

ແມສງທີ່ກັບການທຸກສອງທາງພັນດູກຳສຳຄັນ



A Orientation



B Male song



C Following



D Male licking



E Copulation



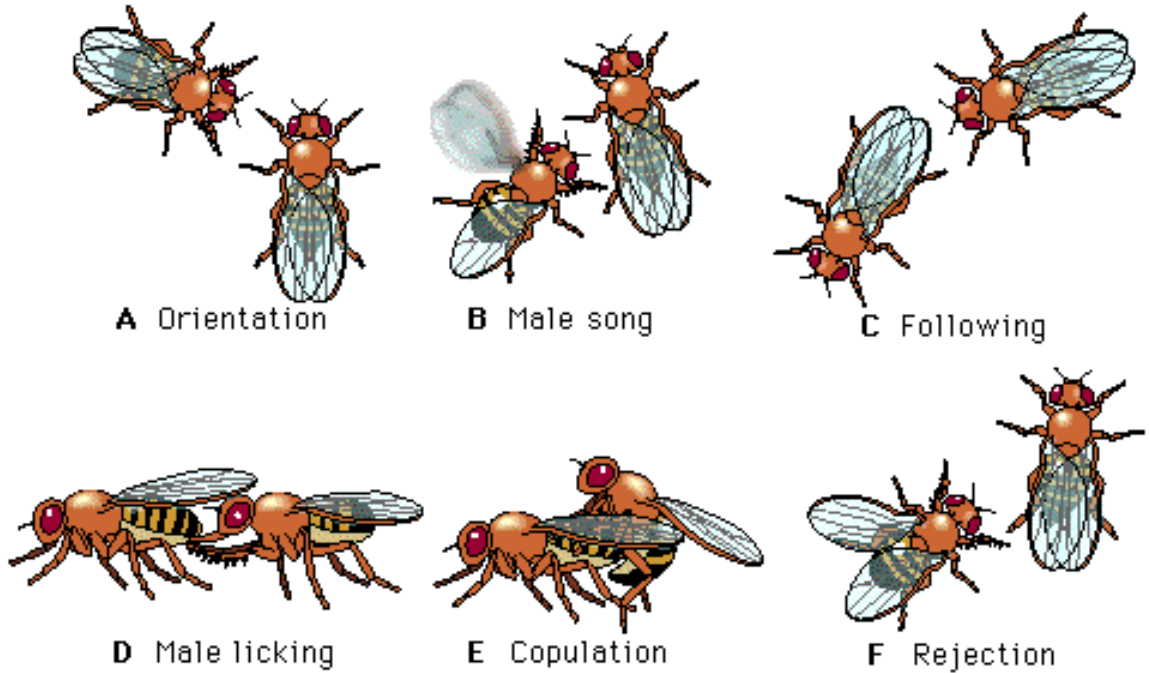
F Rejection

ບນບຸຸ ເຂັ້ວງຸ່

ກາດວິຸ່າຮີວິທຍາ ກາດວິທຍາກຳສຳຄັນ ມທາວິທຍາສັຍສິລປາກ

ວິທຍາເທພຣະຮາຸ່ງສຳນາມຂັ້ນເທຣັ ຮັ່ງທັກນຄຣປຸມ

แมลงที่เกี่ยวกับการทดสอบพันธุศาสตร์



http://www.phschool.com/science/biology_place/labbench/lab11/observe.html

นางนุช เอื้อวงศ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม

คำนำ

ในปัจจุบันการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตอาจสามารถทำได้หลายวิธี โดยผู้ศึกษาจะตัดสินใจเลือกใช้วิธีใดนั้นขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การใช้งาน เวลา งบประมาณและความสะดวก สำหรับการศึกษการถ่ายทอดเพื่อประกอบการศึกษาวิชาพันธุศาสตร์ ซึ่งนักศึกษามีเวลาจำกัดเพียง 1 ภาคการศึกษา และมีผู้เรียนจำนวนมาก วิธีการศึกษาที่เหมาะสมและเอื้อต่อการให้ประสบการณ์ตรงแก่นักศึกษาจึงน่าจะเป็นวิธีการวางแผนผสมพันธุ์สิ่งมีชีวิต และสิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติเหมาะสมคือแมลงหวี่ (*Drosophila melahogaster*) ทั้งนี้เพราะแมลงหวี่มีความแปรผันของลักษณะต่างๆ ที่ชัดเจนบังคับให้ผสมพันธุ์ได้มีลูกจำนวนมากไม่เปลืองเนื้อที่ในการเลี้ยงดูและที่สำคัญในช่วงเวลา 1 ภาคการศึกษานักศึกษาจะสามารถติดตามการถ่ายทอดลักษณะที่เป็นเป้าหมายได้ถึงอย่างน้อย 3 ชั่วรุ่น ซึ่งข้อมูลที่ได้จะทำให้สามารถวิเคราะห์ผลการถ่ายทอดได้อย่างสมบูรณ์

ผู้เขียนได้มีประสบการณ์เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยง การดูแลและการวางแผนการทดลอง ตลอดจนการเป็นผู้ดูแลให้คำแนะนำแก่นักศึกษาที่เรียนวิชาปฏิบัติการพันธุ-ศาสตร์มาเป็นระยะเวลายาวนาน และตระหนักถึงความสำคัญของสัตว์ทดลองชนิดนี้ จึงได้เรียบเรียงเอกสารเล่มนี้ขึ้น เพื่อมุ่งหวังให้เป็นแนวทางปฏิบัติของผู้ที่สนใจจะใช้ประโยชน์เพื่อประกอบการศึกษาทางพันธุศาสตร์ต่อไป

นนุช เอื้องวงศ์

กรกฎาคม 2555

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของแมลงหวี่	1
2	การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่เพื่อการศึกษา	10
3	ฟิโนไทป์และจีโนไทป์ของแมลงหวี่	20
4	การใช้แมลงหวี่ในการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรม ในห้องปฏิบัติการ	25
	บรรณานุกรม	45

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1-1	การพัฒนาของแมลงหวี่ในระยะต่างๆ	5
1-2	การเปรียบเทียบลักษณะเพศผู้และเพศเมีย (ตัวเต็มวัย) ของแมลงหวี่	8
3-1	ลักษณะฟีโนไทป์และยีนไทป์ของแมลงหวี่สายพันธุ์แท้ต่างๆ	24

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1-1	แมลงหวี่ (<i>Drosophila melanogaster</i>)	1
1-2	แสดงลักษณะ โครงสร้างของแมลงหวี่	2
1-3	แสดงลักษณะ โครงสร้างส่วนหัวของแมลงหวี่	2
1-4	ส่วนท้องของแมลงหวี่เพศผู้และเพศเมีย	3
1-5	ลักษณะ โครงสร้างของปีกแมลงหวี่	3
1-6	วงจรชีวิตของแมลงหวี่	4
1-7	ลักษณะการวางไข่ของแมลงหวี่	5
1-8	ลักษณะของไข่แมลงหวี่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X	5
1-9	ระยะของตัวหนอนแบ่งได้ 3 ระยะ	6
1-10	ลักษณะ โครงสร้างของตัวหนอนแมลงหวี่	7
1-11	ลักษณะของดักแด้ของแมลงหวี่	7
1-12	ลักษณะตัวเต็มวัยของแมลงหวี่	9
2-1	แสดงวิธีการย้ายแมลงหวี่เพื่อนำไปสลับ	14
2-2	แสดงวิธีการสลับแมลงหวี่	15
2-3	แมลงหวี่ที่สลับแล้วบนแผ่นฟอรั่มก้ำสีขาว	15
2-4	การย้ายแมลงหวี่ที่สลับอยู่คั่นขวดอาหาร	16
2-5	วิธีการคัดบริสุทธิ์	18
3-1	ลักษณะสีตาของแมลงหวี่	20
3-2	แผนที่ยีนบนโครโมโซม 4 คู่ของแมลงหวี่ (<i>D. melanogaster</i>)	21
3-3	ลักษณะสีตาของแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการ	22
3-4	ลักษณะสีตัวของแมลงหวี่	22
3-5	ลักษณะปีกของแมลงหวี่	22
4-1	วิธีการย้ายแมลงหวี่ออกจากหลอดอาหาร	28
4-2	การคัด pupa แมลงหวี่	29
4-3	แผนผังการผสมพันธุ์แมลงหวี่ 1 คู่ผสมพันธุ์	32
4-4	แผนผังการผสมสลับลักษณะสีตาของแมลงหวี่ 1 คู่ผสมพันธุ์	33

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4-5	ผังการทดลองการผสมพันธุ์แมลงหวี่สายตรง สายกลับ และการทำ Test cross	36
4-6	การย้ายแมลงหวี่และการนำแมลงหวี่ไปสลับ	42
4-7	การใส่กรวยกระดาษที่มีแมลงหวี่ที่สลบอยู่ลงในขวดโหล	43
4-8	แสดงการทดลอง fitness	44
4-9	แสดงการทดลอง phenocopy	44
	บรรณานุกรม	45

กิตติกรรมประกาศ

การเขียนหนังสือครั้งนี้จะสำเร็จลุล่วงไม่ได้ถ้าหากไม่ได้แรงใจในการเขียนจากบุคคลดังต่อไปนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เรณูเวชรัตน์พิมล ที่กรุณาให้คำแนะนำต่างๆ อีกทั้งยังสนับสนุนในการเขียนหนังสือ ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณฉวีกา เสงี่ยมาย ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการเขียนพร้อมทั้งตรวจแก้ไขหนังสือเล่มนี้พร้อมทั้งให้กำลังใจและสนับสนุนในการเขียนหนังสือในครั้งนี้ตลอดมา ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ วิมล ขวัญเกื้อ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา เป็นกำลังใจ และให้การสนับสนุนในการเขียนหนังสือเล่มนี้

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ คุณวิบูลย์ เอื้อวงศ์ พี่ๆ และเพื่อนๆ น้องๆ ทุกคน ขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่าน ที่คอยเป็นกำลังใจในการเขียนหนังสือได้สำเร็จลุล่วงด้วยดีตลอดมา

บทที่ 1 ลักษณะทั่วไปของแมลงหวี่

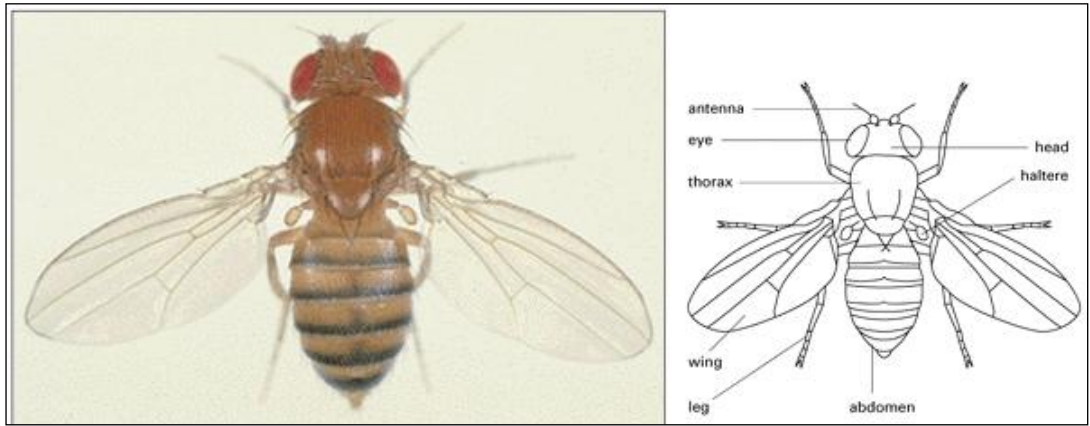
แมลงหวี่เป็นแมลงขนาดเล็กที่สามารถเพาะเลี้ยงและนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการได้ด้วยวิธีที่ไม่ยุ่งยาก มีวงจรชีวิตสั้นโดยเฉลี่ยประมาณ 14 วัน แมลงหวี่เพศเมียวางไข่ครั้งละประมาณ 400 ฟอง (วิมล, 2544) ในการศึกษาสามารถวางแผนการทดลองและบังคับผสมพันธุ์ได้ง่าย จึงนิยมนำมาใช้เป็นสัตว์ทดลองต้นแบบ (model) เพื่อประโยชน์ในการศึกษาทางพันธุศาสตร์ในระดับต่างๆ เช่น พันธุศาสตร์การถ่ายทอด เซลล์พันธุศาสตร์ อนุพันธุศาสตร์ และพันธุศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาของโครงสร้างร่างกาย เป็นต้น นอกจากนี้ยังถูกนำมาใช้ในการศึกษาทางชีววิทยาที่เกี่ยวข้องสรีระวิทยา และพฤติกรรมของสิ่งมีชีวิตในการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมต่างๆอีกด้วย

1. แมลงหวี่ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

แมลงหวี่ชนิดที่นิยมนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Drosophila melanogaster* (รูปที่ 1-1) ซึ่งรู้จักกันในชื่อสามัญว่า common fruit fly หรือ vinegar fly จัดอยู่ในคลาส (class) Insecta ออร์เดอร์ (order) Diptera แฟมิลี (family) *Drosophilidae* มีขนาดจีโนมประมาณ 165 ล้านคู่เบสมีสภาพเป็นดิพลอยด์ (diploid) ที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 8$ แมลงหวี่เพศผู้มีโครโมโซมเพศเป็น XY ส่วนเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น XX จัดเป็นแมลงหวี่ที่มีขนาดเล็ก ปีกคู่หน้าที่มีมองเห็นได้ชัดเจนใช้สำหรับบิน ส่วนปีกคู่ที่สองลดขนาดลงจนเป็นเพียงตุ่มเล็กๆ ทำหน้าที่ช่วยในการทรงตัว ปีกของแมลงหวี่มีลักษณะเป็นแผ่นบาง บนปีกมีขนคล้ายผีเสื้อกลางคืน ไม่มีเส้นขวางปีกยกเว้นที่โคนปีก (รูปที่ 1-2)



รูปที่ 1-1 แมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*)

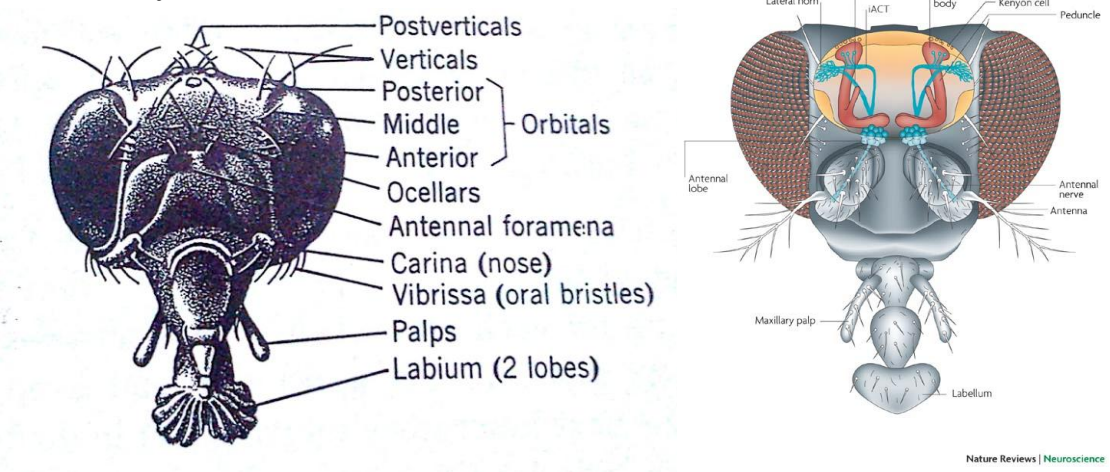


รูปที่ 1-2 แสดงลักษณะโครงสร้างของแมลงหวี่

ที่มา : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cell&part=A5630&rendertype=figure&id=A5632>

โครงสร้างร่างกายของแมลงหวี่สามารถแบ่งออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ ได้แก่ ส่วนหัว ออก และท้อง (รูปที่ 1-2)

1. ส่วนหัว (Head) ประกอบไปด้วยหมวดทำหน้าที่รับสัมผัส ตารวมทำหน้าที่รับภาพ ด้านหน้าส่วนล่าง ปากใช้สำหรับจับและกินอาหาร โดยทั่วไปปากของแมลงหวี่จะเป็นปากชนิดดูดกินและเลีย (รูปที่ 1-3)

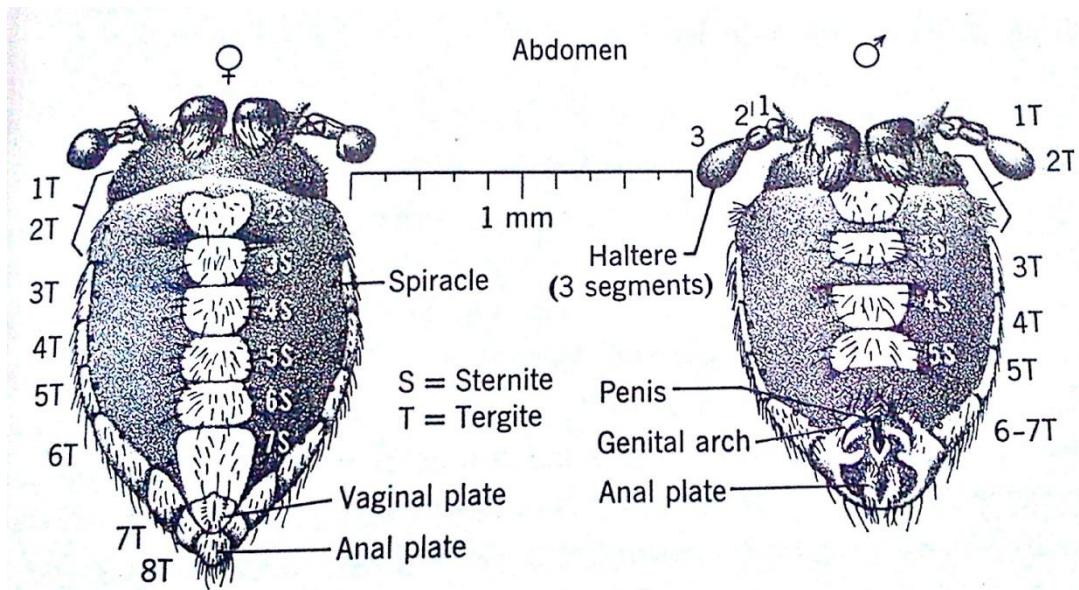


รูปที่ 1-3 แสดงลักษณะโครงสร้างส่วนหัวของแมลงหวี่

ที่มา : Monroe,1962. และ http://www.nature.com/nrn/journal/v8/n5/fig_tab/nrn2098_F1.html และ Monroe,1962.

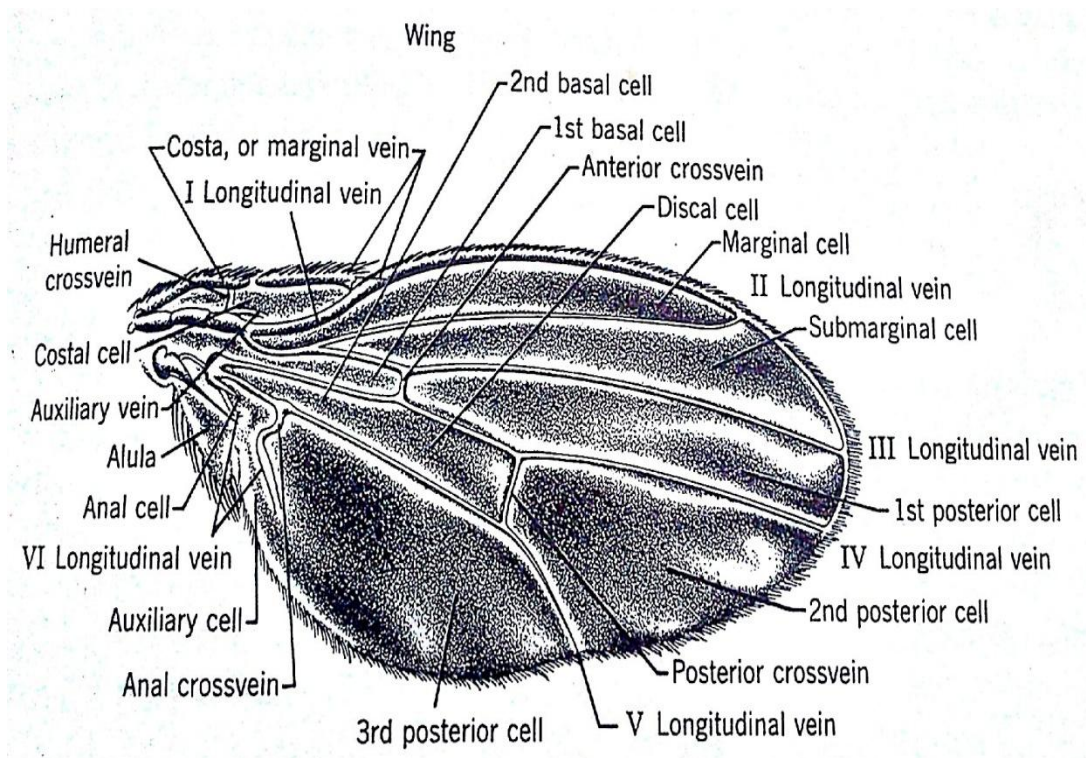
2. ส่วนอก (Thorax) ประกอบด้วยปล้อง 8 ปล้อง และมีขา 3 คู่ ซึ่งเป็นลักษณะเด่นเฉพาะตัวของแมลงหวี่ ขาของแมลงหวี่ใช้สำหรับคลานหรือเดินไปมา

3. ส่วนท้อง (Abdomen) แมลงหัวเพศเมียจะมีปล้องจำนวน 8 ปล้อง ส่วนแมลงหัวเพศผู้จะมีปล้องจำนวน 6-7 ปล้องที่มีลักษณะเหมือนกัน (รูปที่ 1-4) และด้านข้างของส่วนท้องมีรูหายใจ (spiracle) ปล้องละ 1 คู่



รูปที่ 1-4 ส่วนท้องของแมลงหัวเพศผู้และเพศเมีย

ที่มา : Monroe,1962.

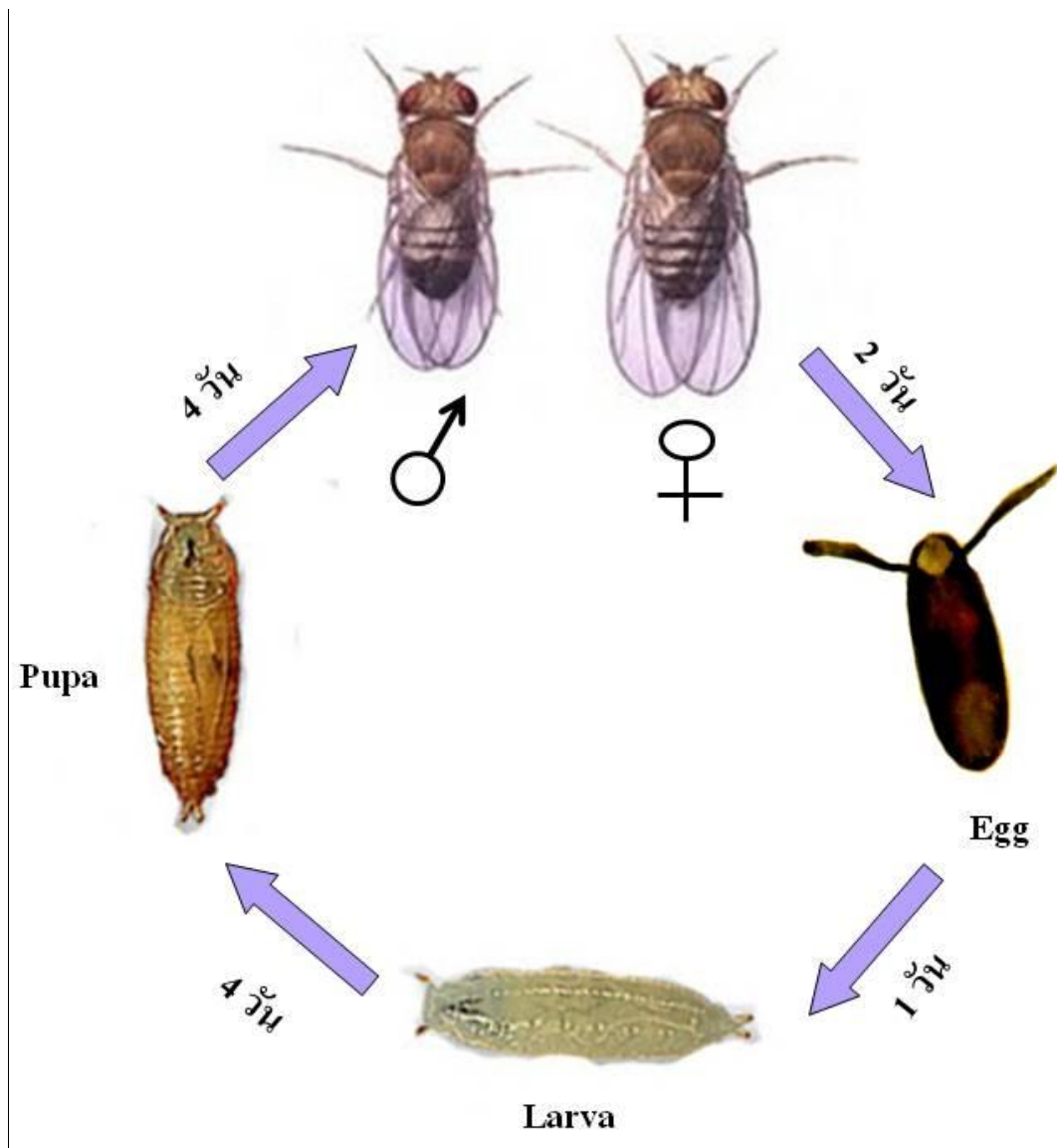


รูปที่ 1-5 ลักษณะโครงสร้างของปีกแมลงหัว

ที่มา : Monroe,1962.

2. วงจรชีวิตของแมลงหวี่

แมลงหวี่ที่เพาะเลี้ยงหรือเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียสจะมีวงจรชีวิตโดยเฉลี่ยประมาณ 14 วันนับตั้งแต่เริ่มวางไข่จนพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (รูปที่ 1-6) อย่างไรก็ตามพบว่า การเพาะเลี้ยงในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะมีผลให้ระยะเวลาของวงจรชีวิตสั้นลงหรืออาจยาวนานกว่าปกติได้ โดยการเพาะเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิสูงๆ มักมีผลให้วงจรชีวิตสั้นกว่าปกติ ในขณะที่การเลี้ยงอุณหภูมิต่ำจะทำให้มีวงชีวิตยาวนานมากขึ้น (<http://biology.arizona.edu/sciconn/lessons2/Geiger/intro.htm>) โดยทั่วไปจะสามารถแบ่งระยะการเจริญเติบโตของแมลงหวี่ใน 1 วงจรชีวิตได้เป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะไข่ ระยะตัวหนอน ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ซึ่งจะมีรูปร่างและระยะเวลาในการพัฒนาแตกต่างกันไป (รูปที่ 1-6 และตารางที่ 1-1)



รูปที่ 1-6 วงจรชีวิตของแมลงหวี่

ตารางที่ 1-1 การพัฒนาของแมลงหวี่ในระยะต่างๆ

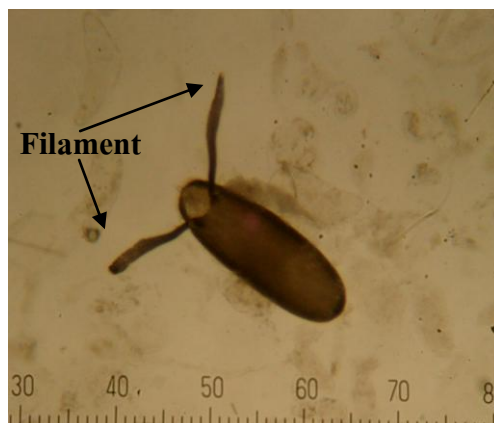
ชั่วโมง	วัน	ระยะ
0	0	วางไข่
0-22	0-1	ตัวอ่อน
22	1	ฟักออกจากไข่ (first instar)
47	2	First molt (second instar)
70	3	Second molt (third instar)
118	5	เริ่มเป็น pupa
122	5	“Prepupal” molt (fourth instar)
130	5 1/2	ดักแด้ : เริ่มเห็นหัว ปีก และขา
167	7	เริ่มเห็นสีตาของดักแด้
214	9	เป็นตัวเต็มวัยปีกแนบลำตัว
215	9	ตัวเต็มวัยสามารถบินได้

ที่มา : ดัดแปลงจาก Strickberger M.W., 1962



รูปที่ 1-7 ลักษณะการวางไข่ของแมลงหวี่

ที่มา : <http://www.cals.ncsu.edu/course/ent425/text01/impact2.html>

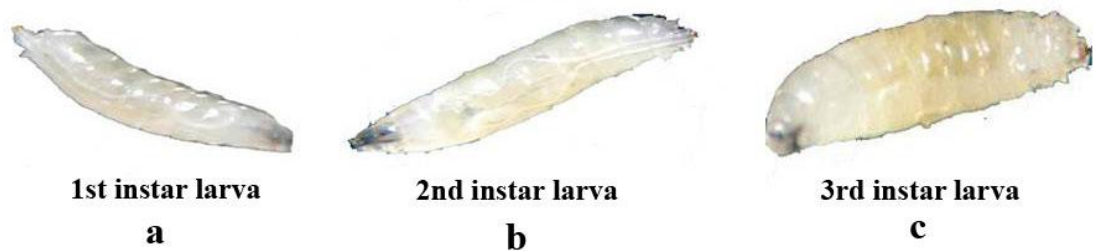


รูปที่ 1-8 ลักษณะไข่ของแมลงหวี่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40X

ระยะไข่ (egg) ในการวางไข่ของแมลงหวี่ แมลงหวี่จะวางไข่บริเวณผิวหนังของอาหารซึ่งอาหารที่มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญของแมลงหวี่จะต้องไม่แข็งหรือเหลวจนเกินไป (รูปที่ 1-7) ไข่ของแมลงหวี่มีลักษณะเป็นสีขาวยาวประมาณ 0.5 มิลลิเมตร เป็นรูปร่างรี ด้านหลังแบนกว่าด้านท้อง ที่ผิวเปลือกมีลักษณะเป็นรอยหกเหลี่ยมคล้ายรังผึ้งต่อกัน ปลายด้านหัวมีระยางค์ยื่นออกมา 2 เส้น เรียกฟิลาเมนต์ (filament) ซึ่งมีปลายแบนทำหน้าที่ช่วยพยุงไม่ให้ไข่จมลงไปในอาหาร (รูปที่ 1-8) แมลงหวี่เพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์จะเริ่มวางไข่หลังจากออกดักได้ 2 วัน โดยสามารถวางไข่ได้สูงสุด 400-500 ฟอง

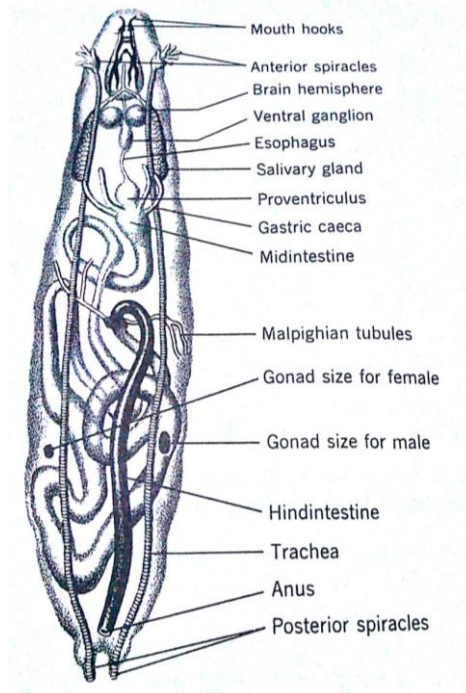
ระยะตัวหนอน (larva) โดยทั่วไปแล้วเอมบริโอ (embryo) ภายในไข่ที่ได้รับการผสมจะพัฒนากลายเป็นตัวหนอนและฟักออกจากไข่ภายในเวลา 1 วัน ตัวหนอนของแมลงหวี่มีลำตัวเป็นปล้อง มีสีขาวยาว ปากมีสีดำ มีท่ออากาศ 1 คู่ขนานกับลำตัว (รูปที่ 1-9) ส่วนหัวมีปลายเปิดเรียกว่า anterior spiracle และด้านท้ายเรียกว่า posterior spiracle เนื่องจากตัวหนอนมีสีขาวยาวใสเมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะมองเห็นสมอง (ganglion) ซึ่งอยู่ตอนบนด้านหัว และต่อมน้ำลาย (salivary gland) ซึ่งอยู่ในตำแหน่งต่ำลงมา ในส่วนท้ายของลำตัวจะพบต่อมสร้างเชื้อสืบพันธุ์ (gonads) ซึ่งถ้าเป็นอณฑะ (testis) จะมีขนาดใหญ่กว่ารังไข่ (ovary) จึงอาจใช้เป็นสิ่งบ่งบอกถึงเพศของแมลงตั้งแต่ยังเป็นตัวหนอนได้

ตัวหนอนที่ฟักออกจากไข่จัดเป็นตัวหนอนระยะแรก (first instar larva) ใช้เวลา 1 วันในการเจริญเป็นตัวหนอนระยะที่สอง (second instar larva) ซึ่งจะใช้เวลาในระยะนี้ 1 วัน และจะเปลี่ยนเป็นตัวหนอนระยะที่สาม (third instar larva) ภายใน 2-3 วัน (รูปที่ 1-9) ตลอดการเจริญเติบโต ตัวหนอนจะกินอาหารมาก และผ่านการลอกคราบทั้งสิ้นรวม 2 ครั้ง ตัวหนอนในระยะที่โตเต็มที่จะมีความยาวประมาณ 4.5 มิลลิเมตร



รูปที่ 1-9 ระยะของตัวหนอน a. first instar, b. second instar และ c. third instar

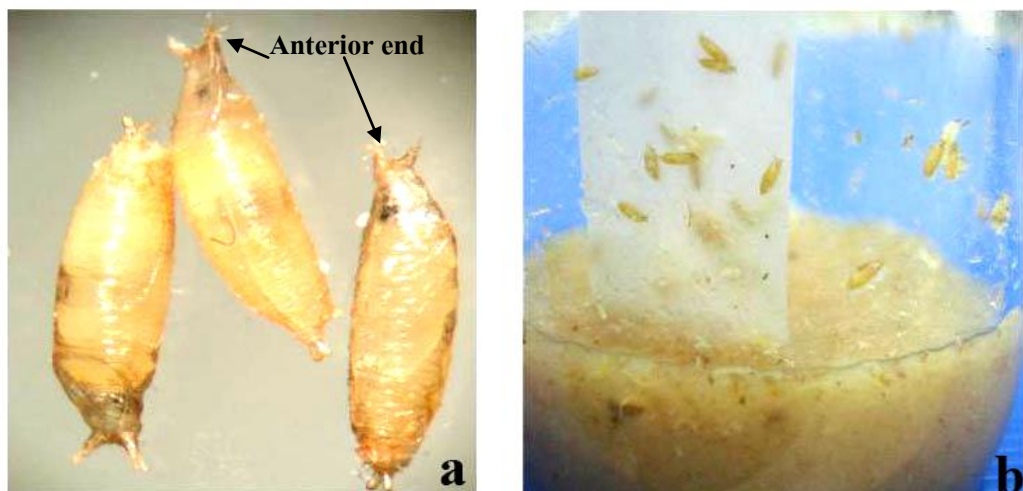
ที่มา : ดัดแปลงมาจาก http://www.anatomy.unimelb.edu.au/researchlabs/whitington/img/life_cycle.jpg



รูปที่ 1-10 โครงสร้างของตัวหนอนแมลงหวี่

ที่มา : Monroe, 1962.

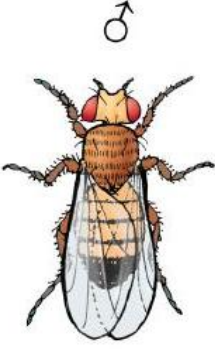
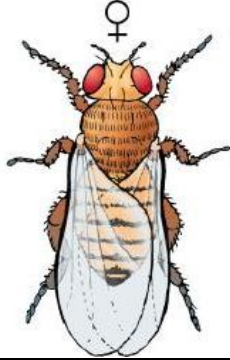


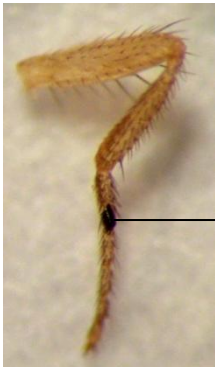

ระยะดักแด้ (pupa) ตัวหนอนในระยะสุดท้าย (third instar larva) จะคลานออกจากอาหารไปเกาะในบริเวณที่แห้งเพื่อเข้าดักแด้ ในระยะแรกดักแด้จะมีสีจางและค่อยๆเข้มขึ้นจนเป็นสีน้ำตาลเข้มเมื่อแก่เต็มที่ภายใน 4-5 วัน ในขณะที่อยู่ในระยะดักแด้ตัวหนอนจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปเป็นตัวเต็มวัย โดยมีการพัฒนาของส่วนต่างๆ เช่น ปีก ขาและตา เป็นต้น เมื่อวัยต่างๆ พัฒนาขึ้นจนสมบูรณ์แล้ว แมลงหวี่จะออกจากปลายด้านหน้าของผนังดักแด้ (anterior end) (รูปที่ 1-11)



รูปที่ 1-11 ลักษณะของดักแด้ของแมลงหวี่ (a) ดักแด้ของแมลงหวี่

(b) ดักแด้ของแมลงหวี่ที่เกาะอยู่บนกระดาษและบริเวณข้างขวดอาหาร

ตารางที่ 1-2 การเปรียบเทียบลักษณะเพศผู้และเพศเมีย (ตัวเต็มวัย) ของแมลงหวี่

ลักษณะ	เพศผู้	เพศเมีย
ขนาดตัว	เล็ก 	ใหญ่ 
ท้อง มีรอยแถบดำที่ท้อง(Abdomen)	เป็นรูปถัง (barrel shape)มีแถบ 3 เส้นตรงปลายสุดเป็นแถบดำขนาดใหญ่ 	ใหญ่เป็นรูปกรวย(cone shape)มีแถบ 5 เส้นเล็กๆ 
ขาคู่หน้า	มีขนสีดำเรียงเป็นแผ่นคล้ายหวีเรียกว่า (sex comb) 	ไม่มี sex comb 

หมายเหตุ: ในการคัดเลือกแมลงหวี่เพศผู้-เพศเมีย มีวิธีที่ง่ายที่สุดคือ พลิกตัวแมลงหวี่ให้หงายท้อง จะเห็นจุดสีดำชัดเจนที่ปลายท้องของเพศผู้ ส่วนในเพศเมียจะไม่มีจุดสีดำนี้นับบริเวณใต้ท้อง ซึ่งสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและลักษณะอื่นๆนั้นใช้พิจารณาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันความถูกต้อง



รูปที่ 1-12 ลักษณะตัวเต็มวัยของแมลงหวี่

ระยะตัวเต็มวัย (adult) แมลงหวี่ที่ออกจากดักแด้ใหม่ๆจะมีสีขาวยืดจนสามารถเห็นส่วนของลำไส้เป็นจุดสีดำด้านท้อง ลำตัวยาว ปีกยังไม่กาง ต่อมาลำตัวจะมีการขยายออกทางด้านข้าง ส่วนท้องกลมขึ้นและมีสีเข้มขึ้น ปีกจะกางออก (รูปที่ 1-12) โดยทั่วไปเมื่อออกจากดักแด้แล้วประมาณ 5-6 ชั่วโมงจะสามารถสังเกตลักษณะที่แตกต่างของเพศผู้และเพศเมียอย่างเด่นชัด เช่น เพศผู้มีขนาดตัวเล็กกว่าเพศเมีย ส่วนท้องของเพศผู้จะมีลักษณะเป็นรูปถัง (barrel shape หรือ cylindrical shape) มีรอยแถบสีดำตรงปลายสุด 3 แถบและถ้าดูบริเวณท้องของแมลงหวี่เพศผู้จะเห็นว่าจุดสีดำบริเวณปลายสุดของท้องหนึ่งจุด สำหรับแมลงหวี่เพศเมียมีส่วนท้องเป็นรูปกรวย (cone shape หรือ ovate) และมีรอยแถบดำที่ท้อง 5 แถบเล็กๆ (ตารางที่ 1-2) โดยทั่วไปแมลงหวี่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ได้หลังจากเป็นตัวเต็มวัยเมื่อออกจากดักแด้ได้ประมาณ 12-18 ชั่วโมง หลังจากผสมพันธุ์ไปแล้ว 12 ชั่วโมง แมลงหวี่เพศเมียจะเริ่มวางไข่และจะสามารถวางไข่ภายหลังผสมพันธุ์ไปเรื่อยๆ จนตลอดชีวิต อย่างไรก็ตามพบว่าเพศเมียที่ถูกผสมพันธุ์สามารถเก็บน้ำเชื้อของแมลงหวี่เพศผู้ไว้ในถุงเก็บน้ำเชื้อและถูกผสมพันธุ์โดยเพศผู้ตัวอื่นได้อีก

บทที่ 2

การเพาะเลี้ยงและการเตรียมแมลงหวี่เพื่อการศึกษา

1. การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่

แมลงหวี่ที่เลี้ยงไว้ในสภาพที่เหมาะสมจะมีสภาพสมบูรณ์แข็งแรง และสามารถออกลูกหลานเพิ่มปริมาณได้เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้แมลงหวี่จะเริ่มวงจรชีวิตจากการผสมพันธุ์และวางไข่ จากนั้น 1 วันไข่จะฟักออกเป็นตัวหนอน หลังจากเป็นตัวหนอนนานประมาณ 4 วัน จึงเข้าดักแด้ และอยู่ในสภาพนี้นาน 4 วัน จึงเจริญเป็นตัวเต็มวัยหรือตัวแก่ที่สมบูรณ์ภายในเวลา 2 วัน

2. อุณหภูมิและสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง

โดยทั่วไปพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงแมลงหวี่อยู่ที่ประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามมักพบอยู่เสมอว่าอุณหภูมิในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจะสูงกว่าอุณหภูมิห้อง เนื่องจากเกิดการหมัก (fermentation) ของยีสต์ในอาหาร การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ในห้องที่มีอุณหภูมิที่สูงกว่า 25 องศาเซลเซียส จะเป็นอันตรายต่อแมลงหวี่ จากการทดลองพบว่าถ้าเลี้ยงแมลงหวี่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ติดต่อกันเป็นเวลานานจะทำให้แมลงหวี่เป็นหมันหรือตายได้ นอกจากนี้ในการเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ไม่ควรวางภาชนะหรือชั้นเพาะเลี้ยงให้ได้รับแสงแดดโดยตรง เนื่องจากจะทำให้อาหารเพาะเลี้ยงแห้งไปอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้การได้รับลมเป่าจากเครื่องปรับอากาศโดยตรงมักมีผลให้ดักแด้ของแมลงหวี่แห้งและตายไป

3. การเตรียมอุปกรณ์สำหรับเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการ

การเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการอาจเลี้ยงไว้ในขวดแก้วหรือหลอดทดลองขนาดใหญ่ที่สามารถบรรจุอาหารได้ ทั้งนี้ภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงต้องสะอาด โปร่งแสง และมีจุกปิดซึ่งอาจทำด้วยสำลีที่ห่อด้วยผ้าก๊อซหรือฟองน้ำเพื่อให้ระบายอากาศได้ ในการเตรียมภาชนะเพาะเลี้ยงก่อนนำไปบรรจุอาหารเลี้ยงแมลงหวี่นิยมนำขวดอาหารและหลอดอาหารไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง ส่วนจุกปิดนำไปนึ่งเพื่อฆ่าเชื้อโรคด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้วเป็นเวลาประมาณ 15 นาที หลังจากบรรจุอาหารแล้วให้นำกระดาษที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง ปักลงในอาหาร โดยให้มีส่วนของกระดาษโผล่พ้นอาหารขึ้นมา เพื่อใช้เป็นพื้นที่แห้งสำหรับให้แมลงหวี่มีที่เกาะและวางไข่

1. การเตรียมอุปกรณ์อบฆ่าเชื้อเครื่องแก้ว ในการอบฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและอุปกรณ์นั้นจะต้องคำนึงถึงชนิดของวัสดุอุปกรณ์ที่สามารถนำเข้ามาอบได้ เช่น เครื่องแก้ว ปากกิบ จะต้องล้างเครื่องแก้วให้สะอาดก่อนและปล่อยให้แห้ง

2. แยกชนิดอุปกรณ์ที่ต้องเข้าสู่ hot air oven แบบใช้ความร้อนสูง เช่น เครื่องแก้ว ปากกิบ และแยกอุปกรณ์ที่จะเข้าเครื่องอบด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอร้อน เช่น จุกฟองน้ำ สำลี พลาสติกชนิดทนความร้อนได้

3. สำหรับอุปกรณ์ที่เป็นแก้วสามารถอบด้วยเครื่อง hot air oven โดยนำเครื่องแก้วที่ผ่านการทำความสะอาดเรียบร้อยแล้ว นำมาปิดปากขวดด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ ถ้าเป็นปากกิบให้ห่อด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ แล้วจึงนำเข้าตู้อบความร้อนสูง ห้ามนำวัสดุหรืออุปกรณ์ที่เป็นพลาสติกเข้าสู่โดยเด็ดขาด เพราะจะทำให้เนื้อพลาสติกละลายและอาจเกิดไฟไหม้ได้ อุณหภูมิที่ใช้ในการอบฆ่าเชื้อจะใช้อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1-2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาในการอบฆ่าเชื้อแล้วให้ปิดตู้อบและปล่อยให้เครื่องแก้วเย็นตัวลงก่อน แล้วจึงนำมาใช้ หากเอาออกมาในขณะที่เครื่องแก้วร้อนอาจจะทำให้เครื่องแก้วแตกได้เนื่องจากเครื่องแก้วโดนอากาศที่เย็นและเกิดการหดตัวอย่างรวดเร็วจึงทำให้เครื่องแก้วแตกได้ เพราะฉะนั้นรอให้เครื่องแก้วมีอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิภายนอกตู้เสียก่อนแล้วจึงนำมาใช้งาน

4. สำหรับอุปกรณ์ที่จะนำไปอบด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอร้อนนำอุปกรณ์ที่ต้องการอบฆ่าเชื้อใส่ในถุงพลาสติกร้อนปิดถุงให้เรียบร้อย และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอร้อน สำหรับการอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอร้อน ใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 – 20 นาที ที่ความดันไอ 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว สิ่งที่น่ามานึ่งฆ่าเชื้อจะต้องเลือกอุปกรณ์และวัสดุที่ทนความร้อนได้ เมื่อนึ่งวัสดุอุปกรณ์เรียบร้อยแล้วให้นำวัสดุนั้นไปใส่ในตู้ dry เพื่อทำให้แห้ง แล้วจึงจะนำวัสดุอุปกรณ์ไปใช้งานได้

4. อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงแมลงหวี่

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมีหลายสูตร แต่ละสูตรอาหารมีส่วนผสมที่แตกต่างกันไปอาหารเพียงเล็กน้อย เช่น บางสูตรอาหารมีแป้งข้าวโพด หรือข้าวกล้องเป็นส่วนผสมเป็นต้น ผู้เตรียมสามารถเลือกใช้สูตรอาหารใดๆ ได้ตามความเหมาะสม ตัวอย่างของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ที่จัดเตรียมได้ง่ายๆ มีดังต่อไปนี้

4.1. สูตรอาหารกล้วยน้ำว้าสุก

สูตรอาหารกล้วยน้ำว้าสุกเป็นอาหารเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ที่จัดเตรียมได้ง่ายและประหยัด (วิมล, 2544) มีส่วนผสมดังนี้

กล้วยน้ำว้าสุกบด	75.0	มิลลิลิตร
ผงวุ้น	5.0	กรัม
ยีสต์	0.2	กรัม
น้ำ	75	มิลลิลิตร
สารละลาย methyl 4-hydroxybenzoate	1.0	กรัม

(ละลาย methyl 4-hydroxybenzoate 1 กรัม ในแอลกอฮอล์ 95 % 10 มิลลิลิตร)

วิธีการเตรียมอาหาร

1. นำกล้วยน้ำว้าสุกงอมไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า
2. ผสมวุ้นกับน้ำแล้วนำไปต้มจนวุ้นละลาย
3. นำกล้วยที่ปั่นละเอียดแล้วเติมลงไป ลดไฟให้อ่อนลงและคนให้เข้ากัน หลังจากนั้นต้มให้เดือดประมาณ 5 นาทีแล้วยกลงคนจนกว่าอาหารจะเริ่มเย็นลงประมาณ 60-70 องศาเซลเซียส
4. เติมสารละลาย methyl 4-hydroxybenzoate และค่อยๆคนต่อประมาณ 5-10 นาที
5. ใช้น้ำกลั่นละลายยีสต์ 0.2 กรัม แล้วเติมลงในอาหารที่เริ่มเย็นตัวลง
6. นำอาหารที่เตรียมเสร็จใหม่ๆเทใส่ในขวดอาหาร(ที่อบฆ่าเชื้อแล้ว)ปิดขวดด้วยจุกสำลีหุ้มผ้าก๊อซที่ได้เตรียมไว้แล้ว หรือจุกฟองน้ำที่อบฆ่าเชื้อแล้ว
7. ใส่กระดาษขี้เหล็กๆที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อในอาหารที่เพิ่งเทใหม่ๆโดยปักตรงกึ่งกลางของขวดอาหารหรือหลอดอาหารเพื่อเป็นที่เกาะสำหรับดักแด้และให้แมลงหวี่เกาะ
8. เก็บขวดอาหารที่เตรียมใหม่ๆไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารแข็งตัวและไอน้ำระเหยออกจากขวดก่อนจึงนำไปใช้เลี้ยงแมลงหวี่

4.2. สูตรอาหารแป้งข้าวโพด

น้ำกลั่น	74.9	กรัม
วุ้น	1.5	กรัม
น้ำตาลทราย	13.5	กรัม
แป้งข้าวโพด	10.0	กรัม
สารกันรา*	0.1	มิลลิลิตร

(*สารกันเชื้อราใช้ methyl 4-hydroxybenzoate 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95% 10 มิลลิลิตร)

วิธีการเตรียมอาหารสูตรแป้งข้าวโพด

ละลายวุ้นกับน้ำเพียงเล็กน้อย พอวุ้นละลายเติมน้ำตาลทรายจากนั้น ละลายแป้งข้าวโพดกับน้ำเย็นเทส่วนผสมลงในส่วนที่ต้ม คนจนส่วนผสมเข้ากันดีจากนั้นจึงเติมสารกันเชื้อรา คนให้สารกันเชื้อรากระจายทั่วอาหาร(ที่มา :สสวท.) และนำไปเทใส่ในขวดหรือหลอดอาหารที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ปักกระดาษขี้เหล็กลงในอาหาร หลังจากนั้นจึงนำอาหารไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารแข็ง และไอน้ำในขวดอาหารระเหยไปก่อนจึงจะนำไปใช้เลี้ยงแมลงหวี่

4.3. สูตรอาหารแป้งข้าวโอ๊ต

น้ำกลั่น	3.3	กรัม
น้ำตาลทราย	11.0	กรัม
แป้งข้าวโพด	14.0	กรัม

แป้งข้าวโอ๊ตบดละเอียด	1.6	กรัม
สารกันรา*	0.1	มิลลิลิตร

(*สารกันเชื้อราใช้ Tegosept 1 กรัมละลายในแอลกอฮอล์ 95% 10 มิลลิลิตร)

วิธีการเตรียมอาหารสูตรแป้งข้าวโอ๊ต

ผสมน้ำตาล ข้าวโอ๊ต และน้ำเล็กน้อย ต้มจนละลายดี จากนั้น ละลายแป้งข้าวโพดกับน้ำเย็น ลงส่วนผสมลงปนกัน คนจนกระทั่ง เข้ากันดีจึงผสมสารกันเชื้อรา และนำไปเทใส่ในขวดหรือ หลอดอาหารที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ปิดกระดาดขึ้นเล็กน้อยลงในอาหาร หลังจากนั้นจึงนำอาหาร ไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารแข็ง และไอน้ำในขวดอาหารระเหยไป ก่อนจึงจะนำไปใช้เลี้ยงแมลงหวี่

4.4. สูตรอาหารแป้งสาธิตี (100 กรัม)

น้ำกลั่น	78.1	กรัม
น้ำตาลทราย	11.5	กรัม
แป้งสาธิตี	10.3	กรัม
สารกันรา*	0.1	มิลลิลิตร

(*สารกันเชื้อราใช้ Tegosept 1 กรัมละลายในแอลกอฮอล์ 95% 10 มิลลิลิตร)

วิธีการเตรียมอาหารแป้งสาธิตี

ละลายสารกันเชื้อรากับน้ำตาลต้มจนละลาย ขึ้นตอนต่อไปให้ละลายแป้งสาธิตีกับน้ำเย็น และเทส่วนผสมลงในสารกันราที่ต้มกับน้ำตาล และนำไปต้มและคนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (ที่มา : http://web.ku.ac.th/shoolnet/snet/snet4/fly_fruit/index.html) และนำไปเทใส่ในขวดหรือ หลอดอาหารที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้ว ปิดกระดาดขึ้นเล็กน้อยลงในอาหาร หลังจากนั้นจึงนำอาหาร ไปเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อาหารแข็ง และไอน้ำในขวดอาหารระเหยไป ก่อนจึงจะนำไปใช้เลี้ยงแมลงหวี่

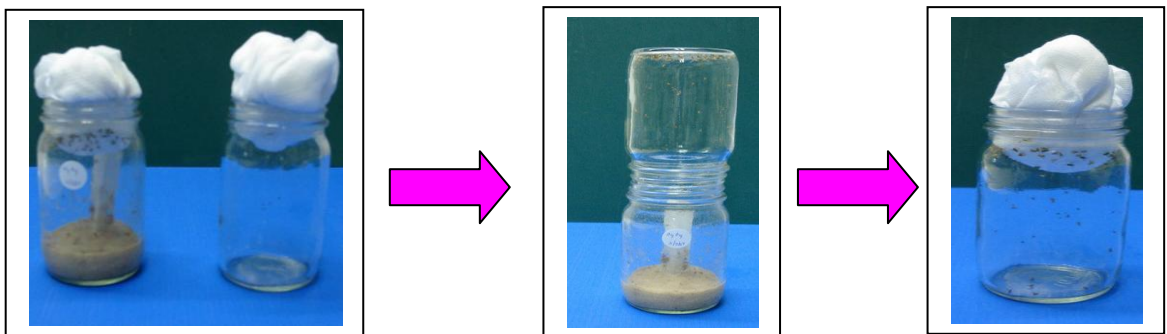
5. การเตรียมแมลงหวี่เพื่อการศึกษา

5.1 วิธีการย้ายแมลงหวี่จากขวดเลี้ยง

วิธีที่ใช้ในการย้ายแมลงหวี่จากขวดเลี้ยง อาศัยหลักการพื้นฐานจากพฤติกรรมของแมลงหวี่เอง (behavior) ซึ่งพบว่าโดยทั่วไปแมลงหวี่จะมีการตอบสนองแบบเข้าหาแสง (positive phototropic) ดังนั้นเมื่อต้องการย้ายแมลงหวี่ให้เกาะข้างขวดเบาๆ(stock แมลงหวี่) ให้แมลงหวี่ลงไปอยู่ด้านล่าง จากนั้นใช้ขวดเปล่าหรือขวดที่มีอาหารใหม่ (แต่ต้องแน่ใจว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงแข็งพอ) ประกบกับขวด stock อาหารที่มีตัวแมลงหวี่อยู่ใช้มือจับคอขวดให้แน่นอย่าให้แมลงหวี่บินหนี ออกทางรอยต่อของปากขวด แมลงหวี่จะบินขึ้นข้างบนเพื่อหาแสง จากนั้นปิดปากขวดไปใหม่และ

ใบเก่าด้วยจุกฟองน้ำ ถ้าหากเป็นแมลงหวี่ที่ไม่มีปีกหรือปีกสั้นให้กลับขวดอาหารที่มีแมลงหวี่อยู่ให้ขวด stock แมลงหวี่อยู่ด้านบนในลักษณะคว่ำขวด(ระวังหากอาหารในขวด stock แมลงหวี่ ถ้าหากอาหารเหลวไม่ควรใช้วิธีนี้เนื่องจากอาหารจะหล่นใส่ขวดใบใหม่และทับแมลงหวี่ตายได้) แล้วเกาะเบาๆที่ข้างขวด stock ให้แมลงหวี่ลงไปยังขวดใบใหม่ เมื่อได้แมลงหวี่ตามต้องการแล้วแยกขวดทั้ง 2 ออกจากกัน ปิดจุกขวดใบใหม่และใบเก่า (รูปที่ 2-1) จากนั้นเขียนฉลากติดข้างขวดโดยระบุสายพันธุ์แมลงหวี่ วันที่ย้ายแมลงหวี่

สำหรับการย้ายแมลงหวี่เพื่อนำไปสลบก็ทำเช่นเดียวกับการย้ายแมลงหวี่ไปขวดอาหารใหม่ เพียงแต่เปลี่ยนจากขวดอาหารใหม่เป็นขวดเปล่าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเท่านั้นก็สามารถย้ายแมลงหวี่ออกจากขวดอาหารได้เช่นเดียวกัน ในขณะที่ย้ายแมลงหวี่มีข้อควรระวังคือ เมื่อนำจุกสำลีที่ใช้ปิดปากขวดออกให้ใช้นิ้วมือคีบเอาไว้ห้ามวางลงบนโต๊ะหรือบนพื้น เพราะอาจจะทำให้จุกปิดปากขวดมีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียได้



รูปที่ 2-1 แสดงวิธีการย้ายแมลงหวี่เพื่อนำไปสลบ

5.2 วิธีการสลบแมลงหวี่

ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมต่างๆของแมลงหวี่จำเป็นต้องทำให้แมลงหวี่สลบเสียก่อนเพื่อหยุดการเคลื่อนไหวของแมลงหวี่ในระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งเป็นวิธีที่ดีสำหรับการตรวจสอบลักษณะของแมลงหวี่ การนับจำนวนตลอดจนการตรวจสอบเพศของแมลงหวี่ โดยทั่วไปนิยมใช้ anesthetic ether เป็นยาสลบสำหรับแมลงหวี่

ขั้นตอนการสลบแมลงหวี่

ในการทำให้แมลงหวี่หยุดการเคลื่อนไหวโดยการสลบด้วยอีเทอร์จำเป็นต้องถ่ายแมลงหวี่จากขวดเลี้ยงแมลงหวี่มายังขวดวางยาสลบ (รูปที่ 2-2) ดังนี้

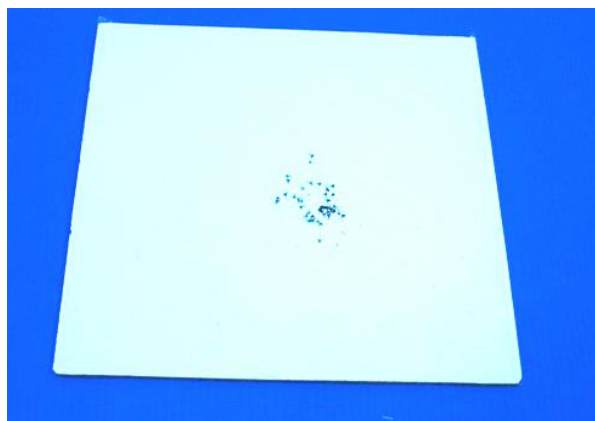
1. ใช้มือเกาะเบาๆที่ขวดเลี้ยงแมลงหวี่เพื่อให้แมลงหวี่มารวมอยู่ด้านล่าง
2. เมื่อแมลงหวี่มารวมอยู่ด้านล่างแล้วให้รีบเปิดจุกฟองน้ำและให้เอาขวดเปล่า (ซึ่งจะใช้เป็นขวดสลบ) ที่เตรียมไว้มาประกบปากขวดให้อยู่ในลักษณะคว่ำแทนจุกฟองน้ำ

3. ให้ขวดอาหารที่มีแมลงหวี่อยู่ด้านล่างและให้ขวดเปล่าอยู่ด้านบน โดยทั่วไปแล้วแมลงหวี่จะบินขึ้นด้านบนหนีแรงโน้มถ่วงของโลกและจะบินเข้าหาแสงสว่าง
4. เมื่อได้แมลงหวี่มาอยู่ในขวดเปล่าแล้วให้รีบปิดจุกฟองน้ำเพื่อนำไปสลบ
5. นำขวดแมลงหวี่ที่ย้ายจากขวด stock ไปที่ตู้ดูดควัน พร้อมทั้งเตรียมจุกสำลีสขนาดพอดีกับปากขวดแมลงหวี่ที่ย้ายมา
6. หยดอีเทอร์ลงบนจุกสำลีสของขวดวางยาสลบ 3-4 หยด แล้วปิดปากขวดด้วยจุกสำลีสที่มีอีเทอร์แทนจุกฟองน้ำ ขั้นตอนนี้อาจจำเป็นต้องทำในตู้ดูดควันเนื่องจากอีเทอร์เป็นสารอันตราย



รูปที่ 2-2 แสดงวิธีการสลบแมลงหวี่

7. พลิกขวดไปมา 1-2 นาที จะเห็นแมลงหวี่เริ่มสลบเมื่อแมลงหวี่สลบหมดทุกตัวแล้วให้เปลี่ยนจากจุกสำลีสที่มีอีเทอร์เป็นจุกฟองน้ำ(ให้สังเกตได้จากตัวแมลงหวี่เริ่มไม่เคลื่อนไหว)
8. นำแมลงหวี่ที่สลบแล้วเทลงบนแผ่นฟอ์มก้าสีขาวที่สะอาด หลังจากนั้นจึงทำการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมที่ต้องการศึกษา (รูปที่ 2.3)



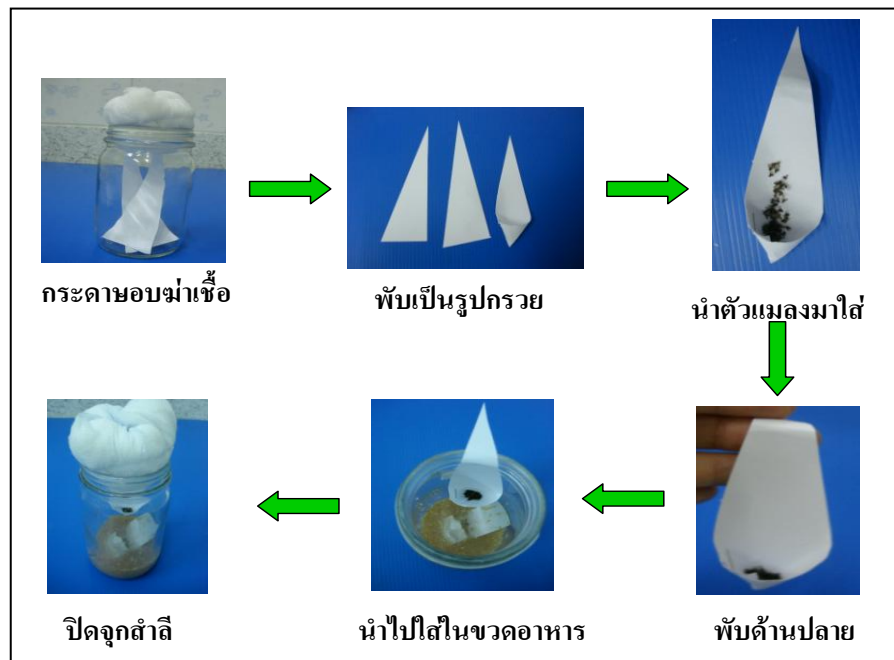
รูปที่ 2-3 แมลงหวี่ที่สลบแล้วบนแผ่นฟอ์มก้าสีขาว

แมลงหวี่จะสลบอยู่ประมาณ 3-5 นาทีเท่านั้น ถ้าแมลงหวี่ฟื้นจากการสลบโดยที่ยังตรวจลักษณะไม่เสร็จจะต้องนำแมลงหวี่ไปสลบอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้ฝาจานแก้ว (petridish) ครอบแมลงหวี่ไว้ แล้วสอดสำลีสที่หยดอีเทอร์หนึ่งหยดและนำไปใส่ในฝาจานแก้ว จะทำให้แมลงหวี่สลบอีกครั้ง

หนึ่ง (ต้องระวังอย่าให้สัมผัสกับตัวแมลงหิว) ทั้งนี้พบว่าทำให้แมลงหิวสลบหลายครั้งหรือใช้ปริมาณอีเทอร์มากเกินไปอาจทำให้แมลงหิวตายหรือเป็นหมันได้ เพราะฉะนั้นในการตรวจสอบเพศและลักษณะของแมลงหิวควรทำอย่างรวดเร็ว

5.3 การนำแมลงหิวที่สลบกลับคืนขบวนการเลี้ยง

ในกรณีที่วางยาสลบแมลงหิวและนำมาศึกษาลักษณะของแมลงหิวแต่ละสายพันธุ์และการศึกษาเพศของแมลงหิว เมื่อทำการศึกษาเสร็จแล้วแต่แมลงหิวยังไม่ฟื้นและต้องการจะนำแมลงหิวที่สลบนั้นใส่คืนขบวนการเลี้ยงสามารถทำได้ 2 วิธีดังนี้ วิธีแรกให้ใช้ฟูกันจุ่มลงใน 70% แอลกอฮอล์แล้วยกขึ้นและปล่อยให้แห้ง เมื่อฟูกันแห้งแล้วตะแคงขวดที่มีอาหารอยู่ นำจุกออกใช้ฟูกันเช็ดตัวแมลงหิววางลงบนข้างขวดที่แห้ง ปิดจุกขวดและทิ้งไว้ในสภาพตะแคงนั้น (ต้องแน่ใจว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงแมลงหิวแข็งพอ) จนกระทั่งแมลงฟื้นจึงจะกลับขบวนการให้อยู่ในสภาพปกติได้ ห้ามวางแมลงหิวที่ยังสลบอยู่บนอาหารเลี้ยงเพราะจะทำให้ปีกของแมลงหิวเปียกอาหารและทำให้แมลงหิวจมน้ำตายได้



รูปที่ 2-4 การย้ายแมลงหิวที่สลบอยู่คืนขบวนการ

วิธีการนำแมลงหิวที่สลบกลับคืนขบวนการอีกวิธีหนึ่งที่ทำได้โดยนำกระดาษ A4 มาตัดเป็นรูปสามเหลี่ยมตามขนาดของขวดและนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150- 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง นำกระดาษสามเหลี่ยมที่อบฆ่าเชื้อแล้วมาพับเป็นกรวยให้มีส่วนของปลายกระดาษเหลือเป็นหางเอาไว้สำหรับยึดกับปากขวดอาหาร จากนั้นให้นำแมลงหิวที่สลบอยู่เทใส่ในกรวยกระดาษที่เตรียมไว้และนำไปห้อยที่ปากขวดอาหารโดยใช้จุกสำลีเป็นตัวยึดไม่ให้กรวย

กระดาดลงไปทันทีทันใด เมื่อทิ้งไว้ช่วงเวลาหนึ่งแมลงหวี่ฟุ้งและบินออกจากกรวยกระดาดจึงนำกรวยกระดาดนั้นออกจากขวดเลี้ยงได้ (รูปที่ 2-4)

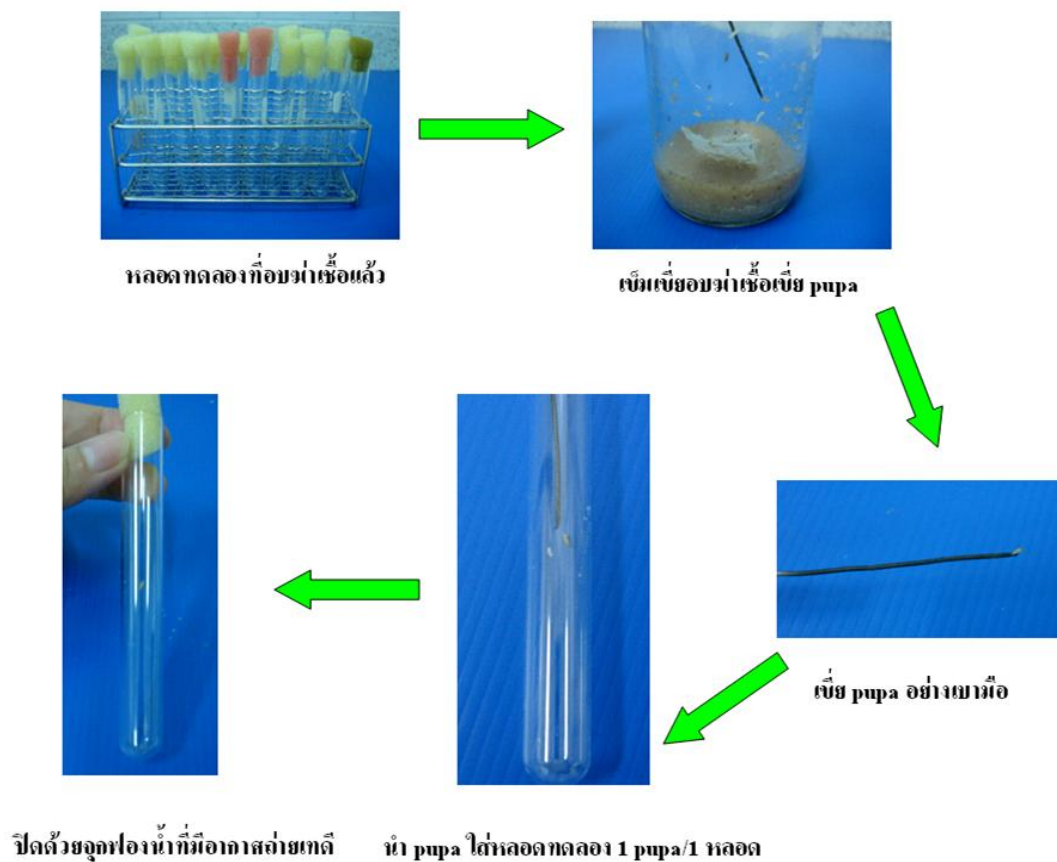
5.4 การคัดบริสุทธ์

ในการใช้แมลงหวี่เป็นแบบจำลองเพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมในรูปแบบต่างๆ โดยการผสมพันธุ์แมลงหวี่ที่มีลักษณะแตกต่างกันนั้นจำเป็นต้องใช้แมลงหวี่เพศเมียที่บริสุทธ์ (virgin female) ซึ่งหมายถึงแมลงหวี่เพศเมียที่ยังไม่ได้ผสมพันธุ์กับเพศผู้มาก่อน ด้วยเหตุนี้ผู้ศึกษาจึงต้องคัดเลือกแมลงหวี่เพศเมียที่บริสุทธ์มาใช้ ในการคัดเลือกแมลงหวี่เพศเมียให้บริสุทธ์เรียกว่า “การคัดบริสุทธ์” โดยทั่วไปการคัดเพศเมียบริสุทธ์สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

1. วิธีแรกทำได้โดยการเลือกแมลงหวี่ในขวดอาหารที่มีดักแด้สีเข้มอยู่ กำจัดแมลงหวี่ตัวเต็มวัยที่มีอยู่ออกให้หมดในตอนเช้า แล้วมาตรวจดูในตอนกลางวันและตอนเย็น แมลงหวี่ที่ออกมาจากดักแด้ในช่วงนี้จะยังไม่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ เพศเมียที่อยู่บนกับเพศผู้จึงยังเป็นเพศเมียบริสุทธ์ ทำการคัดเลือกเฉพาะเพศเมียมาเลี้ยงไว้ในขวดอาหารใหม่ ทั้งนี้ควรคัดแยกแมลงหวี่เพศเมียภายใน 12 ชั่วโมง เนื่องจากพบว่าแมลงหวี่เพศเมียที่ออกมาจากดักแด้ไม่เกิน 12 ชั่วโมงจะยังไม่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ อาจทดสอบความบริสุทธ์ของแมลงหวี่เพศเมียที่คัดไว้โดยนำมาเลี้ยงไว้ในขวดอาหารใหม่ 3-4 วัน ก่อนจะนำไปดำเนินการทดลองขั้นต่อไป ถ้ามีตัวหนอนเกิดขึ้นระหว่างนี้แสดงว่ามีแมลงหวี่เพศเมียที่คัดไว้ไม่บริสุทธ์นำมาใช้ทดลองไม่ได้ ปัญหาจากการคัดบริสุทธ์วิธีนี้คือถ้าไม่คัดแยกแมลงหวี่ภายใน 12 ชั่วโมง แมลงหวี่ที่ออกมาจากดักแด้ทั้งเพศผู้และเพศเมียมีโอกาสจะผสมพันธุ์กันได้และทำให้เพศเมียที่ได้ไม่บริสุทธ์ สำหรับแมลงหวี่เพศผู้ที่ออกมาจากดักแด้มาพร้อมกับเพศเมียสามารถนำไปใช้ในการทดลองได้โดยไม่ต้องกำจัดแมลงหวี่เพศผู้ทิ้ง

2. วิธีที่สองคือการคัดแยกดักแด้ที่มีสีเข้มจากขวด stock แมลงหวี่ สามารถทำได้โดยการย้ายตัวเต็มวัยจากขวด stock แมลงหวี่ออกให้หมดก่อน (ตัวเต็มวัยอยู่ในขวดย้ายแมลงหวี่) หลังจากนั้นจึงคัดแยกดักแด้ที่มีลักษณะขุ่นทึบแสงและมีสีน้ำตาล-ดำ โดยใช้เข็มเย็บที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เขี่ยดักแด้ออกมาทีละอันและนำไปใส่ในหลอดคัดดักแด้ ซึ่งเป็นหลอดเปล่าที่ไม่มีอาหารโดยใส่หนึ่งดักแด้ต่อหนึ่งหลอด แล้วมาตรวจดูในวันต่อมา แมลงหวี่ที่ออกมาจากดักแด้จะเป็นแมลงหวี่ที่บริสุทธ์ หลังจากนั้นจึงนำไปตรวจสอบเพศและลักษณะ ฟิโนไทป์เพื่อทำการทดลองต่อไป (รูปที่ 2-5) ในการคัดบริสุทธ์วิธีนี้มีข้อควรระวังคือควรเขี่ยดักแด้ขึ้นมาจากอาหารอย่างเบามือเพื่อลดความเสียหายของดักแด้ และปัญหาการปนเปื้อนต่างๆ ที่อาจส่งผลให้ดักแด้ได้รับความกระทบกระเทือนจนทำให้ไม่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยหรือออกมาจากดักแด้ได้ หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยง ในกรณีที่ไม่สามารถมาตรวจสอบแมลงหวี่เพื่อดำเนินการทดลองขั้นต่อไปได้ภายใน 1-2 วัน ให้ใช้เข็มเย็บที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเขี่ยอาหารจากขวดอาหารที่เตรียมใหม่ๆ

มาใส่ไว้ที่ก้นหลอดสำหรับการคัดคักแต่เล็กน้อย เพื่อให้แมลงหวี่ที่เกิดมาจะมีอาหารกินในระหว่าง 1-2 วันที่ไม่สามารถมาตรวจเช็คแมลงหวี่ได้



รูปที่ 2-5 วิธีการคัดบริสุทธ์

5.5 การคัดคักแต่เพื่อป้องกันการปนเปื้อน

ในการเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการ เมื่อมีการเพาะเลี้ยงแมลงหวี่เป็นระยะเวลานานๆอาจมีการปนเปื้อนจากตัวไร แบคทีเรีย และรา เมื่อสังเกตเห็นว่าแมลงหวี่มีการปนเปื้อนจากสิ่งทีกล่าวมาข้างต้นแล้วจะต้องทำการจำกัดแมลงหวี่ทิ้งทันทีเพื่อป้องกันการลุกลามไปยังขวดเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ขวดอื่นๆ หากพบว่าเริ่มมีการปนเปื้อนเกิดขึ้นจะต้องทำการคัดคักแต่เพื่อทำการรักษาพันธุ์ของแมลงหวี่ไว้ โดยการคัดคักแต่แต่ละสายพันธุ์ลงในหลอดทดลองขนาดเล็กที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อ โดยใส่หลอดทดลองละหนึ่งคักแต่เท่านั้นพร้อมทั้งเขียนสายพันธุ์ไว้ที่ข้างหลอดด้วยว่าเป็นสายพันธุ์ใดเพื่อป้องกันการสับสนในแต่ละสายพันธุ์ เมื่อสังเกตเห็นแมลงหวี่ออกจากคักแต่ให้นำมาตรวจสอบลักษณะฟีโนไทป์และเพศผู้ เพศเมีย เมื่อทราบว่าแมลงหวี่ที่ออกจากคักแต่มีลักษณะใดและตรงตามที่เขียนไว้ข้างหลอดให้ย้ายแมลงหวี่จากหลอดคักคักแต่มาใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารให้ใส่หลอดละ 1 คู่ผสมพันธุ์เท่านั้น และเป็นสายพันธุ์เดียวกันจะเป็นการ

ผสมพันธุ์ในสายพันธุ์เดียวกันเพื่อทำเป็น stock แมลงหวี่สำหรับการขยายพันธุ์ต่อไป สาเหตุที่ต้องใช้หลอดทดลองในการผสมนั้นเพราะว่าแมลงหวี่หนึ่งคู่ผสมพันธุ์นั้นยังไม่ต้องการอาหารเยอะ ถ้ามีอาหารเยอะมากเกินไปอาจจะทำให้เกิดการหมัก (fermentation) ซึ่งจะทำให้อาหารลอยขึ้นได้ เพราะแมลงหวี่หนึ่งคู่ไม่สามารถกินอาหารในหลอดได้ทันจึงทำให้เกิดการหมักเพราะฉะนั้นจึงไม่จำเป็นต้องให้อาหารกับแมลงหวี่เยอะ ขั้นตอนการคัดคักแต่้เหมือนกับคัดบริสุทธ์ (รูปที่ 2-5)

5.6 วิธีการผสมพันธุ์แมลงหวี่เพื่อรักษาพันธุ์และเพื่อการเพิ่มจำนวน

ในการนำแมลงหวี่มาใช้สำหรับการศึกษาในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีการเก็บรักษาพันธุ์ของแมลงหวี่ให้คงสายพันธุ์เดิมไว้และไม่ให้เกิดการสูญหายและกลายพันธุ์ไปจากเดิม อีกทั้งยังต้องมีการเพิ่มจำนวนแมลงหวี่ให้มากขึ้นบางช่วงเวลาที่จำเป็นต้องใช้ในห้องปฏิบัติการ ในการผสมพันธุ์แมลงหวี่เพื่อเป็นการรักษาพันธุ์แมลงหวี่นั้นจะทำการคัดแยกคักแต่้ออกมาเหมือนกับคัดบริสุทธ์นั่นเอง เมื่อได้แมลงหวี่ที่ออกจากคักแต่้แล้วให้นำไปตรวจสอบเพศและลักษณะฟีโนไทป์ว่ามีลักษณะเหมือนกับพ่อแม่พันธุ์หรือไม่ หากพบว่ามิลักษณะเหมือนกับพ่อแม่พันธุ์ให้นำเพศเมียหนึ่งตัวและเพศผู้หนึ่งตัวในสายพันธุ์เดียวกันนำมาเลี้ยงในหลอดอาหารหลอดละหนึ่งคู่ ซึ่งสามารถทำได้หลายหลอดทดลอง หลังจากนั้นให้สังเกตการวางไข่ ตัวหนอน คักแต่้ และตัวเต็มวัยที่จะเกิดขึ้นพร้อมทั้งจดบันทึก เมื่อสังเกตเห็นว่าเริ่มมีคักแต่้เกาะที่ข้างหลอดให้นำพ่อแม่ออกจากหลอดและสังเกตแมลงหวี่ที่จะออกจากคักแต่้ว่ามีลักษณะเหมือนพ่อแม่หรือไม่ ถ้ารุ่นลูกมีลักษณะเหมือนพ่อแม่ให้เลี้ยงไปเรื่อยจนมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นแล้วจึงเปลี่ยนอาหารให้ใหม่ แต่ถ้าพบว่าแมลงหวี่ที่ออกจากคักแต่้มีลักษณะใดลักษณะหนึ่งที่แตกต่างไปจากพ่อแม่ให้รีบกำจัดทิ้งเพราะแมลงหวี่ในขวด stock นั้นเกิดการกลายพันธุ์และให้เริ่มทำการคัดคักแต่้ใหม่อีกครั้งจากขวด stock อื่นที่เป็นสายพันธุ์นั้นๆ

ในการเพิ่มจำนวนแมลงหวี่ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอสำหรับการนำไปใช้ในห้องปฏิบัติการสามารถทำได้ โดยการเตรียมอาหารแมลงหวี่ใหม่ๆให้มากพอกับที่ความต้องการ และนำขวด stock แมลงหวี่มาขยายโดยขวด stock แมลงหวี่จะมีจำนวนตัวอยู่ในปริมาณที่มากและแน่นให้นำขวดอาหารใหม่มาย้ายแมลงหวี่จากขวด stock ได้ 3-4 ขวด และนำขวดอาหารใหม่มาเขียนป้ายปิดไว้ที่ข้างขวด สายพันธุ์ วันที่ย้าย นำไปเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ และหมั่นมาตรวจสอบเป็นประจำว่าแมลงหวี่ที่ถูกย้ายมาในขวดอาหารใหม่มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียหรือไม่ ประมาณ 2-3 สัปดาห์แมลงหวี่จะมีจำนวนมากเพียงพอสำหรับการใช้งาน

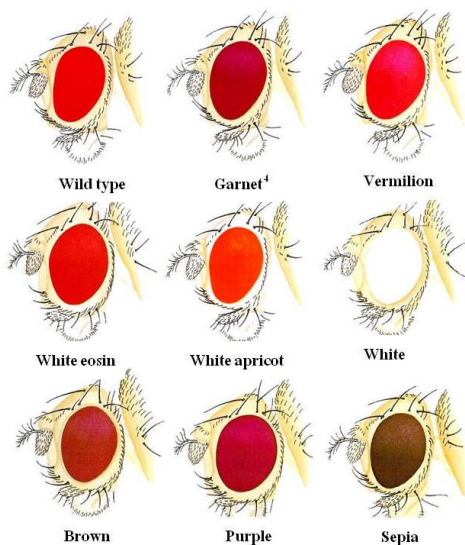
บทที่ 3 ฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของแมลงหวี่

3.1 ฟีโนไทป์

โดยทั่วไปแล้วลักษณะปรากฏหรือฟีโนไทป์ (phenotype) ที่พบได้บ่อยๆ ในธรรมชาติของสิ่งมีชีวิตใดๆ จะถูกเรียกว่า “ลักษณะปกติ” หรือ wild type ลักษณะดังกล่าวอาจถูกควบคุมด้วยยีนเด่นหรือยีนด้อยก็ได้

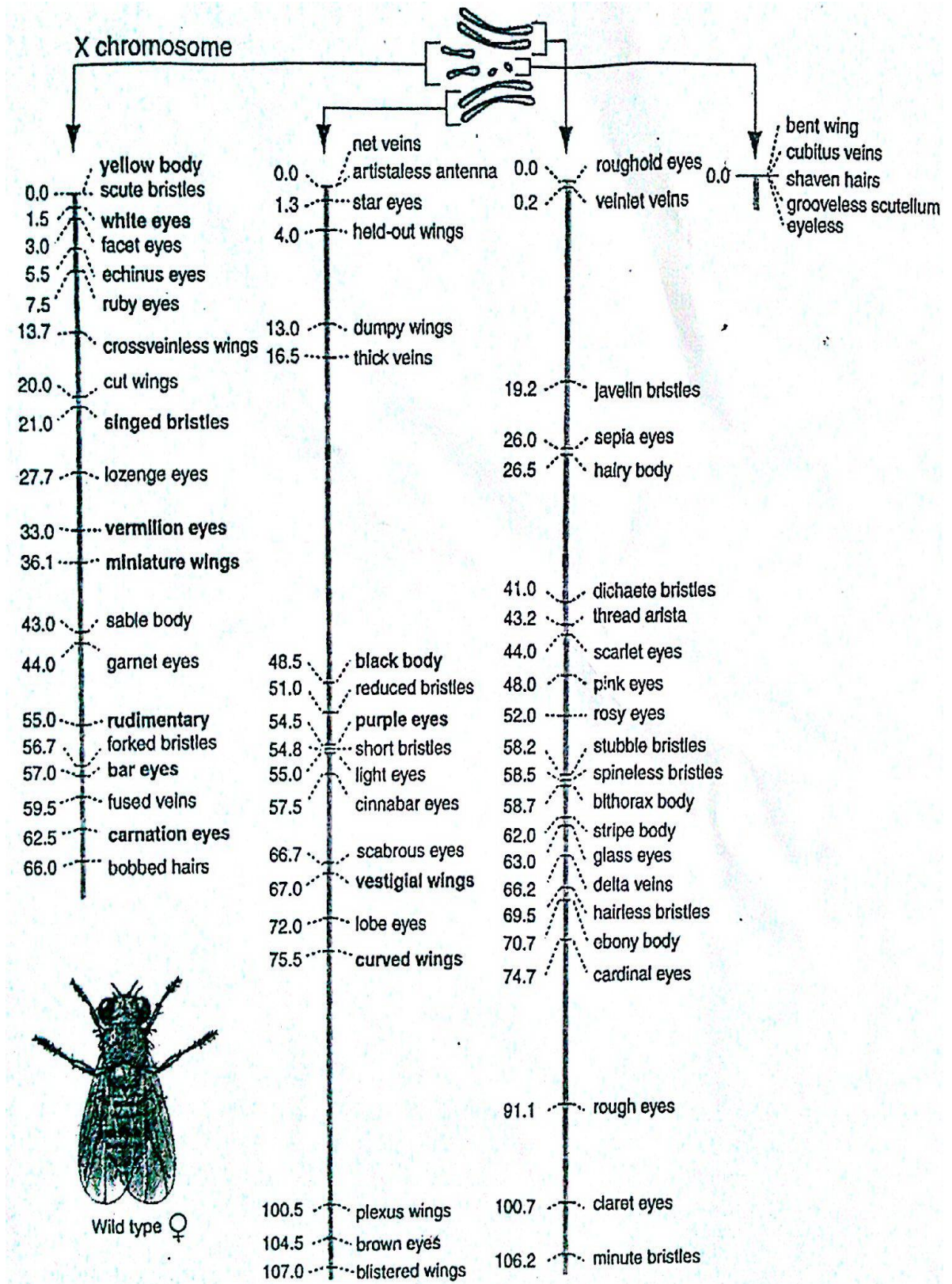
ในการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการนิยมศึกษาจากลักษณะที่สังเกตเห็นได้ง่าย เช่น ลักษณะ สีตา สีตัว และลักษณะปีก ทั้งนี้พบว่าลักษณะปกติของแมลงหวี่ (*D. melanogaster*) ที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการมีลักษณะตาสีแดง ลำตัวสีเทา และมีปีกยาวคลุมลำตัว นอกจากนี้ยังอาจใช้แมลงหวี่ที่ถูกจัดว่าเป็น “พันธุ์กลาย” หรือ mutants ซึ่งมีลักษณะแตกต่างไปจากแมลงหวี่ที่มีลักษณะปกติ เช่น mutants ของลักษณะสีตา ได้แก่ แมลงหวี่ตาสีขาว (white eyed = w) ตาสีส้ม (white apricot = w^a) ตาสีน้ำตาล (brown eyed = bw) และตาสีแดงทับทิม (ruby eye color = rb) (รูปที่ 3-1 และ 3-2) mutants ของลักษณะสีลำตัว (รูปที่ 3-3) ได้แก่ แมลงหวี่ตัวสีดำ (ebony body=eb) ตัวสีเหลือง (yellow body=y) ส่วนตัวอย่าง mutants ของลักษณะปีก (รูปที่ 3-4) ได้แก่ แมลงหวี่ที่มีปีกกุด (vestigial wing = vg) ปีกกระดก (curly wing = Cy) ปีกโค้ง (curved wing = c) ปีกหยัก (scalloped = sd) ปีกแค้กั้น (miniature wing = m) ปีกสั้นและมีเส้นขวาง (shortened wing crossvein = cv) ปีกสั้นพอดิตัว (dumpy = dp) และแมลงหวี่ปีกกาง (diachaete = d) เป็นต้น

ลักษณะที่แตกต่างไปจากลักษณะปกติของแมลงหวี่พันธุ์กลายอาจมีเพียง 1 ลักษณะซึ่งจะถูกเรียกว่า single mutant อย่างไรก็ตามก็ยังพบ double mutant และ triple mutant ซึ่งเป็นพันธุ์กลายที่มีลักษณะแตกต่างไป 2 และ 3 ลักษณะตามลำดับ



รูปที่ 3-1 ลักษณะสีตาของแมลงหวี่

ที่มา : <http://www.fieldmuseum.org/mendel/popUps/v03.html>



รูปที่ 3-2 แผนที่ยีนบนโครโมโซม 4 คู่ของแมลงหวี่ (*D. melanogaster*)

ที่มา : Hartwell *et al.*, 2008.



a.



b.

รูปที่ 3-3 ลักษณะสีตาของแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการ a. red eye b. white eye



Wild type

Yellow

Ebony

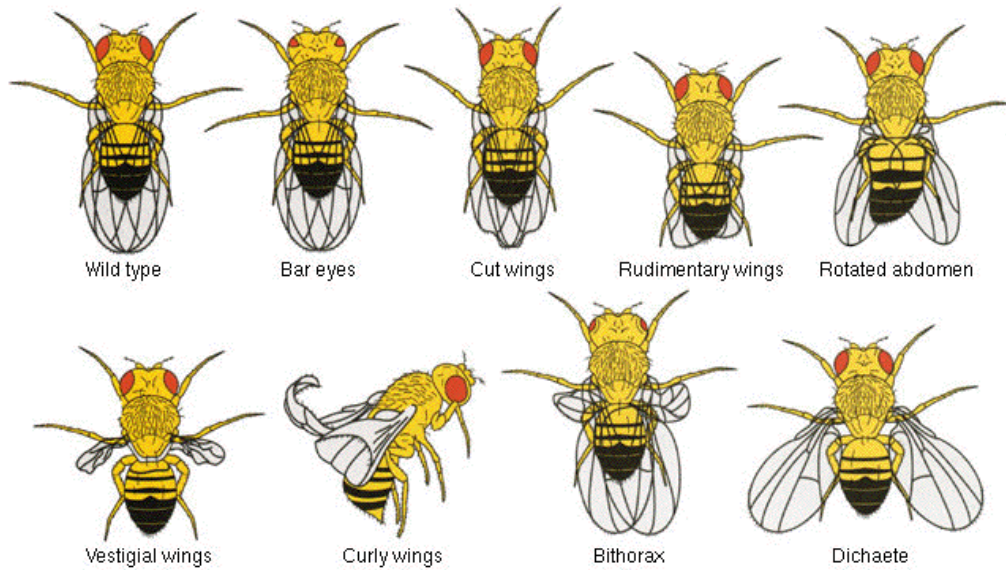
a.



b.

ที่มา : <http://www.cas.vanderbilt.edu/bsci111b/drosophila/flies-bodycolor.jpg>

รูปที่ 3-4 ลักษณะสีตัวของแมลงหวี่ a. แมลงหวี่ตัวสีเทา สีเหลือง และ แมลงหวี่ตัวสีดำ b. แมลงหวี่ตัวสีเทาและสีดำที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 3-5 ลักษณะปีกของแมลงหวี่

ที่มา : <http://www.ichthus.info/Evolution/PICS/fruit-fly.gif>

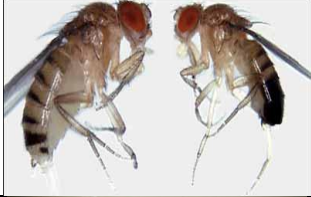






3.2 จีโนไทป์

โดยทั่วไปการเขียนจีโนไทป์ของแมลงหวี่นิยมใช้เครื่องหมาย + แทนอัลลีล (allele) ที่ควบคุมให้เกิดลักษณะที่เป็น wild type เช่น แมลงหวี่พันธุ์แท้ที่มีลักษณะ ตาแดง ตัวเทา ปีกยาว จะมีจีโนไทป์ของยีนทุกตำแหน่งเป็น ++ ในกรณีนี้นิยมเขียนจีโนไทป์ของแมลงหวี่ wild type ที่เป็นพันธุ์แท้เป็น ++ โดยไม่ต้องเขียนจีโนไทป์เป็น ++, ++, ++ ก็ได้

สำหรับเครื่องหมายที่ใช้แทนอัลลีลที่ควบคุมลักษณะกลายหรือ mutant allele นิยมใช้อักษรภาษาอังกฤษที่ใช้เรียก mutant ชนิดนั้นๆ โดยใช้อักษรตัวเล็กสำหรับอัลลีลที่ควบคุมลักษณะด้อย (recessive) และใช้อักษรตัวใหญ่แทนอัลลีลที่ควบคุมลักษณะกลายที่เป็นลักษณะเด่น (dominance) เช่น ลักษณะปีกกุด (vestigial wing) เป็นลักษณะด้อยจึงใช้อักษร vg แทน mutant allele ดังนั้นแมลงหวี่พันธุ์แท้ที่เป็น single mutant ซึ่งมีลักษณะตาแดง ตัวเทา ปีกกุดจะมีจีโนไทป์ของยีนทั้ง 3 ตำแหน่งเป็น ++ ++ vgvg อย่างไรก็ตามนิยมเขียนเฉพาะจีโนไทป์ของลักษณะที่ต่างจาก wild type เท่านั้น ดังนั้นแมลงหวี่ที่มีลักษณะปีกกุดพันธุ์แท้มีจีโนไทป์เป็น vgvg การเขียน wild type allele นอกจากจะใช้เครื่องหมาย + แทนแล้วยังอาจใช้อักษรภาษาอังกฤษที่แทนลักษณะกลายนั้นๆ ที่กำกับด้วยเครื่องหมาย + เช่น vg^+ และเขียนจีโนไทป์ของแมลงหวี่ปีกยาวพันธุ์แท้เป็น vg^+vg^+ ก็ได้ สำหรับแมลงหวี่ปีกยาวที่เป็น heterozygote จะสามารถเขียนจีโนไทป์ได้เป็น +vg หรือ +/vg หรือ vg^+vg หรือ vg^+/vg

เนื่องจากแมลงหวี่เป็นสิ่งมีชีวิตชนิด diploid ที่มีโครโมโซมเพศเป็น X และ Y โดยเพศเมียมีโครโมโซมเพศเป็น XX ส่วนเพศผู้เป็น XY ดังนั้นยีนส่วนใหญ่จึงปรากฏอยู่เป็นคู่ๆ ยกเว้นยีนบนโครโมโซม X ในแมลงหวี่เพศผู้ที่ปรากฏอยู่ในสภาพเดี่ยวเรียกว่า hemizygous ยีนที่ปรากฏอยู่เป็นคู่ๆอาจอยู่ในสภาพ homozygous หรือ heterozygous ก็ได้ ดังนั้นในการเขียนจีโนไทป์ของลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนบนโครโมโซมเพศ จะนิยมเขียนชนิดโครโมโซมเพศกำกับไว้ทุกครั้ง เช่น แมลงหวี่เพศผู้ตาสีแดง และตาสีขาวจะมีจีโนไทป์เป็น X^+Y และ X^-Y ส่วนแมลงหวี่เพศเมียตาสีแดงพันธุ์แท้จะมีจีโนไทป์เป็น X^+X^+ เป็นต้น ตัวอย่างฟีโนไทป์และจีโนไทป์ต่างๆของแมลงหวี่แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 3-1 ลักษณะฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของแมลงหวี่สายพันธุ์ต่างๆ

ฟีโนไทป์	จีโนไทป์	รูปร่างของแมลงหวี่
Wilde type: ตาแดง ตัวเทา ปีกยาว	++	
Single mutants ebony: ตัวดำ	ebeb	
vestigial wing: ปีกกุด	vgvg	
cury wing : ปีกโค้ง	CyCy	
Double mutant white-eye miniature wing : ตาขาว ปีกแค้ กั้น	wwmm	
ebony -vestigial wing: ตัวดำ ปีกกุด	ebebvvgv	
miniature wing : ปีกแค้กั้น	mm	

*หมายเหตุ : ลักษณะปีกโค้งเป็นลักษณะกลายที่เป็นลักษณะเด่นที่ถูกควบคุมด้วย homozygous recessive lethal gene โดยแมลงหวี่ที่มีจีโนไทป์เป็น CyCy จะตาย ดังนั้นแมลงหวี่ที่มีลักษณะปีกโค้งจะมีจีโนไทป์ในสภาพ heterozygous เท่านั้น

บทที่ 4

การใช้แมลงหวี่ในการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการ

ปฏิบัติการที่ 1

แมลงหวี่ : ความสำคัญและวิธีการศึกษา

ในปฏิบัติการนี้จะเป็นการศึกษาถึงลักษณะทางพันธุกรรม และระยะต่างๆตลอดวงจรชีวิตของแมลงหวี่ นักศึกษาสามารถหยุดการเคลื่อนไหวของแมลงหวี่ได้เพื่อใช้ในการแยกเพศ ชนิดของแมลงหวี่ และสามารถเขียนจีโนไทป์และฟีโนไทป์ของแมลงหวี่ได้

โดยทั่วไปในห้องปฏิบัติการที่ใช้แมลงหวี่เป็นสัตว์ทดลองควรเตรียมวัสดุและอุปกรณ์ต่างๆต่อไปนี้ไว้ให้พร้อมสำหรับทำการทดลอง

- | | | |
|--------------------|--------------------|--------------------------------|
| 1. ขวดแก้วขนาดใหญ่ | 9. หม้อออบูมิเนียม | 17. Loop |
| 2. ขวดแก้วขนาดเล็ก | 10. เตาแก๊ส | 18. Hot air oven |
| 3. กระจกฝา | 11. กระจกบด | 19. Binocular microscope |
| 4. กล้วยน้ำว่าสุก | 12. ตำลึง | 20. stock แมลงหวี่ทุกสายพันธุ์ |
| 5. ฐาน | 13. ฟูกันเบอร์ 6-7 | 21. Autoclave |
| 6. Molenex | 14. ปากคิปปลายมัน | |
| 7. เครื่องชั่ง | 15. Petri dish | |
| 8. หลอดทดลอง | 16. Ethyl alcohol | |

วิธีการเตรียมปฏิบัติการที่ 1

1. เตรียมตัวอย่างแมลงหวี่สายพันธุ์ ++, ww, vgv, ebeb, ebebv, wwmm, Cy⁺ ล่วงหน้าอย่างน้อย 3 สัปดาห์ ทั้งนี้ก่อนเริ่มปฏิบัติการจะต้องคำนวณจำนวนแมลงหวี่ในแต่ละสายพันธุ์ให้เพียงพอต่อจำนวนนักศึกษาในแต่ละภาคการศึกษา โดยการเตรียมแมลงหวี่ให้มีปริมาณมากพอและต้องเตรียมในขวดทดลองขนาดใหญ่ และหลอดทดลองขนาดเล็กเพื่อใช้ในปฏิบัติการที่ 1-5

2. ถ่ายตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ออกจากขวดอาหารให้หมดทุกสายพันธุ์ เพื่อจะได้นำตัวเต็มวัยไปสลบและนำไปตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการให้นักศึกษาได้ศึกษาลักษณะของฟีโนไทป์และจำแนกเพศ ส่วนในขวดอาหารที่นำเอาตัวเต็มวัยออกไปแล้วให้นำมาตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการ โดยแบ่งเป็นกลุ่มเพื่อให้นักศึกษาได้เห็นถึงลักษณะของไข่ (ไข่ที่อยู่ในอาหารลงบนกระดาษกรองและนำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์) ตัวหนอน และดักแด้

3. เตรียมอุปกรณ์ตัวอย่างสำหรับสาธิตวิธีการสลบแมลงหวี่ในห้องปฏิบัติการ 1 ชุด ซึ่งประกอบไปด้วย ขวด stock แมลงหวี่ ขวดเปล่าสำหรับย้ายแมลงหวี่ ขวดน้ำยาสลบแมลงหวี่ จุกสำลีสำหรับสลบแมลงหวี่

4. เตรียมหลอดใส่แมลงหวี่ที่เป็น unknown โดยจัดแมลงหวี่คละกัน 2 สายพันธุ์หลอดละ 10 ตัว ที่ยังมีชีวิตอยู่ เพื่อให้นักศึกษาฝึกการสลบ แยกเพศผู้และเพศเมีย ระบุจำนวน และชนิดของแมลงหวี่แต่ละสายพันธุ์ที่อยู่ในหลอด unknown ที่เตรียมไว้กลุ่มละ 1 หลอด

5. เตรียมอุปกรณ์สำหรับทำปฏิบัติการนี้ เช่น แผ่นฟอรัเมก้า แวนชยาย ฟุ้งกัน เจ็มเจีย กระจกสไลด์ จานแก้ว กระจกขาว ตะเกียงแอลกอฮอล์ กรรไกร ขวด stock แมลงหวี่ที่ไม่มีตัวเต็มวัยแต่มีตัวหนอนและดักแด้กลุ่มละ 1 ชุด

ขั้นตอนการศึกษา

1. ให้นักศึกษาแบ่งออกเป็นกลุ่มๆละ 2 คน
2. นำขวด stock แมลงหวี่ที่ได้รับแจกมาเจียดักแด้ และตัวหนอนวางบนกระจกสไลด์และติดป้ายชื่อกลุ่ม ชื่อนักศึกษา รหัส นำส่งผู้ควบคุมปฏิบัติการ
3. ศึกษาลักษณะของไข่แมลงหวี่พร้อมทั้งวาดรูปที่เห็นจากกล้องจุลทรรศน์และนำส่งผู้ควบคุมปฏิบัติการ
4. นำหลอดแมลงหวี่ unknown ไปสลบโดยหยดยาสลบลงบนจุกสำลี แล้วนำไปปิดแทนจุกฟองน้ำและเขย่าหลอดไปมาเบาๆจนกว่าจะสังเกตเห็นแมลงหวี่เริ่มไม่เคลื่อนไหวให้เปลี่ยนจากจุกสำลีที่มียาสลบออกเป็นจุกฟองน้ำแทน
5. นำแมลงหวี่ที่สลบแล้วไปเทบนแผ่นฟอรัเมก้าสีขาวและรีบตรวจสอบ เพศ ลักษณะสีตัว สีตา และลักษณะของปีก

ปฏิบัติการที่ 2

การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม: การศึกษาลักษณะเดียว

แมลงหวี่ที่ใช้ในปฏิบัติการทุกสายพันธุ์จะเป็นพันธุ์แท้ โดยทั่วไปมักไม่พบลักษณะใหม่ ยกเว้นการเกิดการกลายพันธุ์ ลักษณะการถ่ายทอดของยีนใน F_2 ที่เกิดจากพ่อแม่พันธุ์แท้จะพบการกระจายตัวของลักษณะเด่น : ลักษณะด้อย อัตราส่วน 3 : 1 ซึ่งเป็นผลจากการแยกตัวของยีนใน F_1 เมื่อทำการผสมกลับ (reciprocal cross) ระหว่างสายพันธุ์แท้ 2 สายพันธุ์ เพื่อดูว่ายีนที่ศึกษาอยู่บน autosome หรือ sex chromosome และหากต้องการตรวจสอบจีโนไทป์ของรุ่นใดรุ่นหนึ่งหรือตัวใดตัวหนึ่งก็กระทำได้โดยการนำไปผสมกับตัวทดสอบ (tester หรือแมลงหวี่ที่มีลักษณะเป็น homozygous recessive) เพื่อตรวจสอบลักษณะของรุ่นลูกที่เกิดขึ้นเรียกการผสมพันธุ์ลักษณะนี้ว่า test cross เช่นการทำ test cross แล้วพบว่ารุ่นลูก F_1 ที่เกิดขึ้นมีเด่น : ด้อย ในอัตราส่วน 1 : 1 แสดงว่า F_1 มีจีโนไทป์เป็น heterozygote แต่ถ้ารุ่นลูกที่เกิดขึ้นมีเฉพาะลักษณะเด่นเพียงอย่างเดียวแสดงว่า F_1 ที่นำมาทดสอบมีจีโนไทป์เป็น homozygote ของลักษณะเด่น

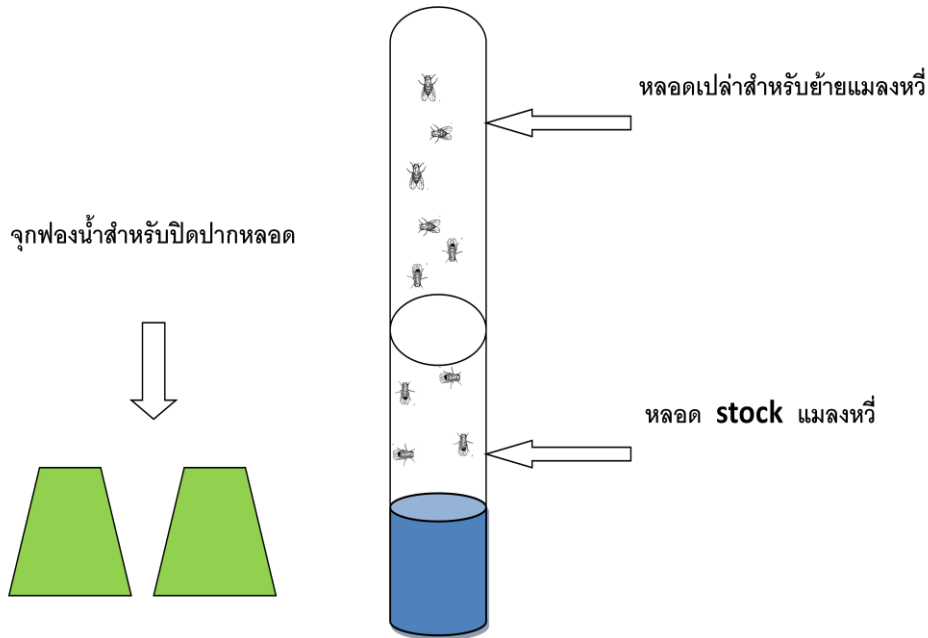
ในปฏิบัติการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแบบแผนการถ่ายทอดลักษณะสีตัว สีตา และลักษณะของปีกแมลงหวี่ เพื่อพิสูจน์ว่ายีนที่ควบคุมลักษณะที่ศึกษาอยู่บน autosome และมีจีโนไทป์เป็น heterozygote หรือไม่

วิธีเตรียมปฏิบัติการ

1. เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ให้มีจำนวนของดักแด้ให้มีปริมาณเพียงพอต่อวงหน้าอย่างน้อย 3 สัปดาห์
2. แบ่งกลุ่มนักศึกษากลุ่มละ 2 คน
3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับคัดดักแด้ และหลอดเลี้ยงอาหารอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียสนาน 1-2 ชั่วโมง จุกฟองนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปอบแห้งก่อนนำไปใช้
4. เตรียมอาหารสำหรับแจกกลุ่มละ 4 หลอดสำหรับการทดลองในครั้งแรก และหลังจาก 2-3 วันแจกเพิ่มอีกกลุ่มละ 4 หลอด
5. แจกอุปกรณ์ในการทำปฏิบัติการ เช่น ขวดหรือหลอด stock แมลงหวี่ 2 สายพันธุ์ คือ wild type และ single mutant หลอดคัดดักแด้จำนวน 20 หลอด หลอดอาหาร 4 หลอด หลอดขยายแมลงหวี่ 2 หลอด แวนชยาย 1 อัน เข็มเขี่ย 1 อัน พู่กัน 1 อัน แผ่นฟอว์เมก้าสีขาว 1 แผ่น rack สำหรับใส่หลอดคัดดักแด้ และที่วางหลอดอาหาร

ขั้นตอนการทดลอง

1. การคัดบริสุทธ์จะต้องเริ่มจากการย้ายตัวเต็มวัยออกก่อน โดยการนำขวดหรือหลอดเปล่าที่ไม่มีอาหารย้ายตัวเต็มวัยแมลงหวี่ออกจากขวดหรือหลอด stock ให้หมดก่อนนำมาคัดคักแต่้



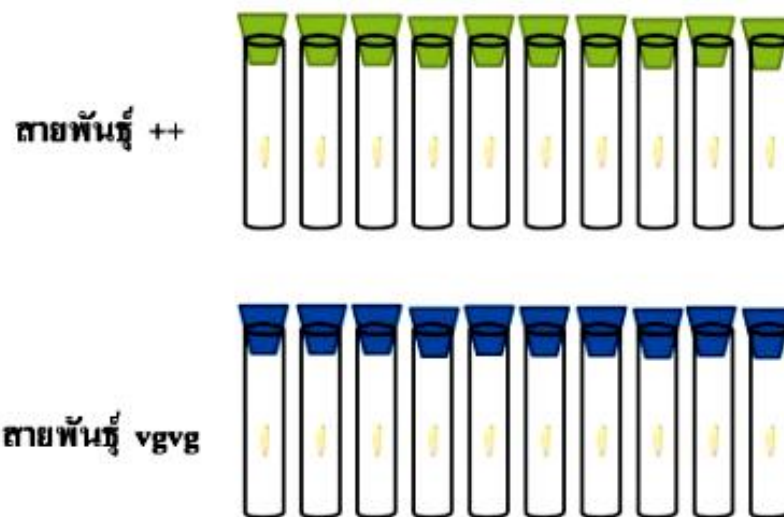
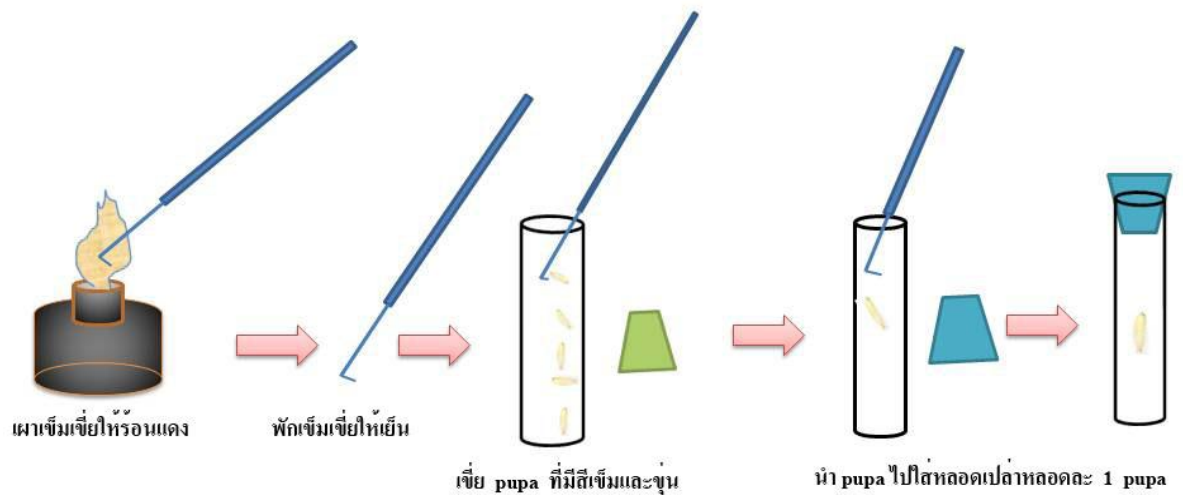
รูปที่ 4-1 วิธีการย้ายแมลงหวี่ออกจากหลอดอาหาร

2. ใช้เข็มเย็บลนไฟเพื่อทำการฆ่าเชื้อ และรอให้เข็มเย็บเย็นแล้วจึงใช้เข็มเย็บเขี่ยคักแต่้ที่อยู่ข้างหลอดหรือบนกระดาษอย่างเบามือ และควรเลือกคักแต่้ที่มีสีขาวขุ่น หรือสีน้ำตาลถึงดำ โดยถ้าคักแต่้ที่มีลักษณะน้ำตาลถึงดำ แมลงหวี่จะออกจากคักแต่้ภายใน 1-2 วัน ดังนั้นนักศึกษาควรคำนึงถึงเวลาที่จะมาดูผลจากการคัดคักแต่้ในระยะเวลาดังกล่าวด้วย ในการคัดคักแต่้ให้คัก 1 คักแต่้ต่อ 1 หลอด (เพื่อป้องกันการผสมพันธุ์ภายในสายพันธุ์เดียวกัน) ทำทั้งหมด 10 หลอดต่อสายพันธุ์

3. หลังจากคัดคักแต่้เสร็จเรียบร้อยแล้วให้นำตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ที่ย้ายออกมากลับคืนหลอดอาหารตามสายพันธุ์ที่ย้ายออกมาหรือนำไปสลบเป็นเวลานานเพื่อให้แมลงหวี่ตาย

4. หลังจากคัดคักแต่้แล้วให้นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ และควรมาตรวจดูการออกจากคักแต่้ทุกวัน หากสังเกตเห็นว่าแมลงหวี่ใช้เวลาในการออกจากคักแต่้นานเกินกว่าที่กำหนดให้นักศึกษาคัดคักแต่้ใส่ในหลอดนั้นใหม่ เนื่องจากคักแต่้อาจได้รับการกระทบกระเทือนและอาจทำให้ไม่ออกจากคักแต่้ หลังจากแมลงหวี่ออกจากคักแต่้แล้วให้ตรวจดูลักษณะของฟิโนไทป์ และเพศของแมลงหวี่ จากนั้นย้ายแมลงหวี่ไปลงในหลอดอาหารที่ได้รับแจกโดยเขียนเพศ และจีโนไทป์พร้อมทั้งระบุวันที่ที่แมลงออกจากคักแต่้ เช่น คักคักแต่้แมลงหวี่สายพันธุ์ wild type (++) จำนวน 10 หลอด และวันรุ่งขึ้นพบว่าแมลงหวี่ออกจากคักแต่้จำนวน 4 ตัว ตรวจสอบฟิโนไทป์ และเพศแล้วพบว่า เป็นเพศผู้ จำนวน 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ให้นำไปใส่ในหลอดอาหาร

หลอดละ 1 ตัว เพื่อรอการผสมพันธุ์จากสายพันธุ์ตรงข้าม เพื่อทำการผสมแบบสายตรง (crossing) และสายกลับ (reciprocal cross) อย่างละ 4 คู่ผสมพันธุ์



คัด pupa ใส่หลอดละ 1 pupa จำนวน 10 หลอดในแต่ละสายพันธุ์

รูปที่ 4-2 การคัดคัดแค้แมลงหวี่

5. นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่และสังเกตดูทุกวันเมื่อสังเกตเห็นดักแด้เกาะที่ข้างหลอดให้ย้ายพ่อแม่ออกจากหลอดและนำพ่อแม่ไปกำจัดทิ้งโดยการสลบแมลงหวี่เป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวี่จะตาย และเมื่อแมลงหวี่ออกจากดักแด้ให้นักศึกษาตรวจฟิโนไทป์และเพศแมลงหวี่รุ่น F_1 ทุกวันจนกว่าแมลงหวี่จะออกจากดักแด้หมดจดบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวี่ทุกวัน

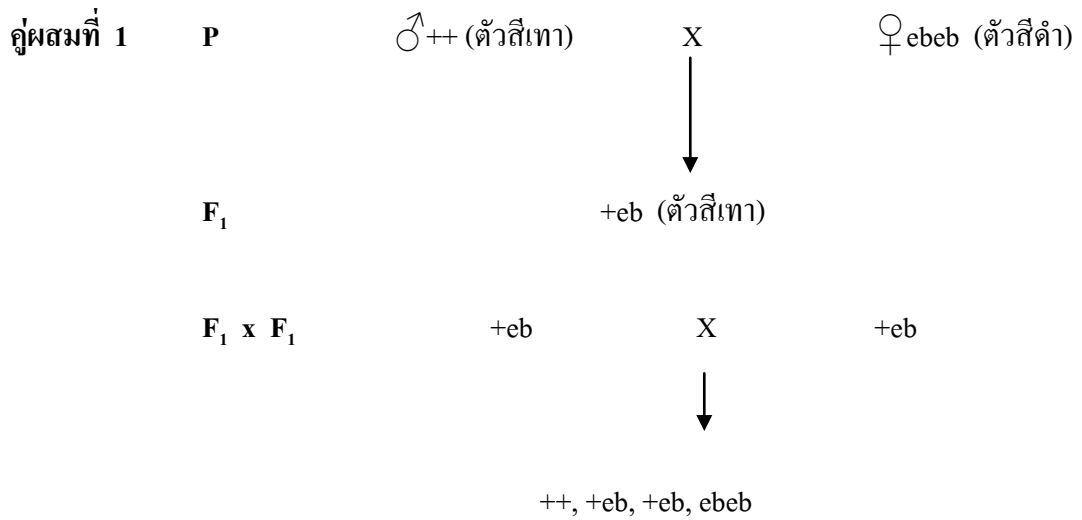
6. แมลงหวี่ส่วนหนึ่งที่ทำกรตรวจสอบฟีโนไทป์และเพศแมลงหวี่แล้ว ให้นำแมลงหวี่สายตรงหรือสายสลัไปทำการผสม $F_1 \otimes F_1$ เพื่อสร้างรุ่นลูก F_2 จำนวน 4 คู่ผสมพันธุ์ เมื่อผสม $F_1 \otimes F_1$ เริ่มมีดักแด้ให้ย้ายตัวพ่อแม่ F_1 ออกนำไปกำจัดทิ้ง เมื่อรุ่นลูก F_2 ออกจากดักแด้ให้จับบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวี่ หลังจับบันทึกลักษณะเรียบร้อยแล้วให้นำแมลงหวี่ไปกำจัดทิ้งโดยการสลับแมลงหวี่เป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวี่จะตาย

7. การทำ test cross F_1 ให้เลือกแมลงหวี่เพศเมียที่มีลักษณะสมบูรณ์ไปทดสอบกับแมลงหวี่ในหลอด stock ที่แจกให้ครั้งแรก (stock) โดยทำหน้าที่เป็นเพศผู้ที่เป็น tester หรือมีลักษณะเป็น homozygous recessive โดยเลือกทำจากสายตรงหรือสายสลัสายใดสายหนึ่ง (เลือกสายเดียวกับการผสม $F_1 \otimes F_1$) จำนวน 4 คู่ผสมพันธุ์ ในการทำ test cross F_1 หากพบว่ารุ่นลูกที่เกิดมีลักษณะเด่น : ค้อย เท่ากับ 1 : 1 แสดงว่า F_1 มีจีโนไทป์เป็น heterozygote แต่ถ้ารุ่นลูกที่เกิดมีลักษณะเด่นเพียงอย่างเดียวแสดงว่า F_1 ที่นำมาทดสอบมีจีโนไทป์เป็น homozygote

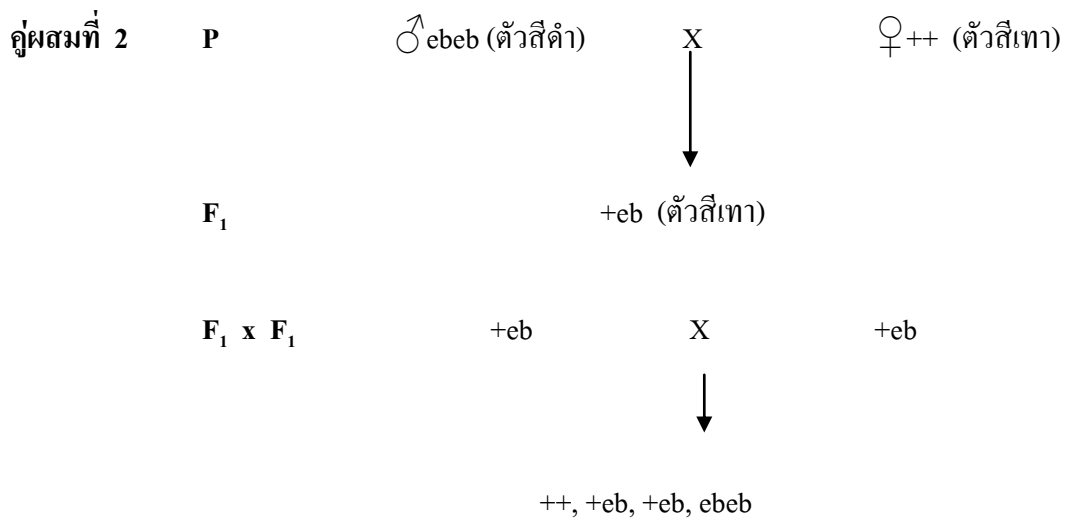
ผลของโมโนไฮบริดครอส (Monohybrid Cross)

ลักษณะพันธุกรรมของแมลงหวี่อาจถูกควบคุมด้วยยีนซึ่งอยู่บนโครโมโซม ประเภทใดประเภทหนึ่งใน 2 ประเภทคือ autosome หรือ โครโมโซมร่างกาย และ sex chromosome หรือ โครโมโซมเพศ ซึ่งการถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมที่ถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซมทั้งสองประเภทนี้จะแตกต่างกัน โดยอาจจำแนกได้จากผลของการผสมพันธุ์แบบสลัโดยหากผลรุ่นลูกของทั้ง 2 คู่ผสมพันธุ์ออกมาเหมือนกันอธิบายได้ว่ายีนนั้นอยู่บน autosome แต่ถ้าผลจากทั้ง 2 คู่ผสมพันธุ์ต่างกันจะอธิบายได้ว่ายีนอยู่บนโครโมโซม X การถ่ายทอดลักษณะพันธุกรรมโดยพิจารณาศึกษาเพียงลักษณะเดียวเรียกว่า โมโนไฮบริดครอส (monohybrid cross) และการถ่ายทอดพันธุกรรมของลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บนโครโมโซมร่างกายเรียกว่า autosomal genes inheritance ส่วนการถ่ายทอดลักษณะที่ยีนอยู่บนโครโมโซมเพศ เรียกว่า sex linked genes inheritance (เอกสารประกอบการสอน พันธุศาสตร์เบื้องต้น)

ตัวอย่างแผนผังการถ่ายทอดลักษณะสีตัวของแมลงหวี่กรณียีนอยู่บน **autosome**



F₂ จะได้แมลงหวี่ที่มีลักษณะ ตัวเทา 3 (++, +eb) : ตัวดำ 1 (ebeb)

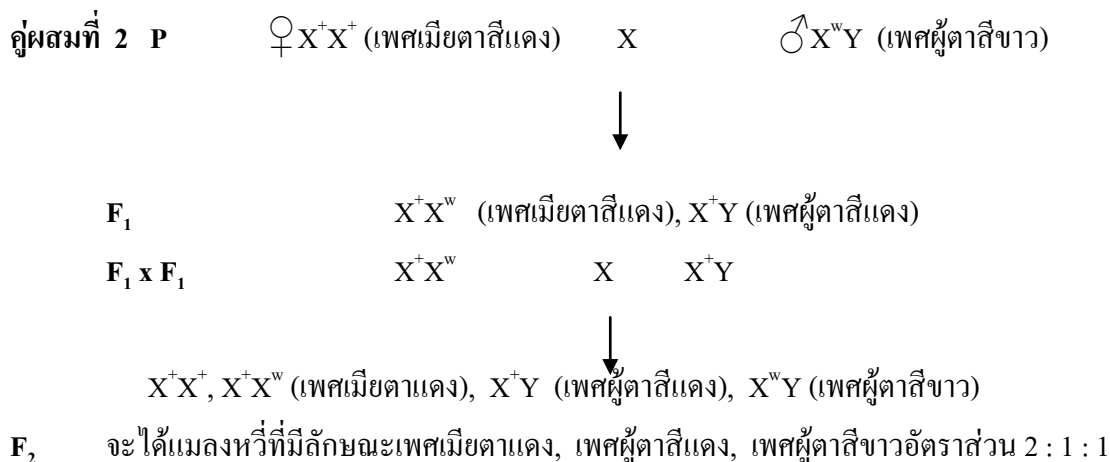


F₂ จะได้แมลงหวี่ที่มีลักษณะ ตัวเทา 3 (++, +eb) : ตัวดำ 1 (ebeb)

สรุปผลการถ่ายทอดลักษณะของแมลงหวี่ตัวสีเทาผสมกับแมลงหวี่ตัวสีดำ

- 1) ในชั่วรุ่น F₁ พบเฉพาะแมลงหวี่ตัวสีเทาเท่านั้น
- 2) ในชั่วรุ่น F₂ พบแมลงหวี่ตัวสีเทาและตัวสีดำในอัตราส่วน 3 : 1
- 3) ผลการผสมสลับรุ่นลูกมีลักษณะเหมือนกันวิเคราะห์ได้ว่ายีนอยู่บน **autosome**

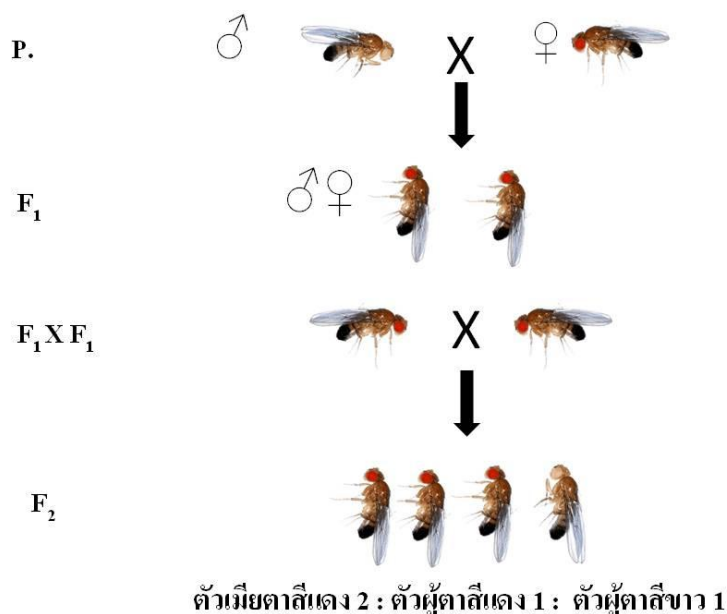
แผนผังการผสมสลับลักษณะสีตาของแมลงหวี่ (รูปที่ 4-4)



สรุปผลการผสมสลับพ่อแม่ระหว่างแมลงหวี่เพศเมียตาสีแดงกับเพศผู้ตาสีขาว

1. ในชั่วรุ่น F₁ ได้แมลงหวี่ลักษณะเดียวคือตาสีแดง ทั้งในเพศผู้และเพศเมีย
2. ในชั่วรุ่น F₂ ได้แมลงหวี่ 2 ลักษณะ คือตาสีแดงและตาสีขาวในอัตราส่วน 3:1 แต่เมื่อพิจารณาโดยแยกเพศจะพบว่าเพศเมียมีลักษณะเดียวคือตาสีแดงสองส่วน ส่วนเพศผู้มีสอง ลักษณะ คือตาสีแดงและตาสีขาวอย่างละเท่าๆกัน

หมายเหตุ: จะเห็นว่าผลของการผสมตรงและการผสมสลับพ่อแม่แตกต่างกัน



รูปที่ 4-4 แผนผังการผสมสลับลักษณะสีตาของแมลงหวี่ 1 คู่ผสมพันธุ์

ปฏิบัติการที่ 3

การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรม : การศึกษาสองลักษณะ

การศึกษาในสิ่งมีชีวิตสองลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนสองคู่ที่เป็นอิสระต่อกันหรืออยู่บน autosome ต่างเส้นกัน เมื่อผสมพันธุ์แท้ที่มีลักษณะตรงกันข้าม 2 ลักษณะจะพบว่ารุ่นลูก F_2 ปรากฏฟีโนไทป์ในอัตราส่วน 9 : 3 : 3 : 1 และเมื่อทำ test cross F_1 รุ่นลูกจะมีฟีโนไทป์ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1 : 1 ในแมลงหวี่ก็เช่นเดียวกันที่มีหลายลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่บน autosome ต่างเส้นกัน

ในปฏิบัติการนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้นักศึกษาสามารถวิเคราะห์ผลจากการทดลองได้ว่ายีนที่ศึกษาอยู่ต่างโครโมโซมกัน ซึ่งผลจากรุ่นลูก F_2 สามารถอธิบายได้ว่าการรวมกลุ่มกันอย่างอิสระของยีนเกิดขึ้นหรือไม่และเกิดอย่างไร และสามารถอธิบายผล test cross สำหรับลูกผสม 2 ลักษณะ ที่ถูกควบคุมด้วยยีน 2 ตำแหน่ง

วิธีเตรียมปฏิบัติการ

1. เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ให้มีจำนวนของดักแด้ปริมาณมากเพียงพอล่วงหน้าก่อนปฏิบัติการอย่างน้อย 3 สัปดาห์
2. แบ่งกลุ่มนักศึกษากลุ่มละ 2 คน
3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับคัดดักแด้ และหลอดเลี้ยงอาหาร อบอุ่นเชื้อที่อุณหภูมิ 150 -180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง จุกฟองน้ำนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำไปอบแห้งก่อนนำไปใช้
4. เตรียมอาหารสำหรับแจกกลุ่มละ 4 หลอดสำหรับการแจกในครั้งแรก และหลังจาก 2-3 วันแจกเพิ่มอีกกลุ่มละ 4 หลอด
5. แจกอุปกรณ์ในการทำปฏิบัติการ เช่น ขวดหรือหลอด stock แมลงหวี่ 2 สายพันธุ์ คือ wild type single mutant และ double mutant หลอดคัดดักแด้จำนวน 20 หลอด หลอดอาหาร 4 หลอด หลอดย้ายแมลงหวี่ 2 หลอด แวนชยาย 1 อัน เข็มเขี่ย 1 อัน พู่กัน 1 อัน แผ่นฟอ์มก้าลีขาว 1 แผ่น rack สำหรับใส่หลอดคัดดักแด้ และวางหลอดอาหาร

ขั้นตอนการทดลอง

1. การคัดดักแด้ จะต้องเริ่มจากนำขวดหรือหลอดเปล่าที่ไม่มีอาหารย้ายตัวเต็มวัยแมลงหวี่ออกจากขวดหรือหลอด stock ที่ได้รับมาออกจากหลอดหรือขวดให้หมด (รูปที่ 4-1)

2. ใช้เข็มเย็บลนไฟเพื่อทำการฆ่าเชื้อ และรอให้เข็มเย็บเย็นแล้วจึงใช้เข็มเย็บเย็บคักแค้ที่อยู่ข้างหลอดหรือบนกระดาษอย่างเบามือ และควรเลือกคักแค้ที่มีสีขาวขุ่น หรือสีน้ำตาลถึงดำ แต่ถ้าคักแค้ที่มีลักษณะน้ำตาลถึงดำ แผลงหวีจะออกจากคักแค้ภายใน 1-2 วัน ดังนั้นนักศึกษาควรคำนึงถึงเวลาที่จะมาดูผลจากการคักคักแค้ในระยะเวลาดังกล่าวด้วย ในการคักคักแค้ให้คัก 1 คักแค้ต่อ 1 หลอด (เพื่อป้องกันการผสมพันธุ์ภายในสายพันธุ์เดียวกัน) ทำทั้งหมด 10 หลอดต่อสายพันธุ์

3. หลังจากคักคักแค้เสร็จเรียบร้อยให้นำตัวเต็มวัยของแมลงหวีที่ย้ายออกมากลับคืนหลอดอาหารตามสายพันธุ์ที่ย้ายออกมา

4. หลังจากคักคักแค้แล้วให้นำไปปมในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี และควรมาตรวจดูการออกจากคักแค้ทุกวัน หากสังเกตเห็นว่าการออกจากคักแค้ใช้เวลานานเกินกว่าที่กำหนดให้นักศึกษาคักคักแค้ใส่ในหลอดนั้นใหม่ เนื่องจากคักแค้อาจได้รับการกระทบกระเทือนมากอาจทำให้ไม่ออกจากคักแค้ หลังจากแมลงหวีออกจากคักแค้แล้วให้ตรวจดูลักษณะของฟีโนไทป์ และเพศของแมลงหวี และย้ายแมลงหวีไปลงในหลอดอาหารที่ได้รับแจกโดยเขียนเพศ และจีโนไทป์ พร้อมทั้งวันที่ที่แมลงหวีออกจากคักแค้ เช่น คักคักแค้แมลงหวีสายพันธุ์ wild type (++) จำนวน 10 หลอด และวันรุ่งขึ้นพบว่าแมลงหวีออกจากคักแค้จำนวน 4 ตัว ตรวจฟีโนไทป์ และเพศแล้วพบว่าเป็นเพศผู้ จำนวน 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ให้นำไปใส่ในหลอดอาหารหลอดละ 1 ตัว เพื่อการผสมพันธุ์จากสายพันธุ์ตรงข้าม เพื่อทำการผสมแบบสายตรง (crossing) และสายสลับ (reciprocal cross) อย่างละ 4 คู่ผสมพันธุ์

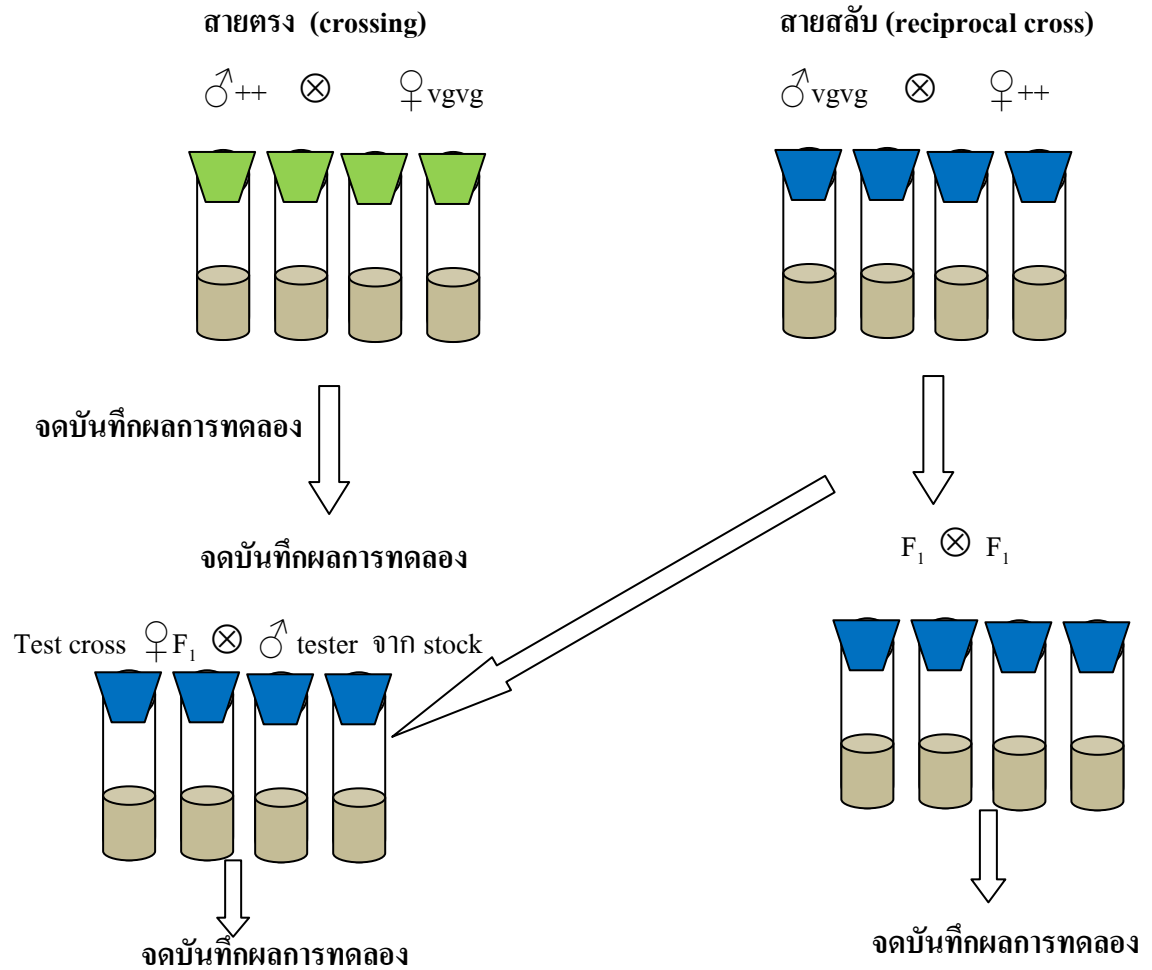
5. นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวีและสังเกตดูทุกวันเมื่อสังเกตเห็นคักแค้เกาะที่ข้างหลอดให้ย้ายพ่อแม่ออกจากหลอดและนำพ่อแม่ไปกำจัดทิ้งโดยการสลบแมลงหวีเป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวีจะตาย และเมื่อแมลงหวีออกจากคักแค้ให้นักศึกษาตรวจฟีโนไทป์และเพศแมลงหวีรุ่น F_1 ทุกวันจนกว่าแมลงหวีจะออกจากคักแค้หมดจดบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวีทุกวัน

6. แมลงหวีส่วนหนึ่งทำการตรวจฟีโนไทป์และเพศแมลงหวีแล้วให้นำแมลงหวีสายตรงหรือสายสลับสายใดสายหนึ่งไปผสม $F_1 \otimes F_1$ เพื่อสร้างรุ่นลูก F_2 จำนวน 4 คู่ผสมพันธุ์ เมื่อผสม $F_1 \otimes F_1$ เริ่มมีคักแค้ให้ย้ายตัวพ่อแม่ F_1 ออกนำไปกำจัดทิ้ง เมื่อรุ่นลูก F_2 ออกจากคักแค้ให้จดบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวี หลังจดบันทึกลักษณะเรียบร้อยแล้วให้นำแมลงหวีไปกำจัดทิ้งโดยการสลบแมลงหวีเป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวีจะตาย

7. การทำ test cross F_1 ให้เลือกแมลงหวีเพศเมียที่มีลักษณะสมบูรณไปทดสอบกับแมลงหวีในหลอด stock ที่แจกให้ครั้งแรกที่เป็นเพศผู้เป็น tester หรือมีลักษณะเป็น homozygous

recessive โดยเลือกทำจากสายตรงหรือสายสลับสายใดสายหนึ่ง (เลือกสายเดียวกับการผสม $F_1 \otimes F_1$) จำนวน 4 คู่ผสมพันธุ์

การวางแผนการทดลอง



รูปที่ 4-5 ผังการทดลองการผสมพันธุ์แมลงหวี่สายตรง สายสลับ และการทำ Test cross

ปฏิบัติการที่ 4

การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมในแมลงหวี่ : ยีนบนโครโมโซม X

แมลงหวี่เพศผู้และเพศเมียจะมีโครโมโซม 3 คู่ ที่เหมือนกันเรียกว่า autosome ส่วนโครโมโซมอีก 1 คู่ จะต่างกันเรียกว่าโครโมโซมเพศ (sex chromosome) บนโครโมโซม x ของแมลงหวี่มียีนที่ควบคุมลักษณะอยู่หลายยีนเรียกว่า X-linked genes ข้อมูลในการทดลองสามารถบ่งชี้ได้ว่ายีนที่ศึกษามีลักษณะเป็น X-linked genes หรือไม่

วัตถุประสงค์ในการทดลองนี้สามารถวางแผนการทดลองและวิเคราะห์จากข้อมูลการทดลองเพื่อพิสูจน์ว่ายีนที่ศึกษาเป็น X-linked genes หรือ autosomal genes

วิธีเตรียมปฏิบัติการ

1. เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ให้มีจำนวนของดักแด้ให้มีปริมาณเพียงพอต่อวงหน้าอย่างน้อย 3 สัปดาห์
2. แบ่งกลุ่มนักศึกษากลุ่มละ 2 คน
3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับคัดดักแด้ และหลอดเลี้ยงอาหาร อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง จุกฟองน้ำนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปอบแห้งก่อนนำไปใช้
4. เตรียมอาหารสำหรับแจกกลุ่มละ 4 หลอดสำหรับการแจกในครั้งแรก และหลังจาก 2-3 วันแจกเพิ่มอีกกลุ่มละ 4 หลอด
5. แจกอุปกรณ์ในการทำปฏิบัติการ เช่น ขวดหรือหลอด stock แมลงหวี่ 2 สายพันธุ์ คือ wild type (ตาสีแดง), single mutant (ตาสีขาว) หลอดคัดดักแด้จำนวน 20 หลอด หลอดอาหาร 4 หลอด หลอดย้ายแมลงหวี่ 2 หลอด แวนชยาย 1 อัน เข็มเขี่ย 1 อัน พู่กัน 1 อัน แผ่นฟอ์มก้าสี ขาว 1 แผ่น rack สำหรับใส่หลอดคัดดักแด้ และวางหลอดอาหาร

ขั้นตอนการทดลอง

1. การคัดดักแด้จะต้องเริ่มจากนำขวดหรือหลอดเปล่าที่ไม่มีอาหารย้ายตัวเต็มวัยแมลงหวี่ออกจากขวดหรือหลอด stock ที่ได้รับมาออกจากหลอดหรือขวดให้หมด
2. ใช้เข็มเขี่ยลงไปเพื่อทำการฆ่าเชื้อ และรอให้เข็มเขี่ยเย็นแล้วจึงใช้เข็มเขี่ยเขี่ยดักแด้ที่อยู่ข้างหลอดหรือบนกระดาษอย่างเบามือ และควรเลือกดักแด้ที่มีสีขาวขุ่น หรือสีน้ำตาลถึงดำ แต่ถ้าคัดดักแด้ที่มีลักษณะน้ำตาลถึงดำ แมลงหวี่จะออกจากดักแด้ภายใน 1-2 วัน ดังนั้นนักศึกษาคควร

ปฏิบัติการที่ 5

การถ่ายทอดลักษณะในแมลงหวี่ : ยีนที่อยู่บนโครโมโซมเดียวกัน

การศึกษาในปฏิบัติการนี้สามารถวิเคราะห์ลักษณะที่ถูกควบคุมด้วย linked gene ได้จากผลการทดลอง และสามารถคำนวณระยะห่างระหว่างยีนได้จากผลการทำ test cross และข้อมูลผลการทดลองจากลูกรุ่น F₂

วิธีเตรียมปฏิบัติการ

1. เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ให้มีจำนวนของดักแด้ให้มีปริมาณเพียงพอล่วงหน้าอย่างน้อย 3 สัปดาห์
2. แบ่งกลุ่มนักศึกษากลุ่มละ 2 คน
3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับคัดดักแด้ และหลอดเลี้ยงอาหารที่อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง จุกฟองน้ำนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปอบแห้งในตู้ hot air oven ให้แห้งก่อนนำไปใช้
4. เตรียมอาหารสำหรับแจกกุ่มละ 4 หลอดสำหรับการแจกในครั้งแรก และหลังจาก 2-3 วันแจกเพิ่มอีกกลุ่มละ 4 หลอด
5. แจกอุปกรณ์ในการทำปฏิบัติการ เช่น ขวดหรือหลอด stock แมลงหวี่ 2 สายพันธุ์ คือ wild type (ตาสีแดง ปีกยาว), single mutant (ตาสีขาว ปีกยาว) และ double mutant (ตาสีขาว ปีกแค้ก้น) หลอดคัดดักแด้จำนวน 20 หลอด หลอดอาหาร 4 หลอด หลอดย้ายแมลงหวี่ 2 หลอด แวนชยาย 1 อัน เข็มเจีย 1 อัน พู่กัน 1 อัน แผ่นฟอเมก้าสีขาว 1 แผ่น rack สำหรับใส่หลอดคัดดักแด้ และวางหลอดอาหาร

ขั้นตอนการทดลอง

1. การคัดดักแด้จะต้องเริ่มจากนำขวดหรือหลอดเปล่าที่ไม่มีอาหารย้ายตัวเต็มวัยแมลงหวี่ออกจากขวดหรือหลอด stock ที่ได้รับมาออกจากหลอดหรือขวดให้หมด
2. ใช้เข็มเจียหลอดไฟเพื่อทำการฆ่าเชื้อ และรอให้เข็มเจียเย็นตัวลงแล้วจึงใช้เข็มเจียนั้น เจียดักแด้ที่อยู่ข้างหลอดหรือบนกระดาษอย่างเบามือ และควรเลือกดักแด้ที่มีสีขาวขุ่น หรือสีน้ำตาลถึงดำ แต่ถ้าคัดดักแด้ที่มีลักษณะน้ำตาลถึงดำ แมลงหวี่จะออกจากดักแด้ภายใน 1-2 วัน ดังนั้น นักศึกษาควรคำนึงถึงเวลาที่จะมาดูผลจากการคัดดักแด้ในระยะเวลาดังกล่าวด้วย ในการคัดดักแด้

ให้คัด 1 ดักแค้ต่อ 1 หลอด (เพื่อป้องกันการผสมพันธุ์ภายในสายพันธุ์เดียวกัน) ทำทั้งหมด 10 หลอด ต่อสายพันธุ์

3. หลังจากคัดดักแค้เสร็จเรียบร้อยแล้วให้นำตัวเต็มวัยของแมลงหวี่ที่ย้ายออกมากลับคืนหลอดอาหารตามสายพันธุ์ที่ย้ายออกมา

4. หลังจากคัดดักแค้แล้วให้นำไปบ่มในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ และควรมาตรวจดูการออกจากดักแค้ทุกวัน หากสังเกตเห็นว่าการออกจากดักแค้ใช้เวลานานเกินกว่าที่กำหนดให้นักศึกษาคัดดักแค้ใส่ในหลอดนั้นใหม่ เนื่องจากดักแค้อาจได้รับการกระทบกระเทือนมากอาจทำให้ไม่ออกจากดักแค้ หลังจากแมลงหวี่ออกจากดักแค้แล้วให้ตรวจดูลักษณะของฟีโนไทป์ และเพศของแมลงหวี่ และย้ายแมลงหวี่ไปลงในหลอดอาหารที่ได้รับแจกโดยเขียนเพศ และจีโนไทป์พร้อมทั้งใส่วันที่เดือน ที่แมลงออกจากดักแค้ เช่น คัดดักแค้แมลงหวี่สายพันธุ์ Single mutant จำนวน 10 หลอด และวันรุ่งขึ้นพบว่าแมลงหวี่ออกจากดักแค้จำนวน 4 ตัว ตรวจฟีโนไทป์ และเพศแล้วพบว่า เป็นเพศผู้ จำนวน 2 ตัว และเพศเมีย 2 ตัว ให้นำไปใส่ในหลอดอาหารหลอดละ 1 ตัว เพื่อรอการผสมพันธุ์จากสายพันธุ์ตรงข้าม เพื่อทำการผสมแบบสายตรง (crossing) และสายสลับ (reciprocal cross) อย่างละ 4 คู่ผสมพันธุ์

5. นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่และสังเกตดูทุกวันเมื่อสังเกตเห็นดักแค้เกาะที่ข้างหลอดให้ย้ายพ่อแม่ออกจากหลอดและนำพ่อแม่ไปกำจัดทิ้งโดยการสลับแมลงหวี่เป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวี่จะตาย และเมื่อแมลงหวี่ออกจากดักแค้ให้นักศึกษาตรวจฟีโนไทป์และเพศแมลงหวี่รุ่น F_1 ทุกวันจนกว่าแมลงหวี่จะออกจากดักแค้หมดจดบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวี่ทุกวัน

6. แมลงหวี่ส่วนหนึ่งทำการตรวจฟีโนไทป์และเพศแมลงหวี่แล้วให้นำแมลงหวี่ทั้งสายตรงและสายสลับไปทำการผสม $F_1 \otimes F_1$ เพื่อสร้างรุ่นลูก F_2 จำนวน 4 คู่ผสมพันธุ์ เมื่อผสม $F_1 \otimes F_1$ เริ่มมีดักแค้ให้ย้ายตัวพ่อแม่ F_1 ออกนำไปกำจัดทิ้ง เมื่อรุ่นลูก F_2 ออกจากดักแค้ให้จดบันทึกจำนวนและเพศของแมลงหวี่ หลังจดบันทึกลักษณะเรียบร้อยแล้วให้นำแมลงหวี่ไปกำจัดทิ้งโดยการสลับแมลงหวี่เป็นเวลานานจนกว่าแมลงหวี่จะตาย

7. คำนวณระยะห่างระหว่างยีนโดยใช้ข้อมูลจากรุ่นลูก F_2 และข้อมูลจากรุ่น test cross

ปฏิบัติการที่ 6

แมลงหวี่ : ฟิตเนสและฟีโนโคปี

ฟิตเนส (fitness) ความสามารถหนึ่งๆที่มีโอกาสถ่ายทอดไปยังรุ่นต่อไป ปัจจัยที่มีผลต่อฟิตเนสได้แก่ความสามารถในการอยู่รอด ยีนบางตัวเป็นยีนที่อยู่รอดได้ดีในธรรมชาติแต่ยีนบางตัวเป็นยีนประเภทสูญหายไปได้ง่าย เช่น lethal gene ซึ่งหากมียีนประเภทนี้สิ่งมีชีวิตที่มียีนดังกล่าวก็จะตาย

ฟีโนโคปี (phenocopy) เป็นปรากฏการณ์ที่สิ่งแวดล้อมมีผลทำให้สิ่งมีชีวิตมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะไปจนคล้ายอีกลักษณะหนึ่งที่มียีนอื่นควบคุมอยู่ การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเฉพาะส่วนของฟีโนไทป์เท่านั้น โดยที่จีโนไทป์ไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลง

วัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อพิสูจน์ว่ายีนแต่ละแอลลีลมีฟิตเนสไม่เท่ากัน และเพื่อฝึกการคำนวณหาความถี่ของยีนในประชากร สามารถเข้าใจปรากฏการณ์การคัดเลือกโดยธรรมชาติ และสามารถพิสูจน์ว่ามี phenocopy ที่เกิดขึ้นในประชากรของสิ่งมีชีวิตได้

วิธีเตรียมปฏิบัติการ

1. เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ให้มีจำนวนของดักแด้ให้มีปริมาณเพียงพอต่อวงหน้าอย่างน้อย 3-4 สัปดาห์
2. แบ่งกลุ่มนักศึกษากลุ่มละ 2 คน
3. เตรียมอุปกรณ์สำหรับเลี้ยงแมลงหวี่ และขวดโหล ออบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 150-180 องศาเซลเซียส นาน 1-2 ชั่วโมง จุกฟองน้ำนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปอบแห้งก่อนนำไปใช้
4. เตรียมอาหารสำหรับแจกกลุ่มละ 2 โหล
5. แจกอุปกรณ์ในการทำปฏิบัติการ เช่น ขวด stock แมลงหวี่ 2 สายพันธุ์ คือ wild type และ single mutant สายพันธุ์ละ 2 ขวด ขวดสำหรับย้ายแมลงหวี่ แวนขยาย 1 อัน เข็มเขี่ย 1 อัน ฟูกัน 1 อัน แผ่นฟอรั่มก้ำสีขาว 1 แผ่น

ขั้นตอนการทดลอง

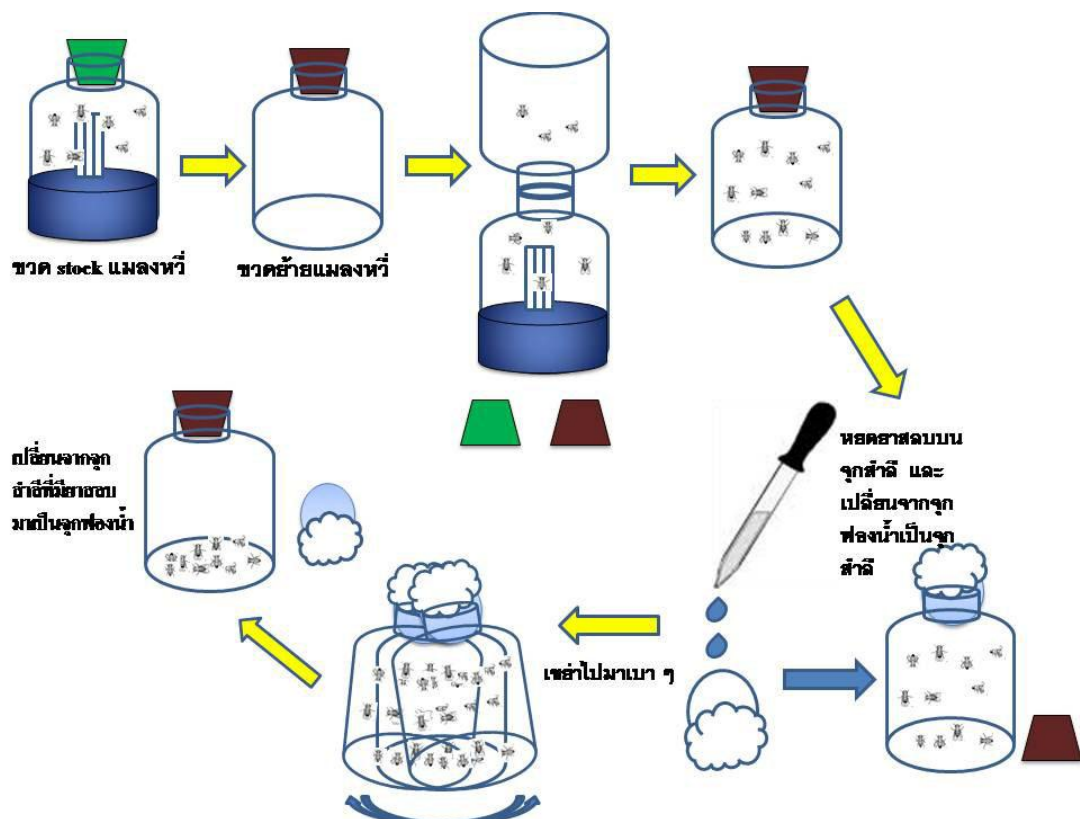
1. นักศึกษาแต่ละกลุ่มนำแมลงหวี่สายพันธุ์แท้ wild type มาย้ายแมลงหวี่ตัวเต็มวัยออกจากขวด stock
2. นำแมลงหวี่ที่ย้ายออกมาเขียนสายพันธุ์ไว้ที่ข้างขวด นำไปสลบโดยหยดยาสลบลงบนจุกสำลีและเปลี่ยนจากจุกฟองน้ำเป็นจุกสำลีแทนหลังจากนั้นเขย่าขวดไปมาเบาๆเพื่อให้ยาสลบ

กระจายทั่วขวด เมื่อสังเกตเห็นแมลงหวี่เริ่มสลบไม่มีการเคลื่อนไหวให้เปลี่ยนเป็นจุกสำลีที่มี ยาสลบเป็นจุกฟองน้ำ เพื่อไม่ให้แมลงหวี่ได้รับยาสลบมากเกินไปเพราะอาจทำให้แมลงหวี่ตายได้

3. นำแมลงหวี่ที่สลบแล้วมาตรวจสอบเพศและฟีโนไทป์โดยคัดเลือกแมลงหวี่ wild type เพศผู้จำนวน 25 ตัว และเพศเมียจำนวน 25 ตัว เมื่อคัดเลือกแมลงหวี่ได้แล้วให้นำแมลงหวี่มาใส่ ขวดเปล่าพร้อมกันไว้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย

4. นำแมลงหวี่สายพันธุ์ที่เป็น single mutant มาย้ายเพื่อนำตัวเต็มวัยไปสลบทำตามข้อ 2-3 คัดเลือกแมลงหวี่เพศผู้จำนวน 25 ตัว และเพศเมียจำนวน 25 ตัว หลังจากนั้นนำแมลงหวี่ที่คัดเลือก ไว้ไปใส่รวมกับแมลงหวี่สายพันธุ์ wild type ที่คัดเลือกไว้แล้ว เพราะฉะนั้นจะได้แมลงหวี่สองสาย พันธุ์ในขวดเดียวกันทั้งหมด 100 ตัว

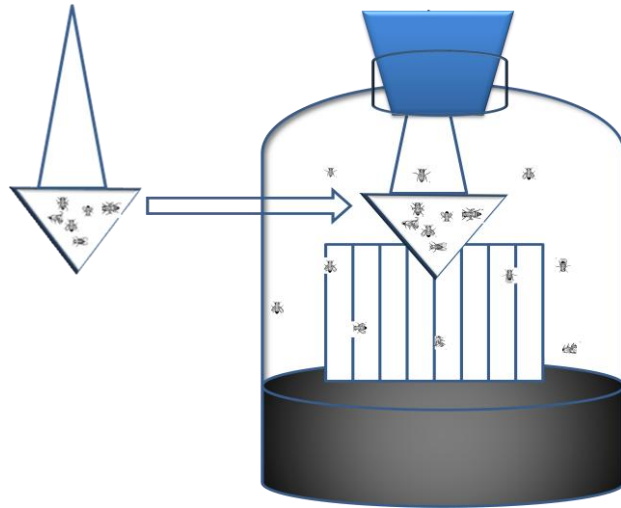
5. หากเริ่มเห็นว่าแมลงหวี่ที่คัดเลือกไว้เริ่มมีการเคลื่อนไหวให้รีบนำไปสลบอีกครั้ง หลังจากนั้นให้นำกระดาษรูปสามเหลี่ยมมาพับเป็นกรวย และเย็บด้วยลวดเย็บกระดาษ ควรพับให้ เหลือปลายหางของกระดาษไว้เพื่อใช้ในการเกี่ยวยัดที่ปากขวด เมื่อพับกระดาษเป็นรูปกรวยแล้วให้ นำแมลงหวี่ที่สลบใส่ลงในกรวยกระดาษ และนำไปแขวนไว้ในขวดโหลที่มีอาหารและใช้จุก ฟองน้ำปิดทับไว้อีกครั้งเพื่อป้องกันกรวยกระดาษหล่นลงในอาหาร



รูปที่ 4-6 การย้ายแมลงหวี่และการนำแมลงหวี่ไปสลบ

6. สังเกตแมลงหวี่จะค่อยๆ เริ่มฟุ้งและบินออกจากกรวยกระดาษโดยที่แมลงหวี่จะไม่จมน้ำอาหารตาย และไม่บินหายไปในช่วงที่ย้ายแมลงหวี่ลงในขวดโหล หากสังเกตว่ามีแมลงหวี่ไม่ฟุ้งก็สามารถนำมาตรวจสอบเพศและฟีโนไทป์ได้ว่าเป็นสายพันธุ์ใดที่มีจำนวนไม่ครบ โดยให้นำแมลงหวี่สายพันธุ์นั้นๆ มาใส่เพิ่มในภายหลัง

7. ส่วนอีก 1 ขวดโหลให้ทำเช่นเดียวกับข้อ 1-6



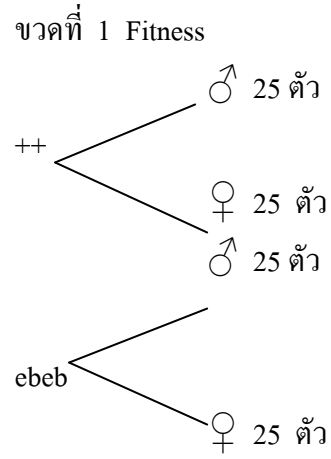
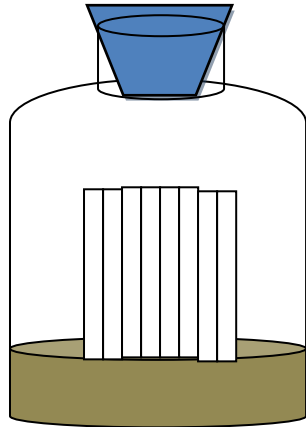
รูปที่ 4-7 การใส่กรวยกระดาษที่มีแมลงหวี่ที่สลบอยู่ลงในขวดโหล

8. ขวดโหลที่ 1 ให้ติดป้ายกลุ่ม ชื่อผู้ทดลอง ชนิดของแมลงหวี่ที่ผสมพันธุ์และเขียนข้างขวดว่า fitness พร้อมทั้งเขียนวันที่ทำการผสมพันธุ์ นำขวดโหลแมลงหวี่ที่ผสมพันธุ์นี้ไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงแมลงหวี่ที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 55-60 วัน หลังจากนั้นจึงนำมาตรวจสอบผลโดยการย้ายตัวแมลงหวี่ออกจากขวดโหลทั้งหมดและนำมาตรวจสอบลักษณะฟีโนไทป์ เพศ และจำนวนเพื่อนำผลที่ได้ไปคำนวณหาความถี่ของยีน

9. ขวดโหลที่ 2 ติดป้ายกลุ่ม ชื่อผู้ทดลอง ชนิดของแมลงหวี่ที่ผสมพันธุ์ และเขียนข้างขวดว่า phenocopy พร้อมทั้งวันที่ผสมพันธุ์แมลงหวี่ นำแมลงหวี่ไปเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงหวี่ที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากเลี้ยง 7-10 วันจะสังเกตเห็นมีดักแด้เริ่มเกาะที่ข้างขวดโหลให้ย้ายตัวเต็มวัยแมลงหวี่ออกจากขวดโหลให้หมด นำตัวเต็มวัยไปกำจัดทิ้ง และนำขวดโหลไปตั้งไว้ที่ห้องที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นให้เก็บผลแมลงหวี่ทุกวันจนกว่าแมลงหวี่จะออกเป็นตัวทั้งหมด หลังจากนั้นนำแมลงหวี่มาตรวจสอบข้อมูลแล้วพบว่าแมลงหวี่ที่มีลักษณะผิดปกติไปจากพ่อและแม่ให้เก็บแมลงหวี่เลี้ยงในหลอดอาหารและวิเคราะห์ผล โดยดูจากฟีโนไทป์ของรุ่นลูกเพื่อดูว่าลักษณะที่เปลี่ยนไปเป็นฟีโนโคปีหรือการกลายพันธุ์ ส่วนแมลงหวี่ที่เหลือให้นำไปกำจัดทิ้งโดยการสลบในระยะเวลาที่นานขึ้น

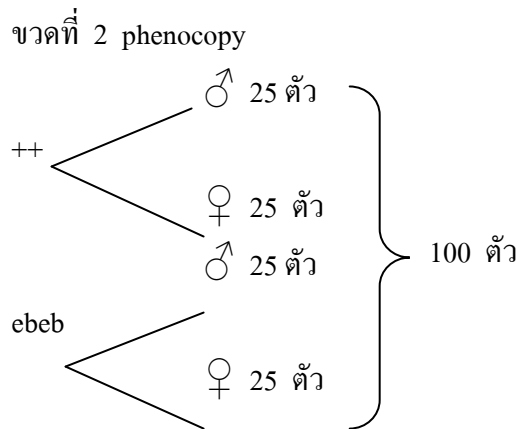
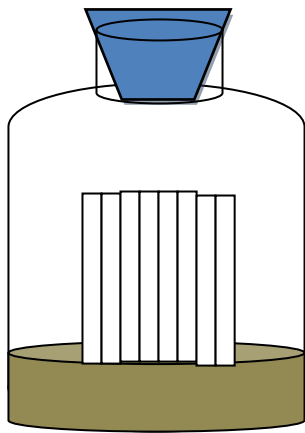
10. บันทึกผลการทดลอง พร้อมทั้งนำข้อมูลที่ได้อธิบายวิเคราะห์ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

Fitness



รูปที่ 4-8 แสดงการทดลอง fitness

Phenocopy



รูปที่ 4-9 แสดงการทดลอง phenocopy

บรรณานุกรม

- คณาจารย์ภาควิชาพันธุศาสตร์.2553.พันธุศาสตร์ปฏิบัติการ. ภาควิชาพันธุศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
กรุงเทพมหานคร.พิมพ์ครั้งที่ 2.
- ปฏิบัติการเรื่อง การถ่ายทอดกรรมพันธุ์ของแมลงหวี่. แหล่งที่มา: [http://www.sc.chula.ac.th/
courseware/2305262/context/text7/lab7/body_lab7.html#7-11](http://www.sc.chula.ac.th/courseware/2305262/context/text7/lab7/body_lab7.html#7-11)
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2542. พันธุศาสตร์. บริษัทสำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิชจำกัด, กรุงเทพฯ.
- วิมล ขวัญเกื้อ.2544. ปฏิบัติการวิชาพันธุศาสตร์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- วิสุทธิ ไบไม้. 2536. พันธุศาสตร์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล:
กรุงเทพฯ.
- สถาบันส่งเสริมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สสวท.). เพาะเลี้ยงแมลงหวี่ด้วยอาหารเหลวและ
อาหารแข็ง. แหล่งที่มา: http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet4/fly_fruit/index.html
- เอกสารประกอบการสอนวิชาปฏิบัติการพันธุศาสตร์เบื้องต้น.แมลงหวี่กับการทดลองทาง
พันธุศาสตร์.แหล่งที่มา: [http://www.champa.kku.ac.th/somsong/file/245Lab1Droso
Correct.doc](http://www.champa.kku.ac.th/somsong/file/245Lab1Droso
Correct.doc)
- Hartwell, L.H., L. Hood, M.L. Goldberg, A.E. Reynolds, L.M. Silver, R.C. Veres. 2008.
Genetics. From Genes to Genomes. Mc Graw Hill Companies, Inc. USA.
- Peter, J. R. Genetics. An imprint of Addison Wesley longman, Inc.
- Roberts, D.B. 1986. **Drosophila: a practical approach.** IRL Press, Oxford.