศ. 2551 และเดือนมกราคม พ.ศ. 2552 เมื่อรวมทั้ง 5 กลุ่ม สามารถอธิบายความแปรปรวนของข้อมูลความหลากหลายและความชุกชุมของชนิดริ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำได้ถึง 96.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่าในกลุ่มเดือนที่สำรวจดังกล่าวริ้นน้ำจืดมีองค์ประกอบชนิดคล้ายคลึงกันมากที่สุดในรอบปี

เมื่อพิจารณาถึงผลของปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่มีต่อประชากรริ้นน้ำจืดตลอดระยะเวลาการศึกษา พบว่าปัจจัยด้านสภาวะอากาศได้แก่ ปริมาณน้ำฝนรายเดือนมีความผันแปรอยู่ในช่วง 0-398.2 มิลลิเมตร ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยมีความผันแปรอยู่ในช่วง 64.13-83.37 เปอร์เซ็นต์ โดยได้รับอิทธิพลจากปริมาณน้ำฝนเป็นหลัก ในขณะที่อุณหภูมิอากาศเฉลี่ยมีความผันแปรอยู่ในช่วง 24.03-29.58 องศาเซลเซียส เมื่อนำปัจจัยด้านสภาวะอากาศไปทดสอบสถิติพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเดือนที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนสำรวจ ($P < 0.01$) ส่วนปัจจัยด้านคุณภาพน้ำได้แก่ อุณหภูมิมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 27.28-30.48 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าเฉลี่ย

ผันแปรอยู่ในช่วง 6.82-8.52 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 3.50-6.45 มิลลิกรัมต่อลิตร ความโปร่งแสงมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 21.6-32.4 เซนติเมตร ความกระด้างมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 102.8-126.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นด่างมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 87.2-106.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และแอมโมเนียรวมมีค่าเฉลี่ยผันแปรอยู่ในช่วง 0.024-0.074 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำปัจจัยด้านคุณภาพน้ำไปทดสอบสถิติพบว่าทุกปัจจัยมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($P < 0.01$) เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะแวดล้อมกับประชากรรินน้ำจืด พบว่าสภาวะแวดล้อมด้านภูมิอากาศได้แก่ ปริมาณน้ำฝนรายเดือน ความชื้นสัมพัทธ์ และอุณหภูมิอากาศมีความสัมพันธ์ระดับต่ำกับความหลากหลายและความชุกชุม ในขณะที่เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะแวดล้อมด้านคุณภาพน้ำ พบว่ามีเพียงความเป็นกรดเป็นด่างที่มีความสัมพันธ์ระดับสูงกับความหลากหลาย ส่วนปัจจัยด้านคุณภาพน้ำอื่นๆ ได้แก่ อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความโปร่งแสง ความกระด้าง ความเป็นด่าง และแอมโมเนียรวมมีความสัมพันธ์ระดับต่ำถึงปานกลางกับความหลากหลายและความชุกชุม โดยภาพรวมคุณภาพน้ำในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดอยู่ในเกณฑ์ปกติและเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสัตว์น้ำ (ไมตรี, 2530) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพน้ำในบ่อพักได้รับอิทธิพลจากน้ำใหม่ที่สูบเข้ามาจากแม่น้ำเจ้าพระยา ที่มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำตามฤดูกาลในรอบปี เนื่องจากบ่อพักน้ำเป็นแหล่งน้ำที่มีขนาดเล็กและมีการสูบน้ำเข้าบ่อพักน้ำทุกคืน ทำให้น้ำขุ่นและมีความโปร่งแสงต่ำและมีปริมาณแพลงก์ตอนพืชเกิดขึ้นบ่อยครั้ง ส่งผลให้แหล่งน้ำมีความอุดมสมบูรณ์ต่ำทำให้ปริมาณรินน้ำจืดที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำดังกล่าวน้อยตามไปด้วย การที่ความเป็นกรดเป็นด่างมีความสัมพันธ์ระดับสูงกับความหลากหลายนั้น ทั้งนี้เนื่องจากแมลงที่อาศัยอยู่ในน้ำมีความสัมพันธ์กับปริมาณแร่ธาตุที่อยู่ในน้ำ ผ่านกระบวนการควบคุมสมดุลน้ำในร่างกาย (osmoregulation) โดยมี anal papillae บริเวณท้ายลำตัวเป็นอวัยวะหลักในการแลกเปลี่ยนไอออน (Prosser, 1961) ซึ่ง Boyd (1990) กล่าวว่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนไอออนของแร่ธาตุต่างๆ ในน้ำ เมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงของชนิดรินน้ำจืดชนิดเด่น (dominant species) ในแต่ละเดือนที่สำรวจ พบว่าประชากรของรินน้ำจืดมีการเปลี่ยนแปลงที่ไม่แน่นอน โดยผลัดกันเป็นชนิดเด่น ซึ่ง Taylor (1978) กล่าวว่า การเก็บตัวอย่างสัตว์จำพวกแมลงในถิ่นที่อยู่อาศัยที่มีความหนาแน่นต่ำ มักได้รับอิทธิพลจากกลุ่มของประชากรที่อพยพเข้ามาอยู่เป็นครั้งคราว การเก็บตัวอย่างในพื้นที่เดิมจะพบชนิดของตัวอย่างเดิมเพียง 10-25 เปอร์เซ็นต์ ในปีที่แตกต่างกัน รวมทั้งแมลงชนิดเดียวกันในแต่ละแหล่งที่อยู่จะมีระยะของพัฒนาการในวงจรชีวิตที่แตกต่างกัน ซึ่งส่วนใหญ่หรือประมาณ 88 เปอร์เซ็นต์ ของประชากรแมลงอยู่ในระยะที่ไม่เป็นตัวเต็มวัย จากตัวอย่างรินน้ำจืดที่เก็บมาได้ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าขนาดของลำตัวรินน้ำจืดแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันมาก ซึ่ง Bonner (1965) กล่าวว่าขนาดของตัวเต็มวัยในแมลงมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาที่ตัวเต็มวัยมีชีวิตที่อยู่ได้ แมลงที่มี

ขนาดเล็กจะมีระยะเวลาที่ตัวเต็มวัยสามารถมีชีวิตอยู่ได้สั้น มีช่วงชีวิตสั้นและมีอัตราของพัฒนาการเร็วกว่าแมลงที่มีขนาดใหญ่ รวมทั้งเป็นการบ่งบอกถึงความสามารถในการอพยพย้ายถิ่น กล่าวคือแมลงพวกที่มีลำตัวขนาดเล็กส่วนใหญ่จะใช้ชีวิตอยู่เฉพาะในแหล่งที่พบ ไม่อพยพย้ายถิ่นที่อยู่ไปไกลมากนัก ในขณะที่พวกซึ่งมีขนาดใหญ่จะมีความสามารถในการบินได้ไกลมากกว่า ทำให้สามารถอพยพย้ายถิ่นไปได้ไกลๆ ในการศึกษาครั้งนี้ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยด้านสภาวะแวดล้อมกับประชากรริ้นน้ำจืด พบว่ามีเพียงความเป็นกรดเป็นด่างเท่านั้นที่มีความสัมพันธ์ระดับสูงกับความหลากหลาย ซึ่งแตกต่างจากรายงานส่วนใหญ่ที่พบว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิมีผลมากที่สุดต่อประชากรริ้นน้ำจืด ได้แก่ Ali and Fowler (1985) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรของริ้นน้ำจืดในทะเลสาบทางตอนกลางของมลรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าประชากรของริ้นน้ำจืดทุกชนิดลดปริมาณลงอย่างมากในฤดูหนาว แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วงเดือนมีนาคมถึงเมษายน และถึงจุดสูงสุดในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนพฤศจิกายน เมื่ออุณหภูมิในทะเลสาบเกิน 18 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับที่ Ali *et al.* (1977) กล่าวว่าในบรรดาปัจจัยสภาวะแวดล้อมทั้งหมด อุณหภูมินับว่าเป็นปัจจัยสำคัญที่มีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลมากที่สุด โดยที่การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในแหล่งน้ำอยู่ในช่วงที่เคาะกว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอากาศ (Anderson and Cargill, 1987) รวมถึงจากการศึกษาของ Xue *et al.* (1994a) ที่รายงานว่าอุณหภูมิอากาศมีความสัมพันธ์กันอย่างชัดเจนกับประชากรของริ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* ในขณะที่ปริมาณน้ำฝนไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของประชากรของริ้นน้ำจืดที่ก่อให้เกิดความรำคาญ ส่วนปัจจัยอื่นๆ นั้น Anderson and Cargill (1987) รายงานว่าอุณหภูมิและปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ใช้ออกซิเจนมากขึ้นทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำลดลง นอกจากนี้ Danks (2006) กล่าวว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดที่มีผลต่อวงจรชีวิต โดยหนอนแดงในแหล่งน้ำธรรมชาติมีการปรับพัฒนาการของร่างกายให้ช้าหรือเร็วเพื่อความเหมาะสมกับฤดูกาล ซึ่งจากการสังเกตในธรรมชาติพบการแพร่พันธุ์หลายรุ่นในระหว่างฤดูแล้งของริ้นน้ำจืด *Chironomus calligraphus* เมื่อเปรียบเทียบกับฤดูกาลอื่นๆ ในรอบปีที่มีวงจรชีวิตยาวนานกว่า ทั้งๆ ที่มีหลายปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อวงจรชีวิตของริ้นน้ำจืดชนิดนี้ ในการศึกษาครั้งนี้ลงลึกในรายละเอียดเกี่ยวกับขนาดของหนอนแดงที่อาศัยอยู่ในบ่อพักน้ำ ซึ่งขนาดเป็นตัวบ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ในแต่ละฤดูกาล ซึ่ง Fuentes *et al.* (2005) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงประชากรตามฤดูกาลของหนอนแดงในที่ราบลุ่มน้ำกร่อยจำนวน 2 แหล่ง (ทะเลสาบ Levante lake และบ่อน้ำ Murtulas) ในประเทศสเปน ระหว่างเดือนมีนาคมถึงสิงหาคม ค.ศ. 1999 พบว่าขนาดของหนอนแดง *Chironomus salinarius* ที่พบมีความแตกต่างกันในแต่ละแหล่งสำรวจและเดือนที่สำรวจ โดยในทะเลสาบ Levante lake ซึ่งมีความอุดมสมบูรณ์มากกว่าและมีความเค็มน้อยกว่า ทำให้หนอนแดงมีขนาดใหญ่กว่าที่พบในบ่อน้ำ Murtulas

2. วงจรชีวิตและการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด

2.1 การคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดเพื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

จากผลการสุ่มตัวอย่างหนองแดงจากบ่อเพาะเลี้ยงไรแดงของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2550 ถึงกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551 พบรึ้นน้ำจืดทั้งหมดจำนวน 5 ชนิด โดยพบรึ้นน้ำจืด *Chironomus javanus* มากที่สุด ซึ่งจำนวนชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในการศึกษาค้นครั้งนี้ น้อยกว่าจากรายงานของ Habib *et al.*, (1997) ที่ศึกษาชนิดของรึ้นน้ำจืดที่ลงวางไข่ในถังเพาะเลี้ยงคลอเรลลาในประเทศมาเลเซีย พบว่ามีถึง 14 ชนิด แต่ชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบมากที่สุดเป็นชนิดเดียวกับในการศึกษาค้นครั้งนี้ ซึ่งมีรายงานว่ารึ้นน้ำจืด *C. javanus* สามารถพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำต่างๆ สำหรับในประเทศไทยมีรายงานว่าพบทั้งในนาข้าวและบริเวณน้ำกร่อย (Cranston, 2007; Hashimoto *et al.*, 1981)

จากผลการศึกษาคุณลักษณะต่างๆ ของการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืดที่รวบรวมได้ทั้ง 5 ชนิด พบว่ารึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* มีคุณลักษณะที่ดีมากที่สุด โดยสามารถผสมพันธุ์และวางไข่ได้ในที่กักขัง จำนวนไข่ต่อฟักไข่และอัตราการฟักสูง ระยะเวลาฟักและระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการสั้น และระยะเวลาที่ตัวเต็มวัยสามารถมีชีวิตอยู่ได้นาน ซึ่งวงจรชีวิตของรึ้นน้ำจืด *C. fuscipes* (12-18 วัน) ใกล้เคียงกับรึ้นน้ำจืด *C. xanthus* (12-15 วัน) (Fonseca and Rocha, 2004) แต่มีวงจรชีวิตที่สั้นกว่ารึ้นน้ำจืด *C. plumatisetigerus* ซึ่ง Kuvangkadilok (1994) รายงานว่าเป็นหนองแดงชนิดที่พบในแหล่งน้ำของกรุงเทพมหานคร โดยมีวงจรชีวิต 25-27 วัน และมีช่วงเวลาที่เป็ระยะตัวหนอน 13-16 วัน (ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส) ในขณะที่รึ้นน้ำจืด *C. fuscipes* มีช่วงเวลาที่เป็ระยะตัวหนอนเพียง 9-11 วัน (ที่อุณหภูมิ 26±1 องศาเซลเซียส) ซึ่ง Surakarn (1997) กล่าวว่าระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาของวงจรชีวิตของรึ้นน้ำจืดขึ้นอยู่กับชนิดและคุณภาพอาหาร โดยในการศึกษาค้นครั้งนี้ ใช้คลอเรลลาเป็นอาหารในการเลี้ยงหนองแดงชนิดต่างๆ นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่าระยะที่เป็นตัวเต็มวัยของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ค่อนข้างสั้น สอดคล้องกับการรายงานของ Nielsen (1962) ที่กล่าวว่าระยะที่มีชีวิตอยู่ได้ของรึ้นน้ำจืดตัวเต็มวัย *Glyptotendipes paripes* อยู่ในช่วง 4-6 วัน ขณะเดียวกัน Branch and Wichita (1923) ก็ได้ให้ข้อสังเกตว่าตัวเต็มวัยของรึ้นน้ำจืดส่วนใหญ่จะมีอายุไม่เกิน 5 วัน ส่วนอุณหภูมิก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อพัฒนาการของรึ้นน้ำจืดชนิดต่างๆ ซึ่ง Thivinho-Srixino and Strixino (1982) กล่าวว่าอุณหภูมิสูงและคงที่ทำให้ระยะตัวหนอนของรึ้นน้ำจืด *C. xanthus* ลอกคราบขึ้นจากน้ำพร้อมๆ กันในระยะเวลาสั้นลง เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงในอุณหภูมิที่แปรปรวน เช่นเดียวกับที่ Ward and Cummin (1979) และ Jackson and Sweeney (1995)

พบว่าปัจจัยร่วมระหว่างอุณหภูมิและคุณภาพอาหารสามารถอธิบายรูปแบบการเจริญเติบโตของตัวอ่อนแมลงในน้ำได้ดีที่สุด ในขณะที่ปัจจัยอื่นๆ เช่น สายพันธุ์ สิ่งรบกวน ถิ่นที่อยู่อาศัย เป็นต้น ก็มีผลต่อการพัฒนาการของแมลงได้เช่นกัน โดย Fittkau (1965) ได้จัดรีนน้ำจืดที่มีวงจรชีวิตสั้นกว่า 12 วันไว้ในกลุ่มของรีนน้ำจืดที่มีวงจรชีวิตสั้น ได้แก่ รีนน้ำจืด *C. strenzkei* อย่างไรก็ตาม Thivinho-Strixino and Strixino (1985) จัดให้รีนน้ำจืด *C. xanthus* และ *C. calligraphus* ซึ่งมีวงจรชีวิต 15 วันเป็นรีนน้ำจืดที่มีวงจรชีวิตสั้นเช่นเดียวกัน ในขณะที่ Butler (1982) รายงานว่ารีนน้ำจืดในสกุล *Chironomus* ที่อาศัยอยู่ในบ่อน้ำในเขตทุนดราของมณฑลอลาสกาบางชนิดมีวงจรชีวิตยาวนานถึง 7 ปี ในการศึกษาครั้งนี้พบว่ารีนน้ำจืดแต่ละชนิดมีอัตราการผสมและอัตราการฟักค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากรีนน้ำจืดมีการปฏิสนธิภายใน (Nielsen, 1959) ชนิดของรีนน้ำจืดที่นำมาศึกษาเปรียบเทียบกับคุณลักษณะการเพาะพันธุ์ในการศึกษาครั้งนี้ บางชนิดไม่สามารถวางไข่ในห้องปฏิบัติการได้เนื่องจากสภาวะแวดล้อมในการสืบพันธุ์ไม่เหมาะสม มีรายงานว่ารีนน้ำจืดบางชนิดได้แก่ รีนน้ำจืด *C. plumosus* จะรวมกลุ่มขนาดใหญ่เพื่อผสมพันธุ์ทำให้ต้องใช้พื้นที่มาก (Strixino, 1980) เมื่อนำมาเพาะพันธุ์ในกรงเลี้ยงแมลงขนาดเล็กทำให้ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้ เมื่อพิจารณาถึงปริมาณความคดของไข่ พบว่าในการศึกษาครั้งนี้รีนน้ำจืดชนิดต่างๆ มีความคดของไข่ไม่แตกต่างกันมากนักและส่วนใหญ่วางไข่ได้เพียงครั้งเดียว ซึ่งน้อยกว่าจากการรายงานของ Xue and Ali (1994b) ที่พบว่ารีนน้ำจืด *C. crassicaudatus* Malloch สามารถวางไข่ได้ 2 ครั้ง โดยมีปริมาณไข่ต่อฟักไข่เฉลี่ยเท่ากับ 1,338 และ 245 ฟอง ในการวางไข่ครั้งที่หนึ่งและสองตามลำดับ เช่นเดียวกับรีนน้ำจืด *Pseudodiamesa arctica* (Malloch) และ *Heterotrissocladius subpilosus* (Kieffer) ที่สามารถพัฒนารังไข่และวางไข่ได้ 2 ครั้ง โดยไม่ได้รับอาหาร (Oliver, 1971) ในขณะที่ Fonseca and Rocha (2004) รายงานว่ารีนน้ำจืด *C. xanthus* วางไข่ครั้งแรกจำนวน 500-600 ฟอง และลดต่ำลงมากเหลือน้อยกว่า 100 ฟอง ในการวางไข่ครั้งที่สอง อย่างไรก็ตาม Fischer (1969) รายงานว่ารีนน้ำจืดบางชนิดสามารถวางไข่ครั้งที่สองได้ภายหลังการวางไข่ครั้งแรกได้ไม่นาน จากการศึกษาพบว่าไข่ของรีนน้ำจืด *C. fuscipes* มีลักษณะฟักไข่เป็นสายยาวแตกต่างจากรีนน้ำจืดชนิดอื่นๆ ที่พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นฟักไข่สั้นๆ (Pinder, 1995) ซึ่ง Oliver (1971) รายงานว่าเมื่อตัวอ่อนหนอนแดงฟักออกจากไข่จะเริ่มกินวุ้นที่ห่อหุ้มไข่ โดยที่องค์ประกอบของวุ้นส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับการเคลื่อนไหวและเคลื่อนที่เพื่อหาแหล่งที่อยู่อาศัย เมื่อพิจารณาถึงคุณลักษณะอื่นๆ ของรีนน้ำจืด *C. fuscipes* ทั้งสองเพศ พบว่ารีนน้ำจืดเพศผู้มีพัฒนาการเร็วกว่าแต่ขนาดของระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยเล็กกว่ารีนน้ำจืดเพศเมีย เช่นเดียวกับรีนน้ำจืดชนิดอื่น ๆ (Armitage, 1995; Stevens, 1998) ซึ่งการที่รีนน้ำจืดเพศผู้มีขนาดทั้งระยะตัวหนอนและตัวเต็มวัยเล็กกว่า สอดคล้องกับความต้องการใช้พลังงานในการสืบพันธุ์น้อยกว่ารีนน้ำจืดเพศเมีย (Xue and Ali, 1994a)

2.2 การศึกษาการเพาะพันธุ์

2.2.1 อัตราส่วนเพศ

จากผลการศึกษาอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียในการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่าอัตราส่วนเพศ 1:1 (10:10), 3:2 (15:10) และ 2:1 (20:10) ให้อัตราการวางไข่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่รึ้นน้ำจืดมีอัตราการวางไข่ลดต่ำลง ($P < 0.01$) เมื่อเพาะพันธุ์ด้วยอัตราส่วนเพศ 1:10 และ 1:2 (5:10) อย่างไรก็ตามอัตราส่วนเพศไม่ส่งผลต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่ และอัตราการฟัก ($P > 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของเกลียว (2537) ที่ทดลองเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด *C. plumatisetigerus* ในห้องปฏิบัติการด้วยอัตราส่วนเพศ 1:10, 5:10, 10:10, 15:10, 20:10, 25:10 และ 30:10 พบว่าในการเพาะพันธุ์ตั้งแต่รุ่นที่ 2 เป็นต้นไป อัตราส่วนเพศตั้งแต่ 10:10 ให้อัตราการผสมและอัตราการฟักไม่แตกต่างกัน ขณะที่ในการเพาะพันธุ์รุ่นที่ 1 ต้องใช้อัตราส่วนเพศตั้งแต่ 25:10 เป็นต้นไป จึงจะให้อัตราการผสมและอัตราการฟักไม่แตกต่างกัน ขณะที่จากการทดลองของ Kawai and Konishi (1986) ในรึ้นน้ำจืด *C. yoshimatsui* พบว่าอัตราส่วนเพศ 1:2 หรือ 1:4 ทำให้รึ้นน้ำจืดมีอัตราการผสมสูง แสดงว่ารึ้นน้ำจืด *C. fuscipes* เพศผู้ 10 ตัวสามารถผสมพันธุ์กับรึ้นน้ำจืดเพศเมียได้อย่างน้อย 10 ตัวขึ้นไป โดย Lobinske *et al.* (2002) กล่าวว่าในการผสมพันธุ์ของรึ้นน้ำจืดนั้น รึ้นน้ำจืดเพศผู้จะเข้าผสมพันธุ์โดยลำพังและการผสมพันธุ์เกิดขึ้นที่บริเวณปีก ขนาดของปีกจึงมีความสำคัญต่อการผสมพันธุ์ ดังนั้นขนาดของรึ้นน้ำจืดจึงมีผลต่อช่วงชีวิตและความแข็งแรง โดยขนาดถุงเก็บน้ำเชื้อไม่ขึ้นอยู่กับขนาดของลำตัว อีกทั้งถุงเก็บน้ำเชื้อมีจำนวนสเปิร์มมากกว่าปริมาณที่ต้องใช้ในการปฏิสนธิ ทำให้ผลของการผสมพันธุ์และอัตราการฟักจึงขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของสเปิร์ม โดยภายในรังไข่ของรึ้นน้ำจืดเพศเมียมีขบวนการทำให้น้ำเชื้อเข้าผสมกับสเปิร์ม เช่นเดียวกับในแมลงชนิดอื่นๆ เพื่อให้ไข่ที่มีอยู่จำนวนน้อยกว่าได้รับการผสมโดยทั่วถึง (LaMunyon and Eisner, 1993; Rodriguez, 1994)

2.2.2 ผลของแสง

ก. สีของแสง

จากผลการศึกษาสีของแสงต่อการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่ารึ้นน้ำจืดมีอัตราการวางไข่มากที่สุดเมื่อได้รับแสงสีขาว และวางไข่น้อยที่สุดเมื่อได้รับแสงสีแดงหรือแสงสีน้ำเงิน ($P < 0.01$) แต่ไม่มีผลต่อจำนวนไข่ต่อฝักไข่และอัตราการฟัก ($P > 0.05$)

เนื่องจากริ้นน้ำจืดมีพฤติกรรมการตอบสนองต่อแสง (phototaxis) และสีของแสงแตกต่างกัน เช่นเดียวกับกลุ่มของแมลงต่างๆ ไป ทำให้มีผลต่ออัตราการวางไข่ ทั้งนี้เกิดจากริ้นน้ำจืดเป็นแมลงที่ จำเป็นต้องมีการรวมกลุ่มกันเพื่อผสมพันธุ์ โดยริ้นน้ำจืดเพศผู้จะบินรวมกันเป็นฝูงแล้วดึงดูดริ้นน้ำ จืดเพศเมียให้เข้าร่วมผสมพันธุ์ ดังนั้นสีของแสงที่เหมาะสมจะไปกระตุ้นให้เกิดการบินรวมกลุ่ม ของริ้นน้ำจืดเพศผู้ ในขณะที่สีของแสงที่ไม่เหมาะสมทำให้ริ้นน้ำจืดไม่กระตือรือร้นในการสืบพันธุ์ (Ali *et al.*, 1994) โดยสีของแสงจะไปมีผลต่อชนิดและปริมาณของรงควัตถุในเรตินา ที่ ประกอบด้วยกลุ่มของกรวยรับแสง (Bolla and Holmfjord, 1988) โดย Hollingsworth (1961) ที่ กล่าวว่าแสงแต่ละสีมีช่วงคลื่น (spectrum) ที่แตกต่างกันคือ แสงสีแดง (620-770 นาโนเมตร) แสงสี ส้ม (590-620 นาโนเมตร) แสงสีเขียว (490-550 นาโนเมตร) แสงสีน้ำเงิน (430-490 นาโนเมตร) และแสงสีขาว (390-770 นาโนเมตร) เช่นเดียวกับที่ Magnum and Callahan (1968) รายงานว่าแมลง ชนิดอื่นๆ ก็มีการตอบสนองต่อความยาวคลื่นของแสงที่มีช่วงคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic spectrum) ต่าง กัน เช่น ความยาวคลื่นของแสงในช่วงรังสีเหนือม่วง (ultraviolet) 300-390 นาโน เมตร ดึงดูดแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ได้แก่ หนอนหงอนยาสูบ (*Manduca sexta* Johannsen) หนอนหงอนมะเขือเทศ (*Manduca quinquemaculata* Haworth) หนอนเจาะผักข้าวโพด (*Heliothis zea* Boddie) ริ้นน้ำเค็ม (*Culicoides sanguisuga* Coquillett) เป็นต้น ในขณะที่ยุงลาย (*Aedes aegypti* L.) ตอบสนองต่อแสงในช่วงรังสีใต้แดง (infrared) ได้ดี จากการศึกษาผลของแสงสี ต่างๆ ในการดึงดูดริ้นน้ำจืดในห้องปฏิบัติการ พบว่าริ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* Edwards ตอบสนองต่อแสงสีขาวมากที่สุด (Ali *et al.*, 1984) ในขณะที่จากการทดลองในภาคสนามก็ได้ผล ไกล่เคียงกันคือ ริ้นน้ำจืด *G. paripes* Edwards, *Goeldichironomus holoprasinus* Goeldi, *C. crassicaudatus* Malloch และริ้นน้ำจืดชนิดอื่นๆ ในวงศ์ย่อย Tanypodinae ชอบแสงสีขาวมากที่สุด รองลงมาเป็นสีเหลือง มากกว่าสีอื่นๆ เช่น สีแดง สีส้ม สีเขียว และสีน้ำเงิน (Ali, 1986) ซึ่งจาก การศึกษาริ้นน้ำจืด *C. salinarius* ในภาคสนามก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Ali *et al.*, 1994)

ข. ความเข้มของแสง

จากผลการศึกษาความเข้มของแสงในช่วง 250-1,250 ลักซ์ ต่อการ เพาะพันธุ์ของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่าความเข้มของแสงตั้งแต่ 500 ลักซ์ ขึ้นไปให้ อัตราการวางไข่ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และความเข้มของแสงไม่มีผลต่อจำนวนไข่ต่อ ฝักไข่ และอัตราการฟัก ($P < 0.01$) ซึ่ง Ali *et al.* (1986) กล่าวว่าการศึกษาความเข้มของแสงมีผลต่อริ้น น้ำจืดเกิดจากพฤติกรรมการตอบสนองต่อแสง (phototaxis) ของตัวริ้นน้ำจืดเอง ซึ่ง Ali *et al.* (1984) ได้ศึกษาผลของความเข้มของแสงในช่วง 25-100 วัตต์ต่อการดักจับริ้นน้ำจืด 3 ชนิด ใน

ห้องปฏิบัติการ คือ *Glyptotendipes paripes*, *C. crassicaudatus*, and *Polypedilum halterale* พบว่าปริมาณการดักจับริ้นน้ำจืดทั้ง 3 ชนิดเพิ่มขึ้นตามความเข้มของแสง เช่นเดียวกับที่ Ali *et al.* (1994) ศึกษาความเข้มของแสงต่อการดึงดูดริ้นน้ำจืด *C. salinarius* ในธรรมชาติ พบว่าปริมาณการดักจับมีความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงอย่างสูงกับความเข้มของแสง ($r = 0.93$) และยังพบปัจจัยร่วมระหว่างสีของแสงและความเข้มของแสง

ค. ช่วงแสง

จากผลการศึกษาช่วงแสงในช่วงการได้รับแสง 0-24 ชั่วโมงต่อวัน ต่อการเพาะพันธุ์ริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่าริ้นน้ำจืดที่ได้รับช่วงแสงตั้งแต่ 6 ชั่วโมงต่อวันขึ้นไป มีอัตราการวางไข่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่การเลี้ยงริ้นน้ำจืดที่ไม่ได้แสงเลย (0 ชั่วโมง) มีอัตราการวางไข่และจำนวนไข่ต่อฝักไข่ลดลงต่ำลง ($P < 0.05$) และทำให้ไข่ไม่ฟักออกเป็นตัว ($P < 0.01$) ทั้งนี้เนื่องจากริ้นน้ำจืดใช้แสงเป็นตัวกระตุ้นการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ การไม่ได้รับแสงเลยทำให้ไม่เกิดการผสมพันธุ์ ตัวเมียอาจมีการวางไข่แต่ไข่ไม่ฟักออกเป็นตัว ในขณะที่ช่วงแสงมีอิทธิพลต่อการลอกคราบขึ้นจากน้ำของริ้นน้ำจืด ซึ่งเป็นปัจจัยร่วมที่เกิดจากช่วงแสงและอุณหภูมิ (Armitage, 1995)

2.2.3 ผลของระดับอาหารธรรมชาติในน้ำต่อการเลือกวางไข่ของริ้นน้ำจืด

จากผลการศึกษาระดับอาหารธรรมชาติในน้ำต่อการเลือกวางไข่ของริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่าความเข้มข้นของคลอโรลลาในช่วง $0-4 \times 10^7$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลต่ออัตราการวางไข่ จำนวนไข่ต่อฝักไข่ และอัตราการฟัก สอดคล้องกับการศึกษาของ Nielsen (1962) ที่รายงานว่า การเลือกวางไข่ของริ้นน้ำจืด *Glyptotendipes paripes* ในน้ำชนิดต่างๆ ยังไม่ชัดเจน แต่จากการสังเกตพบว่าแม้ริ้นน้ำจืดไม่มีความเจาะจงในการเลือกชนิดของน้ำในการลงวางไข่ แต่อัตรารอดและอัตราการฟักของไข่ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำ โดยน้ำจากทะเลสาบให้ผลดีกว่าน้ำที่มาจากแหล่งอื่นๆ อีก 3 ชนิดคือ น้ำกลั่น น้ำประปา และน้ำจากบ่อเลี้ยงปลา จากรายงานของ Provost and Branch (1959) และ Ali (1990) กล่าวว่าแพลงก์ตอนพืชเป็นอาหารเบื้องต้นที่สำคัญของหนอนแดง เช่นเดียวกับจากการศึกษาของ Ali *et al.* (1996, 2002) พบว่าแพลงก์ตอนพืชเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีอิทธิพลต่อพลวัตรประชากรของริ้นน้ำจืด นอกจากนี้ชนิดของแพลงก์ตอนพืชยังมีผลต่อจำนวนประชากรมากเช่นกัน จากการศึกษารายงานของ Frouz *et al.* (2004) ซึ่งทดลองเลี้ยงหนอนแดง *G. paripes* ด้วยแพลงก์ตอนพืชจำนวน 6 ชนิด พบว่ามีแพลงก์ตอนพืชเพียง 3 ชนิด (*Lyngbya* cf.

aeruginosa, *Anabaena flos-aquae* และ *Chlorella keslerii*) ที่หนอนแดงสามารถใช้เป็นอาหารได้ โดยหนอนแดงที่เลี้ยงด้วยแพลงก์ตอนพืชชนิดที่ไม่เหมาะสม ส่วนใหญ่จะตายตั้งแต่ระยะตัวหนอนวัยแรกและวัยสอง ซึ่งได้อ้างเหตุผลตาม Templier *et al.* (1992) และ Kalina *et al.* (1993) ว่าเกิดจากการที่หนอนแดงไม่สามารถย่อยผนังเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่มีส่วนประกอบของสปอโรพอลเลนิน (sporopollenin) ได้ ในขณะที่แพลงก์ตอนพืชบางชนิด ได้แก่ *Microcystis* sp. นั้นหนอนแดงสามารถย่อยและดูดซึมได้ แต่ก็ทำให้ตัวอ่อนของหนอนแดงมีอัตราการตายสูง เนื่องจากมีสารพิษจำพวก toxin microcystin ซึ่ง Lurling (2003) และ Lurling and van der Grinter (2003) รายงานว่าสารพิษจำพวกนี้มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ขณะที่ในการทดลองครั้งนี้ใช้แพลงก์ตอนพืช *Chlorella* sp. ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดที่หนอนแดงสามารถย่อยได้ดี (Frouz *et al.*, 2004) ดังนั้นแสดงว่าปัจจัยด้านความเข้มข้นของอาหารธรรมชาติในน้ำอาจไม่ใช่ปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการเลือกวางไข่ของริ้นน้ำจืดชนิดนี้ จากการศึกษาในปัจจัยอื่นๆ เช่นจากรายงานของ Arav and Blaustein (2006) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความลึกของน้ำกับการมีอยู่ของศัตรูในแอ่งน้ำชั่วคราวตามธรรมชาติต่อการเลือกวางไข่ของยุง *Culiseta longiareolata* Macquart และริ้นน้ำจืด *C. riparius* Meigan พบว่าทั้งความลึกของน้ำและการมีอยู่ของศัตรูไม่มีผลต่อการเลือกวางไข่ของริ้นน้ำจืด แต่การมีอยู่ของศัตรูมีผลต่อการเลือกที่วางไข่ของยุงชนิดนี้ แสดงว่าริ้นน้ำจืดไม่เจาะจงในการเลือกวางไข่ในน้ำชนิดต่างๆ และจากการสังเกตขณะทดลองเพาะพันธุ์ริ้นน้ำจืด *C. fuscipes* พบว่ามักมีการวางไข่ตามพื้นกรงเพาะพันธุ์ นอกเหนือจากภาชนะใส่น้ำที่จัดเตรียมไว้ให้ ซึ่งเป็นพฤติกรรมโดยทั่วไปของริ้นน้ำจืดที่มีการรายงานเป็นจำนวนมากว่า ภายหลังจากการรวมกลุ่มเพื่อผสมพันธุ์ริ้นน้ำจืดมักวางไข่ในแหล่งอื่นๆ นอกเหนือจากในแหล่งน้ำ เช่น ราวสะพาน หลังคารถ หน้าต่างและประตูบ้านเรือน เป็นต้น (Ali, 1995)

2.3 พัฒนาการของไข่ริ้นน้ำจืด

จากผลการศึกษาพัฒนาการของไข่ริ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่าใช้ระยะเวลา 16 ชั่วโมง 30 นาที (อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส) ในการพัฒนาจากไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว พัฒนาการของแต่ละระยะใช้เวลาไม่เท่ากัน ในช่วงแรกๆ ของพัฒนาการ ได้แก่ ระยะคลีเวล และระยะการเกิดแถบตัวอ่อน มีการพัฒนาค่อนข้างรวดเร็ว แต่เริ่มช้าเมื่อเข้าสู่ระยะการห่อหุ้มตัวอ่อน ระยะการเกิดปล้องของตัวอ่อน โดย Richards and Davies (1977) กล่าวว่าจำนวนปล้องของตัวอ่อนริ้นน้ำจืดมีจำนวน 11 ปล้อง จากการแบ่งตัวจำนวน 12 ครั้ง เช่นเดียวกับในแมลงในอันดับอื่นๆ

ได้แก่ Othoptera และ Odonata ซึ่งในระยะเกิดของตัวอ่อนมีพัฒนาการในด้านต่างๆ เป็นจำนวนมาก ทำให้ใช้เวลาในพัฒนาการยาวนานที่สุด

2.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่และความคดของไข่

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวของฝักไข่และความคดของไข่น้ำจืด *Chironomus fuscipes* พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงสหสัมพันธ์แบบเส้นตรง ทั้งจากตัวอย่างฝักไข่ที่รวบรวมจากธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) อยู่ในช่วง 0.849-0.869 แสดงว่าความยาวของฝักไข่มีความสัมพันธ์กับความคดของไข่ ($P < 0.05$) โดยฝักไข่ที่รวบรวมจากห้องปฏิบัติการมีความคดของไข่มากกว่าฝักไข่ที่รวบรวมจากธรรมชาติ ทั้งนี้เนื่องจากฝักไข่ของไข่น้ำจืดจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ได้จากการเพาะพันธุ์จากไข่น้ำจืดที่ลอกคราบขึ้นจากน้ำของหนอนแดงที่เลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุม คือมีอุณหภูมิคงที่ประมาณ 26 ± 1 องศาเซลเซียส และให้อาหารในปริมาณที่เพียงพอ ทำให้แม่พันธุ์ที่ได้มีความสมบูรณ์มาก ในขณะที่ฝักไข่ของไข่น้ำจืดที่รวบรวมจากธรรมชาติ ได้จากแม่พันธุ์ไข่น้ำจืดที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะแวดล้อมที่มีความแปรปรวนอยู่เสมอ เช่น อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร เป็นต้น ทำให้ความสมบูรณ์ของแม่พันธุ์ที่ได้ด้อยกว่าซึ่งส่งผลต่อความคดของไข่ (Armitage *et al.*, 1995) ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างความคดของไข่กับคุณลักษณะอื่นๆ นั้น มีรายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่างความคดของไข่กับความยาวปีกในไข่น้ำจืด *C. crassicaudatus* แต่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าวในไข่น้ำจืด *Glyptotendipes paripes* โดยไข่น้ำจืดที่มีความยาวปีกมากจะมีความคดของไข่มากกว่าไข่น้ำจืดที่มีความยาวปีกสั้น ในขณะที่ความยาวปีกมีความสัมพันธ์กับน้ำหนักตัว (น้ำหนักแห้ง) (Xue and Ali, 1994a) เช่นเดียวกับในยุงหลายชนิดที่พบว่าความคดของไข่มีความสัมพันธ์กับขนาดลำตัว (Haramis, 1983; Nasci, 1986)

3. อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์

จากผลการศึกษาอัตราความหนาแน่นในช่วง 0.5-2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ต่อการเลี้ยงหนอนแดง *Chironomus fuscipes* พบว่าเมื่ออัตราความหนาแน่นสูงขึ้นทำให้อัตรารอดต่ำลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนักวิจัยคนอื่นๆ ที่ศึกษาในหนอนแดงชนิดอื่นๆ เช่น *Goeldichironomus holoprasinus* (Goeldi), *Tanytus grodhausi* Sublette (Biever, 1971) และ *Glyptotendipes paripes* (Frouz *et al.*, 2008) ซึ่งพบว่าเมื่ออัตราความหนาแน่นสูงขึ้นทำให้อัตรารอดลดลงเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงหนอนแดงด้วยอัตราความหนาแน่นสูง ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและ

สารพิษ เช่น แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ แคลเซียมไนไตรต์ เป็นต้น มีปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย (Ikeshoji, 1973; 1974) รวมทั้งเมื่ออัตราความหนาแน่นสูงขึ้นทำให้หนอนแดงต้องหาอาหารนานขึ้น และมีพฤติกรรมที่ก้าวร้าวในการหาอาหารและแย่งที่อยู่อาศัยกันมากขึ้นด้วย (Frouz *et al.*, 2008) ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Surakarn (1997) ที่ศึกษาหนอนแดงจำนวน 3 ชนิด ซึ่งพบในนาข้าวได้แก่ *C. kiiensis*, *C. yoshimatsui* และ *C. circumdatus* พบว่าอัตราความหนาแน่นไม่มีผลต่ออัตราการรอดเมื่อให้อาหารในปริมาณที่จำกัด ในขณะที่ในการศึกษาครั้งนี้ให้อาหารตามจำนวนหนอนแดงในแต่ละอัตราความหนาแน่น ทำให้ผลที่ได้มีความแตกต่างกัน ในขณะที่คุณลักษณะอื่นๆ เช่น อัตราส่วนเพศ การเจริญเติบโตในรูปความยาวปีก ความดกของไข่ของรุ่นน้ำจืด และระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Surakarn (1997) ที่พบว่าความยาวปีกและระยะเวลาที่ใช้ในพัฒนาการของหนอนแดง *C. yoshimatsui* ที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 1, 2 และ 4 ตัวต่อตารางเซนติเมตร เมื่อมีอาหารเพียงพอสั้นกว่าหนอนแดงที่เลี้ยงด้วยอัตราความหนาแน่น 10 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ในขณะที่จากการศึกษาครั้งนี้การที่อัตราความหนาแน่นไม่มีผลต่อคุณลักษณะอื่นๆ นั้น เนื่องจากหนอนแดงระยะแรกฟักที่ปล่อยลงเลี้ยงมักตายตั้งแต่ในช่วงระยะตัวหนอนวัยสอง ซึ่งเป็นระยะที่หนอนแดงเริ่มลงสู่พื้นเพื่อสร้างปลอกหุ้มตัว ระยะนี้หนอนแดงมีการแก่งแย่งพื้นที่กันสูงมากทำให้มีอัตราการตายสูง แต่เมื่อผ่านระยะดังกล่าวแล้วหนอนแดงมีอัตราการตายลดลง รวมทั้งมีรายงานว่าหนอนแดงแต่ละชนิดได้รับผลกระทบจากอัตราความหนาแน่นแตกต่างกัน เช่น หนอนแดง *C. yoshimatsui* ได้รับผลกระทบมากกว่าหนอนแดง *C. kiiensis* และ *C. circumdatus* (Surakarn, 1997) เช่นเดียวกับการรายงานของ Frouz *et al.* (2008) ที่พบว่าการเพิ่มอัตราความหนาแน่นทำให้อัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดง *G. paripes* ลดลง แต่เมื่อหนอนแดงบางส่วนได้ลอกคราบขึ้นจากน้ำไปแล้วทำให้หนอนแดงที่เหลือสามารถเจริญเติบโตและมีพัฒนาการที่เร็วขึ้น ส่วน Kawai and Konishi (1986) รายงานว่าอัตราการรอดของหนอนแดง *C. yoshimatsui* ลดลงอย่างรวดเร็วที่อัตราความหนาแน่น 4-12 ตัวต่อตารางเซนติเมตรเมื่อให้อาหาร 10 มิลลิกรัมต่อตัว ในขณะที่อัตราการรอดไม่ลดลงเมื่อให้อาหาร 5-7.5 มิลลิกรัมต่อตัว เช่นเดียวกับหนอนแดง *Gl. tokunagai* ในขณะที่หนอนแดง *C. flaviplumus* มีอัตราการรอดต่ำลงเมื่อเลี้ยงด้วยความหนาแน่น 4 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ในทุกอัตราการให้อาหาร ขณะที่จากการศึกษาครั้งนี้ให้อาหารด้วยอัตรา 0.04 กรัมต่อตัวต่อวัน ซึ่งมากกว่าในการทดลองเลี้ยงหนอนแดง *C. tentans* ซึ่งให้เพียง 0.0004 กรัมต่อตัวต่อวัน เท่านั้น เนื่องจากชนิดของอาหารที่ให้แตกต่างกัน แต่ก็เพียงพอต่อการเจริญเติบโตจนสามารถลอกคราบขึ้นจากน้ำได้ (Leppanen *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับที่ Ristola *et al.* (1999) รายงานว่าการให้อาหารเพียง 0.00012 กรัมต่อตัวต่อวัน แก่หนอนแดง *C. tentans* ก็เพียงพอต่อการเจริญเติบโตแล้ว โดยคุณภาพและปริมาณของอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่มีบทบาทต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของหนอนแดง (Johannsson, 1980; Sankarperumal and

Pandian, 1991) นอกจากนี้ปริมาณอาหารก็มีผลต่อการพัฒนาการของหนอนแดง *C. circumdatus* (Kieffer) ที่อุณหภูมิคงที่ เช่น ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หนอนแดงใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเพิ่มขึ้นจาก 8 เป็น 16 วัน เมื่อปริมาณความหนาแน่นของคลอเรลลา *Chlorella* sp. มีชีวิต ลดลงจาก 25×10^6 เป็น 13×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการเพิ่มปริมาณอาหารทำให้อัตราการพัฒนารวดเร็วขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณพลังงานที่ได้ต่อหน่วยเวลาเป็นสัดส่วนกับปริมาณอาหารที่ย่อยได้ รวมถึงพลังงานที่ใช้ไปในการหายใจและขบวนการเผาผลาญอาหารให้เกิดพลังงาน ซึ่งมีผลโดยตรงจากอุณหภูมิ (Sankarperumal and Pandian, 1991) ขณะที่ Wallace and Merritt (1980) กล่าวว่าความต้องการขนาดอนุภาคอาหารที่ใหญ่ขึ้นของหนอนแดง เพิ่มขึ้นตามขนาดของลำตัวที่โตขึ้น เช่นเดียวกับในแมลงชนิดอื่นๆ ซึ่งอัตราความหนาแน่นมีผลต่อการให้อาหารที่จำกัด ทำให้อาหารไม่เพียงพอและเกิดการแก่งแย่งอาหารขึ้น ได้แก่ ยุงลาย *Aedes aegypti* (Dye, 1982) และยุงรำคาญ *Culex tritaeniorhynchus summosus* (Chubachi, 1979) นอกจากนี้ Danks (1978) กล่าวว่าเมื่ออาหารไม่เพียงพอทำให้การลอกคราบขึ้นจากน้ำของรีนน้าจืดในสกุล *Chironomus* และ *Endochironomus* จะล่อออกไป เช่นเดียวกับที่ Johannsson (1980) รายงานว่าหนอนแดง *C. plumosus* L. กินอาหารมากที่สุดที่อุณหภูมิ 22-24 องศาเซลเซียส ซึ่ง Surakarn (1997) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงหนอนแดงที่อุณหภูมิสูงทำให้พัฒนาการเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยพัฒนาการที่อุณหภูมิสูงทำให้พลังงานที่ใช้กับการเจริญเติบโตของหนอนแดงลดลง เนื่องจากต้องนำไปใช้ในการหายใจมากขึ้น ซึ่งต้องใช้พลังงานมากที่สุดในหนอนแดงวัยสี่ โดยที่หนอนแดงต้องอยู่ในวัยดังกล่าวยาวนานที่สุด (Tokeshi, 1995) เช่นเดียวกับที่ความยาวปีกลลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น (Kari and Huey, 2000) ซึ่ง Xue and Ali (1994a) รายงานว่าความยาวปีกลมีความสัมพันธ์กับความคดของไข ในขณะที่ยกการศึกษาครั้งนี้การเจริญเติบโตในรูปความยาวปีกลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แสดงว่าอัตราความหนาแน่นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต ส่วนปัจจัยด้านคุณภาพของอาหารนั้น Hanson *et al.* (1983) และ Cargill (1984) กล่าวว่าไขมันเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตในระยะตัวหนอนของสัตว์จำพวกแมลงน้ำ โดยกลุ่มที่ไม่ได้รับไขมันจะมีการเจริญเติบโตปกติ จนกระทั่งเมื่อเข้าสู่วัยสุดท้าย ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนระบบเผาผลาญอาหารเพื่อสังเคราะห์และเก็บไขมันจำพวกไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ทำให้ปริมาณของโปรตีนในอาหารไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตระยะตัวหนอนวัยสุดท้าย แต่ถูกใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรองเช่นเดียวกับไตรกลีเซอไรด์ สำหรับใช้ในการพัฒนาระบบการสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์ จากการตรวจวัดคุณภาพน้ำในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสม ซึ่งมีรายงานว่าหนอนแดงเป็นสัตว์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมสูงมาก (Armitage *et al.*, 1995) มีรายงานของ Connolly *et al.* (2004) ที่ศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนต่อสัตว์หน้าดินต่างๆ พบว่าหนอนแดงเริ่มมีอัตราการตายเมื่อปริมาณออกซิเจนต่ำกว่า 8 เปอร์เซ็นต์ของจุดอิ่มตัว

4. การเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟัก

จากผลการศึกษาการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ด้วยวิธีการแช่แข็ง พบว่าการแช่แข็งธรรมชาติมีประสิทธิภาพดีกว่าการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว โดยที่ใช้ embryonic solution และ 1% trehalose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ให้ผลดีกว่าการใช้ 0.9% NaCl, modified fish ringer solution และ 2% glucose ($P < 0.01$) ทั้งในการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลวและการแช่แข็งธรรมชาติ เช่นเดียวกับผลการศึกษาการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดด้วยวิธีการแช่เย็น พบว่าการใช้ embryonic solution และ 1% trehalose เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ให้ผลดีกว่าการใช้ 0.9% NaCl, modified fish ringer solution และ 2% glucose ($P < 0.01$) การที่สารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดให้ผลในการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดทั้งด้วยวิธีการแช่แข็งและแช่เย็นแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดมีกลไกการทำงานในการป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ที่แตกต่างกัน โดยที่ embryonic solution 0.9%, 1% trehalose, NaCl และ modified fish ringer solution เป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ ส่วน 2% glucose เป็นกลุ่มของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในจำเป็นต้องซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์ เพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตรายไม่ให้เกิดขึ้นขณะแช่แข็งและละลาย ในขณะที่กลุ่มสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ ซึ่งทำหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์ขณะที่อยู่นอกเซลล์ ซึ่งกฤษณ์ (2536) กล่าวว่าประสิทธิภาพของสารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการป้องกันการเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ได้แก่ การเกิดเกล็ดน้ำแข็งภายในเซลล์ การเปลี่ยนแปลงขนาดของเซลล์ การเกิดความสมดุลของเกลือแร่และอิเล็กโทรไลต์ และการเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์และเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์ เช่นเดียวกับที่ Conlon *et al.* (1998) กล่าวว่าเยื่อหุ้มเซลล์เป็นส่วนที่ได้รับความเสียหายมากที่สุดขณะที่แช่แข็ง ดังนั้นจากผลการศึกษาในครั้งนี้การแช่แข็งไข่รีนน้ำจืดด้วยวิธีการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว สามารถเก็บรักษาได้สั้นกว่าการแช่แข็งธรรมชาติ และการแช่แข็งธรรมชาติสามารถเก็บได้สั้นกว่าการแช่เย็น เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ไม่สามารถลดจุดเยือกแข็ง (freezing point) ของไข่รีนน้ำจืดลงได้มากนัก ทำให้ความเย็นที่เกิดจากการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว และการแช่แข็งธรรมชาติ และการแช่เย็น ซึ่งมีอุณหภูมิ -196, 0 และ 4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่งผลต่อเสียต่อการทำงานของเซลล์ดังกล่าวข้างต้นตามอุณหภูมิที่ลดลง ส่วนการที่สารรักษาสภาพเซลล์มีผลต่อการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดและตัวอ่อนของหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยความเย็นต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ของไข่และตัวอ่อนมีความแตกต่างกัน (Hilker and Meiners, 2002; Richards and Davies, 1977)

จากผลการศึกษาการเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักของรึ้นน้ำจัดด้วยวิธีการแช่เย็น พบว่าการใช้ embryonic solution เป็นสารรักษาสภาพเซลล์มีประสิทธิภาพดีที่สุด รองลงมาเป็น 1% trehalose และให้ผลดีกว่าการใช้ 0.9% NaCl, modified fish ringer solution และ 2% glucose ($P < 0.01$) การที่สารรักษาสภาพเซลล์แต่ละชนิดให้ผลในการเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยความเย็นแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์ทุกชนิดที่ใช้ในทดลองครั้งนี้ เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ ยกเว้นกลูโคสซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็ก ซึ่งกฤษณ์ (2536) กล่าวว่ากลูโคสสามารถเป็นได้ทั้งสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ ซึ่งสารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายในเซลล์ จำเป็นต้องซึมผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อทำหน้าที่ป้องกันอันตรายไม่ให้เกิดขึ้นขณะแช่แข็งและละลาย ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากลูโคสมีประสิทธิภาพไม่ดีในการใช้เก็บรักษาไข่และตัวอ่อนระยะแรกฟัก เนื่องจากการเข้าไปในเซลล์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมดุลออสโมติกภายในเซลล์มากเกินไป ในขณะที่สารรักษาสภาพเซลล์ที่ออกฤทธิ์ภายนอกเซลล์ชนิดอื่นๆ ที่มีกลไกการทำงานเฉพาะการดึงน้ำออกจากเซลล์ และการรักษาสภาพการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ไว้ ทำให้มีประสิทธิภาพดีกว่า โดยเฉพาะสารรักษาสภาพเซลล์ embryonic solution ที่ให้ผลดีการศึกษาครั้งนี้ ทั้งนี้เนื่องจากมีส่วนประกอบของออสโมติกของแร่ธาตุใกล้เคียงกับภายในเซลล์ ทำให้สามารถดึงน้ำออกจากเซลล์ได้มาก ทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งที่ส่งผลเสียต่อเซลล์ได้น้อยกว่า นอกจากนี้อุณหภูมิต่ำยังไปลดอัตราการเผาผลาญให้เกิดพลังงาน และป้องกันการสูญเสียน้ำหนักและพลังงาน ในการเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยวิธีการแช่เย็นก็ให้ผลใกล้เคียงกับการเก็บรักษาตัวอ่อนระยะแรกฟักของอาร์ทีเมีย ซึ่ง Leger *et al.* (1983) กล่าวว่าสามารถเก็บด้วยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และไม่ปรากฏอัตราการตาย และจากการศึกษาของ Anbala Almalul (2000) พบว่าสามารถเก็บรักษาตัวอ่อนระยะแรกฟักของอาร์ทีเมียเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีอัตราการตายต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาถึงกลไกการทำงานของสารรักษาสภาพเซลล์ 1% trehalose พบว่ามีผลต่อขบวนการไกลโคไลซิสซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาสภาพของเอนไซม์และเยื่อหุ้มเซลล์ ที่จะเกิดความเสียหายจากการแช่เย็นหรือแช่แข็ง โดยที่ไฮดรอกซิลกรุปของทรีฮาโลสจะทำการจับกับหมู่ฟอสเฟตของฟอสโฟไลปิดเมมเบรนด้วยพันธะไฮโดรเจนซึ่งการจับกันในเซลล์เมมเบรน ในขณะที่เซลล์เมมเบรนอยู่ในสภาวะปกติจะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างไฮโดรเจนอะตอมของน้ำกับออกซิเจนอะตอมของหมู่ฟอสเฟตของฟอสโฟไลปิดเมมเบรน ทำให้เซลล์เมมเบรนสามารถคงสภาพอยู่ได้ แต่เมื่อเกิดการละลายก็จะเกิดกระบวนการเกิดการดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration) หมู่ฟอสโฟไลปิดจะเกิดการรวมตัวกันเป็นผลให้เซลล์เมมเบรนถูกทำลาย แต่ถ้ามีการเพิ่มทรีฮาโลสเข้าไป ทรีฮาโลสที่สะสมอยู่บนเซลล์เมมเบรนจะเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลกรุป

ของทริฮาโลสกับหมู่ฟอสเฟตของฟอสโฟไลปิด โดยพันธะนี้คล้ายกับพันธะไฮโดรเจนของน้ำ กับฟอสโฟไลปิดในสภาพปกติ ทำให้เซลล์แมมเบรนสามารถคงสภาพอยู่ได้ (Crowe *et al.*, 1984a ; Crowe *et al.*, 1984b) ทำให้น้ำตาลทริฮาโลสมีคุณสมบัติเป็นสารรักษาสภาพที่ดี ซึ่งภายใต้สภาวะธรรมชาติสิ่งมีชีวิตที่สามารถทนต่อความหนาวเย็นตามธรรมชาติ นั้น มีขบวนการที่สิ่งมีชีวิต สามารถสังเคราะห์ทริฮาโลสขึ้นมาเอง เช่น ยีสต์สามารถทนต่อการสูญเสียน้ำโดยสามารถ สังเคราะห์ทริฮาโลสได้ถึง 35 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว เช่นเดียวกับทริฮาโลสซึ่งเป็นน้ำตาลใน เลือด (blood sugar) ในกิ้งก่าบอสเตอร์ ในขณะที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นๆ ซึ่งไม่สามารถสังเคราะห์ทริฮาโลสขึ้นมาได้นั้น มีหลายวิธีที่จะสามารถนำน้ำตาลทริฮาโลสเข้าสู่เซลล์ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง เพื่อทำหน้าที่เป็นสารรักษาสภาพเซลล์ ป้องกันการเสื่อมสภาพของโปรตีนและเยื่อหุ้มเซลล์ทั้ง ภายในและภายนอกเซลล์ เช่นวิธีการใช้เข็มฉีด (microinjection) เพื่อนำทริฮาโลสเข้าสู่เซลล์ไขของ มนุษย์ (Eroglu *et al.*, 2002) อย่างไรก็ตามสารรักษาสภาพเซลล์ที่ไม่สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์เกิดผลึก ได้ แต่การเกิดผลึกภายนอกและการดึงน้ำออกจากเซลล์ก็สามารถป้องกันความเสียหายที่จะเกิดกับ เซลล์แมมเบรนได้เช่นกัน (Crowe *et al.*, 1998) เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่นๆ แล้วทริฮาโลสมี ความสามารถในการรวมตัวกับโมเลกุลของน้ำได้มากกว่าซูโครส 2.5 เท่า ทำให้ปกป้องการ เสื่อมสภาพของโปรตีนได้มากกว่า (Sola-Penna *et al.*, 1998) นอกจากนี้ทริฮาโลสยังสามารถ ป้องกันเซลล์และโปรตีนจากภาวะออกซิเดชันซึ่งซูโครสไม่สามารถทำได้ (Benaroudi *et al.*, 2001) รวมทั้งทริฮาโลสสามารถก่อกวนพันธะกับน้ำแน่นหนากว่าซูโครสมาก (Willart *et al.*, 2003) ในชั้นที่ เกิดการเรียงตัวเป็นสองชั้นของโมเลกุลไขมันฟอสเฟต (phospholipids bilayer) ของเยื่อหุ้มเซลล์ ทริฮาโลสสามารถแทนที่โมเลกุลของน้ำโดยไปรวมกับคาร์บอนิลแต่ซูโครสไม่สามารถทำได้ ทริฮาโล สมีอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature: Tg) สูงกว่าซูโครส ที่ องค์ประกอบน้ำ 5 เปอร์เซ็นต์ ค่า Tg ของทริฮาโลสประมาณ 40 องศาเซลเซียส ในขณะที่ซูโครส ประมาณ 15 องศาเซลเซียส ยังมีรายงานว่า การเติมทริฮาโลส 5 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในสารละลายไค เมริลซัลฟอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้อัตรารอดของเซลล์เม็ดเลือดแดงจากกรก (nucleated cord blood cell) เพิ่มขึ้นจาก 7 เป็น 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเซลล์ (Zhang *et al.*, 2003) ซึ่ง Kikawada *et al.* (2007) กล่าวว่าทริฮาโลสเป็นน้ำตาลที่อยู่ในน้ำเลือด (haemolymph) ของแมลง ส่วนใหญ่ โดยถูกสังเคราะห์มาจากไขมันในร่างกาย (fat body) และปล่อยเข้าสู่เลือด

ภายใต้สภาวะธรรมชาตินั้น การที่หนอนแดงที่พบในเขตหนาวมีความสามารถในการปรับ สภาพให้ทนทานต่ออากาศหนาวได้ เนื่องจากการแข็งตัวของน้ำเลือดจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อ อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งมากๆ (-5 ถึง -10 องศาเซลเซียส) ซึ่งการเกิดผลึกน้ำแข็งถูกควบคุมโดย ตัวแมลงเอง การเกิดผลึกน้ำแข็งไปทำให้เกิดสารพิเศษที่เรียกว่า Ice Nucleators หรือ Ice Nucleating

Agents (INAs) ซึ่งเกิดขึ้นภายในเซลล์เองหรือมาจากที่อื่น สารพิษที่เกิดขึ้นภายในเซลล์โดยทั่วไปเป็นโปรตีนหรือไลโปโปรตีน (lipoprotein) ที่สังเคราะห์ขึ้นและสะสมไว้ในน้ำเลือด (Strathdee and Bale, 1998; Danks, 1996) การเกิดผลึกน้ำแข็งรอบๆ นิวเคลียส เกี่ยวข้องกับโมเลกุลที่ไม่เกิดพันธะกับน้ำทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งโครงสร้างหกเหลี่ยม (Block, 1990; Danks, 1996) อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดผลึกน้ำแข็งขึ้นอยู่กับสารพิษที่แมลงสังเคราะห์ขึ้นมา ทำหน้าที่เป็นสารรักษาสภาพเซลล์และสารต่อต้านการแข็งตัว ซึ่งมีทั้งสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยและสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมาก (Storey, 1990) โดยกลุ่มแรกเป็นสาร polyols ได้แก่ polyhydroxy alcohols (เช่น glycerol, mannitol และ sorbitol) น้ำตาล (เช่น glucose, fructose และ tethralose) และ กรดอะมิโน (เช่น alanine) สารเหล่านี้จะยึดเหนี่ยวกันและละลายน้ำได้ดีมาก (Duman *et al.*, 1982) กลุ่มที่สองเป็น Thermal Hysteris Proteins (THPs) เป็นโปรตีนที่มีลักษณะคล้ายกับที่สังเคราะห์ขึ้นในปลาซัวโลกที่อยู่ในน้ำลึก (Clarke, 1991) โดย THPs มีลักษณะเป็น cellular matrix (Danks, 1996) จากที่กล่าวมาทั้งหมด สารเหล่านี้มีบทบาทไปลดจุดเยือกแข็งของของเหลวในร่างกาย (หรือ supercooling point; SCP)

นอกเหนือจากสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการศึกษารังนี้ ยังมีสารรักษาสภาพเซลล์อื่นๆ ซึ่งสามารถใช้ได้ดีในการเก็บรักษาหรือป้องกันการทำลายเซลล์จากความเย็น แต่เนื่องจากสารรักษาสภาพเซลล์บางชนิดมีความเป็นพิษสูง เช่น ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ เป็นต้น ทำให้ไม่อาจนำมาใช้ในการศึกษารังนี้ได้ เพราะต้องนำหนอนแดงระยะแรกฟักที่เก็บรักษาไว้ไปเป็นอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน ซึ่งจะส่งผลต่อเซลล์และเนื้อเยื่อที่เป็นโปรตีนได้ ทำให้จำเป็นต้องศึกษาสารรักษาสภาพเซลล์ที่เป็นพวกน้ำตาลซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีสารประกอบจำพวกอัลดีไฮด์หรือคีโตนที่มีไฮดรอกซิลตั้งแต่ 2 ขึ้นไป (polyhydroxyl aldehydes/ketone) ซึ่งน้ำตาลหลายประเภทถูกพบในสิ่งมีชีวิตหลายประเภท เช่น พืช แมลง เห็ดรา เป็นต้น ซึ่งน้ำตาลจัดเป็นสารรักษาสภาพเซลล์ที่ไม่เป็นพิษ ส่วนน้ำตาลฟรุคโทสไม่สามารถนำมาใช้ได้ เนื่องจากไม่เกิดผลึก

5. คุณค่าทางโภชนาการและการใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

5.1 คุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟัก

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (น้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟัก พบว่ามีโปรตีน 55.62 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.57 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 6.54 เปอร์เซ็นต์ และ เถ้า 14.45 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับรายงานของ Habib *et al.* (1997) ที่ศึกษาคุณค่าของหนอนแดงระยะสุดท้าย (lately instar larvae) รวมกัน 14 ชนิด ในประเทศ

มาเลเซีย พบว่ามีโปรตีนสูงกว่า (49.45-51.15 เปอร์เซ็นต์) แต่มีไขมันต่ำกว่า (12.04-14.22 เปอร์เซ็นต์) ส่วนเล้ามีปริมาณใกล้เคียงกัน (13.25-14.24 เปอร์เซ็นต์) ขณะเดียวกันเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับรายงานของรัตนสุดา (2546) ที่ศึกษาคุณค่าของหนอนแดงระยะสุดท้ายหลายชนิด รวมกันจากการเพาะเลี้ยงในจังหวัดขอนแก่น พบว่ามีโปรตีนสูงกว่า (36.52 เปอร์เซ็นต์) แต่มีไขมัน (5.58 เปอร์เซ็นต์) และเถ้าต่ำกว่า (20.60 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งการที่หนอนแดงมีคุณค่าทางอาหารแตกต่างกัน ทั้งนี้เกิดจากความแตกต่างในด้านชนิดของรึ้นน้ำจืด รวมถึงชนิด คุณภาพ และปริมาณอาหารที่หนอนแดงบริโภคเข้าไป (Armitage *et al.*, 1995)

จากผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโนในหนอนแดงระยะแรกฟัก พบว่ามีกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้ง 10 ชนิด อาร์จินีน ฮิสติดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ไลซีน เมทไธโอนีน ฟีนิลอะลานีน ทรีโอนีน ทริปโตเฟน และวาเลีน เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับโรติเฟอร์และไรแดง พบว่ามีปริมาณไม่แตกต่างกันมากนัก ซึ่งเวียง (2542) และ Webster and Lim (2002) กล่าวว่ากรดอะมิโนเป็นตัวกำหนดคุณภาพของโปรตีน โปรตีนที่มีคุณภาพดีสำหรับสัตว์น้ำต้องมีกรดอะมิโนที่จำเป็นครบทั้ง 10 ชนิด และมีในปริมาณที่มากพอ สัตว์น้ำจึงจะสามารถสังเคราะห์โปรตีนในร่างกายได้ตามต้องการ แล้วทำให้เกิดการเจริญเติบโตเป็นปกติ ส่วนกรดอะมิโนชนิดที่ไม่จำเป็นนั้นสัตว์น้ำสามารถสังเคราะห์ได้เอง แต่ควรที่จะมีในอาหารเนื่องจากสามารถลดความจำเป็นในการสังเคราะห์ขึ้นมาเอง ซึ่งจำเป็นต้องใช้สารตั้งต้นจากกรดอะมิโนที่จำเป็น (NRC, 1983) ในขณะที่หนอนแดงระยะแรกฟักก็มีกรดอะมิโนชนิดที่ไม่จำเป็นครบทุกชนิดเช่นเดียวกัน

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันของหนอนแดงระยะแรกฟัก พบว่ามีกรดไขมันชนิดจำเป็นครบถ้วนทั้ง 2 ชนิด คือ ลิโนเลนิก และ ลิโนเลอิก ซึ่งเป็นกรดไขมันที่ร่างกายของสัตว์น้ำไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น (เวียง, 2542) แต่กรดไขมันที่พบในหนอนแดงระยะแรกฟัก โรติเฟอร์ และ ไรแดงมีปริมาณแตกต่างกัน ซึ่ง Kiyashko *et al.* (2004) และ Sanina *et al.* (2004) กล่าวว่าการศึกษาที่สัตว์ที่อาศัยอยู่ในน้ำต่างๆ มีปริมาณและองค์ประกอบกรดไขมันในอาหารแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอาหารและเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวสัตว์เอง เช่น อาหารที่แมลงที่อาศัยอยู่ในน้ำกินส่วนใหญ่เป็นตัวอ่อนของแมลงอื่นๆ และแพลงก์ตอนพืช ซึ่งมีปริมาณกรดไขมันจำพวกลิโนเลนิกและลิโนเลอิกน้อย แต่ก็มีเอนไซม์ที่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันกลุ่มนี้ได้

5.2 การใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

จากผลการทดลองอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อนด้วยการให้อาหารในการอนุบาล 2 วิธี เป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าลูกปลาหมอในชุดทดลองที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่อนุบาลด้วยหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน มีความยาวเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ย และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการของโรติเฟอร์และหนอนแดงระยะแรกฟัก โดยเฉพาะปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้ง 10 ชนิด มีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แม้ว่าโรติเฟอร์มีปริมาณโปรตีน (68.08 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่าหนอนแดงระยะแรกฟัก (55.62 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งจากการศึกษาระดับของโปรตีนในอาหารปลาหมอขนาด 1.6 กรัม พบว่าอาหารที่มีระดับโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ปลาหมอมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ในขณะที่ระดับของโปรตีนในอาหาร 35 และ 45 เปอร์เซ็นต์ ให้อัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน (สาวิตรี และคณะ, 2547) เช่นเดียวกับที่ Doolagindachbaporn (1994) ได้ศึกษาเปรียบเทียบการให้อาหารในลูกปลาหมออายุ 34 วัน ที่มีโปรตีนต่างกันในช่วง 26.74 - 45.39 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 45 วัน พบว่าให้อัตรารอดและอัตราการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งวิมล (2536) กล่าวว่าปริมาณโปรตีนที่มากเกินไปความต้องการของปลา ส่วนที่เกินนั้นจะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานแทน แสดงว่าปริมาณ โปรตีนที่มีอยู่ในหนอนแดงระยะแรกฟัก ก็เพียงพอต่อความต้องการของลูกปลาหมอวัยอ่อน เช่นเดียวกับการทดลองเปรียบเทียบการให้อาหารมีชีวิตจำนวน 3 ชนิด ในอนุบาลลูกปลาม้าลายวัยอ่อนเป็นเวลา 15 วัน พบว่าการใช้โรติเฟอร์ (โปรตีน 68.08 เปอร์เซ็นต์) และไรแดง (โปรตีน 64.68 เปอร์เซ็นต์) ให้อัตรารอดและอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากการใช้หนอนจืดที่มีปริมาณโปรตีนต่ำกว่ามาก (40.07 เปอร์เซ็นต์) (พรพรรณ, 2547)

อัตราการรอดของลูกปลาหมอวัยอ่อนที่อนุบาลด้วยการให้อาหารในการอนุบาล 2 ชนิด เป็นระยะเวลา 24 วัน พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในชุดทดลองที่อนุบาลด้วยโรติเฟอร์เป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน และชุดทดลองที่อนุบาลด้วยหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารเมื่อลูกปลามีอายุได้ 5-12 วัน แสดงให้เห็นว่าลูกปลาหมอสามารถกินหนอนแดงระยะแรกฟักเป็นอาหารได้เช่นเดียวกับโรติเฟอร์ โดยที่ไม่มีปัญหาเรื่องความยาวลำตัวของหนอนแดงระยะแรกฟัก (614.8 ไมครอน) ที่ยาวกว่าโรติเฟอร์ (200 ไมครอน) ต่อมาเมื่อลูกปลาหมอมิขนาดโตขึ้นจึงเปลี่ยนอาหารมาเป็นไรแดง (ความยาว 420 ไมครอน) เพื่อให้เหมาะสมกับขนาดปาก โดยใช้ระยะการปรับอาหารอ้างอิงตาม Doolagindachbaporn (1994) ซึ่งลูกปลาหมอสามารถยอมรับไรแดงได้เป็นอย่างดี ทำให้อัตรารอดตลอดการทดลองในแต่ละชุดทดลองไม่แตกต่างกัน

ปัจจัยต่างๆ ของคุณภาพน้ำในระหว่างการอนุบาลลูกปลาหมออ่อนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วง 24 วัน ของการทดลอง โดยเฉพาะอุณหภูมิน้ำเนื่องจากในช่วงที่ทำการทดลองเป็นฤดูหนาว (ระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2551) ทำให้อุณหภูมิน้ำมีค่าค่อนข้างต่ำเป็นช่วงสั้นๆ ประมาณ 2 วัน (23.0-23.2 องศาเซลเซียส) แต่ Froese and Pauly (2009) กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของปลาหมออยู่ในช่วง 22.0-30.0 องศาเซลเซียส ปริมาณแอมโมเนียรวมมีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ ระหว่างการทดลอง (0.18-0.53 มิลลิกรัมต่อลิตร) ซึ่งใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐานสำหรับน้ำที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่กำหนดไว้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Department of Environment Quality Promotion, 2009) ซึ่งแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนถ่ายน้ำบางส่วนระหว่างการทดลอง โดยอ้างอิงอัตราการเปลี่ยนถ่ายน้ำตาม Doolagindachbaporn (1994) แต่ก็ยังคงเกิดจากการขับถ่ายของเสียและอาหารมีชีวิตที่ตาย ในขณะที่ค่าปัจจัยอื่นๆ ของคุณภาพน้ำได้แก่ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ความเป็นด่าง และความกระด้าง ในระหว่างการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก และอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งนี้เนื่องจากการอนุบาลลูกปลานั้น ลูกปลายังมีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำ รวมทั้งปริมาณอาหารที่กินเข้าไป และการขับถ่ายออกจากตัวปลามีค่อนข้างน้อย และอาหารที่ใช้ในระหว่างการทดลองเป็นอาหารมีชีวิต ทำให้ไม่เกิดการเน่าเสียของอาหารเมื่อลูกปลากินไม่หมด ซึ่งประวิทย์ (2531) กล่าวว่าอุณหภูมิน้ำในแหล่งน้ำธรรมชาติของประเทศไทยผันแปรอยู่ในช่วงระหว่าง 23-32 องศาเซลเซียส ปลาใช้เหงือกเป็นอวัยวะสำคัญในการช่วยถ่ายเทและรักษาระดับอุณหภูมิของร่างกาย ปลาขนาดเล็กหรือลูกปลาใช้อัตราส่วนเหงือกต่อน้ำหนักปลามากกว่าปลานขนาดใหญ่ เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิเกิดขึ้นทำให้ลูกปลาสามารถปรับตัวได้ดีกว่า

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. สรุปในภาพรวมของการวิจัย

การศึกษาการพัฒนาเทคนิคบางประการเพื่อใช้ประโยชน์หนอนแดงระยะแรกฟักในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสามารถสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้ การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 – มกราคม พ.ศ. 2552 พบรึ้นน้ำจืดทั้งสิ้นจำนวน 2 วงศ์ย่อย 15 สกุล และ 22 ชนิด โดยพบสกุล *Chironomus* มากที่สุดในทุกเดือนที่สำรวจ ในขณะที่ความหลากหลายชนิดและความชุกชุมในแต่ละเดือนที่สำรวจไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมด้านสภาวะอากาศ พบว่ามีเพียงปริมาณน้ำฝนรายเดือนที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($P < 0.01$) ในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิอากาศไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($P > 0.05$) ปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมด้านคุณภาพน้ำที่เกี่ยวข้องพบว่าอุณหภูมิ น้ำ ความเป็นกรดเป็นด่าง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความโปร่งแสง ความกระด้าง ความเป็นด่าง และแอมโมเนียรวมมีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละเดือนที่สำรวจ ($P < 0.01$) เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมด้านสภาวะอากาศและคุณภาพน้ำที่เกี่ยวข้อง พบว่ามีเพียงความเป็นกรดเป็นด่างที่มีความสัมพันธ์ระดับสูงกับความหลากหลายชนิด ส่วนปัจจัยด้านคุณภาพน้ำอื่นๆ ได้แก่ อุณหภูมิ น้ำ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ ความโปร่งแสง ความกระด้าง ความเป็นด่าง และแอมโมเนียรวมมีความสัมพันธ์ระดับต่ำถึงปานกลางกับความหลากหลายชนิดและความชุกชุม จากการคัดเลือกชนิดของหนอนแดงที่พบในบ่อผลิตอาหารมีชีวิตของสถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด โดยการศึกษาเปรียบเทียบคุณลักษณะที่ดี พบว่ารึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* มีความเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ เพื่อการรวบรวมไข่ เนื่องจากมีวงจรชีวิตสั้น ผสมพันธุ์ และวางไข่ได้ง่าย เมื่อนำไปศึกษาชีววิทยาและปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเพาะพันธุ์ได้แก่ อัตราส่วนเพศ สีของแสง ความเข้มของแสง ช่วงแสง พบว่ามีผลต่อการวางไข่ ในขณะที่ระดับของอาหารธรรมชาติในน้ำไม่มีผลต่อการวางไข่ จากการศึกษาพัฒนาการของไข่พบว่าใช้ระยะเวลา 16 ชั่วโมง 30 นาที ในการฟักออกเป็นตัว ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส ความยาวของฟักไข่มีความสัมพันธ์กับความคดของไข่แบบสหสัมพันธ์เส้นตรง โดยฟักไข่ของรึ้นน้ำจืดที่รวบรวมได้จากธรรมชาติมีค่าความคดของไข่น้อยกว่าฟักไข่ของรึ้นน้ำจืดที่รวบรวมได้จากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ จากการทดลองเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ด้วยอัตราความ

หนาแน่น 0.5-2.5 ตัวต่อตารางเซนติเมตร พบว่าอัตราการรอดมีค่าลดลงเมื่ออัตราความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ในขณะที่ไม่มีผลต่ออัตราส่วนเพศ การเจริญเติบโตในรูปความยาวปีก ความคดของปีก และระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการ อัตราความหนาแน่นที่เหมาะสมคือ 1 ตัวต่อตารางเซนติเมตร การศึกษาการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟักโดยวิธีการใช้ความเย็น พบว่าการแช่แข็งธรรมชาติไข่รีนน้ำจืดโดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ embryonic solution และ 1% trehalose มีประสิทธิภาพมากกว่าการแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว คือสามารถยืดอายุการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้นานที่สุด 72 ชั่วโมง และไข่รีนน้ำจืดมีอัตราการฟักภายหลังการเก็บรักษา 12.67 และ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การแช่แข็งธรรมชาติโดยใช้สารรักษาสภาพเซลล์ embryonic solution และ 1% trehalose สามารถยืดอายุการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดได้นานที่สุดเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง แต่มีอัตราการฟักภายหลังการเก็บรักษาเพียง 0.67 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเก็บรักษาหนอนแดงระยะแรกฟักด้วยวิธีแช่เย็น พบว่าการใช้สารรักษาสภาพเซลล์ embryonic solution มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง แต่มีอัตราการฟักภายหลังการแช่เย็นเพียง 10.33 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดงระยะแรกฟัก พบว่ามีคุณค่าทางโภชนาการโดยน้ำหนักแห้งดังนี้ โปรตีน 55.62 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 4.57 เปอร์เซ็นต์ เยื่อใย 6.54 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 14.45 เปอร์เซ็นต์ มีกรดอะมิโนที่จำเป็นและไม่จำเป็นครบทุกชนิด ส่วนกรดไขมันพบทั้งชนิดอิ่มตัวและชนิดไม่อิ่มตัว เมื่อนำไปอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อนเปรียบเทียบกับอนุบาลด้วยโรติเฟอร์ พบว่าให้อัตรารอดและอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)

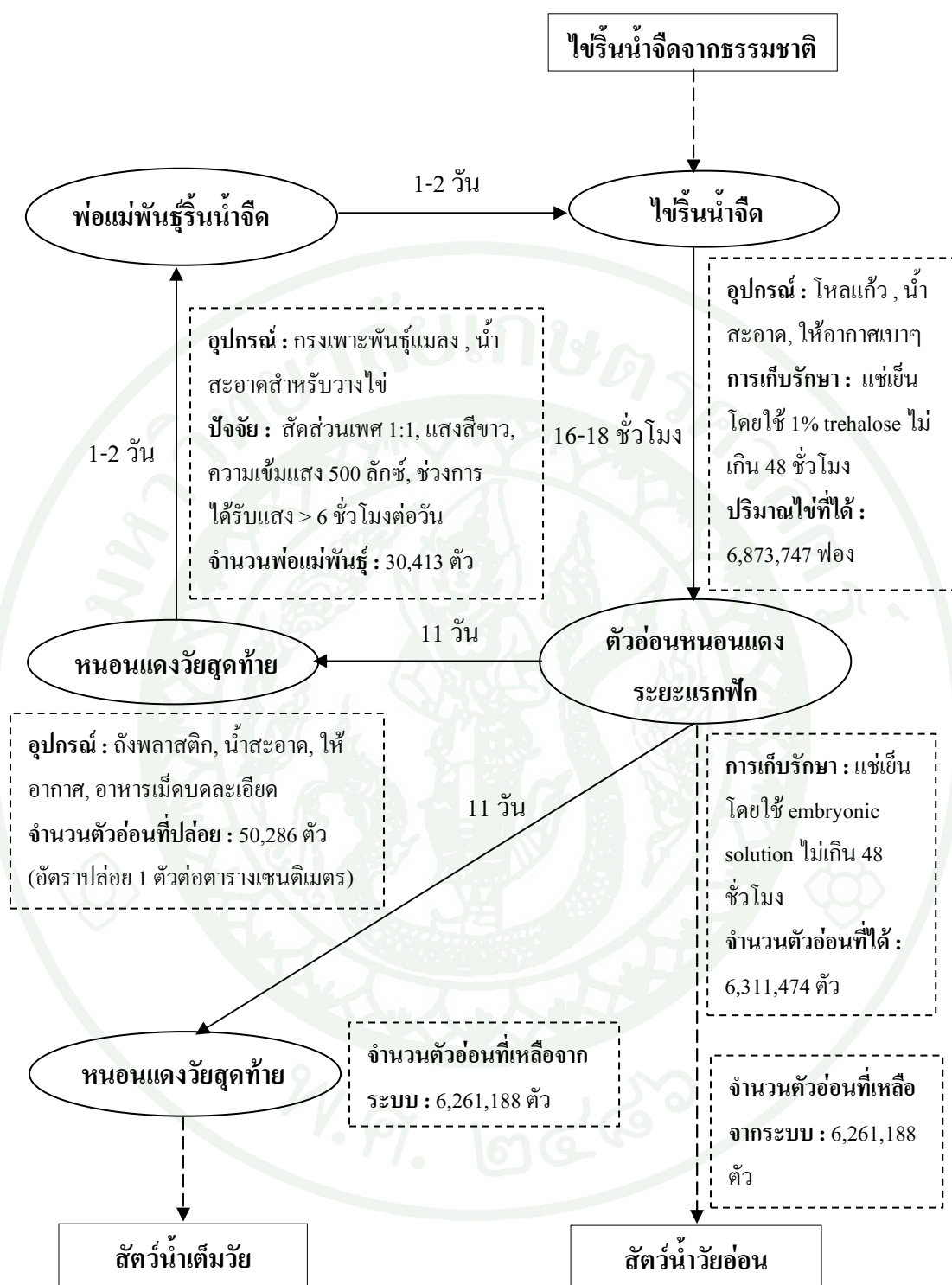
จากผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้ ไปใช้ในการพัฒนาเทคนิคการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟัก จากพ่อแม่พันธุ์ไข่รีนน้ำจืดที่เลี้ยงภายใต้สภาวะกักขัง และรวบรวมไข่ที่ได้ไปฟัก และนำหนอนแดงระยะแรกฟักไปใช้ในการผลิตหนอนแดงระยะสุดท้าย ให้มีปริมาณเพียงพอและสม่ำเสมอ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำสวยงาม ลดความเสี่ยงในการใช้หนอนแดงที่เก็บเกี่ยวจากธรรมชาติ และลดความเสี่ยงต่อสุขภาพของสัตว์น้ำที่มักเกิดจากการกินหนอนแดงที่ปนเปื้อนเชื้อโรคและปรสิต ทำให้ผู้เลี้ยงและเกษตรกรเกิดความเชื่อมั่นในการใช้หนอนแดงเพื่อเป็นอาหารสัตว์น้ำมากขึ้นในอนาคต รวมทั้งได้ทราบถึงความหลากหลายชนิดและความชุกชุมของไข่รีนน้ำจืดในแหล่งน้ำธรรมชาติในรอบปี เพื่อนำมาใช้ในการรวบรวมพ่อแม่พันธุ์ไข่รีนน้ำจืดมาใช้เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะกักขังต่อไป

2. การนำไปใช้ประโยชน์

การผลิตตัวอ่อนหนอนแดงระยะแรกฟัก เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ทั้งในรูปของอาหารมีชีวิตสำหรับลูกปลาน้ำจืดวัยอ่อน หรือการนำไปเลี้ยงต่อเพื่อเป็นหนอนแดงวัยสุดท้ายสำหรับใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำสวยงาม มีรูปแบบและต้นทุนการผลิต ดังนี้

รูปแบบการผลิตตัวอ่อนหนอนแดงระยะแรกฟัก เริ่มจากการรวบรวมไข่รีน้ำจืด *Chironomus fuscipes* ซึ่งพบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติทุกฤดูกาลตลอดทั้งปี นำมาฟักในโหลแก้วบรรจุน้ำสะอาด ให้อากาศเบาๆ หรืออาจเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่เย็นโดยใช้ 1% trehalose ไม่เกิน 48 ชั่วโมง ไข่รีน้ำจืดใช้ระยะเวลาฟัก 16-18 ชั่วโมง จึงฟักออกมาเป็นหนอนแดงระยะแรกฟัก ซึ่งอาจเก็บรักษาด้วยแช่เย็นโดยใช้ embryonic solution ไม่เกิน 48 ชั่วโมง หรือนำไปเลี้ยงต่อเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ในถังพลาสติกขนาด 30 ลิตร เติมน้ำสะอาด 20 ลิตร ให้อากาศตลอดเวลา อัตราปล่อย 1 ตัวต่อตารางเซนติเมตร ให้อาหารเม็ดปนละเอียดเป็นอาหาร ใช้ระยะเวลา 11 วัน จึงเข้าหนอนแดงระยะสุดท้าย ต่อจากนั้นประมาณ 1-2 วัน จึงลอกคราบขึ้นจากน้ำกลายเป็นพ่อแม่พันธุ์รีน้ำจืด นำไปเพาะพันธุ์ในกรงเพาะพันธุ์แมลง ที่มีน้ำสะอาดสำหรับวางไข่ โดยควบคุมปัจจัยต่างๆ ดังนี้ สัดส่วนเพศ 1:1 ให้แสงสีขาว ความเข้มแสง 500 ลักซ์ และช่วงการได้รับแสงไม่น้อยกว่า 6 ชั่วโมงต่อวัน ใช้เวลาประมาณ 1-2 วัน จึงวางไข่เสร็จสิ้น นำไข่รีน้ำจืดที่ได้ไปเข้าสู่ระบบฟักต่อไป

ต้นทุนการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟัก จากระบบการผลิตที่ใช้ถังพลาสติกขนาด 30 ลิตร จำนวน 44 ถัง ซึ่งสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักได้ 4 ถังต่อวัน โดยใช้ระยะเวลา 11 วันต่อรอบการผลิต ได้ผลผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักทั้งหมด 6,311,474 ตัว แยกเป็นเพื่อใช้เลี้ยงหมูนเวียนในระบบการผลิตจำนวน 50,286 ตัว และส่วนที่เหลือจากระบบจำนวน 6,261,188 ตัว ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำวัยอ่อน หรือนำไปเลี้ยงเป็นหนอนแดงระยะสุดท้ายเพื่อใช้เลี้ยงสัตว์น้ำเต็มวัยต่อไป ต้นทุนในการผลิตทั้งหมดต่อรอบการผลิตเท่ากับ 465.14 บาท แยกเป็นต้นทุนคงที่ในรูปของโรงเรือน ภาชนะเลี้ยง ระบบให้อากาศ เท่ากับ 79.66 บาท และต้นทุนผันแปรในรูปค่าอาหารปลา ค่าน้ำประปา ค่าแรงงาน และค่าไฟฟ้า เท่ากับ 385.48 บาท โดยมีต้นทุนการผลิตเฉลี่ยเท่ากับ 0.074 บาทต่อพันธุ์ (ภาพที่ 69, ตารางผนวกที่ 9-13)



ภาพที่ 69 รูปแบบวงจรการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟัก

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในบ่อพักน้ำ

ควรดำเนินการศึกษาความหลากหลายและการเปลี่ยนแปลงในรอบปีของรึ้นน้ำจืดในแหล่งน้ำอื่นๆ เช่น อ่างเก็บน้ำขนาดใหญ่ ป่าชายเลน ป่าพรุ เป็นต้น ซึ่งแหล่งน้ำดังกล่าวมีรึ้นน้ำจืดอาศัยอยู่เป็นจำนวนมาก และควรศึกษาถึงองค์ประกอบของชนิดรึ้นน้ำจืด โดยนำเทคโนโลยีทางชีวโมเลกุล (Molecular Biology) เช่น การวิเคราะห์ DNA การวิเคราะห์ RNA การวิเคราะห์ polytene chromosome (Zacharias, 1979) เป็นต้น เข้ามาช่วยในการจำแนกชนิดของรึ้นน้ำจืด เพื่อใช้คัดเลือกชนิดและสายพันธุ์ของรึ้นน้ำจืดมาใช้ในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหนอนแดงระดับมวล (mass culture) ต่อไปในอนาคต รวมทั้งควรมีการศึกษาและรวบรวมชนิดของรึ้นน้ำจืดชนิดอื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของไทยและภูมิภาค

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชากรรึ้นน้ำจืด สามารถศึกษาจากระยะอื่นๆ ของวงจรชีวิตได้ เช่น ระยะตัวหนอนหรือระยะดักแด้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีการเก็บรวบรวมตัวอย่าง และคู่มือที่ใช้ในการจำแนก เนื่องจากการใช้ตัวเต็มวัยในการจำแนกอาจมีปัญหาที่เกิดจาก ชนิดของตัวอย่างรึ้นน้ำจืดที่เป็น species complex (หมายถึงกลุ่มของชนิดที่เกิดจากบรรพบุรุษเดียวกัน แต่มีลักษณะต่างกัน ได้ที่เกิดจาก reproductive barrier) เช่นเดียวกับยุง โดยเฉพาะรึ้นน้ำจืดในสกุล *Chironomus* ซึ่ง Cranston (2004) กล่าวว่าสกุล *Chironomus* เป็นสกุลรึ้นน้ำจืดที่ใหญ่และจำแนกชนิดได้ยากที่สุด เนื่องจากตัวเต็มวัยมีลักษณะที่คล้ายกันมาก ดังนั้นจำเป็นต้องใช้ criteria อื่นในการจำแนกแทนการใช้ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกดังกล่าวข้างต้น นอกจากนี้ในการศึกษาชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบในแหล่งน้ำอื่นๆ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกชนิดของรึ้นน้ำจืดสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้น ควรระมัดระวังเรื่องชนิดของรึ้นน้ำจืดที่พบซึ่งอาจไม่ใช่หนอนแดงทั้งหมด ซึ่งจากรายงานของ Cranston (2004) ที่กล่าวว่ารึ้นน้ำจืดที่มีระยะตัวหนอนมีชื่อโมโกลินเป็นองค์ประกอบในเลือดได้แก่สกุล *Chironomus* และ *Polypedilum*

2. วงจรชีวิตและการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด

ควรนำความรู้ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล (Molecular Genetic) มาใช้ในการจำแนกชนิดของรึ้นน้ำจืด และควรทำการศึกษาในประเด็นอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวงจรชีวิต และการเพาะพันธุ์รึ้นน้ำจืด เช่น ผลของอุณหภูมิและอาหารทั้งในแง่คุณภาพและปริมาณต่อการเจริญเติบโต การศึกษาศักยภาพ

วิทยาของรึ้นน้ำจืดชนิดอื่นๆ เป็นต้น เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาการเพาะเลี้ยงหนอนแดงแบบหมวลต่อไป

ควรทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการลอกคราบขึ้นจากรึ้นน้ำจืด *Chironomus fuscipes* กับช่วงเวลาในรอบวัน เนื่องจากการสังเกตในห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะแสงธรรมชาติพบว่าส่วนใหญ่ลอกคราบขึ้นจากรึ้นน้ำในช่วงพลบค่ำไปจนกระทั่งเที่ยงคืน แต่ควรทำการศึกษาให้แน่ชัด เพื่อนำไปใช้ในการจัดการพ่อแม่พันธุ์ก่อนนำไปผสมพันธุ์ในกรงเลี้ยงแมลงต่อไป

การศึกษาคความดกของไขรึ้นน้ำจืดจากแหล่งธรรมชาติ ควรทำการศึกษาเปรียบเทียบให้ครอบคลุมถึงฤดูกาลต่างๆ ในรอบปีว่ามีผลต่อความดกของไขหรือไม่ เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ารึ้นน้ำจืดที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีความดกของไขสูงกว่ารึ้นน้ำจืดในธรรมชาติมาก รวมถึงควรทำการศึกษาผลของคุณค่าทางโภชนาการต่างๆ เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เกลือแร่ เป็นต้น ต่อการเจริญเติบโตของหนอนแดงวัยต่างๆ และการเจริญพันธุ์ของตัวเต็มวัยในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ต่อไป

3. อัตราความหนาแน่นในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์

ควรศึกษาเปรียบเทียบการใช้อาหารชนิดอื่นๆรวมถึงสูตรต่างๆ ในการเลี้ยงหนอนแดงเพื่อเป็นพ่อแม่พันธุ์ โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชที่นิยมเพาะเลี้ยงในประเทศไทย เช่น คลอเรลลา เป็นต้น รวมถึงพืชน้ำชนิดต่างๆ เพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต

4. การเก็บรักษาไขรึ้นน้ำจืดและตัวอ่อนหนอนแดงระยะแรกฟัก

การศึกษาเกี่ยวกับการเก็บรักษาไขรึ้นน้ำจืดและหนอนแดงระยะแรกฟักครั้งนี้ เป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้น โดยนำความรู้จากการเก็บรักษาน้ำเชื้อปลามาประยุกต์ใช้ในการทดลอง โดยสารรักษาสภาพเซลล์ที่เลือกมาใช้ในการทดลองนั้น มีการเลือกชนิดของสารที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต เนื่องจากต้องนำหนอนแดงระยะแรกฟักไปใช้เป็นอาหารอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน ในขณะที่ปัจจุบันยังมีสารรักษาสภาพเซลล์ชนิดอื่นๆ ที่ได้รับความนิยมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อของสิ่งมีชีวิต เช่น Dimethyl sulfoxide (DMSO) เป็นต้น แต่สารรักษาสภาพเซลล์ดังกล่าวมีความเป็นพิษ จึงมีขั้นตอนที่ยากในการล้างก่อนนำมาใช้งานทำให้เกิดความยุ่งยาก ดังนั้นหากมีการศึกษาในสารรักษาสภาพเซลล์ชนิดอื่นๆ ควรศึกษาถึงกลไกการทำงานของสารรักษาสภาพเซลล์ในการซึมผ่าน

เยื่อหุ้มเซลล์ โดยมีปัจจัยที่มีผลต่อการยอมให้ผ่านเข้าสู่เซลล์ เช่น ความเป็นกรดเป็นด่างภายนอก เซลล์ ค่า electrochemical membrane potential ของเซลล์ ความเข้มข้นของสารรักษาสภาพเซลล์ เป็นต้น รวมทั้งควรมีการศึกษาถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษา การเก็บรักษาแบบอบแห้ง หรือลดความชื้นในไข่และตัวอ่อน โดยการแช่ในสารละลายบางอย่างเพื่อยับยั้งพัฒนาการของตัวอ่อน ซึ่งวิธีการเหล่านี้ต้องใช้การศึกษาในเชิงลึก เนื่องจากไข่รีนน้ำจืดจะดูดน้ำเข้าสู่เซลล์อย่างรวดเร็ว ภายหลังการวางไข่ รวมทั้งฟักไข่ที่ไม่ถูกวางไข่ลงน้ำก็ยังสามารถมีพัฒนาการต่อไปได้ โดยได้รับน้ำจากวุ้นที่ห่อหุ้มฟักไข่อยู่ แต่อาจจะใช้แนวทางในการเก็บรักษาเม็ดเลือดแดงแบบแห้ง (Fixed-dried red blood cells) เพื่อเก็บรักษาไข่และตัวอ่อนไว้ให้ได้ในปริมาณมากๆ เพื่อการเพาะเลี้ยงหนอนแดงแบบมหวมวลต่อไป ด้วยวิธี freeze drying (lyophilizer)

5. คุณค่าทางโภชนาการและการใช้หนอนแดงระยะแรกฟักในการอนุบาลลูกปลาหมอวัยอ่อน

ควรทำการวิจัยเพิ่มเติมในลูกปลาน้ำจืดชนิดอื่นๆ ที่จำเป็นต้องใช้โรติเฟอร์ในการอนุบาล เช่น ปลาน้ำจืด ปลาบึก เป็นต้น ว่าหนอนแดงระยะแรกฟักสามารถใช้เป็นอาหารมีชีวิตทดแทนการใช้โรติเฟอร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2552. **ข้อมูลสถานะอากาศ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา.** (ไฟล์ข้อมูล).

งานบริการข้อมูล กลุ่มภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, กรุงเทพฯ.

กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2536. **การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลาแบบแช่แข็ง: หลักการ วิธีการ ประโยชน์.**

คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

กำธร โพธิ์ทองคำ. 2514. **ชีววิทยาของปลาหมอไทย.** แผนกทดลองและเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, กองบำรุงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรุงเทพฯ.

ฉวีวรรณ หุตะเจริญ, สุรัชย์ ชลดำรงกุล, วัฒนา ศักดิ์ชูวงศ์ และ ประสิทธิ์ วังภคพัฒน์วงศ์. 2547.

ความหลากหลายทางชีวภาพ. ศูนย์วนเกษตรนานาชาติ, กรุงเทพฯ.

ชัชวาลย์ อินทมนตรี, วราวุธ จอกเงิน, เสี่ยม สังขพิทักษ์ และรัชฎาภรณ์ กิตติวรเชษฐ์. 2538.

การศึกษาชนิด และปริมาณของสัตว์หน้าดิน สัตว์เกาะติด และพรรณไม้น้ำในอ่างเก็บน้ำเขื่อนรัชชประภา จ.สุราษฎร์ธานี. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

นิทัศน์ ทิพย์กองลาศ, วราห์ เทพาหุดี, เมธี แก้วเนิน และ กำชัย ลาวัณยวุฒิ. 2551. การศึกษา

ชีววิทยาบางประการของหนอนแดงชนิดต่างๆ ที่พบในบ่อเพาะเลี้ยงไรแดง, น. 32 ใน สุวจน์ ธีรุต, บรรณาธิการ. **รายงานการประชุมมหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธครั้งที่ 1.** มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธ, ตรัง.

_____ และ ศุภมงคล สกุนตราช. 2548. **ผลของความเค็มต่ออัตราการฟักของตัวอ่อนหนอนแดง.**

เอกสารวิชาการฉบับที่ 18/2548 สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ.

นิรมล บุญยสนธิกุล, ยุวพิน เลิศวีระวัฒน์, สุภารัตน์ ตรีเพชรกุล และ ดุษฎี อุดภาพ. 2540.

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสักรหัสจากยีสต์ขนมปัง. ว. สนง. กก. วิจัย ช.

29 (1): 11-25.

นงลักษณ์ สิทธิเจริญชัย. 2541. **ทรีฮาโลสหรือน้ำตาลหืด**. เอกสารวิชาการกองควบคุมอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.

นำชัย เจริญเทศประสิทธิ์, วิรัช จิวแหยม, ลำเนาวัลย์ ข้องสาย และ สอนง เทียบศรี. 2540. ระดับโปรตีนในอาหารและความหนาแน่นที่เหมาะสมในการเลี้ยงปลาหมอไทย (*Anabas testudineus*) ในกระชัง. **แก่นเกษตร** 25 (1): 42-47.

ประวิทย์ สุรนิรนาถ. 2531. **การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำทั่วไป**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พรพรรณ พุ่มพวง. 2547. **การใช้หนอนจิ่วทดแทนโรติเฟอร์และไรแดงในการอนุบาลลูกปลาม้าลายวัยอ่อน (*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan, 1822)**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรรณศรี เชิดชูพันธุ์เสรี. 2522. **การศึกษาอิทธิพลของระดับน้ำที่มีต่อความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์หน้าดินในอ่างเก็บน้ำเขื่อนอุบลรัตน์ จังหวัดขอนแก่น**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พลชาติ ผิวฉะ, ผู้รวบรวม. ม.ป.ป. **ส่วนประกอบของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อสัตว์น้ำ**. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง. (เอกสารไม่ตีพิมพ์)

พลชาติ ผิวฉะ, คงภพ อำพลศักดิ์, ถาวร จินหมึก และชมพูนุช มรรคทรัพย์. 2547. **การเก็บรักษาน้ำเชื้อปลานิลโดยวิธีแช่แข็ง**. สถาบันวิจัยและพัฒนาพันธุ์กรรมสัตว์น้ำ, กรมประมง.

ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2547. **คู่มือปฏิบัติการนิเวศวิทยา**. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ภาณุ เทวรัตน์มณีกุล, วีระ วัชรกรโยธิน, อำนาจ พิภพเลื่อน, สุดาวรรณ ศรีสมชัย และ ทศนีย์ สุขสวัสดิ์. 2527. **การเพาะหนอนแดง**, น. 48-58. ใน **รายงานประจำปี 2527 สถานีพัฒนาการเพาะเลี้ยงปลาจังหวัดปทุมธานี**. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์. 2530. **เกณฑ์คุณภาพน้ำเพื่อการคุ้มครองทรัพยากรสัตว์น้ำจืด**. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

รัตนสุดา ไชยเชษฐ์. 2546. **ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของหนอนแดง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิมล จันทรโรทัย. 2536. พลังงานเพื่อการอยู่รอดของปลา. **วารสารการประมง** 46 (5): 465-470.

วีระ วัชรกรโยธิน, สุจินต์ หนูขวัญ, ทศนีย์ วัชรกรโยธิน และ อรรถพล วงศ์อมฤต. 2546ก.

การอนุบาลลูกปลาหมอไทยด้วยอาหาร 4 สูตรในอัตราการปล่อย 2 อัตรา, น. 27-43 ใน **รายงานประจำปี 2546 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด**. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

_____, _____, _____ และ _____. 2546ข. การอนุบาลลูกปลาหมอไทยด้วยอาหาร 3 สูตร, น. 44-59 ใน **รายงานประจำปี 2546 สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด**. กรมประมง, กรุงเทพฯ.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. **โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศักดิ์ชัย ชูโชติ และ ธาณี พุนดี. 2530. ปัญหาการเลี้ยงปลาหมอไทยในถังไฟเบอร์กลาส. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 5 (3): 36-39.

_____ และ ปวีณา กิจสวัสดิ์. 2534. การเจริญเติบโตของปลาหมอไทยที่เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาส. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 9 (1): 45-51.

สันติชัย รังสิยาภิรมย์ และ อำพร ศักดิ์เสริมฐ. 2547. **ชีววิทยาบางประการของปลาหมอ**. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

สาวิตรี ศีลาเกษ, คาราวรรณ ยุทธรงค์, จูอะดี พงศ์มณีรัตน์, ทศนีย์ ภูมิพัฒน์ และ พิสมัย สมสืบ.

2547. ระดับโปรตีนและพลังงานที่เหมาะสมในอาหารสำหรับปลาหมอ. **วารสารการประมง** 57 (4): 323-330.

สุวดี สุวีระ. 2539. การเปลี่ยนแปลงประชากรโดยการแทนที่ของสัตว์หน้าดินในบึงบอระเพ็ด.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมพงษ์ คุลย์จินดาขบพร. 2531. การเพาะพันธุ์ปลาหมอไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท,

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

_____. 2542. การเพาะเลี้ยงปลาหมอไทย. ภาควิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สมโภชน์ อัคระทวิวัฒน์. 2523. **ครอบครัวปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าของไทย**. เอกสารวิชาการฉบับที่

5/2523 สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ กองประมงน้ำจืด กรมประมง, กรุงเทพฯ.

อนุสรณ์ ฤทธาคนี. 2523. **สัตว์หน้าดินในอ่างเก็บน้ำบางพระอำเภอสรีราชา จังหวัดชลบุรี**.

วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และ บุษกร บำรุงธรรม. 2543. **อาหารปลาสวยงาม**. เอกสารเผยแพร่ฉบับ

ที่ 1/2543 สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ กรมประมง, กรุงเทพฯ.

Abul-Nasr, S., A.L. Isa., M.T. Kira and A.M. EI-Tantawy. 1970. Biological studies on the blood worms, *Chironomus* sp. injurious to rice seedlings in U.A.R. (Diptera: Chironomidae).

Bull. Soc. Entomol. Egypt 54: 381-388.

Agnew, P., M. Hide, C. Sidobre and Y. Michalakis. 2002. A minimalist approach to the effects of density-dependent competition on insect life-history traits. **Ecological Entomology**

27 (4): 396-402.

- Ali, A. 1986. Attraction of some adult midges (Diptera: Chironomidae) of Florida to artificial light in the field. **Florida Entomologist** 69 (4): 644-650.
- _____. 1990. Seasonal changes of larval food and feeding of *Chironomus crassicaudatus* (Diptera: Chironomidae) in a subtropical lake. **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 6 (1): 84-88.
- _____. 1995. Nuisance, economic impact and possibilities for control, pp. 339-364. In P.D. Armitage, P.S. Cranston and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-biting Midges**. Chapman & Hall, New York.
- _____, B.H. Stanley and P.K. Chauhuri. 1986. Attraction of some adult midges (Diptera: Chironomidae) of Florida to artificial light in the field. **Fla. Entomol.** 69: 644-650.
- _____ and R.C. Fowler. 1985. A natural decline of pestiferous chironomidae (Diptera) populations from 1979 to 1984 in an urban area of central Florida. **Florida Entomologist** 68 (2): 304-311.
- _____, J. Frouz, and R.J. Lobinske. 2002. Spatio-temporal effects of selected physio-chemical variables of water, algae, and sediment chemistry on larvae community of nuisance Chironomidae (Diptera) in a natural and a man-made lake in central Florida. **Hydrobiologia** 470: 181-193.
- _____ and _____. 1978. Chironomid population changes in an intermittent water spreading system. **Mosquito News** 38 (3): 386-392.
- _____ and _____. 1979. Diel periodicity of eclosion of adult chironomid midges in a residential-recreation lake. **Mosquito News** 39 (2): 360-364.

- Ali, A, _____, B.A. Federici and F.W. Pelsue. 1977. Seasonal changes in chironomid fauna and rainfall reducing chironomids in urban flood control channels. **Environ. Entomol.** 6: 619-622.
- _____, G. Ceretti, L. Barbato, G. Marchese, F. D'andrea and B. Stanley. 1994. Attraction of *Chironomus salinarius* (Diptera: Chironomidae) to artificial light on an island in the saltwater lagoon of Vanice, Italy. **Journal of the American Mosquito Control Association** 10 (1): 35-41.
- _____, R.J. Lobinske and P.K. Chaudhuri. 1996. Long-term (1980-94) population trends of pestiferous Chironomidae (Diptera) along a lakefront in central Florida. **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 12 (1): 106-111.
- _____, S.R. Stafford and R.C. Fowler. 1984. Attraction of adult Chironomidae (Diptera) to incandescent light under laboratory conditions. **Environmental Entomology** 13: 1004-1009.
- American Society for Testing Materials. 2000. **Standard Guide for Collection, Storage, Characterization, and Manipulation of Sediments for Toxicological Testing.** E 1706. American Society for Testing Materials, Philadelphia.
- Anbaya Almalul, M.A. 2000. **Effect of Temperature and Density on Storage Characteristics of Artemia nauplii.** M.S. Thesis, Ghent University.
- Anderson, J.F. and S.W. Hitchcock. 1968. Biology of *Chironomus atrella* in a tidal cove. **Ann. Entomol. Soc. Am.** 61: 1597-1603.
- Anderson, N.H. and A.S. Cargill. 1987. Nutritional ecology of aquatic detritivorous insects, pp. 903-925. In F. Slansky Jr. and J.G. Rodriguez, eds. **Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders, and Related Invertebrates.** John Wiley & Sons, New York.

- Angell, C.A. and E.J. Sare. 1970. Glass-forming composition regions and glass transition temperatures for aqueous electrolyte solutions. **Journal of Chemical Physics** 52: 1058-1068.
- Ansorge, J. 1999. *Aenne liasina* gen. et sp. n. the most primitive non biting midge (Diptera: Chironomidae: Aenneinae subfam. n.): from the Lower Jurassic of Germany. **Polskie Pismo Entomologiczne** 68 (4): 431-443.
- AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis of International**. 17th eds. Association of official analytical chemists international. Gaithersburg, MD, USA.
- _____. 2005. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 18th eds. Association of official analytical chemists international. Gaithersburg, MD, USA.
- Arav, D. and L. Blaustein. 2006. Effects of pool depth and risk of predation on oviposition habitat selection by temporary pool dipterans. **J. Med. Entomol.** 43 (3): 493-487.
- Armitage, P. 1995. Behavior and ecology of adults, pp. 194-224. In **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges**. Chapman and Hall, London.
- Armitage, P., P.S. Cranston and L.C.V. Pinder. 1995. **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges**. Chapman and Hall, London.
- Ashe, P., D.A. Murray and F. Reiss. 1987. The zoogeographical distribution of Chironomidae (Insecta: Diptera). **Annales de Limnologie** 23: 27-60.
- Atameda County Mosquito Abatement. n.d. **Midge life cycle**. Midge. Available Source: <http://www.mosquitoes.org/Midge.html>, December 22, 2007.

Awad, S., P.A. Simon and N.L. Dileep. 2008. The history of 0.9% saline. **Clinical nutrition** 27 (2): 179–188.

Babrekar, A.A., G.R. Kulkarni, B.B. Nath and P.B. Vidyasagar. 2004. Extracellular electrical activity from the photoreceptors of midge. **Journal of Biosciences** 29 (3): 349-353.

Ball, S.L. and R.L. Baker. 1995. The non-lethal effects of predators and the influence of food availability on life history of adult *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). **Freshwater Biology** 34 (1): 1–12.

Basavaraja, N. and S.N. Hegde. 2004. Cryopreservation of the endangered mahseer (*Tor khudree*) spermatozoa: 1. Effect of extender composition, cryoprotectants, dilution ratio, and storage period on post-thaw viability. **Cryobiology** 49 (2): 149-156.

Benaroudi, N., D.H. Lee and A.L. Goldberg. 2001. Trehalose accumulation during cellular stress protects cells and cellular proteins from damage by oxygen radicals. **J. Biol Chem.** 276 (26): 24261-24267.

Berg, M.B. 1995. Larval food and feeding behavior, pp. 136-168. In P.D. Armitage, P.S. Cranston and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges**. Chapman and Hall, London.

Best, B. 1990. **Vitrification in cryonics**. Welcome to the world of Ben Best. Available Source: <http://www.benbest.com/cryonics/vitrify.html#sugars>, March 25, 2009.

_____. 1971. Effect of diet and competition in laboratory rearing of chironomid midges. **Ann. Entomol. Soc. Amer.** 64: 1166-1169.

Block, W. 1990. Cold tolerance of insects and other arthropods. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.** 326: 613-633.

- Bolla, S. and I. Holmefjord. 1988. Effect of temperature and light on development of Atlantic halibut larvae. **Aquaculture** 74: 355-358.
- Bonner, J.T. 1965. **Size and Cycle: an Essay on the Structure of Biology**. Princeton University Press.
- Boyd, C.E. 1990. **Water Quality in Ponds for Aquaculture**. Birmingham Publishing Co., Alabama.
- Branch, H.E. and K. Wichita. 1923. The life history of *Chironomus cristatus* Fabr. with descriptions of the species. **J. N. Y Entomol. Soc.** 31: 15-30.
- Briegel, H. 1990. Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. **J. Insect Physiol.** 36: 165-172.
- Brotas, V., A. Amorim-Ferreira, C. Vale and F. Catarino. 1990. Oxygen profiles in intertidal sediments of Ria Formosa (S. Portugal). **Hydrobiologia** 207: 123-130.
- Burt, E.T., R.J.O. Perry and A.J. McLachlan. 1986. Feeding and sexual dimorphism in adult midges (Diptera: Chironomidae). **Holarctic Ecology** 9: 27-32.
- Butler, M.G. 1982. A 7-year life cycle of two *Chironomus* species in arctic Alaskan tundra ponds (Diptera: Chironomidae). **Can. J. Zool.** 60: 58-70.
- Cargill, A.S. 1984. **The Role of Lipids in the Nutrition of Shredding Aquatic Insects**. Ph.D. Thesis, Oregon State University.
- Caspers, H. 1951. Rhythmische erscheinungen in der fortpflanzung von *Clunio marinus* (Dipt., Chiron.) und das problem der lunaren periodizitat. **Arch. Hydrobiol.** 18: 415-594.

- Chaloner, D.T. and R.S. Wotton. 1996. Tube building by larvae of 3 species of midge (Diptera:Chironomidae). **Journal of the North American Benthological Society** 15 (3): 300-307.
- Charles, S., M. Ferreol, A. Chaumot and A.R.R. Pery. 2004. Food availability effect on population dynamics of the midge *Chironomus riparius*: a Leslie modeling approach. **Ecological Modelling** 175: 217-229.
- Clarke, A. 1991. What is cold-adaptation and how should we measure it? **American Zoologist** 31: 81-92.
- Chubachi, R. 1979. An analysis of the generation-mean life table of the mosquito, *Culex tritaeniorhynchus summorosus*, with particular reference to population regulation. **Journal of Animal Ecology** 48 (3): 681-702.
- Cobet, P.S. 1964. Temporal patterns of emergence in aquatic insects. **Can. Entomol.** 96: 264-297.
- Coffman, W.P. 1995. Conclusions, pp. 436-477. In P.D. Armitage, P.S. Cranston and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges**. Chapman and Hall, London.
- _____ and L.C. Ferrington, Jr. 1996. Chironomidae, pp. 635-754. In R.W. Merritt, and K.W. Cummins, eds. **An Introduction to the Aquatic Insects of North America**. 3rd ed. Kendall/Hunt Publishing Company, Iowa.
- Conlon, J.M., K. Yano, N. Chartrel, H. Vaudry and K.B. Storey. 1998. Freeze tolerance in the wood frog *Rana sylvatica* is associated with unusual structural features in insulin but not in glucagon. **Journal of Molecular Endocrinology** 21: 153-159.

- Connolly N.M., M.R. Crossland and R.G. Pearson. 2004. Effect of low dissolved oxygen on survival, emergence, and drift of tropical stream macroinvertebrates. **J. N. Am. Benthol. Soc.** 23 (2): 251-270.
- Cranston, P.S. 1995. Morphology, pp. 11-30. *In* P.D. Armitage, P.S. Cranston and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: The Biology and Ecology of Non-Biting Midges.** Chapman and Hall, London.
- _____. 2004. Insecta: Diptera, Chironomidae, pp. 711-735. *In* C.M. Yule and H.S. Yong, eds. **The Freshwater Invertebrates of Malaysia and Singapore.** Academy of Sciences, Malaysia.
- _____. 2007. The Chironomidae larvae associated with the Tsunami-impacted waterbodies of the coastal plain of southwestern Thailand. **The Raffles Bulletin of Zoology** 55 (2): 231-244.
- _____, M.O. Gad el Rab and A.B. Kay. 1981. Chironomid midges as a cause of allergy in the Sudan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene** 75: 1-4
- _____, and U. Nolte. 1996. *Fissimentum*, a new genus of drought tolerant Chironomini (Diptera-Chironomidae) from the America and Australia. **Entomological News** 107: 1-15.
- Crowe, J.H., L.M. Crowe and D. Chapman. 1984a. Preservation of membrane in anhydrobiotic organisms : the role of trehalose. **Science** (223): 701-703.
- _____, J.F. Carpenter and L.M. Crowe. 1998. The role of vitrification in anhydrobiosis. **Annual Review of Physiology** 60: 73-103.

- Crowe, L.M., R. Mouradian, S.A. Jackson and C. Womersley. 1984b. Effects of carbohydrates on membrane stability at low water activities. **Biochimica et Biophysica Acta** (769): 141-150.
- Cure, V. 1985. Chironomidae (Diptera-Nematocera) aus Rusanien unter besonderer Beruecksichtigung jener aus dem hydrographischen Einzugsgebiet der Donau. **Arch. Hydrobiol. Suppl.** 68: 163-217.
- Danks, H.V. 1978. Some effects of photoperiod, temperature, and food on emergence in three species of Chironomidae (Diptera). **Canadian Entomologist** 110: 289-300.
- _____. 1996. Long life cycles in insects. **Canad. Ent.** 124: 167-187.
- _____. 2006. Short life cycles in insects and mites. **Can. Entomol.** 138: 407-463.
- Dawson, T.D., J.J. Jenson and T.J. Norberg-King. 2000. Laboratory culture of *Chironomus tentans* for use in toxicity testing: Optimum initial egg-stocking densities. **Hydrobiologia** 438: 251-256.
- Day, J.F., A.M. Ramsey and J.T. Zhang. 1990. Environmentally mediated seasonal variation in mosquito body size. **Environ. Entomol.** 19: 469-473.
- De Haas, M.E., C. Wagner, A.A. Koelmans, M.H.S. Kraak and W. Admiraal. 2006. Habitat selection by chironomid larvae: fast growth requires fast food. **Journal of Animal Ecology** 75 (1): 148-155.
- De la Noue, J. and G. Choubert. 1985. Apparent digestibility of invertebrate biomasses by rainbow trout. **Aquaculture** 50 (17): 103-112.

Department of Environment Quality Promotion. 2009. **Surface Water Quality Standards and**

Criteria. Environmental Laws. Available Source:

<http://www.deqp.go.th/regulation/12413.php>, December 28, 2009.

Dhert, P., G. Rombaut, G. Suantika and P. Sorgeloos. 2001. Advancement of rotifer culture and manipulation techniques in Europe. **Aquaculture** 200 (1-2): 129-146.

DMSc and ACFS. 2003. **Compendium of Methods for Food Analysis.** 1st ed. Department of Medical Sciences (DMSc) and National Bureau of Agricultural Commodity and Food Standard (ACFS), Bangkok.

Doolgindachbaporn, S. 1994. **Development of Optimal Rearing and Culturing Systems for Climbing Perch, *Anabas testudineus* (Bloch) (Perciformes, Anabantidae).**

Ph.D. thesis, University of Manitoba.

Ducrot, V., A.R.R. Pary, R. Mons and J. Garric. 2004. Energy-based modeling as a basis for the analysis of reproductive data with the midge (*Chironomus riparius*). **Environmental Toxicology and Chemistry** 23 (1): 225-231.

Dudgeon, D. 1999. **Tropical Asian Stream: Zoobenthos, Ecology and Conservation.**

Hong Kong University Press, Hong Kong.

Duman, J.G., K.L. Horwarth, A. Tomchaney and J.L. Patterson. 1982. Antifreeze agents of terrestrial arthropods. **Comp. Biochem. Physiol.** 73 (4): 545-555.

Eller, G., P. Deines, J. Grey, H. Richnow and M. Krüger. 2005. Methane cycling in lake sediments and its influence on chironomid larvae $\delta^{13}\text{C}$. **FEMS Microbiology Ecology** 54 (3): 339-350.

- Elliott, J.M. 1967. The life histories and drifting of the Plecoptera and Ephemeroptera in a Dartmoor Stream. **J. Anim. Ecol.** 36: 343-361.
- Fischer, J. 1969. Zur Fortpflanzungsbiologie von *Chironomus nautarsis* Str. **Rev. Suisse. Zool.** 76: 23-55.
- Fittkau, E.J. 1965. Revision der von E. goeldi aus dem Amazonasgebiet beschriebenen Chironomiden (Diptera), chironomidenstudien X. **Beitr. Neotrop. Fauna** 4: 209-226.
- Fonseca, A.L. and O. Rocha. 2004. Laboratory cultures of the native species *Chironomus xanthus* Rempel, 1939 (Diptera-Chironomidae). **Acta Limnol. Bras.** 16 (2): 153-161.
- Froese, R. and D. Pauly. 2009. **Climbing perch *Anabas testudineus* (Bloch, 1792)**. Fishbase. Available Source: <http://www.fishbase.org/Summary/SpeciesSummary.php?id=495>, March 12, 2009.
- Frouz, J, A. Ali and R.J. Lobinske. 2002a. Suitability of morphological parameters for instar determination of pestiferous midges *Chironomus crassicaudatus* and *Glyptotendipes paripes* (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions. **Journal of the American Mosquito Control Association** 18 (3): 222-227.
- _____, _____ and _____. 2002b. Influence of temperature on developmental rate, wing length, and larval head capsule size of pestiferous midge *Chironomus crassicaudatus* (Diptera: Chironomidae). **Journal of Economic Entomology** 95 (4): 699-705.
- _____, _____ and _____. 2004. Algal food selection and digestion by larvae of the pestiferous chironomid *Chironomus crassicaudatus* under laboratory conditions. **Journal of the American Mosquito Control Association** 20 (4): 458-461.

- Frouz, J, R.J. Lobinske and A. Ali. 2008. Intraspecific competition of *Glyptotendipes paripes* (Diptera: Chironomidae) larvae under laboratory conditions. **Aquatic Ecology** (in press)
- Fuentes, C., A.J. Green, J. Orr and J.S. Olafsson. 2005. Seasonal variation in species composition and larval size of the benthic chironomid communities in brackish wetlands in southern Alcante, Spain. **Wetlands** 25 (2): 289-296.
- Goldfinch, A.C. and K.R. Carman. 2000. Chironomid grazing on benthic microalgae in a Louisiana Salt Marsh. **Estuaries** 23 (4): 536-547.
- Google Earth. 2009. **Inland Aquaculture Research Institute, Ayutthaya**. Google Earth. Available Source: <http://earth.google.com>, January 12, 2009.
- Graye, B. and J. Mindel. 2001. **Effects of Valproic Acid on the Somitic Development of Danio rerio**. DB Lab. Available Source: http://www.swarthmore.edu/NatSci/sgilber1/DB_lab/Student/VPA/fish_vpa01.html, July 25, 2009.
- Habib, M.A.B., F.M. Yusoff, S.M. Phang, K.J. Ang and S. Mohamed. 1997. Nutritional values of chironomid larvae grown in palm oil mill effluent and algal culture. **Aquaculture** 158 (1-2): 95-105.
- _____, M.M. Ali and N. Dey. 1992. Culture of chironomid larvae in artificial medium. **Bangladesh J. Fish** 10: 63-70.
- Halpern, M., A. Gasith and M. Broza. 2002. Does the tube of a benthic chironomid larva play a role in protecting its dweller against chemical toxicants? **Hydrobiologia** 470: 49-55.

- Hanson, B.J., K.W. Cummins, A.S. Cargill and R.R. Lowry. 1983. Dietary effects on lipid and fatty acid composition of *Clistoronia magnifica* (Trichoptera: Limnephilidae). **Freshwat. Invert. Biol.** 2: 2-15.
- Hare, L. and J.H.C. Carter. 1987. Chironomidae (Diptera: Insecta) from the environs of a natural West African lake. **Entomologica Scandinavica Supplements** 29: 65-74.
- Haramis, L.D. 1983. Increased adult size correlated with parity in *Aedes triseriatus*. **Mosq. News** 43: 77-79.
- Hashimoto, H. 1957. Peculiar mode of emergence in the marine chironomid *Chunio*. **Sci. Rep. Tokyo Kuoiku Daigaku, Sect. A.** 8: 177-226.
- _____, T. Wongsiri, N. Wongsiri, C. Tirawat, A. Lewvanich and K. Yasamatsu. 1981. Chironomidae from rice fields of Thailand with descriptions of 7 new species. **Tech. Bull., Ent. Zool. Div.** 7: 1-47.
- Hatakeyama, S. 1988. Chronic effects of Cu on reproduction of *polypedilum nubifer* (Chironomidae) through water and food. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 16 (1): 1-10.
- Henrickson, L., J. Olafsson and H. Oscarsson. 1982. The impact of acidification on Chironomidae (Diptera) as indicated by subfossil stratification. **Hydrobiologia** 86: 223-229.
- Hilker, M. and T. Meiners. 2002. **Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition.** Blackwell Publishing, London.
- Hirabayashi, K. and R.S. Wotton. 1999. Organic matter processing by chironomid larvae (Diptera: Chironomidae). **Hydrobiologia** 382: 151-159.

Hollingsworth, J.P. 1961. Relation of wavelength to insect response. **U.S. Dep. Agric. Res. Serv.** 20 (10): 9-25.

Honek, A. 1993. Intraspecific variation in body size and fecundity in insects: a general relationship. **Oikos** 66: 483-492.

Houseman, R.M. 2005. **Chironomid midge**. University of Missouri Extension.
Available Source: <http://extension.missouri.edu/publications/DisplayPub.aspx?P=g7402>,
August 7, 2009.

Humphries, C.F. 1938. The Chironomid fauna of the Grosser Ploner See, the relative density of its members and their emergence period. **Archiv fur Hydrobiologie** 33: 535-548.

Ikeshoji, T. 1973. Overcrowding factors of chironomid larvae. **Jpn. J. Sanit. Zool.** 24: 149-153.

_____. 1974. Isolation and identification of the overcrowding factors of chironomid larvae. **Jpn. J. Sanit. Zool.** 24: 201-206.

Jackson, J.K. and B.W. Sweeney. 1995. Egg and larval development times for 35 species of tropical stream insects from Costa Rica. **J. North. Am. Benthol. Soc.** 14: 115-130.

Johannsson, O.E. 1980. Energy dynamics of eutropic chironomid *Chironomus plumosus* f. *semireductus* from the bay of Quinte Lake Ontario. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.** 37: 1254-1265.

Kalina, T., I. Zabova and S. Hilgard. 1993. The spectroscopy of the acetoresistant cell wall biopolymers of *Aureochlorella protothecoides*, *Scenedesmus quadricauda* and *Chlamidomonas geitleri* zygospores (Chlorophyta). **Arch. Hydrobiol. Suppl.** 96: 65-77.

- Kari, J.S., R.B. Huey. 2000. Size and seasonal temperature in free ranging *Drosophila subobscura*. **J. Thermal Biol.** 25: 267-272.
- Kawai, K. and K. Konishi. 1986. Fundamental studies on chironomid allergy I. Culture methods of some Japanese chironomids (Chironomidae, Diptera). **Japanese Journal of Sanitary Zoology** 37: 47-57.
- Kikawada, T., N. Minakawa, M. Watanabe and T. Okuda. 2005. Factors inducing successful anhydrobiosis in the African chironomid *Polypedilum vanderplanki*: significance of the larval tubular nest. **Integr. Comp. Biol.** 45: 710-714.
- _____, A. Saito, Y. Kanamori, Y. Nakahara, K. Iwata, D. Tanaka, M. Watanabe and T. Okuda. 2007. Trehalose transporter 1, a facilitated and high-capacity trehalose transporter, allows exogenous trehalose uptake into cells. **PNAS** 104 (28): 11585-11590.
- Kiyashko, S.I., A.B. Imbs, T. Narita, V.I. Svetashev and E. Wada. 2004. Fatty acid composition of aquatic insect larvae *Stictochironomus pictulus* (Diptera: Chironomidae): evidence of feeding upon methanotrophic bacteria. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology** 139 (4): 705-711.
- Kohinoor, A.H.M., M.Z. Haque and M.H. Osmani. 1995. Food size preferences of the climbing perch, *Anabas testudineus* Bloch and the African catfish, *Clarias gariepinus* Burchell larvae. **Bangladesh J. Zool.** 23 (2): 159-166.
- Konstantinov, A.S. 1952. Poluproizvodstvennoe razvedenie lichinok khironomid (Semicommercial propagation of chironomid larvae). **Rybnoje Khoziajstvo** 1: 31-33.
- _____. 1954. Opyt poluproizvodstvennogo razvedeniya motylya (An experience in semicommercial midge propagation). **Rybnoje Khoziajstvo** 11: 41-43.

Konstantinov, A.S. 1958a. The effect of temperature on growth rate and development of chironomid larvae. **Dokl. Akad. Nauk. SSSR** 120: 1362-1365.

_____. 1958b. On the growth type of chironomid larvae. **Dokl. Akad. Nauk. SSSR** 120: 1151-1154.

Kosalwat, P. 1985. **Culture of *Chironomus decorus* (Diptera: Chironomidae) and the Effects of Temperature and Copper on their Life History (Chronic, Toxicity, Acute, Midge, Bound-Copper)**. Ph.D. Thesis, University of California.

Kuronuma, K. and Y. Fukusho. 1984. Rearing of marine fish larvae in Japan. **IDRC-TS** 47: 25-30.

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

LaMungon, C.W. and T. Eisner. 1993. Postcopulatory sexual selection in an arctiid moth (*Utetheisa ornatrix*). **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 90: 4689-4692.

Lanciani, C.A. 1992. Photoperiod and the relationship between wing length and body weight in *Anopheles quadrimaculatus*. **J. American Mosq. Control Assoc.** 8: 297-300.

Leardburoos, P. 2001. **Benthic Fauna in Tha Thung Na Reservoir, Kanchanaburi Province**. M.S. Thesis, Kasetsart University.

Learner, M., R. Wiles and J. Pickering. 1990. Diel emergence patterns of chironomids. **Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie** 75: 569-581.

Legendre, P. and L. Legendre. 1998. **Numerical ecology**. Elsevier, Amsterdam.

- Leger, P., P. Vanhaecke and P. Sorgeloos. 1983. International study on *Artemia*. XXIV. Cold storage of live *Artemia* nauplii from various geographical sources: Potential and limits in aquaculture. **Aquacultural Engineering** 2: 69-78.
- Leppanen, M.T., T. Ristola, J. Johnson and G.A. Burton, Jr. 2006. Applying adult emergence as an endpoint in a post-exposure laboratory test using two midge species (Diptera: Chironomidae). **Chemosphere** 64: 1667-1674.
- Lesage, L., and A.D. Harrison. 1979. Improved traps and techniques for the study of emerging aquatic insects. **Ent. News** 90: 65-78.
- Lobinske, R.J., A. Ali and J. Frouz. 2002. Laboratory estimation of degree-day developmental requirements of *Glyptotendipes paripes* (Diptera: Chironomidae). **Environ. Entomol.** 31 (4): 608-611.
- Lugwig, J.A. and J.F. Reynolds. 1988. **Statistical Ecology: A Primer on Methods and Computing**. John Wiley and Sons inc, New York.
- Lurling, M. 2003. Effects of microcystin-free and microcystin containing strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on growth of the grazer *Daphnia magna*. **Environ. Toxicol. Chem.** 18: 202-210.
- _____. and E. Van der Grinten. 2003. Life-history characteristics of *Daphnia* exposed to dissolved microcystin-LR and to the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* with and without microcystins. **Environ. Toxicol. Chem.** 22: 1281-1287.
- Macchiusi, F. and R.L. Baker. 1992. Effects of predators and food availability on activity and growth of *Chironomus tentans* (Chironomidae: Diptera). **Freshwat. Biol.** 28: 207-216.

- Macdonald, W.W. 1956. Observations on the biology of chaoborids and chironomids in Lake Victoria and on the feeding habits of the elephant snout fish *Mormyrus kannume* Forsk. **Journal of Animal Ecology** 25: 36-53.
- Maeda, M. and K. Yano. 1987. Sex ratio of *Chironomus kiiensis* Tokunaga (Diptera: Chironomidae). **Chogoku Knotyu** (1): 17-19.
- _____ and _____. 1988. Biology of *Chironomus kiiensis* (Diptera: Chironomidae). **Bull. Fac. Agric. Yamaguchi Univ.** 36: 31-47.
- Magnum, C.L. and P.S. Callahan. 1968. Attraction of near-infrared radiation on *Aedes aegypti* (Linnaeus). **Ibid.** 61: 36-37.
- Magurran, A.E. 1988. **Ecological Diversity and Its Measurement**. Princeton University Press, New Jersey.
- Mangklamane, J. 1986. Culturing of climbing perch by fishermen. **Thai Fisheries Gazette** 1(6): 31-32.
- Margalef, R. 1958. Information theory in ecology. **Gen Syst.** 3: 36-71.
- Matena, J. 1990. Succession of *Chironomus* Meigen species (Diptera: Chironomidae) in newly filled ponds. **Int. Rev. Ges. Hydrobiol.** 75: 45-57.
- McFarlane, A. and D.S. McLusky. 1972. The oxygen consumption of chironomid larvae from Loch Leven in relation to temperature. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology** 43 (4): 991-1001.

- Mckie G.B. 2004. Disturbance and investment: developmental responses of tropical lotic midges to repeated tube destruction in the juvenile stages. **Ecological Entomology** 29 (4): 457–466.
- McLachlan, A. J. 1977. Some effects of tube shape on the feeding of *Chironomus plumosus* L. (Diptera: Chironomidae). **Journal of Animal Ecology** 46 (7): 139-146.
- _____. 1983. Life-history tactics of rain pool dwellers. **J. Anim. Ecol.** 52: 545-561.
- _____, J.L. Pearce and J.A. Smith. 1979. Feeding interactions and cycling of peat in a bog lake. **Journal of Animal Ecology** 48: 851-861.
- McLarney, W.O., S. Henderson and M.M. Sherman. 1974. A new method for culturing *Chironomus tentans* Fabricious. **Aquaculture** 4: 267-276.
- Menzie, C.A. 1980. The chironomid (Insecta: Diptera) and other fauna of a *Myriophyllum spicatum* L. plant bed in the lower Hudson river. **Estuaries** 3 (1): 38-54.
- Miall, L.C. and A.R. Hammond. 1892. The development of the head of the imago of *Chironomus*. **Trans. Linn. Soc. Zool.** 5: 265-279.
- Morgan, N.C. and A.B. Waddell. 1961. Diurnal variation in the emergence of some aquatic insects. **Trans. Roy. Entomol. Soc. London** 113: 123-137.
- Moubayed, Z. 1990. Chironomids from running waters of Thailand: description of *Rheotanytarsus thailandensis* sp.n. and *Tanytarsus thaicus* sp.n. (Diptera: Chironomidae) **Hydrobiologia** 203 (1-2): 29-33.
- Narita, T., S. Kondo, A. Sugimoto, S.I. Kiyashiko and E. Wada. 2003. Chironomid larvae eating methane. **Acta** 67 (2003): Abstract No. A332.

- Nasci, R.S. 1986. Relationship between adult mosquito (Diptera: Culicidae) body size and parity in field populations. **Environ. Entomol.** 15: 874-876.
- Neems R.M, J. Lazarus and A.J. Mclachlan. 1992. Swarming behavior in male chironomid midges: a cost-benefit analysis. **Behavioral Ecology** 3: 285-290.
- _____, _____ and _____. 1998. Lifetime reproductive success in a swarming midge: trade-offs and stabilizing selection for male body size. **Behavioral Ecology** 9 (3): 279-286.
- Nielsen, E.T. 1959. Copulation of *Glyptotendipes (Phytotendipes) paripes* Edwards. **Nature** 184: 1252-1253.
- _____. 1962. Contributions to the ethology of *Glyptotendipes (Phytotendipes) paripes* Edwards. **Oikos** 13: 48-75.
- Nolte, U. 1995. From egg to imago in less than seven days: *Apedilum elachistum* (Chironomidae), pp. 177-184. In P.S. Cranston, ed. **Chironomids: From Genes to Ecosystem**. CSIRO Publications, Collingwood, Australia.
- NRC. 1983. **Risk assessment in the federal government: Managing the process**. National Academy Press, Washington, DC.
- Oliver, D.R. 1968. Adaptations of Arctic Chironomidae. **Ann. Zool. Fenn.** 5: 111-118.
- _____. 1971. Life history of the Chironomidae. **Annu. Rev. Entomol.** 16: 211-230.
- Oosterbroek, P. 1998. **The families of Diptera of the Malay Archipelago (Fauna Malesiana Handbook 1)**. Brill, Leiden.

Palmen, E. 1958. Diel periodicity of pupal emergence in some North European chironomids.

Proc. Xth. Int. Congr. Entomol 2: 219-224.

Peck, M.R., D.A. Klessa and D.J. Baird. 2002. A tropical sediment toxicity test using the dipteran *Chironomus crassiforceps* to test metal bioavailability with sediment pH change in tropical acid-sulfate sediments. **Environ. Toxicol. Chem.** 21: 720-728.

Peterson, A. 1960. **Larvae of Insects: An Introduction to Nearctic Species**. Edwards Brothers, London.

Pinder, A.M., K.M. Trayler, J.W. Mercer, J. Arena and J.A. Davis. 1993. Diel periodicities of adult emergence of some chironomids (Diptera: Chironomidae) and a mayfly (Ephemeroptera: Caenidae) at a Western Australia wetland. **Journal of the Australian Entomological Society** 32: 129-135.

Pinder, L.C.V. 1995. Biology of the eggs and first-instar larvae. pp. 86-106. In P. Armitage, P.S. Cranston and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-biting Midges**. Chapman & Hall, New York.

Prosser, C.L. 1961. **Comparative Animal Physiology**. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Provost, M.W. and N. Branch. 1959. Food of chironomid larvae in Polk County lakes.

Fla. Entomol. 42: 49-62.

Pukazhenth, B., R. Spindler, D. Wildt, L.M. Bush and J. Howard. 2002. Osmotic properties of spermatozoa from fields producing different proportions of pleiomorphisms: influence of adding and removing cryoprotectant. **Cryobiology** 44 (3): 288-300.

Richards, O.W. and R.G. Davies. 1977. **A General Textbook of Entomology**. Chapter & Hall, London.

Ringer, S. 1887. Regarding the action of lime, potassium and sodium salts on skeletal muscle.

Journal of Physiology 8: 20.

Ristola, T., P. Puokola, M. Ruokola, A. Kostamo and J.V.K. Kukkonen. 1999. Effect of sediment type, feeding level, and larval density on growth and development of a midge (*Chironomus riparius*). **Environ. Toxicol. Chem.** 18: 756-764.

Rodriguez, V. 1994. Function of the spermathecal muscle in *Chelymophra alternans* Boheman (Coleoptera: Chrysomelidae: Cassidinae). **Physiol Entomol** 19: 198-202.

Saether, O.A. 1979. Chironomid communities as water quality indicators. **Holarct. Ecol.** 2: 65-74.

Sanina, N.M., S.N. Goncharova and E.Y. Kostetsky. 2004. Fatty acid composition of individual polar lipid classes from marine macrophytes. **Phytochemistry** 65: 721-730.

Sankarperumal, G. and T.J. Pandian. 1991. Effect of temperature and Chlorella density on growth and metamorphosis of *Chironomus circumdatus* (Kieffer) (Diptera). **Aquat. Insects** 13: 167-177.

Sasa, M., and M. Kikuchi. 1995. **Chironomidae (Diptera) of Japan**. Univ. of Tokyo Press, Tokyo.

_____ and N. Tanaka. 1999. Study on the new species of chironomids collected with light traps at the side of Ino River, Gunma Prefecture. **Annual Report of Gunma Prefectural Institute of Public Health and Environmental Sciences** 31: 38-40.

Seward, R.M. 1980. **A Study of Fecundity in the Chironomidae, with Emphasis on Intra- and Inter-Specific Variability in Primary Follicle Number**. Ph.D. thesis, University of Pittsburgh.

- Shaw P.C. and K.K. Mark. 1980. Chironomid farming — A means of recycling farm manure and potentially reducing water pollution in Hong Kong. **Aquaculture** 21 (2): 155-163.
- Shimada, Y.O. and C.X. Pan. 1991. Cold-hardiness of the Antarctic winged midge *Parochlus steinenii* during the active season at King George Island. **Polar Biology** 11 (5): 311-314.
- Sibley, P.K., G.T. Ankley and D.A. Benoit. 2001. Factors affecting reproduction and the importance of adult size on reproductive output of the midge *Chironomus tentans*. **Environ. Toxicol. Chem.** 20 (6): 1296-1303.
- Sinclair, J.B., A. Addo-Bediako and S.L. Chown. 2003. Climatic variability and the evolution of insect freeze tolerance: Article Review. **Biological Reviews** 78: 181-195.
- Smith, H.M. 1945. **The Fresh-water Fish of Siam or Thailand**. Smithsonian Institution United States National Museum.
- Sola-Penna, M., J.R. Meyer-Fernandes. 1998. Stabilization promoted by sugars on enzyme structure and function against thermal inactivation: Why is trehalose more effective than other sugars? **Archives of Biochemistry and Biophysics** 360: 10-14.
- Sorensen, A.A. Jr. 1979. **Animal Reproduction, Principles and Practices**. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York.
- Spies, M. and F. Reiss. 1996. Catalog and bibliography of Neotropical and Mexican Chironomidae (Insecta, Diptera). **Spixiana Supplement** 22: 61-119.
- Stevens, M.M. 1998. Development and survival of *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera: Chironomidae) at a range of constant temperatures. **Aquat. Insects** 20: 181-188.

- Stevens, M.M, G.N. Warren and B.D. Braysher. 2003. Oviposition response of *Chironomus tepperi* to nitrogenous compounds and bioextracts in two-choice laboratory tests. **Journal of Chemical Ecology** 29 (4): 911-920.
- Storey, K.B. 1990. Biochemical adaptation for cold hardiness in insects. **Phil. Trans. R. Soc. Lond.** 326: 635-654.
- Strathdee, A.T. and J.S. Bale. 1998. Life on the edge: insect ecology in arctic environments. **Ann. Rev. Entomol.** 43: 85-106.
- Strixino, S.T. 1980. **Estudos sobre a fecundidade de *Chironomus sancticaroli* sp. N. (Diptera: Chironomidae).** Ph.D. thesis, Instituto de Biociencias.
- Surakarn, R. 1997. **Biological Studies of some Chironomids (Diptera: Chironomidae) Dwelling in Paddy Fields.** Ph.D. Thesis, Tottori University.
- Suraswadi, P. 1976. **Newly Cover Grass as Habit for Fish in Bung Boraped.** Ph.D. Thesis, University of Manitoba.
- Susana T.S. and K.C. Sonoda. 2006. A new *Tanytarsus* species (Insecta, Diptera, Chironomidae) from Sao Paulo State, Brazil. **Biota Neotrop.** 6 (2): 1-9.
- Suvatti, C. 1950. **Fauna of Thailand.** Department of Fisheries, Bangkok.
- Takamura, K. 1999. Wing length and asymmetry of male *Tokunagayusurika akamusi* chironomid midges using alternative mating tactics. **Behavioral Ecology** 10 (5): 498-503.
- Tavarutmaneeagul, P. and C.K. Lin. 1988. Breeding and rearing of sand goby (*Oxyeleotris marmoratus* Blk.) fry. **Aquaculture** 69: 299-305.

Taylor, L.R. 1978. A variety of diversities, pp. 1-18. *In* L.A. Mound and N. Waloff, eds.

Diversity of Insect Fauna. Blackwell Scientific Publications, London.

Templier, J., C. Largeau, E. Casadevall and C. Berkloff. 1992. Chemical inhibition of resistant biopolymers in outer walls of the A and B races of *Botryococcus braunii*.

Phytochemistry 31: 4097-4104.

Tokeshi, M. 1995. Life cycles and development, pp. 224-268. *In* P.D. Armetage, P.S. Cranston, and L.C.V. Pinder, eds. **The Chironomidae: the biology and ecology of non-biting midges.** Chapman and Hall, London.

_____ and K. Reinhardt. 1996. Reproductive behaviour in *Chironomus anthracinus* (Diptera: Chironomidae), with a consideration of the evolution of swarming.

Journal of Zoology 240 (1): 103-112.

Trivinho-Strixino, S. and G. Strixino. 1982. Ciclo de vida de *Chironomus sancticaroli* Strixino & Strixino, (Diptera: Chironomidae). **Rev. Bras. Entomol.** 26: 183-189.

Wallace, J.B. and R.W. Merritt. 1980. Filter-feeding ecology of aquatic insects. **Annu. Rev. Entomol.** 25: 103-132.

Walshe, B.M. 1948. The oxygen requirements and thermal resistance of chironomid larvae from flowing and from still waters. **Journal of Experimental Biology** 25: 35-44.

_____. 1951. The feeding habits of certain chironomid larvae (subfamily Tendipedinae).

Proc. Zool. Soc. London 121: 63-79.

Ward, G.M. and K.W. Cummins. 1979. Effects of food quality on growth of a stream detritivore, *Paratendipes albimanus* (Meigen) (Diptera: Chironomidae). **Ecology** 60: 57-64.

Webster, C.D. and C. Lim. 2002. **Nutrient Requirement and Feeding of Finfish for Aquaculture**. CABI Publishing, London.

Wene, G. 1940. The soil as an ecological factor in the abundance of aquatic chironomid larvae. **Ohio J. Sci.** 40: 193-199.

Wikimedia Commons. 2009. **Map of Autthaya, Thailand**. Wikimedia Commons. Available Source: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Thailand_Ayutthaya.png, March 12, 2009.

Wilhm, J. L. and T.C. Dorris. 1968. Biological parameters of water quality criteria. **Bioscience** 18: 477-481.

Williams, D.D. and B.W. Feltmate. 1992. **Aquatic Insects**. University of Arizona Press, AZ, USA.

Willart, J.F., F. Danede, A. De Guesseme, M. Descamps and C. Neves. 2003. Origin of the dual structural transformation of trehalose dihydration. **J. Phys. Chem. B.** 107 (40): 11158-11162.

Wolenski, J.S. and N.H. Hart. 2008. Sperm incorporation independent of fertilization cone formation in the *Danio* Egg. **Development, Growth & Differentiation** 30 (6): 619-628.

Wotton, R.S. 1994. Particulate and dissolved organic matter as food, pp. 235-288. In R.S. Wotton, ed. **The Biology of Particles in Aquatic Systems**, 2nd edition. Lewis Publishers, Boca Raton.

- Xue, R.D. and A. Ali. 1994a. Relationship between wing length and fecundity of a pestiferous midge, *Glyptotendipes paripes* (Diptera: Chironomidae). **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 10 (1): 29-34.
- _____ and _____. 1994b. Oviposition, feculdity, and body size of a pestiferous midge, *Chironomus crassicaudatus* (Diptera: Chironomidae). **J. Am. Environ. Entomol.** 23 (6): 1480-1484.
- _____ and _____. 1997. Larval case-making behavior of a pestiferous chironomid *Glyptotendipes paripes* (Diptera: Chironomidae) with sand grains of different sizes. **J. Am. Mosq. Control. Assoc.** 13 (3): 289-291.
- Yano, K., H. Shimotori, S. Hamasaki and J. Hirao. 1991. Estimating adult chironomid populations in paddy fields. **Odokon Chugoku** (33): 1-7.
- Yusoff, M.F., A.D. Om and S.H. Cheah. Use of agro-industrial effluent in augmenting microalgae production and fish fry growth in hatchery tanks. **J. Aqua. Trop.** 11:119-126.
- Zachrias, H. 1979. Underreplication of a polytene chromosome arm in the chironomid *Prodiamesa olivacea*. **Chromosoma (Berl.)** 72: 23-51.
- Zhang, X.B., L. Karen, Y.K. Heung, T.K. Sze, F.T. Fai, L.C. Kong, L.S. Man and Y.P.M. Pan. 2003. Trehalose ameliorates the cryopreservation of cord blood in a preclinical system and increases the recovery of CFUs, long-term culture-initiating cells, and nonobese diabetic-SCID repopulating cells. **Transfusion** 43 (2): 265-272.



ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศของสถานีอุตุนิยมวิทยาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา
ระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2551 – มกราคม พ.ศ. 2552

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด	อุณหภูมิต่ำสุด	อุณหภูมิเฉลี่ย	ปริมาณน้ำฝน	ความชื้น
	(องศาเซลเซียส)	(องศาเซลเซียส)	(องศาเซลเซียส)	(มิลลิเมตร)	สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
1/1/2551	28.0	18.3	23.5	0	66
2/1/2551	27.1	15.8	21.1	0	56
3/1/2551	29.0	16.8	22.5	0	56
4/1/2551	32.0	16.0	23.6	0	64
5/1/2551	33.0	16.8	24.4	0	63
6/1/2551	32.7	17.6	25.0	0	64
7/1/2551	33.4	16.4	24.6	0	72
8/1/2551	33.8	16.8	24.9	0	70
9/1/2551	34.3	16.7	25.5	0	71
10/1/2551	34.0	18.2	26.3	0	76
11/1/2551	34.2	19.7	26.6	0	77
12/1/2551	34.0	20.6	27.0	0	79
13/1/2551	35.6	20.2	27.3	0	75
14/1/2551	34.4	19.3	26.3	0	72
15/1/2551	34.0	20.4	26.2	0	70
16/1/2551	33.1	20.8	25.9	0	61
17/1/2551	31.0	21.3	24.9	0	59
18/1/2551	34.5	21.1	26.5	0	59
19/1/2551	35.8	18.2	27.2	0	67
20/1/2551	36.1	17.8	26.3	0	67
21/1/2551	35.8	17.6	26.3	0	69
22/1/2551	35.5	18.5	26.5	0	69
23/1/2551	34.0	19.2	26.4	0	58
24/1/2551	32.4	21.2	26.2	0	57
25/1/2551	31.7	22.0	25.8	0	61
26/1/2551	33.1	20.0	26.0	0	65
27/1/2551	35.5	23.0	28.7	0	64
28/1/2551	33.9	21.7	28.8	0	69

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
29/1/2551	33.8	22.9	28.4	0	74
30/1/2551	33.8	22.6	28.3	0	75
31/1/2551	34.4	21.8	28.5	0.1	73
1/2/2551	33.4	23.6	28.2	0	76
2/2/2551	33.8	22.5	28.2	0	76
3/2/2551	29.2	22.5	24.9	8.6	87
4/2/2551	28.2	20.7	23.5	0.8	83
5/2/2551	30.3	22.1	25.9	0	80
6/2/2551	34.2	20.5	27.4	0	75
7/2/2551	34.3	22.7	28.0	0	78
8/2/2551	34.5	22.8	28.6	0	77
9/2/2551	34.1	23.0	28.0	0	73
10/2/2551	33.3	22.1	27.6	0	70
11/2/2551	33.8	23.5	28.1	0	75
12/2/2551	34.4	23.4	28.4	0	74
13/2/2551	32.5	21.8	26.5	0	61
14/2/2551	33.1	21.7	26.1	0	64
15/2/2551	31.6	22.0	25.9	0	61
16/2/2551	33.0	21.0	26.5	0	62
17/2/2551	34.2	21.7	27.4	0	70
18/2/2551	33.5	22.7	27.3	0	71
19/2/2551	33.0	21.8	26.7	0	57
20/2/2551	31.8	20.8	26.0	0	58
21/2/2551	32.6	19.3	25.0	0	56
22/2/2551	34.5	18.8	26.1	0	58
23/2/2551	35.5	20.3	27.6	0	59
24/2/2551	36.0	19.1	26.8	0	67
25/2/2551	36.0	22.4	28.5	0	74
26/2/2551	34.9	23.8	28.7	0	71

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด	อุณหภูมิต่ำสุด	อุณหภูมิเฉลี่ย	ปริมาณน้ำฝน	ความชื้น
	(องศาเซลเซียส)	(องศาเซลเซียส)	(องศาเซลเซียส)	(มิลลิเมตร)	สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
27/2/2551	32.3	24.3	28.0	0	67
28/2/2551	33.2	23.0	27.5	0	49
29/2/2551	35.5	22.8	28.3	0	53
1/3/2551	34.6	24.1	28.0	0	51
2/3/2551	36.0	21.5	28.4	0	53
3/3/2551	34.9	22.8	27.9	0	56
4/3/2551	33.9	21.0	26.2	0	47
5/3/2551	33.5	20.8	26.4	0	47
6/3/2551	35.3	19.0	27.1	0	55
7/3/2551	36.1	20.3	28.5	0	59
8/3/2551	36.2	23.1	29.1	0	62
9/3/2551	35.3	22.4	29.3	0	62
10/3/2551	35.3	24.0	29.1	3.6	72
11/3/2551	35.0	24.0	29.4	0	70
12/3/2551	35.5	24.8	29.6	0	71
13/3/2551	35.7	24.8	28.5	3.5	76
14/3/2551	36.8	24.6	29.5	0	76
15/3/2551	35.5	23.8	28.9	0	76
16/3/2551	35.9	24.8	29.7	0	75
17/3/2551	36.4	24.5	30.0	0	65
18/3/2551	36.5	24.2	29.4	0	67
19/3/2551	36.1	23.5	29.6	0	70
20/3/2551	35.7	24.8	29.6	0	71
21/3/2551	36.0	25.2	29.6	0	73
22/3/2551	36.4	24.9	30.1	0	71
23/3/2551	37.2	24.4	31.0	0	64
24/3/2551	35.3	25.2	29.9	0	70
25/3/2551	35.7	25.5	29.0	0	74
26/3/2551	35.8	25.2	30.0	0	70

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	
27/3/2551	36.1	25.8	30.1	0	71
28/3/2551	34.5	25.6	29.3	5	73
29/3/2551	37.0	25.7	30.0	0	71
30/3/2551	37.4	25.6	30.4	0	71
31/3/2551	36.3	24.8	29.6	0	69
1/4/2551	35.5	24.7	29.5	0	72
2/4/2551	36.0	25.5	30.0	0	72
3/4/2551	36.0	25.5	29.2	0	71
4/4/2551	34.9	24.6	28.3	0	77
5/4/2551	37.6	24.5	29.1	15.1	76
6/4/2551	33.7	22.9	27.8	0	79
7/4/2551	35.5	25.1	29.2	3.7	74
8/4/2551	35.4	25.5	29.6	0	75
9/4/2551	36.5	25.8	30.3	0	71
10/4/2551	37.2	25.6	30.7	0	70
11/4/2551	37.0	25.7	30.7	0	70
12/4/2551	36.5	26.0	31.0	0	69
13/4/2551	36.7	26.7	30.7	0	74
14/4/2551	36.5	25.6	30.8	0	69
15/4/2551	37.2	25.9	30.1	1.1	74
16/4/2551	36.9	24.3	30.2	0	70
17/4/2551	39.4	26.5	31.5	0	69
18/4/2551	37.5	26.6	31.2	0	68
19/4/2551	36.2	26.5	30.8	0	70
20/4/2551	36.5	26.6	31.1	0	71
21/4/2551	37.1	26.5	31.3	0	72
22/4/2551	37.5	26.6	30.2	10.3	74
23/4/2551	34.4	23.3	28.1	3.6	81
24/4/2551	36.4	23.0	29.1	0	71

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
25/4/2551	35.5	25.5	28.5	5.4	75
26/4/2551	34.6	23.8	27.4	0	81
27/4/2551	34.1	23.9	28.4	0	80
28/4/2551	34.7	24.8	28.3	8.4	76
29/4/2551	34.0	23.5	26.8	89.9	84
30/4/2551	34.0	23.2	27.6	0	83
1/5/2551	32.6	23.8	28.3	0	82
2/5/2551	31.7	24	26.2	0.7	87
3/5/2551	33.1	24.5	26.5	13.1	86
4/5/2551	30.5	23.6	26.6	0	85
5/5/2551	32.3	24.4	27.5	2.3	82
6/5/2551	33.4	25.2	28.8	0	79
7/5/2551	32.2	25.4	28.6	0	78
8/5/2551	32.4	25.7	28.3	0	80
9/5/2551	33.1	25.3	27.8	1.1	80
10/5/2551	34.0	24.6	28.7	0	78
11/5/2551	33.5	25.0	28.5	0	79
12/5/2551	34.0	24.5	28.8	19.2	80
13/5/2551	33.8	23.2	28.2	0	81
14/5/2551	33.8	24.8	29.0	0	77
15/5/2551	33.8	25.3	28.8	13	79
16/5/2551	34.0	25.0	29.2	0	79
17/5/2551	34.3	25.6	29.7	0	76
18/5/2551	33.4	25.8	29.1	5.1	77
19/5/2551	33.0	23.0	27.2	10.8	86
20/5/2551	33.9	24.0	27.1	7.8	85
21/5/2551	33.1	24.2	28.2	0	83
22/5/2551	34.2	25.6	29.2	0	77
23/5/2551	34.0	24.0	27.9	12.8	82

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
24/5/2551	33.4	22.4	27.1	23.6	85
25/5/2551	33.0	22.0	26.5	0.6	90
26/5/2551	33.7	24.6	28.8	3.7	79
27/5/2551	34.0	24.1	28.1	0.7	82
28/5/2551	34.5	24.3	28.7	0	81
29/5/2551	34.5	24.2	29.1	8	81
30/5/2551	32.5	23.0	28.4	0	85
31/5/2551	36.0	25.9	30.1	2.5	78
1/6/2551	33.4	24.0	28.5	0	82
2/6/2551	31.7	24.0	26.2	0.7	87
3/6/2551	33.1	24.5	26.5	13.1	86
4/6/2551	30.5	23.6	26.6	0	85
5/6/2551	32.3	24.4	27.5	2.3	82
6/6/2551	33.4	25.2	28.8	0	79
7/6/2551	32.2	25.4	28.6	0	78
8/6/2551	32.4	25.7	28.3	0	80
9/8/2551	35.5	25.4	30.7	0	77
10/8/2551	35.5	25.9	30.3	0	78
11/8/2551	33.5	25.0	28.5	0	79
12/8/2551	32.3	25.0	27.6	4.6	85
13/8/2551	32.0	23.8	27.4	0	84
14/8/2551	31.7	24.8	27.9	1	81
15/8/2551	33.1	25.3	28.4	0	82
16/6/2551	32.8	25.4	28.1	0	81
17/6/2551	32.3	24.0	27.4	0	83
18/6/2551	31.5	24.0	26.9	16.7	84
19/6/2551	29.4	22.6	26.0	24.9	90
20/6/2551	33.5	22.0	26.6	1.5	86
21/6/2551	33.5	23.0	28.3	0	80

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
22/6/2551	34.5	23.6	28.7	0	77
23/6/2551	34.7	24.9	28.9	0	75
24/6/2551	34.2	24.5	28.8	0.3	76
25/6/2551	34.0	24.8	29.4	0	76
26/6/2551	32.8	25.0	28.9	0	75
27/6/2551	34.0	24.4	29.2	0	75
28/6/2551	32.2	25.8	29.0	0	75
29/6/2551	33.8	25.0	29.4	0	72
30/6/2551	33.9	24.9	29.4	0	75
1/7/2551	32.3	25.3	28.8	19.7	78
2/7/2551	29.5	24.1	26.8	0.2	87
3/7/2551	29.1	24.9	27.0	1.4	86
4/7/2551	32.3	25.1	28.7	3.1	76
5/7/2551	32.8	24.4	28.6	0	75
6/7/2551	32.3	24.1	28.2	0	75
7/7/2551	31.2	24.8	28.0	0	76
8/7/2551	30.8	25.2	28.0	0.4	80
9/7/2551	28.6	25.0	26.8	21	87
10/7/2551	30.5	23.5	27.0	0	85
11/7/2551	32.4	24.6	28.5	0	76
12/7/2551	32.9	25.5	29.2	0.7	75
13/7/2551	33.4	25.6	29.5	0	76
14/7/2551	34.4	26.0	30.2	0.6	74
15/7/2551	32.4	26.0	29.2	0.3	75
16/7/2551	32.8	25.0	28.9	8.2	78
17/7/2551	30.7	24.3	27.5	24.6	83
18/7/2551	33.0	22.6	27.8	11.2	82
19/7/2551	30.4	23.2	26.8	9.2	91
20/7/2551	31.4	22.4	26.9	0	85

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
21/7/2551	36.1	22.5	29.3	0.1	78
22/7/2551	32.0	24.0	28.0	2	79
23/7/2551	32.3	24.5	28.4	0	76
24/7/2551	30.2	25.0	27.6	0	79
25/7/2551	30.9	24.5	27.7	3.9	80
26/7/2551	32.0	22.6	27.3	0	81
27/7/2551	33.9	23.5	28.7	0	74
28/7/2551	31.0	24.6	27.8	0	76
29/7/2551	32.7	24.9	28.8	0	70
30/7/2551	32.5	24.5	28.5	8.8	77
31/7/2551	31.5	24.1	27.8	19.4	82
1/8/2551	31.8	24.0	27.3	45.2	87
2/8/2551	29.5	23.5	26.1	3.6	88
3/8/2551	32.8	24.0	27.9	52.8	81
4/8/2551	32.5	23.1	27.5	0	83
5/8/2551	34.0	24.2	28.2	18.6	81
6/8/2551	30.8	24.1	27.4	0	80
7/8/2551	31.0	24.6	27.7	0.8	78
8/8/2551	29.5	24.6	26.4	3.7	86
9/8/2551	33.4	24.6	28.5	0	78
10/8/2551	33.4	25.4	28.4	13.3	81
11/8/2551	32.1	25.1	27.5	12	86
12/8/2551	32.0	24.6	27.0	3.9	87
13/8/2551	31.5	23.5	26.6	21.9	87
14/8/2551	33.2	24.1	27.8	7.1	81
15/8/2551	33.5	25.0	28.5	0	78
16/8/2551	34.3	25.0	28.6	8.9	77
17/8/2551	34.8	24.0	27.9	0.6	77
18/8/2551	33.5	24.4	28.8	0	77

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
19/8/2551	30.3	25.0	27.5	0	83
20/8/2551	32.8	24.8	28.3	0	80
21/8/2551	34.0	24.8	28.9	0	76
22/8/2551	34.2	24.9	28.9	0.6	77
23/8/2551	34.0	24.5	28.8	0	75
24/8/2551	33.5	25.0	29.4	0	77
25/8/2551	34.7	25.6	29.1	0	80
26/8/2551	35.4	25.6	29.8	0	78
27/8/2551	34.6	25.5	28.7	0.2	80
28/8/2551	33.5	25.2	28.3	0.6	83
29/8/2551	35.5	25.4	28.7	0.2	81
30/8/2551	33.4	25.4	28.8	0	78
31/8/2551	34.0	25.3	29.1	0	80
1/9/2551	34.0	25.6	28.1	3.4	84
2/9/2551	33.0	25.4	28.5	0	83
3/9/2551	34.6	25.3	28.8	0	81
4/9/2551	35.4	25.6	29.3	27.7	77
5/9/2551	33.2	23.1	27.5	2.9	85
6/9/2551	34.5	24.0	28.3	17.6	80
7/9/2551	33.0	23.5	27.4	0	85
8/9/2551	33.9	25.1	28.2	0	82
9/9/2551	32.5	24.5	27.6	8.5	88
10/9/2551	34.0	24.6	27.2	67.7	88
11/9/2551	27.2	23.9	25.3	60.8	95
12/9/2551	29.1	23.6	26.1	3.6	90
13/9/2551	31.7	24.1	26.5	7.1	87
14/9/2551	33.1	24.5	28.2	0	80
15/9/2551	33.1	25.3	27.9	39.3	82
16/9/2551	27.0	23.6	25.5	4.5	94

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
17/9/2551	28.6	24.4	25.6	8.8	93
18/9/2551	32.0	24.0	27.3	58.2	84
19/9/2551	31.1	23.5	26.7	8.8	85
20/9/2551	29.8	23.8	27.1	0	84
21/9/2551	31.6	23.8	27.6	0	81
22/9/2551	33.5	24.0	28.3	0	77
23/9/2551	34.2	23.2	28.7	0	75
24/9/2551	33.0	24.3	28.2	0	77
25/9/2551	32.4	24.6	28.0	0	76
26/9/2551	31.0	25.0	27.9	0	77
27/9/2551	33.0	25.2	28.5	23.2	78
28/9/2551	33.6	22.3	27.5	21.1	85
29/9/2551	32.3	23.2	27.6	22.6	85
30/9/2551	33.4	23.7	28.4	12.4	83
1/10/2551	31.0	23.0	26.7	0.3	87
2/10/2551	32.8	24.6	27.8	0	84
3/10/2551	31.5	24.5	26.5	2.6	89
4/10/2551	33.4	23.5	27.2	0	84
5/10/2551	33.7	23.5	28.4	0	81
6/10/2551	33.5	24.7	29.0	0	81
7/10/2551	34.1	25.0	28.6	0	81
8/10/2551	32.0	24.8	27.7	0	84
9/10/2551	33.6	24.0	27.4	3	85
10/10/2551	34.0	23.5	28.8	0	81
11/10/2551	33.6	24.6	28.8	0	80
12/10/2551	34.1	24.8	29.2	0	76
13/10/2551	35.1	24.0	28.8	0	78
14/10/2551	34.5	24.3	29.1	0	77
15/10/2551	35.0	24.1	30.1	0	74

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
16/10/2551	35.4	24.0	30.0	0	75
17/10/2551	34.2	25.3	28.6	0	73
18/10/2551	31.3	24.5	27.6	0	79
19/10/2551	33.5	24.0	28.6	0	81
20/10/2551	35.6	24.7	29.5	0	78
21/10/2551	35.3	24.8	28.8	0	80
22/10/2551	35.5	25.0	28.9	4.4	80
23/10/2551	35.0	23.8	28.8	0	79
24/10/2551	33.2	24.5	28.1	7.4	83
25/10/2551	33.2	24.5	27.8	9.6	85
26/10/2551	31.0	23.6	27.1	2.4	86
27/10/2551	33.2	22.7	27.4	6.3	84
28/10/2551	32.9	23.0	27.1	0	86
29/10/2551	33.3	24.4	28.5	0	82
30/10/2551	32.4	24.0	27.4	46.9	87
31/10/2551	31.0	23.1	26.8	2.6	89
1/11/2551	32.4	23.6	27.5	0	84
2/11/2551	32.5	24.0	28.0	0	81
3/11/2551	34.0	22.5	28.4	0	78
4/11/2551	32.0	24.1	26.9	0.4	87
5/11/2551	31.4	22.4	27.0	0.4	85
6/11/2551	32.0	23.5	28.1	0	82
7/11/2551	33.5	23.6	27.2	0	86
8/11/2551	33.6	23.3	27.5	0.2	85
9/11/2551	31.8	23.5	27.2	0	73
10/11/2551	29.3	21.6	24.8	0	70
11/11/2551	29.9	20.1	24.3	0	66
12/11/2551	31.3	18.6	24.9	0	69
13/11/2551	29.7	20.2	24.9	0	71

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
14/11/2551	30.0	17.6	23.5	0	73
15/11/2551	32.0	19.6	25.5	0	74
16/11/2551	31.6	21.6	26.9	0	80
17/11/2551	33.6	23.9	27.8	0	78
18/11/2551	30.6	22.0	25.6	0	80
19/11/2551	29.5	23.0	26.2	0	69
20/11/2551	30.6	22.0	26.2	0	64
21/11/2551	30.5	20.6	25.5	0	72
22/11/2551	31.6	20.5	25.1	0	75
23/11/2551	32.5	20.4	27.1	0	73
24/11/2551	32.0	21.5	26.7	0	69
25/11/2551	29.5	21.5	26	0	65
26/11/2551	30.5	22.2	26.3	0	67
27/11/2551	30.5	22.1	26.0	0	62
28/11/2551	29.1	19.0	23.8	0	56
29/11/2551	29.0	18.2	22.7	0	63
30/11/2551	28.0	18.2	22.2	0	60
1/12/2551	28.9	16.8	22.6	0	63
2/12/2551	29.6	16.4	22.8	0	63
3/12/2551	31.0	16.7	23.9	0	66
4/12/2551	32.8	17.5	24.5	0	70
5/12/2551	30.9	19.0	25.0	0	67
6/12/2551	29.0	21.0	24.6	0	61
7/12/2551	30.4	19.0	24.5	0	63
8/12/2551	30.5	19.8	24.3	0	67
9/12/2551	29.0	18.2	22.8	0	65
10/12/2551	30.9	15.8	23.1	0	68
11/12/2551	30.0	15.0	22.5	0	67
12/12/2551	31.4	16.5	23.2	0	71

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	ความชื้น สัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
13/12/2551	32.3	17.0	24.1	0	72
14/12/2551	30.9	18.8	24.3	0	69
15/12/2551	30.5	20.6	24.3	0	63
16/12/2551	31.2	19.8	24.4	0	63
17/12/2551	30.0	20.0	24.1	0	65
18/12/2551	29.4	19.6	23.2	0	63
19/12/2551	30.0	18.4	22.9	0	62
20/12/2551	30.7	16.8	23.3	0	64
21/12/2551	32.3	16.6	24.0	0	68
22/12/2551	32.4	18.3	24.8	0	70
23/12/2551	31.0	20.0	25.1	0	66
24/12/2551	31.7	20.0	25.0	0	66
25/12/2551	32.0	22.5	26.3	0	60
26/12/2551	30.4	23.9	25.8	0	65
27/12/2551	29.2	21.8	25.4	0	72
28/12/2551	32.1	21.6	25.9	0	70
29/12/2551	32.9	20.6	25.9	0	71
30/12/2551	33.5	21.9	26.9	0	68
31/12/2551	32.5	23.0	27.0	0	63
1/1/2552	28.6	22.1	25.1	0	57
2/1/2552	28.8	20.3	24.3	0	56
3/1/2552	30.0	19.6	24.2	0	60
4/1/2552	31.1	19.1	24.7	0	63
5/1/2552	33.0	17.5	25.9	0	61
6/1/2552	32.6	19.6	25.1	0	60
7/1/2552	32.0	18.1	25.2	0	62
8/1/2552	31.8	19.5	25.8	0	60
9/1/2552	29.0	19.9	23.1	0	59
10/1/2552	29.4	16.6	21.7	0	55

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

วัน/เดือน/ปี	ข้อมูลการตรวจวัดสภาวะอากาศ				ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
	อุณหภูมิสูงสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิต่ำสุด (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิเฉลี่ย (องศาเซลเซียส)	ปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร)	
11/1/2552	26.4	14.6	19.6	0	54
12/1/2552	27.9	12.1	19.4	0	58
13/1/2552	27.5	17.0	21.0	0	53
14/1/2552	27.0	15.0	19.9	0	60
15/1/2552	27.0	15.8	20.3	0	57
16/1/2552	28.8	15.4	21.0	0	59
17/1/2552	30.7	13.6	21.7	0	65
18/1/2552	31.7	15.9	22.9	0	64
19/1/2552	31.8	15.3	23.3	0	66
20/1/2552	32.6	16.0	23.9	0	68
21/1/2552	32.6	17.1	24.4	0	70
22/1/2552	34.0	17.5	25.2	0	67
23/1/2552	34.4	17.5	25.3	0	70
24/1/2552	32.5	18.5	25.0	0	69
25/1/2552	32.2	21.8	25.3	0	64
26/1/2552	34.1	18.5	25.9	0	74
27/1/2552	33.8	20.8	27.1	0	75
28/1/2552	33.8	21.5	27.3	0	74
29/1/2552	34.0	22.0	27.3	0	75
30/1/2552	33.4	21.1	26.7	0	77
31/1/2552	32.8	21.0	27.4	0	76

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2552)

ตารางผนวกที่ 2 ความยาวปีกไข่และความคดของไข่รี้น้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวม
จากภาคสนาม

ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
1	0.7	132	31	1.2	249
2	0.7	126	32	1.2	296
3	0.7	177	33	1.2	282
4	0.8	143	34	1.2	282
5	0.8	150	35	1.2	257
6	0.9	237	36	1.2	277
7	0.9	190	37	1.2	236
8	0.9	168	38	1.2	221
9	1.0	223	39	1.2	315
10	1.0	225	40	1.2	191
11	1.0	243	41	1.2	232
12	1.0	207	42	1.3	246
13	1.0	208	43	1.3	309
14	1.0	238	44	1.3	305
15	1.0	212	45	1.3	272
16	1.1	264	46	1.3	287
17	1.1	337	47	1.3	298
18	1.1	236	48	1.3	303
19	1.1	268	49	1.3	304
20	1.1	238	50	1.3	258
21	1.1	226	51	1.3	253
22	1.1	191	52	1.3	240
23	1.1	248	53	1.3	256
24	1.1	189	54	1.3	268
25	1.1	212	55	1.3	205
26	1.1	262	56	1.3	261
27	1.2	211	57	1.4	256
28	1.2	264	58	1.4	269
29	1.2	331	59	1.4	302
30	1.2	280	60	1.4	224

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
61	1.4	245	92	1.5	323
62	1.4	300	93	1.5	335
63	1.4	282	94	1.5	340
64	1.4	326	95	1.5	334
65	1.4	258	96	1.5	366
66	1.4	322	97	1.5	376
67	1.4	365	98	1.5	318
68	1.4	381	99	1.5	290
69	1.4	328	100	1.5	386
70	1.4	325	101	1.5	299
71	1.4	286	102	1.5	274
72	1.4	233	103	1.5	330
73	1.4	364	104	1.5	307
74	1.4	362	105	1.5	229
75	1.4	283	106	1.5	249
76	1.4	342	107	1.5	309
77	1.4	287	108	1.6	296
78	1.4	370	109	1.6	300
79	1.4	240	110	1.6	240
80	1.4	287	111	1.6	268
81	1.4	265	112	1.6	242
82	1.4	282	113	1.6	322
83	1.4	242	114	1.6	282
84	1.4	229	115	1.6	347
85	1.4	273	116	1.6	316
86	1.4	290	117	1.6	311
87	1.4	353	118	1.6	326
88	1.5	325	119	1.6	283
89	1.5	282	120	1.6	310
90	1.5	328	121	1.7	293
91	1.5	343	122	1.7	310

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
123	1.7	321	154	1.8	384
124	1.7	339	155	1.8	354
125	1.7	296	156	1.8	359
126	1.7	331	157	1.8	389
127	1.7	389	158	1.8	393
128	1.7	326	159	1.8	361
129	1.7	362	160	1.8	444
130	1.7	290	161	1.8	351
131	1.7	348	162	1.8	229
132	1.7	322	163	1.8	347
133	1.7	343	164	1.8	266
134	1.7	332	165	1.9	410
135	1.7	314	166	1.9	358
136	1.7	321	167	1.9	409
137	1.7	345	168	1.9	331
138	1.7	344	169	1.9	357
139	1.7	366	170	1.9	376
140	1.7	348	171	1.9	443
141	1.7	365	172	1.9	379
142	1.7	352	173	1.9	295
143	1.7	261	174	1.9	339
144	1.7	299	175	1.9	314
145	1.7	237	176	1.9	418
146	1.7	371	177	1.9	335
147	1.8	298	178	1.9	321
148	1.8	363	179	1.9	387
149	1.8	353	180	1.9	393
150	1.8	391	181	1.9	452
151	1.8	307	182	1.9	425
152	1.8	423	183	1.9	302
153	1.8	339	184	2.0	343

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
185	2.0	326	216	2.2	402
186	2.0	422	217	2.2	404
187	2.0	378	218	2.2	392
188	2.0	397	219	2.2	378
189	2.0	371	220	2.2	439
190	2.0	375	221	2.2	452
191	2.0	389	222	2.2	370
192	2.0	334	223	2.2	378
193	2.0	328	224	2.2	424
194	2.0	355	225	2.2	395
195	2.0	386	226	2.2	367
196	2.0	413	227	2.2	382
197	2.0	272	228	2.2	418
198	2.0	410	229	2.2	432
199	2.0	333	230	2.2	379
200	2.1	433	231	2.3	343
201	2.1	403	232	2.3	447
202	2.1	288	233	2.3	469
203	2.1	405	234	2.3	435
204	2.1	418	235	2.3	434
205	2.1	371	236	2.3	442
206	2.1	422	237	2.3	429
207	2.1	374	238	2.3	411
208	2.1	338	239	2.3	329
209	2.1	348	240	2.3	479
210	2.1	418	241	2.3	478
211	2.1	487	242	2.3	415
212	2.1	373	243	2.3	484
213	2.1	301	244	2.3	452
214	2.2	375	245	2.3	380
215	2.2	457	246	2.3	368

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ความยาวฝักไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวฝักไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
247	2.3	390	278	2.7	450
248	2.4	439	279	2.7	464
249	2.4	334	280	2.7	411
250	2.4	446	281	2.7	506
251	2.4	449	282	2.7	480
252	2.4	420	283	2.7	471
253	2.4	452	284	2.8	459
254	2.4	485	285	2.8	416
255	2.4	412	286	2.8	414
256	2.4	388	287	2.8	444
257	2.4	386	288	2.8	426
258	2.5	402	289	2.8	412
259	2.5	476	290	2.9	432
260	2.5	433	291	2.9	422
261	2.5	447	292	2.9	453
262	2.5	412	293	2.9	443
263	2.5	422	294	2.9	470
264	2.5	444	295	2.9	456
265	2.5	480	296	2.9	436
266	2.5	402	297	2.9	514
267	2.5	433	298	2.9	520
268	2.5	442	299	3.0	459
269	2.6	420	300	3.0	556
270	2.6	431	301	3.0	572
271	2.6	466	302	3.0	434
272	2.6	418	303	3.0	528
273	2.6	406	304	3.1	421
274	2.6	398	305	3.1	502
275	2.6	353	306	3.1	575
276	2.6	352	307	3.2	441
277	2.7	348	308	3.2	525

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับ	ความยาวฝักไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวฝักไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
309	3.2	457	340	3.9	559
310	3.2	473	341	3.9	655
311	3.2	533	342	4.0	687
312	3.2	525	343	4.0	614
313	3.3	553	344	4.0	664
314	3.3	588	345	4.2	629
315	3.3	589	346	4.2	628
316	3.3	501	347	4.2	687
317	3.3	592	348	4.3	633
318	3.3	543	349	4.4	622
319	3.3	560	350	4.5	644
320	3.3	574	351	4.5	700
321	3.4	479			
322	3.4	476			
323	3.4	511			
324	3.4	532			
325	3.4	522			
326	3.4	552			
327	3.5	508			
328	3.5	512			
329	3.5	552			
330	3.6	575			
331	3.6	566			
332	3.6	526			
333	3.7	560			
334	3.8	558			
335	3.8	561			
336	3.8	565			
337	3.8	560			
338	3.8	581			
339	3.8	569			

ตารางผนวกที่ 3 ความยาวปีกไข่และความคดของไข่รี้น้ำจืด *Chironomus fuscipes* ที่รวบรวม
จากการเพาะพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ

ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)	ลำดับ	ความยาวปีกไข่ (เซนติเมตร)	ปริมาณไข่ (ฟอง)
1	1.0	147	31	3.4	766
2	1.3	487	32	3.4	818
3	1.3	311	33	3.4	828
4	1.9	444	34	3.5	879
5	2.0	591	35	3.5	882
6	2.1	458	36	3.5	807
7	2.1	535	37	3.6	775
8	2.2	640	38	3.7	864
9	2.2	544	39	3.7	819
10	2.3	557	40	3.8	976
11	2.3	510	41	3.8	769
12	2.3	600	42	3.9	878
13	2.4	575	43	3.9	898
14	2.5	555	44	4.0	876
15	2.5	570	45	4.0	821
16	2.5	576	46	4.0	863
17	2.7	769	47	4.1	892
18	2.7	594	48	4.2	916
19	2.7	683	49	4.2	928
20	2.9	654	50	4.3	815
21	3.0	811	51	4.4	941
22	3.0	728			
23	3.1	686			
24	3.2	785			
25	3.2	778			
26	3.2	811			
27	3.3	756			
28	3.3	785			
29	3.3	734			
30	3.4	767			

ตารางผนวกที่ 4 ภูมูเจ้าแณกสกุจากลัษณะภายนอกของรึนน้ำจืดเพศผู้

ภูมูเจ้าแณก

ครอบคร้ว Chironomidae: ภูมูเจ้าแณกวงศั้อย

1. มี cross vein m-cu..... 2
ไม่มี cross vein m-cu..... 4
2. antennal segment อันสุดท้าย สั้นมาก, penultimate segment ยาวที่สุด, มี vein R2+3 แดกเป็นรูปซ่อม หรือไม่มี ปีกปกติมี macrotrichia หรือส่วนน้อยที่ไม่มี..... 3
antennal segment อันสุดท้าย ยาวกว่าอันก่อนๆ มาก, vein R2+3 เป็นแบบง่ายๆ ปีกปกติไม่มี macrotrichia..... 3. Diamesinae
3. ไม่มี vein R2+3, R1 และ R4+5 แยกจากกันชัดเจน..... 4. Podonominae
มี vein R2+3 แดกเป็นรูปซ่อม หรือไม่มี, R1 และ R4+5 อยู่ใกล้ชิดกันมาก..... 5. Tanypodinae
4. tarsus I ของขาคู่หน้าสั้นกว่า tibia ของขาคู่หน้า, gonostylus ปกติโค้งเข้าไป และมี subapical spine, tibia ของขาคู่หน้ามี terminal spur ยาว 1 อัน tibia ของขาคู่กลางมี terminal spur สั้น 2 อัน, และ tibia ของขาคู่หลังมีทั้ง terminal spur ยาวและสั้น และ terminal comb อันหนึ่งประกอบด้วย spurs ที่เป็นอิสระในเกือบทุก species 6. Orthocladinae
tarsus I ของขาคู่หน้ายาวกว่า tibia ของขาคู่หน้า, gonostylus ตรงไปทางด้านหลังขนานไปกับแกนลำตัวและไม่มี terminal spur, tibiae ไม่มี terminal spur เช่นนั้น tibiae คู่กลางและคู่หลังปกติมี terminal scales ประกอบไปด้วย spurs ที่เชื่อมติดกัน..... 7. Chironominae

1. วงศั้อย Chironominae: ภูมูเจ้าแณกเผ่า

1. cross vein r-m สั้น และส่วนมากขนานไปกับแกนปีก, wing membrane มี macrotrichia; ไม่มี squama; hypopygium ปกติมี median appendage..... Tanytarsini
2. cross vein r-m ยาว และเฉียงกับแกนปีก; ปกติ wing membrane เปลือย, มีส่วนน้อยที่มี macrotrichia; ปกติ squama แดกเป็นร้ว, hypopygium ไม่ค่อยมี median appendage..... Chironomini

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก

1.1 เผ่า Chironominae: กุญแจจำแนก Complex

1. antenna มี 11 flagellar segments; combs ทั้งสองของ tibiae คู่กลางและคู่หลัง ปกติมี spur สั้นๆ 1 อัน, tibia ของขาคู่หน้ามี terminal scale กว้างและกลม 1 อัน, ventral appendage ไม่มี terminal seta ยาว 1 อัน..... 2
Antenna มี 13 flagellar segments; comb อันหนึ่งของ tibiae คู่กลางและคู่หลังมี spur ยาว 1 อัน ส่วน comb อันอื่นๆ ไม่มี spur (หรือถ้า combs ทั้งคู่มี spur 1 อัน ดังนั้น tibia ของขาคู่หน้ามี triangular terminal scale 1 อัน ยื่นออกมาชัดเจน), พบข้อที่ ventral appendage ยาว, terminal seta ตรงไปด้านหลัง, anteprepronotum เปลือย..... 1.1.(3) *Polypedilum* complex
2. ทั้ง dorsal appendages และ ventral appendages พัฒนาคือ, อันหลังยาวไปถึงปลายของ gonocoxite และพบข้อที่มี setae โคนและแข็งแรงอยู่เป็นจำนวนมาก, ปกติ anteprepronotum เปลือย (ยกเว้น *Chironomus kiiensis*)..... 1.1.(1) *Chironomus* complex
ทั้ง dorsal appendages และ ventral appendages ลดรูปลงมากหรือเป็นติ่ง, บางครั้งก็ไม่มี, อันหลังแม้ว่ามีแต่ไม่ยาวไปถึงปลายของ gonocoxite และไม่มี setae โคนและแข็งแรงอยู่เป็นจำนวนมาก, anteprepronotum มี lateral setae หลายอัน..... 1.1.(2) *Harnischia* complex

1.1.(1) *Chironomus* complex

Antenna ประกอบด้วย pedicel 1 อัน และมี flagellar segment 11 อัน, ทั้ง dorsal appendages และ ventral appendages พัฒนาคือ, anteprepronotum เปลือย (ยกเว้น *Chironomus kiiensis*)

- 1 ทั้งสองด้านของ anteprepronotum แยกกันบริเวณตอนกลาง 2
ทั้งสองด้านของ anteprepronotum หนา เชื่อมติดกันบริเวณตอนกลาง 3
- 2 anteprepronotum แยกกันโดยร่องรูปตัวยู..... *Endochironomus* Kieffer
anteprepronotum ค่อนข้างแคบลงไปทางตอนกลาง และไม่ยาวไปถึงตอนกลาง *Glyptotendipes* Kieffer

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก	
3	dorsal appendages มี setae 2-3 อัน ถึงจำนวนมากบน apical portion 4
	dorsal appendages แต่ละอันเปลี่ยนในตอนท้าย, หรือประกอบด้วย basal setigerous portion 1 อัน และเป็นดั่งเปลี่ยนคล้ายเขาสัตว์ที่ตอนปลาย 5
4	dorsal appendages คล้ายนิ้ว มี apical hook 1 อัน และมี setae ตรง ขนาดกลาง จำนวนเล็กน้อย อยู่บริเวณตอนกลางๆ และไม่มีฐานที่แผ่กว้างไปพวย setae ยาว, ปกติ ventral appendages ยาวมาก และมี apical setae แบบง่ายๆ เล็กน้อย..... <i>Dicrotendipes</i> Kieffer
	dorsal appendages คล้ายเป็นแผ่น มี setae จำนวนมาก บน distal half, ventral appendages คล้ายใน Chironomus แต่สั้นกว่า คล้ายนิ้ว และมี setae โค้งกลับ จำนวนมากบริเวณตอนปลาย <i>Chaetolabis</i> Townes
5	tergite ปล้องที่เก้า มีติ่งยื่นขึ้นออกมาจากแต่ละด้านของ anal point, ventral appendages ยาว และมี setae จำนวนมากตลอดความยาว, dorsal appendages ลดรูปไปเป็นแผ่นเล็กๆ <i>Camtochironomus</i> Kieffer
	tergite ปล้องที่เก้า ไม่มีติ่งยื่นออกมาจากด้านข้างของ anal point, dorsal appendages พัฒนาดี..... 6
6	ventral appendages ยาวมาก และพบบ่อยที่โป่งห้อยยาวไปจนเกือบถึงปลายของ gonostylus และมี setae จำนวนมาก อยู่บนครึ่งบนหรือตลอดความยาว 7
	ventral appendages สั้นกว่าและยาวไปไม่ถึงตอนกลางของ gonostylus ปกคลุมด้วย setae โค้งกลับบนส่วนปลายเท่านั้น, dorsal appendages ประกอบด้วยฐานกว้าง ปกคลุมด้วย setae ยาว และ microtrichia และ distal blade เปลี่ยน 1 อัน..... 9
7	dorsal appendages เป็นแผ่นง่ายๆ 1 อัน แต่ละด้านเปลี่ยน หรือมีขนสั้นๆ, anal point สั้นและกว้าง <i>Carteronica</i> Strand
	dorsal appendages มีส่วนปลายคล้ายเขาสัตว์ และมีขนยาวบนส่วนฐาน, anal point แคบและคอดที่ฐาน 8
8	ส่วนปากลดรูปอย่างมาก, palpi สั้นมากกว่าความกว้างของหัวมาก, $P/H < 0.7$ ส่วนปากและ palpi พัฒนาดี, palpi ยาวเท่ากับหรือยาวกว่าความกว้างของหัว, $P/H > 1.0$ <i>Nilodorum</i> Kieffer
	 <i>Kiefferulus</i> Goetghebuer
9	dorsal appendages ประกอบด้วยส่วน setigerous basal ที่สูง แข็งแรง และครอบคลุมมากกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวของมัน และมีขนปกคลุมอยู่จำนวนมาก และมี distal blade เปลี่ยนคล้ายเขาสัตว์ 1 อัน <i>Einfeldia</i> Kieffer

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก

dorsal appendages ประกอบด้วยส่วนฐานที่ดำและกว้าง และมี distal blade ยาว เปลือยคล้ายเขาสัตว์ 1 อัน	<i>Chironomus</i> Meigen
1.1.(3) <i>Polypedilum</i> complex	
Antenna มี 13 flagellar segments, comb อันหนึ่งของ tibia คู่กลางและคู่หลัง มี spur ยาว 1 อัน และ comb อันอื่นๆ ไม่มี spur (ใน <i>Stenochironomus</i> และ <i>Endochironomus</i> นั้น comb ทั้งสองอันมี spur 1 อัน แต่ tibia คู่หน้ามี triangular terminal scale 1 อัน ขึ้นแยกออกมา) ventral appendage พบบ่อยๆ ว่ามี terminal setae ยาว 1 อัน อยู่ก่อนไปทางด้านท้าย, antepnotum เปลือย	
1 ไม่มี pulvilli หรือ vestigial, squama ปกติจะเปลือยเปล่า.....	2
pulvilli มีขนาดใหญ่ และแยกออกจากกัน, squama มี fringe hairs.....	4
2 ventral appendage ยาวมาก เรียว และ โคงแข็งแรง, tergite ปล้องที่ 9 มีรยางค์เด่นยื่นออกมาข้าง anal point 2 อัน, dorsal appendage กว้าง คล้ายดั่งและมี microtrichia จำนวนมาก และมี terminal setae ยาว 1 อัน ไม่มี median appendage, tibia คู่หน้ามี terminal spur ยาว 1 อัน.....	<i>Nilothauma</i> Kieffer
ventral appendage สั้นกว่าและอ้วนต่ำกว่า (แบบ <i>Chironomus</i>) tergite ปล้องที่ 9 ไม่มีรยางค์เด่นยื่นออกมาข้าง anal point, dorsal appendage มีรูปร่างแบบขวด มี median appendage เหมือนใน <i>Tanytarsus</i> บางชนิด.....	3
3 tibia คู่หน้ามี terminal spur 1 อัน.....	<i>Paratendipes</i> Kieffer
tibia คู่หน้าไม่มี terminal spur.....	<i>Prochironomus</i> Kieffer
	sensu Tokunag (1940)
4 ปีกมี macrotrichia.....	5
ปีกไม่มี macrotrichia.....	7
5 dorsal appendage รูปร่างคล้ายๆ ตัวที่ ตอนปลายยื่นออกทั้ง โคงเข้าในและ ออกนอก และมี terminal setae 1 อัน ventral appendage มีตุ่มที่ปลาย 1 อัน มีขนจำนวนมาก oral margin ของ abdominal segment อันที่ 8 เกือบตรงทั้งหมด.....	<i>Ainuyusurika</i> Sasa et Shirasaka

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก

- dorsal appendage รูปร่างคล้ายๆ เขาสัตว์ เชื่อมต่อไปถึงปลายยอด และไม่มี apical seta, ventral appendage ไม่มี terminal tubercle..... 6
- 6 oral margin ของ abdominal tergite ปล้องที่ 7 เป็นรูปสามเหลี่ยมยื่นเข้าสู่ตรงกลาง terminal comb อันหนึ่งของ tibia คู่หลังมี spur ยาว ส่วน comb อันอื่นๆ ไม่มี spur, gonostylus มี setae ยาวหลายอันไปตามขอบด้านใน AR น้อยกว่า 2.0..... *Pentapedilum* Kieffer
- abdominal tergite ปล้องที่ 7 เกือบเป็นมุมฉาก oral margin เกือบตรง comb ทั้งสองอันของ posterior tibia มี spur สั้น 1 อัน (บางครั้ง comb 1 อันมี spur สั้น และ comb อันอื่นๆ ไม่มี spur) gonostylus ไม่มี setae ยาวหลายอันไปตามขอบด้านใน ยกเว้นส่วนปลาย AR มากกว่า 2.0..... *phaenopsectra* Kieffer
- 1.2 เผ่า Tanytarsini: กุญแจจำแนกสกุล
- wing membrane มี microtrichia (ยกเว้นสกุล *Biwatendipes*) cross vein r-m ขนานไปกับแกนปีก squama ไม่มีขน antenna มี 13 flagellar segments; ปกติ dorsal, ventral และ median appendage ของ gonocoxite พัฒนาดี
- 1 ขน tibiae ทุกเส้นมี terminal process แบบธรรมดา 1 อัน middle และ hind tibiae มี terminal comb 1 อัน ประกอบด้วย spur ที่สามารถเคลื่อนไหวเป็นอิสระได้หลายอัน wing membrane ไม่มีขน หรือมีเพียง macrotrichia 2-3 เส้นที่บริเวณปลายปีก..... *Biwatendipes* Tokunaga
- มีเพียง front tibia ที่มี terminal process แบบธรรมดา 1 อัน (ยกเว้น *Yuasaiella*) middle และ hind tibiae มี terminal comb 1 อัน ประกอบด้วย spur หลายอันที่สามารถเคลื่อนไหวเป็นอิสระได้หรือรวมติดกัน wing membrane มี macrotrichia 2
- 2 front tibia ไม่มี terminal process; middle และ hind tibiae มี terminal comb หลายอัน ประกอบด้วย spur ขนาดสั้นมากจำนวนหลายอันที่สามารถเคลื่อนไหวเป็นอิสระ front tibia ยาวกว่า front tarsus I *Yuasaiella* Tokunaga

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก

	front tibia มี terminal spur แบบธรรมดา 1 อัน middle และ hind tibiae มี terminal comb หลายอัน ประกอบด้วย spinul หลายอันรวมกัน อาจมีหรือไม่ มี spur; front tarsus I ยาวกว่า front tibia	3
3	ปกติ terminal combs ของ middle และ hind tibiae เชื่อมติดกัน อาจมีหรือไม่ มี spur ปกติ anal point กว้างและกลมบริเวณส่วนปลาย และมีสันแข็ง ตามยาว 1 คู่ แต่ไม่มี spine cluster	4
	terminal combs ของ middle และ hind tibiae แยกกันชัดเจน และมียาวน้อย 1 อัน ที่มี spur ยาว anal point มีหลายรูปแบบและหลายโครงสร้าง ส่วนมาก ยาวเรียว และมีกลุ่มของ spine มี microtrichia และ macrotrichia	5
4	dorsal appendage มีความยาวมากกว่าความกว้างมาก และมีลักษณะคล้ายนิ้ว มือ มีตุ่มเป็นฐานบริเวณตอนกลาง 1 อัน ที่ประกอบด้วยขนตรงยาว 1 เส้น digitus มีขนาดเล็กและซ่อนอยู่หลัง dorsal appendage; median appendage ประกอบด้วยขนที่มีลักษณะคล้ายขน anal point เกือบเป็นรูปสามเหลี่ยม กว้างที่สุดบริเวณฐาน แล้วค่อยๆ เรียวลงจนมีลักษณะกลมที่ปลายยอด และมี สันตามยาว 1 คู่ ปกติ tibial combs รวมกันและไม่มี spur	<i>Micropsectra</i> Kieffer
	dorsal appendage เป็นรูปไข่ ไม่มีตุ่มและขนที่ฐาน digitus ยาวและเชื่อม ต่อไปถึงขอบด้านในของ dorsal appendage มีขนบน median appendage แบบธรรมดาหรือคล้ายใบไม้ anal point กว้างและปลายกลม มีเกล็ด 1 คู่ มี ลักษณะเป็นสัน tibial combs มี spur สั้นๆ 1-2 อัน	<i>Paratanytarsus</i> Bause
5	ตามีขนเล็กๆ ปกติเป็นแบบ cuneiform	<i>Zavrelia</i> Kieffer
	ตาไม่มีขนปกคลุม	6
6	anal point กว้าง กลมบริเวณตอนปลาย มีหนามขนาดเล็กจำนวนมากอยู่เป็น จุดๆ แต่ไม่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มๆ และเป็นสันตามยาว มีตาแบบ reniform และตอนกลางของตาไม่ยื่นออกมา ER มีค่ามากกว่า 1.0; antenoprotum กว้างและแยกออกบริเวณตอนกลาง	<i>Neozavrelia</i> Goethebuer
	anal point ไม่มีกลุ่มของหนามจำนวนมาก แต่พบบ่อที่มีลักษณะยาวเรียว และมีกลุ่มหนามหรือสันแข็งตายาว ตายื่นออกมาบริเวณตอนกลางอย่าง ชัดเจน ER มีค่าน้อยกว่า 1.0 มาก antenoprotum เชื่อมบริเวณตอนกลาง	7
7	ปีกมี macrotrichia บนครึ่งหน้าเท่านั้น median appendage ยาวและแตก แขนงหรือมี lamellar satae	<i>Cladotanytarsus</i> Kieffer

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

กุญแจจำแนก

	ปีกปกคลุมด้วย macrotrichia หนามากเกือบทั้งหมดของด้านบน median appendage ไม่มี lamellar setae ยาวและแตกแขนง	8
8	hind tibia มี terminal comb 1 อัน ที่ไม่มี spur ปีกเป็นแบบ cuneiform; R4+5 ไปสิ้นสุดที่ก่อนถึงปลายของ Cu1; gonostylus ยาวเรียว	<i>Stempellina</i> Bause
	terminal comb ทั้ง 2 อันของ hind tibia เป็นเคียว ปีกยื่นยาวไปถึงหรือไม่ถึง anal lobe; R4+5 ยาวไปถึงปลายของ Cu1	9
9	ปลาย R4+5 อยู่เหนือปลาย Cu1 ไม่มี digitus	<i>Stempellinella</i> Brundin
	ปลาย R4+5 ยาวถึงปลาย Cu1 อาจมีหรือไม่มี digitus	10
10	ส่วนหลังของ Gonostylus แคบลงทันทีทันใด anal point ยาว ด้านข้างขนานกัน มีขอบตามแนวยาวและไม่มีกลุ่มของหนาม ไม่มี digitus	<i>Rheotanytarsus</i> Bause
	Gonostylus เรียบและเรียวลงไปด้านหลัง anal point กว้าง มีกลุ่มของหนามอยู่ระหว่างสันแต่ละด้าน อาจมีหรือไม่มี digitus	<i>Tanytarsus</i> van der Wulp

ที่มา: Sasa and Kikuchi (1995)

ตารางผนวกที่ 5 ส่วนผสมของสารรักษาสภาพเซลล์ที่ใช้ในการเก็บรักษาไข่รีนน้ำจืดและตัวอ่อน
หนอนแดงระยะแรกฟัก (หน่วย: กรัมต่อลิตร)

สารรักษา สภาพเซลล์	ส่วนผสม (กรัมต่อลิตร)								pH
	NaCl	KCl	NaHCO ₃	CaCl ₂	MgCl ₂	1 g/l MgSO ₄	glucose	trehalose	
0.9% NaCl	9.000	-	-	-	-	-	-	-	7.0
Modified Fish Ringer's solution	6.500	3.000	0.200	0.300	-	-	-	-	7.5- 7.8
Embryo solution	0.584	0.010	-	0.118	0.204	0.4 ml	-	-	7.0
Glucose solution	-	-	-	-	-	-	20.000	-	7.0- 7.5
Trehalose solution	-	-	-	-	-	-	-	20.000	7.0- 7.5

ที่มา: พลชาติ (ม.ป.ป.)

ตารางผนวกที่ 6 การเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ (โดยน้ำหนักแห้ง) ของหนอนแดง

Chironomus fuscipes ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์ และไรแดง

ตัวอย่าง	คุณค่าทางอาหาร (เปอร์เซ็นต์)					สภาพตัวอย่าง
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	
หนอนแดง	88.34					น้ำหนักเปียก
ระยะแรกฟัก	11.31	55.62	4.57	6.54	14.45	น้ำหนักแห้ง
โรติเฟอร์*	92.04					น้ำหนักเปียก
	3.65	68.08	4.94	13.63	6.45	น้ำหนักแห้ง
ไรแดง*	89.96					น้ำหนักเปียก
	8.51	64.68	2.97	6.83	9.03	น้ำหนักแห้ง

ที่มา: * พรพรรณ (2547)

ตารางผนวกที่ 7 การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบของกรดอะมิโนทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง)
ของหนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์* และไรแดง

องค์ประกอบกรดอะมิโน (มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัม)	หนอนแดง ระยะแรกฟัก	โรติเฟอร์*	ไรแดง*
<u>Essential amino acid</u>			
Arginine	1,905.89	2,684.36	3,125.47
Histidine	1,503.48	1,846.43	1,623.22
Isoleucine	1,188.89	1,255.95	1,446.51
Leucine	2,683.38	3,387.99	3,508.02
Lysine	3,053.72	3,515.10	3,166.77
Methionine	1,201.26	60.46	561.68
Phenylalanine	2,122.71	2,193.65	2,616.22
Threonine	817.97	2,210.68	2,411.62
Tryptophan	490.24	418.62	609.01
Valine	1,310.53	1,807.28	2,200.52
<u>Non-essential amino acid</u>			
Alanine	3,099.81	2,435.10	3,615.20
Aspartic acid	3,510.53	5,287.46	4,833.76
Cystine	824.54	426.24	37.87
Glutamic acid	5,183.67	6,767.47	6,171.57
Glycine	1,891.88	1,977.47	2,461.06
Proline	1,621.35	2,376.50	2,232.45
Serine	766.57	2,681.70	2,758.42
Tyrosine	1,106.57	2,585.90	2,324.09

ที่มา: * พรพรรณ (2547)

ตารางผนวกที่ 8 การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบกรดไขมันทั้งหมด (โดยน้ำหนักแห้ง) ของ
หนอนแดง *Chironomus fuscipes* ระยะแรกฟัก โรติเฟอร์* และไรแดง*

องค์ประกอบของกรดไขมัน (กรัม ต่อ 100 กรัม)	หนอนแดง ระยะแรกฟัก	โรติเฟอร์*	ไรแดง*
Lauric acid (C12:0)	0.10	0.07	0.05
Myristic acid (C14:0)	0.19	0.42	-
Myristoleic acid (C14:1)	-	0.17	0.08
Pentadecanoic acid (C15:0)	-	0.07	0.04
Palmitic acid (C16:0)	0.67	1.74	1.08
Palmitoleic acid (C16:1 n-7)	0.19	0.61	0.22
Heptadecanoic (C17:0)	0.10	0.04	0.06
Cis-10 Heptadecanoic acid (C17:1)	-	0.03	0.04
Stearic acid (C18:0)	0.48	0.52	0.33
Oleic acid (C18:1 n-9)	-	1.65	1.29
Cis-Vaccenic acid (C18:1 n-7)	-	0.23	0.30
cis-9,12-Linoleic acid (C18:2 n-6)	1.16	0.68	0.86
α -Linolenic acid (C18:3 n-3)	0.10	0.65	1.16
Arachidic acid (C20:0)	0.10	0.05	0.03
Arachidonic acid (C20:4 n-6)	0.10	0.04	0.05
cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid (C20:5 n-3)	0.29	0.11	0.04
Docosahexaenoic acid (DHA)	-	0.14	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบในตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

ที่มา: * พรพรรณ (2547)

ตารางผนวกที่ 9 ต้นทุนคงที่ในการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต

รายการ	ราคาต่อ หน่วย (บาท)	อายุการใช้ งาน (ปี)	จำนวนที่ใช้	ค่าเสื่อม ราคาต่อ รอบการ ผลิต (บาท)	หมายเหตุ
ค่าโรงเรือน ขนาด 4X5 เมตร	50,000	25	1 หลัง	60.27	
ค่าถังพลาสติก ขนาด 30 ลิตร	160	3	44 ใบ	7.17	คิดเฉลี่ยจาก การผลิตครั้ง ละ 4 ถังต่อ รอบการผลิต
เครื่องให้อากาศ ขนาด 1.5 นิ้ว	12,000	5	1 เครื่อง	7.33	
อุปกรณ์อื่นๆ	1,600	1	1 ชุด	4.89	
รวม				79.66	

หมายเหตุ คิดค่าเสื่อมราคาโดยตัดมูลค่าซากเป็นศูนย์เมื่อหมดอายุการใช้งาน

ตารางผนวกที่ 10 ต้นทุนผันแปรในการผลิตหนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต

รายการ	ราคาต่อหน่วย	ปริมาณการใช้	ค่าใช้จ่ายต่อ รอบการผลิต (บาท)	หมายเหตุ
ค่าอาหารปลา	24 บาท/กิโลกรัม	0.0025 กรัม/ตัว/วัน	120.69	ให้ระยะ 10 วัน (งดให้อาหารวัน เริ่มปล่อย)
ค่าน้ำประปา	8.50 บาท/ลูกบาศก์เมตร	0.02 ลูกบาศก์ เมตร/รอบการผลิต	0.68	ไม่มีการ เปลี่ยนถ่าย น้ำตลอด ระยะการ ผลิต
ค่าแรงในการ ทำงาน	194 บาท/วัน	1 คน ทำงานวันละ 8 ชั่วโมง	213.40	
ค่าไฟฟ้า	คิดตามอัตราการใช้	196.944 หน่วย/ รอบการผลิต	50.71	คิดเฉลี่ยจาก รอบการ ผลิตจำนวน 4 ถัง
รวม			385.48	

ตารางผนวกที่ 11 ตารางคำนวณค่าไฟฟ้าที่ใช้ในการผลิตหนองแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต

ส่วนที่ 1 ค่าไฟฟ้าฐาน			
1.1 ค่าพลังงานไฟฟ้า			
5 หน่วยแรก (หน่วยที่ 1-5)		0	บาท
10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 6-15)	(10x1.3576)	13.576	บาท
10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 16-25)	(10x1.5445)	15.445	บาท
10 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 26-35)	(10x1.7968)	17.968	บาท
65 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 36-100)	(65x2.1800)	141.700	บาท
50 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 101-150)	(50x2.2734)	113.670	บาท
250 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 151-400)	(46.944x2.7781)	130.415	บาท
รวม		432.774	บาท
1.2 ค่าบริการ		3.003	บาท
รวมค่าไฟฟ้าฐาน		435.777	บาท
ส่วนที่ 2 ค่าไฟฟ้าผันแปร (Ft)			
จำนวนพลังงานไฟฟ้า x ค่า Ft	(196.944x0.777x11/30)	56.109	บาท
ส่วนที่ 3 ค่าภาษีมูลค่าเพิ่ม 7%			
(ค่าไฟฟ้าฐาน + ค่า Ft) x 7/100	(440.964+153.02548)x0.07	15.246	บาท
รวมเงินค่าไฟฟ้า	440.964+56.11+15.25	507.132	บาท

หมายเหตุ คัดคำนวณจากการผลิตทั้งหมด 44 ถัง ในรอบการผลิต 11 วัน

ที่มา: การไฟฟ้านครหลวง (2552)

ตารางผนวกที่ 12 ข้อมูลการผลิตที่ใช้ในการนอนแดงระยะแรกฟักต่อรอบการผลิต

รายการ	อัตรา	หน่วย	หมายเหตุ
ถังที่ใช้ในการผลิตทั้งหมด	44	ถัง	
จำนวนวันที่ใช้ต่อรอบการผลิต	11	วัน	
จำนวนแรงงาน	1	คน	
ปริมาณการเก็บเกี่ยวต่อวัน	4	ถัง	
พื้นที่กั้นถัง	1,257.14	ตารางเซนติเมตร	
พื้นที่ยัดเกาะรวม	12,571.4	ตารางเซนติเมตร	แผ่นสำหรับยัดเกาะ จำนวน 10 แผ่นต่อถัง
อัตราปล่อยลงเลี้ยง	1	ตัวต่อตารางเมตร	
จำนวนตัวอ่อนที่ใช้ต่อวัน	50,286		4 ถังต่อรอบการผลิต ต่อวัน
อัตรารอดเฉลี่ย	60	เปอร์เซ็นต์	
จำนวนพ่อแม่พันธุ์ทั้งหมด	30,413	ตัว	
สัดส่วนเพศ	1:1		
จำนวนแม่พันธุ์	15,206	ตัว	
อัตราการวางไข่	62.92	เปอร์เซ็นต์	
ปริมาณฟักไข่ทั้งหมด	9,567.87	ฟัก	
ความคดของฟักไข่เฉลี่ย	718.42	ฟองต่อฟัก	
ปริมาณไข่ทั้งหมด	6,873,747	ฟอง	
อัตราการฟักเฉลี่ย	91.82	เปอร์เซ็นต์	
ปริมาณนอนแดงระยะแรก	6,311,474	ตัว	
ฟักทั้งหมด			
- นำไปเลี้ยงเป็นพ่อแม่พันธุ์	50,286	ตัว	
- นำไปใช้ประโยชน์อื่นๆ	6,261,188	ตัว	
รวมต้นทุนคงที่	79.66	บาท	
รวมต้นทุนผันแปร	385.48	บาท	
รวมต้นทุนทั้งหมด	465.14	บาท	
ต้นทุนเฉลี่ย	0.074	บาทต่อพันธุ์ตัว	

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	เรือเอกนิทัศน์ ทิพย์กองลาศ
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 9 สิงหาคม 2513
สถานที่เกิด	จังหวัดนครศรีธรรมราช
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี คณะประมง ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระดับปริญญาโท บัณฑิตวิทยาลัย สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	หัวหน้าฝ่ายบริหารจัดการด้านการประมง (นักวิชาการประมงชำนาญการ)
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สำนักงานประมงจังหวัดตาก กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	รางวัลชมเชยผลงานวิชาการประจำปี พ.ศ. 2548 สาขาการวิจัยด้านการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืด กรมประมง
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ทุนสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การ มหาชน) ประจำปีการศึกษา 2548