

**ชีววิทยาการเจริญของด้วงกว้างชน (*Xylotrupes gideon*)
ในระบบการเพาะเลี้ยงแบบจำกัดพื้นที่**
**Biological Development of the Fighting Beetle (*Xylotrupes gideon*)
in a Confined Rearing System**

ไกรฤกษ์ ทวีเชื้อ*, วุฒิชัย ฤทธิ, สุमितานันท์ จันทะบุรี และ ญาณพัฒน์ พรหมประสิทธิ์

Krailerk Taweechue*, Wuttichai Ritti, Sumitahnun Chunthaburee and Yanaphat Promprasit

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ประเทศไทย

Department of Biology, Faculty of Science and technology, Phetchaburi Rajaphat University, Thailand

Received : 13 September 2024, Received in revised form : 31 March 2025, Accepted : 3 April 2025

Available online : 21 May 2025

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : ด้วงกว้างชนมีบทบาทสำคัญในระบบนิเวศ ระยะหนอนกินพืชที่ตายแล้วก่อให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารและเป็นการบำรุงดิน นอกจากนั้นด้วงกว้างระยะตัวเต็มวัยสามารถนำมาเป็นอาหารของมนุษย์ได้ นับเป็นโอกาสในการเป็นแหล่งอาหารที่ยั่งยืน อย่างไรก็ตามประชากรของแมลงชนิดนี้ตามธรรมชาติกำลังลดลงเนื่องจากปัจจัยหลายประการ ได้แก่ การทำลายถิ่นที่อยู่อาศัยซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการขยายพันธุ์ มลภาวะสารเคมีจากการเกษตร และการจับเพื่อนำไปบริโภคที่มากเกินไป แม้จะมีการศึกษาชีววิทยาของแมลงชนิดนี้มาบ้างแต่ความรู้เกี่ยวกับวงจรชีวิตของด้วงโดยเฉพาะในระยะก่อนโตเต็มวัยซึ่งอาศัยอยู่ใต้ดินยังคงมีน้อยเนื่องจากความยากในการสังเกต ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยาการเจริญของด้วงกว้างชนครบวงจรชีวิตตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเจริญเป็นตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ จากการเพาะเลี้ยงในสภาพจำกัดพื้นที่โดยใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ

วิธีดำเนินการวิจัย : จัดให้มีการผสมพันธุ์ระหว่างพ่อและแม่พันธุ์ที่สมบูรณ์แข็งแรงจำนวน 5 คู่หลังจากนั้นปล่อยแม่กว้างวางไข่ในกระถางเพาะพันธุ์ขนาด 25×22 เซนติเมตรที่บรรจุอาหารเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติที่ทำจากขี้เลื่อยไม้ยางพาราหมัก ทำการตรวจสอบการวางไข่หลังปล่อยลงกระถาง 5 วัน แยกไข่จำนวน 10 ใบจากแม่พันธุ์ 1 ตัวเพื่อศึกษาพัฒนาการก่อนเป็นระยะหนอนภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ไข่ส่วนใหญ่จากแม่พันธุ์ทั้ง 5 ตัวได้รับการเพาะฟักจนกระทั่งพัฒนาเป็นหนอนระยะ L1 จากนั้นถูกย้ายไปเพาะเลี้ยงเดี่ยวต่อในแก้วพลาสติกขนาด 32 ออนซ์ จำนวน 100 ตัว จนพัฒนาเป็นด้วงกว้างชนระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ ในระหว่างการพัฒนา ข้อมูลจำนวนไข่ต่อแม่พันธุ์ ลักษณะหนอนแต่ละระยะ น้ำหนักตัวระยะเวลาในการพัฒนา อัตราการรอด เพศและอายุขัยตัวเต็มวัยได้รับการบันทึก

ผลการวิจัย : ผลการทดลองพบว่าด้วงกว้างชนสามารถเพาะเลี้ยงในพื้นที่จำกัดโดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติที่ผสมขึ้นเองโดยสามารถเจริญเป็นตัวเต็มวัยได้ แม่กว้างวางไข่เฉลี่ย 34.20 ± 12.19 ฟองต่อตัว ไข่มีลักษณะสีขาว รูปไข่ ขนาดประมาณยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร ไข่ที่ได้รับการผสมมีพัฒนาการตามลำดับที่สามารถเห็นได้จากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ จากการสังเกตไข่ที่เก็บได้หลังปล่อยแม่พันธุ์วางไข่ 5 วัน พบว่ามีลักษณะโปร่งแสง เมื่อครบ 10 วัน

ไข่ม้วนขนาดใหญ่ขึ้นและพบจุดที่บ่งชี้ถึงการพัฒนาของตัวอ่อน เมื่อครบ 15 วันสามารถสังเกตเห็นการพัฒนาของตัวอ่อนได้ชัดเจนโดยเห็นการแบ่งส่วนของลำตัวอย่างชัดเจน และเมื่อครบ 25 วันพบการพัฒนาที่ชัดเจนมากขึ้น โดยเห็นการสร้างสีของลำตัว รวมถึงสามารถระบุโครงสร้างส่วนหัวและขากรรไกรได้อย่างชัดเจนและสามารถเจริญเป็นหนอนระยะ L1 ใช้เวลาประมาณ 25-30 วัน หนอนระยะ L1 แรกฟักออกจากไข่ม้วนและลำตัวสีขาว มีขนสีน้ำตาลแดงตามตัว สีของหัวเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลภายหลัง การลอกคราบเป็นวิธีการที่พัฒนาจากหนอนระยะ L1 สู่หนอนระยะ L2 และหนอนระยะ L2 สู่หนอนระยะ L3 โดยใช้เวลาแต่ละระยะประมาณ 30 วัน หนอนอยู่ในระยะ L3 ประมาณ 180 วัน ช่วงปลายของหนอนระยะ L3 ผิวหนังสีเหลืองเยียวขึ้น น้ำหนักตัวลดลงและเริ่มทำโพรงก่อนลอกคราบเป็นระยะดักแด้ ระยะดักแด้ใช้เวลา 21.38 ± 2.26 วัน แล้วพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยระยะฟักตัวใช้เวลา 32.82 ± 3.24 วัน หลังจากนั้นมีการขึ้นมาจากอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเป็นระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ มีอายุเฉลี่ย 53.81 ± 15.59 วัน จึงสิ้นอายุขัย โดยมีอัตราการรอด (%) จากระยะ L1-L2, L2-L3, L3-ดักแด้, ดักแด้-ระยะเต็มวัย ฟักตัว และระยะเต็มวัยฟักตัว-เต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ เท่ากับ 100, 92, 82, 82 และ 71% ตามลำดับ การสร้างโพรงของหนอนระยะท้าย L3 เป็นพฤติกรรมที่โดดเด่น ซึ่งทำให้มีพื้นที่โล่งสำหรับการพัฒนาระยะดักแด้และตัวเต็มวัย โพรงของด้วงชนิดนี้มีรูปทรงรี ปลายมน มีผนังหนาและแข็งแรง จากการศึกษาครั้งนี้ได้ด้วงตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์เพศผู้ 41 ตัว และเพศเมีย 30 ตัว ซึ่งมีอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1.00:0.73 การทดสอบไคสแควร์แสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนนี้ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เพศผู้มีความแตกต่างกันในส่วนของความยาวของขา สีของด้วงกว้างขนตัวเต็มวัยจากการศึกษาครั้งนี้แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลักคือ สีน้ำตาลแดงและสีดำ สีน้ำตาลแดงเป็นสีที่พบได้มากที่สุดที่ด้วงกว้างขนที่ศึกษา กลุ่มสีน้ำตาลแดงนี้ยังมีเฉดสีที่แตกต่างกันไปซึ่งไม่สามารถจัดกลุ่มย่อยที่ชัดเจนได้

สรุปผลการวิจัย : การศึกษาครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงด้วงกว้างขน โดยสามารถอธิบายชีววิทยาตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ภายใต้การจำกัดพื้นที่และใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ อาหารดังกล่าวประกอบด้วย ไข่ฝอยไม้ยางพารา มูลวัวแห้ง ดิน แบริ่งสาเล และน้ำ ผสมในสัดส่วนที่กำหนด อัตราการรอดชีวิตของด้วงกว้างขนตั้งแต่ระยะหนอนจนถึงระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์เท่ากับ 71% ภายใต้สภาพการเลี้ยงเดี่ยว (พื้นที่จำกัด) บ่งชี้ว่าอาหารที่ใช้เพียงพอต่อการพัฒนาการถึงระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ การศึกษานี้ให้ข้อมูลเชิงลึกที่สำคัญเกี่ยวกับความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงด้วงกว้างขนเชิงปริมาณให้เหมาะสมสำหรับการใช้งานที่หลากหลาย เช่น การอนุรักษ์อย่างยั่งยืน การเลี้ยงเพื่อจำหน่ายและการเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกจากแมลงกินได้

คำสำคัญ : ด้วงกว้างขน ; ชีววิทยา ; การเพาะเลี้ยง ; ระยะหนอน

Abstract

Background and Objectives : The fighting beetle (*Xylotrupes gideon*) plays an important role in the ecosystem, contributing significantly to nutrient cycling and soil enrichment through the consumption of decaying plant matter during their larval stages. Furthermore, the adult beetle is a viable food source for humans, presenting an opportunity for sustainable food production. Populations in their natural habitats are currently declining due to

several factors, including the destruction of natural habitats, which limits the beetles' ability to reproduce, pollution from agricultural practices involving chemical use and overharvesting for consumption. Although some aspects of this insect's biology were explored, the complete biology of this species, particularly that of the pre-adult stages, which reside underground, remains little known due to the difficulty of observation. This study aimed to investigate the complete life cycle and developmental biology of the fighting beetle from the egg stage to the reproductive adult stage, under controlled, confined rearing conditions, utilizing an artificial diet to mimic their natural food sources.

Methodology : Five breeding pairs of healthy males and females were used for offspring production. Subsequently, mated females were allowed to oviposit in a 25×22 cm culture pot filled with a fermented sawdust artificial diet. After allowing for 5 days for oviposition, eggs were verified via careful examination. Ten eggs were carefully selected from a single female and were meticulously monitored under a stereomicroscope to analyze the developmental processes occurring before the larval stage. The majority of the eggs obtained from all five female beetles were incubated until they successfully hatched into first instar larva (L1). Subsequently, 100 larvae (L1) were individually reared in 32-ounce plastic cups until they developed into the reproductive adult stage. Throughout the developmental period, data on the number of eggs per female, larval morphology at each instar, body weight, developmental duration, survival rate, sex ratio, and adult lifespan were recorded.

Main Results : The study demonstrated that the fighting beetle can be successfully reared in a confined rearing system using a formulated artificial diet that mimics their natural food source, allowing them to develop into reproductive adults. The average number of eggs laid per female was 34.20 ± 12.19 . The eggs were white, oval-shaped, and approximately 0.3 cm in length. Fertilized eggs exhibited progressive developmental changes as observed through stereomicroscopy. Observation of eggs collected 5 days after oviposition revealed a translucent appearance. By 10 days post-female oviposition, the eggs had increased in size, and an opaque spot was observed, indicating embryonic development. By 15 days post-female oviposition, larval development was observed with clear segmentation of the body. By 25 days post-female oviposition, significant development was apparent with pigmentation of the body and clearly distinguishable head and mandible structures. These eggs hatched into L1 larvae after approximately 25-30 days. Newly hatched L1 showed a white head and body with reddish-brown hair on the body. The head color transitioned to brown over time. Larval development progressed through molting, with larvae molting from L1 to L2 and L2 to L3, with each stage approximately 30 days. The L3 larval stage took approximately 180 days. At the late L3 stage, the larva made a pupation chamber and their transparent skin changed to yellow and wrinkled before developing into a pupa stage. The durations from the pupa-

teneral adult, teneral adult-reproductive adult and reproductive adult-natural death stages were 21.38 ± 2.26 , 32.82 ± 3.24 and 53.81 ± 15.59 days, respectively. The survival rates (%) from L1-L2, L2-L3, L3-pupa, pupa-teneral adult, and teneral adult-reproductive adult stages were 100, 92, 82, 82, and 71%, respectively. Forming a pupation chamber by L3 larva is a prominent behavior, providing an open space for pupal and adult development. The pupation chamber of this species was oval-shaped with rounded ends and possessed thick and rigid walls. This study yielded 41 reproductive adult males and 30 reproductive adult females, resulting in a male-to-female sex ratio of 1.00:0.73. A chi-square test indicated that this ratio was not statistically significant. Males exhibited variations in horn length. The coloration of adult fighting beetles from this study was classified into two primary groups: reddish-brown and black. Reddish-brown was the predominant color observed in the reared beetles. Within the reddish-brown group, there were varying shades that didn't form distinct subgroups.

Conclusions : This study successfully reared the fighting beetle, elucidating their biology from the egg to the reproductive adult stages, under confined condition and using an artificial diet. The diet was formulated with rubber sawdust, dried cow manure, soil, wheat flour and water, mixed in specific proportions. The 71% survival rate of the fighting beetle from the larval stage to the reproductive adult stage under solitary rearing conditions (limited space) indicates that the formulated diet is adequate for supporting their development to the reproductive adult stage. This study provides critical insights into the feasibility and optimization of large-scale rearing for various applications, including sustainable conservation, commercial sale and alternative protein production from edible insect.

Keywords : fighting beetle ; biology ; rearing ; larva

*Corresponding author. E-mail : tkraierk@yahoo.com

Introduction

แมลงเป็นสิ่งมีชีวิตโดยทำหน้าที่ในระบบนิเวศแตกต่างกันไปทำให้เกิดการหมุนเวียนถ่ายทดพลังงานในวงจรของห่วงโซ่อาหาร (food chain) และสายใยอาหาร (food web) ก่อให้เกิดความสมดุลในธรรมชาติ ดังนั้น แมลงจึงเป็นดัชนีชี้วัดความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศอย่างหนึ่ง ทั้งนี้รวมถึง“ด้วงกว้างขน” (*Xylotrupes gideon*) ซึ่งเป็นแมลงปีกแข็งที่มีการแพร่กระจายในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Komariah *et al.*, 2016) ในประเทศไทยด้วงกว้างขนพบแพร่กระจายได้ทุกภาค (Ek-Amnuay, 2009) รายงานการศึกษาบ่งชี้ว่าด้วงกว้างขนเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ (reproductive adult) อาศัยต้นไม้หลากหลายชนิดเพื่อการอาศัย อาทิเช่น ต้นปาล์มน้ำมัน ต้นกล้วย ต้นไม้ ต้นอ้อย ลำไยและลิ้นจี่ เป็นต้น (Abenis *et al.*, 2018) ในระยะหนอน (Larva) สัตว์ชนิดนี้กินซากพืชที่เปื่อยผุพังเป็นอาหาร (detritivore) ขับถ่ายมูลออกมาเป็นปุ๋ยลงสู่ดินซึ่งก่อให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารแก่พืชในระบบนิเวศ ตัวเต็มวัยมีความสวยงาม ลำตัวมีสีดำคล้ำหรือน้ำตาลเข้มที่เงางาม เพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าเพศเมียและมีเขาคอ (thoracic horn) และเขาล้าง (cephalic horn) ที่ด้านปลายแยกเป็น

2 แดก ซึ่งแต่ละตัวมีลักษณะเขาสั้นยาวแตกต่างกันออกไป (Figure 1B-F) เพศเมียมีขนาดเล็กกว่าและไม่มีเขา (Figure 1A) นอกจากนั้นด้วงกว้างขนยังมีอิทธิพลด้านวิถีชีวิตโดยเฉพาะชุมชนในภาคเหนือ กล่าวคือนิยมนำมาเล่นเป็นกีฬาพื้นบ้าน (Renesson , 2019) และสามารถนำมาบริโภคเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่ได้จากทรัพยากรท้องถิ่น (Krongdang *et al.*, 2023) อาทิเช่น คั่วเกลือ ทอด และน้ำพริกกว้าง เป็นต้น ซึ่งถือได้ว่าเป็นอาหารยอดนิยมที่ทานได้เฉพาะฤดูกาล

ปัจจุบันด้วงกว้างขนในธรรมชาติมีน้อยลงหรือบางพื้นที่มีการหายไปซึ่งอาจมีสาเหตุหลายประการ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของธรรมชาติถูกทำลายทำให้ด้วงหมดโอกาสที่จะขยายพันธุ์ ปัญหาด้านมลพิษจากเกษตรกรรมที่มีการใช้สารเคมี และการจับมาบริโภคมากเกินไป แม้ว่าจะสามารถทราบชีววิทยาบางประการของสัตว์ชนิดนี้ได้แต่ชีววิทยาของด้วงกว้างขนยังไม่เป็นที่ทราบได้ทั้งหมดโดยเฉพาะชีววิทยาในช่วงก่อนตัวเต็มวัยซึ่งอาศัยอยู่ใต้ดินซึ่งยากแก่การสังเกต ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาชีววิทยาด้วงกว้างขนแบบครบวงจรตั้งแต่การผสมพันธุ์จนกระทั่งสามารถพัฒนาเป็นระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์โดยใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ (artificial diet) ให้ใกล้เคียงกับอาหารในธรรมชาติมากที่สุด (ไม่ที่ผู้ร่อน) ในสภาพการเพาะเลี้ยงแบบจำกัดพื้นที่ นอกจากนั้น การวิจัยนี้ยังแสดงได้รายละเอียดเชิงลึกบางประการซึ่งก่อนหน้านี้ยังไม่เป็นที่ทราบกันดีนัก เช่น การวางไข่ การพัฒนาของตัวอ่อนก่อนระยะหนอนและข้อมูลจำนวนวันในการพัฒนาแต่ละระยะจากการเก็บข้อมูลรายตัว เป็นต้น การทราบชีววิทยาของด้วงกว้างขนจะเป็นแนวทางในการเลี้ยงเชิงปริมาณเพื่อเป็นแมลงกินได้และช่วยอนุรักษ์ด้วงกว้างขนโดยมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาเพื่อทำความเข้าใจวงจรชีวิตวงจรชีวิตของด้วงกว้างขนภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ ข้อมูลที่ได้สามารถใช้ต่อยอดในการเพิ่มความมั่นคงด้านอาหารและรายได้ในการเพาะเลี้ยงเชิงปริมาณเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนปลอดภัยที่นับวันจะทวีความสำคัญดังข้อมูลของศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม ที่แสดงข้อมูลการเติบโตของมูลค่าทางเศรษฐกิจของแมลงกินได้ ซึ่งด้วงปีกแข็งเป็นหนึ่งในจำนวนแมลงกินได้ที่ปรากฏในรายงานคิดเป็นสัดส่วนถึง 29.6% (Food intelligence center, 2022)



Figure 1 Characteristics of reproductive adult fighting beetle. (A): Female fighting beetles; (B-F): Males have different body sizes, shapes and horn lengths.

Methodology

การเตรียมอาหารเลียนแบบธรรมชาติสำหรับเลี้ยงด้วงกวางชน

สูตรอาหารเลียนแบบธรรมชาติของด้วงกวางชนประกอบด้วย ชี้อ้อย มูลวัวแห้ง ดิน แปะสาลี และน้ำ ตามที่ผู้วิจัยได้ทำการศึกษา นำร่องมาก่อนหน้านี้ ทำการผสมชี้อ้อย ชีวัว ดิน เข้าด้วยกันในสัดส่วน 5:1:1 ส่วน (โดยมีน้ำหนักของวัตถุดิบเท่ากับ 100, 25 และ 50 กิโลกรัม ตามลำดับ) และใส่แปะสาลีลงไปจำนวน 1 กิโลกรัม จากนั้นคลุกเคล้าทุกอย่างให้เข้ากัน เติมน้ำ (ปริมาณของน้ำพิจารณาจากการนำวัตถุดิบมาบีบพอจับตัวเป็นก้อน ไม่มีน้ำไหลออกมาจากง่ามมือ ทำการหมักทิ้งไว้ในกระสอบที่มีการถ่ายเทอากาศเพื่อให้เกิดกระบวนการย่อยให้เชื้ออยู่เป็นเวลา 2 เดือน ทำการตรวจสอบความชื้นในอาหารที่หมักได้โดยวัดความชื้นโดยมวล (gravimetric water content) ตามวิธีของ Shukla *et al.*, 2014 จากนั้นจึงนำมาใช้งาน

พ่อแม่พันธุ์

สถานที่ทำการวิจัยคือศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ทำการทดลองระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ.2566 - มกราคม พ.ศ.2567 ใช้พ่อแม่พันธุ์จำนวน 5 คู่ ทั้งหมด เพศเมียมีความยาว (total length) ระหว่าง 4.30-4.80 เซนติเมตร และมีความกว้างของลำตัว (width) ระหว่าง 2.40-2.60 เซนติเมตร เพศผู้มีความยาวระหว่าง 5.60-6.50 เซนติเมตร และมีความกว้างของลำตัวระหว่าง 2.60-2.80 เซนติเมตร จากการวัดโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ (vernier calipers; Figure 2(B)) พ่อแม่พันธุ์ได้มาจากการอนุเคราะห์ของเกษตรกรจากจังหวัดพะเยา นำมาเลี้ยงด้วยอ้อยเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นจับคู่ให้ผสมพันธุ์ (Figure 2(A)) หลังจากนั้นแยกแม่พันธุ์ปล่อยลงในกระถางเลี้ยงขนาด 25×22 เซนติเมตร (ความกว้างปากกระถาง×ความสูง) ซึ่งใส่อาหารที่ได้จากการเตรียมข้างต้นไว้เพื่อให้ด้วงแม่พันธุ์วางไข่ การศึกษาครั้งนี้สถานที่เพาะเลี้ยงอยู่ในอาคาร (indoor rearing) อุณหภูมิภายในอาคารอยู่ในช่วง 30.00-32.5 องศาเซลเซียส และเป็นการเลี้ยงเดี่ยวในแก้วพลาสติกขนาด 32 ออนซ์

การศึกษาชีววิทยาการเจริญ

ตรวจสอบการวางไข่หลังการปล่อยแม่พันธุ์ลงกระถางไปแล้ว 5 วัน พร้อมบันทึกจำนวนไข่ที่พบ และแยกไข่จำนวน 10 ใบนำไปเพาะพักต่างหากในแก้วพลาสติกขนาด 32 ออนซ์ซึ่งใส่อาหารที่ได้จากการเตรียมข้างต้นไว้และนำไปตรวจสอบพัฒนาการช่วงเอ็มบริโอด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ เมื่อเพาะพักไปแล้ว 5, 10, 15, 20 และ 25 วัน ไข่ส่วนใหญ่ถูกเพาะพักในกระถางเดิม (Figure 2(C)) จนกระทั่งพัฒนาเป็นหนอนระยะที่ 1 (L1) จากนั้นทำการสุ่มเลือกหนอนระยะ L1 จำนวน 20 ตัวของแต่ละแม่พันธุ์ (จำนวนรวม 100 ตัว) ย้ายเลี้ยงเดี่ยวในแก้วพลาสติกขนาด 32 ออนซ์ที่บรรจุอาหารไว้เต็ม (Figure 2(D)) เพื่อง่ายต่อการสังเกตพัฒนาการรายตัว การวัดขนาดตัวของหนอนระยะ L1 ใช้มาตราไม้บรรทัด เนื่องจากหนอนระยะนี้มีความบอบบาง จึงให้มีการบวกลบน้อยที่สุดเพื่อเลี่ยงการบาดเจ็บ ทำการวัดอุณหภูมิอาหารอาทิตย์ละ 3 วัน ทำการเปลี่ยนอาหารทุก ๆ 30 วัน ในวันที่เปลี่ยนอาหาร ทำการชั่งน้ำหนักทุกตัว บันทึกการรอด ดูลักษณะทั่วไปของหนอนในวันที่เปลี่ยนอาหาร ตรวจสอบระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาเป็นรายตัว จากตัวหนอนระยะ L1-ตัวหนอนระยะที่ 2 (L2), L2-ตัวหนอนระยะที่ 3 (L3) การหยุดเปลี่ยนอาหารยุติเมื่อผิวตัวของหนอนระยะ L3 เริ่มเหี่ยวว่ประกอบกับหนอนระยะนี้หยุดกินอาหาร ซึ่งพิจารณาได้จากการมีอาหารเหลือและมีมูลที่ขับถ่ายออกมาน้อย ดังนั้น การนับอัตราการรอดช่วงหนอนระยะ

L3-ดักแด้ (pupa), ดักแด้-ตัวเต็มวัยพักตัว (teneral adult) พิจารณาจากการสังเกตด้วยตาในตัวที่ทำโพรงข้างแก้ว กรณีตัวที่ทำโพรงกลางแก้ว ผู้วิจัยทำการค่อย ๆ เชื้ออาหารเพื่อดูเปลือกโพรงและเจาะพอให้ทราบพัฒนาการข้างในโพรงโดยพยายามไม่รบกวนจนจำเป็น การนับอัตราการรอดช่วงระยะเต็มวัยพักตัว-เต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ พิจารณาจากจำนวนตัวที่ออกมาจากอาหารและกินอ้อยได้ และเลี้ยงระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ที่ได้ด้วยอ้อย ทำการนับระยะเวลาช่วงเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์-สิ้นอายุขัย (natural dead) ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จะถูกนำมาประมวล และสรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการชั่งน้ำหนักทั้งหมด 7 ครั้ง ครั้งแรกในวันที่เริ่มทำการทดลอง ครั้งต่อไปในวันที่เปลี่ยนอาหาร วิเคราะห์ความแตกต่างของน้ำหนักเฉลี่ยตามอายุโดยใช้โดยใช้ One-way repeated measure ANOVA จากนั้นทดสอบความแตกต่างของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นด้วย Bonferroni method ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 สัดส่วนของเพศผู้และเพศเมียได้รับการวิเคราะห์โดยการทดสอบไคสแควร์ ประเมินอัตราส่วนเพศที่คาดหวังเป็น 1:1 ใช้เครื่องมือวิเคราะห์จากโปรแกรมให้บริการออนไลน์ (<https://quantpsy.org/chisq/chisq.htm>)

จริยธรรมการวิจัยในสัตว์

การวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการขอและอนุญาตให้ดำเนินการวิจัยในสัตว์ทดลอง เลขที่ใบอนุญาตใช้สัตว์ U1-10125-2565 และได้ขออนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ID# IACUC PBRU 230166010



Figure 2 (A): Breeding pairs of male and female fighting beetles; (B): Total length measurement; (C): Pots for laying eggs and developing into L1 stage; (D): The L1-teneral adult beetles were individually raised in 32-ounce plastic cups.

Results

พัฒนาการของดักแด้กว้างขนระยะไข่ (Egg-stage development)

จากการตรวจสอบในวันที่ 5 หลังการปล่อยแม่กว้างลงกระถางเพาะเลี้ยง พบว่าแม่กว้างมีการวางไข่ แม่กว้างตัวที่ 1-5 วางไข่ได้ 20, 38, 24, 42 และ 48 ฟอง ตามลำดับ (เฉลี่ย 34.40 ± 12.19 ฟอง/ตัว) ลักษณะภายนอกที่สังเกตได้คือเปลือกมีลักษณะนูน มีรูปทรงเป็นวงรีคล้ายไข่ไก่ มีขนาดยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร สีขาวครีม (Figure 3(A)) การติดตามพัฒนาการโดยใช้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ พบว่าไข่ที่เก็บมาตรวจสอบหลังจากที่ปล่อยแม่กว้างไปแล้ว 5 วัน มีลักษณะโปร่ง ยังไม่พบจุดทึบแสงของเอ็มบริโอภายในไข่ (Figure 3(B)) หลังจากปล่อยแม่กว้าง 10 วัน พบว่าไข่ขยายใหญ่ขึ้น มีจุดทึบภายในไข่ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเอ็มบริโอภายในไข่มีการพัฒนาจนสามารถมองเห็นได้ภายในไข่ (Figure 3(C)) หลังจากปล่อยแม่กว้าง 15 วัน มีการพัฒนาเป็นตัวอ่อนที่สามารถเห็นปล้องลำตัวอย่างชัดเจน (Figure 3(D)) และหลังจากปล่อยแม่กว้าง 25 วัน พบว่ามีการพัฒนาอย่างเห็นได้ชัดคือลำตัวมีเม็ดสีเกิดขึ้นและเห็นส่วนหัวและกรามอย่างเห็นได้ชัดเจน (บริเวณสีน้ำตาล) (Figure 3(E))

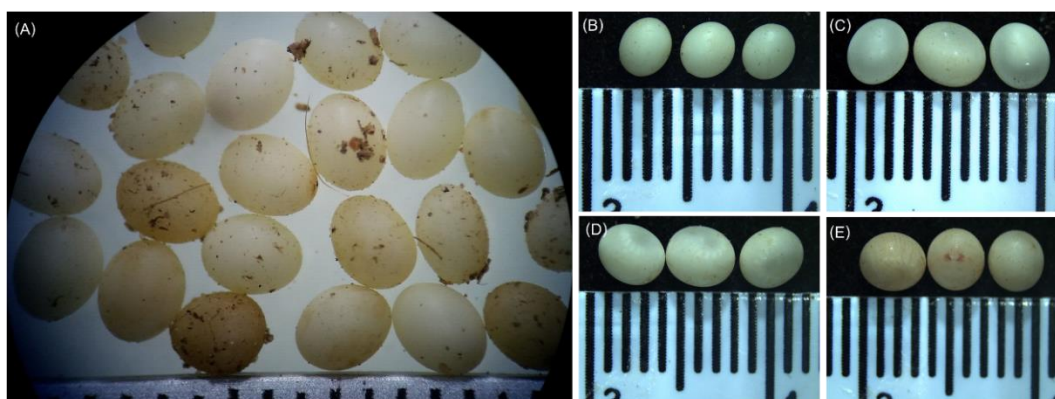


Figure 3 (A): The fighting beetle's eggs under a stereo microscope; (B-E) Egg development at 5, 10, 15 and 25-day intervals after oviposition, respectively

พัฒนาการของดักแด้กว้างขนระยะหนอนถึงเต็มวัย (Larva-adult development)

ตัวอ่อนใช้ระยะเวลาในการพัฒนาในไข่จนกระทั่งเป็นหนอนระยะ L1 ใช้เวลาราว 30 วัน มีความยาววัดจากหัวถึงก้นประมาณ 0.5 เซนติเมตร สีของหัวเมื่อแรกฟักออกมาเป็นสีขาวแต่จะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลภายหลัง หัวมีขนาดความกว้างประมาณ 0.2 เซนติเมตร ด้านล่างส่วนหัวมีกรามสีดำ (mandible) ปรากฏชัดเจน ลำตัวสีขาวนูน มีขนสีน้ำตาลกระจายทั่วตัว มีขา 3 คู่ และมีรูหายใจ (spiracle) 9 คู่ (thoracic spiracle 1 คู่, abdominal spiracle 8 คู่) อยู่ด้านข้างของลำตัวซ้ายขวา (Figure 4) หลังจากปล่อยเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ทำการเปลี่ยนอาหารและบันทึกลักษณะที่พบเห็น การทดลองพบว่าหนอนระยะ L1 ทุกตัวลอกคราบเป็นหนอนระยะ L2 มีขนาดตัวใหญ่ขึ้น มีขนาดหัวที่ใหญ่ (กว้างประมาณ 0.5 เซนติเมตร) กว่าหนอนระยะ L1 ขนสีน้ำตาลปกคลุมลำตัวเยอะขึ้น ผิวลำตัวสีเทาให้มองเห็นระบบท่อลม (tracheal system) ชัดเจน ระยะท้ายของหนอนระยะ L2 เริ่มมีการสะสมไขมันลำตัว (body fat) ให้เห็นเป็นรูปตัววี (v-shape) (Figure 5(B)) การพัฒนาไปสู่ระยะถัดไป

อาศัยการลอกคราบ (Figure 5(A)) หนอนระยะนี้ใช้เวลาราว 30 วันจึงพัฒนาเข้าสู่หนอนระยะ L3 หนอนระยะนี้มีขนาดตัวและหัวที่ใหญ่มากขึ้น (กว้างประมาณ 1 เซนติเมตร) ผลการทดลองยังพบอีกว่าหนอนใช้เวลาในระยะนี้นานที่สุดราว 6 เดือน และมีการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดคือมีการสะสมไขมันสีเหลืองทั่วทั้งตัว (Figure 5(C)) ทำให้กลบรอยไขมันรูปตัววีที่มีอยู่เดิม ในระยะท้ายของหนอนระยะ L3 หนอนไม่กินอาหาร มีการทยอยขับถ่ายเอามูลออกมาทั้งหมด ผิวหนังจากเดิมที่เต่งตึงเริ่มเหี่ยว มีพฤติกรรมการสร้างโพรง (pupation chamber) (Figure 6(A)) ระยะท้ายก่อนลอกคราบเป็นดักแด้ มีเฉพาะส่วนลำตัวที่ขยับเป็นครั้งคราวส่วนขาหยุดการเคลื่อนไหว รวมระยะเวลาที่อยู่ในระยะ L3 ราว 180 วัน จากนั้นเกิดการลอกคราบเข้าสู่ระยะดักแด้ (pupa) ช่วงแรกดักแด้มีลักษณะตัวสีขาวครีม (Figure 6(B)) ระยะนี้ใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 21.38 ± 3.24 วัน ไม่กินอาหาร แต่มีการพลิกตัวไปมาในโพรง หลังจากนั้นดักแด้มีลักษณะสีที่เข้มขึ้นเป็นสีน้ำตาลทอง (Figure 6(C)) และน้ำตาลคล้ำก่อนจะลอกคราบครั้งสุดท้ายเป็นด้วงกว้างขนเต็มวัยระยะพักตัว (Figure 6(D)) ที่มีลักษณะเหมือนระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ ทุกประการด้วงกว้างขนระยะนี้พักตัวอยู่ในโพรงเฉลี่ย 32.82 ± 5.92 วัน เพื่อพัฒนาสีและความแข็งแรงของเปลือกลำตัวให้สมบูรณ์ จากนั้นจึงขึ้นมาจากโพรงเพื่อหาอาหารและพร้อมสืบพันธุ์ เพศผู้มีความยาวของเขาสั้นยาวแตกต่างกัน



Figure 4 (A): Newly hatching larvae (L1); (B): The comparison between two larva stages body size:

The upper right corner picture shows the size of the larvae's heads of L1 and L2. The white arrows depict the abdominal and thoracic spiracles.

ลักษณะของสีตัวเต็มวัยสามารถจัดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ สีน้ำตาลแดง กับสีดำ ลักษณะของสีพบมากที่สุดในการเพาะเลี้ยงคือสีน้ำตาลแดง ในส่วนของสีน้ำตาลแดง ยังพบการไล่ระดับของสีกลุ่มนี้ออกเป็นสีน้ำตาลแดงในระดับต่างๆ ซึ่งไม่สามารถจัดเป็นกลุ่มที่ชัดเจนได้ (Figure 7(A-G)) การศึกษาค้นครั้งนี้ได้ด้วงกว้างขนเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์เพศผู้ 41 ตัว เพศเมีย 30 ตัว คิดเป็นสัดส่วนระหว่างเพศผู้ต่อเพศเมียเท่ากับ 1.00 : 0.73 การทดสอบไคสแควร์พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติ ($\chi^2=1.704$; $p=0.197$; $d.f.=1$)



Figure 5 (A): Molting behavior of fighting larva; (B): The accumulation of body fat in a V shape (black star) at the dorsal area; (C) Yellow fat accumulation throughout the body at the end of the L3 stage



Figure 6 (A): The late larva 3 in a pupation chamber; (B, C): Pupal stage; (D): Teneral adult stage

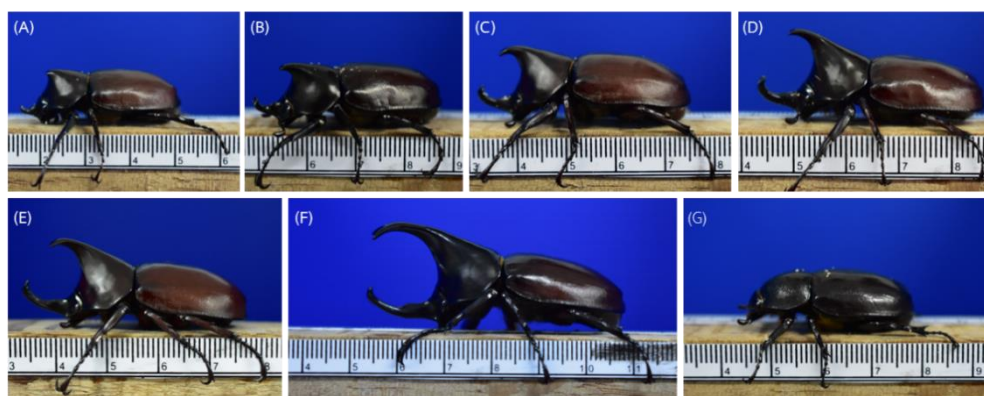


Figure 7 Adult stage of fighting beetles; (A-F): Adult males obtained from the experiment show different characteristics of color and length of horns. (G): Adult female stage

อัตราการรอดชีวิตของระยะหนอน ดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

ระยะหนอน ดักแด้ และระยะตัวเต็มวัยพักรอดได้รับการเลี้ยงในอาหารเลียนแบบธรรมชาติมีความชื้น (%) อยู่ที่ 48.07 ± 1.26 ผลการวัดอุณหภูมิอาหารหมักใช้โดยทำการวัดอาทิตย์ละ 3 วัน ตลอดช่วงการทดลองพบว่าอยู่ในช่วง 30.00-32.5 องศาเซลเซียส ผลจากการวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิต (%) ของหนอนระยะ L1 ถึง ระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ มีอัตราการรอดชีวิตดังแสดงใน Table 1 ผลการทดลองพบอัตราการรอดจากหนอนระยะ L1-L2, L2-L3, L3-ดักแด้, ดักแด้-ระยะตัวเต็มวัยพักรอด และระยะตัวเต็มวัยพักรอด-ตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ เท่ากับ 100, 92, 82, 82 และ 71% ตามลำดับ (table 1) พบการตาย โดยเฉพาะในระยะหนอน เกิดรอยชำที่ปล้องอก (Figure 8(A)) หนอนกลุ่มนี้บางตัวสามารถพัฒนาเป็นระยะ L3 ได้ แต่ตายก่อนพัฒนาเป็นระยะดักแด้ (Figure 8(B)) นอกจากนั้น พบการตายของตัวเต็มวัยระยะพักรอดและลักษณะที่ไม่สมบูรณ์ของปีกในระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์บางตัว (Figure 8(C))

Table 1 The survival rates of fighting beetle individually reared in 32-ounce plastic cups

Survival rate (%)					
L1	L1-L2	L2-L3	L3-Pupa	Pupa- Teneral adult stages	Teneral adult - Reproductive adult stages
100	100	92	82	82	71



Figure 8 (A): Larva 3 shows a bruise lesion at the thoracic site (white circle) resulting in death (B).

(C): Morphological abnormality of the reproductive adult stage

น้ำหนักของหนอนระยะ L1-L3 ก่อนทำโพรง

การวิเคราะห์น้ำหนักหนอนระยะ L1-L3 ก่อนทำโพรงจำนวน 7 ครั้ง (ทุก 1 เดือน) ในทุกตัวที่รอดชีวิตในวันที่เปลี่ยนอาหารพบว่า หนอนระยะ L1 หนอนมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 0.24 ± 0.00 กรัม ในการชั่งครั้งที่ 2-7 น้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเป็น 4.04 ± 2.15 , 13.56 ± 4.17 , 21.29 ± 2.67 , 23.06 ± 3.02 , 24.79 ± 3.45 และ 23.37 ± 3.42 กรัม ตามลำดับ (table 2 และ figure 9) น้ำหนักในการวัดแต่ละครั้งเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้นการวัดครั้งที่ 7 (อยู่ในระยะ L3 ก่อนสร้างโพรง) ซึ่งพบว่าน้ำหนักตัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับน้ำหนักตัวที่ได้จากการวัดครั้งที่ 6

Table 2 The mean body weight of the fighting beetle individually reared in 32-ounce plastic cups (L1- the late larva 3 stages) from 7 weighing measurements

	Weighing measurements						
	1: Feb.	2: Mar.	3: Apr.	4: May	5: Jun.	6: Jul.	7: Aug.
Weight (g)±SD	0.24±0.01 ^f	4.04±2.15 ^e	13.56±4.17 ^d	21.29±2.67 ^c	23.06±3.02 ^b	24.79±3.45 ^a	23.37±3.42 ^b

: Means within a row with different letters are significantly different (p<0.05)

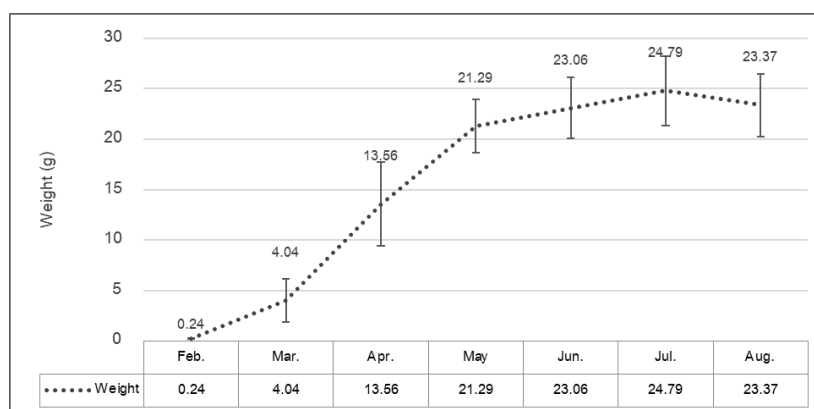


Figure 9 The graph shows the mean body weight ± standard deviation for L1- the late larva 3 stages at each time point

ระยะเวลาในการพัฒนาจากระยะทำโพรง-ดักแด้, ระยะ ดักแด้-ระยะเต็มวัยพักตัว, ระยะเต็มวัยพักตัว-ระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ และระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์-หมดอายุขัย

ระยะเวลาในการพัฒนาจากระยะทำโพรงถึงระยะดักแด้ ระยะดักแด้-ระยะเต็มวัยพักตัวและระยะเต็มวัยพักตัว-ระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ ใช้ข้อมูลจำนวน 42 ตัว โดยเลือกเก็บข้อมูลเฉพาะตัวที่มีการทำโพรงด้านข้างหรือก้นแก้วทำให้สามารถเห็นการเปลี่ยนแปลงภายในได้ ส่วนช่วงเวลาจากรยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์-หมดอายุขัยใช้ข้อมูลจำนวน 71 ตัว ผลการทดลองพบว่าระยะทำโพรงถึงระยะดักแด้ใช้เวลาเฉลี่ย 12.55±2.26 วัน เวลาในการพัฒนามากที่สุด 16 วัน และตัวที่ใช้เวลาในการพัฒนาน้อยที่สุด 9 วัน ในระยะดักแด้-เต็มวัยระยะพักตัวใช้เวลาเฉลี่ย 21.38±3.24 วัน ตัวที่ใช้เวลาในการพัฒนามากที่สุด 37 วัน และตัวที่ใช้เวลาในการพัฒนาน้อยที่สุด 17 วัน และในระยะเต็มวัยพักตัวถึงระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ใช้เวลาเฉลี่ย 32.82±5.92 วัน ตัวที่ใช้เวลาในการพัฒนามากที่สุด 46 วัน และตัวที่ใช้เวลาในการพัฒนาน้อยที่สุด 22 วัน และระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์-หมดอายุขัยมีเวลาเฉลี่ย 58.31±15.59 วัน ตัวที่มีอายุขัยนานที่สุด 89 วัน และตัวที่อายุขัยระยะนี้น้อยที่สุดเพียง 13 วัน ดังแสดงข้อมูลใน Table 3

Table 3 The mean development time of fighting beetle from the late larva 3 -pupa, pupa- teneral adult, teneral adult- reproductive adult and reproductive adult -natural death stages

Development time (Days)			
The late larva 3 -Pupa stages	Pupa- Teneral adult stages	Teneral adult - Reproductive adult stages	Reproductive adult - Natural death stages
12.55±2.26	21.38±3.24	32.82±5.92	53.81±15.59

Discussion

การเพาะเลี้ยงด้วงปีกแข็งได้รับความนิยมและศึกษาเพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ เช่นกรณีของด้วงกว้างเฮอร์คิวลีส (*Dynastes hercules paschoali*) (Lai, 2012) ด้วงกว้างญี่ปุ่น (*Allomyrina dichotoma*) (Chung et al., 2013) และกว้างหางเหนือ *Eupatorus gracilicornis* (Ek-Amnuay, 2009) เป็นต้น การเพาะเลี้ยงข้างต้นอยู่ในสภาพจำกัดพื้นที่ที่สามารถควบคุมตัวแปรทางชีวภาพได้ ผลที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพดังกล่าวสามารถเติมเต็มองค์ความรู้ทางชีววิทยาที่ยากแก่การสังเกตในธรรมชาติและนำมาใช้ประโยชน์ทั้งประยุกต์ใช้ด้านการเกษตรและการอนุรักษ์ได้ นอกจากนี้ ยังก่อให้เกิดการขายเชิงพาณิชย์ให้กับนักสะสมหรือการจัดแสดงในสวนสัตว์หรืองานอดิเรกส่วนตัว (Alvarez, 2011) วิธีการนี้เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยทางชีววิทยาที่ต้องการติดตามลักษณะบางประการที่ต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังตัดปัญหาด้านการแย่งอาหารกันของด้วงหนอนและหนอนได้กินอาหารเต็มที่ (ad libitum)

ขี้เลื่อยหมัก (fermented sawdust) เป็นวัตถุดิบหนึ่งที่นิยมนำมาเลี้ยงด้วงปีกแข็ง ชนิดของไม้ที่ใช้ เช่น ขี้เลื่อยไม้ไผ่ (Yoon et al., 2020) ขี้เลื่อยจากต้นเบอรรี่ (Lim et al., 2023) รวมถึงขี้เลื่อยหมักเลี้ยงด้วงเชิงการค้าที่ไม่ได้ระบุชนิดไม้ (Kojima et al., 2020) การศึกษาครั้งนี้ใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติที่ประกอบด้วยขี้เลื่อยหมักจากไม้ยางพาราเป็นหลักโดยมีดิน มูลวัว และแป้งสาลีเป็นองค์ประกอบเสริม ทำการหมักเป็นเวลา 60 วัน ให้กระบวนการหมักเกิดอย่างสมบูรณ์โดยพิจารณาจากอุณหภูมิของอาหารอยู่ในสภาพเย็นและนุ่มมือ อุณหภูมิในอาหารตลอดการศึกษายู่ระหว่าง 30.00-32.5 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสูตรอาหารดังกล่าวสามารถใช้เลี้ยงด้วงกว้างขนระยะหนอน ใช้เป็นวัสดุทำโพรงและเป็นวัสดุ พักตัวได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะของอาหารที่ใช้เลี้ยงมีลักษณะคล้ายคลึงกับอาหารตามธรรมชาติ เมื่อพิจารณาคุณค่าทางโภชนาการพบว่าในขี้เลื่อยไม้ยางพาราประกอบด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (%w/w) อยู่ราว 37.8% และ 16.60% ตามลำดับ (Inkrod et al., 2017) ที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตให้แก่หนอนระยะ L1-L3 นอกจากนี้ ในขี้เลื่อยไม้ยางพารายังประกอบไปด้วยธาตุคาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ไนโตรเจน (N) และ ออกซิเจน (O) จำนวน 46.04, 6.15 0.32 และ 46.56 % (Wt. %, dry basis) (Ali et al., 2013) ที่เป็นองค์ประกอบสำคัญของสารชีวโมเลกุลในร่างกาย

การศึกษาชีววิทยาและพัฒนาการของด้วงกว้างขนในการเพาะเลี้ยงแบบจำกัดพื้นที่พบว่าแม่วาง 1 ตัววางไข่ได้เฉลี่ย 34.20±12.19 ฟอง/ตัว การวัดขนาดของไข่และระยะหนอนทำได้โดยการประมาณจากมาตราส่วนไม้บรรทัด (เซนติเมตร) ในภาพถ่ายทั้งนี้เพราะไข่และระยะหนอนมีลักษณะบอบบาง ผู้วิจัยไม่ต้องการให้มีผลกระทบกับการพัฒนาและมีการรบกวน

สัตว์น้อยที่สุด ดังนั้นจึงไม่เลือกใช้เวอร์เนียร์ในการวัดขนาด ลักษณะภายนอกของไข่ที่สังเกตได้คือเปลือกมีลักษณะนูน ไข่กว้างกว่าชนมีรูปทรงเป็นวงรีคล้ายไข่ไก่มีขนาดยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร ไข่มีสีขาวนํ้านมคล้ายกับลักษณะของไข่ด้วงกว้างสกุล *C. cearae*, *C. celata*, และ *C. paraguayensis* ที่ถูกศึกษาก่อนหน้านี้โดย Souza et al., (2023) อย่างไรก็ตามลักษณะของไข่ด้วงกว้างชนแตกต่างกับด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes owariensis beauvois*) ที่ไข่มีลักษณะกลม (round whitish egg) (Ukoroije & Bawo, 2019a)

การตรวจสอบพัฒนาการวันที่ 25 หลังการปล่อยแม่พันธุ์ลงกระถางพบว่าไข่มีพัฒนาการของปล้องลำตัว เม็ดสีหัว และกรามอย่างชัดเจนและการตรวจสอบพัฒนาการวันที่ 30 หลังการปล่อยแม่พันธุ์ลงกระถาง ไข่ทุกใบพัฒนาเป็นหนอนระยะ L1 ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าระยะการเพาะฟักจากไข่เป็นระยะหนอน L1 (egg incubation) ของด้วงกว้างชนใช้เวลา 25-30 วัน ซึ่งใช้ระยะเวลามากกว่าด้วงกว้างสกุล *C. cearae*, *C. paraguayensis* และ *C. celata* ที่มีรายงานว่าใช้เวลาช่วงนี้เพียง 12, 17 และ 22 วัน ตามลำดับ (Souza et al., 2023) รวมถึงด้วงแรดมะพร้าว (*Oryctes owariensis beauvois*) ที่มีระยะเวลาการเพาะฟักจากไข่เป็นระยะหนอนจำนวน 12-14 วัน (Ukoroije & Bawo, 2019b) ในส่วนของการพัฒนาของเอ็มบริโอของด้วงกว้างชน ยังไม่พบว่ามีการศึกษาหรือตีพิมพ์มาก่อน การศึกษาค้นครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาแรกที่ได้อัดตามการพัฒนาของด้วงกว้างชนตั้งแต่ฟักออกจากไข่ ระยะหนอนแบ่งได้ 3 ระยะ คือ L1, L2 และ L3 ซึ่งลักษณะเช่นนี้ มีความเหมือนกับด้วงกว้างอื่น ๆ ที่มี 3 ระยะเช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น ด้วงคีมกวางเหนือ, ด้วงกว้างญี่ปุ่นมุซิดัง, ด้วงเฮอร์คิวลิส, ด้วงกว้างซางหูกะต่าย, ด้วงกว้างซางเหนือ เป็นต้น (Ek-Amnuay, 2009) ในการพัฒนาไปสู่ระยะถัดไปนั้นการลอกคราบเป็นกระบวนการที่สำคัญ มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของน้ำหนักตัวด้วงกว้างชนระยะหนอนจาก L1-L2 และ L2-L3 และ L3 ระยะต้น-L3 ระยะกลาง โดยมีการเพิ่มขึ้นถึง 16.70, 2.35 และ 0.57 เท่า ตามลำดับ เป็นข้อมูลทางชีววิทยาที่สามารถบ่งชี้ว่ามีการเพิ่มน้ำหนักหลายเท่าตัว ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงต้องให้อาหารอย่างเพียงพอในระยะดังกล่าว เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อเข้าสู่ ระยะ L3 ช่วงกลางมีการเพิ่มน้ำหนักเพียงเล็กน้อยและมีแนวโน้มลดลงในระยะก่อนการทำโพรง ซึ่งสัมพันธ์กับพฤติกรรมการกินที่ลดลงและมีการขับมูลออกมาจากตัว

หนอนอยู่ในระยะ L3 นานประมาณ 6 เดือน ถือได้ว่าใช้เวลาเกือบครึ่งหนึ่งของวงจรชีวิต มีลักษณะเหมือนกับด้วงกว้างในสกุล *Oryctes* spp. และ *Scapanes* spp. (Bedford, 1980) ที่พบว่าช่วงเวลาในระยะ L3 นานกว่าระยะ L1 และ L2 ลักษณะดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าในระยะ L3 มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาไปสู่ระยะถัดไปเพราะเป็นการเตรียมความพร้อมที่จะพัฒนาโดยเปลี่ยนรูปร่างไปสู่ระยะถัดไป ลักษณะเด่นที่พบได้ประการหนึ่งของหนอนระยะ L3 ที่นอกเหนือจากการเพิ่มขนาดตัวคือการสะสมไขมันลำตัวสีขาวครีม ไขมันดังกล่าวเริ่มมีการสะสมบริเวณด้านหลังเป็นรูปตัววีแล้วกระจายไปทั่วตัวและสีเปลี่ยนจากสีขาวครีมเป็นสีเหลืองตามระยะเวลาของพัฒนาการ มีรายงานการศึกษาที่บ่งชี้ว่าในแมลงไขมันลำตัวเป็นแหล่งกักเก็บสารอาหาร การเผาผลาญพลังงาน การสร้างภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (innate immunity) และการกำจัดสารพิษ (detoxification) นอกจากนี้ไขมันดังกล่าวยังมีบทบาทในการส่งสัญญาณการสร้างฮอร์โมนและควบคุมการเจริญเติบโตของระยะหนอน ขนาดตัว นาฬิกาชีวภาพ (circadian clock) การพักตัวในระยะดักแด้ (pupal diapause) อายุขัย พฤติกรรมการ

กินอาหารและการสืบพันธุ์ (Li *et al.*, 2019) ดังนั้น จึงไม่แปลกแต่ประการใดที่ระยะ L3 ใช้เวลานานที่สุดโดยการสะสมไขมัน เป็นลักษณะที่โดดเด่น

สัดส่วนระหว่างเพศผู้ต่อเพศเมียในการศึกษาค้างนี้ไม่แตกต่างทางสถิติ สอดคล้องกับลักษณะการกำหนดเพศของ ตัวในวงศ์ Scarabaeidae ที่มีลักษณะการกำหนดเพศโดยโครโมโซม XY (Emlen *et al.*, 2005) สัดส่วนเพศที่ไม่เท่ากัน (Biased-sex ratio) สามารถพบได้ในกรณีของด้วงมูลสัตว์ (*Onthophagus taurus*) ที่พบว่ามีการตายที่จำเพาะต่อเพศ (sex-specific mortality) โดยเพศผู้มีอัตราการตายสูงกว่าเพศเมีย ด้วยเหตุผลความเป็นไปได้เนื่องมาจากเพศผู้มีความต้องการอาหารที่มากกว่า การเตรียมก้อนอาหารที่ทำจากมูลสัตว์ (brood mass) ที่มีน้ำหนักไม่มากมีผลทำให้อาหารไม่เพียงพอ ต่อการพัฒนาส่งผลต่อการตายที่สูงกว่าเพศเมีย (House *et al.*, 2010) นอกจากนั้น ตามที่การกำหนดเพศเป็นแบบโครโมโซม XY การเกิดการกลายพันธุ์ชนิด X-linked recessive ส่งผลต่อการตายของตัวชนิด *Dendroctonus ponderosae* เพศผู้ (Lachowsky & Reid, 2014) ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบลักษณะ biased-sex ratio ปัจจัยที่ส่งผลสัดส่วนเพศในด้วงกว้างขน ยังไม่มีการศึกษามาก่อน ผู้วิจัยมีทรรศนะว่าหากปริมาณอาหารมีส่วนเกี่ยวข้อง สามารถตัดประเด็นนี้ได้เพราะในการศึกษา ครั้งนี้ให้อาหารเต็มที่ตั้งแต่เริ่มต้น ส่วนกรณีของ lethal ยีน หรือ X-linked recessive ยังไม่ปรากฏในรายงานใด ๆ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลที่ได้เป็นกรณีศึกษาแบบธรรมชาติในสภาพทดลอง ยังไม่สามารถตัดประเด็น biased-sex ratio ในธรรมชาติ ออกไปได้

อัตราการรอดชีวิตของด้วงกว้างขนตั้งแต่ระยะหนอนถึงระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์จากการเลี้ยงในสภาพเลี้ยงเดี่ยว รายตัว (จำกัดพื้นที่) มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 71% บ่งชี้ว่าอาหารสูตรที่ใช้ครั้งนี้สามารถใช้เลี้ยงให้เจริญถึงระยะเต็มวัยพร้อม สืบพันธุ์ได้ ด้วงกว้างขนระยะหนอนได้รับอาหารอย่างเต็มที่ ไม่ต้องแข่งกับตัวอื่น อย่างไรก็ตามพบการตายของหนอนระยะ L2-L3 โดยพบว่าหนอนไม่กินอาหาร เกิดรอยขีดคำค้ำที่ปล้องอกและลูกกลมไปทั่วตัวและตายในที่สุด นอกจากนั้นพบการตาย เกิดขึ้นในช่วงการพัฒนาของตัวเต็มวัยระยะพักตัว กล่าวคือบางตัวแม้จะสามารถลอกคราบเป็นตัวเต็มวัยระยะพักตัวได้แต่ไม่ สมบูรณ์ ตัวกลุ่มนี้ไม่สามารถพัฒนาเป็นระยะตัวเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ได้ ประเด็นเรื่องสาเหตุที่ทำให้เกิดการตายของระยะ หนอนด้วงกว้างขน ยังไม่มีรายงานมาก่อน ดังนั้นจึงเป็นประเด็นที่สามารถนำไปศึกษาต่อยอดได้

การเพาะเลี้ยงในสภาพจำกัดพื้นที่ในด้วงกว้างชนิดอื่นประสบผลสำเร็จโดยมีอัตราการรอดแตกต่างกันไป เช่น กรณี ของด้วงกว้างเฮอริคิวลิส (*Dynastes hercules paschoali*) มีอัตราการรอดมากกว่า 90% (Lai, 2012) หรือในกรณีของการ เลี้ยงด้วงแรดพบว่าแม้จะเป็นสกุลเดียวกันแต่อัตราการรอดแตกต่างกัน โดยด้วงแรด (*Oryctes rhinoceros*) มีอัตราการรอดถึง ระยะดักแด้ที่ 33 % (El-Zohairy *et al.*, 2009) ในขณะที่ด้วงแรด (*Oryctes owariensis*) มีอัตราการรอดเฉลี่ย 83.3% ขึ้นกับ ชนิดอาหารเลียนแบบธรรมชาติที่ใช้ (Ukorijie & Bobmanuel, 2019)

การสร้างโพรงดิน (pupation chamber) ของหนอนระยะ L3 พบได้ด้วงหลายชนิดในวงศ์ Scarabaeidae (Sanchez *et al.*, 2010) ทั้งนี้เพื่อการมีพื้นที่โล่งในการพัฒนาระยะดักแด้และระยะเต็มวัยพักตัว รูปทรงของโพรงด้วงกว้างขนเป็นทรงรี หัวท้ายมน (oval chamber) และมีผนังที่แข็งและหนาซึ่งมีความคล้ายกับโพรงของด้วงเฮอริคิวลิส (*Dynastes hercules*) แต่แตกต่างจากโพรงของด้วงมูลสัตว์ที่เป็นทรงกลม อย่างไรก็ตามหากพิจารณาจำนวนวันที่ใช้ในการพัฒนาตามที่แสดงใน

Table 3 เทียบกับกว้างเฮอริคิวลิสตามการรายงานของ Lai *et al.*, (2012) ที่มีการเลี้ยงแบบจำกัดพื้นที่เช่นกัน พบว่าด้วงกว้างชนใช้ระยะเวลาน้อยกว่า ผู้วิจัยมีทรรศนะว่าน่าจะเป็นความจำเพาะของชนิดพันธุ์นั้น ๆ และอาจเกี่ยวข้องกับขนาดตัวกว้างเฮอริคิวลิสมีขนาดที่ใหญ่กว่าใช้เวลาในการพัฒนาที่นานกว่า สอดคล้องกับ Roff (1992) ที่กล่าวถึง life-history theory ว่าขนาดของร่างกายมีความสัมพันธ์ทางบวกกับระยะเวลาในการพัฒนา ลักษณะเช่นนี้มีการรายงานในกรณีของด้วงหนวดยาวในสกุล *Monochamus* ซึ่งพบว่าตัวที่เล็กกว่ามีพัฒนาการเป็นตัวเต็มวัยที่ไวกว่าตัวที่ใหญ่กว่า (Pimentel & Ayres, 2020) ลักษณะของสัตว์เต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสามารถจัดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลัก ๆ คือ สีน้ำตาลแดง กับสีดำ ลักษณะของสีพบมากที่สุดในการเพาะเลี้ยง คือสีน้ำตาลแดง ในส่วนของสีน้ำตาลแดง ยังพบการไล่ระดับของสีกลุ่มนี้ออกเป็นสีน้ำตาลแดงในระดับต่างๆ ซึ่งไม่สามารถจัดเป็นกลุ่มที่ชัดเจนได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสีเป็นลักษณะเชิงคุณภาพ (quality) ที่ถูกควบคุมด้วยความหลากหลายของยีน ดังปรากฏหลักฐานการรายงานของ Gautier *et al.*, (2018) และ Ando & Niimi (2019) ในด้วงเต่าทอง (*Harmonia axyridis*)

ข้อมูลที่กำลังมาข้างต้นแสดงภาพรวมข้อมูลทางชีววิทยาที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ตั้งแต่ระยะไข่-ระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเลี้ยงด้วงกว้างชนด้วยสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเลียนแบบธรรมชาติสามารถเพาะเลี้ยงประสบความสำเร็จได้ ข้อมูลเหล่านี้มีความสำคัญยิ่ง โดยสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลี้ยงต่อยอดเชิงปริมาณเพื่อเป็นแมลงกินได้ของมนุษย์ การเลี้ยงเพื่อจำหน่ายและการเลี้ยงเพื่อช่วยอนุรักษ์ด้วงกว้างชนในธรรมชาติ

Conclusions

การวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงด้วงกว้างชนสามารถทราบชีววิทยาของสัตว์ชนิดนี้ได้ตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งเจริญเป็นตัวเต็มวัยระยะเจริญพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงในสภาพจำกัดพื้นที่โดยใช้อาหารเลียนแบบธรรมชาติ ที่สูตรอาหารที่ประกอบด้วยขี้เลื่อยไม้ยางพารา มูลวัวแห้ง ดิน แปะสาลี และน้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนด โดยมีอัตราการรอดชีวิต 71%

วงจรชีวิตของด้วงกว้างชนประกอบด้วยระยะไข่ ระยะหนอน L1-L3 ระยะดักแด้ และระยะเต็มวัย พบว่าระยะเวลาในการพัฒนาจากไข่เป็นหนอนระยะ L1 ใช้เวลาราว 25-30 วัน จากนั้นใช้เวลาอีก 30 วันในการพัฒนาเป็นหนอนระยะ L2 และอีก 30 วันเพื่อพัฒนาเป็นหนอนระยะ L3 ซึ่งเป็นระยะที่ใช้เวลานานที่สุดถึง 180 วันก่อนเข้าสู่ระยะดักแด้ การพัฒนาจากดักแด้เป็นตัวเต็มวัยระยะพักตัวใช้เวลา 21.38 ± 3.24 วัน และใช้เวลาอีก 32.82 ± 5.92 วันเพื่อพัฒนาเป็นระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ ซึ่งมีอายุเฉลี่ยระยะเต็มวัยพร้อมสืบพันธุ์ 53.81 ± 15.59 วัน

ด้านการพัฒนาน้ำหนักตัว พบว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงหนอนระยะ L1-L3 ตอนต้น หลังจากนั้นน้ำหนักตัวจะเพิ่มขึ้นช้าลงและมีแนวโน้มลดลงในระยะที่ 3 ช่วงท้าย ซึ่งสัมพันธ์กับพฤติกรรมการหยุดกินอาหาร สำหรับสัดส่วนระหว่างเพศผู้ต่อเพศเมียพบในอัตรา 1.00:0.73 โดยเพศผู้มีความยาวของขาที่แตกต่างกัน ส่วนสีของตัวเต็มวัยสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือสีน้ำตาลแดงและสีดำ

Acknowledgments

ขอขอบคุณเกษตรกรชุมชนหมู่ 13 บ้านร่องห้า ต. ต่อม อ. เมือง จ. พะเยา ในการอนุเคราะห์จัดหาพ่อแม่พันธุ์ ผู้ช่วยนักวิจัยในเก็บข้อมูลผลการดำเนินงาน รวมถึงสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี สำหรับการอำนวยความสะดวกด้านสถานที่และเครื่องมือวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและส่งเสริมศิลปวัฒนธรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ในการประสานงานจัดสรรทุนดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) ปีงบประมาณ 2566 สำหรับการสนับสนุนทุนวิจัยจนทำให้งานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จ

References

- Abenis, K.O., Lit, I.L., Jr., Caasi-Lit, M.T., & Naredo, J.C.B. (2018). First record of the dynastid beetle, *Xylotrupes gideon* L., on field corn. *The Philippine Entomologist*, 32(2), 147-150.
- Ali, N., Tabia, A.N.M., Zakila, F.A., Fauzaia, W.N.F.M., & Hassana, O. (2013) Yield performance and biological efficiency of empty fruit bunch (EFB) and palm pressed fibre (PPF) as substrates for the cultivation of *Pleurotus Ostreatus*. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, 64(1), 93-99.
- Alvarez, H.J.G. (2011). Beetle breeding and its applicability in conservation. *Scarabs*, 59, 1-5.
- Ando, T., & Niimi, T. (2019). Development and evolution of color patterns in ladybird beetles: A case study in *Harmonia axyridis*. *Development Growth & Differentiation*, 61, 73-84.
- Bedford, G.O. (1980). Biology, ecology and control of palm Rhinoceros beetles. *Annual Review of Entomology*, 25, 309-339.
- Chung, M.Y., Kwon, E.Y., Hwang, J.S., Goo, T.W., & Yun, E.Y. (2013). Establishment of food processing methods for larvae of *Allomyrina dichotoma*, Korean horn beetle. *Journal of Life Science*, 23(3), 426-431.
- Ek-Amnuay, P. (2009). *Breeding and rearing beetles* (1st edition). Bangkok: Amarin printing and publishing public co. Ltd. (in Thai)
- EL-Zohairy, M.M., EL-Deeb, M.A., Hashem, H.H., & EL-Sayed Arafa, O. (2009). Biological studies on *Oryctes rhinoceros* L. (Coleoptera: Scarabaeidae). *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 87(2), 395-402.

- Emlen, D.J., Hunt, J., & Simmons, L.W. (2005). Evolution of sexual dimorphism and male dimorphism in the expression of beetle horns: phylogenetic evidence for modularity, evolutionary lability, and constraint. *The American Naturalist*, 116 (Supplement): S42-68.
- Food intelligence center. (2022). Thailand's edible insect food industry in 2022. https://fic.nfi.or.th/upload/info_graphic/pdf81.pdf. (in Thai)
- Gautier, M., Yamaguchi, J., Foucaud, J., Loiseau, A., Ausset, A., Facon, B., Gschloessl, B., Lagnel, J., Loire, E., Parrinello, H., Severac, D., Donnadieu, C., Manno, M., Berges, H., & Gharbi, K. (2018). The genomic basis of color pattern polymorphism in the harlequin ladybird. *Current Biology*, 28, 3296-3302.
- House, C.M., Simmons, L.W., Kotiaho, J.S., Tomkins, J.L., & Hunt, J. (2010). Sex ratio bias in the dung beetle *Onthophagus taurus*: adaptive allocation or sex-specific offspring mortality?. *Evolutionary Ecology*. 1-10.
- Inkrod, C., Raita, M., & Laosiripojana, N. (2017). Characteristics of lignin extracted from pararubber wood sawdust via organosolv fractionation. *Journal of Sustainable Energy & Environment*, 8, 71-76.
- Kojima, W., Nakakura, T., Fukuda, A., Lin, C.P., Harada, M., Hashimoto, Y., Kawachi, A., Suhama, S., & Yamamoto, R. (2020). Latitudinal cline of larval growth rate and its proximate mechanisms in a rhinoceros beetle. *Functional Ecology*, 34, 1577-1588.
- Komariah, A., Tataru, R.A., & Bustami, D.A. (2016). Efficacy of rhinoceros beetle (*Xylotrupes gideon*) nano chitosan and calcium mouthwash in reducing quantity oral cavity bacteria among elementary school age children. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 4(3), 238-245.
- Krongdang, S., Phokasem, P., Venkatachalam, K., & Narin Charoenphun, N. (2023). Edible Insects in Thailand: An overview of status, properties, processing, and utilization in the food industry. *Foods*, 12, 2-24.
- Lachowsky, L.E., & Reid, M.L. (2014). Developmental mortality increases sex-ratio bias of a size-dimorphic bark beetle. *Ecological Entomology*, 39, 300-308.
- Lai, J. (2012). Captive breeding of *Dynastes hercules paschoali*. *Scarabs*, 69, 1-9.
- Li, S., Yu, X., & Feng, Q. (2019). Fat body biology in the last decade. *Annual Review of Entomology*, 13(10), 1-19.

- Lim, J.R., Lee, S.S., Lee, E.J., Kim, W., & Choi, C.H. (2023). Study on the suitable fermentation period of berry sawdust for the development of *Protaetia brevitarsis* larva. *Journal of Applied Entomology*, 62(3), 183-191.
- Pimentel, C.S., & Ayres, M.P. (2020). Competition and climate affect body size and sexual size dimorphism in pine sawyer beetles. *Bulletin of Insectology*, 73(2), 265-273.
- Preacher K.J. (2001). Calculation for the chi-square test: An interactive calculation tool for chi-square tests of goodness of fit and independence. [Computer software] <https://quantpsy.org/chisq/chisq.htm>.
- Rennesson, S. (2019). Wrestling beetles and ecological wisdom: How insects contribute to the cosmopolitics of Northern Thailand. *Southeast Asian Studies*, 8(1), 3-24.
- Roff D.A. (1992). The evolution of life histories, theory and analysis. Chapman and Hall. New York. USA.
- Sanchez, M.V., Krause, J.M., González, M.G., & Dinghi, P.A. (2010). The pupation chamber of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae). *The Coleopterists Bulletin*, 64(3), 277-284.
- Shukla, A., Panchal, H., Mishra, M., Patel, P. R., Srivastava, H.S., Patel, P., & Shukla, A.K. (2014). Soil moisture estimation using gravimetric technique and FDR probe technique: A comparative analysis. *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences*, 8(1), 89-92.
- Souza, T.B.D., Albuquerque, L.S.C.D., Luciana Iannuzzi, L., Fábio Correia Costa, F.C., Marc Gibernau, M., & Maia, A.C.D. (2023). Egg development and viability in three species of *Cyclocephala* (Coleoptera: Scarabaeidae: Dynastinae). *Bulletin of Entomological Research*, 113(1), 118-125.
- Ukoroije, R.B., & Bobmanuel, R.B. (2019). A call for domestication and mass rearing of *Oryctes owariensis* larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *Noble International Journal of Scientific Research*, 3(10), 103-108.
- Ukoroije, R.B., & Bawo, D.D.S. (2019a). Studies on the life cycle of *Oryctes owariensis beauvis* growth under laboratory condition in Wilberforce Island, Nigeria. *Ekiti State University Journal of Science and Technology (EJST)*, 4(1), 43-49.

- Ukorije, R.B., & Bawo, D.D.S. (2019b). Morphological studies of the life Stages of *Oryctes owariensis Beauvois* (Coleoptera: Dynastinae: Scarabaeidae). *SSRG International Journal of Agriculture & Environmental Science (SSRG-IJAES)*, 6(4), 24-27.
- Yoon, C.H., Jeon, S.H., Ha, Y.J., Kim, S.W., Bang, W.Y., Bang, K.H., Gal, S.W., Kim, I.S., & Cho, Y.S. (2020). Functional chemical components in *Protaetia brevitarsis* Larvae: Impact of supplementary feeds. *Food Science of Animal Resources*, 40(3), 461-473.