

## วัสดุและวิธีการ

### การรวบรวมตัวอย่าง

วันที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ได้จาก light traps ติดตั้งไว้ที่ ๓ จังหวัด ทางภาคเหนือของประเทศไทย คือ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และแพร่ ดังนี้ คือ

๑. จังหวัดเชียงราย : ติดตั้งที่สถานีทดลองพาน ตำบลเมืองพาน อำเภอพาน จากเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๑๖ ถึงเดือน ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๑๗ โดยเก็บทุกวันจันทร์ พุธ และ ศุกร์ เวลา ๑๘.๐๐ น. - ๖.๐๐ น. ในวันรุ่งขึ้น

๒. จังหวัดเชียงใหม่ : ตัวอย่างวันที่ใช้ศึกษาจากจังหวัดเชียงใหม่นี้ ได้จาก collection ของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ประยุกต์แห่งประเทศไทย จาก light traps ของอำเภอสาร์ภี สันป่าตอง แมริม สันกำแพง คอยสะเก็ด จากปี พ.ศ. ๒๕๑๓ ถึงปี พ.ศ. ๒๕๑๖

๓. จังหวัดแพร่ : ติดตั้งที่ตำบลแม่คำมี อำเภอร้องกวาง จากเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๑๖ ถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. ๒๕๑๗ โดยเก็บทุกวันจันทร์ พุธ และศุกร์ เวลา ๑๘.๐๐ น. - ๖.๐๐ น. ในวันรุ่งขึ้น

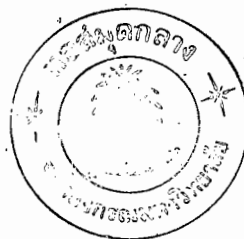
นำตัวอย่างแมลงที่เก็บรวบรวมได้จาก light traps มาฆ่าด้วย chloroform เก็บรักษาไว้ใน ๙๐% ethyl alcohol เพื่อนำตัวอย่างแมลงมาแยกเอารีนออก

### การแยกรีน

นำตัวอย่างแมลงที่รวบรวมได้ทั้งหมดในแต่ละวันมาแยกรีนออกโดยการคัดเลือกผ่าน Stereo-microscope (ตัวอย่างรีนจากอำเภอพาน ในขณะที่ทำการแยกรีนได้ทำการนับจำนวนของรีนไว้ด้วยเพื่อศึกษา seasonal distribution) จากการแยกรีนนี้พบจำนวนรีนมากที่อำเภอพาน โดยเฉพาะปลายเดือนกันยายนและต้นเดือนตุลาคมพบจำนวนรีนมากที่สุด ที่จังหวัดแพร่พบรีนจำนวนน้อยมาก ในบางวันไม่พบรีนเลย

จากตัวอย่างวันที่แยกออกมาได้ นำตัวอย่างวันที่พบแต่ละชนิดมาทำสไลด์เพื่อการ  
จำแนกชนิด

การทำสไลด์เพื่อการจำแนกชนิด



ใช้วิธีของ Wirth (Chanthawanich, 1963)

ขั้นที่ ๑ - ละลายผลึก phenol ใน absolute ethyl alcohol และเขย่า  
ขวดบ่อยครั้ง

ขั้นที่ ๒ - ผสม canada balsum in xylene กับ phenol จากขั้นที่หนึ่ง  
ในอัตราส่วน ๒ : ๑

ขั้นที่ ๓ - นำตัวอย่างวันที่จาก ๙๐ % ethyl alcohol เข้าในสารละลาย  
phenol จากขั้นที่หนึ่ง ทิ้งไว้ ๑ คืน หรือมากกว่านั้น เพื่อให้วันที่นิสและอ่อน

ขั้นที่ ๔ - ย้ายวันที่จากขั้นที่สามใส่ในของผสมจากขั้นที่สอง โดยใช้หลอดดูด ทิ้งไว้  
๑ ชั่วโมง

ขั้นที่ ๕ - นำวันที่จากขั้นที่สี่วางบนสไลด์ที่มีของผสมจากขั้นที่สองอยู่ ๑ - ๒ หยด  
ใช้เข็มปลายเล็กคัดส่วนหัว ปีก ออก และท้องแยกจากกัน ในกรณีที่ทำสไลด์ของตัวผู้จะต้อง  
คัดส่วนปลายของท้องที่มี male genitalia ออกมา

ขั้นที่ ๖ - (ในกรณีที่วันที่ตัวใหญ่ วางเศษกระเจกชั้นเล็กในน้ำยาบนสไลด์เพื่อ  
ป้องกันวันที่จืดขาด) ปิด cover glass บนที่กึ่งแหล่งที่เก็บรวบรวมได้ & วันที่รวบรวมได้

ขั้นที่ ๗ - นำสไลด์จากขั้นที่หกเข้าตู้อบ ๕๐° - ๙๐° ซ. จนกว่าสไลด์แห้ง เติม  
canada balsum in xylene ในกรณีที่นำยาบนสไลด์แห้ง

002312

## การจำแนกริ้น

การจำแนกสกุลของริ้นใน family Ceratopogonidae ทำได้โดยอาศัย key ของริ้นของโลก (Ratanaworabhan, 1969 และ Wirth, Ratanaworabhan และ Blanton, 1973) เป็นพื้นฐานในการจำแนก แต่เนื่องจากยังไม่มี key ของริ้นในประเทศไทยของ family นี้ จึงได้จัดริ้นออกเป็น ๕ กลุ่ม เพื่อสะดวกในการจำแนกคือ

กลุ่มที่ ๑ - กลุ่มที่มี well-developed empodium เห็นได้ชัดหรืออาจมีขนาดเล็ก ลำตัวปกคลุมด้วยขน ปีกมี macrotrichia

กลุ่มที่ ๒ - กลุ่มที่มี empodium ขนาดเล็ก ขามี claw ขนาดไม่เท่ากันอย่างน้อยที่ขา ๑ คู่ในตัวเมีย ปีกมี M - petiolate f M 1+2 อยู่หลัง r - m crossvein

กลุ่มที่ ๓ - กลุ่มที่มี empodium ขนาดเล็กหรือไม่เห็นขามี claw ขนาดเท่ากันทุกขาในตัวเมีย ปีกมี M - petiolate fM 1+2 อยู่หลัง r - m crossvein

กลุ่มที่ ๔ - กลุ่มที่มี empodium ขนาดเล็กหรือไม่เห็น T5 มี batonnets ปีกมี M - sessile fM 1+2 อยู่หน้าหรือก่อน r - m crossvein

กลุ่มที่ ๕ - กลุ่มที่มี empodium ขนาดเล็กหรือไม่เห็น T5 ไม่มี batonnets ปีกมี M - sessile fM 1+2 อยู่หน้าหรือก่อน r - m crossvein

จากนั้นนำริ้นแต่ละกลุ่มจำแนกสกุลได้โดยอาศัยลักษณะของการจำแนกชนิด โดยเปรียบเทียบจาก description ของริ้นในสกุลต่าง ๆ และ Paratype ที่มีอยู่เปรียบเทียบด้วย

ในการจำแนกชนิดของริ้นทำได้โดยอาศัย key to species ของ genus ต่าง ๆ ที่มีอยู่ พร้อมกับเปรียบเทียบกับ Paratype ที่มี

ในกรณีที่จำแนกชนิดของวันไม่ได้ เนื่องจากไม่มี key และ paratype  
เปรียบเทียบได้แยกไว้เป็น unknown species และอธิบายลักษณะไว้เพื่อการจำแนก  
ต่อไปในอนาคต

### ลักษณะที่ใช้ในการจำแนกชนิด

#### ลักษณะภายนอก ได้แก่

ส่วนหัว : หนวด ทำการนับจำนวนของปล้องหนวด ตรวจดูรูปร่าง สี และ  
ขนาดของปล้องหนวด ขนที่ปล้อง

ตา ตรวจดูลักษณะของตาวา อยู่ชิดกันหรือห่างจากกัน

maxillary palpus ทำการนับจำนวนของปล้อง ตรวจดูรูปร่าง  
สี ขนาดของปล้อง และตรวจหา sensory organ ที่ปล้องพร้อมตำแหน่งที่อยู่

ส่วนอก : ปีก ตรวจดูรูปร่างของปีก wing venation จำนวนของ  
anterior radial cell ความยาวของ costa สีหรือ markings บนปีก  
และดู microtrichia หรือ macrotrichia บนปีก  
ขา ตรวจดูรูปร่าง สี ของขา และ spines บนขาพร้อมตำแหน่ง  
ที่อยู่ tarsomere ตรวจดูรูปร่างของปล้อง spine หรือ batonnets บนปล้อง  
พร้อมตำแหน่งที่อยู่ claws ตรวจดู ขนาด รูปร่าง และจำนวนของ claws ของขา  
แต่ละคู่ empodium ตรวจหาและดูขนาดของ empodium ออกรูปร่าง สี  
markings บนอกและ spines หรือ bristles บนอก

ส่วนท้อง : abdomen ตรวจดูรูปร่างของ abdomen และหา hair tuft  
ที่ปล้องท้องที่ ๘ ของตัวเมีย

#### ลักษณะภายใน ได้แก่

ซากกรไก ตรวจดูรูปร่างและขนาดของ mandible teeth

gland rod ตรวจหา gland rods ใน abdomen ของตัวเมีย

ในการจำแนกชนิดของรีนทอองพิจารณาอวัยวะเพศด้วย ในกรณีที่เป็นตัวเมีย ไข่  
ทำการตรวจหา spermathecae เพื่อบันทึกจำนวน และพิจารณารูปร่าง ในกรณีที่เป็นตัวผู้  
ได้ทำการตรวจรูปร่างของ male genitalia.



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย