



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสร้างสมการเส้นตรงจากข้อมูลการเจริญของแมลงวันหัวเขียว
(Diptera: Calliphoridae) ที่มีบทบาทสำคัญทางนิติเวชในประเทศไทยเพื่อคำนวณ
ระยะเวลาหลังการตาย

A Linear Model for Calculating Post-Mortem Intervals Using Developmental
Data for Forensically Important Blow Flies
(Diptera: Calliphoridae) in Thailand

หัวหน้าโครงการ: รศ. ดร. กันทิมา สุวรรณพงศ์

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802061
สัญญาเลขที่ 120/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสร้างสมการเส้นตรงจากข้อมูลการเจริญของแมลงวันหัวเขียว
(Diptera: Calliphoridae) ที่มีบทบาทสำคัญทางนิติเวชในประเทศไทยเพื่อคำนวณ
ระยะเวลาหลังการตาย

A Linear Model for Calculating Post-Mortem Intervals Using Developmental
Data for Forensically Important Blow Flies
(Diptera: Calliphoridae) in Thailand

รศ. ดร. กัญทิมา สุวรรณพงศ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จด้วยดี โดยได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐ มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา ๑๒๐/๒๕๖๐ คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณภาคีชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา บางแสน จังหวัดชลบุรี ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากสภากิจการวิจัยแห่งชาติที่กรุณาให้คำแนะนำในการเสนอโครงการวิจัย เจ้าหน้าที่มหาวิทยาลัยบูรพา ที่กรุณาให้ความสะดวกในการดำเนินการโครงการวิจัย ผู้วิจัยหวังอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใด คณะผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วยและยินดีรับข้อเสนอแนะด้วยความยินดี

กัณฑิมา สุวรรณพงศ์
หัวหน้าโครงการฯ
ธันวาคม 2561

Acknowledgement

This work was financial supported by the Research Grant of Burapha University through the National Research Council of Thailand (Grant no. 120/ 2560). We wish to thank the department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri, Thailand, for research facilities. Our special thank also go to the research team of NRPM of Thailand for their useful suggestions. We hope that our report would be helpful for all readers who might have feedback comments, corrections, inspiration, and most of all for taken reading.

Associate Professor Guntima Suwannapong
A head of research team
December, 2018

การสร้างสมการเส้นตรงจากข้อมูลการเจริญของแมลงวันหัวเขียว (Diptera: Calliphoridae) ที่มีบทบาทสำคัญทางนิติเวชในประเทศไทยเพื่อคำนวณ ระยะเวลาหลังการตาย

บทคัดย่อ

การใช้แมลงโดยเฉพาะกลุ่มแมลงวันหัวเขียวมาใช้ประเมินระยะเวลาหลังการตาย (PMI_{min}) ในการชันสูตรศพในการสืบสวนสอบสวนเริ่มขึ้นตั้งแต่ศตวรรษ ที่ 13 ในประเทศไทยมีการใช้ข้อมูลการเจริญของแมลงมาใช้ในการประเมินระยะเวลาการตายน้อยมากเนื่องจากขาดข้อมูล คณะผู้วิจัยได้ศึกษา ผลของอุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ ระหว่าง 15-40±2°C ต่ออัตราการเจริญเติบโต (developmental rate) ระยะเวลาการเจริญเติบโต (developmental time) และพัฒนาการของอวัยวะ ของแมลงวันหัวเขียวที่มีบทบาทสำคัญทางนิติกีฏวิทยาสองชนิดหลักของประเทศไทย คือแมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* และ *Ch. rufifacies* โดยวัดระยะเวลาตั้งแต่เข้าดักแด้ (pupariation) จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย (eclosion) ความกว้าง ความยาวและน้ำหนักของดักแด้ ทุก 8 ชั่วโมง พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้จนถึงระยะก่อนฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัยของ *Ch. megacephala* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=1.27$, $P=0.2640$) อย่างไรก็ตามความกว้างของดักแด้ระยะแรกและสุดท้ายที่อุณหภูมิ 25±2°C มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=2.95$, $P=0.0030$) น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้เมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ไปสู่ระยะก่อนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย ที่ทุกอุณหภูมิ 15±2°C 25±2°C 30±2°C 33±2°C และ 35±2°C ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$; $F_{29}=0.22$, $P=0.927$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$; $F_{29}=0.95$, $P=0.4880$; $F_{29}=1.08$, $P=0.3820$) ระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ตัวหนอนระยะ post feeding larvae มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้สู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดใช้เวลาน้อยที่สุดคือ 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35±2°C และใช้ระยะเวลามากที่สุดคือ 408 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 15±2°C ในขณะที่ระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้ *Ch. rufifacies* ใช้เวลาน้อยที่สุดที่ 36±2°C โดยใช้เวลา 115 ชั่วโมง และใช้ระยะเวลามากที่สุดคือ 314 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 15±2°C พบแมลงวันหัวเขียวที่กระจายอยู่ทั่วประเทศไทย จำนวน 25 ชนิด (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 329 ตัวอย่าง) ได้แก่ *Chrysomya rufifacies*, *Ch. megacephala*, *Ch. putonia*, *Ch. pacifica*, *Ch. rufifacies* CR11, *Ch. rufifacies* voucher, *Ch. megacephala* CM11, *Ch. megacephala* isolate 2, *Ch. megacephala* PUMB 2016-151-11, *Luciria ceracata*, *Phormia regina* Meigen, *Ch. bezzinia*, *Ch. saffrania*, *Ch. albiceps* เป็นต้น ชนิดที่พบมากที่สุดของประเทศไทยได้แก่ *Ch. rufifacies* และ *Ch. megacephala* ซึ่งเป็นแมลงวันหัวเขียวกลุ่มแรกที่เข้ามาตอมและวางไข่ที่ศพ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการคำนวณ PMI หรือระยะเวลาหลังการตายได้อย่างแม่นยำ ถ้าหากได้มีการบันทึกค่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมที่พบศพ ได้อย่างเที่ยงตรง ควบคู่กับการจำแนกชนิด (species) ของแมลงวันหัวเขียวได้ถูกต้องแม่นยำ ข้อมูลการศึกษาครั้งนี้ถือว่ามีประโยชน์อย่างมากในงานสืบสวนสอบสวนหรือทางนิติวิทยาศาสตร์ ของประเทศไทย

คำสำคัญ: แมลงวันหัวเขียว อัตราการเจริญ ระยะเวลาการเจริญ นิติกีฏวิทยา

A Linear Model for Calculating Post-Mortem Intervals Using Developmental Data for Forensically Important Blow Flies in Thailand

Abstract

The use of insects especially blowflies to estimate minimum postmortem interval (PMI_{min}) in crime scene investigation have been reported since 13th century. We investigated the effect of constant temperature range from 15-40°C on developmental times, developmental rates, the length, the width and weight of pupae from pupariation to eclosion every 8 hours of two main important forensically blowflies in Thailand, *Chrysomya rufifacies* and *Ch. megacephala*. Moreover, species identification of blowflies collected from nine different regions of Thailand was identified using molecular identification; nucleotide sequencings were blasted using NCBI compared to that of BOLD systems. The finding showed that the length, the width and weight of pupae of *Ch. megacephala* after kept at 15-40±2°C were not significant different ($F_{29}=1.27$, $P=0.2640$). Interestingly, the length, the width and weight of pupae of *Ch. rufifacies* showed a similar trend to those of *Ch. megacephala* ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$). However, the width of pupae of both blowfly species kept at 25±2°C was statistically different from those of 35±2°C ($F_{29}=2.95$, $P=0.0030$). The developmental times and developmental rates of pupal stage of both *Ch. megacephala* and *Ch. rufifacies* were statistically different at the different constant temperatures from 15-40±2°C ($F_{29}=1.342$, $P=0.0001$; $F_{29}=5.52$, $P=0.0001$). Therefore, the weight of pupae kept at 15±2°C, 25±2°C, 30±2°C, 33±2°C and 35±2°C were not significant ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$; $F_{29}=0.22$, $P=0.927$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$; $F_{29}=0.95$, $P=0.4880$) and ($F_{29}=1.08$, $P=0.3820$). The developmental time from post feeding larvae to eclosion was shortest when kept at 35±2°C, they were 72 and 115 hours for *Ch. megacephala* and *Ch. rufifacies*, respectively, while it was longest when kept at 15±2°C which were 408 and 314 hours for *Ch. megacephala* and *Ch. rufifacies*, respectively. No eclosion was found in both blowfly species at 39- 40±2°C. Therefore, the investigation of blowfly species collected from nine different regions of Thailand of 329 samples using PCR, nucleotide sequencing showed 15 blowfly species which were *Chrysomya rufifacies*, *Ch. megacephala*, *Ch. rufifacies* voucher CR11, *Chrysomya rufifacies* CR12, *Chrysomya rufifacies* voucher AR32-4, *Ch. megacephala* isolated 2, *Ch. megacephala* strain 281, *Chrysomya megacephala* PUMB 2016-151-11, *Ch. megacephala* CM11, *Ch. pacifica*, *Ch. potonia*, *Ch. saffranae*, *Ch. bezziana*, *Ch. albiceps*, *Luciria*, *sericata*.

Keywords: Blowfly, developmental rate, developmental time, forensic entomology

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ.....	ก
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญภาพ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย.....	4
1.4 ทฤษฎีสมมุติฐานและกรอบแนวความคิดการวิจัย.....	4
2 บทสอบสวนเอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง.....	6
2.1 ประวัติการเกิดของสาขานิติกีฏวิทยา.....	6
2.2 ชีวิตวิทยาและวงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว	7
2.2.1 อนุกรมวิธานของแมลงวันหัวเขียว.....	7
2.2.2 วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว.....	8
2.3 การประเมินทางกีฏวิทยาเพื่อประมาณระยะเวลาหลังการตาย.....	10
2.4 บทบาทของแมลงวันหัวเขียวกับงานนิติกีฏวิทยา.....	11
2.4.1 บทบาทความสำคัญของระยะไข่.....	11
2.4.2 บทบาทความสำคัญของระยะตัวหนอน.....	13
2.4.3 บทบาทความสำคัญของระยะดักแด้.....	15
2.5 ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโต.....	17
2.6 ค่าจำนวนวันสะสมและจำนวนชั่วโมงสะสม.....	18
2.7 การประเมินระยะเวลาหลังการตาย.....	19
2.7.1 ไอโซเมกกะเลนไดอะแกรม.....	19
2.7.2 ไอโซมอร์เฟนไดอะแกรม.....	20
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
3.1 อุปกรณ์.....	22
3.2 สารเคมี.....	23
3.3 ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา (Specimens).....	24
3.4 สถานที่ศึกษา (Study site).....	24
3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	25

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3	22
3.5.1	25
3.5.2	25
3.5.3	27
3.5.4	27
3.5.5	28
3.5.6	28
3.5.7	29
3.5.8	29
3.5.9	29
3.5.10	29
3.5.11	30
3.5.12	31
3.5.13	31
3.5.14	32
3.5.15	33
4	34
4.1	34

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
4 ผลการศึกษา.....	34
4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	49
4.3. ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ระยะดักแด้สู่ระยะตัวเต็มวัยและลักษณะทางสัณฐาน วิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้.....	51
4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	63
4.5 การเจริญเติบโต การสร้าง Isomorphen diagram และ Isomegalen diagram ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> และ <i>Ch. rufifacies</i>	65
4.6 การคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมชั่วโมงและความร้อนสะสมวัน ของแมลงวัน หัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> และ <i>Ch. rufifacies</i>	69
4.7 ผลการจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวโดยใช้ชีวโมเลกุล.....	70
5 สรุปและอภิปรายผลการทดลอง.....	75
เอกสารอ้างอิง.....	81
ภาคผนวก.....	91
ประวัตินักวิจัย.....	104

สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya ruffifacies</i> ที่อุณหภูมิ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$	9
2-2 แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i>	9
2-3 การแสดงการเจริญเติบโตของแมลงขึ้นอยู่กับ upper and lower temperature thresholds.....	11
2-4 แสดงไข่ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i> (a) 0 ชั่วโมง (b) 3 ชั่วโมง (c) 9 ชั่วโมง และ (d) ระยะ first instars (40X).....	13
2-5 แสดง posterior spiracle ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i>	15
2-6 แสดงระยะตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i> (a) 1 st instar larva (b) 2 nd instar larva (c) 3 rd instar larva และ (d) post-feeding larva.....	15
2-7 แสดงระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i>	17
2-8 แสดงระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i> อายุ 24 ชั่วโมง.....	17
2-9 อัตราการเจริญของแมลง (developmental rate) ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยมีค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญได้ (Base temperature).....	19
2.10 แสดง Isomegalen diagram ของ <i>Lucilia sericata</i> ระยะตัวหนอนถึงเข้าดักแด้ระหว่างอุณหภูมิ 15 ถึง 40°C	20
2-11 แสดง Isomorphen diagram ของ <i>L. sericata</i> ระยะฟักออกจากไข่ถึงระยะดักแด้ฟักออกเป็นตัวเต็มวัย ระหว่างอุณหภูมิ 15 ถึง 40°C	21
4-1 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส อายุ 72 ชั่วโมง (ชาย) อายุ 456 ชั่วโมง (ขวา).....	34
4-2 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) (มิลลิเมตร) ตามระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส.....	35
4-3 ความกว้างเฉลี่ย (mean \pm SE) (มิลลิเมตร) ตามระยะเวลาการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส.....	35
4-4 น้ำหนักเฉลี่ย (mean \pm SE) ตามระยะเวลาการเจริญของดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส.....	36
4-5 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส อายุ 24 ชั่วโมง (ชาย) อายุ 120 ชั่วโมง (ขวา).....	38
4-6 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส.....	38
4-7 ความกว้างเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส.....	39

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-8	39
4-9	40
4-10	41
4-11	41
4-12	42
4-13	43
4-14	44
4-15	44
4-16	45
4-17	46
4-18	47
4-19	47
4-20	48
4-21	49
4-22	52
4-23	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-24	ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส.....	53
4-25	น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส.....	53
4-26	ดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ณ ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 96 (ขวา).....	55
4-27	ความยาวเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	55
4-28	ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	56
4-29	น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	56
4-30	ดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 80 (ขวา).....	58
4-31	ความยาวเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส.....	58
4-32	ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส.....	59
4-33	น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส.....	59
4-34	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ณ ชั่วโมงที่ 24 (a) ชั่วโมงที่ 36 (b) ชั่วโมงที่ 40 (c) ชั่วโมงที่ 80 (d) ชั่วโมงที่ 88 (e) ชั่วโมงที่ 96 (f) และชั่วโมงที่ 104 (g, h).....	61
4-35	เปรียบเทียบขนาดและสีของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 20± 2 องศาเซลเซียส ที่ชั่วโมงการเจริญต่าง ๆ	62
4-36	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้ภายในคอกคูนของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacie</i> ณ ชั่วโมงที่ 24 (a) ชั่วโมงที่ 36 (b) ชั่วโมงที่ 40 (c) ชั่วโมงที่ 80 (d) ชั่วโมงที่ 88 (e) ชั่วโมงที่ 96 (f) และชั่วโมงที่ 104 (g, h).....	64
4-37	Isomegalen-diagram ของ <i>Ch. megacephala</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	65
4-38	Isomegalen-diagram ของ <i>Ch. rufifacies</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	66

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-39 Isomegalen-diagram ของ <i>Ch. megacephala</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	66
4-40 Isomegalen-diagram ของ <i>Ch. ruffifacies</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	67
4-41 Isomegalen-diagram ของ <i>Ch. ruffifacies</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–40±2 °C.....	67
4-42 Isomorphen-diagram ของ <i>Ch. ruffifacies</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	68
4-43 Isomorphen-diagram ของ <i>Ch. megacephala</i> กับระยะเวลาการเจริญที่อุณหภูมิคงที่ 15–39±2 °C.....	68
4-44 บริเวณที่สุ่มเก็บตัวอย่างแมลงวันหัวเขียวในประเทศไทยบริเวณภาคเหนือภาคกลางภาคใต้ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อจำแนกชนิด.....	70
4-45 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i> voucher.....	72
4-46 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i>	72
4-47 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. pacifica</i>	73
4-48 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> isolate 2.....	73
4-49 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. ruffifacies</i> ชั่วโมงที่ 88 (e) ชั่วโมงที่ 96 (f) และ ชั่วโมงที่ 104 (g, h).....	74
4-50 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i>	74
5-1 แสดงความยาว (mean±SE, มิลลิเมตร) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15(a), 25(b), 30 (c), 33(d) และ 35(e) องศาเซลเซียส.....	78
5-2 แสดงความกว้างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15(a), 25(b), 30 (c), 33(d) และ 35(e) องศาเซลเซียส.....	79

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4-1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 15±2 องศาเซลเซียส.....	36
4-2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส.....	40
4-3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	42
4-4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส.....	45
4-5 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส.....	48
4-6 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส.....	54
4-7 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส.....	57
4-8 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่ 35±2 องศาเซลเซียส.....	60
4-9 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 10 (B ₁₀).....	69
4-10 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 9.5 (B _{9.5}).....	69
4-11 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 11 (B ₁₁).....	70
4-12 ตารางชนิดของแมลงวันหัวเขียวที่จำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล blast ด้วย NCBI และ BOLD system.....	71
5-1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. megacephala</i> ที่มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้และระยะสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 15±2°C, 25±2°C, 30±2°C, 33±2°C และ 35±2°C.....	76
5-2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว <i>Ch. rufifacies</i> ที่มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้และระยะสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 25±2°C, 30±2°C และ 35±2°C.....	77

บทที่ 1

บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แมลงเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญหลายอย่างในระบบนิเวศ มีแหล่งที่อยู่อาศัย (habitat) และมีการแพร่กระจาย (geographic distribution) ที่สามารถระบุได้แน่นอน นอกจากนี้ในแต่ละระยะของการเจริญและพัฒนา ของแมลงมีระยะเวลาที่แน่นอน รวมทั้งมีขนาดและสัณฐานภายนอก (external morphology) ที่จำเพาะ ในธรรมชาติแมลงมีบทบาทสำคัญหลายอย่างขึ้นอยู่กับชนิดและที่อยู่อาศัย จึงได้มีการนำแมลงมาใช้ประโยชน์หลายด้าน โดยอาศัยคุณสมบัติทางชีววิทยาพื้นฐานต่าง ๆ เช่น การใช้วงจรชีวิตของแมลงวันซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตและวงชีวิตที่แน่นอน และพฤติกรรมการกินอาหารเนื่องจากเป็นผู้บริโภคชั้นปฐมภูมิเนื่องจากกินซากศพเป็นอาหาร (carrion) มาใช้ในประมาณการตายของศพ หรือใช้ในคดีฆาตกรรมต่าง ๆ ซึ่งโดยปกติมักใช้อุณหภูมิ การแข็งตัวของเลือดและกล้ามเนื้อ (rigor mortis) เป็นตัวระบุวันเวลาของการตาย แต่การประมาณการตายด้วยวิธีนี้มักมีความคลาดเคลื่อนค่อนข้างมาก เมื่อเทียบกับการใช้แมลงซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตและวงชีวิตที่แน่นอนกว่า ทำให้สามารถประมาณการตายได้ใกล้เคียงมากกว่า (ไพฑูริย์ และกันทิมา, 2552 และ Gosset et al., 1992)

นิติกีฏวิทยา (Forensic entomology) เป็นวิทยาศาสตร์สาขาหนึ่งที่ใช้แมลงและสัตว์กลุ่มใกล้เคียงเพื่อช่วยในการสืบสวนสอบสวน โดยปกติแล้วแมลงมักเป็นสัตว์กลุ่มแรกที่มาถึงศพก่อนสัตว์ชนิดอื่น โดยเฉพาะแมลงวันหัวเขียว (Blowflies) ซึ่งสามารถวางไข่ลงบนศพเพียงไม่กี่ชั่วโมงหลังจากตายในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และในบางคดีไข่ของแมลงวันถูกพบอยู่บนศพที่ถูกฆาตกรรม (Erzinclioğlu, 1989) และมีน้อยคนที่จะมีความรู้ในเรื่องของแมลงวัน และชีววิทยาการเจริญ ซึ่งมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เพราะอาจทำให้เข้าใจถึงสถานการณ์ รายละเอียดของการฆาตกรรม และสามารถใช้ในการประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ (Post mortem interval, PMI) และอาจเป็นเครื่องชี้บ่งชี้ว่าศพถูกเคลื่อนย้าย หรือถูกทำลายหลักฐานหลังจากตาย ทำให้สามารถเชื่อมโยงไปยังผู้ต้องสงสัยในเหตุการณ์ฆาตกรรมได้ (Keh, 1985; Catts and Goff, 1992; Beneck and Lessing, 2001; Gagliano - Candela and Aventaggiato, 2001) แมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงที่มีความสำคัญต่อการสืบสวนสอบสวนไปทั่วโลก และมีรายงานว่าแมลงวันในสกุล *Chrysomya* และ *Lucilia* (Smith, 1986; Greenberg and Kunich, 2002) นั้นมีความสัมพันธ์กับศพมนุษย์ ด้วยเหตุนี้การใช้แมลงจึงเป็นเครื่องชี้บ่งชี้ที่มีประโยชน์ต่อการสืบสวนสอบสวน โดยส่วนมากนักนิติกีฏวิทยามักใช้ข้อมูลจากอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละระยะของแมลงวันหัวเขียว ในการคำนวณหาเวลาที่แมลงเข้ามาวางไข่หรือพบศพ เพื่อคำนวณหาระยะเวลาหลังการตาย แต่จะต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่มาเกี่ยวข้องหลายอย่าง เนื่องจากในการวางไข่ (oviposition) การเจริญเติบโตของตัวหนอน (larval development) และลำดับการเข้าตอมของแมลง มีความแตกต่างกันไปตามปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่พบศพซึ่งเป็นที่อาศัยของแมลง

การนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงวัน มาช่วยในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เกิดขึ้นอย่างแพร่หลายในประเทศยุโรป และอเมริกา เนื่องจากหลักฐานที่ได้จากแมลงเป็นข้อมูลที่สามารถพิสูจน์และเชื่อถือได้ เพราะการเจริญของแมลงมีระยะเวลาที่แน่นอน ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ และมีค่าเฉพาะในแมลงแต่ละชนิด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลง หรือขนาดกับอุณหภูมิที่ใช้ในหาค่าการเจริญเติบโตค่าต่าง ๆ สามารถนำมาประมาณเวลาหลังการตาย (postmortem interval; PMI) ได้ แมลงที่มีบทบาทสำคัญต่องานนิติกีฏวิทยาคือ แมลงวันหัวเขียว (blow flies) และแมลงวันหลังลาย (flesh flies) เนื่องจากเป็นแมลงกลุ่มแรก (the first visitor) ที่เข้ามามีบทบาทเมื่อมีการตายของสิ่งมีชีวิตเกิดขึ้น โดยทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายซาก (decomposer) ในธรรมชาติ เมื่อสัตว์ตาย แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (anaerobic) ทำให้ได้ของเหลวและแก๊ส เช่น hydrogen sulphide, methane, cadaverine และ putrescine ซึ่งแก๊สเหล่านี้จะมีกลิ่นเฉพาะตัว และเป็นตัวดึงดูดแมลงวันให้เข้ามาตอมศพ เพื่อดูดกินของเหลวและวางไข่บนศพทันที จากนั้นไข่จะพัฒนาไปเป็นตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย การเจริญเติบโตของแมลงวันในแต่ละระยะการเจริญต้องการความร้อนสำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง ค่าความร้อนดังกล่าวสามารถหาได้จากค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละวัน เรียกว่า ค่าจำนวนวันสะสมของอุณหภูมิสำหรับการเติบโต (accumulated degree day; ADD) หรืออาจคำนวณค่าจำนวนชั่วโมงสะสมของอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญเติบโต (accumulated degree hours, ADH) ก็ได้ อนึ่งเนื่องจากแมลงวันมีวงชีวิตและใช้เวลาในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะที่แน่นอน ดังนั้นการคำนวณค่า ADD จะสามารถช่วยประมาณเวลาการตายที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งการประมาณเวลาหลังการตายจะพิจารณาจากจุดเวลา 2 จุด คือ เวลาที่พบเหยื่อครั้งสุดท้ายขณะที่มีชีวิตและเวลาที่พบศพ แต่เนื่องจากจุดเวลาแรกมักจะไม่แน่นอนเมื่อเทียบกับเวลาที่พบศพ แมลงวันหัวเขียวเป็นชนิดแรกที่เข้ามาตอมศพไม่กับเวลาที่หลังจากที่มีการตายเกิดขึ้น เวลาที่วางไข่จึงเป็นตัวสะท้อนเวลาการตายที่ใกล้เคียงกับเวลาการตายมากที่สุด แต่ในสถานการณ์จริงศพมักจะถูกพบหลังจากที่มีการฆาตกรรมเกิดขึ้นแล้ว 2-3 วัน หรือมากกว่า หลักฐานที่พบบนศพส่วนใหญ่จึงเป็นหนอนแมลงวันในระยะต่าง ๆ ดังนั้นการศึกษาวงชีวิตและเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะที่อุณหภูมิคงที่จะทำให้ได้ค่า ADD ที่สามารถนำไปประมาณเวลาหลังการตายได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด

ในการวิจัยครั้งนี้สนใจทำการศึกษาวงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว ซึ่งแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่, ระยะตัวหนอน, ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย ของแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ซึ่งทั้งสองชนิด เป็นแมลงวันชนิดที่พบมากที่สุดในประเทศไทย ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ ระหว่าง 15-40 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาชีววิทยา (3108) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต. แสนสุข อ. เมือง จ. ชลบุรี ละติจูดที่ 13.28730 ลองจูดที่ 100.92717 ซึ่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยทั้งปีระหว่าง 23-33 °C

เนื่องจากในประเทศไทยมีการรายงานการศึกษาการเจริญของแมลงที่อุณหภูมิต่างมีข้อมูลน้อยมาก จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาข้อมูลเพื่อนำมาพัฒนาใช้ประโยชน์ทางนิติวิทยาศาสตร์ในประเทศไทย ที่ต้องการข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปคำนวณระยะเวลาหลังการตายให้

แมลงย่ำหรือไกล่เคี้ยวที่สุด โดยอาศัยข้อมูลการเจริญเติบโตของแมลงวันในแต่ละระยะการเจริญ ต้องการความร้อนสำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง ค่าความร้อนดังกล่าวสามารถหาได้จากค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละวัน เรียกว่า ค่าจำนวนวันสะสมของอุณหภูมิสำหรับการเติบโต (accumulated degree day; ADD) และเนื่องจากแมลงวันมีวงชีวิตและใช้เวลาในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะที่แน่นอน ดังนั้นการคำนวณค่า ADD จะสามารถช่วยประมาณเวลาการตายที่เกิดขึ้นได้ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ยังจะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานนิติวิทยาศาสตร์ไม่เพียงแต่เฉพาะในประเทศไทยยังรวมถึงระดับนานาชาติด้วย ในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานการนำเอาความรู้ทางด้าน นิติกีฏวิทยา มาใช้ในการสืบสวนสอบสวน เพื่อคลี่คลายคดีฆาตกรรมต่าง ๆ เนื่องจากไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโต หรือค่าขนาดความยาวของตัวหนอนระยะต่าง ๆ ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิดกับอุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์เพื่อคำนวณหาค่า lower threshold, DD, ADD และ ADH เพื่อนำมาใช้ประมาณค่า PMI ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาการเจริญ และการคำนวณค่าความร้อนที่ใช้ในแต่ละระยะการเจริญแมลงวันหัวเขียวที่มีบทบาทสำคัญในงานนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อนำไปใช้สำหรับการประมาณเวลาการตาย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานนิติวิทยาศาสตร์ไม่เพียงแต่เฉพาะในประเทศไทยยังรวมถึงระดับนานาชาติด้วย

1.2 วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

1.2.1. ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ควบคุมคงที่ค่าต่าง ๆ ระหว่าง 15-40 องศาเซลเซียส ต่อระยะเวลาในการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ระยะไข่-ตัวเต็มวัย

1.2.2. ศึกษาผลของอุณหภูมิในสภาวะแวดล้อมในช่วงเวลา 12 เดือน เป็นเวลา 3 ปี ต่อระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิดที่พบในประเทศไทยชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ระยะไข่-ตัวเต็มวัย

1.2.3. สร้างสมการเส้นตรง (linear model) จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษา เพื่อคำนวณหาค่า lower threshold temperature และ upper threshold temperature ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ระยะไข่-ตัวเต็มวัย

1.2.4. สร้าง isomorphen diagraph จากช่วงอุณหภูมิที่ใช้ศึกษาอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ระยะไข่-ดักแด้ และ จากระยะไข่-ระยะตัวเต็มวัย

1.2.5. สร้าง isomagalen diagraph จากช่วงอุณหภูมิที่ใช้ศึกษาอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* และ *Ch. rufifacies* ระยะไข่-ดักแด้ และ จากระยะไข่-ระยะตัวเต็มวัย

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาผลของอุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ คือ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40 องศาเซลเซียส ในตู้ควบคุมอุณหภูมิในห้องปฏิบัติการ และอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมในภาคสนาม 3 ช่วงเวลา ตามฤดูกาลของประเทศไทยต่อระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญของแมลงวันหัวเขียว (blow flies) ชนิดที่พบในประเทศไทย ระยะไข่ (egg) ตัวหนอน (larva) ทั้ง 3 ระยะคือ 1st instars, 2nd instars และ 3rd instars ระยะดักแด้ โดยใช้ตัวหมูปดเป็นสารอาหาร ในกรณีศึกษาในห้องปฏิบัติการ และใช้ศพหนูในกรณีทำการทดลองภาคสนาม เป็นเวลา 3 ปี โดยบันทึกระยะเวลาที่แมลงวันหัวเขียวใช้ในการเจริญ (developmental time) ในแต่ละระยะจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ และอุณหภูมิภาคสนามโดยได้จากสถานีอากาศที่ใกล้สถานที่ทดลองที่สุด ศึกษาและบันทึกการเปลี่ยนแปลงระยะของแมลงวันหัวเขียวภายใต้กล้อง Stereomicroscope แล้วนำไปคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญกับเวลาคำนวณค่าอัตราการเจริญ (developmental rate) ค่าเวลาการเจริญ (developmental time) จากสมการ ค่า lower threshold (minimum developmental temperature) และสามารถคำนวณหาค่า accumulate degree hour (ADH) และ accumulate degree day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียวชนิด (species) ต่าง ๆ ได้สมการดังกล่าว ข้อมูลค่า ADD และ ADH สามารถนำไปใช้ในการคำนวณหาค่าประมาณระยะเวลาหลังการตาย (postmortem interval, PMI)

1.4 ทฤษฎีสมมติฐานและกรอบแนวความคิดการวิจัย

การใช้ระยะต่าง ๆ ของแมลงวันหัวเขียวในการประมาณหรือบอกระยะเวลาการตายของศพ ในคดีฆาตกรรมต่าง ๆ เป็นที่นิยมในประเทศที่พัฒนาแล้ว เนื่องจากแมลงชนิดนี้ มักเข้ามามีบทบาทในทันทีที่มีศพหรือการตายเกิดขึ้นเพราะเมื่อมีศพหรือมีการตายเกิดขึ้นในบริเวณที่มีสภาวะแวดล้อมทางนิเวศวิทยาที่เหมาะสมต่อการเจริญของสิ่งมีชีวิตพวกย่อยสลาย กลิ่นของศพจะดึงดูดแมลงวันชนิดต่าง ๆ เช่นแมลงวันหลังลาย แมลงวันหัวเขียว ให้เข้ามาตอม ซึ่งแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้มักจะวางไข่โดยทันทีที่พบศพ โดยจะวางไข่ไว้บริเวณรูเปิดของร่างกาย เช่น ตา หู จมูก ปาก และบริเวณบาดแผลที่เปิดออกเป็นต้น (Grassberger & Reiter, 2001) การใช้ระยะการเจริญของแมลงวันมาประมาณระยะเวลาการตาย (post mortem interval, PMI) มักมีความคาดเคลื่อนน้อยเนื่องจากระยะเวลาการเจริญของแต่ละระยะของแมลงชนิดนี้มีค่าที่แน่นอนซึ่งสัมพันธ์กับอุณหภูมิค่าหนึ่ง ๆ นอกจากนี้ในกรณีที่มีการเจริญของแมลงที่พบในศพที่ตายในสภาวะแวดล้อมที่มีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงในสถานที่หรือฤดูต่าง ๆ สามารถประมาณหาค่า PMI ได้ด้วยการใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่าเวลาที่ใช้ในการเจริญ โดยใช้สมการเส้นตรง (linear model) หรือสมการเส้นโค้ง (non-linear) เพื่อนำมาใช้ศึกษาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียวแต่ละระยะ โดยสามารถคำนวณหาค่าจำนวนชั่วโมงสะสมที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาการ ณ ที่อุณหภูมิหนึ่ง (accumulated Degree Hour, ADH) และค่าจำนวนวันสะสมที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาการ ณ ที่อุณหภูมิหนึ่ง (accumulated Degree Day, ADD) ซึ่งค่าทั้ง 2 นี้จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตและมีพัฒนาการได้ (minimum threshold temperature) หรือที่เรียกว่าค่า Base line ถ้าหากอุณหภูมิต่ำกว่านี้แล้วแมลงจะไม่สามารถเจริญและพัฒนาการได้ โดยแมลงแต่ละ

ชนิดมีค่า ADD และ ADH แตกต่างกันและมีความจำเพาะในแต่ละระยะของแมลง (Marchenko, 1988) ซึ่งสำหรับแมลงวันหัวเขียวชนิดที่พบในประเทศไทยและมีการเจริญเติบโตภายใต้สิ่งแวดล้อมของประเทศเขตร้อน นั้นยังไม่มีรายงานการคำนวณค่า ADD หรือ ADH และค่า minimum threshold temperature มาก่อน ดังนั้นผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะสามารถคำนวณค่าดังกล่าวเหล่านี้ในแต่ละระยะการเจริญตั้งแต่ไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1, 2, 3 และดักแด้จนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิด (species) ได้ ซึ่งค่าเหล่านี้สามารถนำมาคำนวณหาค่า PMI เมื่อมีศพเกิดขึ้นได้

บทที่ 2

บทสอบสวนเอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง (Literature reviews)

2.1 ประวัติการเกิดของสาขานิติวิทยาศาสตร์ (History of Forensic Entomology)

การใช้แมลงวันเพื่อช่วยคลี่คลายคดีฆาตกรรมเริ่มต้นตั้งแต่สมัยปีก่อนคริสต์ศักราช 1235 โดยนักสืบท้องถิ่นชาวจีน Sung Tz'u และได้เขียนรายละเอียดเกี่ยวกับคดีไว้ในหนังสือเรื่อง "The Washing Away of Wrong" ซึ่งแปลโดย McKnight ในปี ค.ศ. 1981 คดีฆาตกรรมที่เกิดขึ้นกับชาวนาที่อาศัยอยู่ในชนบทแห่งหนึ่งในประเทศจีน เนื่องจากในฤดูเก็บเกี่ยวได้เกิดฆาตกรรมเกิดขึ้นในกลุ่มชาวนา จากนั้น Sung ได้ถูกเรียกตัวมายังสถานที่เกิดเหตุและรับหน้าที่เป็นผู้รับผิดชอบ ในคดีนี้ หลังจากที่ทำการสอบปากคำจากชาวนาทุกคนที่อยู่ในที่เกิดเหตุ ชาวนาทุกคนปฏิเสธว่าไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตายดังกล่าว Sung สังเกตเห็นทุกคนถือเคียวอยู่ในมือ เขาจึงขอให้ทุกคนวางเคียวลงกับพื้นบริเวณด้านหน้าของแต่ละคน หลังจากนั้นไม่นานได้มีแมลงวันมาตอมเคียวของชาวนาคนหนึ่ง ซึ่งยังคงมีกลิ่นคาวเลือดและชิ้นเนื้อเยื่อของผู้ตายติดอยู่ กลิ่นคาวเลือดดึงดูดให้แมลงวันมาตอมและสุดท้ายชาวนาเจ้าของเคียวได้ยอมรับสารภาพว่าเป็นคนลงมือฆ่าผู้ตายดังกล่าว นอกจากนี้ Sung ยังได้เขียนอธิบายถึงกิจกรรมของแมลงวันขณะที่ตอมศพ ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยหรือกินซากศพ และการดึงดูดแมลงชนิดอื่น ๆ ให้เข้ามาตอมซากศพด้วย (ไพฑูรย์และกันทิมา, 2552; Haskell and Williams, 2008) ต่อมาใน ค.ศ. 1855 Bergeret ชาวฝรั่งเศส เป็นคนแรกที่ใช้แมลงมาใช้ในการกระบวนการนิติวิทยาศาสตร์ ในคดีการพบศพเด็กทารกในบ้านที่ฉาบด้วยปูนซีเมนต์ เจ้าของบ้านถูกกักตัวในฐานะผู้ต้องสงสัย Bergeret ได้ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและระยะการเจริญของแมลงกับสภาพของศพที่พบ (stage of decay) ซึ่งระบุได้ว่าการฆาตกรรมเกิดขึ้นเมื่อหลายปีก่อน และฆาตกรน่าจะเป็นคนที่อาศัยในบ้านหลังดังกล่าวก่อนหน้านี้ และไม่ใช่เจ้าของบ้านคนปัจจุบัน ในปี ค.ศ. 1889-1898 Megnin ชาวฝรั่งเศสได้ตีพิมพ์บทความในวารสารหลายฉบับที่เกี่ยวข้องกับนิติวิทยาศาสตร์ และที่มีชื่อเสียงมากที่สุดคือ "La Faune des Cadavers; Applicationl' entomologie a la Medicine Legale" ซึ่งตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1894 บทความดังกล่าวมีประโยชน์อย่างมากและเป็นเอกสารอ้างอิงที่สำคัญสำหรับผู้ทำงานเกี่ยวข้องกับคดีฆาตกรรม หลังจากนั้นได้มีการเขียนตำราและเอกสารเผยแพร่อีกเป็นจำนวนมาก เช่น Carrion (dead tissues) - feeding blow flies (*Calliphoridae*) and fresh flies (*Sarcophagidae*) are those most useful in death investigation (Aldrich, 1916); Description and keys to 1st instars maggot of fresh flies (Knippling, 1936); A manual of forensic entomology (Smith, 1986); Forensic entomology (Byrd and Castner, 2000); Maggots, Murder, and Men (Erzincliglu, 2000) และ Entomology & Death: A Procedural Guide (Haskell and Williams, 2008) เป็นต้น จากนั้น 20 ปีต่อมา Knippling (1936) ได้ตีพิมพ์หนังสือเกี่ยวกับการจำแนกตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) ของแมลงวันหลังลาย (flesh flies) และในปี ค.ศ. 1939 ได้เผยแพร่การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียว (blow flies) ในเขตอเมริกาเหนือ และในปี 1948 Hall's ได้ตีพิมพ์หนังสือการจำแนกตัวเต็มวัย

(adults) และตัวหนอนที่เจริญเต็มที่ (mature larvae) ของแมลงวันหัวเขียวในวงศ์แคลลิฟอริดี (Family Calliphoridae) และต่อมาได้มีการเผยแพร่เกี่ยวกับชนิดและการกระจายของแมลงวันหัวเขียวในวงศ์แคลลิฟอริดี (Hall and Townsend, 1977; Hall, 1979; Goddard and Lago, 1983)

ปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวแมลงที่สำคัญต่อการสืบสวนคดี ได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวาง จะเห็นได้จากจำนวนบทความ วารสาร และหนังสือที่พิมพ์เผยแพร่ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละปี การเกิดขึ้นหน่วยงานที่ศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยาของแมลงที่สำคัญต่อนิติวิทยาศาสตร์ สมาคมหรือองค์กรต่าง ๆ ทั้งในอเมริกา และยุโรป ที่บทบาทสำคัญทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ เช่น American Board of Forensic Entomology (ABFE), The North America Forensic Entomology Association (NAFEA) และ The European Association for Forensic Entomology (EAFE) เป็นต้น และการเปิดให้มีเรียนการสอนในรายวิชานิติวิทยาศาสตร์ในสถาบันการศึกษาต่าง ๆ นอกจากนี้อุตสาหกรรมบันเทิงหรือสื่อโทรทัศน์ที่ผลิตละครในแนวสอบสวนสืบสวน เช่น New Detectives, Crime Scene Investigation หรือ CSI ซึ่งได้นำความรู้หรือคดีที่เกิดขึ้นและเกี่ยวข้องกับการนำแมลงไปช่วยคลี่คลายคดีไปสร้างเป็นละครเป็นตอน ๆ

2.2 ชีววิทยาและวงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว (Biology and Life Cycle of Blow Flies)

2.2.1 อนุกรมวิธานของแมลงวันหัวเขียว (Taxonomy of blow flies)

แมลงที่อยู่ในอันดับดิฟเทอร่า (Order Diptera) จัดเป็นแมลงที่มีปีกที่แท้จริง (true flies) ที่มีบทบาททางนิติวิทยาศาสตร์ได้แก่แมลงใน 2 วงศ์ (families) คือ Family Calliphoridae และ Family Sarcophagidae (พวกแมลงวันหลังลาย) แมลงวันหัวเขียว วงศ์แคลลิฟอริดี แบ่งออกเป็นสกุล (genus, genera) มากกว่า 17 สกุล แต่ที่สำคัญและถูกนำมาใช้ในงานต่อทางด้านนิติวิทยาศาสตร์ได้แก่

1) สกุลลูซิเลีย (Genus *Lucilia*) ได้แก่ *Lucilia illustris*, *L. sericata*, *L. cuprina* มีชื่อสามัญว่า green bottle flies ลำตัวมีสีเขียวสะท้อนแสงคล้ายแผ่นโลหะ ตาสีแดงออกน้ำตาล มีความยาวลำตัวเฉลี่ยประมาณ 9 มิลลิเมตร

2) สกุลแคลลิฟอรา (Genus *Calliphora*) ตัวอย่างสำคัญ คือ *Calliphora erythrocephala* หรือ *C. vicina* ชื่อสามัญคือ blue bottle fly ลำตัวมีสีฟ้าสะท้อนแสง บริเวณแก้มมีสีแดง มีความยาวลำตัวเฉลี่ยประมาณ 12 มิลลิเมตร

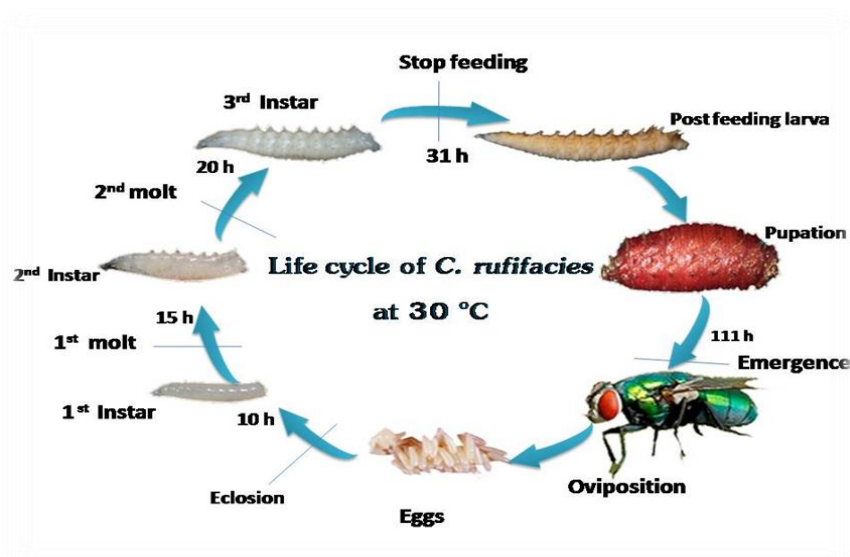
3) สกุลฟอร์เมีย (Genus *Phormia*) หรือ black blow fly ตัวอย่างสำคัญ คือ *Phormia regina* บริเวณอกและท้องมีสีน้ำตาลออกดำสะท้อนแสง มีความยาวลำตัวเฉลี่ยประมาณ 6-12 มิลลิเมตร

4) สกุลคริโซไมเยีย (Genus *Chrysomyia*) ได้แก่ *Chrysomyia bezziana* (screw worm fly) *Ch. megacephala* และ *Ch. rufifacies* (hairy maggot fly) เป็นต้น อนุกรมวิธานของแมลงวันหัวเขียวเป็นดังนี้

Kingdom	Metazoa
Phylum	Arthropoda
Class	Insecta
Order	Diptera
Family	Calliphoridae
Genus	<i>Chrysomya</i>
Species	<i>Chrysomya rufifacies</i> <i>Ch. megacephala</i> (Macquart, 1842)

2.2.2 วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว (Life Cycle of Blow Flies)

แมลงวันหัวเขียวมีวงชีวิต (life cycle) แหล่งที่อยู่อาศัย (habitat) และการแพร่กระจาย (geographic distribution) ที่สามารถระบุได้ จึงสามารถพบแมลงวันหัวเขียวในทุกพื้นที่ แมลงวันทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลาย (decomposer) ในธรรมชาติ ประกอบกับสัณฐานวิทยาภายนอก (external morphology) ที่เอื้อต่อการดำรงชีวิต เช่น มีปีกสำหรับบิน มีอวัยวะรับกลิ่นหรือสารเคมีที่มีประสิทธิภาพ แมลงวันหัวเขียวจึงสามารถเคลื่อนที่หรือเข้าหาแหล่งอาหาร (ซากศพ) ได้ง่ายและรวดเร็วขึ้น ตลอดช่วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียวจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (holometabolous) หรือ complete metamorphosis แบ่งออกเป็น 4 ระยะเวลาคือ ไข่ (egg) ตัวหนอน (larva) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) หลังจากการผสมพันธุ์ แมลงวันเพศเมียจะวางไข่บนซากศพบริเวณช่องเปิดของร่างกาย เช่น รูหู จมูก ตา ปาก หรือบริเวณบาดแผล ไข่แมลงวันมีลักษณะเหมือนกับเม็ดข้าวสารแต่มีขนาดเล็กกว่า ความยาวประมาณ 1-2 มิลลิเมตร หรือน้อยกว่า แมลงวันตัวเมียหนึ่งตัวสามารถวางไข่ได้ประมาณ 50-150 ฟองต่อครั้ง หลังจากนั้นไข่จะฟักออกมาและเข้าสู่ระยะตัวหนอน ซึ่งดำรงชีวิตโดยการกินซากสัตว์ที่ตายแล้วหรือเนื้อเน่า ตัวหนอนแมลงวันมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า maggot และแบ่งระยะการเจริญเติบโตเป็น 3 ระยะ คือ ตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) ตัวหนอนระยะที่ 2 (2nd instars) และตัวหนอนระยะที่ 3 (3rd instars) ตัวหนอนของแมลงวันมีขนาด 5-15 มิลลิเมตร ขึ้นอยู่กับชนิด (species) เมื่อตัวหนอนผ่านระยะที่ 3 ตัวหนอนจะหยุดกินอาหารและมีรูปร่างและขนาดเปลี่ยนแปลง คือสีเข้มขึ้นและขนาดเล็กลง เรียกระยะนี้ว่า post feeding larvae หลังจากนั้นจะเคลื่อนที่ออกจากซากศพเพื่อหาที่กำบังก่อนที่จะเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งมีเปลือกหุ้มด้านนอกเป็นสีน้ำตาลหรือดำและเรียกว่า puparium จากนั้นจะพัฒนาไปเป็นตัวเต็มวัยต่อไป โดยระยะเวลาที่ใช้สำหรับการเติบโตในแต่ละระยะ (stage of development) ของแมลงวันค่อนข้างแน่นอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เช่น แมลงวันหัวเขียวที่เลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ 21 องศาเซลเซียส ใช้เวลาตั้งแต่วางไข่จนกระทั่งเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 เท่ากับ 23 ชั่วโมง จากตัวหนอนระยะที่ 1 เป็นระยะที่ 2 เท่ากับ 27 ชั่วโมง จากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 เท่ากับ 22 ชั่วโมง จากตัวหนอนระยะที่ 3 เป็นตัวหนอนก่อนที่จะเป็นดักแด้ (prepupa) 130 ชั่วโมง และจากระยะดักแด้จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย 143 ชั่วโมง รวมระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียวตั้งแต่วางไข่จนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด 345 ชั่วโมง หรือประมาณ 14 วัน (Merritt and Benbow, 2008)



รูปที่ 2-1 วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 °C ดัดแปลงจาก Goff, 2000)



รูปที่ 2-2 แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* มีขนาดประมาณ 10-12 เซนติเมตร (a) แสดงส่วนแก้มสีน้ำตาลส้ม มีขนสีเงินวาว (b) anterior thoracic spiracle สีขาวซีด (c) ด้านหลัง มุมบน (d) ด้านข้าง (Yanmanee, 2016)

2.3 การประเมินทางกีฏวิทยาเพื่อประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Assumptions of Entomology – Based PMI Estimates)

เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงชนิดแรกที่เข้ามาตอมศพและวางไข่ภายในเวลาไม่กี่นาที่หลังจากที่พบศพ ดังนั้นระยะเวลาตั้งแต่แมลงวันวางไข่จนถึงเวลาที่พบศพจะสามารถนำมาคำนวณหาระยะเวลาหลังการตาย ทั้งนี้จะต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่มาเกี่ยวข้องหลายอย่าง เวลาวางไข่ การเจริญเติบโตของตัวหนอน และลำดับการเข้าตอมของแมลง มีความแตกต่างกันไปตามปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่พบศพซึ่งเป็นที่อาศัยของแมลง ที่ต้องนำกลับมาเพื่อตรวจพิสูจน์ ดังนั้นในการประมาณเวลาการตายเพื่อให้ได้เวลาที่ใกล้เคียงที่สุดหรือน่าเชื่อถือที่สุด จึงมีข้อตกลงหรือข้อเท็จจริงเกี่ยวกับแมลงและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ดังนี้

1). แมลงวันหัวเขียวจะไม่วางไข่ในตอนกลางคืน ซึ่งคดีฆาตกรรมส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นในตอนกลางคืน และอาจทำให้การประมาณเวลาการตายผิดพลาดเนื่องจากแมลงวันจะวางไข่ในตอนเช้าของวันถัดไป ดังนั้นแสงสว่างในที่พบศพเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการวางไข่ของแมลงกลุ่มนี้

2). แมลงวันหัวเขียวจะวางไข่ทันทีหรือหลังจากที่เข้าตอมศพเพียงไม่กี่นาที่ ดังนั้นการประมาณเวลาการตายจึงเริ่มคำนวณตั้งแต่เวลาที่แมลงเข้าตอมศพ อย่างไรก็ตามก็จะมีปัจจัยที่ทำให้การวางไข่ของแมลงช้ากว่าปกติ ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับบริเวณที่เกิดเหตุ หรือจากศพเอง

3). การเข้าตอมศพของแมลงแต่ละชนิดมีลำดับที่แน่นอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ เช่น ฤดูกาล สถานที่พบศพ (ในอาคารหรือกลางแจ้ง) ลักษณะภูมิประเทศ (ภูเขา ป่าไม้ หรือหนองน้ำ) และสภาพอากาศ (ปริมาณน้ำฝนมาก หรือแห้งแล้ง) เป็นต้น

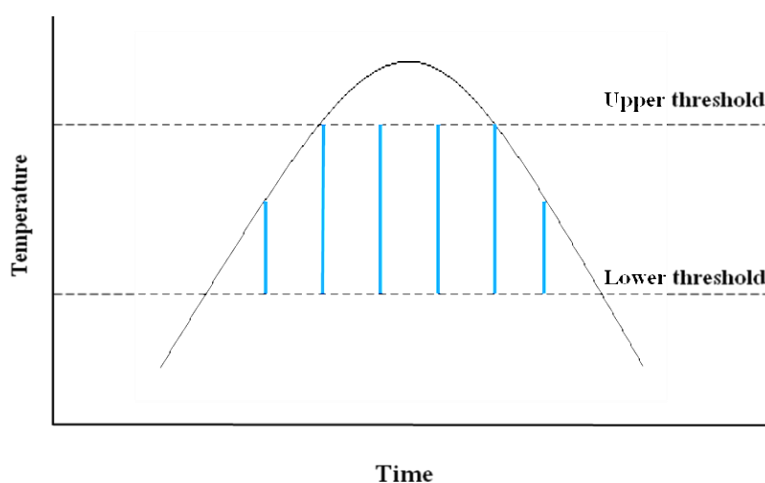
4). อุณหภูมิอากาศ (ambient temperature) เป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญในแต่ระยะของแมลง แต่จะมีผลในช่วงแรกของการเจริญซึ่งตัวหนอนมีขนาดเล็กและมีผลกระทบไม่มาก เมื่อตัวหนอนมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีปริมาณมากขึ้นเป็น maggot masses ความร้อนที่เพิ่มขึ้นเกิดจากเมแทบอลิซึม (metabolism) และการเคลื่อนที่ของตัวหนอน ทำให้อุณหภูมิภายในกลุ่มตัวหนอนสูงขึ้นและสูงกว่าอุณหภูมิอากาศ ซึ่งจะเห็นผลชัดเจนในกรณีที่อุณหภูมิอากาศต่ำมาก เช่นกรณีที่ศพถูกเก็บไว้ในตู้เย็นหรือในประเทศเขตหนาว

5). สภาพภูมิอากาศ (climate) เป็นข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ (weather station) ที่ตั้งอยู่ใกล้กับสถานที่เกิดเหตุ (crime scene) ซึ่งจะใช้เป็นตัวบอกอุณหภูมิอากาศของสถานที่เกิดเหตุ ข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลที่ไม่ค่อยถูกนำมาพิจารณาสำหรับนักนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากข้อมูลอากาศที่ได้จากสถานีวัดอากาศกับข้อมูลที่ได้จากการวัด ณ ที่เกิดเหตุ อาจจะคลาดเคลื่อนกันซึ่งเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะพื้นที่ที่พบศพซึ่งอาจจะเป็นทุ่งหญ้า ชายป่า หรือในหนองน้ำ ความเร็วและทิศทางลม เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องทำการวัดอุณหภูมิ ณ ที่เกิดเหตุ หลังจากที่มีการพบศพต่ออีกประมาณ 2-3 วัน หรือ 1 สัปดาห์ แล้วนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ ในกรณีที่พบศพในอาคาร (indoor) ให้ตรวจอุณหภูมิจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ติดตั้งไว้ในตัวอาคาร

6). ปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของแมลง เช่น ความชื้น ปริมาณน้ำฝน สารเคมีบางชนิด การใช้ยาบำบัดโรค ฮอร์โมน สารเสพติด เป็นต้น (Haskell and Williams, 2008; Merritt and Benbow, 2008)

2.4 บทบาทของแมลงวันหัวเขียวกับงานนิติวิทยาศาสตร์ (The Important Role of Blow Flies in Crime Scene Investigations)

แมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงที่มีบทบาทสำคัญต่องานนิติวิทยาศาสตร์ เนื่องจากเป็นแมลงชนิดแรกที่เข้ามาตอมศพ (the first colonization insects) และมีระยะเวลาเจริญที่สามารถจำแนกได้ง่าย มีเวลาที่ใช้ในการเจริญแต่ละระยะที่แน่นอน ณ ค่าอุณหภูมิหนึ่ง ๆ และมีความจำเพาะในแต่ละชนิด (Bourel et al., 2003; Catts and Goff, 1992; Haskell and Williams, 2008; Joy et al., 2006) นอกจากนี้ยังสามารถเข้าไปวางไข่บนศพได้ทุกที่ เช่น ภายใต้อาบน้ำหรือพลาสติกที่พันศพอย่างมิดชิด ในห้องที่ปิดอย่างแน่นหนา หรือศพที่ถูกฝังอยู่ใต้ดิน เป็นต้น ดังนั้นข้อมูลของตัวอย่างที่เก็บได้จากที่เกิดเหตุ เช่น ไข่ ตัวหนอนระยะต่าง ๆ ขนาด ค่าอุณหภูมิ เป็นต้น ซึ่งสามารถนำค่าต่าง ๆ เหล่านี้ไปคำนวณหาค่า PMI ได้ เนื่องจากสามารถนำข้อมูลมาหาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับอัตราการเจริญระยะต่าง ๆ ได้ ทั้งที่เป็นความสัมพันธ์เส้นตรง (linear equation) หรือเส้นโค้ง โดยสามารถเลี้ยงระยะต่าง ๆ ของแมลงวันเหล่านี้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เพื่อหาความสัมพันธ์ดังกล่าว (non-linear equation) (Anderson, 2000, 2004; Hall, 2008; Higley and Haskell, 2001; Keh, 1985; Lord et al., 1986; Rodriguez and Bass, 1983)



รูปที่ 2-3 การแสดง การเจริญเติบโตของแมลงขึ้นอยู่กั upper and lower temperature thresholds (Gennard, 2006)

2.4.1 บทบาทความสำคัญของระยะไข่ (The Importance role of eggs)

ไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะมีระยะเวลาฟักตัวสั้นและขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอากาศ ณ ขณะนั้นด้วย ไข่อาจถูกเก็บมาจากศพโดยตรงหรือเก็บจากเสื้อผ้าของผู้ตาย โดยทั่วไปมักจะไม่นพบไข่ของแมลงวันบนศพ เนื่องจากศพมักจะถูกพบ 2-3 วัน หรือมากกว่าหลังจากการตาย ดังนั้นการจำแนกชนิดของไข่ของแมลงวันที่พบบนศพที่ถูกต้องแม่นยำ ร่วมกับการเก็บรายละเอียดเรื่องของอุณหภูมิจะนำไปสู่การประมาณค่า PMI (post mortem interval) ได้รวมทั้งอาจบอกได้ว่าศพนั้นถูกเคลื่อนย้ายจากบริเวณอื่นหรือไม่ ซึ่งข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้อาจไปสอดคล้องกับข้อมูลของผู้ต้องสงสัย ข้อมูลการใช้ยาเสพติด เป็นต้น (Anderson, G.S., 2004) ระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียวที่อยู่ใน Family

Calliphoridae ที่มีบทบาทสำคัญต่อนิติเวชได้แก่ Genus *Chrysomya* และ *Lucilia* (Mendonca *et al.*, 2008) ไข่ของแมลงวันหัวเขียวมีรูปร่างกระบอก ปลายทั้งสองข้าง มน คล้ายเม็ดข้าวสาร ขนาดประมาณ 1.5-2.5 มิลลิเมตร (Haskell and Williams, 2008) สีเหลืองอ่อน มักพบอยู่บริเวณที่มีรอยบาดแผล และตามรูเปิดต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ช่องปาก หู จมูก ตา ทวารหนัก เป็นต้น เนื่องจากบริเวณเหล่านี้ มีความชื้นและมักส่งกลิ่นออกมาดึงดูดแมลงวันหัวเขียวเข้าไปวางไข่ แมลงวันสามารถวางไข่ได้ครั้งละประมาณ 100-150 ฟอง (Haskell and Williams, 2008) แต่ในกรณีที่อุณหภูมิอากาศต่ำ เช่น ในฤดูหนาวหรือในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็นจำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้งจะลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจำนวนไข่จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากไข่จะสามารถเจริญและมีอัตราการรอดสูงมากขึ้นและปลอดภัยจากศัตรูต่าง ๆ ด้วย โดยเฉลี่ยไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะฟักออกมาเป็นตัวหนอนใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันหัวเขียวและอุณหภูมิขณะฟักตัว ตัวอย่างใน *P. regina* เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26.7 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาการเจริญเฉลี่ย 16 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ขณะที่ไข่ของ *L. sericata* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 24, 30 และ 35 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 50% พบว่าระยะเวลาที่ใช้ตั้งแต่วางไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ใช้เวลา 17.40, 12.10 และ 8.50 ชั่วโมง ตามลำดับ (Bourel *et al.*, 2003) ส่วนที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 และ 34 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% มีระยะเวลาการเจริญเป็น 31 28 24 2 19 17 14 11 10 และ 8.5 ชั่วโมง ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) ดังนั้นการเลี้ยงไข่ในห้องปฏิบัติการและบันทึกอุณหภูมิทุก ๆ ช่วง จะทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับระยะเวลาที่ใช้ในการฟักออกมาเป็นตัวหนอนได้และใช้ข้อมูลที่ได้มาประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพได้ ในกรณีที่เรากำหนดไข่จากศพจะต้องทราบทราบอุณหภูมิอากาศขณะที่พบและย้อนหลังประมาณ 1-2 วัน นอกจากนี้ยังสามารถผ่าตัดไข่เพื่อดูระยะการเจริญของตัวอ่อน (embryo) ซึ่งนำไปสู่การบอกระยะเวลาการวางไข่ได้และสามารถบอกได้ว่าศพนั้นตายมานานเท่าไรแล้ว อย่างไรก็ตามสิ่งที่สำคัญที่สุดคือต้องสามารถจำแนกชนิดของไข่ดังกล่าวได้ว่าเป็นของแมลงวันชนิดไหนก่อนเนื่องจากค่าเวลาการเจริญต่าง ๆ ของแต่ละชนิดมีความเฉพาะตัวและแตกต่างกัน ซึ่งลักษณะภายนอกและภายในของไข่แมลงวันหัวเขียวหรือแมลงวันชนิดอื่น ที่พบในศพสามารถจำแนกได้ทั้งภายใต้กล้อง stereomicroscope และ scanning electron microscope (Kitching, 1976) ตัวอย่างไข่ของ *Ch. megacephala*, *Ch. putoria*, *L. cuprina* และ *L. eximia* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีขนาดเป็น 786 1053 1027 (1090) และ 1106 ไมโครเมตร ตามลำดับ (Mendonca *et al.*, 2008; Sukontason *et al.*, 2007)



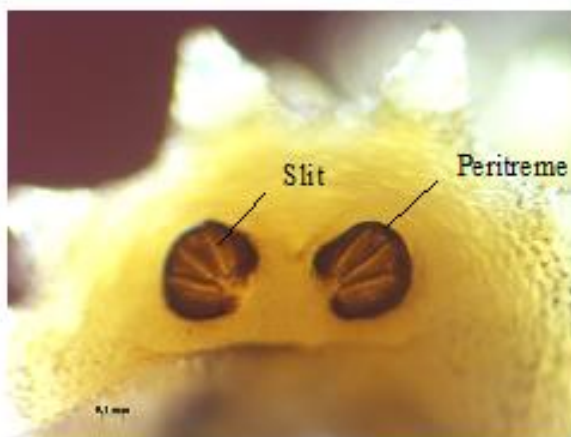
รูปที่ 2-4 แสดงไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffifacies* (a) 0 ชั่วโมง (b) 3 ชั่วโมง (c) 9 ชั่วโมง และ (d)ระยะ first instars (40X) (Yanmanee, 2016)

2.4.2 บทบาทความสำคัญของระยะตัวหนอน (The importance role of maggots)

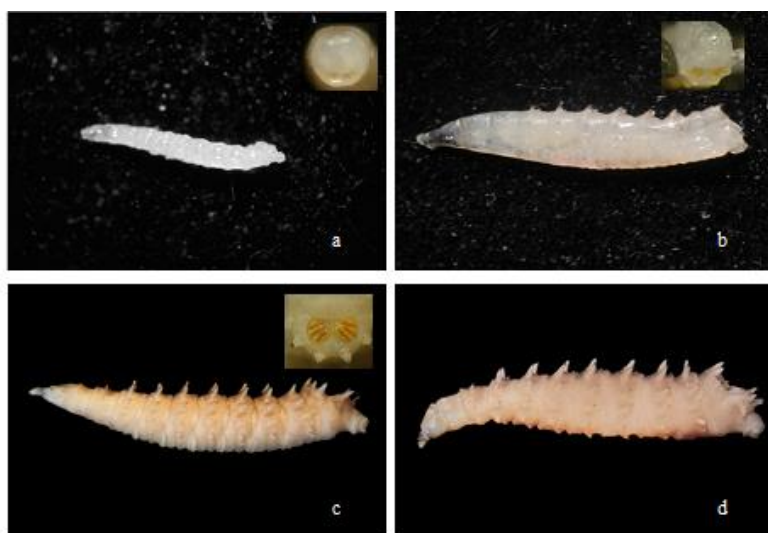
หลังจากที่ไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอน หรือ maggot จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตและลอกคราบ 3 ครั้ง ทำให้แบ่งระยะการเจริญได้เป็น 3 ระยะ คือ ตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) ตัวหนอนระยะที่ 2 (second instars) และตัวหนอนระยะที่ 3 (third instars) ตัวหนอนแต่ละระยะมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาจากรยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร และผู้ล่า เป็นต้น เรามักจะพบหนอนแมลงวันจำนวนมากหลายร้อยหรือหลายพันตัวบนซากศพ เรียกกลุ่มหนอนแมลงวันนี้ว่า maggot mass การเคลื่อนไหวและเมแทบอลิซึมของ maggot mass ทำให้อุณหภูมิของ maggot mass สูงขึ้นและสูงกว่าอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมค่อนข้างมาก บางครั้งอาจสูงขึ้นไป 2 เท่าของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีผลทำให้อัตราการเติบโตและการพัฒนาการของตัวหนอนได้สูงขึ้น (Gomes, et al., 2005; Haskell and Williams, 2008)

จากข้อมูลข้างต้นหนอนแมลงวันในแต่ละระยะจะมีขนาด และใช้ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจากรยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน (Joy et al., 2002) เช่น ตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *P. regina* มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 2 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 5-8 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 3 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 9-18 มิลลิเมตร โดยใช้เวลาในการเจริญแต่ละระยะเท่ากับ 18, 11 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ ณ อุณหภูมิคงที่ 26.7 องศาเซลเซียส (Haskell and Williams, 2008) ซึ่งแตกต่างไปจากรยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด

L. sericata พบว่าระยะเวลาการเจริญไปจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 56 39 27 24 23 19 16 11 10 และ 9.5 ชั่วโมง ตามลำดับ จากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 70 54 42 35 29 26 19 16 15 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการเจริญไปจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 3 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 115 79 60 53 47 46 36 30 27 และ 27 ชั่วโมง ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) จากการศึกษาใน *Protophormia terraenovae* ที่รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ระยะเวลาการเจริญเติบโตลดลง เช่น ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 37.78 ± 2.96 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 9.19 ± 0.3 วัน และมีค่า minimum threshold temperature เท่ากับ 8.95 องศาเซลเซียส มีค่า ADD เท่ากับ 240.2 ± 9.3 (Grassberger and Reiter, 2002) เนื่องจากในบางกรณีนักกีฏวิทยาไม่สามารถออกไปเก็บข้อมูลอุณหภูมิ และหลักฐานที่เกี่ยวข้อง ณ ที่เกิดเหตุได้ การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพที่ถูกเก็บไว้ในโรงพยาบาลหรือสถานที่เก็บศพและทำการวัดขนาดตัวหนอนสามารถช่วยประมาณเวลาการตายได้เช่นกัน เช่นในกรณีศึกษาของ Rajagopal และคณะ (2008) พบว่าขนาดความยาวของหนอนแมลงวันสัมพันธ์กับ PMI คือหนอนแมลงวันขนาด 4-6 มม. ใช้เวลา 2 วัน ขนาด 10-12 มม. ใช้เวลา 3 วัน และขนาด 11-13 มม. ใช้เวลา 4-5 วัน จากการศึกษาขนาดของ *L. sericata* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าตัวหนอนมีขนาดอยู่ระหว่าง 3.8 – 8 มิลลิเมตรและจากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวของตัวหนอนกับเวลาที่ใช้ในการเจริญพบว่าที่อุณหภูมิสูงจะใช้เวลาในการเพิ่มขนาดน้อยกว่า (Adams and Hall, 2003; Ames and Tumer, 2003; Grassberger and Reiter, 2001) อย่างไรก็ตามตัวหนอนที่อยู่ในสภาวะที่มีอาหารจำกัด มักมีการแก่งแย่งอาหารกันขึ้นเนื่องจากตัวหนอนแต่ละตัวจะพยายามแย่งกินอาหารให้ได้มากที่สุดก่อนที่อาหารจะหมดไป ดังนั้นในสถานที่เกิดเหตุจะเก็บตัวหนอนที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มาเทียบค่ากับ ความสัมพันธ์ของกราฟที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างขนาดของตัวหนอนกับช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญในแต่ละระยะ (Hayes *et al.*, 1998; Levot *et al.*, 1979; Lomnicki, 1988) การเปลี่ยนระยะเพื่อเจริญไปเป็นระยะที่พัฒนาสูงขึ้นจะมีการลอกคราบในการเปลี่ยนแต่ละระยะ สามารถจำแนกระยะต่าง ๆ ของตัวหนอนพวกนี้ได้ง่ายเนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันค่อนข้างชัดเจน ดังนั้นการทราบระยะเวลาตั้งแต่การฟักออกเป็นตัวเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 เจริญไปเป็นระยะที่ 2 และ 3 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ สามารถที่จะนำข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและอุณหภูมิ มาใช้ในการประมาณช่วงเวลาหลังการตายได้เช่นเดียวการใช้ระยะไข่ ตัวอย่างกรณีศึกษาที่ใช้ระยะตัวหนอนไปใช้ประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตได้แก่การศึกษาของ Costa และ Patiu ปี 2004 ที่ประเทศบราซิล ในศพของสตรีที่อยู่ที่พักอาศัย โดยศพถูกห่อด้วยผ้าปูที่นอนหลายชั้น อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ได้จากสถานีอากาศที่ใกล้ที่เกิดเหตุสูงสุดเท่ากับ 27 องศาเซลเซียส และต่ำสุดคือ 15 องศาเซลเซียส ศพอยู่ในสภาวะบวม ตัวหนอนจากศพถูกนำไปเลี้ยงต่อที่ห้องปฏิบัติการจนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งจำแนกได้เป็นแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* โดยใช้เวลา 240 ชั่วโมง พบว่าค่า ADD มีค่าเท่ากับ 12.75 วัน แต่ถ้าใช้ชนิด *C. albiceps* และ *C. chloropya* พบว่าค่าประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) จะช้ากว่าชนิดแรก 1 วัน (Costa and Patiu, 2004)



รูปที่ 2-5 แสดง posterior spiracle ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffifacies* (Yanmanee, 2016)



รูปที่ 2-6 แสดงระยะตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffifacies* (a) 1st instar larva (b) 2nd instar larva (c) 3rd instar larva และ (d) post-feeding larva

2.4.3 บทบาทความสำคัญของระยะดักแด้ (The importance role of pupae)

สัญญาณที่บ่งถึงการเข้าสู่ระยะดักแด้ของหนอนแมลงวัน คือ ตัวหนอนระยะที่ 3 จะเข้าสู่ระยะหยุดการกินอาหาร (post feeding larvae) ทำให้ขนาดของตัวหนอนระยะนี้เล็กลงเล็กน้อย จากนั้นจะเคลื่อนที่ออกจากศพ (dispersal stage, wandering larvae) เพื่อหาบริเวณที่เหมาะสมในการขุดลงไปฝังตัวในการเปลี่ยนเข้าสู่ระยะดักแด้ สำหรับระยะทางที่ตัวหนอนเคลื่อนที่อาจเป็นระยะทางตั้งแต่ 5 เซนติเมตร จนถึง 5 เมตร หรือมากกว่า (Greenberge, 1990) บางส่วนอาจขุดลงไปฝังตัวในดิน หรือหลบอยู่ในใต้ใบไม้ ขอนไม้ หรือซี้เลื้อย เป็นต้น จากการทดลองในห้องปฏิบัติการที่กำหนดพื้นที่สำหรับการเคลื่อนที่ (arena) เป็นรูปวงกลมรัศมี 25 เซนติเมตร และปิดด้วยซี้เลื้อยลึกลับ 40 เซนติเมตร พบว่าความลึกโดยเฉลี่ยที่ตัวหนอนขุดลงไปเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้อยู่ในช่วง 7-18

เซนติเมตร และสำหรับในแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. cuprina* เท่ากับ 12 เซนติเมตร ส่วนในชนิด *Ch. megacephala* เท่ากับ 11 เซนติเมตร และในชนิด *Ch. albiceps* เท่ากับ 9.8 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าระยะทางที่หนอนแมลงวันขุดลงไปลึกที่สุดที่พบใน *Ch. megacephala* เท่ากับ 32 เซนติเมตร และ *Ch. albiceps* เท่ากับ 23 เซนติเมตร (Gomes et al., 2005) เมื่อตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ขนาดจะเล็กลงและสร้างสารพวกไคติน (chitin) ออกมาเพื่อห่อหุ้มตัว ทำให้เห็นเป็นสีน้ำตาลแดงหรือดำ เรียก puparium (พหุพจน์ puparia) ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาจากวางไข่จนถึงระยะดักแด้จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันและอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม จากรายงานการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *Calliphora vicina* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 18, 22 และ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 10, 8 และ 6.5 วัน ตามลำดับ (Reiter, 1984) ขณะที่ Anderson (2000) ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 15.8, 20.6 และ 23.3 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 15.25, 9.30 และ 8.4 วัน ตามลำดับ (Anderson, 2000) ในปีต่อมา Marchenko (2001) ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 12, 16, 19, 25 และ 27 องศาเซลเซียส โดยใช้ค่า lower development threshold (หรือค่า minimum threshold temperature) ที่ 2.0 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้เวลาเท่ากับ 19.1, 13.6, 11.2, 9.6, 8.3 และ 7.6 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001)

การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ในแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. sericata* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 15.8, 20.7 และ 23.3 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 382.3 ชั่วโมง (15.9 วัน), 245.7 ชั่วโมง (10.2 วัน) และ 264 ชั่วโมง (11 วัน) ตามลำดับ (Anderson, 2000) ในขณะที่ Grassberger and Reiter ทดลองเลี้ยงแมลงวันหัวเขียวชนิดเดียวกันนี้ที่อุณหภูมิ 17, 19, 20, 21, 22, 25, 28, 30 และ 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลาทั้งสิ้นเท่ากับ 16.7, 11.3, 10.1, 9.2, 8.4, 7.2, 6.5, 6.2 และ 5.8 วัน ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ในแมลงวันหัวเขียวชนิด *P. regina* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 14.7, 8.0, 6.5, 6.1 และ 4.6 วัน ตามลำดับ (Byrd and Allen, 2001) ที่อุณหภูมิ 16.1 และ 23 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 20.15 และ 10.15 วันตามลำดับ (Anderson, 2000) และขณะที่ Marchenko ทำการทดลองแมลงวันหัวเขียวชนิดเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 15, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 27, 29 และ 30 องศาเซลเซียส และใช้ค่า baseline (หรือค่า lower development threshold) ที่ 11.4 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้ระยะเวลาเท่ากับ 28, 22, 13.3, 11.7, 9.5, 8.7, 7.4, 6.5, 5.7 และ 5.4 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001) การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ใน *Protophormia terraenovae* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 12.5, 23, 29 และ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 60.6, 7.9, 6.2 และ 5 วัน ตามลำดับ (Greenberg and Tantawi, 1993) ที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30 และ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ค่า baseline เท่ากับ 8.95 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD ใช้เวลาเท่ากับ 22.3, 13.1, 9.6, 6.1 และ 5.2 วัน ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2002) Marchenko ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 13, 15, 20, 23, 25, 27, 28, 29 และ 30 องศาเซลเซียส และใช้ค่า baseline ที่ 7.8 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้ระยะเวลาเท่ากับ 30.8, 22.2, 13.1, 10.5, 9.3, 8.3, 7.9, 7.5 และ

7.2 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001) และที่อุณหภูมิ 13, 15, 20, 25, 28, 30 และ 32 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการพัฒนาเท่ากับ 29, 22, 11, 8.5, 7.3, 6.5 และ 7.3 วัน ตามลำดับ (Warren and Anderson, 2005)



รูปที่ 2-7 แสดงระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffifacies* (Yanmanee, 2016)



รูปที่ 2-8 แสดงระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffifacies* อายุ 24 ชั่วโมง

2.5 ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (Minimum development threshold)

ผลการศึกษาระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิดตั้งแต่ระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวที่อุณหภูมิต่าง ๆ จะถูกนำมาใช้ในการคำนวณหาค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ (lower thresholds) โดยคำนวณได้จากสมการ linear regression ของอัตราการเจริญเติบโต (developmental rate) แสดงบนแกน y ที่มีค่าเท่ากับส่วนกลับของเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตแต่ละระยะ (developmental time) นั่นคือ $y = 1/\text{developmental time}$ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งแสดงบนแกน x (Grassberger and Reiter, 2002) โดยทั่วไปค่า lower threshold หรือที่เรียกว่า ค่า base line จะแตกต่างกันในแมลงแต่ละชนิด โดยมากที่ศึกษาในประเทศเขตร้อนมีค่าที่นิยมใช้กัน 2 ค่าคือ 10 และ 6 องศาเซลเซียส ใช้สัญลักษณ์เป็น B_{10} และ B_6 ตามลำดับ

นอกจากนี้ค่าคงที่ของอุณหภูมิ (thermal constant, K) สามารถคำนวณได้จาก $K = y(t - t_L)$ โดยค่า y คือ ค่าเวลาที่ใช้ในการเติบโตแต่ละระยะ มีหน่วยเป็นวัน (days) ค่า t คือ ค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนค่า t_L คือ ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (องศาเซลเซียส) โดยมากค่า K มักคำนวณจากค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่ 5 องศาเซลเซียส และค่า K ที่ได้คือค่าที่เรียกว่า number of degree days (DD) (Grassberger and Reiter, 2002)

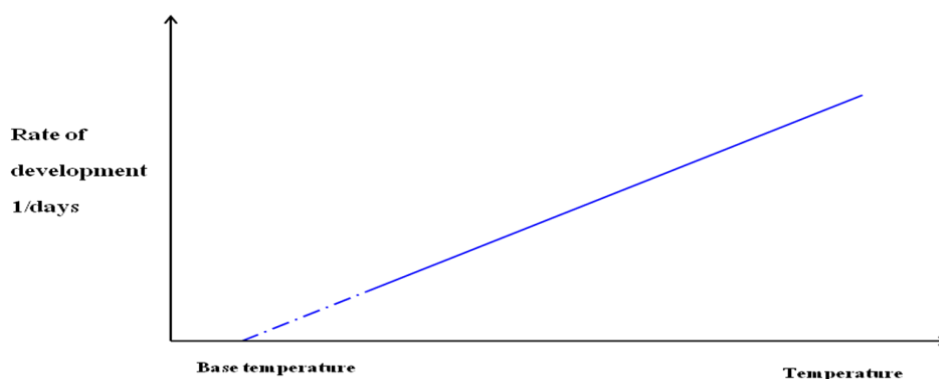
2.6 ค่าจำนวนวันสะสมและจำนวนชั่วโมงสะสม (Accumulated degree day, ADD and Accumulated degree hour, ADH)

การประมาณเวลาหลังการตาย (PMI) นอกจากนักนิติวิทยาศาสตร์จะต้องทราบชนิดของหนอนแมลงวันอย่างแม่นยำแล้ว การบันทึกอุณหภูมิบริเวณที่เกิดเหตุและจากสถานีวัดอากาศที่ใกล้ที่สุดถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการคำนวณหา PMI เนื่องจากแมลงเป็นสัตว์เลือดเย็น (exothermic) คือ ร่างกายสามารถปรับอุณหภูมิได้ในช่วงค่อนข้างกว้าง ดังนั้นอุณหภูมิร่างกายและการเติบโตของแมลงจึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม การเจริญเติบโตของแมลงวันเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ ประกอบด้วย 4 ระยะซึ่งแต่ละระยะของการเติบโต แมลงต้องการความร้อน (heat) เพื่อใช้ในการพัฒนาจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง เช่น จากระยะไข่ (egg) ไปเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instar larvae) และค่าความร้อนที่ใช้สำหรับการเติบโตจากไข่ไปเป็นตัวเต็มวัย คือ ค่าความร้อนสะสม (heat accumulation) โดยทั่วไปจะเขียนเป็นค่าจำนวนชั่วโมงสะสม (accumulated degree hour; ADH) และค่าจำนวนวันสะสม (accumulated degree day; ADD) ค่าจำนวนชั่วโมงและจำนวนวันสะสม เป็นการวัดหน่วยความร้อน (heat units) ตลอดช่วงระยะเวลาที่แมลงวันใช้ในการเติบโตจากไข่ไปเป็นตัวเต็มวัย คำนวณได้จากค่าอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละวัน โดยทั่วไปการเติบโตของแมลงวันจะถูกจำกัดโดยขีดจำกัดสูงสุด (upper limit) และต่ำสุด (lower limit) ของการเติบโต ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ การเติบโตของแมลงเกิดขึ้นได้ในช่วงค่าอุณหภูมิหนึ่ง คือ แมลงวันจะเริ่มเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำที่สุด (minimum temperature) ค่าหนึ่ง เรียกว่า lower development threshold หรือ baseline ซึ่งถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าค่า baseline แมลงวันจะหยุดการเติบโตหรือไม่มีการเจริญเติบโต ในทางกลับกันเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจนถึงอุณหภูมิสูงสุด (maximum threshold temperature) ค่าหนึ่ง แมลงวันจะหยุดการเติบโต เรียกค่านี้ว่า upper development threshold หรือ cut off ดังนั้นการหาค่า ADD คำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้

$$DH = [(อุณหภูมิสูงสุด + อุณหภูมิต่ำสุด)/2] - ค่า baseline$$

$$ADH = [(อุณหภูมิสูงสุด + อุณหภูมิต่ำสุด)/2] - ค่า baseline \times \text{จำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ}$$

$$ADD = \frac{[(อุณหภูมิสูงสุด + อุณหภูมิต่ำสุด)/2] - ค่า baseline}{24} \times \text{จำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ} \quad (Costa and Patiu, 2004; Haskell and Williams, 2008; Joy et al., 2006)$$



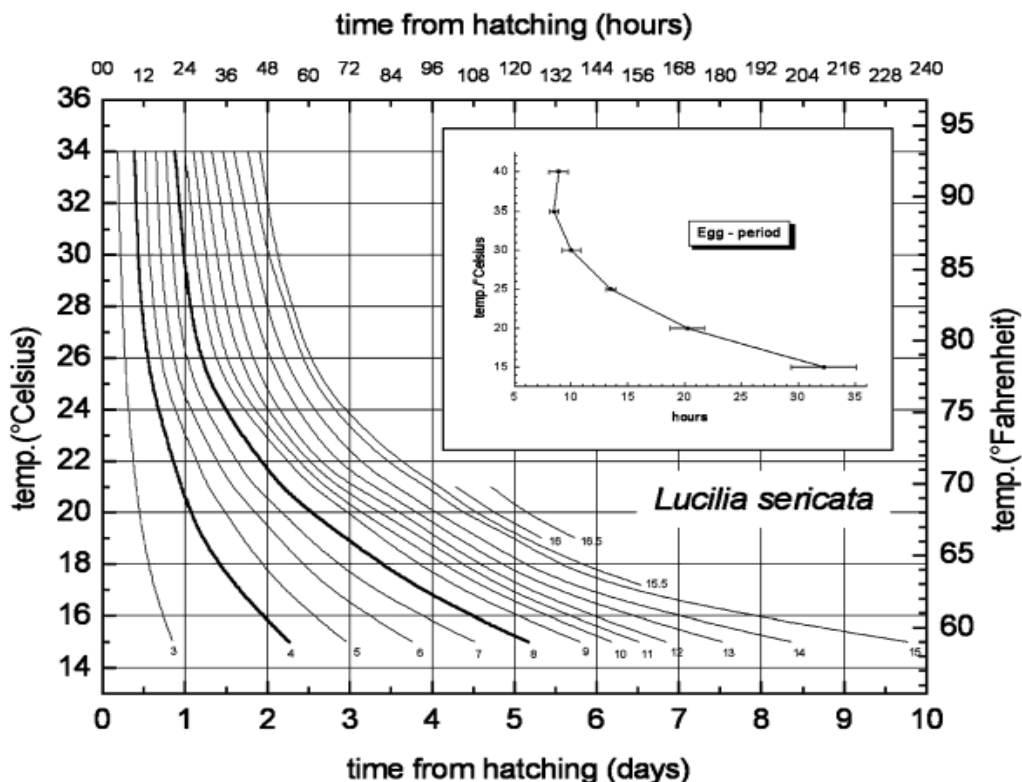
รูปที่ 2-9 อัตราการเจริญของแมลง (developmental rate) ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยมีค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญได้ (Base temperature) (Gennard, 2006)

2.7 การประเมินระยะเวลาหลังการตาย (Estimating the Post Mortem Interval, PMI)

การประเมินระยะเวลาหลังการตาย โดยมากประเมินจากการใช้ thermal summation models (degree-days method) ซึ่งจะใช้ หลัก ๆ อยู่ 2 วิธี ได้แก่ isomorphen และ isomegalen diagrams (Grassberger & Reiter, 2001; Higley & Haskell, 2001; Greenberg & Kunich, 2002) ซึ่ง การใช้ isomorphen และ isomegalen diagram เป็นการประเมินระยะเวลาหลังการตาย โดยประเมินจากอายุของตัวหนอนที่พบที่ศพ ส่วนมากจะใช้ตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียวในสกุล Calliphoridae (Schoenly et al., 1991; Anderson & VanLaerhoven, 1996; El-Kady, 1999) เนื่องจากเป็นแมลงกลุ่มแรกที่พบหลังจากมีการตายเกิดขึ้น (Grassberger and Reiter, 2001) ดังนั้นการประเมินระยะเวลาหลังการตาย จะอาศัยการจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียว ที่พบในศพในสถานที่เกิดเหตุ และอุณหภูมิของสถานที่เกิดเหตุ (Sukontason et al., 2008; Byrd & Castner, 2001)

2.7.1 ไอโซเมกเกเลน ไดอะแกรม (Isomegalen diagram)

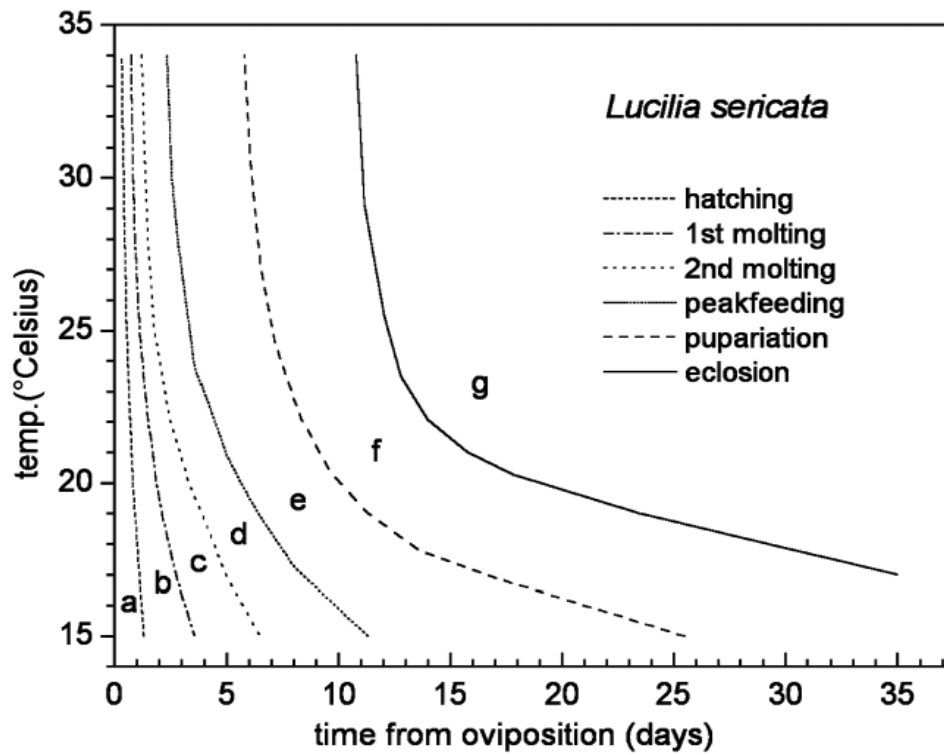
เป็นการคำนวณระยะเวลาหลังการตายวิธีนี้ได้จากการใช้ขนาดความยาวของตัวหนอน ณ อุณหภูมิต่าง ๆ ที่ได้ศึกษา ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยใช้ข้อมูลความยาวของตัวหนอนตั้งแต่เริ่มฟักออกจากไข่ จนถึงระยะเข้าดักแด้ มาสร้างกราฟ กับอุณหภูมิของการเจริญค่าต่าง ๆ โดยการสร้าง isomegalen diagram ของแมลงวันหัวเขียว ช่วงแรก ๆ จาก ของแมลงวันหัวเขียว ในสกุล *Chrysomya* โดย Grassberger and Reiter โดยสร้าง Isomegalen diagram ของ *L. sericata* ภายใต้อุณหภูมิต่าง ๆ ทั้งหมด 10 อุณหภูมิ (Grassberger & Rieter, 2001) ต่อมา Reiter ได้สร้าง Isomegalen diagram สำหรับ แมลงวันหัวเขียวชนิด *Calliphora vicina* ในปี 1984 อย่างไรก็ตามข้อมูลต่าง ๆ ถ้าจะให้ถูกต้องแม่นยำ ในการใช้ คำนวณหาระยะเวลาของการตาย จำเป็นจะต้องใช้ข้อมูลการเจริญของแมลง ณ ที่ถนัดต่าง หรือของภูมิภาค นั้น ๆ เพื่อมาใช้ในการคำนวณ PMI



รูปที่ 2-10 แสดง Isomegalen diagram ของ *Lucilia sericata* ระยะตัวหนอนถึง เข้าดักแด้ ระหว่างอุณหภูมิ 15 ถึง 40 °C. (Grassberger & Rieter, 2001)

2.7.2. ไอโซมอร์เฟนไดอะแกรม (Isomorphen diagram)

เป็นการสร้างกราฟจากข้อมูล ของระยะเวลาในการเจริญของแมลงวัน ตั้งแต่ระยะไข่ (oviposition) จนถึงเจริญเป็นระยะตัวเต็มวัย (eclosion) ที่อุณหภูมิต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างน้อย 5 อุณหภูมิ โดยกราฟแต่ละเส้นแสดงการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างตามระยะการเจริญ ซึ่งพื้นที่บริเวณระหว่าง กราฟแต่ละเส้นแสดง ระยะตามทฤษฎีของแมลงวัน (Grassberger & Rieter, 2001). ตัวอย่างการสร้าง isomorphen diagram ระยะต้น ๆ เป็นตัวอย่างจาก แมลงวันหัวเขียว ชนิด *L. sericata* โดยได้สร้างกราฟความสัมพันธ์จากอุณหภูมิที่ต่างกัน 5 อุณหภูมิ ได้แก่ 15, 20, 25, 30 and 35°C กับระยะเวลาการเจริญตั้งแต่ ไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอนระยะที่1 ถึงระยะที่ดักแด้ ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย (Grassberger & Rieter, 2002) ดังรูปที่ 10.11



รูปที่ 2-11 แสดง Isomorphen diagram ของ *L. sericata* ระยะฟักออกจากไข่ถึงระยะดักแด้ ฟักออกเป็นตัวเต็มวัย ระหว่างอุณหภูมิ 15 ถึง 40 °C: a, ระยะไข่; b, ระยะ 1st instar; c, ระยะ 2nd instar; d, ระยะ 3rd instar; e, ระยะ post-feeding larva; f, ระยะ pupa; g, ระยะ imago(Grassberger & Rieter, 2001)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

(Material and Methods)

3.1 อุปกรณ์

- Camera (Nikon, Japan)
- Freezer (Krungthai, Thailand)
- Incubator (Thermotek, Thailand)
- Incubater (WET binder, US)
- LKB Ultramicrotome Ultratome V (LKB, Sweeden)
- Light Microscope (Nikon, Japan)
- Microcentrifuge
- Microsyrinx 1 μ l (Varain, USA)
- Microsyrinx 10 μ l (Hewlett-packard, USA)
- Stereo Microscope (Nikon, Japan)
- Transmission Electron Microscope TEM (Phillip, Netherlands)
- Stereomicroscope (Nikon, Japan)
- Spectrophotometer (Shimadzu, Australia)
- Rotary microtome (Leica, Germany)
- Manetic sterer and magnetic bars (Heidolph, Germany)
- Microtome blades (Feather, Japan)
- Warmplate (Fisher, USA)
- Beakers 5, 25, 80, 125, 500 and 1,000 ml (Pyrex, Germany)
- Cuvets (VWR international)
- Capsules; Embedding, Size 00, 8 mm I.D (EMS, USA)
- Copper Grid 200 mesh (EMS, USA)
- Bee cages (80 x130x135 mm 3)
- Dissecting Scissors CV scissors, 4" (EMS, USA)
- Embedding Capsule Holder (EMS, USA)
- Eppendorf 1 ml
- Filter paper Whatmann No. 4 (Whatmann Internation Ltd., England)
- Forcep No. 4 INOX (Dumont & Fils, Switzerland)
- Glass Knife Boats (EMS, USA)
- Glass Knife Strips Size 6.4 mm x 25 mm x 400 mm (EMS, USA)
- Micropipette 10, 200 and 1,000 p (Gilson, France)

- Mixer Vortex Genies 2 (EMS, USA)
- Parafilm M and Dispenser (EMS, USA)
- Pasteur Pipettes
- Petri Dish (Pyrex, Germany)
- Pipette Tips 10, 200 and 1,000 μ l (Axygen-Hayward, USA)
- Sectioning set (Chiron Stainless, Germany)
- Specimen Forceps 4.5" (EMS, USA)
- Staining jars
- Test tube 12 x 75 mm²

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารเคมีสำหรับการศึกษาสัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว

- Absolute Ethyl Alcohol (Merk, Germany)
- Dodecanyl Succinic Anhydride (Sigma Chemical Company, USA)
- DMP 30 (2, 4, 6 Tridimethyl Amionmethyl Phenol) (EMS, USA)
- Epon 812 (EMS, USA)
- Glutaraldehyde (Sigma Chemical Company, USA)
- Hydrochloric Acid (Merk, Germany)
- Lead Citrate (Sigma Chemical Company, USA)
- Methyl Nadic Anhydride (EMS, USA)
- Osmium Tetroxide, Crystalline, Highest Purity, 99.95% (EMS, USA)
- Paraformaldehyde, EM Grade, Purified (EMS, USA)
- Phosphotungstic acid (Fluka, Switzerland)
- Propylene Oxide, EM grade (EMS, USA)
- Sodiumborate (Fluka, Switzerland)
- Sodium Cacodylate (Sigma Chemical Company, USA)
- Sodium Hydroxide (Fluka, Switzerland)
- Methylene Blue (Fluka, Switzerland)
- Uranyl Acetate (Fluka, Switzerland)
- Activated charcoal
- Absoluted Ethyl Alcohol (J.T Baker, Malaysia)
- Basic Fuchsin (Labchem, Australia)
- Distilled water
- Formaldehyde Solution (Univar, Australis)
- Glacial Acetic Acid (Analar, England)
- Hydrochloric Acid (J.K Baker, USA)

- Light Green (Fluka, Switzerland)
- Picric Acid (Labchem, Australia)
- Periodic Acid (Merck Chemical)
- Permout (Fisher Chemical, USA)
- Sodium Bisulfite
- Toluidine blue
- Xylene (Panreac, England)

3.2.2 สารเคมีสำหรับการศึกษาชีววิทยาโมเลกุลของแมลงวันหัวเขียว

- Liquid nitrogen (Qiagen, Germany)
- AP1 buffer (Qiagen, Germany)
- AP2 buffer (Qiagen, Germany)
- AP3/E buffer (Qiagen, Germany)
- Buffer AE (Qiagen, Germany)
- Buffer AW (Qiagen, Germany)
- Chelex (Qiagen, Germany)
- ddH₂O (Qiagen, Germany)
- DNTPs (Qiagen, Germany)
- Proteinase K (Qiagen, Germany)
- Primer1 (L-CO) (Qiagen, Germany)
- Primer2 (H-CO) (Qiagen, Germany)
- Primer Universal (Qiagen, Germany)
- RNAase (Qiagen, Germany)
- Taq buffer (Qiagen, Germany)
- Taq polymerase (Qiagen, Germany)

3.3 ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา (Specimens)

- แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*
- แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies*
- แมลงวันหัวเขียวและแมลงวันที่มีบทบาทสำคัญทางนิติกีฏวิทยาอื่น ๆ

3.4 สถานที่ศึกษา (Study site)

3.4.1 สถานที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

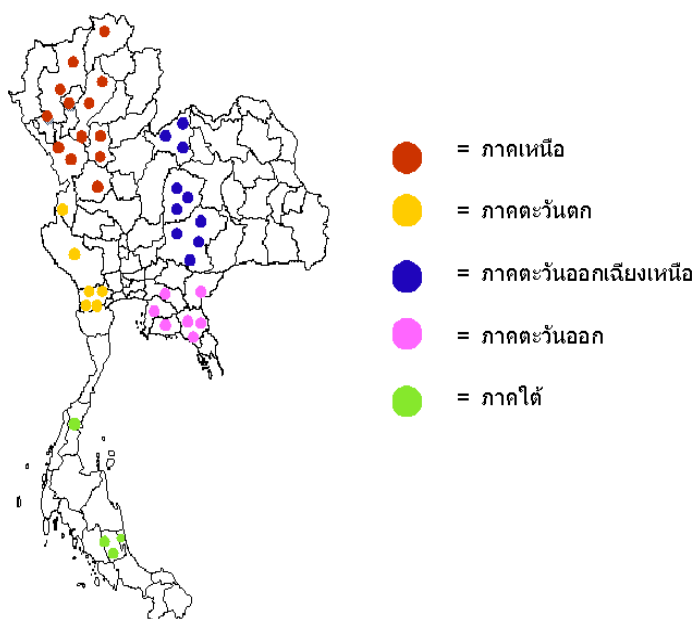
ห้อง BS 3108-3110 ภาควิชาชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

3.4.2 สถานที่ทำการทดลองภาคสนาม

บริเวณภายในมหาวิทยาลัยบูรพา ตำบลเหมือง อำเภอมือทอง จังหวัดชลบุรี

3.4.3 สถานที่เก็บตัวอย่าง ภาคสนาม ศึกษาการกระจายของแมลงวันหัวเขียวชนิด

ต่าง ๆ



3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

วิธีดำเนินการวิจัย

3.5.1 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยจากซากสัตว์ทดลอง

วิธีปฏิบัติ

- 1) สุ่มเก็บตัวอย่างแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยขณะเข้าตอมซากสัตว์ทดลอง
- 2) โดยสุ่มเก็บแมลงวันหัวเขียวจำนวน 10 ตัว/ชนิด/ซากสัตว์ทดลอง
- 3) จำแนกชนิด (Identification) โดยใช้ key ของ Whitworth (2006)
- 4) จำแนกชนิด (Identification) โดยวิธีชีววิทยาโมเลกุล

3.5.2 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียว

3.5.2.1 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวหนอนด้วยวิธีศึกษาสัณฐาน

วิทยา (Identification of blowflies using morphological characteristics)

วิธีปฏิบัติ

- 1) นำแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยที่เก็บจากซากศพสัตว์ทดลองในภาคสนาม
- 2) แยกชนิดและเพศ แล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด 13.3x 13.5x 12 cm³ (กx ยx ส) โดยสัดส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเป็น 30: 30 ตัว/ กรง

- 3) นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 4) จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำดับหมูปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
- 5) ใส่ดับหมูขนาดเฉลี่ย $5 \times 5 \times 1 \text{ cm}^3$ น้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ใส่ในกระถางที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $8 \times 8 \times 4 \text{ cm}^3$ ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
- 6) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
- 7) บันทึกอุณหภูมิทุก ๆ 1 ชั่วโมง และเปรียบเทียบกับอุณหภูมิที่ได้จากสถานีอุตุนิยมวิทยาที่ใกล้เคียง ตลอดช่วงทำการทดลอง
- 8) แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้ฟู่กันขนละเอียดใส่ในดับหมูขนาด $10 \times 10 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถางที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4 \text{ cm}^3$
- 9) นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (gx yx ส) cm}^3$ ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกอุณหภูมิทุก 1 ชั่วโมง
- 10) ตรวจสอบการเจริญเติบโตของไข่ทุก ๆ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งเข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 3 (third instars)
- 11) นำตัวหนอนระยะที่ 3 มาจำแนกชนิดโดยใช้กุญแจมาตรฐานของ Whitworth (2006) เพื่อเป็นการยืนยันร่วมกับการจำแนกด้วยตัวเต็มวัย

3.5.2.2 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวหนอนด้วยวิธีชีววิทยาโมเลกุล (Identification of blowflies using molecular technique)

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

- 1) ใส่ชิ้นส่วนแมลงวันหัวเขียว ลงใน PCR plate
 - 2) เติมสารละลาย Chelex ปริมาตร 100 μl ในแต่ละ plate
 - 3) เติม Proteinase K ปริมาตร 5 μl ในแต่ละ plate
 - 4) Vortex นาน 30 วินาที
 - 5) ปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) 12,000 g นาน 10 วินาที
 - 6) นำตัวอย่าง PCR plates ไปเข้าเครื่อง Thermocycler (Qiagen, Germany)
- เงื่อนไขดังนี้
- อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
 - อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 15 นาที
 - อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 นาที

เก็บตัวอย่างที่ได้ไว้ที่ อุณหภูมิ -21 °C จนกว่าจะนำไปศึกษาต่อ

วิธีการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ ด้วยวิธี PCR

Protocol for PCR product

No.	Solvent	Volume/ 1 μ l	Volume/ 28 samples
1	ddH ₂ O	6.75	189
2	Taq Buffer	1.0	28
3	dNTPs	0.2	5.6
4	Primer L-CO	0.5	14
5	Primer H-CO	0.5	14
6	Taq Polymerase	0.5	14
Total		9.0	252

หมายเหตุ ใช้ DNA ตัวอย่าง ปริมาตร 1 μ l ใส่ใน master mixed solvent ปริมาตร 9 μ l ลงในแต่ละ PCR plate แล้วใส่ใน PCR machine

- อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 3 นาที
- 35 cycle ที่ 94 °C เป็นเวลา 60 วินาที
- ที่ 45 °C เป็นเวลา 60 วินาที และที่ อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 90 วินาที

3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

การเตรียมตัวอย่างระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

- 1) นำไก่สดที่ทราบเวลาการตาย และทำให้เกิดบาดแผลข้างลำตัว ข้างละ 3 แผล วางบริเวณภาคสนามที่เป็นพื้นดินในที่ร่ม ที่มีแสงสว่างส่องประมาณ 4 ชั่วโมงต่อวัน ในกรงตาข่ายป้องกันสัตว์รบกวนขนาด 35 x 30 x 35 cm³ บริเวณ ต. เหมือง อ. เมือง จ. ชลบุรี
- 2) รอจนกระทั่งแมลงวันหัวเขียวชนิด *Ch. magacephala* มาวางไข่ จนได้จำนวนเพียงพอต่อการศึกษา
- 3) ใช้ฟู่กันเบอร์ 1 หรือ 2 เขี่ยไข่ จำนวน 10 ฟอง แล้วย้ายลงมาวางบนตับหมูนํ้าหนัก 10 กรัม ที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 4 x 6 x 1 cm³ ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำจากแผ่นอลูมิเนียม (Aluminum foil) ขนาด 4 x 6 x 1 cm³ บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวเขียววางไข่ ของทุก ๆ ครั้ง
- 4) บันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ ทุก ๆ 1 ชั่วโมง โดยเริ่มตั้งแต่วางไข่ จนได้จำนวนตัวอย่างตามต้องการ
- 5) นำตัวอย่างไข่กลับไปศึกษาการเจริญเติบโตในห้องปฏิบัติการ

3.5.4 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

- 1) นำไข่มาเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการโดยใช้อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม และนำไข่ออกมาส่องภายใต้กล้องสเตอริโอ ทุก ๆ 1 ชั่วโมง

- 2) เก็บไข่ของแมลงวันหัวเขียวประมาณ 4 – 5 ฟอง ทุก ๆ 1 ชั่วโมงใส่ลงในขวดเก็บตัวอย่างที่มี Bouins' fluid solution ที่ไว้ 15 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนเป็น 75 % Ethanol ก่อนที่จะนำมาทำสไลด์ถาวร เพื่อนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกและวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus CH30RF2 จนกระทั่งไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars)
- 3) บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ทุก ๆ 1 ชั่วโมง
- 4) บันทึกเวลาที่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1
- 5) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.5 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาขนาดและระยะเวลาการเจริญ ของตัวหนอนระยะที่ 1-2 ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

- 1) นำตัวหนอนระยะที่ 1 จำนวน 150 ตัว วางลงบนตบหมุสน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด $4 \times 6 \times 1 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถางอลูมิเนียม ซึ่งอยู่ภายในกล่องพลาสติกขนาด $7.5 \times 10 \times 5.6 \text{ cm}^3$ และเปลี่ยนตบหมุสนทุก ๆ 24 ชั่วโมง
- 2) เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง (สิ่งแวดล้อม) โดยวัดอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ ทุก ๆ 1 ชั่วโมง
- 3) นำตัวหนอนระยะดังกล่าวจำนวน 3 ตัว ออกมาศึกษาภายใต้กล้อง stereomicroscope ทุก ๆ 1 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบระยะการเจริญ จากนั้นนำตัวหนอนจุ่มลงในน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วดองเก็บไว้ใน 75 % Ethanol เพื่อนำไปวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์และตรวจสอบระยะการเจริญจนกระทั่งเข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 2
- 4) บันทึกเวลาที่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 2
- 5) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.6 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญ ของตัวหนอนระยะที่ 2-3 ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

- 1) เลี้ยงตัวหนอนด้วยตบหมุสน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด $4 \times 6 \times 1 \text{ cm}^3$ เลี้ยงจนกระทั่งตัวหนอนเปลี่ยนจากระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 โดยเปลี่ยนตบหมุสนทุก ๆ 24 ชั่วโมง
- 2) นำตัวหนอนระยะดังกล่าวจำนวน 3 ตัว ออกมาศึกษาภายใต้กล้องสเตอริโอ ทุก ๆ 1 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบระยะการเจริญ จากนั้นนำตัวหนอนจุ่มลงในน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วดองเก็บไว้ใน 75 % Ethanol เพื่อนำไปวัดขนาดด้วยไม้บรรทัด
- 3) ตรวจสอบระยะการเจริญจนกระทั่งเข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 3
- 4) บันทึกเวลาที่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 3
- 5) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.7 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

- 1) เลี้ยงตัวหนอนด้วยตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด $4 \times 6 \times 1 \text{ cm}^3$ จนกระทั่งตัวหนอนระยะที่ 3 หยุดกินอาหาร
- 2) นำตัวหนอนระยะดังกล่าวจำนวน 3 ตัว ออกมาศึกษาภายใต้กล้อง stereomicroscope จากนั้นนำตัวหนอนจุ่มลงในน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วดองเก็บไว้ใน 75 % Ethanol เพื่อนำไปวัดขนาดด้วยไม้บรรทัด

3.5.8 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อระยะเวลาการเจริญในระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala*

- 1) เมื่อตัวหนอนหยุดกินอาหารแล้วให้เตรียมดินผสมซีลี้อยู่ เพื่อให้ตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยอัตราส่วนดินต่อซีลี้อยู่ 80 : 20 และนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 90°C
- 2) ชั่งดินผสมซีลี้อยู่ น้ำหนักเฉลี่ย 150 กรัม ผสมกับน้ำ พร้อมทั้งวัดค่า pH = 7 ความชื้นของดิน 70 % และ นำดินผสมซีลี้อยู่ใส่กล่องพลาสติกขนาด $11.5 \times 11.5 \times 6.6 \text{ cm}^3$
- 3) นำตัวหนอนระยะที่ 3 ที่หยุดกินอาหารแล้วจำนวน 150 ตัว มาใส่ในกล่องที่มีดินผสมซีลี้อยู่
- 4) บันทึกเวลาที่ตัวหนอนระยะที่ 3 เปลี่ยนเข้าสู่ดักแด้ และเวลาที่ดักแด้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัยพร้อมทั้งบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ทุก 1 ชั่วโมง

3.5.9 การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม

- 1) เมื่อแมลงวันฟักออกมาจากดักแด้แล้วให้เปลี่ยนไปเลี้ยงโดยใช้กล่องเลี้ยง (case) โดยให้ตัวเมียและตัวผู้และตัวเมียมีอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน (1:1)
- 2) แมลงวันหัวเขียว *Ch. magacephala* ในวันที่ 1 และวันที่ 2 ให้เลี้ยงด้วยน้ำตาลทรายก้อน และน้ำตาลซูโครส 50 % และน้ำกลั่น
- 3) วันที่ 3 และ 4 เพิ่มอาหารโดยให้ตับสดประมาณ 2 กรัม
- 4) หลังจากวันที่ 4 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงจากตับสดเป็นตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม เพื่อให้แมลงวันวางไข่

3.5.10 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิคงที่

- 1) เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 30 ตัว แล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (gx yx ส) cm}^3$
- 2) นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 3) จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูสดปริมาณ 10 กรัม/ กรง 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่

- 4) ใส่ด้บบหมุขนาดเฉลี่ย $5 \times 5 \times 1 \text{ cm}^3$ น้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ใส่ในกระถงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $8 \times 8 \times 4 \text{ cm}^3$ ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
- 5) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
- 6) แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้ฟู่กันขนละเอียดใส่ในด้บบหมุขนาด $10 \times 10 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4 \text{ cm}^3$
- 7) นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (gx yx ส) cm}^3$ ที่อุณหภูมิ 20 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ $50 \pm 5\%$ ให้แสง L: D เป็น 12: 12 ชั่วโมง
- 8) ตรวจสอบเจริญเติบโตของไข่ทุก ๆ 1 ชั่วโมง บันทึกเวลาที่ไข่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนแต่ละระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะภายใต้กล้อง Stereo microscope และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM)
- 9) เปลี่ยนด้บบหมุสดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง
- 10) ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.11 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่ 1 ถึง 2 ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิคงที่

- 1) เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 50 ตัว แล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (gx yx ส) cm}^3$
- 2) เลี้ยงที่อุณหภูมิห้องให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ 24 ชั่วโมง
- 3) จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำด้บบหมุบดปริมาณ 10 กรัม/กรง 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
- 4) ใส่ด้บบหมุขนาดเฉลี่ย $5 \times 5 \times 1 \text{ cm}^3$ น้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ใส่ในกระถงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $8 \times 8 \times 4 \text{ cm}^3$ ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
- 5) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
- 6) แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้ฟู่กันขนละเอียดใส่ในด้บบหมุขนาด $10 \times 10 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4 \text{ cm}^3$
- 7) เลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (gx yx ส) cm}^3$ ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ $50 \pm 5\%$ ให้แสง L: D เป็น 12: 12 ชั่วโมง
- 8) ตรวจสอบเจริญเติบโตของไข่โดยใช้เวลาที่ใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองตอนที่ 13.3 จนกระทั่งไข่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars)

9) ตรวจระยะการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่ระยะที่ 2 (second instars) บันทึกช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญเปลี่ยนระยะ และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope

10) เปลี่ยนตบหมูดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

11) ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.12 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่ 2 ถึง 3 ที่อุณหภูมิคงที่

1) เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 50 ตัว แล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12$ (gx yx ส) cm^3

2) เลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ 24 ชั่วโมง

3) เลี้ยงด้วยน้ำตบหมูดปริมาณ 10 กรัม/กรง 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่

4) ใส่ตบหมูดขนาดเฉลี่ย $5 \times 5 \times 1$ cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ใส่ในกรงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $8 \times 8 \times 4$ cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่

5) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง

6) แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้ฟู่กันขนละเอียดใส่ในตบหมูดขนาด $10 \times 10 \times 2$ cm^3 ที่วางอยู่ในกรงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4$ cm^3

7) เลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12$ (gx yx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ $50 \pm 5\%$ ให้แสง L: D เป็น 12: 12 ชั่วโมง

8) ตรวจการเจริญเติบโตของไข่โดยใช้เวลาที่ใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองตอนที่ 13.4 จนกระทั่งตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) เปลี่ยนเป็นระยะที่ 2 (second instars)

9) ตรวจระยะการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 2 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่ระยะที่ 3 (third instars) บันทึกช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญเปลี่ยนระยะ และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope

10) เปลี่ยนตบหมูดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

11) ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.13 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่ 3 เป็นระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิคงที่

1) เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 50 ตัว แล้วนำไปใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12$ (gx yx ส) cm^3

2) นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และ 24 ชั่วโมง

3) จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่

4) ใส่ตับหมูปริมาณเฉลี่ย $5 \times 5 \times 1 \text{ cm}^3$ น้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ใส่ในกระถางที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $8 \times 8 \times 4 \text{ cm}^3$ ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่

5) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง

6) แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้ฟู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูดขนาด $10 \times 10 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถางที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4 \text{ cm}^3$

7) นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด $13.3 \times 13.5 \times 12 \text{ (ก} \times \text{ย} \times \text{ส)} \text{ cm}^3$ ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ $50 \pm 5\%$ ให้แสง L: D เป็น 12: 12 ชั่วโมง

8) ตรวจสอบเจริญเติบโตของไข่โดยใช้เวลาที่ใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองตอนที่ 13.5 จนกระทั่งตัวหนอนระยะเข้าสู่ระยะที่ 3 (third instars)

9) นำตัวหนอนระยะที่ 3 ใส่ในตับหมูดขนาด $10 \times 10 \times 2 \text{ cm}^3$ ที่วางอยู่ในกระถางที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนียมขนาด $10 \times 10 \times 4 \text{ cm}^3$ ที่วางบนส่วนผสมระหว่างขี้เลื่อยและดินร่วนอบแห้งแล้วปรับความชื้นในดินให้ได้ 50% (โดยใช้ soil tester) สัดส่วน 1:1 น้ำหนักเฉลี่ย 50 กรัม บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด $15 \times 10 \times 8.5 \text{ cm}^3$ โดยฝาด้านบนตัดแปลงเป็นตายข่ายระบายอากาศ นำกล่องพลาสติกที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ $50 \pm 5\%$ ให้แสง L: D เป็น 12: 12 ชั่วโมง

10) ตรวจสอบระยะการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 3 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae) บันทึกช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญเปลี่ยนระยะ และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope

11) เปลี่ยนตับหมูดทุกวันจนกระทั่งเข้าสู่ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae)

12) บันทึกจำนวนตัวหนอนที่เริ่มมีพฤติกรรมเคลื่อนย้าย (wandering stage larvae) ออกจากตับสด เพื่อมุดลงดินผสมขี้เลื่อยเพื่อซ่อนตัวเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ (pupation)

13 ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.14 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะดักแด้เป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิคงที่

1) ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.5.13 (ข้อ 1-12)

2) บันทึกเวลาเมื่อดักแด้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย จำนวน เพศ

3) ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.15 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1 ถึง 3 ระยะดักแด้และตัวเต็มของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมภาคสนาม

1) วางไข่ตายที่ทราบเวลาการตาย น้ำหนักเฉลี่ย 2 กิโลกรัม ทำให้เกิดบาดแผล จำนวน 10 แผล บริเวณด้านข้างลำตัวข้าง ๆ ละ 5 แผลโดยใช้มีด โดยมีกรงไม้ทำเป็นตาข่ายด้วยลวด ขนาด $45 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$

2) วางซากสัตว์ทดลอง 2 บริเวณ คือ ในที่ร่มและกลางแจ้ง โดยทำ อย่างละ 3 ซ้ำ

3) นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ 24 ชั่วโมง

4) บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง

5) นำไข่ออกจากซากสัตว์ทดลองเพื่อตรวจการเจริญเติบโตทุก ๆ 1 ชั่วโมง บันทึกเวลาที่ไข่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) โดยทำครั้งละ 10 ฟอง โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope

6) ตรวจระยะการเจริญเติบโตจากตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) ทุก ๆ 1 ชั่วโมง โดยทำครั้งละ 10 ตัว โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope บันทึกช่วงเวลาที่ตัวหนอนเปลี่ยนเป็นระยะที่ 2

7) ตรวจระยะการเจริญเติบโตจากตัวหนอนระยะที่ 2 (first instars) ทุก ๆ 1 ชั่วโมง โดยทำครั้งละ 10 ตัว โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะภายใต้กล้อง Stereo microscope บันทึกช่วงเวลาที่ตัวหนอนเปลี่ยนเป็นระยะที่ 3

8) ตรวจระยะการเจริญเติบโตจากตัวหนอนระยะที่ 3 (first instars) ทุก ๆ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งกลายเป็นระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae) โดยทำครั้งละ 10 ตัว โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope บันทึกช่วงเวลาที่ตัวหนอนเปลี่ยนเป็นระยะดักแด้

9) บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง นำไปเปรียบเทียบกับสถานีอากาศที่ใกล้เคียงที่สุด

10) ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

*หมายเหตุวิธีการทั้งหมดข้างต้นสำหรับการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี

บทที่ 4 ผลการวิจัย (Results)

4.1. ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chysomya megacephala* ระยะดักแด้ (pupae) สู่ระยะตัวเต็มวัย (enclosion) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้

4.1.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

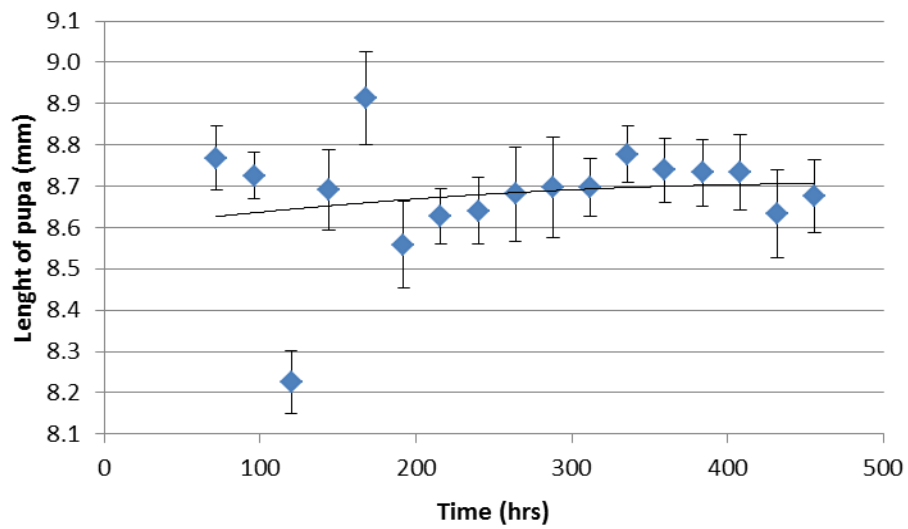
Ch. megacephala ที่อุณหภูมิ 15±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ณ ชั่วโมงที่ 72 (รูปที่ 4-1 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด ณ ชั่วโมงที่ 480 ดังนั้น ณ ชั่วโมงที่ 456 (รูปที่ 4-1 ขวา) คือเวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้ (เก็บผลทุก ๆ 24 ชั่วโมง)

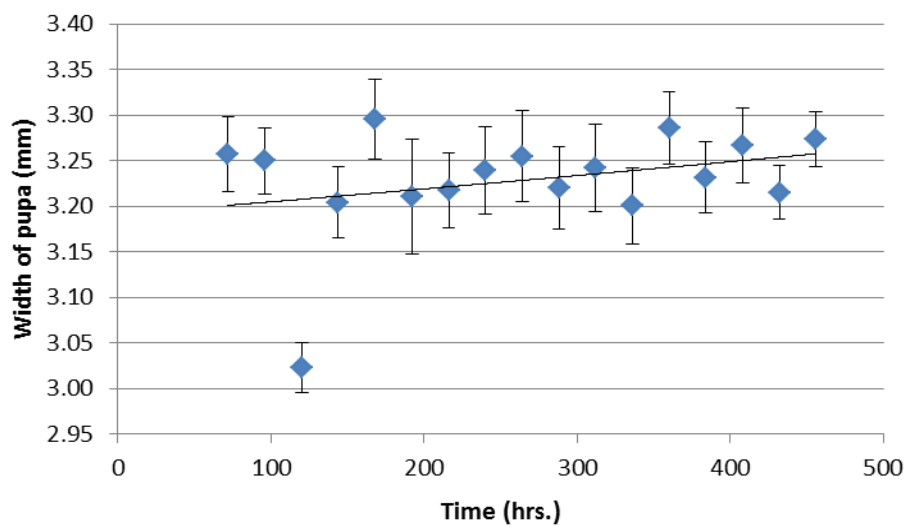


รูปที่ 4-1 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส อายุ 72 ชั่วโมง (ซ้าย) อายุ 456 ชั่วโมง (ขวา)

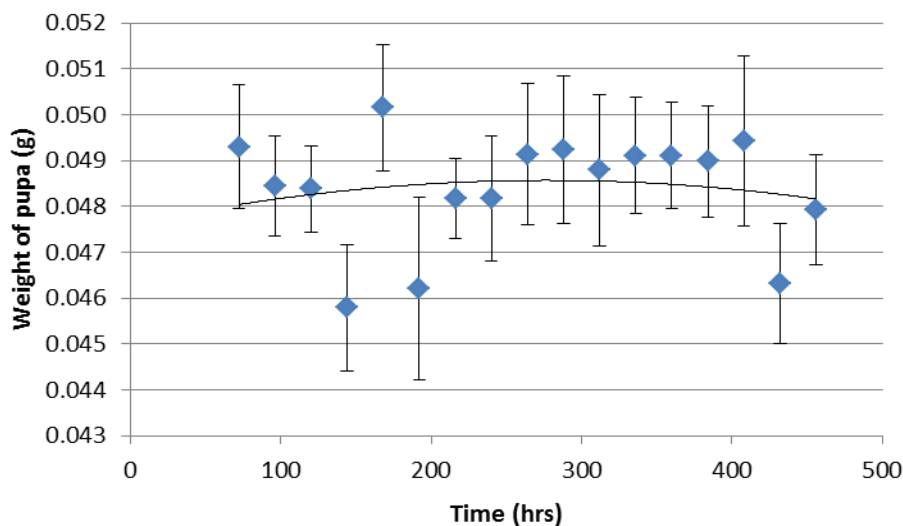
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย (mean±SE) ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักต่อเวลา (รูปที่ 4-2) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือ ณ ชั่วโมงที่ 72 มีค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักคือ 8.7680±0.0774 มิลลิเมตร 3.2576±0.0412 มิลลิเมตร และ 0.04930±0.0013 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยความกว้าง ความยาว และน้ำหนักกับดักแด้ระยะสุดท้าย ณ ชั่วโมงที่ 456 คือ 8.6760±0.0893 มิลลิเมตร ($F_{29}=2.27, P=0.0005$) 3.2735±0.0298 มิลลิเมตร ($F_{29}=1.88, P=0.0027$) และ 0.0479±0.0012 กรัม ($F_{29}=0.76, P=0.733$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-1)



รูปที่ 4-2 ความยาวเฉลี่ย (mean±SE) (มิลลิเมตร) ตามระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=2.27$, $P=0.0005$)



รูปที่ 4-3 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) (มิลลิเมตร) ตามระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=1.88$, $P=0.0027$)



รูปที่ 4-4 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) (มิลลิเมตร) ตามระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29} = 0.76$, $P = 0.733$)

ตารางที่ 4-1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15 ± 2 องศาเซลเซียส

Time (hrs.)	mean± SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
72	8.7680±0.0774	3.2576±0.0412	0.0493±0.0013
96	8.7257±0.0574	3.2500±0.0363	0.0484±0.0011
120	8.2254±0.0770	3.0231±0.0278	0.0484±0.0009
144	8.6914±0.0971	3.2041±0.0387	0.0458±0.0014
168	8.9133±0.1132	3.2956±0.0440	0.0502±0.0014
192	8.5584±0.1057	3.2102±0.0630	0.0462±0.0020
216	8.6284±0.0670	3.2173±0.0405	0.0482±0.0009
240	8.6408±0.0798	3.2394±0.0481	0.0482±0.0014
264	8.6811±0.1143	3.2547±0.0503	0.0491±0.0015

ตารางที่ 4-1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15±2 องศาเซลเซียส (ต่อ)

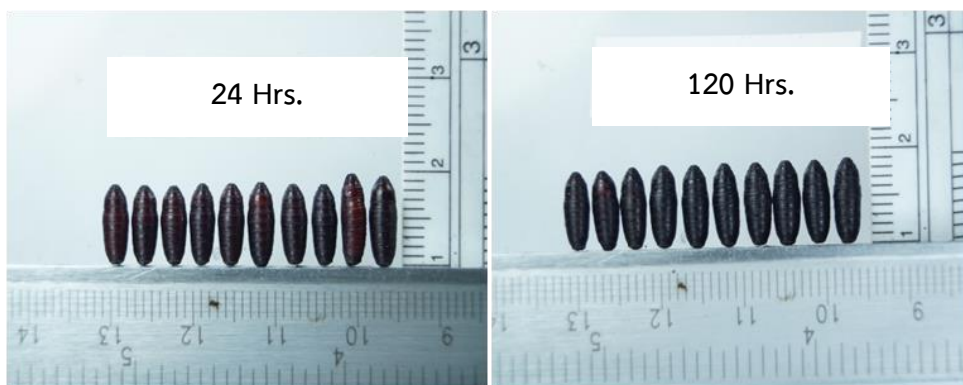
Time (hrs.)	mean± SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
288	8.6972±0.1224	3.2195±0.0452	0.0492±0.0016
312	8.6975±0.0699	3.2421±0.0484	0.0488±0.0016
336	8.7776±0.0692	3.2006±0.0417	0.0491±0.0013
360	8.7389±0.0777	3.2859±0.0401	0.0491±0.0012
384	8.7330±0.0800	3.2316±0.0390	0.0490±0.0012
408	8.7338±0.0925	3.2665±0.0410	0.0494±0.0018
432	8.6333±0.1055	3.2152±0.0297	0.0463±0.0013
456	8.6760±0.0893	3.2735±0.0298	0.0479±0.0012

* ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ; $F_{29}=2.27$, $P=0.0005$; $F_{29}=1.88$, $P=0.0027$; $F_{29}=0.76$, $P=0.733$

4.1.2 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

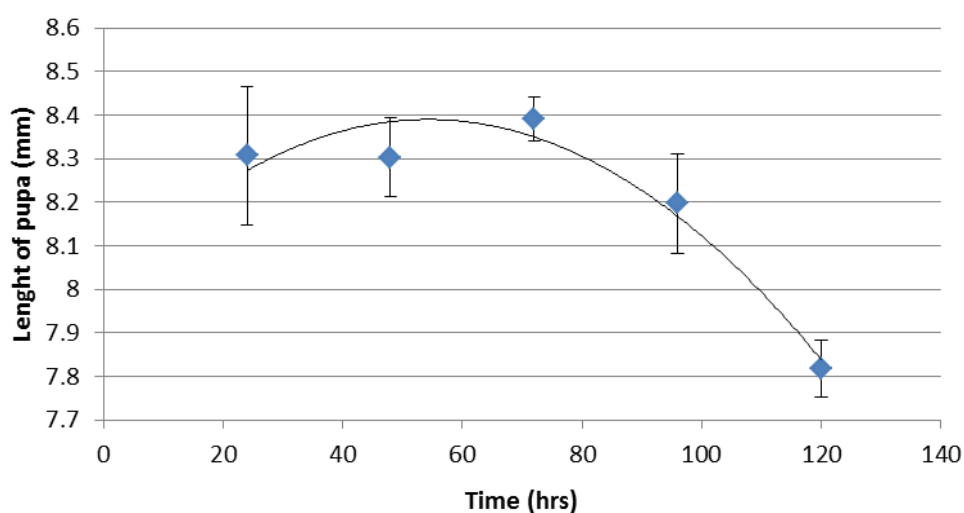
Ch. megacephala ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ อายุ 24 ชั่วโมง (รูปที่ 4-5 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด 144 ชั่วโมง เวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้คือ อายุ 120 ชั่วโมง (รูปที่ 4-5 ขวา)

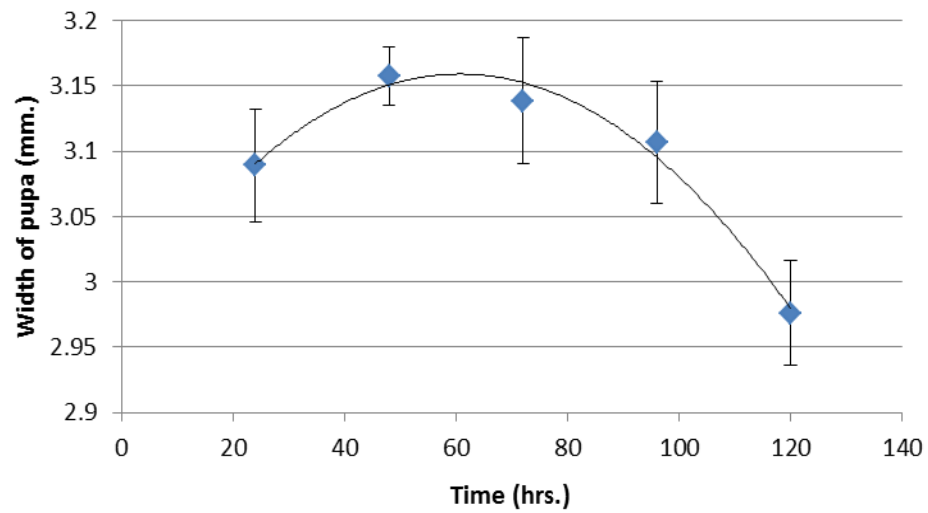


รูปที่ 4-5 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส อายุ 24 ชั่วโมง (ซ้าย) อายุ 120 ชั่วโมง (ขวา)

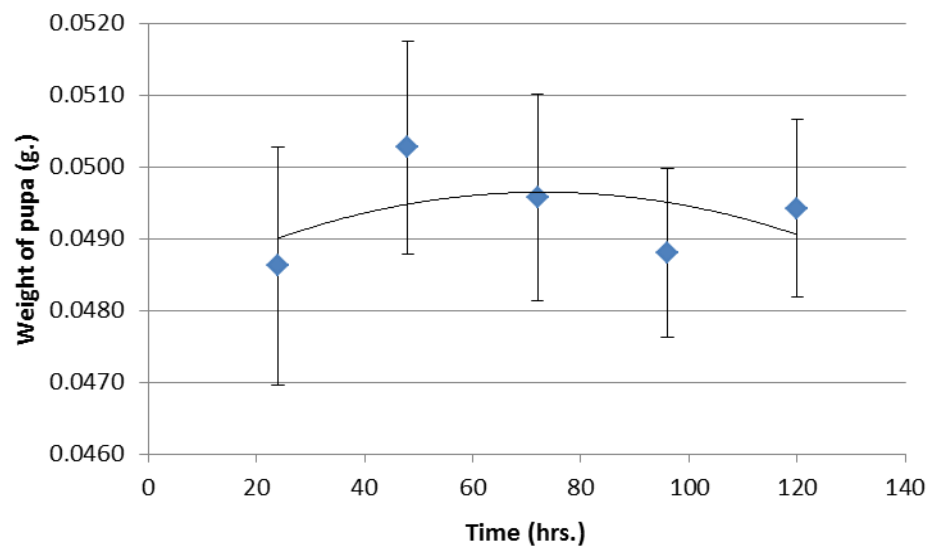
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย (mean \pm SE) ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักต่อเวลา (รูปที่ 4-6 ถึง รูปที่ 4-8) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือ ชั่วโมงที่ 24 มีความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย 8.3072 ± 0.1582 มิลลิเมตร 3.0892 ± 0.0434 มิลลิเมตร และ 0.0486 ± 0.0017 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความกว้าง และความยาวเฉลี่ยของดักแด้ระยะสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 120) โดยมีค่า 7.8177 ± 0.0642 มิลลิเมตร ตามลำดับ ($F_{29}=4.82$, $P=0.0001$) 2.9760 ± 0.0402 มิลลิเมตร ($F_{29}=2.95$, $P=0.003$) ในขณะที่ น้ำหนักไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดักแด้ ระหว่างระยะต้น (ชั่วโมงที่ 24) และ ระยะสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 120) มีค่า เท่ากับ 0.0494 ± 0.0012 กรัม ($F_{29}=0.22$, $P=0.9270$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-2)



รูปที่ 4-6 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=4.82$, $P=0.0001$)



รูปที่ 4-7 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=2.95$, $P=0.0030$)



รูปที่ 4-8 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=0.22$, $P=0.9270$)

ตารางที่ 4-2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

Time (h)	mean±SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
24	8.3072±0.1582	3.0892±0.0434	0.0486±0.0017
48	8.3024±0.0903	3.1576±0.0227	0.0503±0.0015
72	8.3898±0.0506	3.1387±0.0484	0.0496±0.0014
96	8.1969±0.1146	3.1071±0.0466	0.0488±0.0012
120	7.8177±0.0642	2.9760±0.0402	0.0494±0.0012

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ $F_{29}=4.82, P=0.0001$; $F_{29}=2.95, P=0.003$; $F_{29}=0.22, P=0.9270$

4.1.3 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

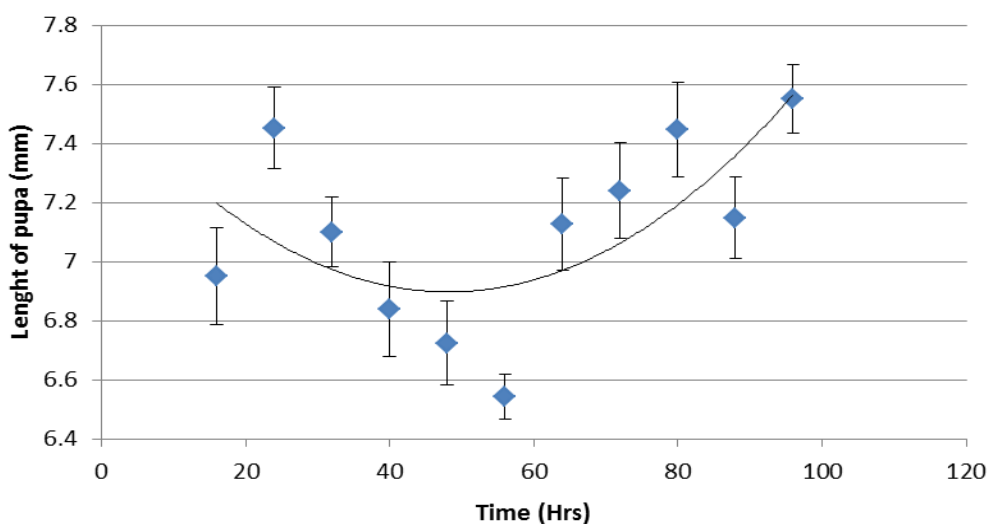
Ch. megacephala ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ชั่วโมงที่ 16 (รูปที่ 4-9 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดชั่วโมงที่ 120 ดังนั้น ชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 4-9 ขวา) เป็นช่วงที่พบระยะดักแด้ทั้งหมด (เก็บผลทุก ๆ 8 ชั่วโมง)

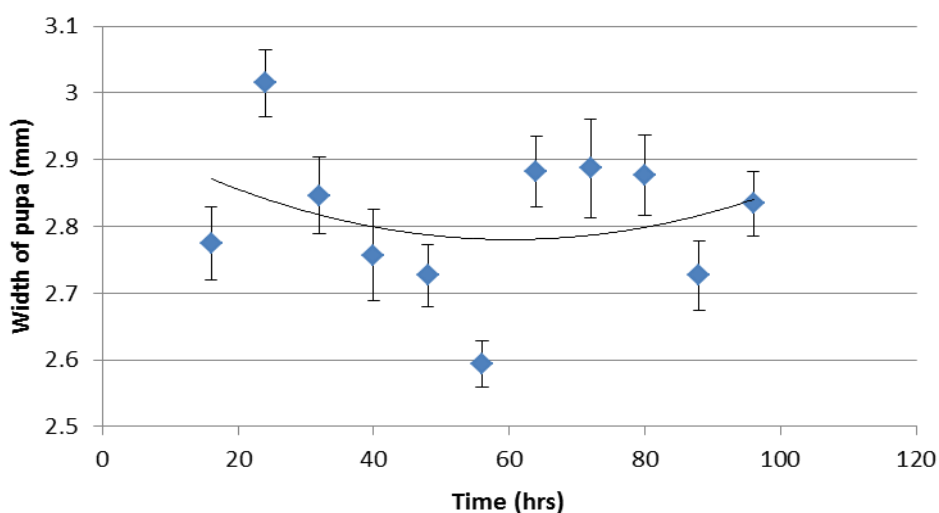


รูปที่ 4-9 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 16 (ซ้าย) และ ชั่วโมงที่ 96 (ขวา)

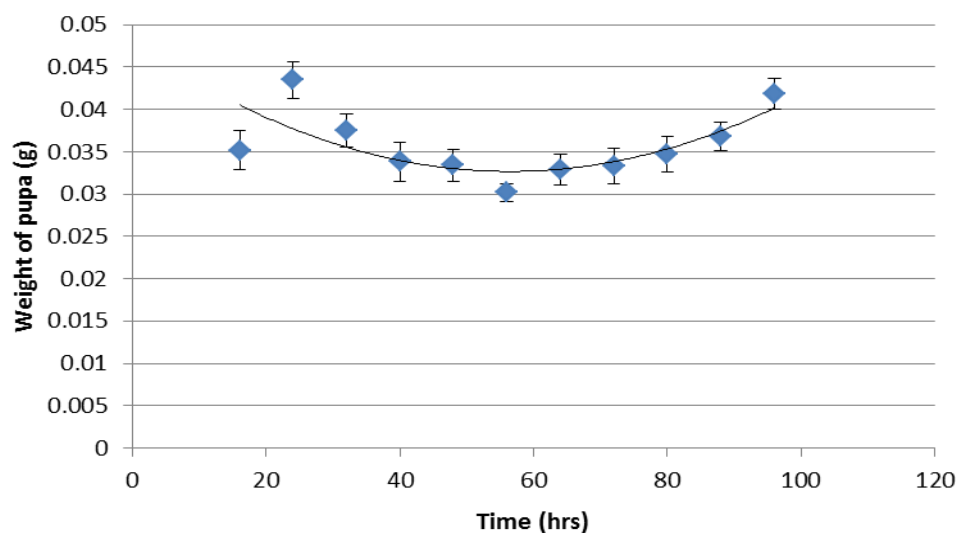
กราฟแสดงค่าเฉลี่ย (mean±SE) ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักต่อเวลา (รูปที่ 4-10 ถึงรูปที่ 4-12) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ (ชั่วโมงที่ 16) มีความยาว ความกว้าง และน้ำหนัก เฉลี่ย 6.9509 ± 0.1648 มิลลิเมตร 2.7747 ± 0.0553 มิลลิเมตร และ 0.0352 ± 0.0023 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกับความกว้าง ความยาว และน้ำหนักเฉลี่ย ของดักแด้ระยะสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 96) ซึ่งมีค่า 7.5509 ± 0.1152 มิลลิเมตร ($F_{29}=5.12, P=0.0001$) 2.8340 ± 0.0482 มิลลิเมตร ($F_{29}=4.13, P=0.0001$) และ 0.0418 ± 0.0019 กรัม ($F_{29}=3.93, P=0.0001$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-3)



รูปที่ 4-10 ความยาว (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิตั้งที่ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=5.12, P=0.0001$)



รูปที่ 4-11 ความกว้าง (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิตั้งที่ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=4.13, P=0.0001$)



รูปที่ 4-12 น้ำหนัก (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=3.93$, $P=0.0001$)

ตารางที่ 4-3 ตารางแสดงค่าเฉลี่ย ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

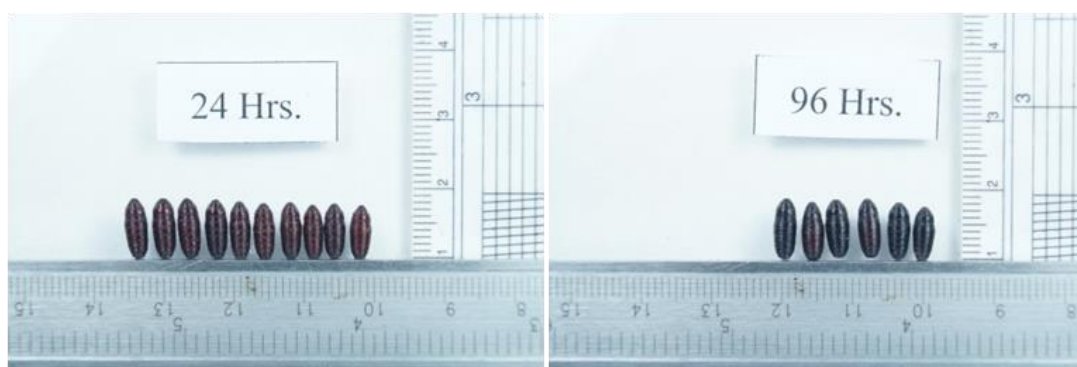
Time (hrs.)	mean±SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
16	6.9509±0.1648	2.7747±0.0553	0.0352±0.0023
24	7.4521±0.1371	3.0145±0.0500	0.0435±0.0022
32	7.1006±0.1165	2.8461±0.0578	0.0375±0.0020
40	6.8392±0.1596	2.7565±0.0684	0.0338±0.0023
48	6.7247±0.1403	2.7269±0.0466	0.0334±0.0019
56	6.5437±0.0773	2.5943±0.0346	0.0302±0.0011
64	7.1260±0.1566	2.8825±0.0525	0.0329±0.0019
72	7.2408±0.1634	2.8873±0.0740	0.0333±0.0021
80	7.4456±0.1602	2.8773±0.0602	0.0346±0.0021
88	7.1475±0.1372	2.7268±0.0521	0.0368±0.0017
96	7.5509±0.1152	2.8340±0.0482	0.0418±0.0019

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ $F_{29}=5.12$, $P=0.0001$; $F_{29}=4.13$, $P=0.0001$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$

4.1.4 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

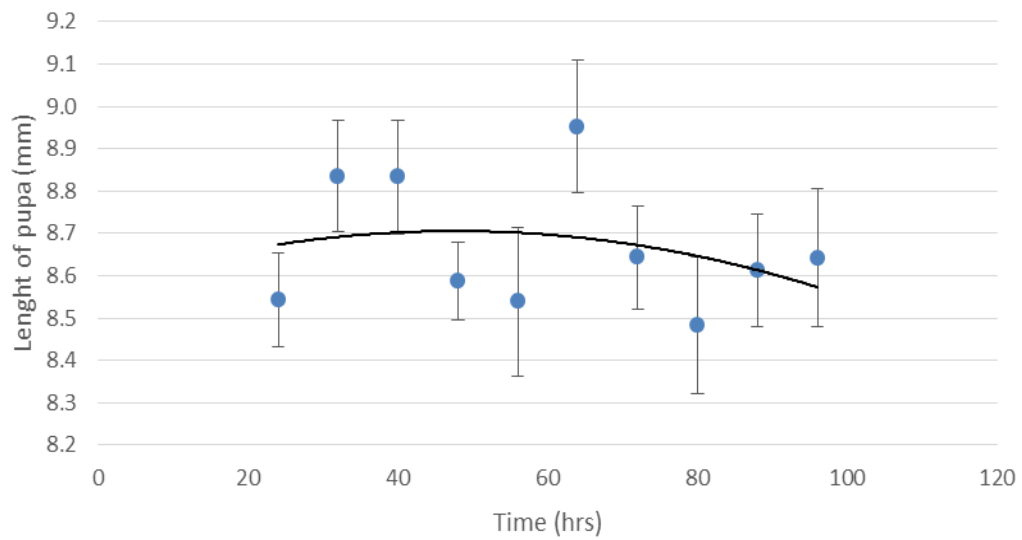
Ch. megacephala ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4-13 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด ณ ชั่วโมงที่ 120

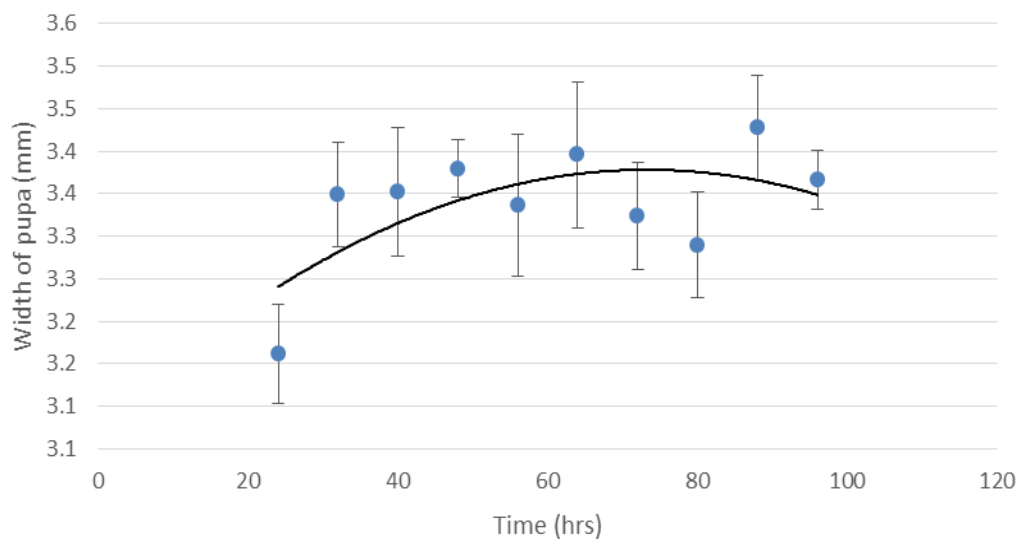


รูปที่ 4-13 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 96 (ขวา)

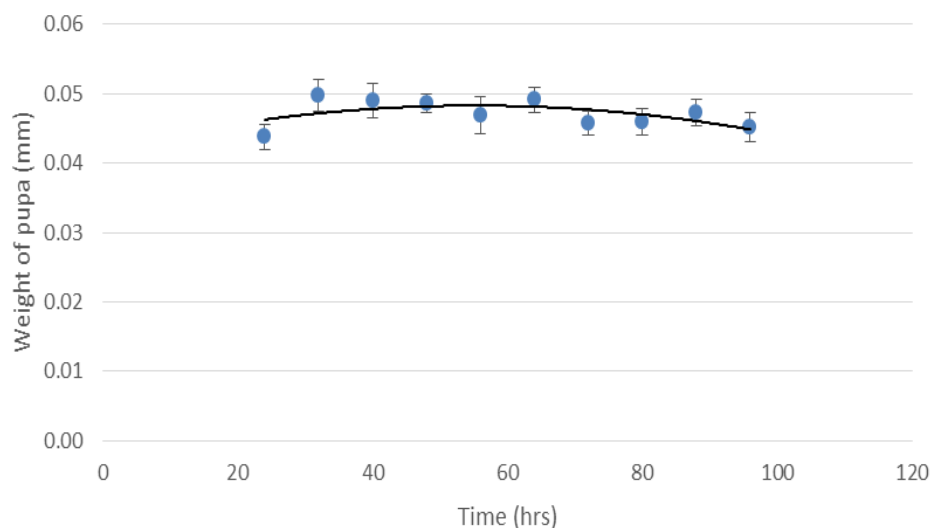
ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ยต่อเวลา (รูปที่ 4-14 ถึงรูปที่ 4-16) แสดงให้เห็นว่า เมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือ ชั่วโมงที่ 24 มีค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักคือ 8.5432 ± 0.1117 มิลลิเมตร 3.1614 ± 0.0582 มิลลิเมตร และ 0.0438 ± 0.0017 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับค่าเฉลี่ยความกว้าง ความยาว และน้ำหนักกับดักแด้ระยะสุดท้ายที่ ชั่วโมงที่ 96 มีค่า 8.6422 ± 0.1624 มิลลิเมตร ($F_{29}=1.27$, $P=0.264$) 3.3670 ± 0.0346 มิลลิเมตร ($F_{29}=1.26$, $P=0.271$) และ 0.0451 ± 0.0021 กรัม ($F_{29}=0.95$, $P=0.488$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-4)



รูปที่ 4-14 ความยาวเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส (ครั้งที่ 2) ($F_{29}=1.27$, $P=0.2640$)



รูปที่ 4-15 กราฟแสดงค่าเฉลี่ย (mean±SE) ความกว้างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=1.26$, $P=0.2710$)



รูปที่ 4-16 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=0.95$, $P=0.4880$)

ตารางที่ 4-4 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 33±2 องศาเซลเซียส

Time (h)	mean±SE		
	Length(mm)	Width(mm)	Weight(g)
24	8.5432±0.1117	3.1614±0.0582	0.0438±0.0017
32	8.8354±0.1326	3.3487±0.0611	0.0498±0.0023
40	8.8333±0.1338	3.3523±0.0759	0.0490±0.0025
48	8.5867±0.0908	3.3796±0.0342	0.0486±0.0013
56	8.5388±0.1755	3.3365±0.0830	0.0469±0.0026
64	8.9525±0.1566	3.3959±0.0861	0.0492±0.0018
72	8.6427±0.1207	3.3235±0.0626	0.0458±0.0016
80	8.4815±0.1611	3.2899±0.0620	0.0459±0.0019
88	8.6123±0.1336	3.4279±0.0608	0.0474±0.0019
96	8.6422±0.1624	3.3670±0.0346	0.0451±0.0021

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ ($F_{29}=1.27$, $P=0.264$; $F_{29}=1.26$, $P=0.271$; $F_{29}=0.95$, $P=0.488$)

4.1.5 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว

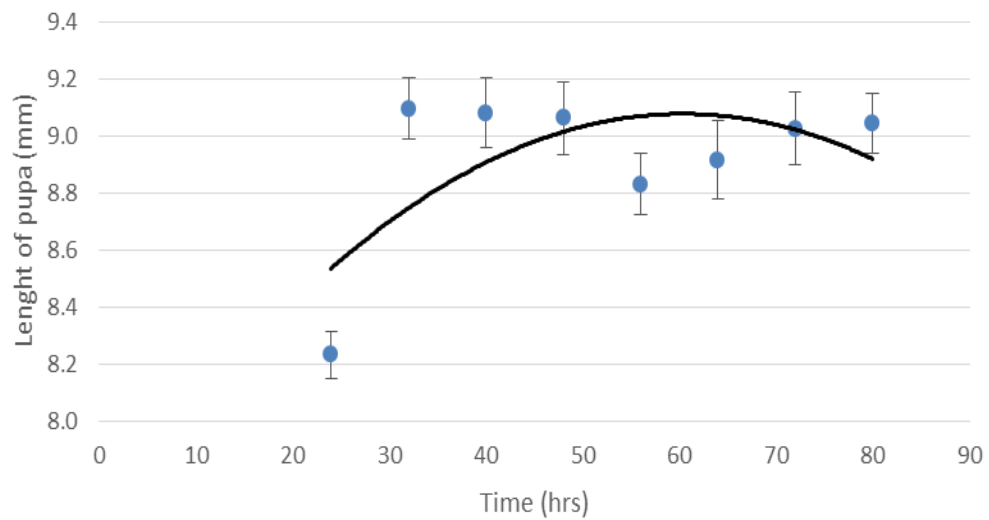
Ch. megacephala ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4-17 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมด ชั่วโมงที่ 96 พบว่าเวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้คือ ชั่วโมงที่ 80 (รูปที่ 4-17 ขวา) (เก็บผลทุก ๆ 8 ชั่วโมง)

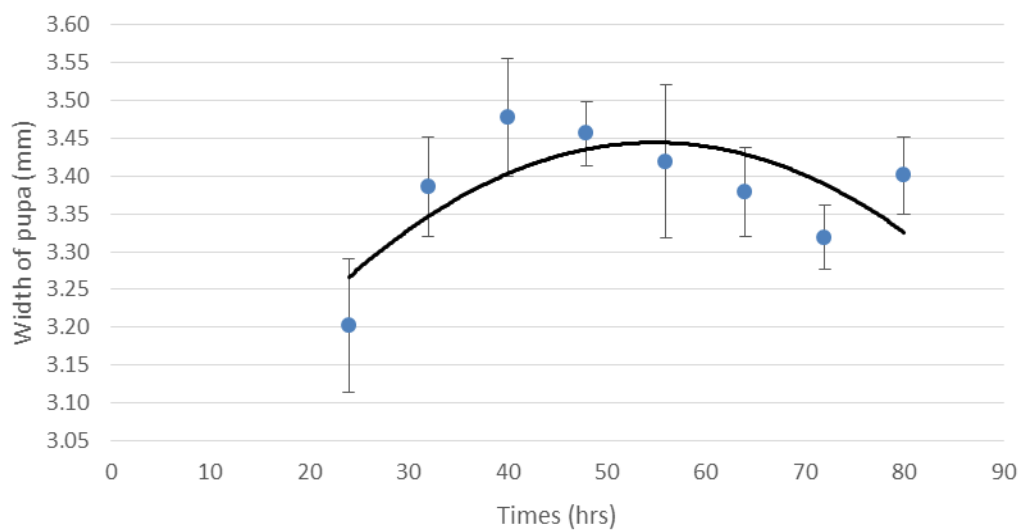


รูปที่ 4-17 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 80 (ขวา)

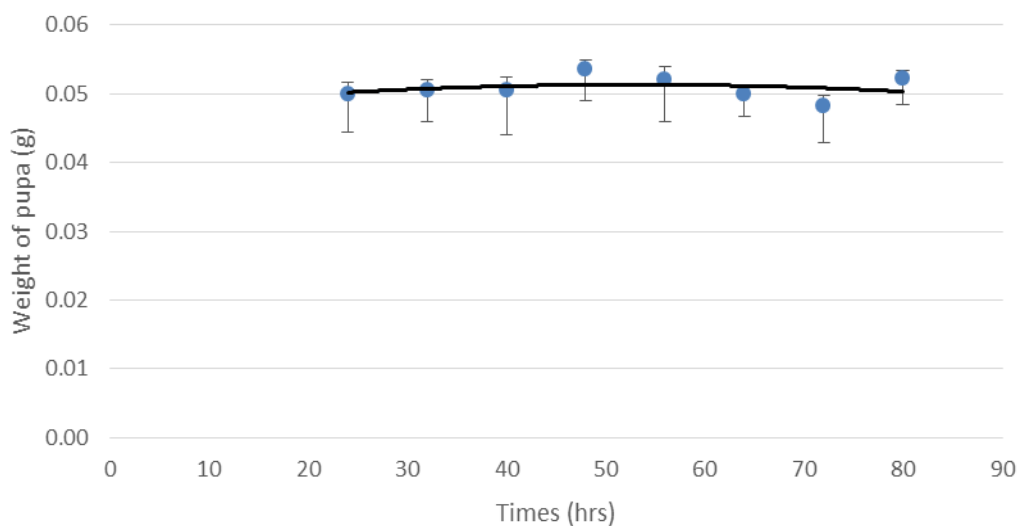
ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ต่อเวลา (รูปที่ 4-18 ถึงรูปที่ 4-20) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือชั่วโมงที่ 24 มีความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย 8.2329±0.0837 มิลลิเมตร 3.2024±0.0888 มิลลิเมตร และ 0.0500±0.0017 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับค่าความยาวเฉลี่ยของดักแด้ระยะสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 80) ที่มีค่าเท่ากับ 9.0459±0.1057 มิลลิเมตร ($F_{29} = 6.22$, $P = 0.0001$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับ ความกว้างและน้ำหนักเฉลี่ย ของ ชั่วโมงที่ 80 ที่มีค่า 3.4011±0.0511 มิลลิเมตร ($F_{29} = 1.57$, $P = 0.1580$) และ 0.0523±0.0012 กรัม ($F_{29} = 1.08$, $P = 0.3820$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-5)



รูปที่ 4-18 ความยาวเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ($F_{29} = 6.22$, $P = 0.0001$)



รูปที่ 4-19 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ($F_{29} = 1.57$, $P = 0.1580$)



รูปที่ 4-20 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ($F_{29} = 1.08$, $P = 0.3820$)

ตารางที่ 4-5 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส

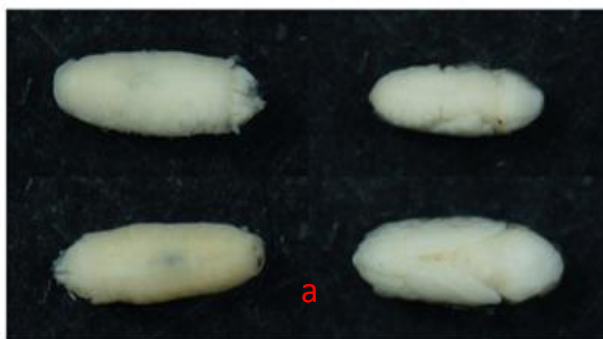
Time (h)	mean± SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
24	8.2329±0.0837	3.2024±0.0888	0.0500±0.0017
32	9.0981±0.1072	3.3858±0.0659	0.0505±0.0015
40	9.0834±0.1247	3.4776±0.0782	0.0504±0.0021
48	9.0640±0.1274	3.4561±0.0426	0.0535±0.0015
56	8.8327±0.1061	3.4190±0.1013	0.0521±0.0019
64	8.9182±0.1364	3.3784±0.0586	0.0500±0.0011
72	9.0287±0.1278	3.3186±0.0425	0.0482±0.0016
80	9.0459±0.1057	3.4011±0.0511	0.0523±0.0012

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ ($F_{29} = 6.22$, $P = 0.0001$); $F_{29} = 1.57$, $P = 0.1580$; $F_{29} = 1.08$, $P = 0.3820$)

4.2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* เมื่อผ่าเอาเปลือกดักแด้ออกพบว่า ชั่วโมงที่ 16 (รูปที่ 4-21a) ดักแด้มีลักษณะเป็นทรงกระบอกปลายทั้งสองข้างมน มีสีขาวนวล และยังพบตัวอ่อนที่มีการเจริญของส่วนหัวและมีขาที่ชัดเจน ยังคงมีสีขาวนวลอยู่ ชั่วโมงที่ 24-64 (รูปที่ 4-21b-c) ดักแด้มีการเจริญของส่วนหัวและขาเหมือนเช่นเดิม เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 72 (รูปที่ 4-21d) ตาจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีแดง แต่ส่วนอื่นๆ ยังคงสีขาวนวล ตัวอ่อนจะเริ่มมีสีเข้มขึ้นที่ดวงตาและลำตัวเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ชั่วโมงที่ 80 (รูปที่ 4-21e) จนกระทั่งลำตัวเป็นสีดำ ชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 4-21f) และออกจากดักแด้กลายเป็นตัวเต็มวัย ชั่วโมงที่ 104

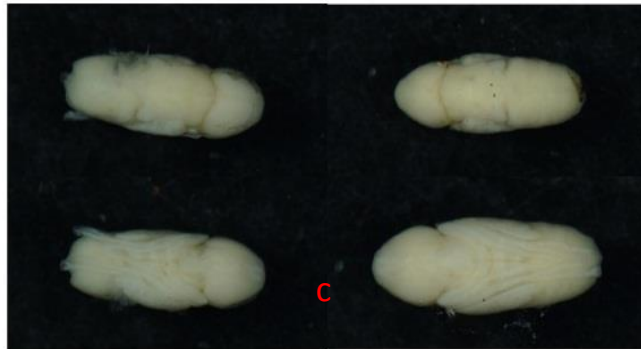
16 Hrs.



24 Hrs.



64 Hrs.



72 Hrs.



80 Hrs.



96 Hrs.



รูปที่ 4-21 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้ชั่วโมงที่ 16 (a) ชั่วโมงที่ 24 (b) ชั่วโมงที่ 64 (c) ชั่วโมงที่ 72 (d) ชั่วโมงที่ 80 (e) และชั่วโมงที่ 96 (f)

4.3. ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chysomya rufifacies* ระยะดักแด้ (pupae) สู่ระยะตัวเต็มวัย (enclosion) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้

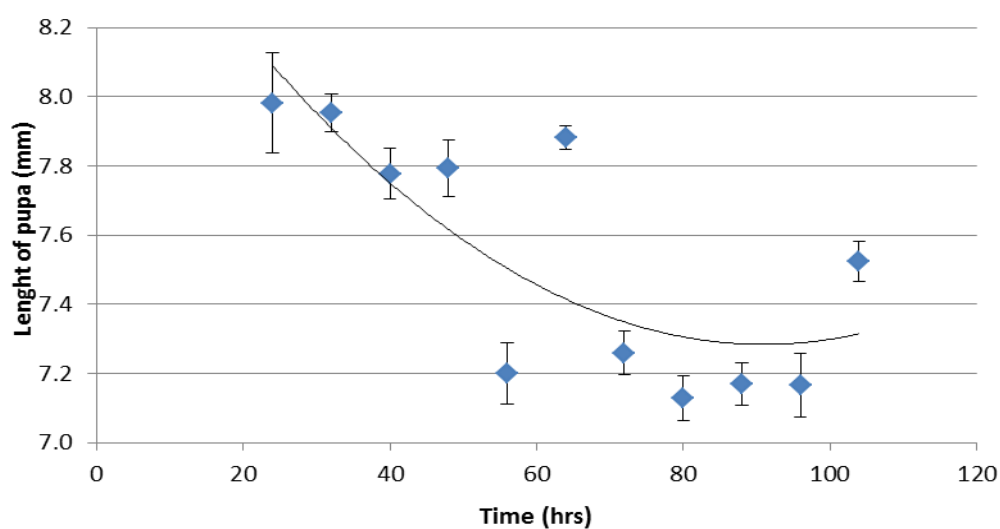
4.3.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4-22 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดชั่วโมงที่ 112 ดังนั้นชั่วโมงที่ 104 (รูปที่ 4-22 ขวา) คือเวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้ (เก็บผลทุก ๆ 8 ชั่วโมง)

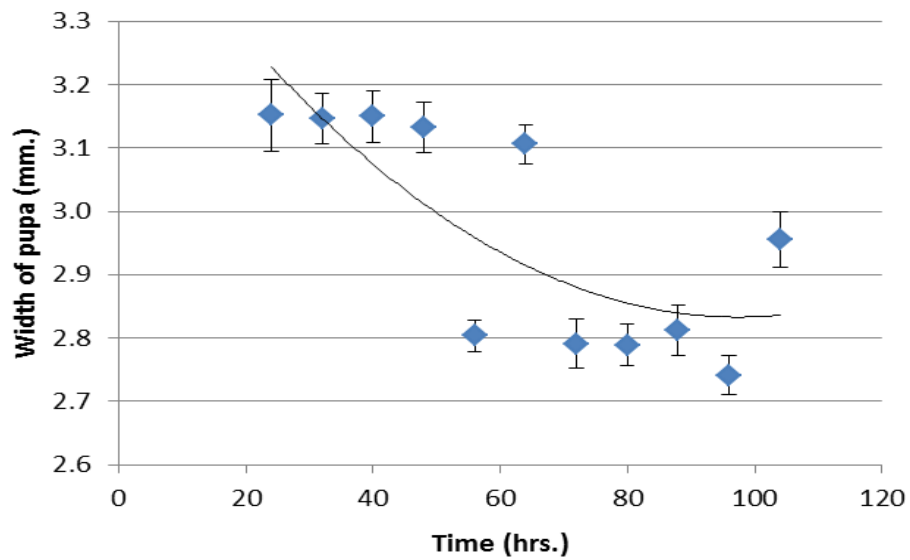


รูปที่ 4-22 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 80 (ขวา)

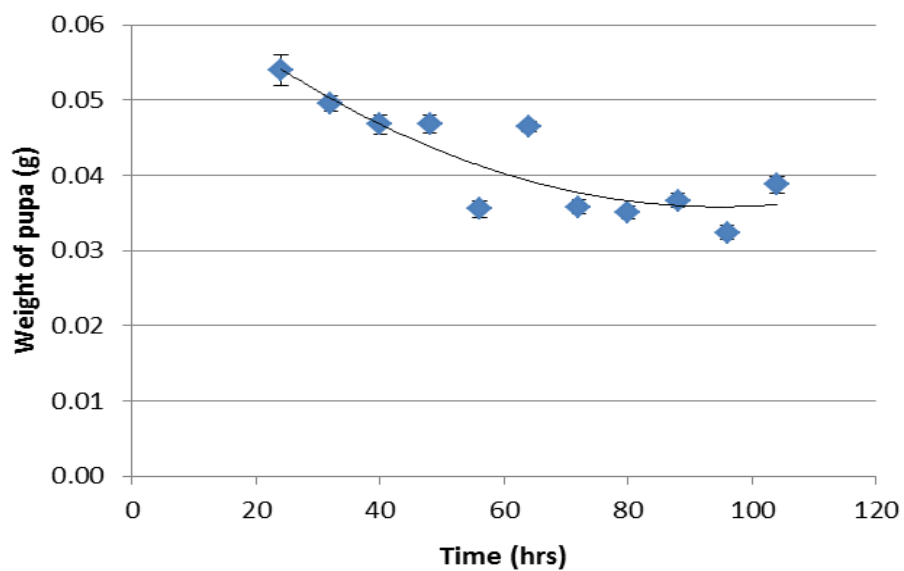
ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย (mean \pm SE) ต่อเวลา (รูปที่ 4-23 ถึงรูปที่ 4-25) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือชั่วโมงที่ 24 มีค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักคือ 7.9816 ± 0.1448 มิลลิเมตร 3.1516 ± 0.0568 มิลลิเมตร และ 0.0540 ± 0.0020 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยความยาวและน้ำหนักของดักแด้ระยะสุดท้ายชั่วโมงที่ 104 มีค่า 7.5230 ± 0.0579 มิลลิเมตร ($F_{29} = 21.07$, $P = 0.0001$) และ 0.0388 ± 0.0011 กรัม ($F_{29} = 42.19$, $P = 0.0001$) ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยความกว้างที่มีค่าคือ 2.9555 ± 0.0442 มิลลิเมตร ($F_{29} = 22.35$, $P = 0.0001$) (ตารางที่ 4-6)



รูปที่ 4-23 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ครั้งที่ 1 ($F_{29} = 21.07$, $P = 0.0001$)



รูปที่ 4-24 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=42.19$, $P=0.0001$)



รูปที่ 4-25 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=22.35$, $P=0.0001$)

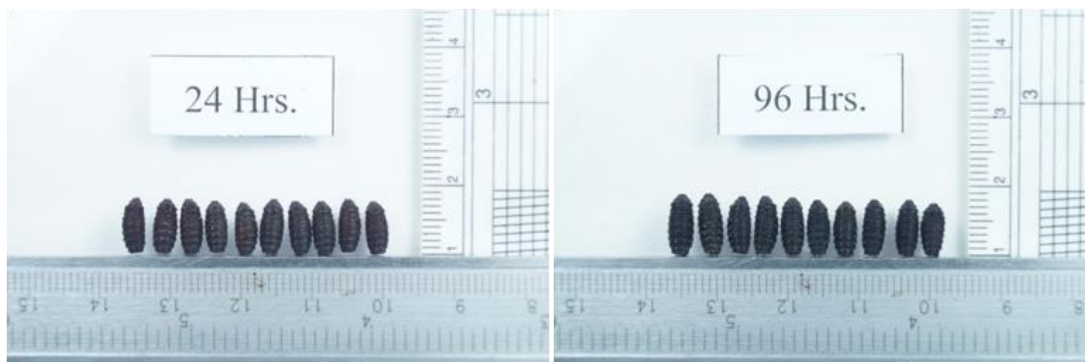
ตารางที่ 4-6 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

Time (h)	mean±SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
24	7.9816±0.1448	3.1516±0.0568	0.0540±0.0020
32	7.9532±0.0540	3.1461±0.0399	0.0495±0.0010
40	7.7775±0.0741	3.1494±0.0401	0.0468±0.0013
48	7.7926±0.0813	3.1322±0.0400	0.0469±0.0012
56	7.1996±0.0898	2.8036±0.0253	0.0355±0.0011
64	7.8816±0.0356	3.1057±0.0303	0.0464±0.0007
772	7.2581±0.0631	2.7912±0.0389	0.0358±0.0009
80	7.1279±0.0643	2.7886±0.0327	0.0351±0.0008
88	7.1686±0.0609	2.8121±0.0391	0.0366±0.0009
96	7.1655±0.0917	2.7414±0.0301	0.0324±0.0009
104	7.5230±0.0579	2.9555±0.0442	0.0388±0.0011

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ ($F_{29} = 21.07, P = 0.0001$; $F_{29} = 42.19, P = 0.0001$; $F_{29} = 22.35, P = 0.0001$)

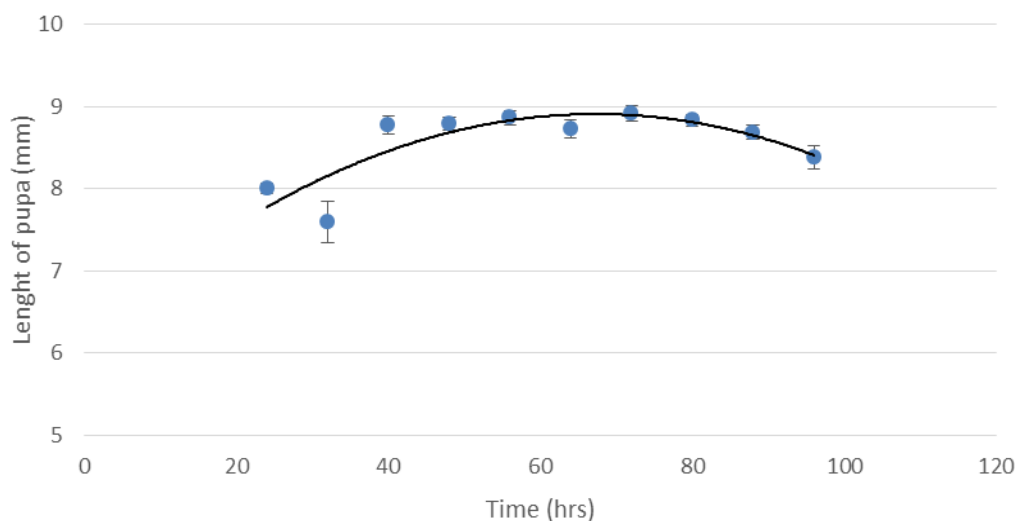
4.3.2 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4-26 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 4-26 ขวา) เวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้อยู่ที่ช่วงเวลาชั่วโมงที่ 88 (เก็บผลทุก ๆ 8 ชั่วโมง)

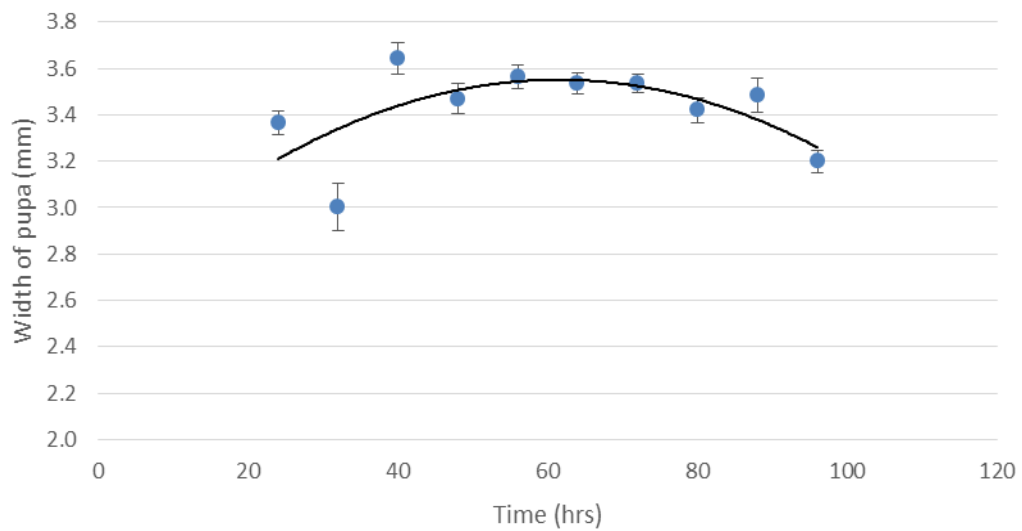


รูปที่ 4-26 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ณ ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 96 (ขวา)

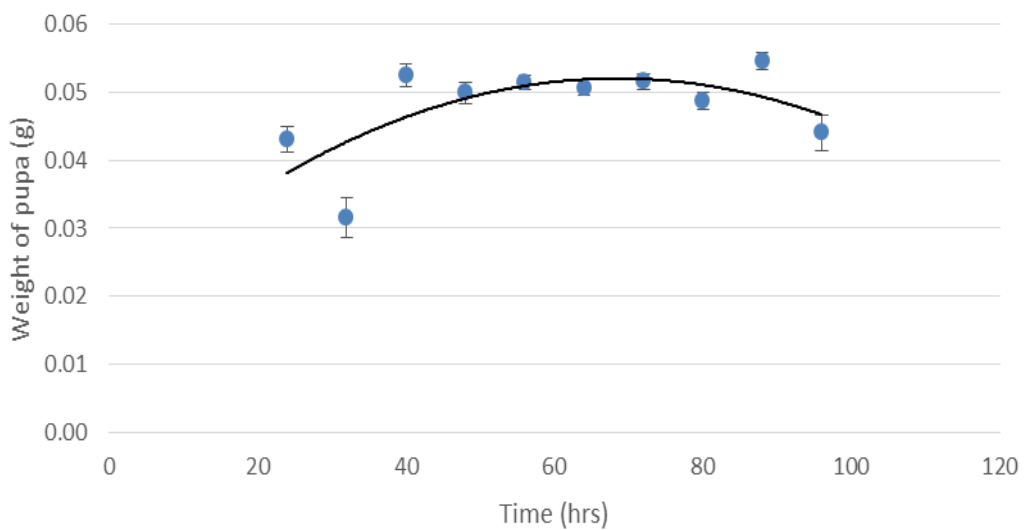
ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย (mean \pm SE) ต่อเวลา (รูปที่ 4-27 ถึงรูปที่ 4-29) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ในชั่วโมงที่ 24 มีค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักคือ 8.0080 ± 0.0628 มิลลิเมตร 3.3654 ± 0.0497 มิลลิเมตร และ 0.0431 ± 0.0019 กรัม ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้ระยะสุดท้ายชั่วโมงที่ 96 โดยมีค่าเท่ากับ 8.3878 ± 0.1416 มิลลิเมตร ($F_{29} = 11.76, P=0.0001$) 3.2003 ± 0.0478 มิลลิเมตร ($F_{29}=14.56, P=0.0001$) และ 0.0441 ± 0.0027 กรัม ($F_{29}=9.48, P=0.0001$) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-7)



รูปที่ 4-27 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=11.76, P=0.003$)



รูปที่ 4-28 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=14.56$, $P=0.0001$)



รูปที่ 4-29 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=9.48$, $P=0.0001$)

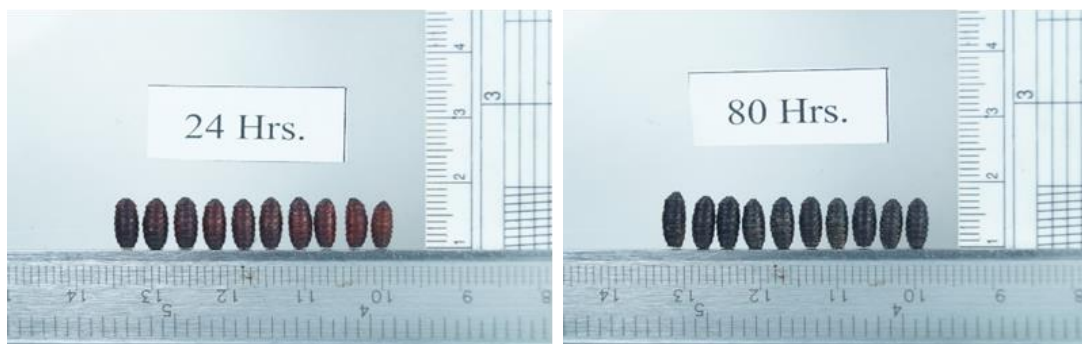
ตารางที่ 4-7 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส

Time (h)	mean±SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
24	8.0080±0.0628	3.3654±0.0497	0.0431±0.0019
32	7.5973±0.2500	3.0018±0.1030	0.0316±0.0029
40	8.7754±0.1097	3.6452±0.0676	0.0525±0.0017
48	8.7954±0.0771	3.4693±0.0666	0.0500±0.0015
56	8.8700±0.0854	3.5650±0.0509	0.0515±0.0010
64	8.7290±0.1095	3.5371±0.0440	0.0507±0.0012
72	8.9166±0.0952	3.5344±0.0388	0.0516±0.0011
80	8.8362±0.0676	3.4197±0.0532	0.0489±0.0013
88	8.6900±0.0899	3.4840±0.0746	0.0547±0.0012
96	8.3878±0.1416	3.2003±0.0478	0.0441±0.0027

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ ($F_{29} = 11.76, P = 0.0001$; $F_{29} = 14.56, P = 0.0001$; $F_{29} = 9.48, P = 0.0001$)

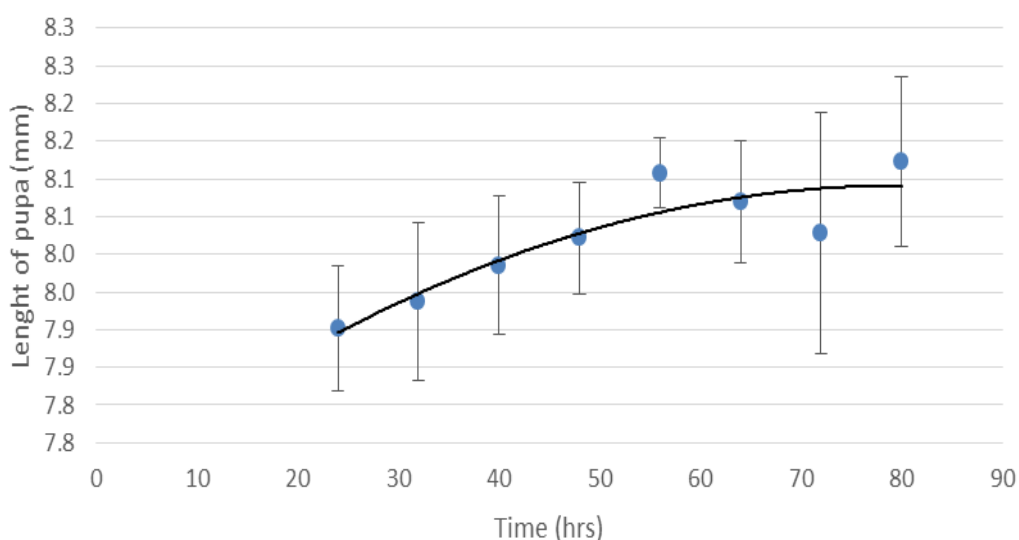
4.3.3 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส

การเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส พบว่า ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้ ชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4-30 ซ้าย) และดักแด้มีการเจริญเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดชั่วโมงที่ 88 (รูปที่ 4-30 ขวา) เวลาสุดท้ายที่พบว่ายังคงอยู่ในระยะดักแด้คือ ชั่วโมงที่ 80 (เก็บผลทุก ๆ 8 ชั่วโมง)

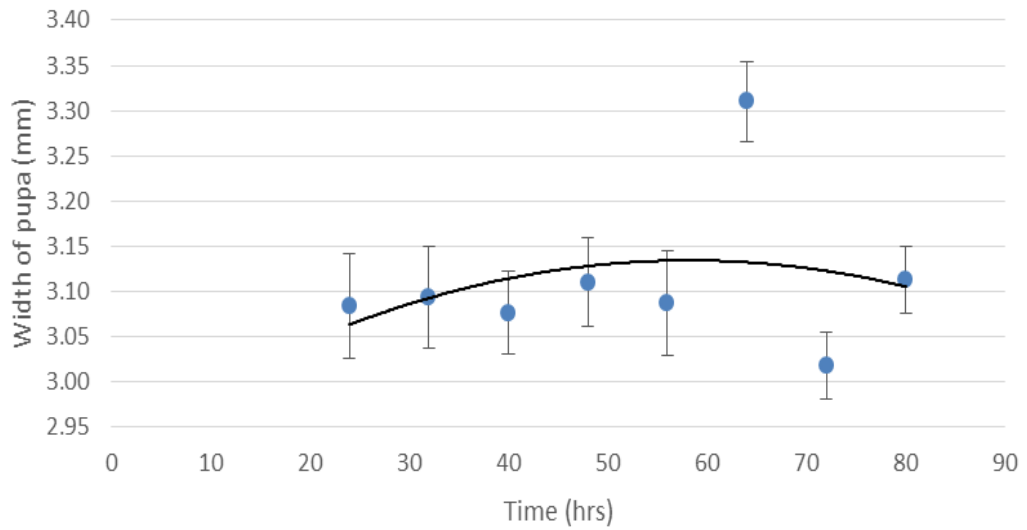


รูปที่ 4-30 ดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffacies* ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส ชั่วโมงที่ 24 (ซ้าย) และชั่วโมงที่ 80 (ขวา)

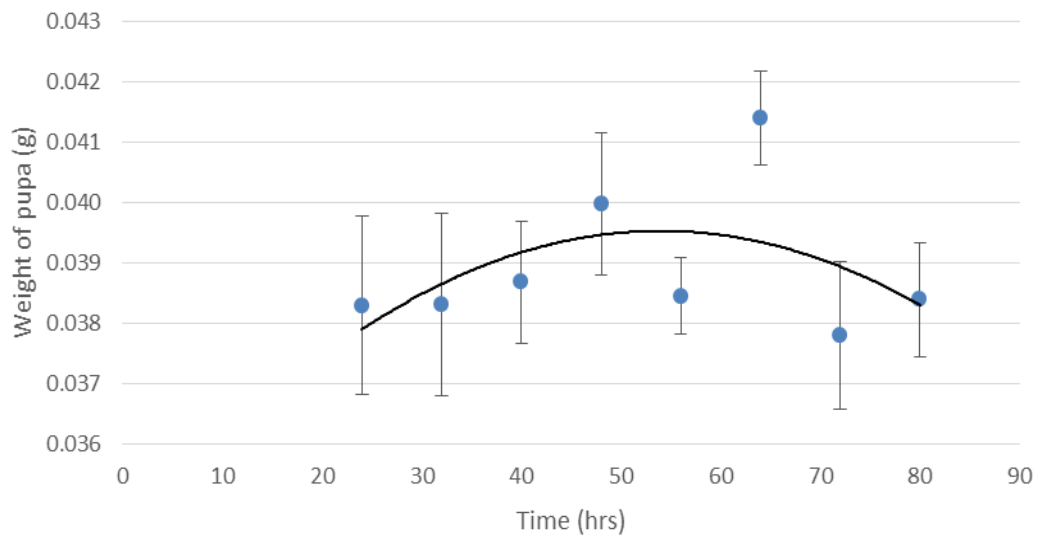
ความยาว ความกว้าง และน้ำหนักเฉลี่ย (mean \pm SE) ต่อเวลา (รูปที่ 4-31 ถึงรูปที่ 4-33) แสดงให้เห็นว่าเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้คือชั่วโมงที่ 24 มีค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักคือ 8.0080 ± 0.0628 มิลลิเมตร 3.3654 ± 0.0497 มิลลิเมตร และ 0.0431 ± 0.0019 กรัม ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยความยาว และน้ำหนักของดักแด้ระยะสุดท้ายชั่วโมงที่ 80 มีค่า 8.3878 ± 0.1416 มิลลิเมตร ($F_{29}=0.62$, $P=0.7360$) และ 0.0441 ± 0.0027 กรัม ($F_{29}=1.1$, $P=0.3730$) ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างค่าเฉลี่ยความกว้างของดักแด้ระยะสุดท้ายชั่วโมงที่ 80 เท่ากับ 3.2003 ± 0.0478 มิลลิเมตร ($F_{29}=3.04$, $P=0.0007$) (ตารางที่ 4-8)



รูปที่ 4-31 ความยาวเฉลี่ย (mean \pm SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. ruffacies* ที่อุณหภูมิ 35 ± 2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=0.62$, $P=0.7360$)



รูปที่ 4-32 ความกว้างเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=1.1$, $P=0.3730$)

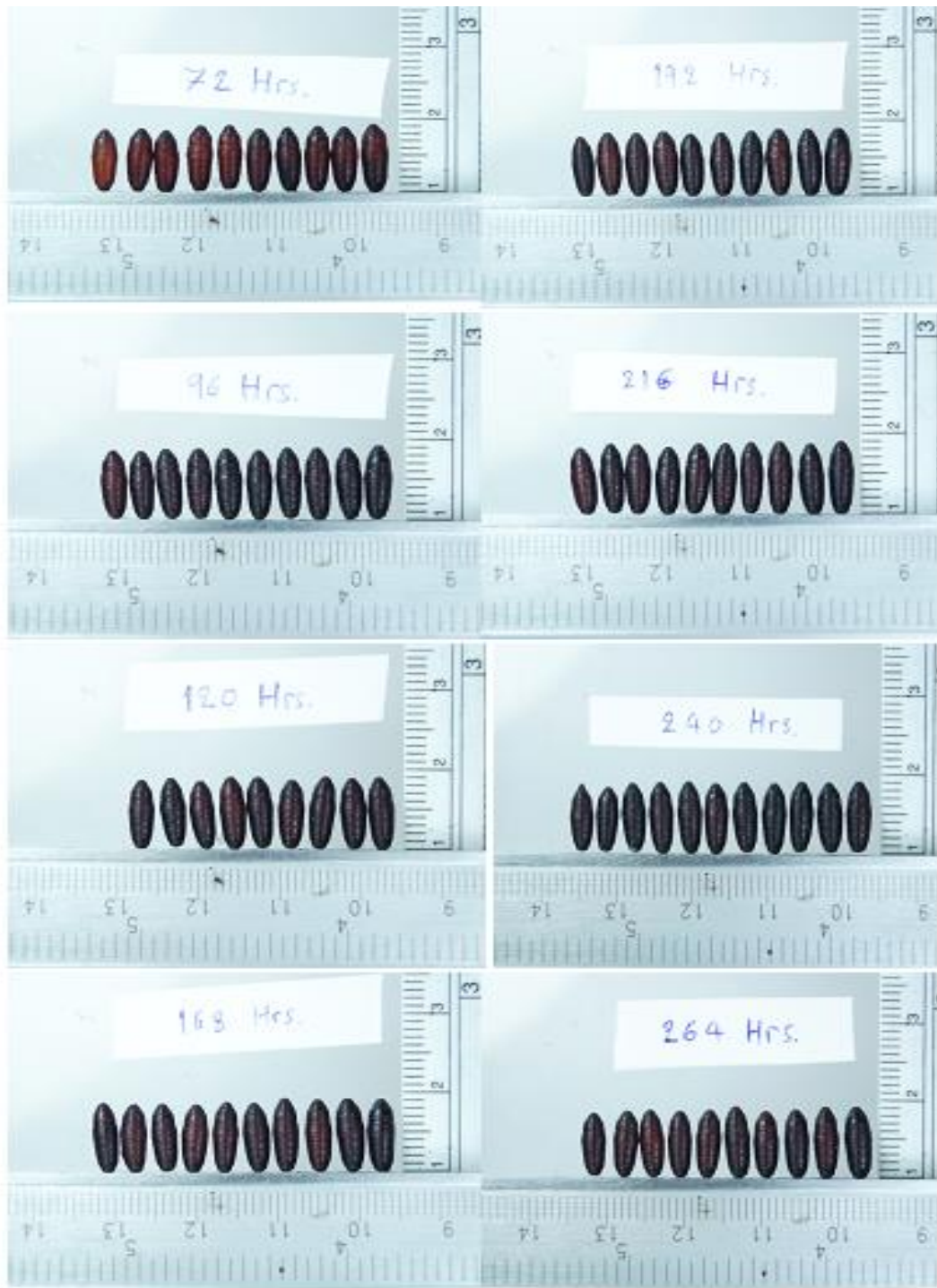


รูปที่ 4-33 น้ำหนักเฉลี่ย (mean±SE) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส ($F_{29}=3.04$, $P=0.0007$)

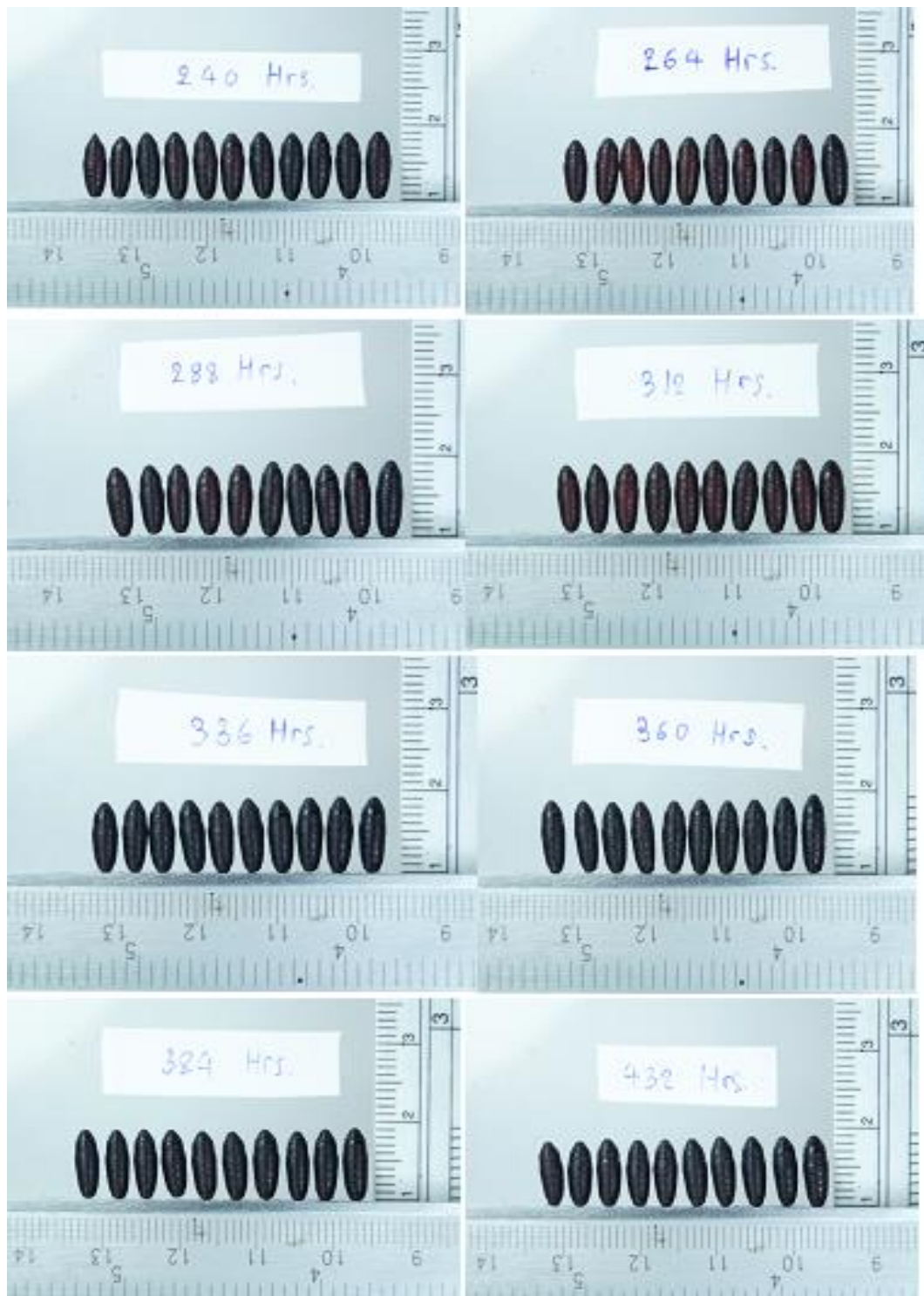
ตารางที่ 4-8 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่ 35 ± 2 องศาเซลเซียส

Time (h)	mean \pm SE		
	Length (mm)	Width (mm)	Weight (g)
24	7.9014 \pm 0.0829	3.0842 \pm 0.0580	0.0383 \pm 0.0015
32	7.9371 \pm 0.1053	3.0937 \pm 0.0564	0.0383 \pm 0.0015
40	7.9851 \pm 0.0922	3.0766 \pm 0.0455	0.0387 \pm 0.0010
48	8.0214 \pm 0.0747	3.1103 \pm 0.0485	0.0400 \pm 0.0012
56	8.1080 \pm 0.0458	3.0871 \pm 0.0584	0.0385 \pm 0.0006
64	8.0691 \pm 0.0806	3.3099 \pm 0.0449	0.0414 \pm 0.0008
72	8.0281 \pm 0.1605	3.0183 \pm 0.0367	0.0378 \pm 0.0012
80	8.1230 \pm 0.1119	3.1131 \pm 0.0372	0.0384 \pm 0.0009

*ค่าสถิติสำหรับความกว้าง ความยาวและน้ำหนัก ตามลำดับ ($F_{29}=0.62$, $P=0.7360$; $F_{29}=1.1$, $P=0.3730$; $F_{29}=3.04$, $P=0.0007$)



รูปที่ 4-34 เปรียบเทียบขนาดและสีของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ช่วงเริมการเจริญต่าง ๆ



รูปที่ 4-35 เปรียบเทียบขนาดและสีของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 20 ± 2 องศาเซลเซียส ที่ชั่วโมงการเจริญต่าง ๆ

4.4 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนภายในดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียส

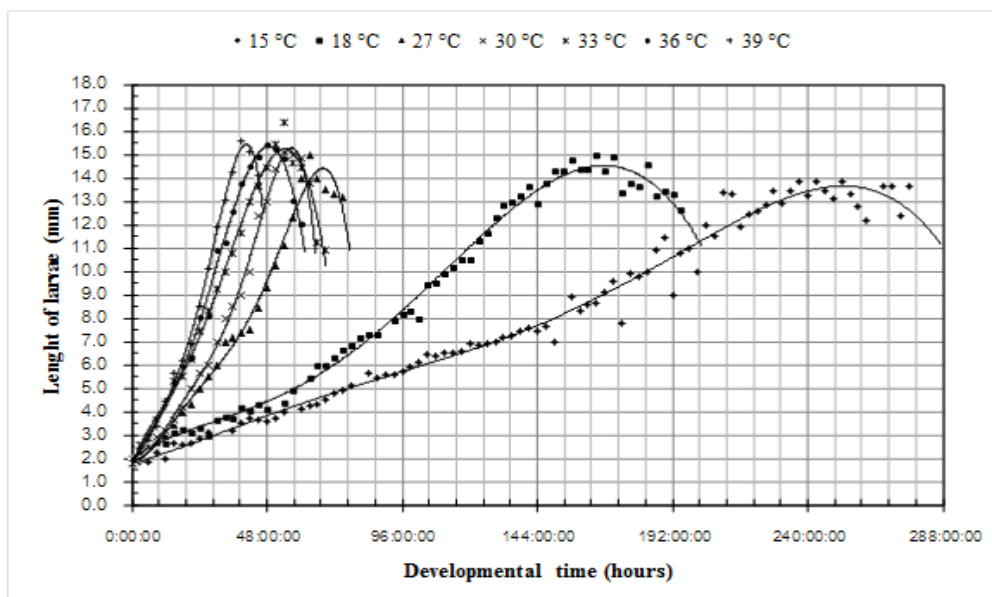
ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้ภายในคอกคูนของแมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* หลังจากผ่าเอาเปลือกดักแด้หรือคอกคูนออกพบว่า ณ ชั่วโมงที่ 24 และ 36 (รูปที่ 4-34a-b) ดักแด้ข้างในมีลักษณะเป็นทรงกระบอกปลายทั้งสองข้างกลมมน มีสีขาวนวล มองเห็นปล้องลำตัวแต่ละปล้องชัดเจน บริเวณตาทั้งสองข้างเริ่มเห็นบริเวณที่ก่อตัวของอวัยวะอยู่ด้านปลายของส่วนหัวทั้งสองข้าง เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 40 พบว่าดักแด้ มีการเจริญของส่วนหัวที่ชัดเจนแยกกับส่วนลำตัว และมีการเจริญของขาทั้งสามคู่ ที่บริเวณปล้องอก สีของดักแด้ยังคงมีสีขาวนวล (รูปที่ 4-34c) และยังคงเป็นลักษณะนี้จนกระทั่งชั่วโมงที่ 80 ชั่วโมง ณ ชั่วโมงนี้ ตาทั้งสองข้างมีสีขาว ออกชมพู เมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 88 ดักแด้มีตาสีแดงเข้มและบางตัวมีลำตัวเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (รูปที่ 4-34 d-e) แต่ในชั่วโมงที่ 96 พบว่าดักแด้มีตาสีแดงเข้มถึงน้ำตาลดำ มีปีกทั้งสองข้างที่เจริญดี สามารถมองเห็นได้ชัดเจน ในปล้องอก (รูปที่ 4-34f) และลำตัวสีขาวนวล เมื่อเข้าสู่ระยะการเจริญชั่วโมงที่ 104 ดักแด้มีสีตาที่เข้มขึ้นเป็นสีดำ ลำตัวมีสีดำ น้ำตาล (รูปที่ 4-34g) และออกจากดักแด้กลายเป็นตัวเต็มวัยเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 110 (รูปที่ 4-34h)



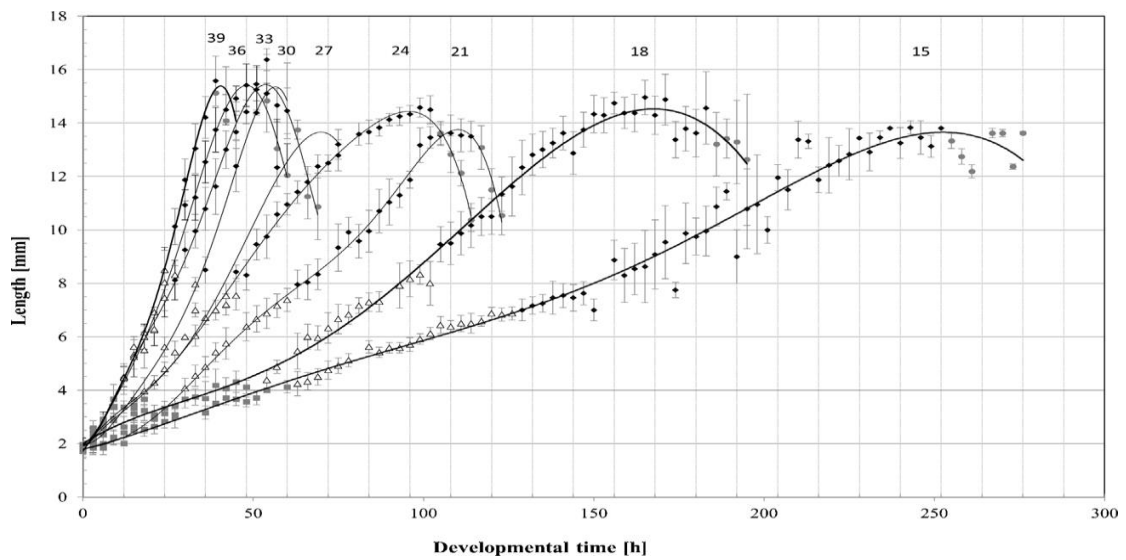
รูปที่ 4-36 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้ภายในคอกคูนของแมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacie* ณ ชั่วโมงที่ 24 (a) ชั่วโมงที่ 36 (b) ชั่วโมงที่ 40 (c) ชั่วโมงที่ 80 (d) ชั่วโมงที่ 88 (e) ชั่วโมงที่ 96 (f) และชั่วโมงที่ 104 (g, h)

4.5 การเจริญเติบโต การสร้าง Isomorphen diagram และ Isomegalen diagram ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* และ *Ch. rufifacies*

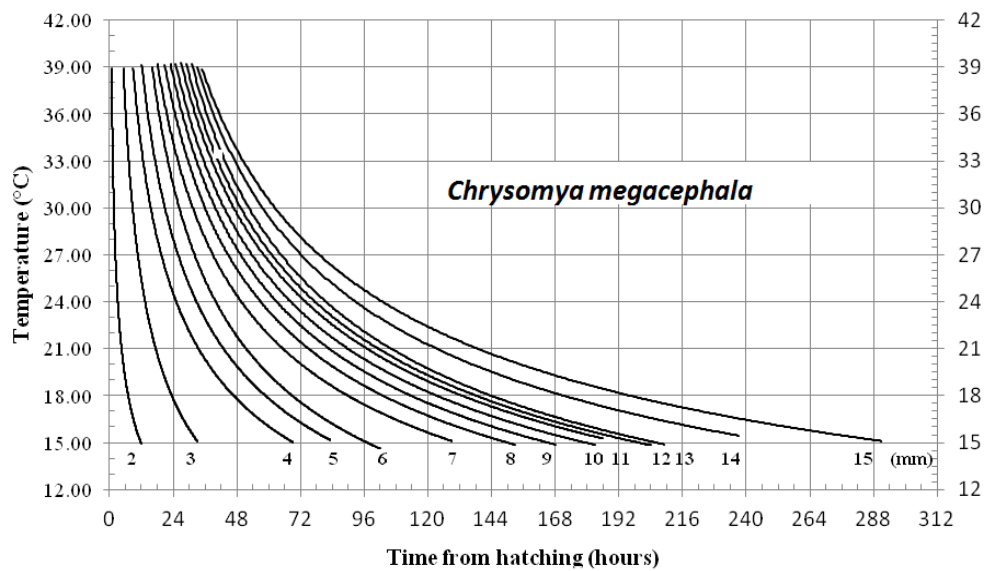
การเจริญเติบโตของระยะตัวหนอนที่อุณหภูมิคงที่ ตั้งแต่ $15-39\pm 2$ °C พบว่าตัวหนอนมีขนาดความยาวเฉลี่ยตั้งแต่ 1.98 ± 2.23 มิลลิเมตรในระยะเวลาการเจริญเริ่มต้น ขนาดใหญ่สุดเฉลี่ย 15.554 ± 3.67 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 39 ± 2 °C ใช้เวลาการเจริญต่ำสุด คือ 48 ชั่วโมง ที่ 15 ± 2 °C ใช้เวลาการเจริญนานสุดคือ 304 ชั่วโมง รูปที่ 4-37 ถึงรูปที่ 4-38



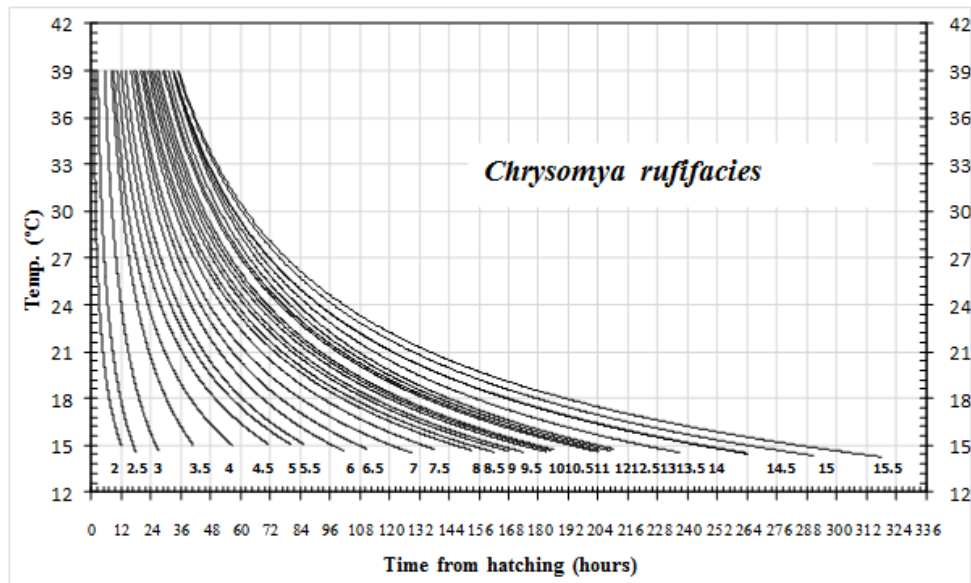
รูปที่ 4-37 Isomegalen-diagram ของ *Ch. megacephala* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C



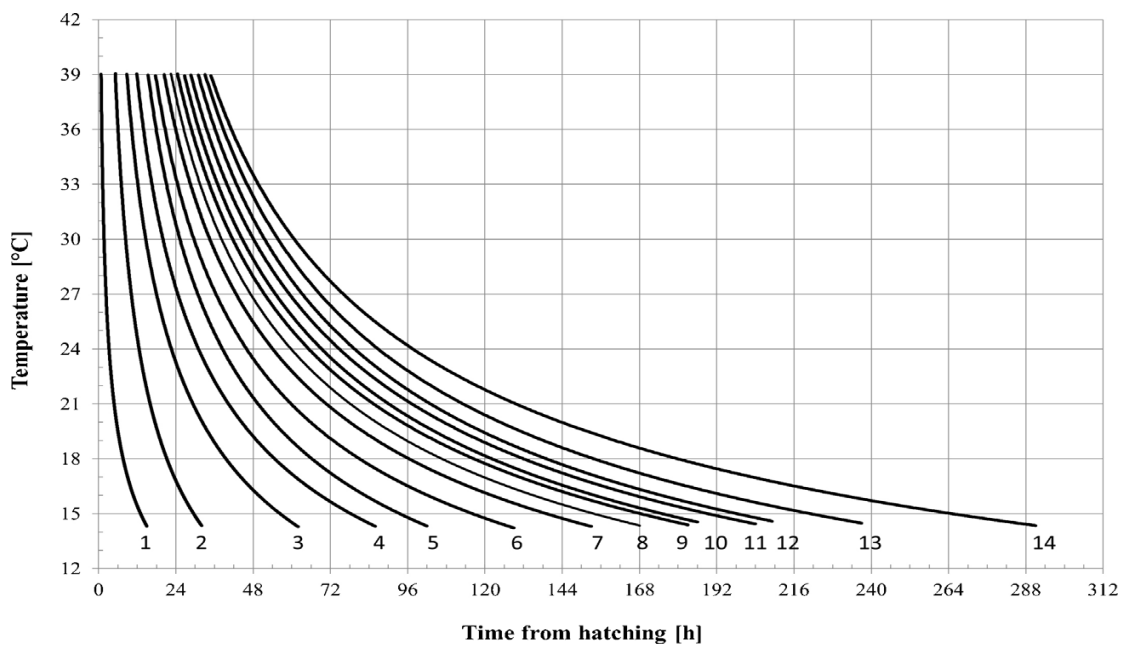
รูปที่ 4-38 Isomegalen-diagram ของ *Ch. ruffifacies* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C



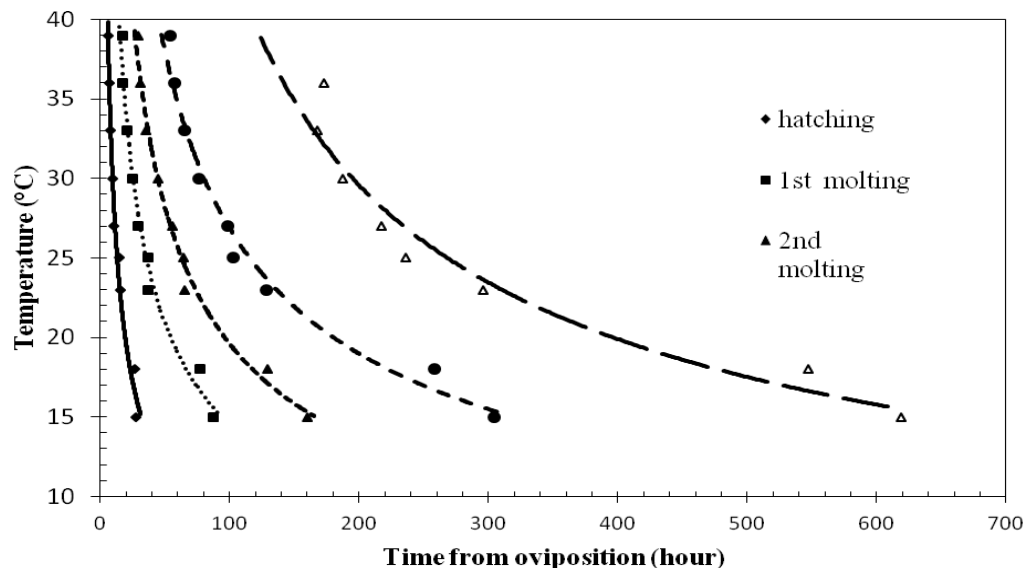
รูปที่ 4-39 Isomegalen-diagram ของ *Ch. megacephala* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C



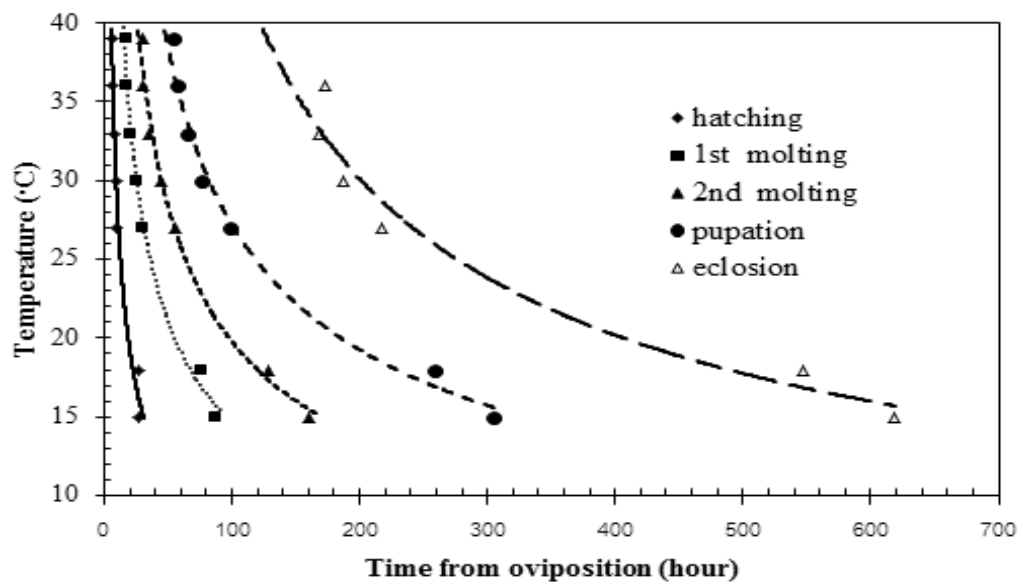
รูปที่ 4-40 Isomegalen-diagram ของ *Ch. ruffifacies* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C



รูปที่ 4-41 Isomegalen-diagram ของ *Ch. ruffifacies* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-40\pm 2$ °C



รูปที่ 4-42 Isomorphen-diagram ของ *Ch. rufifacies* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C



รูปที่ 4-43 Isomorphen-diagram ของ *Ch. megacephala* กับระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง) ที่ อุณหภูมิคงที่ $15-39\pm 2$ °C

4.6 การคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมชั่วโมงและความร้อนสะสมวัน ของแมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* และ *Ch. rufifacies*

ตารางที่ 4-9 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 10 (B_{10})

Stage	ADH of <i>Ch. rufifacies</i> at different temperature (B_{10})						
	15 °C	18 °C	27 °C	30 °C	33°C	36 °C	39 °C
Eggs	135.7	211.92	174.93	185	190.21	184.6	178.06
1 st instars	436.4	614.88	501.84	496.2	472.19	454.74	507.79
2 nd instars	802.15	1034.08	946.9	896.4	800.86	806.26	857.82
3 rd instars	1522.9	2067.52	1680.11	1519.6	1494.31	1495.52	1564.55
Pupa	3093.1	4380.16	3688.32	3741.8	3864.69	4488.38	

ตารางที่ 4-10 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 9.5 ($B_{9.5}$)

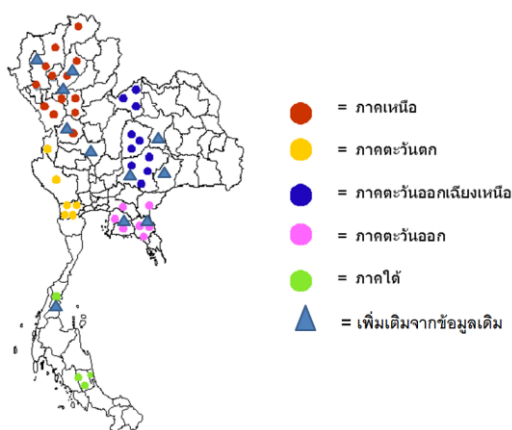
Stage	ADH of <i>Ch. rufifacies</i> at different temperature ($B_{9.5}$)						
	15 °C	18 °C	27 °C	30 °C	33°C	36 °C	39 °C
Eggs	149.27	225.165	180.08	189.63	194.35	188.15	181.13
1 st instars	480.04	653.31	516.60	508.61	482.46	463.49	516.55
2 nd instars	882.365	1098.71	974.75	918.81	818.27	821.77	872.61
3 rd instars	1675.19	2196.74	1729.53	1557.59	1526.80	1524.28	1591.53
Pupa	3402.41	4653.92	3796.80	3835.35	3948.71	4574.70	

ตารางที่ 4-11 ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (accumulated degree hours) คำนวณโดยใช้ค่า Base temperature 11 (B_{11})

Stage	ADH of <i>Ch. ruffifacies</i> at different temperature (B_{11})						
	15 °C	18 °C	27 °C	30 °C	33°C	36 °C	39 °C
Eggs	108.56	185.43	164.64	175.75	181.94	177.50	171.92
1 st instars	349.12	538.02	472.32	471.39	451.66	437.25	490.28
2 nd instars	641.72	904.82	891.20	851.58	766.04	775.25	828.24
3 rd instars	1218.32	1809.08	1581.28	1443.62	1429.34	1438.00	1510.60
Pupa	2474.48	3832.64	3471.36	3554.71	3696.66	4315.75	

4.7 ผลการจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวโดยใช้ชีวโมเลกุล (Molecular Identification)

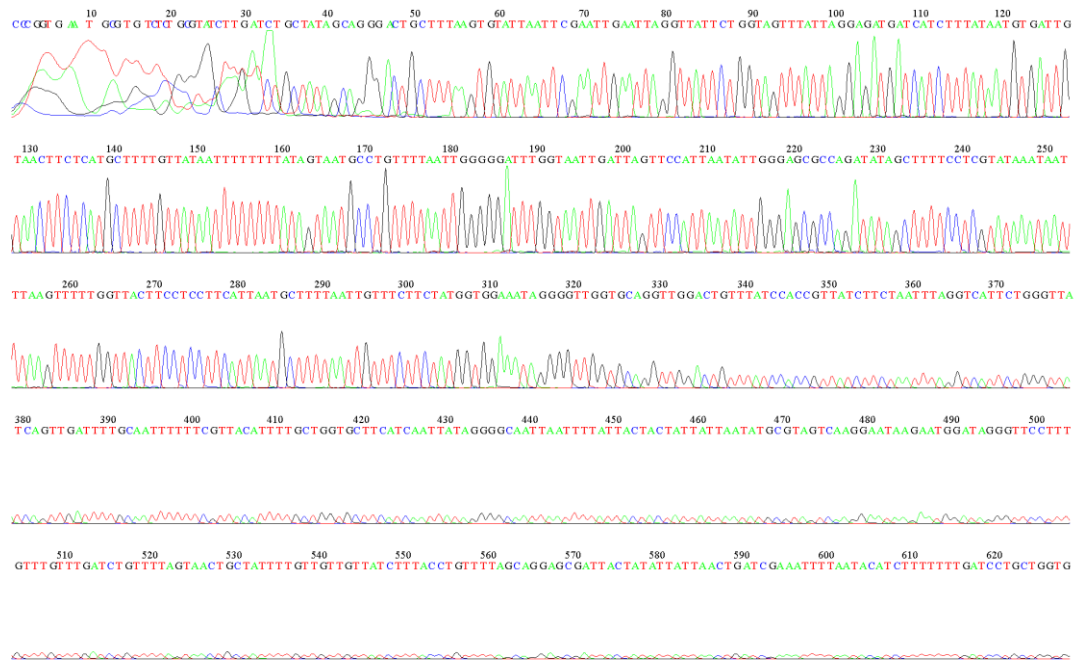
ผลการจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวที่ได้จากการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศไทยเพิ่มเติมจากข้อมูลเดิมที่เก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ในปี 2559 จำนวน 9 บริเวณมีตัวอย่างทั้งหมด 329 ตัวอย่าง (รูปที่ 4-44) จำแนกชนิด (species identification) โดยเทคนิคชีววิทยาโมเลกุล และนำตัวอย่าง sequencing chromatogram of nucleic acids (รูปที่ 4-45 ถึงรูปที่ 4-50) วิเคราะห์เพื่อจำแนกชนิดโดยใช้ Nucleotide BLAST-NCBI และ Bold system พบจำนวนชนิดของแมลงวันหัวเขียว ดังตารางที่ 4-12



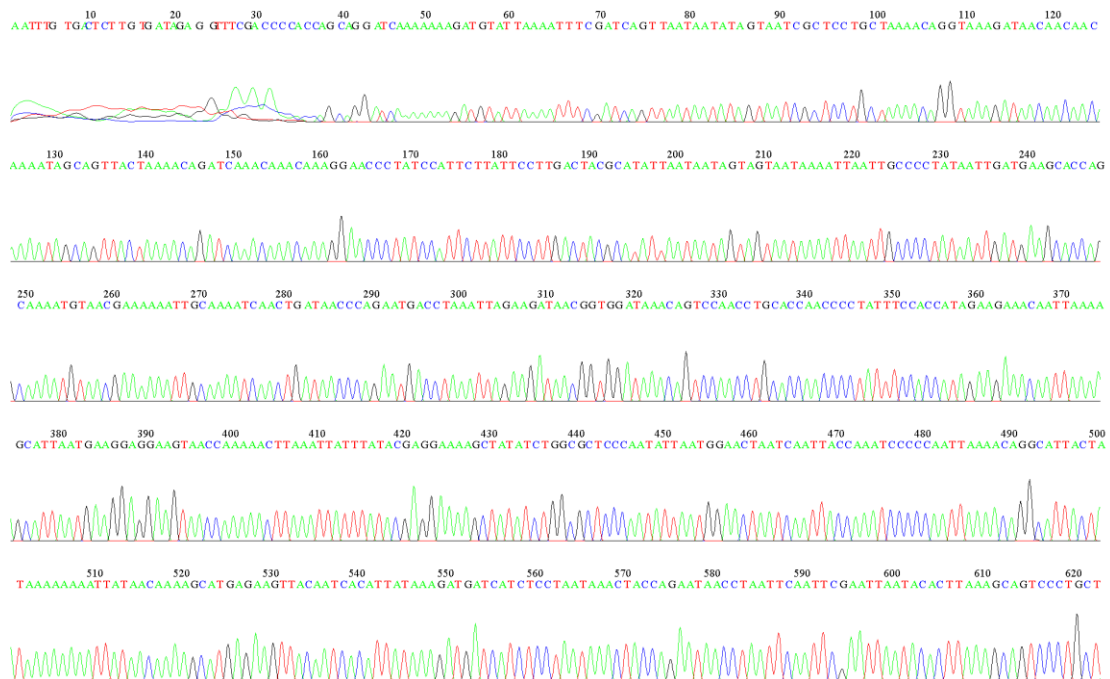
รูปที่ 4-44 บริเวณที่สุ่มเก็บตัวอย่างแมลงวันหัวเขียวในประเทศไทย บริเวณ ภาคเหนือภาคกลาง ภาคใต้ ภาคตะวันออก และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อจำแนกชนิด

ตารางที่ 4-12 ตารางชนิดของแมลงวันหัวเขียวที่จำแนกชนิดโดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาโมเลกุล blast ด้วย NCBI และ BOLD system

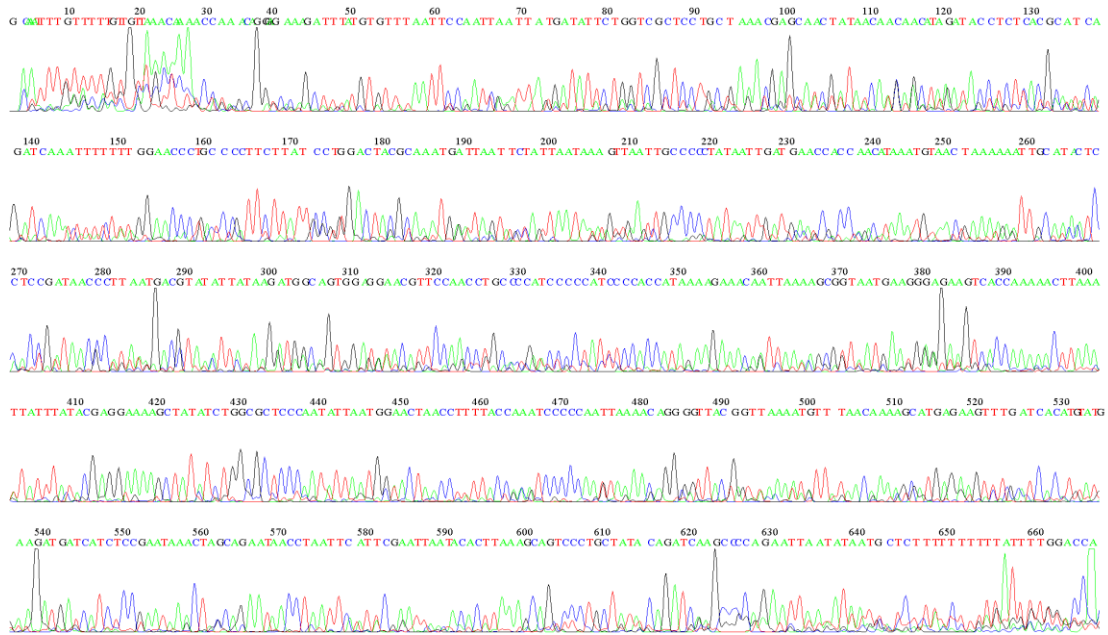
No.	location	NCBI Best	Query cover	Ident	e-value	BOLD ID	Similarity
1	Chon Buri, T	<i>Chrysomya rufifacies</i>	90	99	0.0	<i>Chrysomya rufifacies</i>	100
2	Chon Buri, T	<i>Ch. Megacephala</i>	93	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
3	Khao Yai, TH	<i>Ch. Megacephala</i>	88	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
4	Chanta Buri, T	<i>Ch. Megacephala</i>	80	77	1.00E-92	no match	none
5	Prajin Buri, T	<i>Ch. Rufifacies</i>	93	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	99.84
6	LUI, TH	<i>Ch. Rufifacies</i>	94	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
7	Lampang, TH	<i>Ch. Rufifacies</i>	92	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
8	Chiang Mai, T	<i>Ch. Rufifacies</i>	94	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
9	Prae, TH	<i>Ch. Rufifacies</i>	90	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	99.84
10	Pisanulok, T	<i>Ch. Rufifacies</i>	91	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
11	Lampoon, TI	<i>Ch. Rufifacies</i>	92	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
12	Chon Buri, T	<i>Ch. megacephala</i>	89	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
13	Chumporn, T	<i>Ch. megacephala</i>	92	98	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	99.66
14	Karnchana B	<i>Ch. megacephala</i>	78	96	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	98
15	Khon khan, T	<i>Ch. megacephala</i>	97	96	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	98.89
16	Khao Yai, TH	<i>Ch. megacephala</i>	94	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
17	Lop Buri, TH	<i>Ch. megacephala</i>	92	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
18	Chon Buri, T	<i>Ch. megacephala</i>	88	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
19	Chon Buri, T	<i>Ch. megacephala</i>	87	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100
20	Chon Buri, T	<i>Ch. Rufifacies</i>	98	98	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	99.83
21	Chon Buri, T	<i>Ch. Rufifacies</i>	94	99	0.0	<i>Ch. Rufifacies</i>	100
22	Chon Buri, T	<i>Ch. megacephala</i>	94	99	0.0	<i>Ch. Megacephala</i>	100



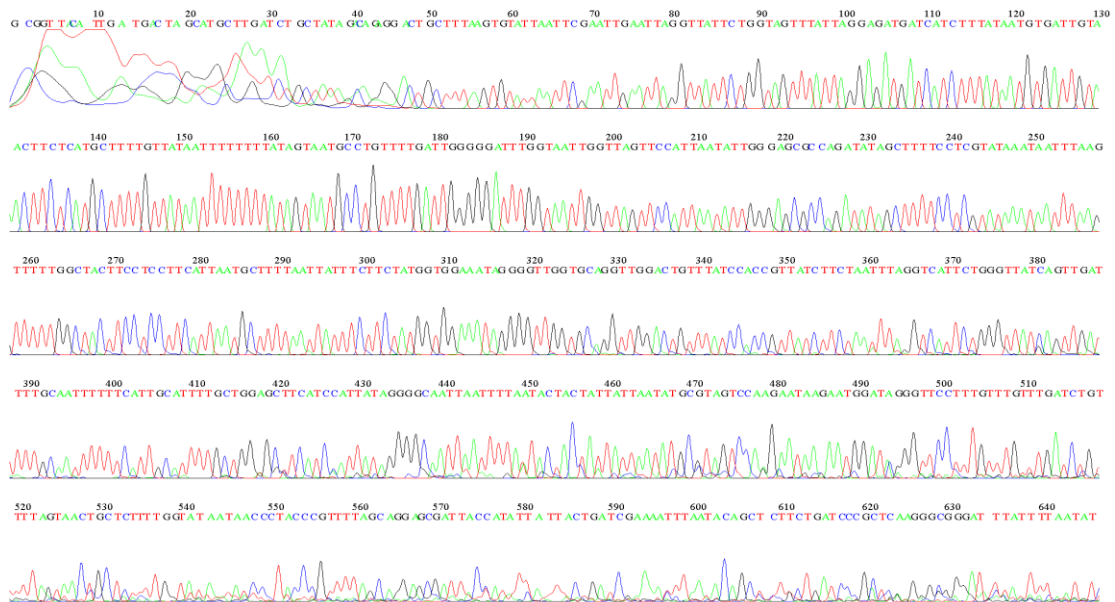
รูปที่ 4-45 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* voucher



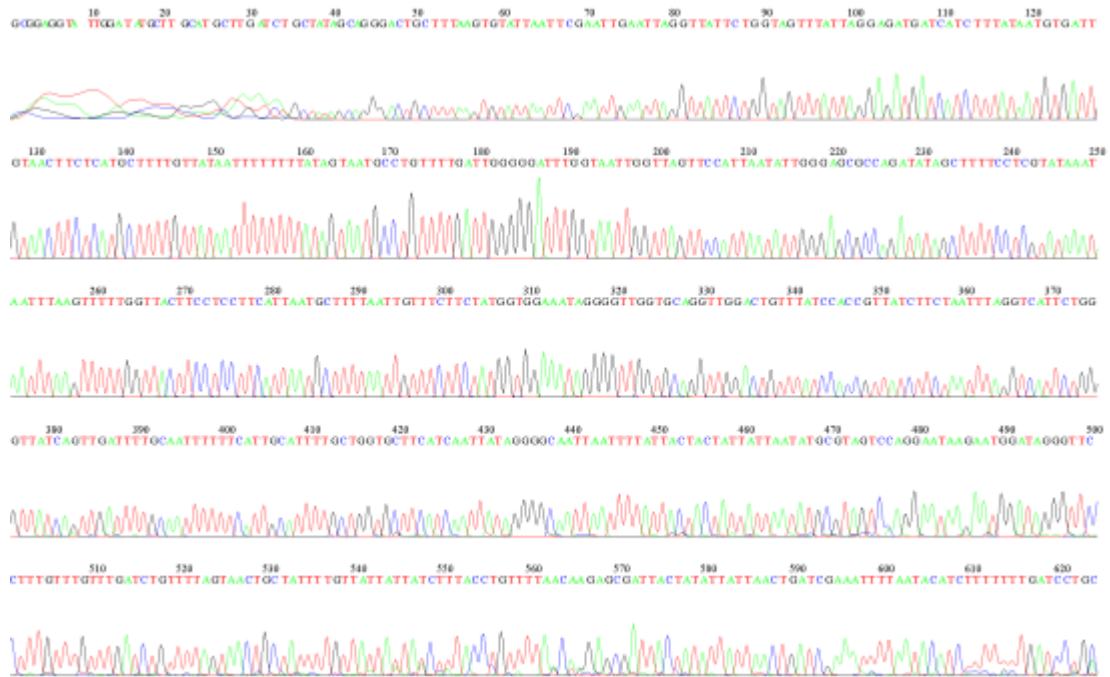
รูปที่ 4-46 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*



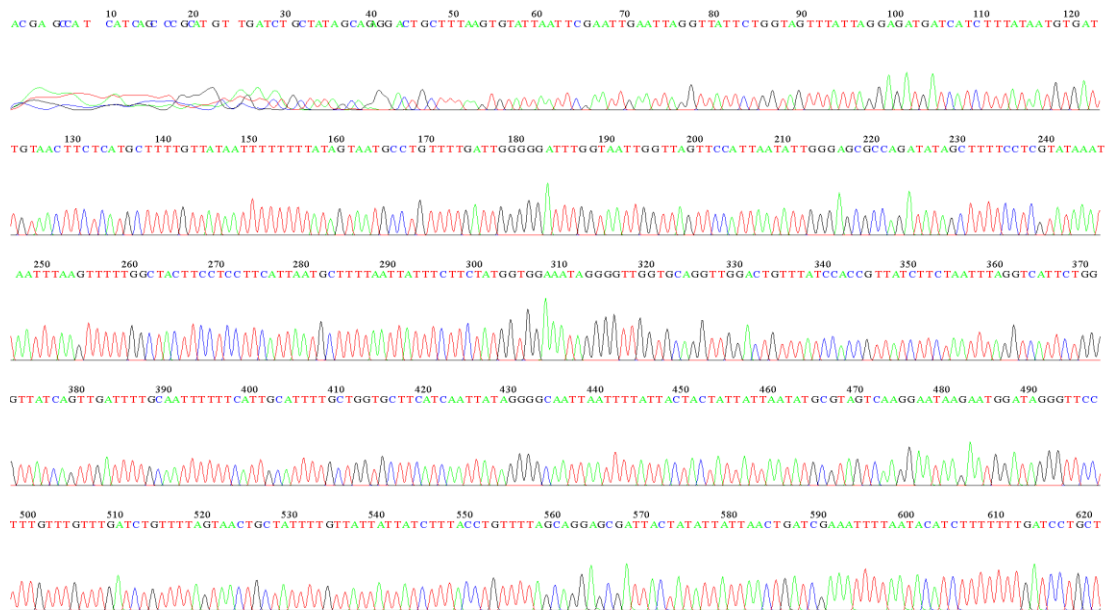
รูปที่ 4-47 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya pacifica*



รูปที่ 4-48 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala isolate 2*



รูปที่ 4-49 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies*



รูปที่ 4-50 แสดง A sequencing chromatogram (nucleic acid sequence) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผลการทดลอง (Conclusion and Discussion)

5.1 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว

Chrysomya megacephala ระยะดักแด้ (pupae) สู่ระยะตัวเต็มวัย (eclosion) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้ภายในคอคอกนหุ้มดักแด้

ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิที่ควบคุมคงที่ค่าต่าง ๆ ระหว่าง $15-40\pm 2^{\circ}\text{C}$ พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ที่อุณหภูมิ $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความยาวเฉลี่ยของดักแด้ระยะสุดท้าย ($F_{29}=2.27$, $P=0.0005$; $F_{29}=5.12$, $P=0.0001$; $F_{29}=1.27$, $P=0.2640$) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ ค่าเฉลี่ยความยาวเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดักแด้ระยะสุดท้าย ($F_{29}=4.82$, $P=0.0030$) และ ($F_{29}=6.22$, $P=0.0001$) ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ พบว่าความกว้างของดักแด้ระยะแรกและสุดท้ายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=2.95$, $P=0.0030$) อีกด้วย และน้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้เมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ไปสู่ระยะสุดท้ายของดักแด้ของทุกอุณหภูมิคือ $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$, $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$; $F_{29}=0.22$, $P=0.927$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$; $F_{29}=0.95$, $P=0.4880$) และ ($F_{29}=1.08$, $P=0.3820$) ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ตัวหนอนระยะ post feeding larvae มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้สู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดคือ 72 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ และใช้ระยะเวลามากที่สุดคือ 408 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตสั้น แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงอัตราการเจริญเติบโตจะช้าลง ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตนาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anderson (2000), Byrd and Allen (2001), Ames and Turner (2003), Grassberger and Reiter (2001, 2002a, 2002b) and Grassberger et al. (2003) (ตารางที่ 5-1)

ตารางที่ 5-1 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้และระยะสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$, $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Temp ($^{\circ}\text{C}$)	Time (hrs.)	Size	Mean \pm SE	
			Pupae	Post pupae
15 ± 2	408	L (mm)	8.7680 \pm 0.0774	8.6760 \pm 0.0893
		W (mm)	3.2576 \pm 0.0412	3.2735 \pm 0.0298
		W (g)	0.04930 \pm 0.0013	0.0479 \pm 0.0012
25 ± 2	120	L (mm)	8.3072 \pm 0.1582	7.8177 \pm 0.0642
		W (mm)	3.0892 \pm 0.0434	2.9760 \pm 0.0402
		W (g)	0.0486 \pm 0.0017	0.0494 \pm 0.0012
30 ± 2	104	L (mm)	6.9509 \pm 0.1648	7.5509 \pm 0.1152
		W (mm)	2.7747 \pm 0.0553	2.8340 \pm 0.0482
		W (g)	0.0352 \pm 0.0023	0.0418 \pm 0.0019
33 ± 2	96	L (mm)	8.5432 \pm 0.1117	8.6422 \pm 0.1624
		W (mm)	3.1614 \pm 0.0582	3.3670 \pm 0.0346
		W (g)	0.0438 \pm 0.0017	0.0451 \pm 0.0021
35 ± 2	72	L (mm)	8.2329 \pm 0.0837	9.0459 \pm 0.1057
		W (mm)	3.2024 \pm 0.0888	3.4011 \pm 0.0511
		W (g)	0.0500 \pm 0.0017	0.0523 \pm 0.0012

*ค่าสถิติสำหรับอุณหภูมิที่ $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$, $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$
 ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$; $F_{29}=0.22$, $P=0.927$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$; $F_{29}=0.95$, $P=0.4880$) และ
 ($F_{29}=1.08$, $P=0.3820$)

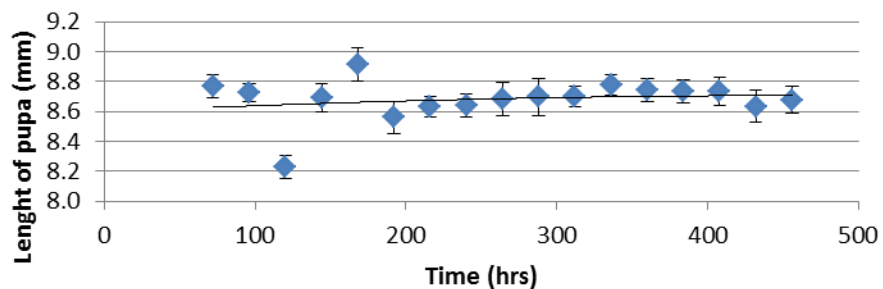
5.2 ผลของอุณหภูมิต่ออัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ระยะดักแด้ (pupae) สู่ระยะตัวเต็มวัย (eclosion) และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดักแด้ภายในคอกคูนหุ้มดักแด้

ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญเติบโตของ *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิที่ควบคุมคงที่ค่าต่าง ๆ ระหว่าง $15-40\pm 2^{\circ}\text{C}$ พบว่าที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ ค่าเฉลี่ยความยาวเมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับดักแด้ระยะสุดท้าย ($F_{29}=21.0070$, $P=0.0001$) และ ($F_{29}=11.76$, $P=0.0001$) ตามลำดับ และยังพบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้เมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ไปสู่ระยะสุดท้ายของดักแด้ที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=42.19$, $P=0.0001$) และ ($F_{29}=9.48$, $P=0.0001$) ตามลำดับ ความกว้างของดักแด้เมื่อแรกเริ่มของการเข้าสู่ระยะดักแด้ที่อุณหภูมิ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าความยาวเฉลี่ยของดักแด้ระยะสุดท้าย ($F_{29}=3.04$, $P=0.007$) และเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการเจริญเติบโตของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ตัวอ่อนมีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้สู่ระยะตัวเต็มวัยทั้งหมดใช้ระยะเวลาสั้นที่สุดคือ 64 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ และใช้ระยะเวลามากที่สุดคือ 88 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับอุณหภูมิเช่นกัน (ตารางที่ 5-2)

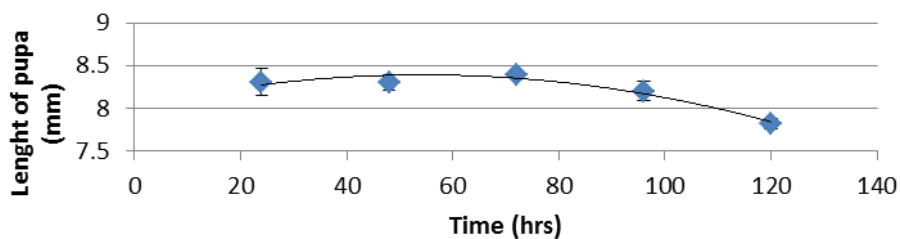
ตารางที่ 5-2 ตารางแสดงค่าเฉลี่ยความยาว ความกว้าง และน้ำหนักของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. rufifacies* ที่มีการเจริญเข้าสู่ระยะดักแด้และระยะสุดท้ายก่อนเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Temp ($^{\circ}\text{C}$)	Time (hrs.)	Size	Mean \pm SE	
			Pupae	Post pupae
25 ± 2	88	L (mm)	7.9816 \pm 0.1448	7.5230 \pm 0.0579
		W (mm)	3.1516 \pm 0.0568	2.9555 \pm 0.0442
		W (g)	0.0540 \pm 0.0020	0.0388 \pm 0.0011
30 ± 2	72	L (mm)	8.0080 \pm 0.0628	8.3878 \pm 0.1416
		W (mm)	3.3654 \pm 0.0497	3.2003 \pm 0.0478
		W (g)	0.0431 \pm 0.0019	0.0441 \pm 0.0027
35 ± 2	64	L (mm)	8.0080 \pm 0.0628	8.3878 \pm 0.1416
		W (mm)	3.3654 \pm 0.0497	3.2003 \pm 0.0478
		W (g)	0.0431 \pm 0.0019	0.0441 \pm 0.0027

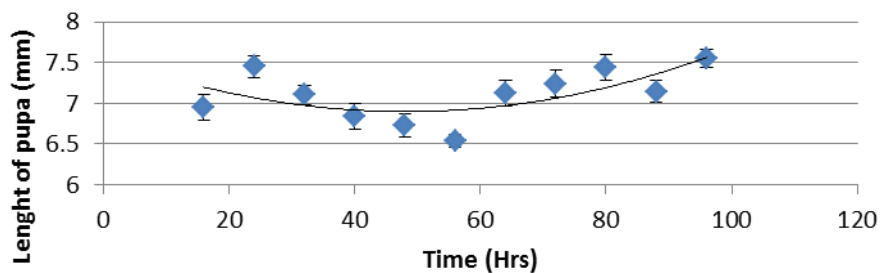
*ค่าสถิติสำหรับที่อุณหภูมิ $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ และ $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ ($F_{29}=21.0070$, $P=0.0001$; $F_{29}=11.76$, $P=0.0001$; $F_{29}=42.19$, $P=0.0001$; $F_{29}=9.48$, $P=0.0001$; $F_{29}=3.04$, $P=0.007$)



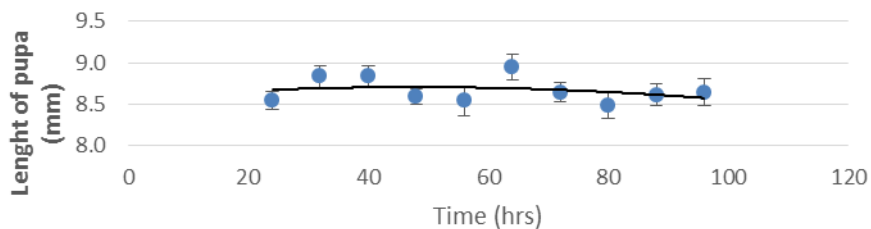
a



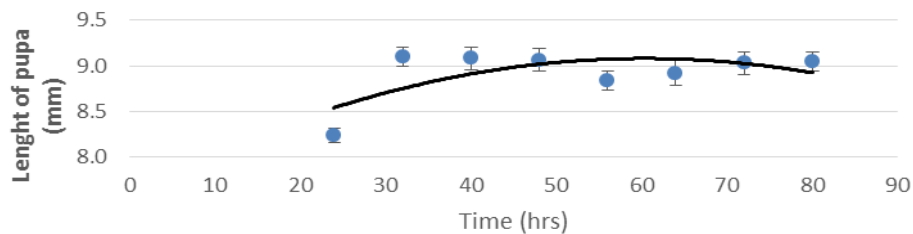
b



c

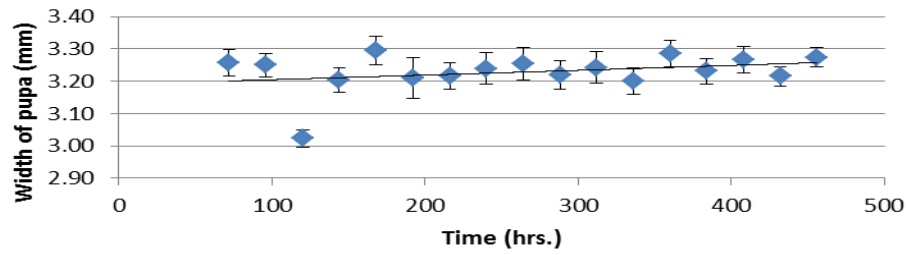


d

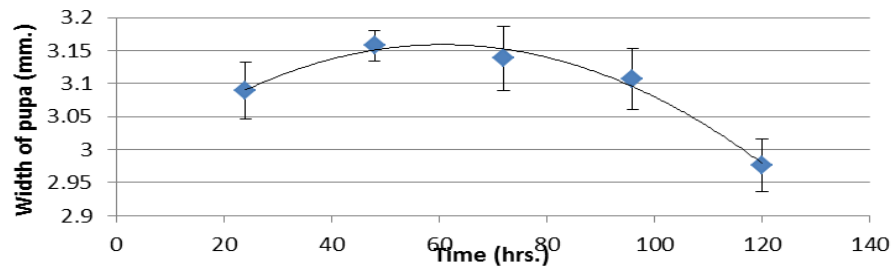


e

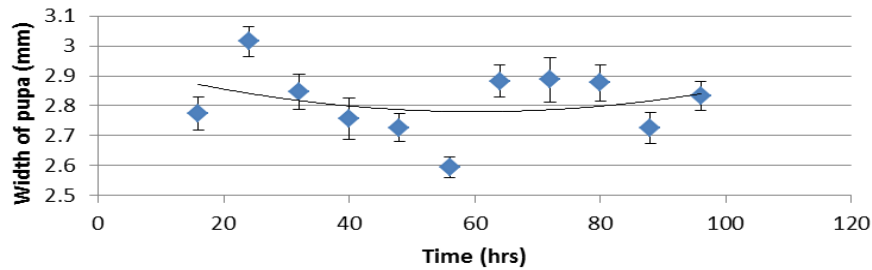
รูปที่ 5-1 แสดงความยาว (mean±SE, มิลลิเมตร) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15(a), 25(b), 30 (c), 33(d) และ 35(e) องศาเซลเซียส ($F_{29}=2.27, P=0.0005$)



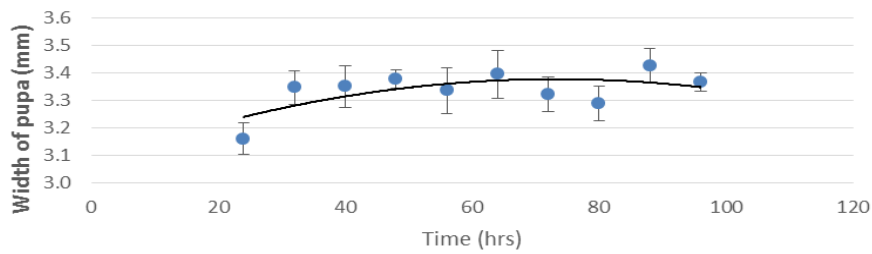
a



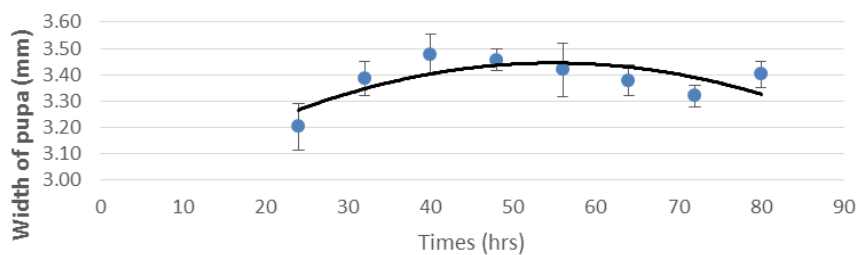
b



c



d



e

รูปที่ 5-2 แสดงความกว้าง (mean±SE, มิลลิเมตร) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *Ch. megacephala* ที่อุณหภูมิ 15(a), 25(b), 30 (c), 33(d) และ 35(e) องศาเซลเซียส

5.3 การจำแนกแมลงวันหัวเขียวที่พบในประเทศไทย โดยใช้ morphological characteristics และ molecular identification

พบแมลงวันหัวเขียวที่กระจายอยู่ทั่วประเทศไทย จำนวน 25 ชนิด (จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 329 ตัวอย่าง) ได้แก่ *Chrysomya rufifacies*, *Ch. megacephala*, *Ch. putonia*, *Ch. pacifica*, *Ch. rufifacies* CR11, *Ch. rufifacies* voucher, *Ch. megacephala* CM11, *Ch. megacephala* isolate 2, *Ch. megacephala* PUMB 2016-151-11, *Luciria ceracata*, *Phormia regina* Meigen, *Ch. bezzinia*, *Ch. saffrania*, *Ch. albiceps* เป็นต้น ชนิดที่พบมากที่สุดของประเทศไทย ได้แก่ *Chrysomya rufifacies* และ *Ch. megacephala* ซึ่งเป็นแมลงวันหัวเขียวกลุ่มแรกที่เข้ามาตอมและวางไข่ที่ศพ สามารถนำเอาข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ไปใช้ในการคำนวณ PMI หรือระยะเวลาหลังการตายได้อย่างแม่นยำถ้าหากได้มีการบันทึกค่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมที่พบศพ ได้อย่างเที่ยงตรง ควบคุมกับการจำแนกชนิด (species) ของแมลงวันหัวเขียวได้ถูกต้องแม่นยำ ข้อมูลวิจัยจากการศึกษาครั้งนี้ถือว่ามีประโยชน์อย่างมากในงานสืบสวนสอบสวน หรือทางนิติวิทยาศาสตร์ ของประเทศไทย

5.4 ผลของอุณหภูมิต่อระยะเวลาการเจริญและพัฒนาการของอวัยวะภายนอกของระยะดักแด้ถึงระยะฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย

ระยะเวลาการเจริญของระยะดักแด้จนถึงระยะฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิสูงเจริญได้ดีกว่า ใช้ระยะเวลาน้อยกว่าที่อุณหภูมิต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F_{29}=2.27$, $P=0.0005$) อย่างไรก็ตามน้ำหนักและความยาวของดักแด้ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิระหว่าง 15-40 องศาเซลเซียส ($F_{29}=0.76$, $P=0.733$; $F_{29}=0.22$, $P=0.927$; $F_{29}=3.93$, $P=0.0001$; $F_{29}=0.95$, $P=0.4880$) และ ($F_{29}=1.08$, $P=0.3820$) อุณหภูมิระหว่าง 15-40±2°C องศาเซลเซียส มีผลต่อการเจริญและพัฒนาการของอวัยวะภายนอก เช่น ตาประกอบ (compound eyes) ปีก (wings) ขา (legs) และ หนวด (antennae) โดยที่อุณหภูมิสูงจะเจริญได้เร็วกว่า ที่อุณหภูมิต่ำ โดยระยะเวลาที่พบการเจริญของอวัยวะดังกล่าวของที่ *Ch. megacephala* และ *Ch. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 40±2 องศาเซลเซียสจะใช้เวลาน้อยที่สุด ส่วนที่ อุณหภูมิ 15±2° องศาเซลเซียสจะนานที่สุด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

- Adams, Z. J. O. a. H., M. J. R. (2003). Methods used for the killing and preservation of blowfly larvae, and their effect on post-mortem larval length. *Forensic Science International*, 138, 50–61.
- Ames, C. a. T., B. (2003). Low temperature episodes in development of blowflies: Implication for post mortem interval estimation. *Medical Veterinary Entomology*, 17, 178-186.
- Anderson, G. (2000). Minimum and maximum development rates of some forensically important calliphoridae (diptera). *Journal of Forensic Science*, 45, 824-832.
- Anderson, G. S. (1999). Wildlife forensic entomology: Determining time of death in two illegally killed black bear cubs. *Journal of Forensic Science*, 44, 856–859.
- Anderson, G. S. a. W., J. A. (2004). Determinating time of death using blowfly eggs in the early postmortem interval. *International Journal of legal Medical Entomology*, 118, 240–241.
- Anderson, G. S. a. W., J. A. (2011). *Establishing lower developmental thresholds for a common blowfly: For use in estimating elapsed time since death using entomological methods*. Contract report: Defense research and development Canada.
- Arnaldos, M. I., Garcia, M. D., Romera, E., Presa, J. J. and Luna, A. (2005). Estimation of postmortem interval in real cases based on experimentally obtained entomological evidence. *Forensic Science International*, 149, 57–65.
- Arnott, S. a. T., B. (2008). Post-feeding larval behaviour in the blowfly, *Calliphora vicina*: Effects on post-mortem interval estimates. *Forensic Science International*, 177, 162–167.
- Ash, N., Greenberg, B. (1975). Developmental temperature responses of the sibling species *Phaenicia sericata* and *Phaenicia pallescens*. *Ann. Entomol. Soc. Am*, 68, 197–200.
- Bergant, K., Trdan, S. (2006). How reliable are thermal constants for insect development when estimated from laboratory experiments. *Entomol. Exp. Appl*, 120 251–256.
- Bourel, B., Callet, B., Hédouin, V., Gosset, D. (2003). Flies eggs: a new method for the estimation of short-term post-mortem interval?. *Forensic Sci. Int.*, 135, 27–34.

- Broufas, G. D., Koveos, D. S. (2000). Threshold temperature for post-diapause development and degree-days to hatching of winter eggs of the european red mite (acari: Tetranychidae) in Northern Greece. *Environ. Entomol.*, 29, 710–713.
- Byrd, J. H., Allen, J. C. (2001). *Computer modeling of insect growth and its application to forensic entomology*, in: J.H. Byrd, J.L. Castner eds., *Forensic entomology: the utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton : United States, CRC Press.
- Byrd, J. H., Allen, J.C. (2001). The development of the black blow fly, *Phormia regina* (meigen). *Forensic Sci. Int*, 120, 79–88.
- Byrd, J. H., Butler, J. F. (1997). Effects of temperature on *Chrysomya rufifacies* (Diptera:Calliphoridae) development. *J. Med. Entomol*, 34, 353–358.
- Byrd, J. H., Butler, J. F. (1996). "Effects of temperature on *Cochliomyia macellaria* (Diptera:Calliphoridae) development." *J. Med. Entomo.*, 33, 901–905.
- Byrd, J. H., Butler, J. F. (1998). Effects of temperature on *Sarcophaga haemorrhoidalis* (Diptera: Sarcophagidae) development. *J. Med. Entomol.*, 35, 694–698.
- Byrd, J. H., Castner, eds., J. L. (2009). *The utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton: United State, CRC Press.
- Byrd, J. H. a. C., J. L. (2001). *Forensic entomology: The utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton, Florida, CRC Press.
- Campbell, A., Frazer, B.D., Gilbert, N., Gutierrez,A.P., Mackauer, M. (1974). Temperature requirements of some aphids and their parasites. *J. Appl. Ecol.*, 11, 431.
- Campobasso, C. P., Vella, G. D. And Introna, F. (2001). Factors affecting decomposition and diptera colonization. *Forensic Science International*, 120, 18-27.
- Catts, E. P. a. G., M. L. (1992). Forensic entomology in criminal investigations. *Annual review of Entomology*, 37, 253-272.
- Charabidze, D., Bourel, B., Leblanc, H., Hedouin, V. and Gosset, D. (2008). Effect of body length and temperature on the crawling speed of *Protophormia terraenovae* larvae (Robineau-Desvoidy) (Diptera Calliphoridae). *Journal of Insect Physiology*, 54, 529–533.
- Chin, H. C., Marwi, M. A., Salleh, A. F. M., Jeffery, J. and Omar, B. (2007). A preliminary study of insect succession on a pig carcassin a palm oil plantation in Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 24(2), 23–27.
- Clark, K., Evans, L. and Wall, R. (2006). Growth rates of the blowfly, *Lucilia sericata*, on different body tissues. *Forensic Science International*, 156, 145–149.

- Conner, J. K., & Hartl, D. L. (2004). *A primer of ecological genetics*. Sunderland, Mass: Sinauer Associates.
- Dadour, I. R., Cook, D. F., Fissioli, J. N. and Bailey, W. J. (2001). Forensic entomology: application, education and research in Western Australia. *Forensic Science International*, 120, 48-52.
- David, J. A. O., Rocha, T. and Caetano, F. H. (2008). Ultramorphological characteristics of *Chrysomya megacephala* (Diptera, Calliphoridae) eggs and its eclosion. *Micron*, 39, 1134–1137.
- Davies, L., Ratcliffe, G. G. (1994). Development rates of some pre-adult stages in blowflies with reference to low temperatures. *Med. Vet. Entomol.*, 8, 245–254.
- Day, D. M. a. W. J. F. (2006). Width as an alternative measurement to length for post-mortem interval estimations using *Calliphora augur* (Diptera: Calliphoridae) larvae. *Forensic science international*, 159, 158–167.
- Dhang, C. C., Ahmad, N. W., Lim, L. H., Jeffery, J., Mustapha, W. N. W., Ghani, A. A. and M. and Sofian-Azirun (2008). Larval growth parameters and growth rates of forensically important flies, *hypopygiopsis violacea macquart*, 1835 and *chrysomya ruffacies macquart*, 1842. The 3rd asean congress of tropical. *Medicine and parasitology*, 3, 97-100.
- Donovan, S. E., Hall, M.J.R., Turner, B.D., Moncrieff, C.B. (2006). Larval growth rates of the blowfly, *Calliphora vicina*, over a range of temperatures. *Med. Vet. Entomol*, 106–114.
- Erzinclioglu, Y. Z. (1989). The value of chorionic structure and size in the diagnosis of blowfly eggs. *Medical veterinary entomology*, 3, 281–285.
- Figarola, J. L. M., Skoda, S. R. (1998). *Chrysomya ruffacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) in Nebraska. *J. Entomol. Sci.*, 33, 319–321.
- Goff, M. L. (1993). Estimation of Postmortem Interval Using Arthropod Development and Successional Patterns. *Forensic Sci*, 5, 81–94.
- Gomes, L., Gomes, G. and Zuben, C. J. V. (2009). The influence of temperature on the behavior of burrowing in larvae of the blowflies, *Chrysomya albiceps* and *Lucilia cuprina*, Under controlled conditions. *Journal of insect science*, 9, 1-5.

- Gomes, L., Gomes, G., Oliveira, H. G., Sanches, M. R. and Zuben, C. J. V. (2006). Influence of photoperiod on body weight and depth of burrowing in larvae of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera, Calliphoridae) and implications for forensic entomology. *Revista brasileira de entomologia*, 50(1), 76-79.
- Gomes, L., Sanches, M. R. and Zuben, C. J. V. (2005). Dispersal and burial behavior in Larvae of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, calliphoridae). *Journal of insect behavior*, 18(2), 281-292.
- Gomes, L., Sanches, M. R. and Zuben, C. J. V. (2007). Behavior of the combined radial post-feeding larval dispersal of the blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya albiceps* (Diptera, Calliphoridae) and implications for forensic entomology. *International journal*, 50(2), 279-288.
- Gomes, L. a. Z., C. J. V. (2006). Forensic entomology and main challenges in Brazil. *Neotropical entomology*, 35(1), 1-11.
- Grassberger, M., and Reiter, C. (2001). Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen and isomorphen-diagram. *Forensic Science International*, 120, 6-32.
- Grassberger, M., Friedrich, E., Reiter, C. (2003). The blowfly *Chrysomya albiceps* (Wiedemann) (Diptera: Calliphoridae) as a new forensic indicator in Central Europe. *Int. J. Legal Med.*, 117, 75-81.
- Grassberger, M., Reiter, C. (2001). Effect of temperature on *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) development with special reference to the isomegalen- and isomorphen-diagram. *Forensic Sci. Int.*, 120, 32-36.
- Grassberger, M., Reiter, C. (2002). Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Sci. Int.*, 177-182.
- Grassberger, M. a. R., C. (2002). Effect of temperature on development of the forensically important holarctic blow fly *Protophormia terraenovae* (Robineau-Desvoidy) (Diptera: Calliphoridae). *Forensic Science International*, 128, 177-182.
- Greenberg, B., Kunich, J. C. (1991). Flies as forensic indicators. *J. Med. Entomol*, 28, 565-577.
- Greenberg, B., Kunich, J.C. (2002). *Entomology and the law: Flies as forensic indicators*. Cambridge, Cambridge Univ. Press.

- Greenberg, B., Tantawi, T. I. (1993). Different developmental strategies in two boreal blow flies (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol*, 30, 481–484.
- Greenberg, B. a. S., D. (1995). Species identification of Calliphorid (Diptera) eggs." *Journal Medical Entomology* 32, 21-26.
- Greenberg, B. a. S., M. L. (1984). Immature stages and biology of fifteen species of *Peruvian Calliphoridae* (Diptera). *Annals of the entomological society of America*, 77, 488-517.
- Hall, M. (2008). Forensic entomology: using insects to solve crime. *Catalyst*, 9, 1-3.
- Hall, M. a. B., A. (2006). Forensic entomology. *Science in School*, 2, 49-53.
- Hall, R. D., Haskell, N. H. (1995). *Forensic entomology-applications in medicolegal investigations*, in: C.H. Wecht ed., Mathew Bender: United States, Forensic sciences.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron*, 4, 1-9.
- Haskell, N. H., Hall, R. D., Cervenka, V. J. and Clark, M. A. (1997). *On the body: Insects life stage presence and their postmortem artifacts, forensic taphonomy: The postmortem fate of human remains*, in: W. D. Haglund and m. H. Sorg (eds.). Boca Raton, USA, CRC Press.
- Haskell, N. H. a. W., R. E. (2008). *Entomology & death: A procedural guide, 2nd edition*. Clemson, USA, East Park Printing.
- Hayes, E. J., Wall, R. and Smith, K. E. (1998). Measurement of age and population age in the blowfly, *Luciria cericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Insect Physiology*, 44, 895-901.
- Higley, L. G. a. H., N. H. (2001). *Insect development and forensic entomology*. Boca Raton, Florida.
- Ireland, S. a. T., B. (2006). The effects of larval crowding and food type on the size and development of the blowfly, *Calliphora vomitoria*. *Forensic Science International*, 159, 175–181.
- Johnson, A. P., Wallman, J. F. (2014). Effect of massing on larval growth rate. *Forensic Sci. Int.*, 241, 141–149.
- Joy, J. E., Herrel, M. L. and Rogers, P. C. (2002). Larval fly activity on sunlit versus shaded raccoon carrion in south western west virginia with special reference to the black blow fly (diptera: Calliphoridae). *Journal of Medical Entomology*, 39, 392-397

- Joy, J. E., Liette, N. L. and Harrah, H. L. (2006). Carrion fly (Diptera: Calliphoridae) larval colonization of sunlit and shaded pig carcasses in West Virginia, USA. *Forensic Science International*, 164, 183-192.
- Kaliszan, M., Hauser, R. and Kernbach-Wighton, G. (2009). Estimation of the time of death based on the assessment of post mortem processes with emphasis on body cooling. *Legal Medicine*, 11, 111-117.
- Kamal, A. S. (1958). Comparative Study of Thirteen Species of Sarcosaprophagous Calliphoridae and Sarcophagidae (Diptera) I. Bionomics. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 51, 261-271.
- Keh, B. (1985). Scope and application of forensic entomology. *Annual Review Entomology*, 30, 137-154.
- Khoobdel, M., Jonaiai, N. and Rashti, M. S. (2008). Blowfly and flesh fly (Diptera: Cyclorrhpha) Fauna in Tehran, Iran. *Journal of Entomology*, 5(3), 185-192.
- Kitching, R. L. (1976). The immature stages of the old world screw worm fly, *chrysomya bezziana* velleneuve, with comparative notes on other australian species of *chrysomya*. *Bulletin of Entomology Research*, 66, 195-203.
- Leblanc, H. N. a. S., D. B. (2002). Carrion insects associated with small pig carcasses during fall in nova scotia. *Journal of Forensic Science*, 35(3), 145-152.
- Levot, G. W., Brown, K. R. and Shipp, E. (1979). Larval growth of some Calliphoridae and sarcophagid Diptera. *Bulletin of Entomology Research*, 69, 469-475.
- Li, Z., Chen, Y., Chen, Q. and Yin, X. (2008). The succession and development of insects on pig carcasses and their significances in estimating PMI in south China. *Forensic Science International*, 179, 11-18.
- Liu, D. a. G., B. (1989). Immature stages of some flies of forensic importance. *Annals of the entomological society of America*, 82, 80-93.
- Lord, W. D., Johnson, R. W. and Johnson, F. (1986). The blue bottle fly, *Calliphora vicina* (Erythrocephala) as an indicator of human postmortem interval: a case of homicide from suburban Washington, D. C. *Bulletin of Society vector Ecology*, 11, 276-280.
- Marchenko, M. I. (1988). Medico-legal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time since death. *Acta Med. Leg. Soc. (Liege)*, 38, 257-302.
- Marchenko, M. I. (2001). Medicolegal relevance of cadaver entomofauna for the determination of the time of death. *Forensic Sci. Int.*, 120, 89-109.

- Marshall, S. A., Whitworth, T., Roscoe, L. (2011). Blow flies (Diptera; Calliphoridae) of eastern Canada with a key to Calliphoridae subfamilies and genera of eastern North America, and a key to the eastern Canadian species of Calliphorinae, Luciliinae and Chrysomyiinae. *Can. J. Arthropod Identif.*, 11, 1–93.
- Martinez, E., Duque, P. and Wolff, M. (2007). Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia. *Forensic Science International*, 166, 182–189.
- Matoba, K. a. T., K. (2008). Estimation of the time of death of decomposed or Skeletonized bodies found outdoors in cold season in Sapporo city, located in the northern district of Japan. *Legal Medicine*, 10, 78-82.
- Matuszewski, S., Szafałowicz, M., Grzywacz, A. (2014). Temperature-dependent appearance of forensically useful flies on carcasses. *Int. J. Legal Med.*, 128, 1013–1020.
- Mendonca, M. P., Mallet, S. R. J., Mello, P. R., Gomes, L. and Queiroz, M. M. and Investigations. (2008). Identification of fly eggs using scanning electron microscopy for forensic. *Micron*, 39(7), 802–807.
- Oliveira-Costa, J. a. d. M.-P., C. A. (2004). Application of forensic entomology to estimate of the postmortem interval (PMI) in the homicide investigations by the Rio de Janeiro police department in Brazil. *Journal of Forensic Medicine and Toxicology*, 5(1), 40-44.
- Rajagopal, K., Dhang, C. C., Lim, L. H. and Ahmad, N. W. (2008). Estimated post-mortem intervals (PMI) of pathologist and entomologist in Malaysia: a comparison. *Proceeding of the 3rd ASEAN Congress of Tropical Medicine and Parasitological*, 3, 21-27.
- Reiter, C. (1984). Zum wachstumsverhalten der maden der blauen schmeißfliege *Calliphora vicina*. *Z. Für Rechtsmed.*, 91, 295–308.
- Richards, C. S., Crous, K. L., Villet, M. H. (2009). Models of development for blowfly sister species *Chrysomya chloropyga* and *Chrysomya putoria*. *Med. Vet. Entomol.*, 23, 56–61.
- Rodriguez, W. C. a. B., W. M. (1983). Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in East Tennessee. *Journal of Forensic Science*, 28, 423-432.
- Rosati, J. Y., VanLaerhoven, S. L. (2007). New record of *Chrysomya ruffifacies* (Diptera: Calliphoridae) in Canada: predicted range expansion and potential effects on native species. *Can. Entomol.*, 139, 670–677.

- Salleh, A. F. M., Marwi, M. A., Jeffery, J., Hamid, N. A. A., Zuha, R. M. and Omar, B. (2007). Review of forensic entomology cases from Kuala Lumpur hospital and hospital university kebangsaan Malaysia, 2002. *Journal of Tropical Medicine and Parasitology*, 30, 51-54.
- Shan, Z. A. a. S., T. (2004). The effect of flesh age, trap colour, decomposition stage, temperature and relative humidity on the visitation pattern of blow and flesh flies. *International journal of Agriculture and Biology*, 6(2), 370-374.
- Smith, K. G. V. (1986). *A manual of forensic entomology*. Ithaca: United States, Cornell Univ. Press.
- Sripakdee, D., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Ngern-Klun, R. and Sukontason, K. (2005). Effect of microwave irradiation on Blow fly *Chrysomya megacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(4), 893-895.
- Sukontason, K., Narongchai, P., Kanchai, C., Vichairat, K., Sribanditmongkol, P., Bhoopat, T. et al., (2007). Forensic entomology cases in Thailand: a review of cases from 2000 to 2006. *Parasitol. Res.*, 101, 1417–1423.
- Sukontason, K., Piangjai, S., Siriwattananurongsee, S. and Sukontason, K. L. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Journal of Parasitology Research*, 120, 1207-1216.
- Sukontason, K., Piangjai, S., Siriwattananurongsee, S., Sukontason, K. L. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Parasitol. Res.*, 102, 1207–1216.
- Sukontason, K., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Boonchu, N., Kurahashi, H., Hope, M. and Olson, K. J. (2004). Identification of forensically important fly eggs using a potassium permanganate staining technique. *Micron*, 35(5), 391-395.
- Sukontason, K., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Chaiwong, T., Boonchu, N., Kurahashi, H. (2003). Hairy maggot of *Chrysomya villeneuvei* (Diptera: Calliphoridae), a fly species of forensic importance. *J. Med. Entomol*, 40, 983–984.
- Sukontason, K., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Choochote, W., Boonchu, N., Chaiwong, T. and Kurahashi, H. (2004). Fine structure of the eggs of blowflies *Aldrichina grahami* and *Chrysomya pacifica* (Diptera: Calliphoridae). *Biological research*, 37, 483-487.

- Sukontason, K. L., Kanchai, C., Piangjai, S., Boonsriwong, W., Bunchu, N., Sripakdee, D., Chaiwong, T., Kuntalue, B., Siri Wattanarungsee, S. and Sukontason, K. (2006). Morphological observation of puparia of *Chrysomya nigripes* (Diptera: Calliphoridae) from human corpse. *Forensic Science International*, 161, 15-19.
- Sukontason, K. L., Narongchai, P., Kanchai, C., Vichairat, K., Piangjai, S., Boonsriwong, W., Bunchu, N., Sripakdee, D., Chaiwong, T., Kuntalue, B., Siri Wattanarungsee, S. and Sukontason, K. (2006). Morphological comparison between *Chrysomya rufifacies* (Macquart) and *Chrysomya villeneuvei* Patton (Diptera: Calliphoridae) puparia, forensically important blow flies. *Forensic Science International*, 164, 230-234.
- Sukontason, K. L., Narongchai, P., Sukontason, K., Methanitikorn, R. and Piangjai, S. (2005). Forensically important fly maggots in a floating corpse: The first case report in Thailand. *Journal of the Medical Association of Thailand*, 88(10), 1458-1461.
- Sukontason, K. L., Sukontason, K., Lertthamnontham, S., Kuntalue, B., Thijuk, N., Vogtsberger, R. C. et al., (2003). Surface ultrastructure of *Chrysomya rufifacies* (Macquart) larvae (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.*, 40, 259-267.
- Sukontason, K. L., Sukontason, K., Narongchai, P., Lertthamnontham, S., Piangjai, S., Olson, J. K. (2001). *Chrysomya rufifacies* (Macquart) as a forensically important fly species in Thailand: a case report. *J. Vector Ecol. J. Soc. Vector Ecol.*, 26, 162-164.
- Swiger, S. L., Hogsette, J. A., Butler, J. F. and (2014). Larval distribution and behavior of *Chrysomya rufifacies* (Macquart) (Diptera: Calliphoridae) relative to other species on Florida black bear (Carnivora: Ursidae) decomposing carcasses. *Neotrop. Entomol.* 43, 21-26.
- Tachibana, S. I., Numata, H., Goto, S. G. (2005). Gene expression of heat-shock proteins (Hsp23, Hsp70 and Hsp90) during and after larval diapause in the blow fly *Lucilia sericata*. *J. Insect Physiol.*, 51, 641-647.
- Ulyett, G. C. (1950). Competition for food and allied phenomena in sheep-blowfly populations. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 234, 77-174.
- Vanin, S., Tasinato, P., Ducolin, G., Terranova, C., Zancaner, S., Montisci, M., Ferrara, S. D. and Turchetto, M. (2008). Use of *Lucilia* species for forensic investigations in Southern Europe. *Forensic Science International*, 177, 37-41.

- VanLaerhoven, S. L. (2008). Blind validation of postmortem interval estimates using developmental rates of blow flies. *Forensic Science International*, 180, 76-80.
- Wall, R., French, N., Morgan, K. L. (1992). Effects of temperature on the development and abundance of the sheep blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae). *Bull. Entomol. Res.*, 82, 125.
- Wang, J., Varatharajan, R. and Sen, A. (2000). Role of entomology in forensic entomology. *Current Science*, 78(5), 544-546.
- Warren, J. (2006). *The development of protophormia terraenovae (robineau-desvoidy) (diptera: Calliphoridae) at constant and fluctuating temperatures, MA. Thesis.* Burnaby, British Columbia, Simon Fraser Univ.
- Wells, J. D., Byrd, J. H., and Tantawi, T. I. (1999). Key to third-instar Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae) from carrion in the continental United State. *Entomology Society of America*, 99, 638-641.
- Wells, J. D., LaMotte, L. R. (1995). Estimating maggot age from weight using inverse prediction. *J. Forensic Sci.*, 40, 1383-1384.
- Wells, J. D., LaMotte, N. L. (2001). *Estimating the postmortem interval*, in: J.H. Byrd, J.L. Castner eds., *forensic entomology, the utility of arthropods in legal investigations*. Boca Raton : United States, CRC Press.
- Wells, J. D., Sperling, F. A. (1999). Molecular phylogeny of *Chrysomya albiceps* and *C. rufifacies* (Diptera: Calliphoridae). *J. Med. Entomol.*, 36, 222-226.
- Wells, J. D. a. K., H. (1994). *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae) development: rate, variation and the implications for forensic entomology. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 45(4), 303-309.
- Whitworth, T. (2006). Key to the genera and species of blowflies (diptera: Calliphoridae) of america north of mexico. *Proceeding of Entomology Society of Washington*, 108(3), 689-725.
- Williams, K. A. a. V., M. H. (2006). A new and earlier record of *Chrysomya megacephala* in South Africa, with notes on another exotic species, *Calliphora vicina* (Diptera: Calliphoridae). *African Invertebrates*, 47, 347-350.
- Wooldridge, J., Scrase, L. and Wall R. (2007). Flight activity of the blowflies, *Calliphora vomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. *Forensic Science International*, 172, 94-97.

ภาคผนวก



ภาพการนำตัวอย่างไป
วิเคราะห์ โดยใช้
Molecular
identification ที่แล็บ
Professor Dr. Robert J.
Paxton Martin Luther
University of
Wittenberge, Halle/
Saale, Germany
April 2-July 1- 2014



การประชุมปฏิบัติการ
แลกเปลี่ยนและถ่ายทอด
ความรู้งานวิจัยร่วมกับ
Associate Professor
Dr. Mark Eric Benbow,
Department of
Entomology, Michigan
State University, East
Lansing, MI, USA
ระหว่างวันที่ 8-15
ธันวาคม พ.ศ. 2559



การประชุมปฏิบัติการ
ถ่ายทอดความรู้ร่วมกับ
Associate Professor
Dr. Mark Eric Benbow,
Department of
Entomology, Michigan
State University, East
Lansing, MI, USA และ
Professor Dr. Robert J.
Paxton Martin Luther
University of
Wittenberge, Halle/
Saale, Germany

ภาคผนวก (ต่อ)



ออกสำรวจเก็บตัวอย่าง
แมลงวันหัวเขียว
บริเวณอุทยานแห่งชาติ
เขาใหญ่ ร่วมกับนิสิต
ชาวอเมริกัน Mr. David
Morrill and Mr.
Daniel Dallel จาก
Department of
Biology, Swarthmore
College, ,USA ระหว่าง
วันที่ 12-20 กรกฎาคม
2559



ออกสำรวจเก็บตัวอย่าง
แมลงวันหัวเขียว บริเวณ
อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่
ร่วมกับนิสิตชาวอเมริกัน
Mr. David Morrill and
Mr. Daniel Dallel จาก
Department of
Biology, Swarthmore
College, ,USA ระหว่าง
วันที่ 12-20 กรกฎาคม
2559

ภาคผนวก (ต่อ)



ออกสำรวจเก็บตัวอย่าง
แมลงวันหัวเขียวบริเวณ
อุทยานแห่งชาติขุนตาล
ลำปาง ร่วมกับนิสิต
ปริญญาเอกชาวเยอรมัน
Mr. Mathias Siedel และ
นิสิตปริญญาเอกชาว แมกซิก
กัน and Mr. Emmanuel
Areaga Varella จาก
Department of Biology,
CZech Republic ,
ระหว่างวันที่ 20-31 มีนาคม
2560



ออกสำรวจเก็บตัวอย่าง
แมลงวันหัวเขียวบริเวณ
จังหวัดแพร่ร่วมกับนิสิต
ปริญญาเอกชาวเยอรมัน
Mr. Mathias Siedel และ
นิสิตปริญญาเอกชาว แมกซิก
กัน and Mr. Emmanuel
Areaga Varella จาก
Department of Biology,
CZech Republic ,
ระหว่างวันที่ 20-31 มีนาคม
2560

ภาคผนวก (ต่อ)



ออกสำรวจเก็บตัวอย่าง
แมลงวันหัวเขียวบริเวณ
จังหวัดจันทบุรี ร่วมกับ
Professor Dr. Martin
Husemann,
Department of
Entomology, University
of Hamberg, Hamberg,
Germany
ระหว่างวันที่ 9-12
กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559

ภาคผนวก (ต่อ)



การประชุมปฏิบัติการ
แลกเปลี่ยนและถ่ายทอด
ความรู้งานวิจัยร่วมกับ
Professor Dr. Martin
Husemann,
Department of
Entomology,
University of
Hamburg, Hamburg,
Germany
ระหว่างวันที่ 2-12
กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559



การประชุมปฏิบัติการ
แลกเปลี่ยนและถ่ายทอด
ความรู้งานวิจัยร่วมกับ
Professor Dr. Martin
Husemann,
Department of
Entomology,
University of
Hamburg, Hamburg,
Germany
ระหว่างวันที่ 2-12
กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559

ภาคผนวก (ต่อ)



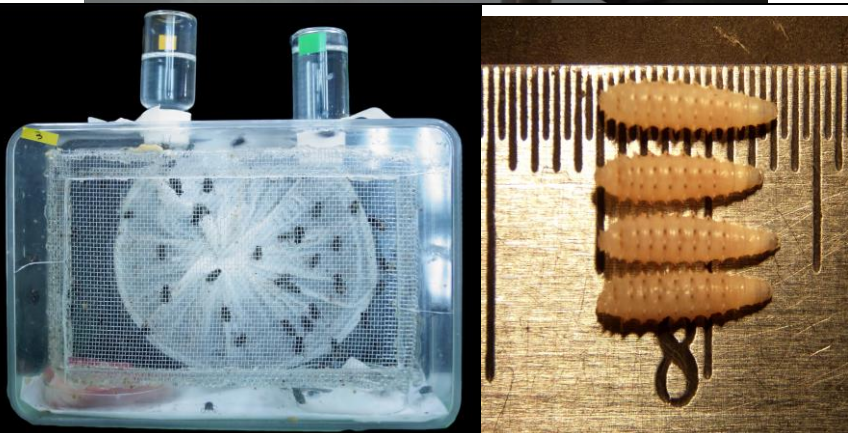


การประชุมปฏิบัติการ
แลกเปลี่ยนและถ่ายทอด
ความรู้งานวิจัยร่วมกับ
Professor Dr. Martin
Husemann,
Department of
Entomology,
University of
Hamberg, Hamberg,
Germany
ระหว่างวันที่ 2-12
กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559

ภาคผนวก (ต่อ)

	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้ง วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้ง วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้ง วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>

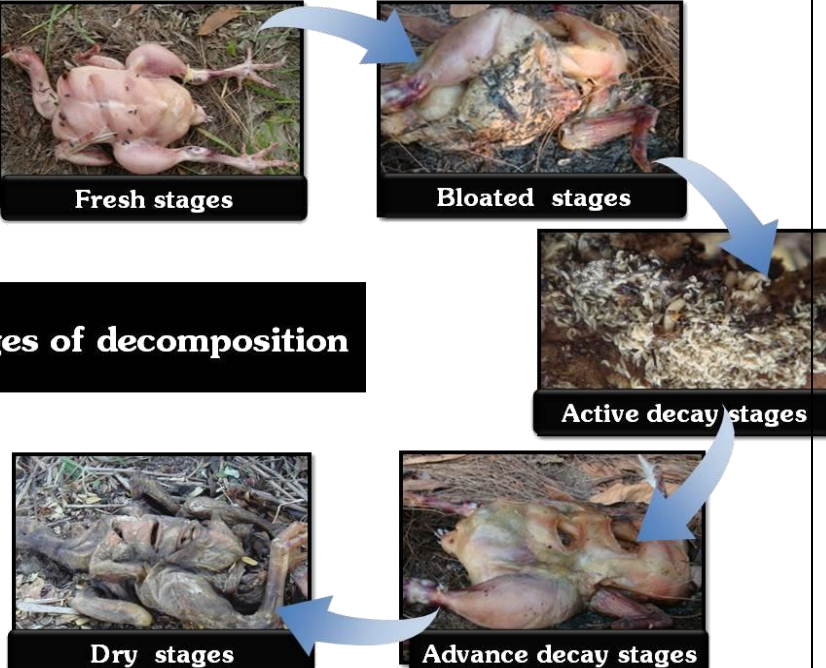

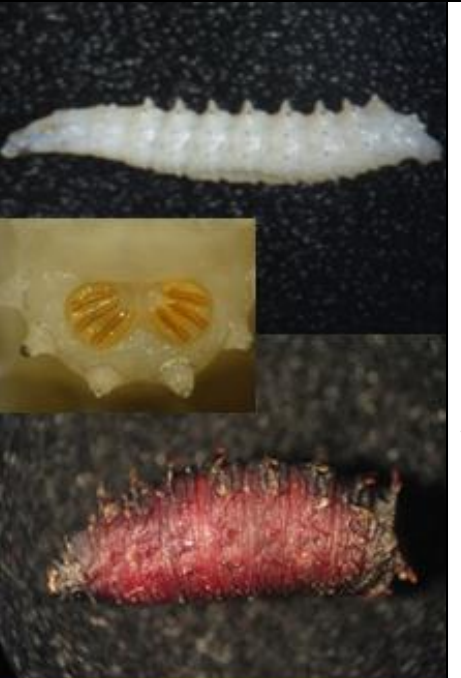
ภาคผนวก (ต่อ)

	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้งก่า วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้งก่า วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้งก่า วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>

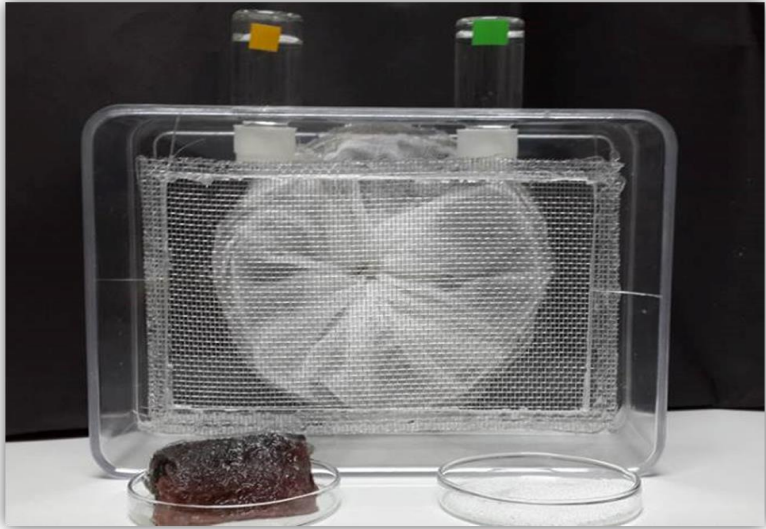
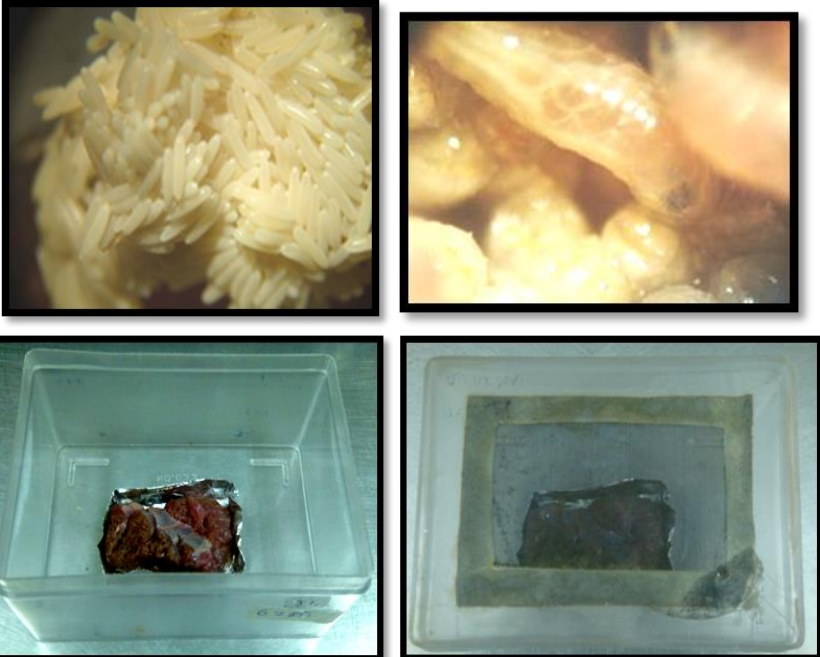

ภาคผนวก (ต่อ)

	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ระยะเข้าดักแด้ และ ที่ฟัก ออกมาเป็นตัวเต็มวัย ที่ ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้ง วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ระยะเข้าดักแด้ที่ควบคุม อุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัย ชีววิทยาของผึ้งและกิ้ง วิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>

ภาคผนวก (ต่อ)

<p>Stages of decomposition</p>	 <p>Fresh stages</p> <p>Bloating stages</p> <p>Active decay stages</p> <p>Advance decay stages</p> <p>Dry stages</p>	<p>การวางซากไก่เพื่อล่อแมลงวันหัวเขียวเพื่อนำมาเลี้ยงแมลงวันหัวเขียวที่ควบคุมอุณหภูมิคงที่ ณ ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้งและกีฏวิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
		<p>การจำแนกชนิด (species) โดยใช้ระยะ third instars larvae ของแมลงวันหัวเขียวที่เลี้ยงโดยควบคุมอุณหภูมิคงที่ ห้องปฏิบัติการหน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้งและกีฏวิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>

ภาคผนวก (ต่อ)

	<p>การเลี้ยงตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียว ที่ควบคุมอุณหภูมิ คงที่ โดยใช้เนื้อข้าว ณ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้งและกีฏวิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การเลี้ยงตัวหนอนของแมลงวันหัวเขียว หลังจากที่ได้ฟักออกจากไข่เป็น first instars larvae ที่ควบคุมอุณหภูมิคงที่ โดยใช้เนื้อข้าว ณ ห้องปฏิบัติการ หน่วยวิจัยชีววิทยาของผึ้งและกีฏวิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
	<p>การจำแนกชนิด (species) โดยใช้ระยะ posterior spiracles ของ แมลงวันหัวเขียว ที่เลี้ยงโดยควบคุมอุณหภูมิ คงที่</p>

ภาคผนวก (ต่อ)

<p>1st instar larva</p> <p>2nd instar larva</p> <p>3rd instar larva</p> <p><i>C. megacephala</i> <i>C. rufifacies</i></p>	<p>การเลี้ยงตัวหนอนของ การจำแนกชนิด (species) โดยใช้ระยะ posterior spiracles – ของ larvae ของ แมลงวันหัวเขียว ที่ เลี้ยงโดยควบคุม อุณหภูมิ คงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วย วิจัยชีววิทยาของผึ้งและ กัญญาวิทยาประยุกต์ ห้อง BS3108 อาคารวิทา ศาสตร์ชีวภาพ คณะ วิทยาศาสตร์</p>
<p>3rd instars Post-feeding larvae</p> <p>Soil : sterile sawdust 50:50; RH 60-70%</p> <p>Develop to</p> <p>Time at a moment of changing stage will be recorded</p>	<p>การเลี้ยงตัวหนอนของ แมลงวันหัวเขียว ระยะ post feeding larvae เข้าสู่ตักแด้ ที่ควบคุม อุณหภูมิคงที่ ณ ห้องปฏิบัติการ หน่วย วิจัยชีววิทยาของผึ้ง ห้อง BS3108 อาคาร วิทา ศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์</p>
<p>Pupae Eclosion Adults</p>	<p>การเลี้ยงตัวหนอนของ แมลงวันหัวเข้าตักแด้ จนฟักเป็นตัวเต็มวัย ที่ ควบคุมอุณหภูมิคงที่ ห้องปฏิบัติการ หน่วย วิจัยชีววิทยาของผึ้ง ห้อง BS3108 อาคาร วิทา ศาสตร์ชีวภาพ</p>