## ผลการทดลอง

๑. วงจรชีวิตของยุง *Aedes aegypti*

เลี้ยงยุงตัวผู้และตัวเมียอย่างละ ๑๐๐ ตัว ด้วยน้ำตาลกลูโคสและเลือดลูกไก่ ไข่ที่วางแต่ละวันจะแยกน้ำแยกกันไว้ บันทึกระยะเวลาที่ไข่ฟักเป็นตัว และระยะเวลาที่ลูกน้ำใช้ในการเจริญเติบโตระยะต่าง ๆ จนเป็นยุง และเริ่มวางไข่ ได้ผลเฉลี่ยดังนี้ คือ

| | |
|---|---|
| ระยะจากไข่เป็นลูกน้ำ | ๓ วัน |
| ระยะจากลูกน้ำเป็นตัวดักแด้ | ๗ วัน |
| ระยะจากดักแด้เป็นยุง | ๒ วัน |
| ระยะเวลาจากเป็นตัวยุงถึงกินเลือด | ๒ วัน |
| ระยะวางไข่ภายหลังที่ได้รับอาหารเลือด | ๔ วัน |

๒. วงจรการวางไข่

แยกดักแด้ที่มีอายุไล่เรี่ยกันประมาณ ๑๐๐ ตัว ซึ่งจะกลายเป็นยุงภายในเวลา ๒ – ๓ วัน ให้ยุงเหล่านี้กินเลือดลูกไก่นานประมาณ ½ ชั่วโมง คัดเฉพาะยุงที่กินเลือดเต็มที่ใส่กรง ๒ กรง แต่ละกรงมีตัวผู้ตัวเมียอย่างละ ๕๐ ตัว กรงหนึ่งตั้งไว้ในห้องเลี้ยงแมลง ส่วนอีกกรงหนึ่งอยู่ในห้องธรรมดา ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยระหว่าง ๒๖ – ๓๒° ซ. และความชื้นสัมพัทธ์ ๖๕ – ๘๐% บันทึกจำนวนไข่ที่วางในแต่ละชั่วโมงติดต่อกันไปเป็นเวลา ๕ วัน ๕ คืน ทุกครั้งที่นำถ้วยวางไข่ออก จะต้องมีถ้วยใหม่วางแทนที่เพื่อมิให้การวางไข่ต้องชงักิ ได้ผลการทดลองดังนี้ คือ

ภายในห้องทดลอง (Insectarium)

ตามตารางที่ ๑ และภาพที่ ๑ ข. ยุงจะเริ่มวางไข่ตั้งแต่เวลา ๑๑.๐๐ น.ของวันที่ ๓ ภายหลังจากที่ได้รับอาหารเลือก และจะวางไข่ติดต่อกันไปจนกระทั่งในเวลา ๑๖.๐๐ – ๑๗.๐๐ น. จะวางไข่มากที่สุด จากนั้นจำนวนไข่ที่วางก็จะเริ่มลดลงจนกระทั่งเวลา ๑๙.๐๐ น.จะหยุดวางไข่ การวางไข่ในวันที่ ๔, ๕, ๖, และ ๗ ก็ดงดำเนินแบบเดียวกัน แต่เวลาที่เริ่มวางไข่และหยุดวางไข่แตกต่างกันเล็กน้อย แต่จำนวนไข่ที่วางในระหว่างเวลา ๑๖.๐๐ น. – ๑๗.๐๐ น. ของทุกวันจะมากกว่าเวลาอื่นทั้งหมด ในวันที่ ๖ และที่ ๗ การวางไข่จะเว้นระยะบ้างไม่ติดต่อกันไปทุก ๆ ชั่วโมง

เหมือน ๓ วันแรก ปริมาณของไข่ที่วางทั้งหมดตลอดเวลา ๕ วันนี้เท่ากับ ๖,๖๔๒ ฟอง

หาค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ทั้งหมดตลอดเวลา ๕ วันในแต่ละชั่วโมงนี้ใช้วิธีของReddow และGillett (1957) ซึ่งดำเนินตามวิธีของWilliam (1934) ใช้สูตร

$$\log M_G + 1 = \frac{1}{n}(\log X_1 + \log X_2 + \ldots + \log X_N)$$

$$= \frac{\Sigma \log X}{N}$$

$X_1, X_2, X_3$ = จำนวนไข่ในวันที่ ๑, ๒, ๓ ..... N

ปรากฏว่าจำนวนไข่เฉลี่ยในแต่ละชั่วโมงจะสูงที่สุดในเวลา ๑๖.๐๐ – ๑๗.๐๐ น. = ๘๓.๖๕ ฟอง ดังแสดงในภาพที่ ๒ แต่ระหว่าง 14.00 - 15.00 น = ๘๓.๕๕ ฟอง

ภายนอกห้องทดลอง

ตามตารางที่ ๒ และภาพที่ ๑ ก. นุ่งจะเริ่มวางไข่ตั้งแต่เวลา ๗.๐๐ น. ของวันที่ ๓ หลังจากได้รับอาหารเสริม และวางไข่ติดต่อกันไปจนถึงเวลา ๑๕.๐๐ – ๑๖.๐๐ น. จะวางไข่มากที่สุด การวางไข่สิ้นสุดในเวลา ๑๙.๐๐ น. นุ่งจะวางไข่เป็นวงจรเช่นเดียวกันนี้ติดต่อกันไปในวันที่ ๔, ๕, ๖ และ ๗ โดยมีเวลาเริ่มวางไข่และสิ้นสุดการวางไข่แตกต่างกันเล็กน้อย นุ่งจะไม่วางไข่ในเวลากลางคืนเลย จำนวนไข่ที่วางมากที่สุดอยู่ระหว่างเวลา ๑๕.๐๐ – ๑๖.๐๐ น. ทุกวัน จำนวนไข่ที่ได้ทั้งหมด ๒,๒๓๕ ฟอง

ค่าเฉลี่ยของจำนวนไข่ทั้งหมดตลอดเวลา ๕ วันในแต่ละชั่วโมงนั้นสูงสุดในเวลา ๑๕.๐๐ – ๑๖.๐๐ น. = ๗๔.๐๕ ฟอง ดังแสดงไว้ในภาพที่ ๒ ส่วนการคำนวณเช่นเดียวกับตอนแรก

การทดลองทั้งสองนี้นุ่งจะวางไข่มากที่สุดในวันที่ ๔ หลังจากได้รับอาหารเสริมเช่นเดียวกัน ส่วนเวลาที่วางไข่มากที่สุดแตกต่างกัน ๑ ชั่วโมง ปริมาณไข่ทั้งหมดในห้องทดลองมากกว่าภายนอกห้องทดลอง ทั้งนี้เนื่องจากความชื้นและอุณหภูมิซึ่งแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้แสดงว่าวงจรของการวางไข่ของนุ่งขึ้นอยู่กับความสว่างและความมืดเป็นสำคัญ

๓. นิสัยในการวางไข่

ลูกนุ่งที่มีอายุประมาณ ๓ วันมาเลี้ยงไว้ในกรงโดยให้อดอาหารน้ำทาง ๑ วัน แล้วจึงให้กินเสริมลูกไก่ แยกนุ่งที่กินเสริมเต็มที่แล้วนี้ใส่กรงประมาณกรงละ ๑๐๐ – ๒๐๐ ตัว เนื่องจากการทดลอง

นี้เป็นการเปรียบเทียบจำนวนไข่ที่วางบนผิวน้ำและบนกระดาษกรอง โดยให้พื้นที่ผิวน้ำเท่ากับพื้นที่ของกระดาษกรองเหนือน้ำ (Wood 1962) จึงใช้ถ้วยวางไข่ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๔ นิ้ว สูง ๔½ นิ้ว ใส่กระดาษกรองให้แนบกับพื้นผิวในตามความสูงของถ้วยโดยรอบ แล้วใส่น้ำลงไปในถ้วนให้ระดับน้ำสูง ๔½ นิ้ว จะเหลือกระดาษกรองอยู่เหนือน้ำ ½ นิ้ว พื้นที่ของผิวน้ำและพื้นที่ของกระดาษกรองเหนือน้ำจะเท่ากันคือ ๑๒.๕๖ ตารางนิ้ว การนับจำนวนไข่บนผิวน้ำและกระดาษกรองจะกระทำต่อเนื่องกันเป็นเวลา ๔ วัน กระดาษกรองที่มีไข่จะถูกนำขึ้นจากถ้วยวางไข่ก่อน ส่วนน้ำในถ้วยจะถูกนำไปกรองไข่ที่อยู่ในน้ำนี้จะติดอยู่บนกระดาษกรอง นำกระดาษกรองไปคลี่บนกระดาษซับ เมื่อน้ำจากกระดาษกรองซึมไปบ้างแล้ว จะช่วยให้ไข่กระจายออกจากกัน ทำให้สะดวกแก่การนับจำนวน ส่วนไข่บนกระดาษกรองที่อยู่เหนือน้ำนั้นใช้ดินสอขีดแบ่งเป็นช่อง ๆ เพื่อนับจำนวนได้สะดวกขึ้นและไม่มีการนับพลาด

จากการทดลองปรากฏว่าไข่ส่วนมากจะอยู่บนกระดาษกรอง บริเวณที่หนาแน่นที่สุดคือบริเวณที่กระดาษกรองสัมผัสกับผิวน้ำและเหนือขึ้นไปเล็กน้อย นอกจากนี้ตรงรอยขอบรองกระดาษกรองจะมีไข่เรียงกันอยู่ตามความสูงของถ้วน จากตารางที่ ๓ จะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของไข่บนผิวน้ำเท่ากับ ๑๐.๓๕ ของไข่ทั้งหมด

๔. <u>จำนวนไข่ที่วางครั้งแรกในชีวิตยุง</u>

นำลูกแดงมาประมาณ ๓๐๐ ตัว ใส่ถ้วยตั้งไว้ในกรงโดยไม่ต้องให้อาหาร เมื่อลูกแดงเป็นยุงทั้งหมดแล้วจึงให้กินเลือดคนใกล้ชิดที่ แยกยุงแต่ละตัวใส่กล่องเลี้ยงยุงซึ่งเป็นกล่องพลาสติก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ๒ นิ้ว สูง ๒½ นิ้ว ปากกล่องมีถ้วยน้ำยุงชนิดละเอียด ภายในกล่องใส่สำลีชุบน้ำพอชุ่มเต็มก้นกล่องหนาประมาณ ½ นิ้ว แล้วปิดไว้ด้วยกระดาษกรองชนิดดิบ เพื่อป้องกันมิให้ยุงวางไข่บนสำลีและสะดวกในการนับจำนวนไข่ทั้งหมดมีจำนวน ๒๖๘ ตัว ทำหมายเลขประจำไว้ทุกกล่อง ระหว่างนี้ให้ลูกเลดน่าเป็นอาหารโดยวางไว้บนผ้ามุ้งด้านบนของกล่อง บันทึกจำนวนไข่ของยุงแต่ละตัวเมื่อยุงหยุดวางไข่แล้ว นำกระดาษกรองที่มีไข่อยู่นี้ไปแช่น้ำแยกกันไว้ตามหมายเลขเดิมเพื่อนับจำนวนลูกน้ำที่เกิดต่อไป รายละเอียดแสดงไว้ในผนวก ก. ซึ่งได้แสดงรายการย่อไว้ในตารางที่ ๔ ผลที่ได้ปรากฏว่าจำนวนไข่น้อยที่สุดและมากที่สุดเท่ากับ ๑๑ และ ๑๓๔ ฟองตามลำดับ เมื่อคำนวณหาจำนวนไข่เฉลี่ยของยุงหัวหนึ่งในทางสถิติจะได้ ๕๔.๘๗ ± ๑.๔ ฟอง จำนวนลูกน้ำที่เกิดจากไข่นี้เท่ากับ ๘๗.๖๕

002462

๕. ระยะเวลาของลูกน้ำระยะต่าง ๆ

นำไข่ของยุงที่เพิ่งวางใหม่ ๆ ภายในเวลา ๑ ชั่วโมงมาแช่น้ำเพื่อให้ฟักออกมาเป็นลูกน้ำในเวลาพร้อม ๆ กัน ซึ่งลูกน้ำจะออกจากไข่ในวันที่ ๒ คัดเอาลูกน้ำ ๑๐๐ ตัวที่เกิดใหม่ ๆ ในเวลา ๑๕ นาทีมาเลี้ยงแยกกันในกล่องพลาสติกกล่องละตัว แต่ละกล่องใส่น้ำประปาไว้ประมาณ ๒๕ ลบ.ซม. ให้ขนมปังเป็นอาหาร เปลี่ยนอาหารและน้ำใหม่ทุก ๆ ๒ วัน เฝ้าดูการเจริญของลูกน้ำทุก ๆ ชั่วโมง แล้วบันทึกผลไว้ สังเกตการเจริญในระยะต่าง ๆ ได้โดยดูการลอกคราบซึ่งจะมีทั้งหมดด้วยกัน ๔ ครั้ง แล้วจึงเป็นดักแด้ ในลูกน้ำระยะแรก (first instar) ที่จะเปลี่ยนไปเป็นระยะที่ ๒ (second instar) ลูกน้ำมีขนาดเล็กมาก ต้องใช้ความสังเกตอย่างดี เพื่อให้เห็นได้รัดเจนขึ้นจึงได้เทออกมาใส่จานเคลือบเล็ก ๆ ตรวจที่ลอกออกมาจะถูกดูดทิ้งไปทันที สังเกตและบันทึกจำนวนลูกน้ำที่ลอกคราบทุกระยะไปจนกระทั่งเป็นตัวดักแด้จึงใช้ยุงปิดปากกล่องแต่ละกล่องไว้ บันทึกเวลาและจำนวนดักแด้กลายเป็นยุงจนหมดพร้อมทั้งตรวจเพศของยุงด้วย

ทำการทดลองเช่นเดียวกันนี้โดยใช้น้ำฝนแทนน้ำประปา

เมื่อเฝ้าดูการลอกคราบเป็นระยะต่าง ๆ ของลูกน้ำทุกชั่วโมงสังเกตพบว่า ลูกน้ำที่ลอกคราบใหม่เป็นส่วนหัวของลูกน้ำจะขาวจนเห็นได้ชัดแม้จะดูด้วยตาเปล่า และจะค่อย ๆ กลายเป็นสีดำในเวลาต่อมา เมื่อใกล้จะลอกคราบอีกครั้งหนึ่งจะมีสีดำจนเห็นได้เด่นชัด รูปร่างลักษณะที่ได้ในระยะต่าง ๆ นั้นแสดงไว้ในภาพที่ ๔,๕,๑๐,๑๑,๑๒,๑๓,๑๔,๑๕ และ ๑๖

ระยะเวลาการเจริญของลูกน้ำที่เลี้ยงในน้ำประปาและน้ำฝนนั้นแสดงไว้ในตารางที่ ๕ และตารางที่ ๖ ตามลำดับ ส่วนกราฟแสดงการเจริญนั้นแสดงไว้ในภาพที่ ๑ ผลที่ได้ปรากฏว่าในน้ำประปาระยะเวลาการเจริญเติบโตตั้งแต่ออกจากไข่จนถึงเป็นตัวยุงกินเวลาทั้งสิ้น ๑๔๒ ชั่วโมง ส่วนในน้ำฝนกินเวลา ๑๔๔ ชั่วโมง ทั้งสองการทดลองนี้ยุงที่เกิดมาตัวแรกเป็นตัวผู้ ในน้ำประปาเกิดในชั่วโมงที่ ๑๒๑ ในน้ำฝนเกิดในชั่วโมงที่ ๑๒๓

ตารางที่ ๗ เป็นการเปรียบเทียบระยะเวลาการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่หาได้ทางสถิติ พร้อมด้วยค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐานและความนัยสำคัญ ระยะการเจริญเติบโตเฉลี่ยตั้งแต่ลูกน้ำระยะที่ ๑ จนถึงเป็นตัวยุงเท่ากับ ๑๓๔.๖๔ ± ๐.๔๘ ในน้ำประปา ส่วนในน้ำฝนได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ ๑๓๔.๕๓ ± ๐.๓๔ เมื่อหาความแตกต่างของความมีนัยสำคัญในน้ำทั้งสองนี้ปรากฏว่า ไม่มีความแตกต่างกันในการเจริญในน้ำทั้งสอง

การเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะที่ ๑ ถึงระยะที่ ๓ มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ ๘ แสดงระยะเวลาการเจริญเติบโตเฉลี่ยของลูกน้ำแต่ละระยะรวมทั้งระยะดักแด้ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของลูกน้ำระยะที่ ๒ สั้นที่สุด และระยะที่สั้นนานที่สุด ส่วนระยะดักแด้กินเวลาประมาณ ๒ วัน ซึ่งเท่ากับที่ชั้งเกตได้จากการเลี้ยงรักษาพันธุ์ การเจริญเติบโตแต่ละระยะไม่มีการเหลื่อมล้ำกันเลย เมื่อทำ $\chi^2$ ระหว่างจำนวนตัวผู้และตัวเมียที่เกิดในน้ำทั้งสอง ที่ระดับความเชื่อมั่น ๕๕% ได้ค่า $\chi^2 = ๐.๗๐$ น้อยกว่าค่า $\chi^2$ จากตารางมาตรฐานซึ่งเท่ากับ ๓.๘๔๑ ดังนั้นสรุปได้ว่าจำนวนตัวผู้และตัวเมียในน้ำทั้งสองไม่มีความแตกต่างกัน

๖. <u>อัตราส่วนของเพศ</u>

นำดักแด้ที่ทราบจำนวนแน่นอนและเข้าเป็นดักแด้ในวันเดียวกันไปเก็บไว้ในกรง เมื่อลอกคราบเป็นยุงทั้งหมดแล้วจึงนับจำนวนยุงตัวเมียที่เกิดดังแสดงไว้ในตารางที่ ๙ เมื่อหาค่าเฉลี่ยของการทดลองทั้ง ๕ ชุดแล้วได้ยุงตัวเมียเท่ากับ ๔๗.๒๕%

จากจำนวนยุงตัวผู้และตัวเมียที่เกิดนี้เมื่อนำไปหาค่าทางกฎษฎีการทดสอบ chi square แล้วจะได้ดังตารางที่ ๙ และเมื่อทำ chi square test ระหว่างยุงตัวผู้และตัวเมียที่เกิดทั้ง ๕ - การทดลองนั้นแล้วได้ค่า $\chi^2_{(๑)} = ๔.๐๑๒๓$ แต่จากตารางมาตราฐานที่ระดับความเชื่อมั่น ๕๕% ได้ค่า $\chi^2_{(๑)} = ๕.๔๘๘$ ดังนั้นผลที่ได้ไม่มีนัยสำคัญ แสดงว่าจำนวนยุงตัวผู้และตัวเมียที่เกิดไม่มีความแตกต่างกัน ฉะนั้นอัตราส่วนของเพศที่ได้ก็ควรเท่ากับ ๑ ๖๖ : ๑๐๐

๗ <u>อิทธิพลของความหนาแน่นต่อระยะเวลาการเจริญของลูกน้ำ</u>

นำลูกน้ำที่เกิดจากไข่ใหม่ๆในเวลาเดียวกันเป็นจำนวนต่างๆกันดังแสดงไว้ในตารางที่ ๑๐ มาเลี้ยงในถาดขนาดเท่ากันซึ่งมีพื้นที่ผิว ๘๗๔ ซม.$^2$ และมีปริมาตรของน้ำเท่ากันคือ ๒,๐๐๐ลบ.ซม. ให้อาหารลูกน้ำเต็มที่ทุกๆถาด บันทึกระยะเวลาการเจริญเติบโตตั้งแต่ลูกน้ำระยะแรกจนกระทั่งเป็นตัวดักแด้หมด พร้อมทั้งจำนวนดักแด้ที่เกิดในแต่ละวัน ผลการทดลองที่ได้ดังตารางที่ ๑๐ นั้น ปรากฏว่าอัตราการตายของลูกน้ำแปรตามความหนาแน่นของลูกน้ำ ระยะเวลาจากลูกน้ำจนเป็นตัวดักแด้ตัวแรกและตัวสุดท้ายนั้นจะมีความแตกต่างกันมาก แสดงว่าความหนาแน่นมีผลทำให้ระยะเวลาการเจริญไม่พร้อมกัน

เมื่อหาค่า $t$ test ที่ $t_{๐.๕}$ ระหว่างลูกน้ำ ๕๐๐ตัวและ ๑,๐๐๐ตัวได้ค่า $t_{๐.๕} = ๓.๖๔$ ซึ่งสูงกว่าค่า $t_{๐.๕}$ จากตาราง ก็เป็น significant แสดงว่าถ้าเลี้ยงลูกน้ำ ๕๐๐ตัว จะได้ผลดีกว่า ๑,๐๐๐ตัว ฉะนั้นจึงควรเลี้ยงลูกน้ำ ๑๐๐ตัวต่อน้ำ ๔๐๐ ลบ.ซม.

๔. อายุขัยของยุง

๑. อายุของยุงตัวเมียเมื่อได้กินเลือดธรรมดาและเลือดที่มีไมโครฟิลาเรีย ศัตยุงตัวเมียที่มีอายุ ๒ วัน และยังไม่เคยได้รับอาหารเลือดหรือน้ำตาลมาก่อนใส่กรง ๆ ละ ๑๕๐ ตัว ๒ กรง กรงหนึ่งให้กินเลือดคนธรรมดาโดยวิธียื่นแขนเข้าไปในกรงให้ยุงกินเลือดอยู่นานประมาณ ๓๐ นาที อีกกรงหนึ่งให้กินเลือดคนที่มีไมโครฟิลาเรียอยู่ในเลือดประมาณ ๗ - ๘ ตัว ต่อ ลบ.มม. โดยวิธีเดียวกัน เมื่อยุงกินเลือดแล้วถ่ายเอาตัวที่กินเลือดเต็มที่มาชนิดละ ๑๐๐ ตัว นำไปเลี้ยงในกรงซึ่งมีกรงปูด้วยกระดาษขาวเพื่อสังเกตเห็นยุงที่ตายได้ชัดเจน ให้น้ำตาลกลูโคสและใส่ลูกไข่ไว้เพื่อให้ยุงวางไข่ตามปกติ บันทึกจำนวนยุงที่ตายในแต่ละวันไว้จนยุงตายหมด ทั้งนี้โดยไม่ให้ยุงนั้นกินเลือกอีกเลย ผลการทดลองที่ได้แสดงรายละเอียดไว้ในตาราง ข. และมีรายการย่อแสดงไว้ในตารางที่ ๑๑ จะเห็นได้ว่ายุงที่กินเลือดธรรมดามีอายุอยู่ได้นานที่สุด ๓๔ วัน ส่วนที่กินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรียอยู่ได้นานที่สุด ๔๒ วัน อายุเฉลี่ยของยุงพวกแรกเท่ากับ ๒๔.๓๐ ± ๑.๔๔ วัน ส่วนพวกหลังเท่ากับ ๒๑.๖ ± ๑.๐๔ วัน จากอายุเฉลี่ยนี้จะเห็นได้ว่ายุงที่กินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรียมีอายุสั้นกว่า อาจจะเนื่องมาจากการเจริญเติบโตและปริมาณของไมโครฟิลาเรียที่อยู่ในยุงก็ได้ ยุงทั้งสองชนิดนี้จะวางไข่ครั้งเดียวเท่านั้น

๒. อายุของยุงตัวเมียและตัวผู้เมื่อให้กินน้ำตาลอย่างเดียว ศัตยุงตัวผู้และตัวเมียมาชนิดละ ๑๐๐ ตัว นำไปเลี้ยงไว้ในกรงโดยให้น้ำตาลกลูโคส ๑๐๕ เป็นอาหาร ภายในกรงใส่ลูกไข่วางไข่ไว้ด้วย บันทึกจำนวนยุงที่ตายเช่นเดียวกับตอนแรก ผลการทดลองแสดงไว้ในตาราง ค. และมีรายการย่อแสดงไว้ในตารางที่ ๑๒ ปรากฏว่ายุงตัวเมียจะอยู่ได้นานที่สุด ๔๓ วัน และมีอายุเฉลี่ย ๑๑.๔ ± ๒.๑๔ วัน ยุงตัวผู้อยู่ได้นานที่สุด ๔๑ วัน และมีอายุเฉลี่ย ๑๔.๔ ± ๑.๑๑ วัน จากอายุเฉลี่ยยุงตัวผู้จะมีอายุสั้นกว่าตัวเมียประมาณ ๒ เท่า แสดงไว้ในตารางที่ ๑๔

๓. อายุยุงตัวเมียเมื่อได้กินเลือดลูกไก่วันเว้นวันและน้ำตาลกลูโคส ๑๐๕ ศัตยุงตัวเมียและตัวผู้มาชนิดละ ๑๐๐ ตัว นำไปเลี้ยงไว้ในกรงซึ่งมีถ้วยวางไข่และน้ำตาลกลูโคส ให้กินเลือดลูกไก่วันเว้นวัน บันทึกจำนวนยุงที่ตายไปแต่ละวันไว้เช่นเดียวกับตอนแรก ผลการทดลองแสดงรายละเอียดไว้ในตาราง ง. และมีรายการย่อแสดงในตารางที่ ๑๓ ผลที่ได้นี้ยุงตัวเมียจะอยู่ได้

นานที่สุด ๖๒ วัน ส่วนอายุเฉลี่ยเท่ากับ ๒๗.๑ ± ๑.๕๔ วัน ตัวผู้อยู่ได้นานที่สุด ๔๑ วัน อายุเฉลี่ยเท่ากับ ๑๕.๔ ± ๐.๔๒ วัน

การมีชีวิตอยู่ของยุงทั้ง ๓ ชนิดนี้แสดงไว้ในภาพที่ ๔,๕ และ ๖ ตามลำดับ

๔. ปริมาณของเลือดที่ยุงกินแต่ละครั้ง

วิธีที่ ๑

คัดยุงตัวเมียที่มีอายุประมาณ ๒ วัน และไม่เคยได้รับอาหารเลือดมาก่อนประมาณ ๑๐๐ ตัว ใส่ในหลอดทดลอง ทำให้ยุงสอบด้วยแก๊สคาบอนไดออกไซด์ และใส่สำลีปิดปากหลอดไว้ นำหลอดทดลองที่มียุงสอบนี้ไปชั่งด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด ขณะที่ทำการชั่งยุงจะต้องสอบหมดทุกตัว มิฉะนั้นจะทำให้ค่าคลาดเคลื่อน บันทึกน้ำหนักไว้ นำยุงที่ทราบน้ำหนักแล้วนี้ไปให้กินเลือดลูกไก่โดยพยายามให้ยุงกินเลือดหมดทุกตัว เลือกเฉพาะยุงที่กินเลือดเต็มพุงใส่หลอดทดลองอันเดิม ฆ่ายุงทั้งหมดในหลอดนี้ด้วย Chloroform นำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง บันทึกน้ำหนักไว้ ชั่งหลอดทดลองเปล่า ๆ พร้อมด้วยสำลีที่ปิดปากหลอด น้ำหนักที่ได้นำไปลบออกจากน้ำหนักที่ชั่งได้ ๒ ครั้งแรก จะได้เป็นน้ำหนักของยุงก่อนกินเลือดและหลังกินเลือดแล้ว หาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักของยุงแต่ละตัวทั้งก่อนกินเลือดและหลังกินเลือด ผลต่างของน้ำหนักเฉลี่ยทั้งสองนี้คือน้ำหนักของเลือดที่ยุงแต่ละตัวกิน ผลการทดลองดังในตารางที่ ๑๕ ได้น้ำหนักเฉลี่ยของยุงก่อนกินเลือด ๒.๒๒ มก. และน้ำหนักเฉลี่ยของยุงที่กินเลือดแล้ว ๕.๒๒ มก. ดังนั้นน้ำหนักเฉลี่ยของเลือดที่ยุงแต่ละตัวกินเท่ากับ ๓.๐๐ มก.

เนื่องจากวิธีที่กล่าวข้างบนนี้ไม่สะดวก ต้องเสียเวลาในการที่จะพยายามให้ยุงที่ชั่งน้ำหนักไว้ก่อนแล้วนั้นกินเลือดทุกตัว ซึ่งยุงบางตัวเมื่อดูดจากสอบแล้วไม่ยอมกินเลือดต่อไปอีก บางตัวไม่ยอมกินเลยแม้จะให้อาหารเลือดอยู่นาน ดังนั้นกว่าจะได้ชั่งน้ำหนักของยุงที่กินเลือดแล้วนี้จึงเสียเวลามาก จึงได้ทำการทดลองวิธีที่ ๒ ตามวิธีของ Wharton (1957)

วิธีที่ ๒

คัดยุงตัวเมียมาประมาณ ๑๐๐ – ๒๐๐ ตัว ให้กินเลือดลูกไก่นานประมาณ ๓๐ นาที ยุงบางตัวจะมีโอกาสได้กินเลือด แต่บางตัวไม่มีโอกาสได้กินเลือดเลย เนื่องจากจำกัดเวลาให้อาหารดังกล่าวแล้ว ทั้งนี้ก็เพื่อจะให้ได้ยุงเป็น ๒ พวก คือพวกที่กินเลือดกับที่ไม่ได้กินเลือด พอครบ ๑๐ นาที ก็ฆ่ายุงทั้งกรงทันทีด้วย Chloroform แยกเอาตัวที่กินเลือดไปชั่งน้ำหนักพวกหนึ่ง และชั่งน้ำหนักของพวกที่ไม่ได้กินเลือดอีกพวกหนึ่ง หาน้ำหนักเฉลี่ยของยุงหนึ่งตัวทั้งสองพวก ผลต่างของน้ำหนักเฉลี่ยที่ได้

ก็คือน้ำหนักของเลือดที่ยุงแต่ละตัวกิน ผลการทดลองนี้แสดงไว้ในตารางที่ ๑๖ โดยน้ำหนักของเลือดที่ยุงหนึ่งตัวกินเฉลี่ยเท่ากับ ๒.๔๔ มก.

เมื่อหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเลือดเฉลี่ยจาก ๒ วิธีนี้นับแล้วน้ำหนักของเลือดที่ยุงตัวหนึ่งกินจะเท่ากับ ๒.๔๗ มก. = ๓.๐ มก. โดยประมาณ

๑๐. ลักษณะและการปรากฏตัวของไมโครฟิลาเรียในเลือดของคนไข้ที่ใช้ทดลอง

เจาะเลือดจากปลายนิ้วคนไข้เป็นจำนวน ๔๐ ลบ.มม. ทุก ๆ ๒ ชั่วโมง จนครบ ๒๔ ชั่วโมง นำไปทำ slide และย้อมสีด้วยสีอีโอซิน แล้วนำไปตรวจนับจำนวนไมโครฟิลาเรียในเลือด ผลการทดลองนี้แสดงไว้ในตารางที่ ๑๗ ปรากฏว่า พบตัวไมโครฟิลาเรียในเลือดตั้งแต่เวลา ๑๘.๐๐ น. ถึง ๖.๐๐ น. คือพบแต่ในเวลากลางคืนเท่านั้น และจะพบมากที่สุดเมื่อเวลา ๒๒.๐๐ น. ดังแสดงไว้ในภาพที่ ๗ แสดงว่าการปรากฏตัวของคนไข้ที่ใช้ทดลองนี้เป็นชนิด periodic form ลักษณะของไมโครฟิลาเรียที่พบนี้เป็นชนิดที่มีปลอกหุ้มรอบตัว ปลอกจะยาวกว่าตัวมาก มีวงแบนกว้างปลายหน้าแหลมและมีหนามแยกออกเป็น ๒ แฉก ห่างจากปลายหน้า ๑๒ – ๑๖ ไมครอน ตำแหน่งรูธรรมเสี้ยเปิดประมาณ $\frac{๒๘}{๑๐๐}$ จากปลายหน้า รูขับถ่ายหนักเปิดประมาณ $\frac{๘๕}{๑๐๐}$ จากปลายหน้า ส่วนหางเรียวเล็กลงทุกที ปลายหางสุดมีนิวเคลียสรูปกลมอันหนึ่งสีสีวัดกว่าอวัยวะอื่น ลักษณะของไมโครฟิลาเรียนี้แสดงไว้ในรูปที่ ๒๑

๑๑. การเจริญเติบโตของ Brugia malayi ในยุง

จากการติดตามดูการเจริญเติบโตของไมโครฟิลาเรียของ B. malayi ทุก ๆ กรึ่งชั่วโมง จนถึงชั่วโมงที่ ๔๕ นั้น มีรายละเอียดแสดงจำนวนไมโครฟิลาเรียที่พบในส่วนต่าง ๆ ของยุงไว้ในตารางที่ ๑๘ ผลที่ได้ปรากฏว่ามีไมโครฟิลาเรียสามารถไชทะลุผนังกะเพาะเข้าช่องท้องและผ่านไปยังกล้ามเนื้ออกได้ภายในเวลา $\frac{๑}{๒}$ หลังจากได้รับอาหารเลือด ไมโครฟิลาเรียแต่ละตัวในทุกส่วนของยุงยังคงเคลื่อนไหวแรงแรงมาก ถึงแต่ชั่วโมงที่ ๑๕ เป็นต้นมา เลือดในกะเพาะยุงจะจับตัวเป็นก้อนแข็ง ไมโครฟิลาเรียที่พบในส่วนนี้บางตัวก็ตายและที่ไม่ตายก็เคลื่อนไหวช้าลงมาก ถ้าไม่เอาเลือดไปดูกจะไม่เคลื่อนไหวเลย แสดงว่ามีไมโครฟิลาเรียบางส่วนที่ถูกกักอยู่ในกะเพาะโดยการจับตัวเป็นก้อนแข็งของเลือด และส่วนที่ตายก็จะถูกย่อยไปพร้อม ๆ กับเลือดด้วยก็ได้ จึงไม่พบไมโครฟิลาเรียในส่วนกะเพาะของยุงอีกเลยตั้งแต่ชั่วโมงที่ ๑๘ เป็นต้นมา

เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของไมโครฟิลาเรียโดยการชำแหละยุงทุก ๆ วัน วันละ ๕ ตัว หลังจากวันที่กินเลือดไปจนถึง ๑๕.๕ วัน แต่ละวันวัดความยาวความกว้าง พร้อมทั้งจำนวนและตำแหน่งของตัวอ่อนที่พบดังมีรายละเอียดแสดงไว้ในบนวก จ. และบนวก ฉ. อย่างละ ๖ ชุด ค่าเฉลี่ยของ ๖ ชุดนี้แสดงไว้ในตารางที่ ๑๕ และ ๒๐ การเจริญเติบโตและลักษณะของตัวอ่อนแต่ละระยะนั้นใช้ตามวิธีของ Wharton (1957) ซึ่งดำเนินตามวิธีของ Brug(1931) และ Feng(1936) ซึ่งเป็นที่นิยมกันอยู่ในขณะนี้

เมื่อยุงกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรียเข้าไปแล้ว ไมโครฟิลาเรียจะสลัดปลอกหุ้มตัวออกแล้วเจาะทะลุผนังกระเพาะออกมาสู่ช่องท้อง และผ่านไปยังทรวงอกภายในเวลา ๔.๕ วัน ในวันแรก ๆ ไมโครฟิลาเรียจะเคลื่อนไหวรวดเร็วมาก ต่อมาจะหดตัวสั้นเข้าและมีลำตัวแบนขึ้นเป็นตัวอ่อนระยะที่ ๑ ภายในเวลา ๑ – ๔.๕ วันแรก วัดขนาดเฉลี่ยได้ประมาณ ๑๔๐ ๏ ๑๔ ไมครอน ตัวอ่อนระยะนี้ไม่ค่อยเคลื่อนไหว มีปลายทางแหลมเล็กน้อย

ในวันที่ ๕.๕ – ๘.๕ ตัวอ่อนจะเจริญมากขึ้น แล้วต่อมาจะลอกคราบเป็นระยะที่ ๒ มีขนาดเฉลี่ยประมาณ ๒๐๐ ๏ ๒๔ ไมครอน ตัวอ่อนระยะนี้จะเคลื่อนไหวเร็วกว่าระยะที่ ๑ โดยการบิดตัวและเหยียดตัวอย่างรวดเร็ว แต่ไม่เคลื่อนที่ หางจะหดสั้นใสและปลายทางกลม ตัวอ่อนระยะที่ ๒ นี้จะเจริญเติบโตต่อไป จะพบตัวอ่อนระยะนี้ในส่วนทรวงอกของยุงเท่านั้น

ตั้งแต่ ๑๐.๕ วันขึ้นไป ตัวอ่อนระยะที่ ๒ จะลอกคราบเป็น ระยะที่ ๓ ซึ่งเป็นระยะติดต่อ มีขนาดเฉลี่ยประมาณ ๑,๐๐๐ ๏ ๒๗ ไมครอน ลักษณะของตัวอ่อนระยะที่ ๓ นี้แสดงไว้ในภาพที่ ๒๒ ตัวอ่อนจะเคลื่อนไหวรวดเร็วมาก แต่ถ้าเพิ่งลอกคราบใหม่ ๆ จะเคลื่อนไหวช้ากว่า ซึ่งจะพบในส่วนทรวงอกของยุง ส่วนมากจะพบตัวอ่อนระยะที่ ๓ นี้ในส่วนหัวของยุง

จากผลการทดลองที่ได้แสดงว่าการเจริญเติบโตของตัวอ่อนของ B. malayi ในยุง A. aegypti นี้ กินเวลาพอ ๆ กับในยุง Mansonia longipalpis ที่ Wharton (1957) ได้ทดลอง แต่มีการสูญเสียของตัวอ่อนในระหว่างการเจริญเติบโตมาก เพราะพบตัวอ่อนระยะที่ ๒ น้อย ส่วนตัวอ่อนระยะที่ ๓ นั้นยิ่งพบน้อยขึ้นไปอีก และพบเพียงตัวเดียวในยุงหนึ่งตัว จากการที่ถูกดักอยู่ในกะเพาะเป็นเวลานานและอัตราการรอดตายมากนี้แสดงว่า A. aegypti strain นี้มีสมรรถภาพในการรับเชื้อต่ำมาก

๑๖. ดัชนีการรับเชื้อในท้องทดลอง

ในการคำนวณหาค่าดัชนีการรับเชื้อในท้องทดลองนั้น ใช้ตามวิธีของ Wharton (1957) และวิธีของผู้เชี่ยวชาญเรื่องโรคเท้าช้างในเอกสารขององค์การอนามัยโลกปี ๑๙๖๒ เรื่อง Expert Committee on Filariasis ซึ่งมีดังต่อไปนี้ คือ

a. = Survival rate = $\frac{\text{Number of mosquitoes surviving in incubation period}}{\text{Number of mosquitoes fed}}$

b = Mature larvae rate = $\frac{\text{Number of mosquitoes with mature larvae}}{\text{Number of mosquitoes surviving incubation period}}$

c = Mature larvae density = $\frac{\text{Number of mature larvae}}{\text{Number of mosquitoes with mature larvae}}$

Index of experimental infection = a X b X c = $\frac{\text{Total number of mature larvae}}{\text{Number of mosquitoes fed}}$

เมื่อให้ยุงกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรียแล้วเลี้ยงยุงไว้ในถ้วยกระดาษให้ดูดเกลือเท่านั้นเป็นอาหาร เมื่อครบ ๑๒.๕ วันก็นำมาชำแหละและตรวจหาจำนวนตัวอ่อนที่ค้าง บันทึกผลไว้ดังแสดงในตารางที่ ๒๐ จะเห็นได้ว่าจากการชำแหละยุง ๑๒ รุ่น เป็นจำนวน ๑๐๐๐ ตัวเป็น พบยุงที่มีตัวอ่อนระยะติดต่อ ๗ ตัว โดยพบแต่ละตัวในยุงหนึ่งตัว ค่าดัชนีการรับเชื้อในห้องทดลองแต่ละรุ่นน้อยมาก แสดงว่า A. aegypti - นี้ยอมให้เชื้อ B. malayi strain เจริญเติบโตในตัวของมันได้ แต่การเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์พอ มีการหยุดเติมของไมโครฟิลาเรียในระหว่างการเจริญเติบโตสูง จึงพบตัวอ่อนระยะติดต่อน้อยมาก โอกาสที่จะถ่ายทอดเชื้อพันธุ์ไปให้แก่คนหรือสัตว์ก็ยิ่งมีน้อย และไม่อาจจะทดลองถ่ายเชื้อจากยุงนี้ไปให้แก่สัตว์ทดลองอื่น ๆ ได้ เพราะพบตัวอ่อนระยะที่ ๓ เพียงตัวเดียวในการทดลองแต่ละรุ่น

๑๗. อัตราการรับเชื้อของยุงตามลำดับ Generation

เตรียมยุงที่มีอายุประมาณ ๓ วัน ประมาณ ๑๐๐ ตัว นำไปให้กินเลือดคนไข้นานประมาณ ๓ ชั่วโมง แล้วแยกเอาตัวที่กินเลือดเต็มที่ไปเลี้ยงในกรง ให้น้ำตาลกลูโคสเป็นอาหารพร้อมทั้งใส่ถ้วยวางไข่ไว้ด้วย เมื่อเลี้ยงได้ ๑๒.๕ วัน ก็นำยุงไปชำแหละในน้ำยา Normal saline ภายใต้กล้องสำหรับชำแหละซึ่งสามารถจะนับจำนวนตัวอ่อนระยะติดต่อนี้ได้โดยไม่ต้องย้อมสี บันทึกจำนวนยุงที่ชำแหละและจำนวนยุงที่พบตัวอ่อนพร้อมทั้งจำนวนตัวอ่อนที่พบไว้ เรียกยุงรุ่นแรกที่ใช้ในการทดลองว่า $F_1$ ไว้ของ

ยุงชุดนี้นำไปแช่น้ำเพื่อเลี้ยงต่อจนเป็นตัวยุง เรียกยุงชุดนี้ได้ว่า $F_2$ เมื่อ $F_2$ เป็นยุงเพศแล้ว ก็นำไปกัดคนไข้อีกพร้อมทั้งให้วางไข่ด้วย นำไข่ของยุงชนิด $F_2$ ไปเลี้ยงต่อก็จะเป็น $F_3$ เลี้ยงยุงต่อเนื่องกันไปเช่นนี้จนกระทั่งถึง $F_4$ แต่ละ generation ทำการทดลองหาสมรรถภาพในการรับเชื้อเช่นเดียวกับ $F_1$ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ ๒๒ ปรากฏว่าใน generation ที่ ๒ และ ๖ ไม่พบยุงที่มีตัวอ่อนระยะติดต่อเลย สมรรถภาพการรับเชื้อของยุงใน generation หลัง ๆ ก็ไม่เพิ่มขึ้นรวมทั้งค่าดัชนีการรับเชื้อในห้องทดลองด้วย ที่โดยเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากว่าไม่ได้แยกเอาไข่ของยุงตัวที่พบเชื้อมาเลี้ยงต่อโดยเฉพาะ หากแต่เอาไข่ทั้งหมดของยุงที่พบและไม่พบเชื้อมาเลี้ยงต่อรวมกัน การผสมพันธุ์ระหว่างลูกของตัวที่รับเชื้อได้จึงอยู่ในวงกว้างเพราะลูกของยุงตัวที่พบเชื้อมีน้อยกว่ามาก และความสามารถในการรับเชื้อของยุง A. aegypti นี้ Macdonald (1962) พบว่าถูกควบคุมโดย sex-linked recessive gene จะแสดงลักษณะของการรับเชื้อเด่นชัดก็ต่อเมื่อยุงตัวนั้นเป็น Homozygous recessive ดังนั้นการทดลองแบบนี้จึงมีโอกาสน้อยมากที่จะได้สมรรถภาพการรับเชื้อของยุงเพิ่มขึ้นใน generation หลัง ๆ

จากเหตุผลดังกล่าวแล้วจึงได้ทำการทดลองใหม่อีกวิธีหนึ่ง โดยให้ยุงกินเลือดที่มีไมโครฟิลาเรีย แล้วเลี้ยงยุงแยกกันในกล่องพลาสติกกล่องละตัว ภายในกล่องมีที่สำหรับให้ยุงวางไข่แบบเดียวกับการทดลองหาจำนวนไข่ของยุง เมื่อเลี้ยงครบ ๑๒.๕ วันแล้วก็นำไปชำแหละ ถ้าพบเชื้อในยุงตัวใดก็เอาไข่ของยุงตัวนั้นมาเลี้ยงต่อ ทำเช่นนี้ต่อเนื่องกันไปจนได้ถึง 3 generation ผลการทดลองนี้แสดงไว้ในตารางที่ ๒๓

จะเห็นได้ชัดว่าอัตราการรับเชื้อของยุงและดัชนีการรับเชื้อในห้องทดลองเพิ่มสูงขึ้นมากใน generation ที่ ๒ และโดยเฉพาะอย่างยิ่งใน generation ที่ ๓ จำนวนตัวอ่อนที่พบในยุงหนึ่งตัวจะเพิ่มตามขึ้นด้วย ก็อได้จำนวนยุงที่พบเชื้อเพิ่มเป็น ๒๔.๖๕ จากเดิมที่พบเพียง ๑.๐๕ เท่านั้น แสดงให้เห็นชัดว่าความสามารถในการรับเชื้อของ A. aegypti strain นี้ ถ่ายทอดไปให้ลูกหลานได้และการจะเป็นลักษณะ recessive ดังนั้นถ้าให้ยุงถ่ายทอดสมรรถภาพการรับเชื้อนี้ไปให้ลูกหลานนาน ๆ เข้า ก็อาจจะได้ยุง A.aegypti ที่มีสมรรถภาพในการรับเชื้อสูงสามารถใช้เป็นประโยชน์ในห้องทดลองได้ ซึ่งจำเป็นจะต้องศึกษาในแง่กรรมพันธุ์ของยุงนี้โดยเฉพาะ