สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานโครงการวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)
ประจำปี งบประมาณ 2554 (ปี ที่ 1)

ชื่อโครงการวิจัย ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของแมลงวันหัวเขียวที่มีบทบาทสำคัญทางนิติเวช ในประเทศไทย

Effect of temperature on Development of Forensically important Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) in Thailand

โดย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กันทิมา สุวรรณพงศ์
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

2554

AO 0084850
QK0474242
29 มี.ค. 2555
301377

เริ่มบริการ
29 พ.ค. 2555

อภินันทนาการ

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยเรื่องนี้ สำเร็จได้ด้วยดี โดยได้รับการสนับสนุนเงินทุนสนับสนุนงานวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) ประจำปีงบประมาณ 2554 ปีที่ 1 จากโครงการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี คณะผู้วิจัย ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่จากสภาวิจัยแห่งชาติที่กรุณาให้คำแนะนำการในเสนอโครงการวิจัยเจ้าหน้าที่ฝ่ายวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพาที่กรุณาให้ความสะดวกในการดำเนินการโครงการวิจัย ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้อ่าน หากมีข้อผิดพลาดประการใดคณะผู้วิจัยขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วยและยินดีรับข้อเสนอแนะด้วยความยินดี

กันทิมา สุวรรณพงศ์

หัวหน้าโครงการฯ

กันยายน 2554

บทคัดย่อ

แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ*Chrysomya rufifacies* เป็นแมลงที่มีความสำคัญต่องานด้าน นิติกีฏวิทยา และเป็นแมลงวันหัวเขียวที่พบมากในประเทศไทย การศึกษาอัตราการเจริญที่ต่าง ๆ สามารถนำไปใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ ศึกษาครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ*Chrysomya rufifacies* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม และที่อุณหภูมิคงที่ 27 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ระหว่าง 26 -38 °C (เฉลี่ย 31 °C) และอุณหภูมิระหว่าง 23 -34 °C (เฉลี่ย 29 °C) ระยะเวลาการเจริญและขนาดความกว้างและความยาวของตัวหนอนระยะที่ 1-3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ขนาดความยาวและขนาดความกว้างของไข่ *C. megacephala* ของทั้งสองช่วงอุณหภูมิไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนวันสะสม (ADD) ของช่วงอุณหภูมิ 26 -38 °C และอุณหภูมิ 23 -34 °C เท่ากับ 138.9 และ 149.5 ตามลำดับ จำนวนชั่วโมงสะสม (ADH) เป็น 3332.5 และ 3588.5 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า อัตราการเจริญของระยะตัวหนอน *Chrysomya megacephala* ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ

ที่อุณหภูมิคงที่ 27 องศาเซลเซียส *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัย แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=31.28, df=1,20, P<0.0001) ส่วนขนาดตัวหนอนระยะที่ 1 ถึงตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิด แตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ (F=1628.86, df=2,6, P<0.0001; F=18.04, df=2,6 P=0.0029) แต่ขนาดความกว้างความยาวของไข่และน้ำหนักดักแด้อายุ 1 วัน 2วัน และ 3 วัน ไม่แตกต่างกัน ค่าความร้อนสะสมวัน (ADD) ตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เท่ากับ 136.83 และ 153.23 ตามลำดับ ค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (ADH) เท่ากับ 3283.89 และ 3677.44 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (F=31.28, df=1,20, P<0.0001)

ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะตัวเต็มวัยที่อุณหภูมิ 30 ± 2 องศาเซลเซียสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=824.30, df=9,20, P<0.0001)ส่วนขนาดตัวหนอนระยะที่ 1 ถึงตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=454.61, df=2,8, P<0.0001) แต่ขนาดความกว้างความยาวของไข่และน้ำหนักดักแด้อายุ 1 วัน 2 วัน และ3 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=246.21, df=2,8, P<0.0001) ค่าความร้อนสะสมวัน (ADD) ตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C.megacephala*และ*C. rufifacies* เท่ากับ 140.13 และ 3363.20 ตามลำดับค่าความร้อนสะสมชั่วโมง (ADH) เท่ากับ 154.87 และ 3716.80 ตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า *C. megacephala* มีอัตราการเจริญสูงกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 และ 30 องศาเซลเซียส

Abstract

Blowflies, specifically *Chrysomya megacephala* and *C. rufifacies* are the most common blow fly species of Thailand and are important for forensic investigations. The study of growth rates at different constant temperatures have been used primarily for estimating post mortem interval (PMI). The comparison of developmental rates between *C. megacephala* and *C. rufifacies* were studied at environmental and constant temperature of 27 and 30°C. The finding showed that the larval sizes and the developmental times between the two ambient temperatures, 26-38°C (average 31°C) and 23-34°C (average 29°C) were statistically significant different. Additionally, accumulated degree days (ADD) of temperature range 26 - 38°C and 23 -34°C were 138.9 and 149.5, respectively, subsequently accumulated degree hours (ADH) were 3332.5 and 3588.5, respectively. The results suggest that the developmental rate of the larvae *C. magacephala* is temperature dependent. The developmental rate of *Chrysomya megacephala*at 27°C were statistically significant from those of *C. rufifacies* (F=31.28, df=1,20, P<0.0001). The sizes of first instars and third instars of these two species were statistically significant (F=1628.86, df=2,6, P<0.0001; F=18.04, df=2,6 P=0.0029). However, the weight of one, two and three days old pupae of these two species were not different. The calculated accumulated degree days (ADD) of egg to eclosion of *C. megacephala* and *C. rufifacies* were 136.83 and 153.23 respectively. In addition, the calculated accumulated degree hours (ADH) were 3283.89 and 3677.44 for *C. megacephala* and *C. rufifacies*, respectively which were statistically significant (F=31.28, df=1,20, P<0.0001). These results indicate that the growth rate of *C. megacephala* is greater than that of *C. rufifacies*. The developmental rates of *C. megacephala* and *C. rufifacies* from egg to adult at 30 °C were significantly different (F=824.30, df=9,20, P<0.0001). The size of lavae in each stage (first, second and third instars lavae) of each species was also significantly different while sizes and weights of pupae at day 1, 2 and day 3 of both species were not different. The ADD of *C. megacephala* and *C. rufifacies* from egg to eclosion were 140.13 and 3363.20, respectively and154.87 and 3716.80 for ADH of *C. megacephala* and *C. rufifacies*, respecitively. The ADD and ADH were both significantly different for each species. These finding indicate that *C. .megacephala* has a higher developmental rate than that of *C. rufifacies* at 30 °C

สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ ..... ข
บทคัดย่อ..... ค-ง
สารบัญ..... จ
สารบัญภาพ..... ฉ-ฌ
สารบัญตาราง..... ญ

บทที่ 1 บทนำ..... 1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และขั้นตอนการวิจัย..... 15
บทที่ 4 ผลการศึกษา..... 26
บทที่ 5 สรุปและอภิปรายผลการศึกษา..... 67

บรรณานุกรม 78
ภาคผนวก 85

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	แสดง Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม อุณหภูมิเฉลี่ย 31˚C	33
4.2	แสดง Accumulated Degree Hour และค่า Accumulated Degree Day ของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ช่วงวันที่ 29 – 8 ธ.ค. 52 อุณหภูมิ 23 - 34 ˚C (อุณหภูมิเฉลี่ย 29 ˚C)	34
4.3	ความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 9 ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27 ºC	36
4.4	ขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่ 27ºC	40
4.5	แสดงน้ำหนักดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*,และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 27 ºC	42
4.6	ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่าAccumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขีย *C. megacephala* ที่ 27ºC	42
4.7	แสดงความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 10 ของไข่ *C. rufifacies* ที่ 27 ºC	44
4.8	แสดงขนาดความยาว(mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (Post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 27 ºC	48
4.9	แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่าAccumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 27 ºC	49
4.10	ความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 ของไข่ *C. megacephala* ที่ 30°C	52
4.11	ขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่30± 2°C	56

4.12 น้ำหนักดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 30°C 57

4.13 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่าAccumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่ 30°C 58

4.14 แสดงขนาดความกว้าง (μm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ8-9 (X) ของไข่ *C. rufifacies* ที่30 °C 60

4.15 แสดงขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 30 °C 64

4.16 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่าAccumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 30 °C 66

5.1 แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C 67

5.2 แสดงจำนวนชั่วโมงเฉลี่ยที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วง 29 - 31 °C 78

5.3 ระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส 70

5.4 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตของ*C. Rufifacies* ระหว่างการทดลองนี้และการทดลองของ Dhang *et al.*, 2008 71

5.5 ระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 74

5.6 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตของ*C. Rufifacies* ระหว่างการทดลองนี้และการทดลองของ Sritavanich *et al.*, 2009 74

5.7 ความยาวและความกว้างของไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* 75

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
4.1	แสดงลักษณะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* a) อายุ 0 ชั่วโมง b) อายุ 6 ชั่วโมง (4X)	26
4.2	แสดงความความยาว และความกว้าง (µm) (y) ในแต่ละชั่วโมง ของไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C	27
4.3	แสดงความความยาว และความกว้าง (µm) (y) ในแต่ละชั่วโมง ของไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C	27
4.4	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 1 ชั่วโมง (4X)	28
4.5	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 1st instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C	28
4.6	กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 1st instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C	29
4.7	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 36 ชั่วโมง	29
4.8	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 2nd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 -38 °C	30
4.9	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 2nd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C	30
4.10	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 44 ชั่วโมง	31
4.11	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C	31
4.12	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 3rd instar อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C	32
4.13	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instars - 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C	32

4.14	แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instars - 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34°C	33
4.15	ระยะไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อายุ 6 ชั่งโมง (40X)	35
4.16	ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของไข่ของ *C. megacephala* (A) Median area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว "Y" (B) Plastron network (C) Median area ยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ (D) Micropyle	35
4.17	17 ขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27 °C	36
4.18	ความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27°C	36
4.19	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 6 ชั่วโมง	37
4.20	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C.megacephala*ระยะที่ 1 (1st instars) ที่ 27 °C	37
4.21	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. megacephala* อายุ 5 ชั่วโมง	38
4.22	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 2 (2nd instars) ที่ 27 °C	38
4.23	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. megacephala* อายุ 34 ชั่วโมง	39
4.24	ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 3 (3rd instars) ที่ 27 °C	39
4.25	ขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3 ที่ 27 °C	40
4.26	ลักษณะดักแด้ของ *C. megacephala* อายุ 1 วัน	41
4.27	แสดงน้ำหนักดักแด้ (g) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 27 °C	41
4.28	ไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* อายุ 10 ชั่งโมง (40X)	43
4.29	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* (A) และ (B) รอยต่อของผิวไข่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม (C) Plastron network (D) Median area แคบและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่	43
4.30	แสดงขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ10 (X) ของ*C. rufifacies*ที่ 27	44

4.31	แสดงขนาดความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ10 ของไข่*C. Rufifacies* ที่ 27	44
4.32	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. rufifacies* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 7 ชั่วโมง	45
4.33	กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1 (1^{st} instars) ที่ 27 °C	45
4.34	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. rufifacies* อายุ 18 ชั่วโมง	46
4.35	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 2 (2^{nd} instars) ที่ 27 °C	46
4.36	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. rufifacies* อายุ 14 ชั่วโมง	47
4.37	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 3 (3^{rd} instars) ที่ 27 °C	47
4.38	แสดงขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3 ที่ 27 °C	47
4.39	ลักษณะดักแด้ของ *C. rufifacies* อายุ 2 วัน	48
4.40	ระยะเวลา (ชั่วโมง) ที่ใช้ในการเจริญ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่ 27 °C	49
4.41	ภาพถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 40X(A) แสดงระยะไข่ แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อายุ 0 ชั่วโมง (B) ไข่ *C. megacephala* อายุ 3 ชั่วโมง (C) ไข่ *C. megacephala* อายุ 6 ชั่วโมง (D) *C. megacephala* อายุ 9 ชั่วโมง)	50
4.42	ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (A) แสดงรู micropyle ของ *C. megacephala* (B) แสดงบริเวณภายใน plaston (C) แสดงบริเวณ median area และ(D)แสดงบริเวณ islands ภายใน plastron	51
4.43	ขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของไข่ *C. megacephala*	51
4.44	4 ความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของไข่ *C. megacephala*	52
4.45	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* อายุ 0 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 7 ชั่วโมงและ 13 ชั่วโมง	53
4.46	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1 (1^{st} instars)	53
4.47	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. megacephala* อายุ 15 ชั่วโมง	54
4.48	ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h)(X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 2 (2^{nd} instars)	54

4.49	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. megacephala* อายุ 10 ชั่วโมง และ 20 ชั่วโมง	55
4.50	กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 3 (3^{rd} instars)	55
4.51	ขนาดความยาว (mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3	56
4.52	น้ำหนักดักแด้ (กรัม) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เทียบกับและ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน	57
4.53	ลักกษณะสีและรูปร่างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เมื่ออายุ 24 ชั่วโมง อายุ 48 ชั่วโมง อายุ 72 ชั่วโมง และ อายุ 96 ชั่วโมง	58
4.54	ไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* อายุ 3 ชั่วโมงและ อายุ 9 ชั่วโมง (40X)	59
4.55	ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies*	59
4.56	แสดงขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของ*C. rufifacies*	60
4.57	กราฟแสดงขนาดความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ8-9 (X) ของไข่ *C. rufifacies*	60
4.58	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. rufifacies* อายุ 0 ชั่วโมง และ 9 ชั่วโมง	61
4.59	ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1 (1^{st} instars)	61
4.60	ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. rufifacies* อายุ 10 ชั่วโมง และอายุ 19 ชั่วโมง	62
4.61	กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 2 (2^{nd} instars)	62
4.62	แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. rufifacies* อายุ 15 ชั่วโมง และ 20 ชั่วโมง	63
4.63	แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 3 (3^{rd} instars) ที่ 30 °C	63
4.64	แสดงขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1-3	64
4.65	ลักษณะสีและรูปร่างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* เมื่ออายุ 24 ชั่วโมง 48 ชั่วโมง และ72 ชั่วโมง	65
4.66	แสดงระยะเวลา (ชั่วโมง) ที่ใช้ในการเจริญ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies*	66

บทที่1

บทนำ (Introduction)

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

นิติกีฏวิทยา (forensic entomology) เป็นการศึกษาชีววิทยาการเจริญของแมลงและสัตว์ขาข้อที่มีบทบาทสำคัญต่องานพิสูจน์หลักฐานและการสรุปสำนวนคดี การนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงวันมาช่วยในงานด้านนิติวิทยาศาสตร์ เกิดขึ้นอย่างแพร่หลายในประเทศยุโรป และอเมริกา เนื่องจากหลักฐานที่ได้จากแมลงเป็นข้อมูลที่สามารถพิสูจน์และเชื่อถือได้ เพราะการเจริญของแมลงมีระยะเวลาที่แน่นอน ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ และมีค่าเฉพาะในแมลงแต่ละชนิด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงหรือขนาด กับอุณหภูมิที่ใช้ในหการเจริญเติบโตค่าต่าง 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 ซึ่งแก๊สเหล่านี้จะมีกลิ่นเฉพาะตัวและเป็นตัวดึงดูดแมลงวันให้เข้ามาตอมศพ เพื่อดูดกินของเหลวและวางไข่บนศพทันที จากนั้นไข่จะพัฒนาไปเป็นตัวหนอน ดักแด้ และตัวเต็มวัย การเจริญเติบโตของแมลงวันในแต่ละระยะการเจริญ ต้องการความร้อนสำหรับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง ค่าความร้อนดังกล่าวสามารถหาได้จากค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละวัน เรียกว่า ค่าจำนวนวันสะสมของอุณหภูมิสำหรับการเติบโต (accumulated degree day; ADD) และเนื่องจากแมลงวันมีวงชีวิตและใช้เวลาในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะที่แน่นอน ดังนั้นการคำนวณค่า ADD จะสามารถช่วยประมาณเวลาการตายที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งการประมาณเวลาหลังการตายจะพิจารณาจากจุดเวลา 2 จุด คือ เวลาที่พบเหยื่อครั้งสุดท้ายขณะที่มีชีวิตและเวลาที่พบศพ แต่เนื่องจากจุดเวลาแรกมักจะไม่แน่นอนเมื่อเทียบกับเวลาที่พบศพ แมลงวันหัวเขียวเป็นชนิดแรกที่เข้ามาตอมศพไม่กี่นาทีหลังจากที่มีการตายเกิดขึ้น เวลาที่วางไข่จึงเป็นตัวสะท้อนเวลาการตายที่ใกล้เคียงกับเวลาการตายมากที่สุด แต่ในสถานการณ์จริงศพมักจะถูกพบหลังจากที่มีการฆาตกรรมเกิดขึ้นแล้ว 2-3 วัน หรือมากกว่า หลักฐานที่พบบนศพส่วนใหญ่จึงเป็นหนอนแมลงวันในระยะต่าง ๆ ดังนั้นการศึกษาวงชีวิตและเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตในแต่ละระยะที่อุณหภูมิคงที่จะทำให้ได้ค่า ADD ที่สามารถนำไปประมาณเวลาหลังการตายได้ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด

สำหรับในประเทศไทย ยังไม่มีรายงานการนำเอาความรู้ทางด้าน นิติกีฏวิทยา มาใช้ในการสืบสวนสอบสวน เพื่อคลี่คลายคดีฆาตกรรมต่าง ๆ เนื่องจากไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการเจริญเติบโต หรือค่าขนาดความยาวของตัวหนอนระยะต่าง ๆ ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิดกับอุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ เพื่อนำมาหาความสัมพันธ์เพื่อคำนวณหาค่า lower threshold, DD, ADD และ ADH เพื่อนำมาใช้ประมาณค่า PMI ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาการเจริญ และการคำนวณค่าความร้อนที่ใช้ในแต่ละระยะการเจริญแมลงวันหัวเขียวที่มีบทบาทสำคัญในงานนิติวิทยาศาสตร์ เพื่อนำไปใช้สำหรับการประมาณเวลาการตาย จะเป็นข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญและเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานนิติวิทยาศาสตร์ไม่เพียงแต่เฉพาะในประเทศไทยยังรวมไปถึงระดับนานาชาติด้วย

1.2 วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ควบคุมคงที่ค่าต่างๆ ต่อระยะเวลาในการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิดที่พบในประเทศไทย ระยะไข่ ระยะตัวหนอนระยะที่ 1-3 และระยะดักแด้จนฟักเป็นตัวเต็มวัย

1.2.2 ศึกษาผลของอุณหภูมิในสภาวะแวดล้อมจากภาคสนาม 3 ช่วงเวลาคือ ช่วงที่ 1 เดือนมีนาคม - มิถุนายน ช่วงที่2 เดือนกรกฎาคา-ตุลาคม ช่วงที่ 3 เดือนพฤศจิกายน- กุมภาพันธ์ ต่อระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิดที่พบในประเทศไทย ระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1-3 และดักแด้

1.2.3 คำนวณค่า Accumulate degree hour และ accumulate degree day โดยใช้ สมการเส้นตรง (linear equation) หรือ ADH เพื่อหาระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญแต่ละระยะ

1.2.4 เปรียบเทียบค่าของระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญแต่ละระยะที่ได้จากการทดลอง (observation periods) กับค่าที่ได้จากสมการ AHD

1.2.5 คำนวณหาค่า PMI จากค่า ADD หรือ ADH จากสมการที่ได้จากการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนาม เพื่อนำมาใช้ประมาณระยะเวลาหลังการตายได้

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) ทั้ง3 ระยะคือ 1st instars, 2nd instars และ 3rd instars ระยะดักแด้ โดยใช้ตับหมูบดเป็นสารอาหาร ในกรณีศึกษาในห้องปฏิบัติการ และใช้ศพหนูในกรณีทำการทดลองภาคสนามเป็นเวลา 3 ปี โดยบันทึกระยะเวลาที่แมลงวันหัวเขียวใช้ในการเจริญ (developmental time) ในแต่ละระยะจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆและอุณหภูมิภาคสนามโดยได้จากสถานีอากาศที่ใกล้สถานที่ทดลองที่สุด ศึกษาและบันทึกการเปลี่ยนแปลงระยะของแมลงวันหัว

เขียวภายใต้กล้อง Stereomicroscope แล้วนำไปคำนวนโดยใช้สมการเส้นตรงหาความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญกับเวลา คำนวณค่าอัตราการเจริญ (developmental rate) ค่าเวลาการเจริญ (developmeal time) จากสมการ ค่า lower threshold (minimum developmental temperature) และสามารถคำนวณหาค่า accumulate degree hour (ADH) และ accumulate degree day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียวชนิด (species) ต่าง ๆ ได้สมการดังกล่าว ข้อมูลค่าADD และADH สามารถนำไปใช้ในการคำนวนหาค่าประมาณระยะเวลาหลังการตาย (postmortem interval, PMI)

1.4 ทฤฎีสมมุติฐานและกรอบแนวความคิดการวิจัย

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 นอกจากนี้ในกรณีที่การเจริญของแมลงที่พบในศพที่ตายในสภาวะแวดล้อมที่มีอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงในสถานที่หรือฤดูต่าง ๆ สามารถประทาณหาค่า PMI ได้ด้วยการใช้สมการความสัมพันธ์ระหว่าง อุณหภูมิและค่าเวลาที่ใช้ในการเจริญ 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 โดยแมลงแต่ละชนิดมีค่า ADD และ ADH แตกต่างกันและมีความจำเพาะในแต่ละระยะของแมลง (Marchenko, 1988) ซึ่งสำหรับแมลงวันหัวเขียวชนิดที่พบในประเทศไทยและมีการเจริญเติบโตภายใต้สิ่งแวดล้อมของประเทศเขตร้อน นั้นยังไม่มีรายงานการคำนวณค่า ADD หรือ ADH และค่า minimum threshold temperature มาก่อน ดังนั้นผลการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะสามารถคำนวนหาค่าดังกล่าวเหล่านี้ในแต่ละระยะการเจริญตั้งแต่ ไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1 , 2 และ 3 ดักแด้จนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิด (species) ได้ ซึ่งค่าเหล่านี้สามารถนำมาคำนวณหาค่า PMI เมื่อมีศพเกิดขึ้นได้

บทที่ 2
บทสอบสวนเอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง
(Literature reviews)

2.1 ประวัติการเกิดของสาขานิติกีฏวิทยา (History of Forensic Entomology)

การใช้แมลงวันเพื่อช่วยคลี่คลายคดีฆาตกรรมเริ่มต้นตั้งแต่สมัยปีก่อนคริสศักราช 1235 โดยนักสืบท้องถิ่นชาวจีน Sung Tz'u และได้เขียนรายละเอียดเกี่ยวกับคดีไว้ในหนังสือเรื่อง "The Washing Away of Wrong" ซึ่งแปลโดย McKnight ในปี ค.ศ. 1981 คดีฆาตกรรมที่เกิดขึ้นกับชาวนาที่อาศัยอยู่ในชนบทแห่งหนึ่งในประเทศจีน เนื่องจากในฤดูเก็บเกี่ยวได้เกิดฆาตกรรมเกิดขึ้นในกลุ่มชาวนา จากนั้น Sung ได้ถูกเรียกตัวมายังสถานที่เกิดเหตุและรับหน้าที่เป็นผู้รับผิดชอบในคดีนี้ หลังจากที่ทำการสอบปากคำจากชาวนาทุกคนที่อยู่ในที่เกิดเหตุ ชาวนาทุกคนปฏิเสธว่าไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตายดังกล่าว Sung สังเกตเห็นทุกคนถือเคียวอยู่ในมือ เขาจึงขอให้ทุกคนวางเคียวลงกับพื้นบริเวณด้านหน้าของแต่ละคน หลังจากนั้นไม่นานได้มีแมลงวันมาตอมเคียวของชาวนาคนหนึ่ง ซึ่งยังคงมีกลิ่นคาวเลือดและชิ้นส่วนเนื้อเยื่อของผู้ตายติดอยู่ กลิ่นคาวเลือดดึงดูดให้แมลงวันมาตอมและสุดท้ายชาวนาเจ้าของเคียวได้ยอมรับสารภาพว่าเป็นคนลงมือฆ่าผู้ตายดังกล่าว นอกจากนี้ Sung ยังได้เขียนอธิบายถึงกิจกรรมของแมลงวันขณะที่ตอมศพ ระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยหรือกินซากศพ และการดึงดูดแมลงชนิดอื่น ๆ ให้เข้ามาตอมซากศพด้วย (ไพฑูรย์และกันทิมา, 2552; Haskell and Williams, 2008) ต่อมาใน ค.ศ. 1855 Bergeret ชาวฝรั่งเศส เป็นคนแรกที่ใช้แมลงมาใช้ในกระบวนการนิติวิทยาศาสตร์ ในคดีการพบศพเด็กทารกในบ้านที่ฉาบด้วยปูนซีเมนต์ เจ้าของบ้านถูกกักตัวในฐานะผู้ต้องสงสัย Bergeret ได้ชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและระยะการเจริญของแมลงกับสภาพของศพที่พบ (stage of decay) ซึ่งระบุได้ว่าการฆาตกรรมเกิดขึ้นเมื่อหลายปีก่อน และฆาตกรน่าจะเป็นคนที่อาศัยในบ้านหลังดังกล่าวก่อนหน้านี้ และไม่ใช่เจ้าของบ้านคนปัจจุบัน ในปี ค.ศ. 1889-1898 Megnin ชาวฝรั่งเศสได้ตีพิมพ์บทความในวารสารหลายฉบับที่เกี่ยวข้องกับนิติกีฏวิทยา และที่มีชื่อเสียงมากที่สุดคือ "La Faune des Cadavers; Applicationl' entomologie a la Medicine Legale" ซึ่งตีพิมพ์ในปี ค.ศ. 1894 บทความดังกล่าวมีประโยชน์อย่างมากและเป็นเอกสารอ้างอิงที่สำคัญสำหรับผู้ที่ทำงานเกี่ยวข้องกับคดีฆาตกรรม 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 (Knipling, 1936); A manual of forensic entomology (Smith, 1986); Forensic entomology (Byrd and Castner, 2000); Maggots, Murder, and Men (Erzinclioglu, 2000) และ Entomology & Death: A Procedural Guide (Haskell and Williams, 2008) เป็นต้น จากนั้น 20 ปีต่อมา

Knipling (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 ได้รับความสนใจและเป็นที่ยอมรับอย่างกว้าง ขวาง จะเห็นได้จากจำนวนบทความ วารสาร และหนังสือที่พิมพ์เผยแพร่ที่เพิ่มขึ้นในแต่ละปี การเกิดขึ้นหน่วยงานที่ศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยาของแมลงที่สำคัญต่อนิติกีฏวิทยา สมาคมหรือองค์กรต่าง ๆ ทั้งในอเมริกา และยุโรป ที่บทบาทสำคัญทางด้านนิติกีฏวิทยา เช่น American Board of Forensic Entomology (ABFE), The North America Forensic Entomology Association (NAFEA) และ The European Association for Forensic Entomology (EAFE) เป็นต้น และการเปิดให้มีเรียนการสอนในรายวิชานิติกีฏวิทยาในสถาบันการศึกษาต่างๆ นอกจากนี้อุตสาหกรรมบันเทิงหรือสื่อโทรทัศน์ที่ผลิตละครในแนวสอบสวนสืบสวน เช่น New Detectives, Crime Scene Investigation หรือ CSI ซึ่งได้นำความรู้หรือคดีที่เกิดขึ้นและเกี่ยวข้องกับการนำแมลงไปช่วยคลีคลายคดีไปสร้างเป็นละครเป็นตอน ๆ

2.2 **ชีววิทยาและวงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว** (Biology and Life Cycle of Blow Flies)

2.2.1 อนุกรมวิธานของแมลงวันหัวเขียว (Taxonomy of blow flies)

แมลงที่อยู่ในอันดับ ดิฟเทอรา (Order Diptera) จัดเป็นแมลงที่มีปีกที่แท้จริง (true flies) ที่มีบทบาททางนิติกีฏวิทยาได้แก่แมลงใน 2 วงศ์ (families) คือ Family Calliphoridae และ Family Sarcophargidae (พวกแมลงวันหลังลาย) แมลงวันหัวเขียว วงศ์แคลลิฟอริดี แบ่งออกเป็นสกุล (genus, genera) มากกว่า 17 สกุล แต่ที่สำคัญและถูกนำมาใช้ในงานต่องานด้านนิติกีฏวิทยา ได้แก่

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

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

3) สกุลฟอร์เมีย (Genus *Phormia*) หรือ black blow fly ตัวอย่างคือ *Phormia regina* บริเวณอกและท้องมีสีน้ำเงินออกดำสะท้อนแสง มีความยาวลำตัวเฉลี่ยประมาณ 6-12 มิลลิเมตร

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

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 ระยะคือ 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 เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 เท่ากับ 27 ชั่วโมง จากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นตัวหนอนระยะที่ 3 เท่ากับ 22 ชั่วโมง จากตัวหนอนระยะที่ 3 เป็นตัวหนอนก่อนที่จะเป็นดักแด้ (prepupa) เท่ากับ 130 ชั่วโมง และจากระยะดักแด้จนกระทั่งเป็นตัวเต็มวัย เท่ากับ 143 ชั่วโมง รวมระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียวตั้งแต่วางไข่จนกระทั่งพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยทั้งหมด 345 ชั่วโมง หรือประมาณ 14 วัน (Merritt and Benbow, 2008)

2.3 การประเมินทางกีฏวิทยาเพื่อประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Assumptions of Entomology –Based PMI Estimates)

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

1). แมลงวันหัวเขียวจะไม่วางไข่ในตอนกลางคืน ซึ่งคดีฆาตกรรมส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นในตอนกลางคืน และอาจทำให้การประมาณเวลาการตายผิดพลาดเนื่องจากแมลงวันจะวางไข่ในตอนเช้าของวันถัดไป ดังนั้นแสงสว่างในที่พบศพเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการวางไข่ของแมลงกลุ่มนี้

2). แมลงวันหัวเขียวจะวางไข่ทันทีหรือหลังจากที่เข้าตอมศพเพียงไม่กี่นาที ดังนั้นการประมาณเวลาการตายจึงเริ่มคำนวณตั้งแต่เวลาที่แมลงเข้าตอมศพ อย่างไรก็ตามก็จะมีปัจจัยที่ทำให้การวางไข่ของแมลงช้ากว่าปกติ ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลที่เก็บได้บริเวณที่เกิดเหตุ หรือจากศพเอง

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

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

5). สภาพภูมิอากาศ (climate) เป็นข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ (weather station) ที่ตั้งอยู่ใกล้กับสถานที่เกิดเหตุ (crime scene) ซึ่งจะใช้เป็นตัวบอกอุณหภูมิอากาศของสถานที่เกิดเหตุ ข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลที่ไม่ค่อยถูกนำมาพิจารณาสำหรับนักนิติกีฏวิทยา เนื่องจากข้อมูลอากาศที่ได้จากสถานีวัดอากาศกับข้อมูลที่ได้จากการวัด ณ ที่เกิดเหตุ อาจจะคลาดเคลื่อนกันซึ่งเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะพื้นที่ที่พบศพซึ่งอาจจะเป็นทุ่งหญ้า ชายป่า หรือในหนองน้ำ ความเร็วและทิศทางลม เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องทำการวัดอุณหภูมิ ณ ที่เกิดเหตุ หลังจากที่มีการพบศพต่ออีก ประมาณ 2-3 วัน หรือ 1

สัปดาห์ แล้วนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ ในกรณีที่พบศพในอาคาร (indoor) ให้ตรวจอุณหภูมิจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ติดตั้งไว้ในตัวอาคาร

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

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

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

2.4.1 บทบาทความสำคัญของระยะไข่ (The Importance role of eggs)

ไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะมีระยะเวลาฟักตัวสั้นและขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอากาศ ณ ขณะนั้นด้วย ไข่อาจถูกเก็บมาจากศพโดยตรงหรือเก็บจากเสื้อผ้าของผู้ตาย โดยทั่วไปมักจะไม่พบไข่ของแมลงวันบนศพ เนื่องจากศพมักจะถูกพบ 2-3 วัน หรือมากกว่าหลังจากการตาย ดังนั้นการจำแนกชนิดของไข่ของแมลงวันที่พบบนศพที่ถูกต้องแม่นยำ ร่วมกับการเก็บรายละเอียดเรื่องของอุณภูมิจะนำไปสู่การประมาณค่า PMI (post mortem interval) ได้รวมทั้งอาจบอกได้ว่าศพนั้นถูกเคลื่อนย้ายจากบริเวณอื่นหรือไม่ ซึ่งข้อมูลต่างๆเหล่านี้อาจไปสอดคล้องกับข้อมูลของผู้ต้องสงสัย ข้อมูลการใช้ยาเสพติดเป็นต้น (Anderson, G.S., 2004) ระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียวที่อยู่ใน Family Calliphoridae ที่มีบทบาทสำคัญต่อนิติเชได้แก่ Genus *Chrysomya* และ *Lucilia* (Mendonca *et al.* , 2008) ไข่ของแมลงวันหัวเขียวมีรูปทรงกระบอกปลายทั้งสองข้าง มน คล้ายเม็ดขาวสาร ขนาดประมาณ 1.5-2.5 มิลลิเมตร (Haskell and Williams, 2008) สีเหลืองอ่อน มักพบอยู่บริเวณที่มีรอยบาดแผล และตามรูเปิดต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ช่องปาก หู จมูก ตา ทวารหนัก เป็นต้น เนื่องจากบริเวณเหล่านี้ มีความชื้นและมักส่งกลิ่นออกมาดึงดูดแมลงวันหัว

เขียวเข้าไปวางไข่ แมลงวันสามารถวางไข่ได้ครั้งละประมาณ 100 - 150 ฟอง (Haskell and Williams, 2008) แต่ในกรณีที่อุณหภูมิอากาศต่ำ เช่น ในฤดูหนาวหรือในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็นจำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้งจะลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจำนวนไข่จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากไข่จะสามารถเจริญและมีอัตราการรอดสูงมากขึ้นและปลอดภัยจากศัตรูต่าง ๆ ด้วย โดยเฉลี่ยไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะฟักออกมาเป็นตัวหนอนใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันหัวเขียว และอุณหภูมิขณะฟักตัว ตัวอย่างเช่นใน *P. regina* เลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ที่ 26.7 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาการเจริญเฉลี่ย 16 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ขณะที่ไข่ของ *L. sericata* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ 24, 30 และ 35 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 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 ละ 34 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% มีระยะเวลาการเจริญเป็น 31 28 24 22 19 17 14 11 10 8.5 ชั่วโมงตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) ดังนั้นการเลี้ยงไข่ในห้องปฏิบัติการและบันทึกอุณหภูมิทุก ๆ ช่วง จะทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับระยะเวลาที่ใช้ในการฟักออกมาเป็นตัวหนอนได้ และใช้ข้อมูลที่ได้มาประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพได้ ในกรณีที่เราเก็บไข่จากศพจะต้องทราบทราบอุณหภูมิอากาศขณะที่พบและย้อนหลังประมาณ 1-2 วัน นอกจากนี้ยังสามารถผ่าตัดไข่เพื่อดูระยะการเจริญของตัวอ่อน (embryo) ซึ่งนำไปสู่การบอกระยะเวลาการวางไข่ได้ และสามารถบอกได้ว่าศพนั้นตายมานานเท่าไหร่แล้ว อย่างไรก็ตามสิ่งที่สำคัญที่สุดคือต้องสามารถจำแนกชนิดของไข่ดังกล่าวได้ว่าเป็นของแมลงวันชิดไหนก่อนเนื่องจากค่าเวลาการเจริญต่าง ๆ ของแต่ละชนิดมีความเฉพาะตัวและแตกต่างกัน ซึ่งลักษณะภายนอกและภายในของไข่แมลงวันหัวเขียวหรือแมลงวันชนิดอื่น ที่พบในศพสามารถจำแนกได้ทั้งภายใต้กล้อง stereomicroscope และ scanning electron microscope (Kitching, 1976) ตัวอย่างเช่น ไข่ของแมลงวันหัวเขียวชนิด *C. megacephala C. putoria L. cuprina* และ *L. eximia* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด ที่แตกต่างกัน นอกจากมีขนาดเป็น 786 1053 1027 (1090) และ1106 ไมโครเมตร ตามลำดับ (Mendonca *et al.*, 2008; Sukontason et al., 2007)

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 และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร และผู้ล่า เป็นต้น เรามักจะพบหนอนแมลงวันจำนวนมากหลาย

ร้อยหรือหลายพันตัวบนซากศพ เรียกกลุ่มหนอนแมลงวันนี้ว่า maggot mass การเคลื่อนไหวและเมแทบอลิซึมของ maggot mass ทำให้อุณหภูมิของ moggot mass สูงขึ้นและสูงกว่าอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมค่อนข้างมาก บางครั้งอาจสูงขึ้นเป็น 2 เท่าของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ซึ่งมีผลทำให้อัตราการเติบโตและพัฒนาการของตัวหนอนได้สูงขึ้น (Gomes, et al., 2005; Haskell and Williams, 2008)

จากข้อมูลข้างต้นหนอนแมลงวันในแต่ละระยะจะมีขนาด และใช้ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน (Joy *et al.*, 2002) เช่น ตัวหนอนระยะที่1 ของ *P. regina* มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 2 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 5-8 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 3 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 9-18 มิลลิเมตร โดยใช้เวลาในการเจริญแต่ละระยะเท่ากับ18,11 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ ณ อุณหภูมิคงที่ 26.7 องศาเซลเซียส (Haskell and Williams, 2008) ซึ่งแตกต่างไปจากระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด *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 10และ 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 15และ 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 8.95องศาเซลเซียส 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 Turner, 2003; Grassberger and reiter, 2001) อย่างไรก็ตามตัวหนอนที่อยู่ในสภาวะที่มีอาหารจำกัด มักมีการแก่งแย่งอาหารกันขึ้นเนื่องจากตัวหนอนแต่ละตัวจะพยายามแย่งกินอาหารให้ได้มากที่สุดก่อนที่อาหารจะหมดไป ดังนั้นในสถานที่เกิดเหตุจะเก็บตัวหนอนที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมาเทียบค่ากับ ความสัมพันธ์ของกราฟที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างขนาดของตัวหนอนกับช่วงเวลาที่ใช้ในการ

เจริญในแต่ละระยะ (Hayes *et al.*, 1998; Levot *et al.*, 1979; Lomnicki, 1988) การเปลี่ยนระยะเพื่อเจริญไปเป็นระยะที่พัฒนาสูงขึ้นจะมีการลอกคราบในการเปลี่ยนแต่ละระยะ สามารถจำแนกระยะต่าง ๆ ของตัวหนอนพวกนี้ได้ง่ายเนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันค่อนข้างชัดเจน ดังนั้นการทราบระยะเวลาตั้งแต่การฟักออกเป็นตัวเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 เจริญไปเป็นระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ สามารถที่จะนำข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและอุณหภูมิ มาใช้ในการประมาณช่วงเวลาหลังการตายได้เช่นเดียวการใช้ระยะไข่ ตัวอย่างกรณีศึกษาที่ใช้ระยะตัวหนอนไปใช้ปรมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตได้แก่การศึกษาของ Costa และ Patiu ปี 2004 ที่ประเทศบราซิล ในศพของสตรีที่อยู่ในที่พักอาศัย 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 C. chloropya* พบว่าค่าประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) จะช้ากว่าชนิดแรก 1 วัน (Costa and Patiu, 2004)

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 หรือหลบอยู่ใต้ใบไม้ ขอนไม้ หรือขี้เลื่อย เป็นต้น จากการทดลองในห้องปฏิบัติที่กำหนดพื้นที่สำหรับการเคลื่อนที่ (arena) เป็นรูปวงกลมรัศมี 25 เซนติเมตร และปิดด้วยขี้เลื่อยลึก 40 เซนติเมตร พบว่าความลึกโดยเฉลี่ยที่ตัวหนอนขุดลงไปเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้อยู่ในช่วง 7-18 เซนติเมตร และสำหรับในแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. cuprina* เท่ากับ12 เซนติเมตร ส่วนในชนิด *C. megacephala* เท่ากับ 11 เซนติเมตร และในชนิด *C. albiceps* เท่ากับ 9.8 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าระยะทางที่หนอนแมลงวันขุดลงไปลึกที่สุดที่พบใน *C. megacephala* เท่ากับ 32 เซนติเมตร และ *C. albiceps* เท่ากับ 23 เซนติเมตร (Gomes et al., 2005) เมื่อตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ขนาดจะเล็กลงและสร้างสารพวกไคทิน (chitin) ออกมาเพื่อห่อหุ้มตัว ทำให้เห็นเป็นสีน้ำตาลแดงหรือดำ เรียก puparium (พหูพจน์ 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, 22, 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)

จะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงจากระยะไข่จนกระทั่งเข้าสู่ระยะดักแด้ที่รายงานในงานวิจัยต่างๆ เป็นค่าที่คำนวณได้จากการเลี้ยงแมลงวันที่มีบทบาทสำคัญในงานนิติเวชและทดลองที่อุณหภูมิคงที่ ดังนั้นในการเก็บบันทึกค่าอุณหภูมิ ณ ที่เกิดเหตุควรจะบันทึกอุณหภูมิหลังจากที่มีการพบศพจ่อไปอีกประมาณ 2.3 วัน และเปรียบเทียบค่าอุณหภูมิจากข้อมูลจากสถานีอากาศที่อยู่ใกล้ที่สุดกับที่เกิด

เหตุ นอกจากนี้อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับบันทึกอุณหภูมิควรจะสามารถบันทึกค่าอุณหภูมิได้ในระดับชั่วโมง เพื่อทำให้การคำนวณ PMI ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด

2.5 ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (Minimum development threshold)

ผลการศึกษาระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิดตั้งแต่ระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวที่อุณหภูมิต่าง ๆ จะถูกนำมาใช้ในการคำนวนหาค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้ (lower thresholds) โดยคำนวนได้จาก linear regression ของกราฟอัตราการเจริญเติบโต (developmental rate) แสดงบนแกน y ที่มีค่าเท่ากับส่วนกลับของเวลาที่ใช้ในกรเจริญเติบโตแต่ละระยะ (developmental time) นั่นคือ y= 1/developmental time ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ ซึ่งแสดงบนแกน x (Grassberger and Reiter, 2002) โดยทั่วไปค่า lower threshold หรือที่เรียกว่าค่า base line จะแตกต่างกันในแมลงแต่ละชนิด โดยมากที่ศึกษาในประเทศเขตหนาวมีค่าที่นิยมใช้กัน 2 ค่าคือ 10 และ 6 องศาเซลเซียส ใช้สัญญลักษณ์เป็น B_{10} B_6 ตามลำดับ

นอกจากนี้ค่าคงที่ของอุณหภูมิ (thermal constant, K) สามารถคำนวนได้จาก $K= y(t-t_L)$ โดยค่า y คือ ค่าเวลาที่ใช้ในการเติบโตแต่ละระยะ มีหน่วยเป็นวัน (days) ค่า t คือค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่ใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนค่า t_L คือค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (องศาเซลเซียส) โดยมากค่า K มักคำนวนจากค่าอุณหภูมิคงที่ 5 อุณหภูมิ 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) นอกจากนักนิติกีฏวิทยาจะต้องทราบชนิดของหนอนแมลงวันอย่างแม่นยำแล้ว การบันทึกอุณหภูมิบริเวณที่เกิดเหตุและจากสถานีวัดอากาศที่ใกล้ที่สุดถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการคำนวณหา PMI เนื่องจากแมลงเป็นสัตว์เลือดเย็น (exothermic) คือร่างกายสามารถปรับอุณหภูมิได้ในช่วงค่อนข้างกว้าง ดังนั้นอุณหภูมิร่างกายและการเติบโตของแมลงจึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม การเจริญเติบโตของแมลงวันเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ประกอบด้วย 4 ระยะซึ่งแต่ละระยะของการเติบโต แมลงต้องการความร้อน (heat) เพื่อใช้สำหรับการพัฒนาจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง 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 การเติบโตของ

แมลงเกิดขึ้นได้ในช่วงค่าอุณหภูมิหนึ่ง คือ แมลงวันจะเริ่มเติบโตได้ที่อุณหภูมิที่ต่ำที่สุด (minimum temperature) ค่าหนึ่ง เรียกว่า lower development threshold หรือ baseline ซึ่งถ้าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่ำกว่าค่า 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] xจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ

ADD = [(อุณหภูมิสูงสุด +อุณหภูมิต่ำสุด)/2] - ค่า baseline] xจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ/ 24

(Costa and Patiu, 2004; Haskell and Williams, 2008; Joy *et al.*, 2006)

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
- Microsyrynx 1 μl (Varain, USA)
- Microsyrynx 10 μl (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 × 25 mm × 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 µl (Axygen-Hayward, USA)
- Sectioning set (Chiron Stainless, Germany)
- Specimen Forceps 4.5" (EMS, USA)
- Staining jars
- Test tube 12 × 75 mm2

3.2 **สารเคมี**

- Absolute Ethyl Alcohol (Merk, Germany)
- Dodecenyl 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
- Formaldyhyde Sulution (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,)
- Permount (Fisher Chemical, USA)
- Sodium Bisulfite
- Toluidine blue
- Xylene (Panreac, England

3.3 ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา (Specimens)

- แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*
- แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies*

3.4 สถานที่ศึกษา (Study site)

3.4.1สถานที่ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ห้อง BS 3108-3110 ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อ. เมือง จ. ชลบุรี

3.4.2 สถานที่ทำการทดงองภาคสนาม บริเวณภายในมหาวิทยาลัยบูรพา

3.5 วิธีการดำเนินการวิจัย และสถานที่ทำการทดลอง / เก็บข้อมูล

<u>วิธีดำเนินการวิจัย</u>

3.5.1 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยจากซากสัตว์ทดลอง

วิธีปฏิบัติ

1. สุ่มเก็บตัวอย่างแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยขณะเข้าตอมซากสัตว์ทดลอง
2. โดยสุ่มเก็บแมลงวันหัวเขียวจำนวน 10 ตัว/ชนิด/ซากสัตว์ทดลอง

3. จำแนกชนิด (Identification) โดยใช้ key ของ Whitworth (2006)

3.5.2 การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียวระยะตัวหนอน

วิธีปฏิบัติ

1. นำแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัยที่เก็บจากซากศพสัตว์ทดลองในภาคสนาม
2. แยกชนิดและเพศ แล้วนำใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 โดยสัดส่วนเพศผู้ต่อเพศเมียเป็น 30: 30 ตัว/กรง
3. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา24 ชั่วโมง
4. จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูบดปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
5. ใส่ตับหมูขนาดเฉลี่ย 5x5x1 cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย10 กรัม 12 ใส่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 8x8x4 cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
6. บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
7. บันทึกอุณหภูมิทุก ๆ 1 ชั่วโมง และเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ได้จากสถานีอุตุนิยมวิทยาที่ใกล้เคียง ตลอดช่วงทำการทดลอง
8. แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้พู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3
9. นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิห้อง บันทึกอุหภูมิทุก 1 ชั่วโมง
10. ตรวจการเจริญเติบโตของไข่ทุก ๆ1 ชั่วโมง จนกระทั่งเข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 3 (third instars)
11. นำตัวหนอนระยะที่ 3 มาจำแนกชนิดโดยใช้กุญแจมาตรฐานของ Whitworth(2006) เพื่อเป็นการยืนยันร่วมกับการจำแนกด้วยตัวเต็มวัย

3.5.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

การเตรียมตัวอย่างระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

1 นำไก่สดที่ทราบเวลาการตาย และทำให้เกิดบาดแผลข้างลำตัว ข้างละ 3 แผล วางบริเวณภาคสนามที่เป็นพื้นดินในที่ร่ม ที่มีแสงสว่างส่องประมาณ 4 ชั่วโมงต่อวัน ในกรงตาข่าย

ป้องกันสัตว์รบกวนขนาด 35 x 30 x 35 cm^3 บริเวณ ต. เหมือง อ. เมือง จ. ชลบุรี

2 รอจนกระทั่งแมลงวันหัวเขียวชนิด *C. magacephala* มาวางไข่ จนได้จำนวนเพียงพอต่อการศึกษา

3 ใช้พู่กันเบอร์ 1 หรือ 2 เขี่ยไข่ จำนวน 100 ฟอง แล้วย้ายลงมาวางบนตับหมูน้ำหนัก 10 กรัม ที่ตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 4 x 6 x 1 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำจากแผ่นอลูมิเนียม (Aluminum foil) ขนาด 4 x 6 x 1 cm^3 บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวเขียววางไข่ ของทุก ๆ ครั้ง

14 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 ทิ้งไว้ 15 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนเป็น 70 % ethanol ก่อนที่จะนำมาทำสไลด์ถาวร เพื่อนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกและวัดขนาดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง Olympus CH30RF2 จนกระทั่งไข่ฟักออกเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars)

3 บันทึกอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ทุก ๆ 1 ชั่วโมง

4 บันทึกเวลาที่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1

5 ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

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

1. นำตัวหนอนระยะที่ 1 จำนวน 150 ตัว วางลงบนตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด 4 x 6 x 1 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงอลูมินั่ม ซึ่งอยู่ภายในกล่องพลาสติกขนาด 7.5 x 10 x 5.6 cm^3 และ เปลี่ยนตับหมูสดทุก 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** *C. magacephala*

1. เลี้ยงตัวหนอนด้วยตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด 4 x 6 x 1 cm^3 เลี้ยงจนกระทั่งตัวหนอนเปลี่ยนจากระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 โดยเปลี่ยนตับหมูสดทุก ๆ 24 ชั่วโมง
2. นำตัวหนอนระยะดังกล่าวจำนวน 3 ตัว ออกมาศึกษาภายใต้กล้อง stereomicroscope 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** *C. magacephala*

1. เลี้ยงตัวหนอนด้วยตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม ขนาด 4 x 6 x 1 cm^3 จนกระทั่งตัวหนอนระยะที่ 3 หยุดกินอาหาร
2. นำตัวหนอนระยะดังกล่าวจำนวน 3 ตัว ออกมาศึกษาภายใต้กล้อง stereomicroscope จากนั้นนำตัวหนอนจุ่มลงในน้ำร้อน 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แล้วดองเก็บไว้ใน 75 % ethanol เพื่อนำไปวัดขนาดด้วยไม้บรรทัด

3.5.8 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อระยะเวลาการเจริญในระยะดักแด้ ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

1. เมื่อตัวหนอนหยุดกินอาหารแล้วให้เตรียมดินผสมขี้เลื่อย เพื่อให้ตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ โดยอัตราส่วนดินต่อขี้เลื่อย 80 : 20 และนำไปอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 90°C
2. ชั่งดินผสมขี้เลื่อยน้ำหนักเฉลี่ย 150 กรัม ผสมกับน้ำ พร้อมทั้งวัดค่า pH = 7 ความชื้นของดิน 70 % และ นำดินผสมขี้เลื่อยใส่กล่องพลาสติกขนาด 11.5 x 11.5 x 6.6 cm^3
3. นำตัวหนอนระยะที่ 3 ที่หยุดกินอาหารแล้วจำนวน 150 ตัว มาใส่ในกล่องที่มีดินผสมขี้เลื่อย
4. บันทึกเวลาที่ตัวหนอนระยะที่ 3 เปลี่ยนเข้าสู่ดักแด้ และเวลาที่ดักแด้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย พร้อมทั้งบันทึกอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ทุก 1 ชั่วโมง

3.5.9 การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* **ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม**

1. เมื่อแมลงวันฟักออกมาจากดักแด้แล้วให้เปลี่ยนไปเลี้ยงโดยใช้กล่องเลี้ยง (case) โดยให้ตัวเมียและตัวผู้และตัวเมียมีอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน (1:1)

2. แมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* ในวันที่ 1 และวันที่ 2 ให้เลี้ยงด้วยน้ำตาลทรายก้อน และน้ำตาลซูโครส 50 % และน้ำกลั่น
3. วันที่ 3 และ 4 เพิ่มอาหารโดยให้ตับบดประมาณ 2 กรัม
4. หลังจากวันที่ 4 เปลี่ยนอาหารเลี้ยงจากตับบดเป็นตับหมูสดน้ำหนักเฉลี่ย 10 กรัม เพื่อให้แมลงวันวางไข่

3. 5.10 **ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณภูมิคงที่**

1. เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 30 ตัว แล้วนำใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3
2. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา24 ชั่วโมง
3. จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูบดปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
4. ใส่ตับหมูขนาดเฉลี่ย 5x5x1 cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย10 กรัม 12 ใส่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 8x8x4 cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
5. บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
6. แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้พู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3
7. นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิ 20 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ 50±5% ให้แสง L: D เป็น12: 12 ชั่วโมง
8. ตรวจการเจริญเติบโตของไข่ทุก ๆ 1 ชั่วโมง บันทึกเวลาที่ไข่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนแต่ละระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะภายใต้กล้อง Stereo microscopeและกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (SEM)
9. เปลี่ยนตับหมูสดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง
10. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.11 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่ 1 ถึง 2 ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณภูมิคงที่

1. เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 30 ตัว แล้วนำใส่กรงเลี้ยงพลาสติก ขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3
2. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา24 ชั่วโมง
3. จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูบดปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
4. ใส่ตับหมูขนาดเฉลี่ย 5x5x1 cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย10 กรัม 12 ใส่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 8x8x4 cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
5. บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
6. แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้พู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3
7. นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40^{o}C ในตู้ควบคุมอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ 50$\pm$5% ให้แสง L: D เป็น12: 12 ชั่วโมง
8. ตรวจการเจริญเติบโตของไข่โดยใช้เวลาที่ใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองตอนที่ 13.3 จนกระทั่งไข่เปลี่ยนระยะเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars)
9. ตรวจระยะการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่ระยะที่ 2 (second instars) บันทึกช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญเปลี่ยนระยะ และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope
10. ปลี่ยนตับหมูสดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง
11. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.12 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่ 2 ถึง 3 ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณภูมิคงที่

1. เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 30 ตัว แล้วนำใส่กรงเลี้ยงพลาสติก ขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3
2. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา24 ชั่วโมง
3. จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูบดปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

4. ใส่ตับหมูขนาดเฉลี่ย 5x5x1 cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย10 กรัม 12 ใส่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 8x8x4 cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
5. บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
6. แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้พู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3
7. นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ 50±5% ให้แสง L: D เป็น12: 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. ปลี่ยนตับหมูสดทุกวันจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง
11. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.13 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะตัวหนอนระยะที่3 เป็นระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียวที่อุณภูมิคงที่

1. เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวตัวเต็มวัยตัวผู้และตัวเมียอย่างละ 30 ตัว แล้วนำใส่กรงเลี้ยงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3
2. นำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิห้อง ให้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 54 และน้ำ เป็นเวลา24 ชั่วโมง
3. จากนั้นเลี้ยงด้วยน้ำตับหมูบดปริมาณ 10 กรัม/กรง เป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเตรียมพร้อมในการวางไข่
4. ใส่ตับหมูขนาดเฉลี่ย 5x5x1 cm^3 น้ำหนักเฉลี่ย10 กรัม 12 ใส่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 8x8x4 cm^3 ในกรงเลี้ยงเพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่
5. บันทึกเวลาที่แมลงวันหัวตัวแรกวางไข่ จำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้ง เวลาที่แมลงวันตัวสุดท้ายวางไข่ จำนวนไข่ที่วางทั้งหมดในแต่ละกรง
6. แยกไข่จำนวน 50 ฟอง โดยใช้พู่กันขนละเอียดใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3

595.44
D 389ว
301377

7. นำไปเลี้ยงในกรงพลาสติกขนาด 13.3x13.5x12 (กx ยx ส) cm^3 ที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ 50±5% ให้แสง L: D เป็น12: 12 ชั่วโมง
8. ตรวจการเจริญเติบโตของไข่โดยใช้เวลาที่ใกล้เคียงกับข้อมูลที่ได้จากการทดลองตอนที่ 13.5 จนกระทั่งตัวหนอนระยะเข้าสู่ระยะที่ 3 (third instars)
9. นำตัวหนอนระยะที่ 3 ใส่ในตับหมูสดขนาด 10x10x2 cm^3 ที่วางอยู่ในกระทงที่ทำด้วยแผ่นอลูมิเนี่ยมขนาด 10x10x4 cm^3 ที่วางบนส่วนผสมระหว่างขี้เลื่อยและดินร่วนอบแห้งแล้วปรับความชื้นในดินให้ได้ 50% (โดยใช้ soil tester) สัดส่วน 1:1 น้ำหนักเฉลี่ย 50 กรัม บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 15x10x8.5 cm^3 โดยฝาด้านบนดัดแปลงเป็นตายข่ายระบายอากาศ นำกล่องพลาสติกที่อุณหภูมิ 20 22 25 27 30 32 35 37 และ 40°C ในตู้ควบคุมอุณภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศที่ 50±5% ให้แสง L: D เป็น12: 12 ชั่วโมง
10. ตรวจระยะการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 3 ทุก ๆ 1 ชั่วโมงจนกระทั่งเปลี่ยนเข้าสู่ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae) บันทึกช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญเปลี่ยนระยะ และจำนวนตัวหนอนที่เปลี่ยนระยะ โดยตรวจสอบการเปลี่ยนระยะและวัดขนาดภายใต้กล้อง Stereo microscope
11. เปลี่ยนตับหมูสดทุกวันจนกระทั่งเข้าสู่ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae)
12. บันทึกจำนวนตัวหนอนที่เริ่มมีพฤติกรรมเคลื่อนย้าย(wandering stage larvae) ออกจากตับสด เพื่อมุดลงดินผสมขี้เลื่อยเพื่อซ่อนตัวเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ (pupation)
13. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.14 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะดักแด้เป็นตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียวที่อุณภูมิคงที่

1. ทำเช่นเดียวกับการทดลองที่ 13.6 (ข้อ 1-12)
2. บันทึกเวลาเมื่อดักแด้ฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย จำนวน เพศ
3. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

3.5.15 ศึกษาช่วงเวลาการเจริญของระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1ถึง 3 ระยะดักแด้และตัวเต็มวัยของแมลงวันหัวเขียวที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมภาคสนาม

1. วางไก่ตายที่ทราบเวลาการตาย น้ำหนักเฉลี่ย 2 กิโลกรัม ทำให้เกิดบาดแผล จำนวน 10 แผล บริเวณด้านข้างลำตัวข้าง ๆ ละ 5 แผลโดยใช้มีด โดยมีกรงไม้ทำเป็นตาข่ายด้วยลวด ขนาด 45x30x30 cm^3
2. วางซากสัตว์ทดลอง 2 บริเวณ คือ ในที่ร่มและกลางแดด 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 นำไปเปรียบเทียบค่ากับสถานีอากาที่ใกล้เคียงที่สุด
10. ทำเช่นเดียวกันในชนิดอื่น ๆ และชนิดละ 3 ซ้ำ

*หมายเหตุวิธีการทั้งหมดข้างต้นสำหรับการวิจัยต่อเนื่อง 3 ปี

สำหรับรายงานฉบับสมบูรณ์ปีที่ 1 ได้ทำการศึกษา การเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว 2 ชนิด ข้างต้นที่อุณหภูมิคงที่ 27 และ 30 องศาเซลเซียสและที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม

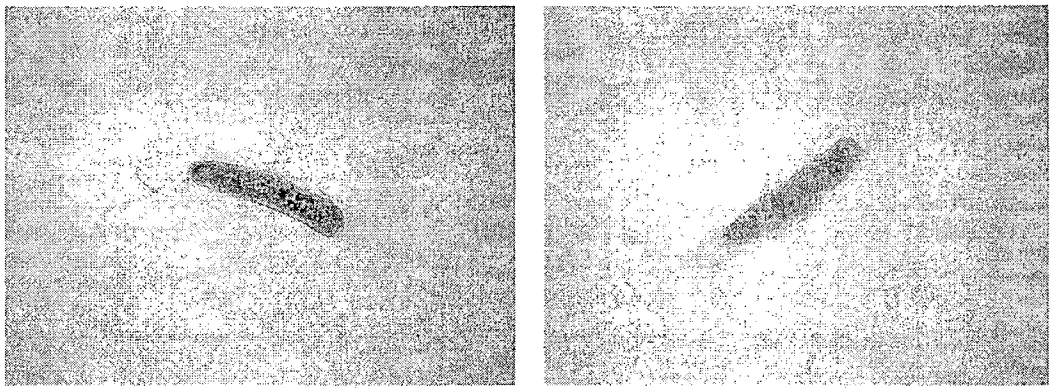
บทที่4
ผลการศึกษา
Results

4.1 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya magacephala*

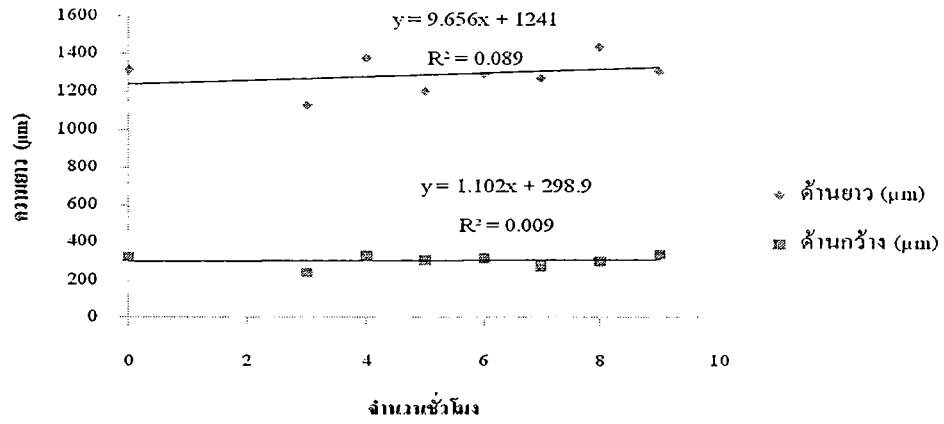
4.1.1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 1

อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลาที่ศึกษามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 31.26 ± 2.44 °C อุณหภูมิต่ำสุด 26°C และสูงสุด 38°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมีค่าเท่ากับ 75.08 ± 8.03 %

ไข่มีลักษณะเรียวยาวคล้ายทรงกระบอก ปลายมนทั้งสองข้าง มีสีเหลืองอ่อน หรือขาวเหลือง ดังรูปที่ 4.1 ขนาดของไข่ *C. magacephala* ในระยะเริ่มวางไข่มีความยาวเท่ากับ 1316.7 ± 80.36 µm ระยะเวลาในการเจริญเป็นระยะตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) ประมาณ 9 ชั่วโมง ขนาดความยาวมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาการเจริญ โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1316.7 ± 80.36 - 1433.3 ± 52.04 µm ดังรูปที่ 4.2



รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* a) อายุ 0 ชั่วโมง b) อายุ 6 ชั่วโมง (4X)

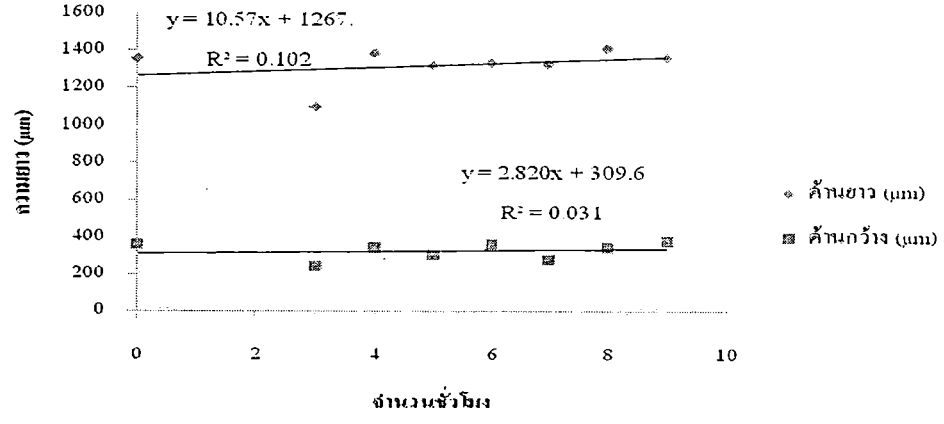


รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความความยาว และความกว้าง (µm) (y) ในแต่ละชั่วโมง ของไข่แมลงวัน หัวเขียว *C. megacephala* อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C

4.1.2 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 2

อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมในช่วงเวลาที่ศึกษามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 29.17 ± 1.60 °C อุณหภูมิต่ำสุด 23 °C และสูงสุด 34 °C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศมีค่าเท่ากับ 60.657 ± 7.99 %

ขนาดของไข่ *C. magacephala* ในระยะเริ่มวางมีความยาวเท่ากับ 1358.3 ± 125.83 µm ระยะเวลาในการเจริญเป็นระยะตัวหนอนระยะที่ 1 ประมาณ 9 ชั่วโมง ขนาดความยาวมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาการเจริญ โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1358.3 ± 125.83 - 1408.3 ± 94.65 µm ดังรูปที่ 4.3



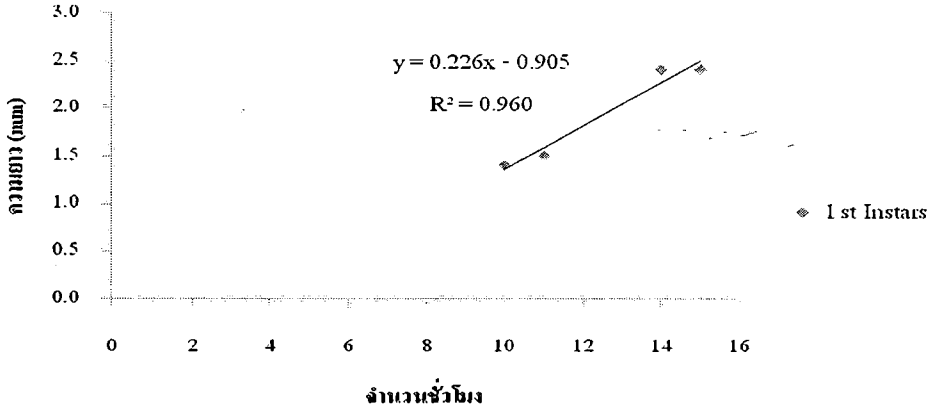
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความความยาว และความกว้าง (µm) (y) ในแต่ละชั่วโมง ของไข่แมลงวัน หัวเขียว *C. megacephala* อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C

4.2 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญ ของ ตัวหนอนระยะที่ 1 -2 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

4.2.1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 1 (อุณหภูมิระหว่าง 26 - 38 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 1 ลำตัวมีขนาดเล็ก สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า รูปร่างเป็นทรงกระบอก และเรียวยาว แต่บริเวณด้านหัวหรือปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้องมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูป 4.4 เมื่อฟักออกจากไข่ มีความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 1.4 ± 0.09 mm ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 1 เป็นระยะที่ 2 (2^{nd} instars) ประมาณ 5 ชั่วโมง มีขนาดความยาวระหว่าง 1.4 ± 0.09 - 2.4 ± 0.13 mm ดังรูปที่ 4.5

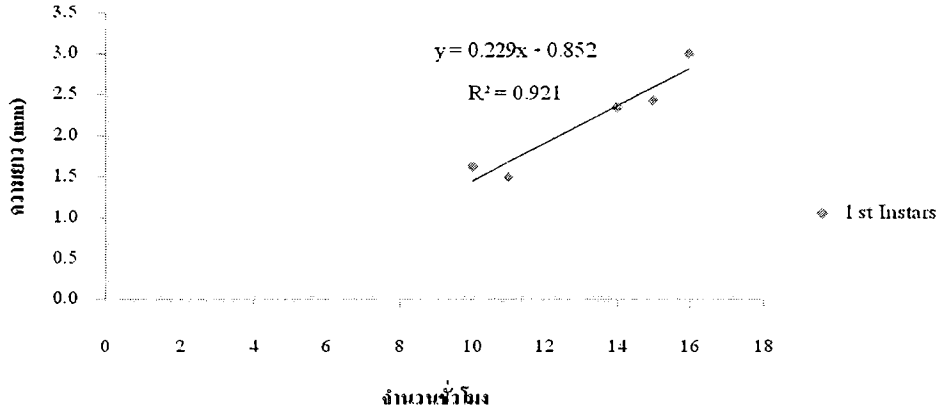
รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 1 ชั่วโมง (4X)



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 1^{st} instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C

4.2.2 **อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 2 (อุณหภูมิระหว่าง 23 - 34 °C)**

ตัวหนอนระยะที่ 1 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 1.6 ± 0.27 mm ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 1 เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 ประมาณ 6 ชั่วโมง ขนาดความยาวมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาการเจริญ โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1.6 ± 0.27 - 3.0 ± 0.00 mm ดังรูปที่ 4.6

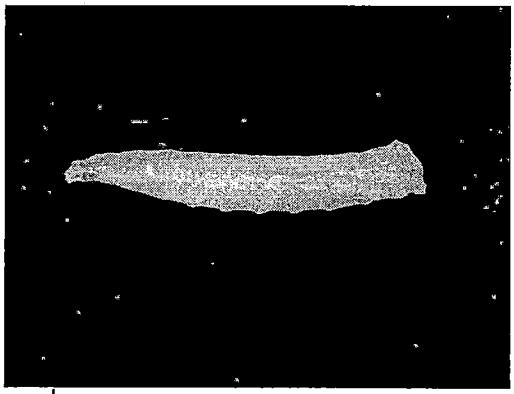


รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 1st instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C

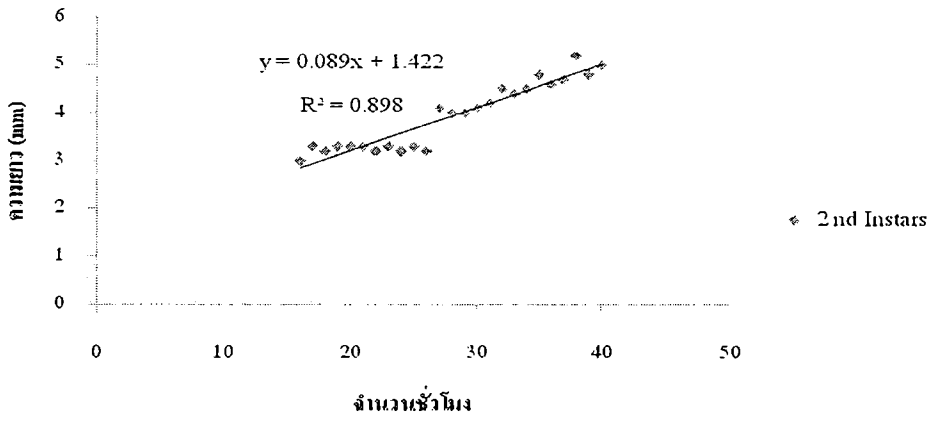
4.3 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 2 -3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

4.3.1 **อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 1 (อุณหภูมิระหว่าง 26 - 38 °C)**

ตัวหนอนระยะที่ 2 มีลักษณะเรียวยาวลำตัวมีขนาดใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้าย มีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว บริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ ดังรูปที่ 4.7 ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 (3rd instars) ประมาณ 24 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 3.0 ± 0.0 mm ขนาดความยาวมีขนาดความยาวระหว่าง 3.0 ±0.0 - 5.0 ± 0.15 mm ดังรูปที่ 4.8



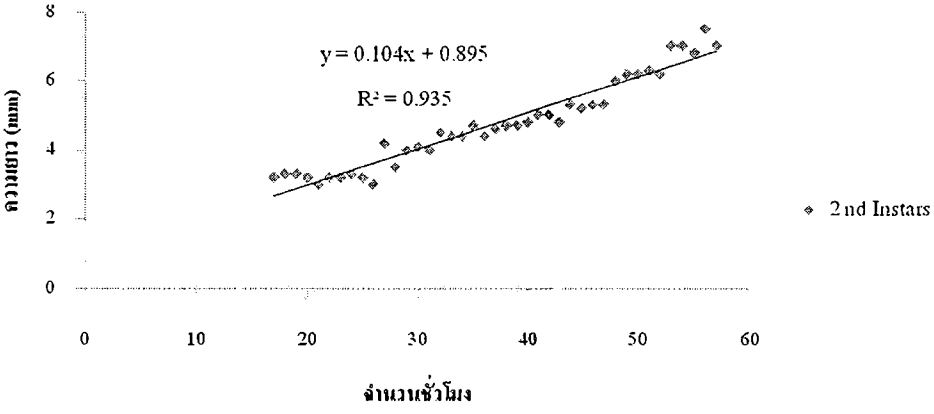
รูปที่ 4.7 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 36 ชั่วโมง



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 2nd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 -38 °C

4.3.2 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 2 (อุณหภูมิระหว่าง 23 - 34 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 2 มีลักษณะเรียวยาวลำตัวมีขนาดใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ด้านหัว เรียวแหลม ส่วนปลายด้านท้าย มีขนาดใหญ่และหว้างกว่าด้านหน้า บริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องเช่นเดียวกับที่พบในช่วงที่ 1 ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นระยะที่ 3 ประมาณ 40 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 3.2 ± 0.29 mm ขนาดความยาวมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาการเจริญ โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 3.2 ± 0.29 - 7.0 ± 0.00 mm ดังรูปที่ 4.9

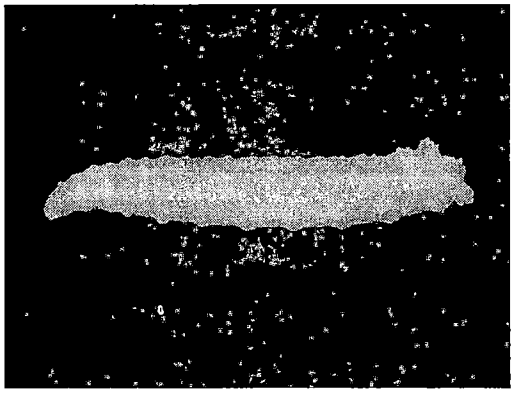


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 2nd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C

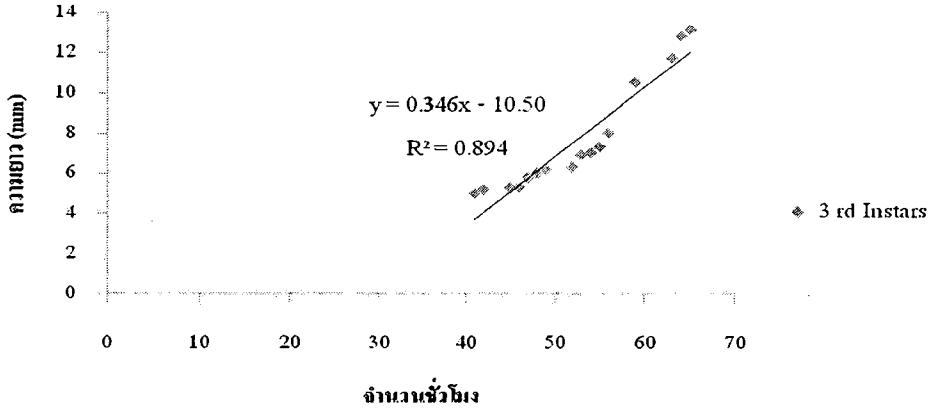
4.4 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

4.4.1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 1 (อุณหภูมิระหว่าง 26 - 38 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 3 ลำตัวเรียวยาว และมีขนาดใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 มีรูปร่างคล้ายกับระยะที่ 2 ดังรูปที่ 4.10 ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ ประมาณ 23 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 5.0 ± 0.06 mm ขนาดความยาวมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาการเจริญ โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 5.0 ± 0.06 - 13.1 ± 0.12 mm ดังรูปที่ 4.11



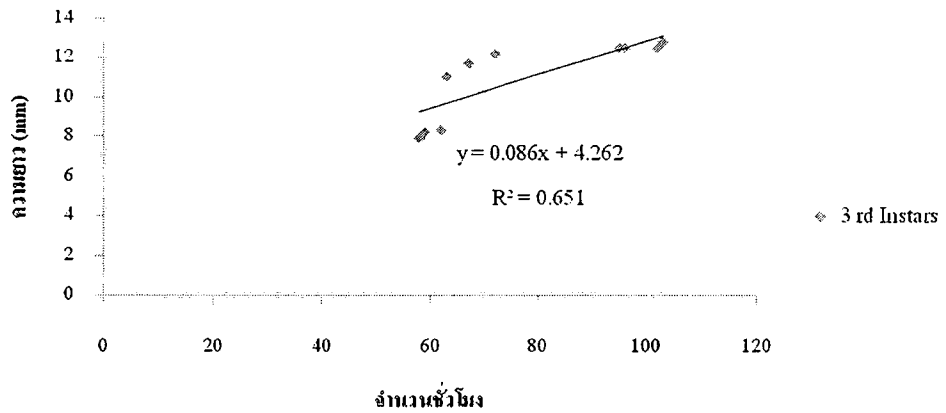
รูปที่ 4.10 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala* อายุ 44 ชั่วโมง



รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C

4.4.2 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 2 (อุณหภูมิระหว่าง 23 - 34 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 3 มีลักษณะเรียวยาวเป็นทรงกระบอก ลำตัวมีขนาดใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 ระยะเวลาในการเจริญจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ ประมาณ 44 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 7.9 ± 0.32 mm มีขนาดความยาวระหว่าง 7.9 ± 0.32 - 12.8 ± 0.29 mm ดังรูปที่ 4.12

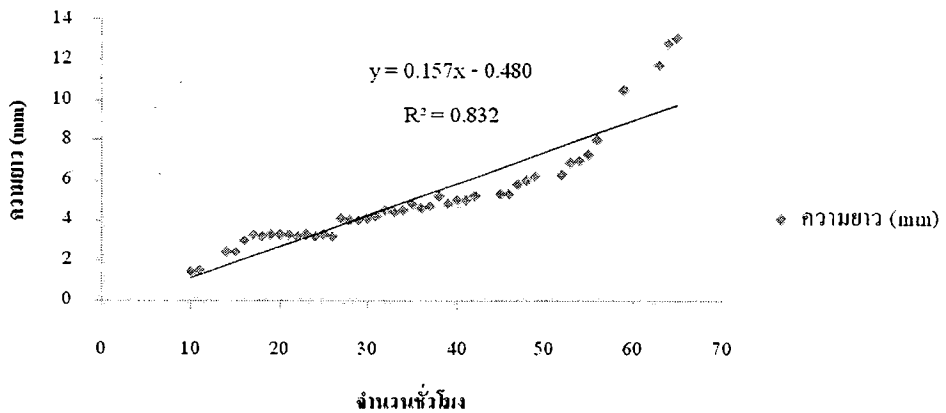


รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะ 3rd instar อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C

4.5 ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อขนาดและระยะเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 -3 ของแมลงวันหัวเขียว *C. magacephala*

4.5.1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 1 (อุณหภูมิระหว่าง 26 - 38 °C)

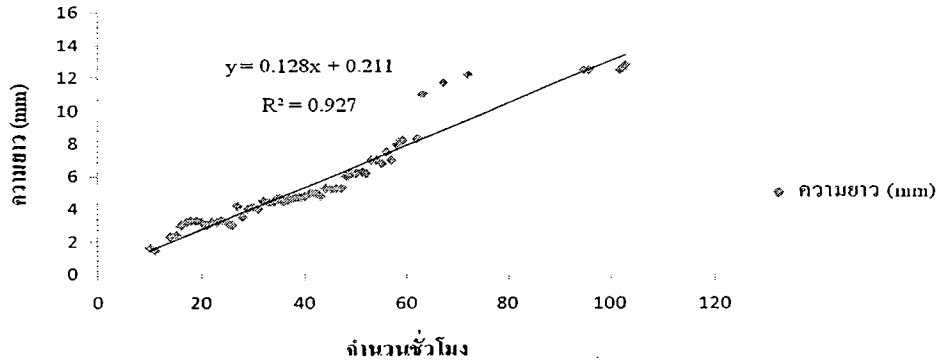
ตัวหนอนระยะที่ 1 – 3 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 1.4 ± 0.09 mm ระยะเวลาในการเจริญก่อนเข้าระยะดักแด้ประมาณ 52 ชั่วโมง มีขนาดความยาวระหว่าง 1.4 ± 0.09 - 13.1 ± 0.12 mm ดังรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instars - 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26 - 38 °C

4.5.2 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ 2 (อุณหภูมิระหว่าง 23 - 34 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 1– 3 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 1.6 ± 0.27 mm ระยะเวลาในการเจริญเข้าระยะดักแด้ ประมาณ 90 ชั่วโมง มีความยาวระหว่าง 1.6 ± 0.27 - 12.8 ± 0.29 mm ดังรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instars - 3rd instars อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C

4.6 ผลการคำนวณค่า Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของการศึกษาจากระยะการเจริญของ *C. megacephala*

4.6.1 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมช่วงที่ อุณหภูมิ 26 - 38°C

โดยคำนวณจากค่า lower threshold temperature ที่ B_{10} มีค่า ADH เท่ากับ 3332.5 ADD เท่ากับ 138.9 ดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดง Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม อุณหภูมิเฉลี่ย 31°C

Stage	Time (hrs)	Σ (hrs)	Min. Tm	Max. Tm	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	9	9	29.0	33.0	189.0	189.0	7.9	7.9
1st instar	5	14	29.5	30.0	98.8	287.8	4.1	12.0
2nd instar	24	38	29.0	33.0	504.0	791.8	21.0	33.0
3rd instar	23	61	29.5	35.0	511.8	1303.5	21.3	54.3
Prepupa	22	83	29.0	38.0	517.0	1820.5	21.5	75.9
Pupa	72	155	26.0	30.0	1512.0	3332.5	63.0	138.9
Total	155						138.9	

หมายเหตุ : เวลาที่ได้จากการวัดเป็นเวลาที่ได้จากการเปลี่ยนระยะครั้งแรก และมีจำนวนมากที่สุด

4.6.2 อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมอุณหภูมิ 23 - 34 °C

โดยคำนวณจากค่า lower threshold temperature ที่ B_{10} มีค่า ADH เท่ากับ 3588.5 ADD เท่ากับ 149.6 ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดง Accumulated Degree Hour และค่า Accumulated Degree Day ของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ช่วงวันที่ 29 – 8 ธ.ค. 52 อุณหภูมิ 23 - 34 °C (อุณหภูมิเฉลี่ย 29 °C)

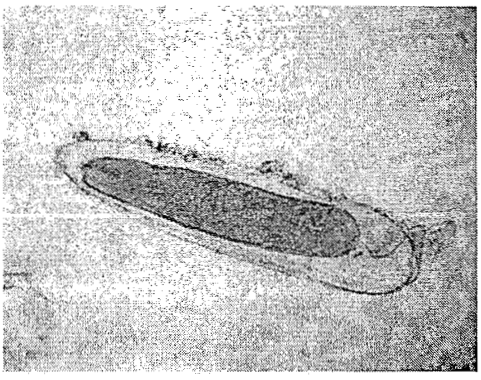
Stage	Time (hrs)	∑ (hrs)	Min. Tm	Max. Tm	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	9	9	29.0	34.0	193.5	193.5	8.1	8.1
1st instar	6	15	29.0	34.0	117.0	310.5	4.9	13.0
2nd instar	40	55	23.2	34.0	684.0	994.5	28.5	41.5
3rd instar	44	99	26.0	32.0	836.0	1830.5	34.8	76.3
Prepupa	16	115	27.0	30.0	296.0	2126.5	12.3	88.6
Pupa	86	201	26.0	34.0	1462.0	3588.5	60.9	149.6
Total	201						149.5	

หมายเหตุ : เวลาที่ได้จากการวัดเป็นเวลาที่ได้จากการเปลี่ยนระยะครั้งแรก และมีจำนวนมากที่สุด

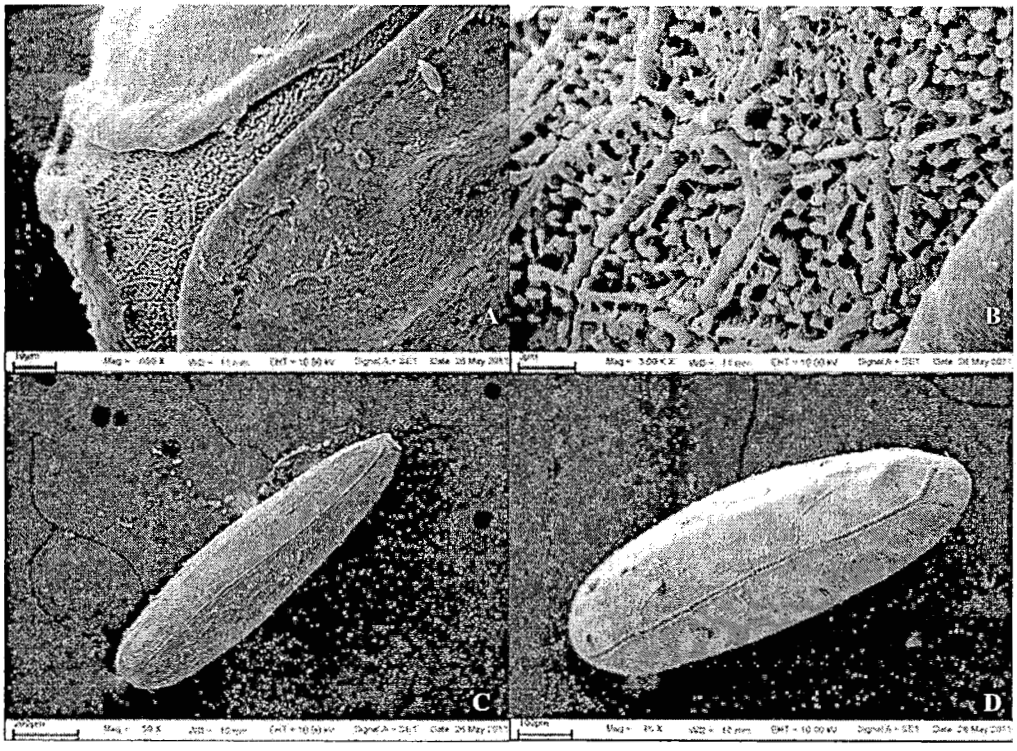
4.7 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ระยะไข่ สู่ระยะตัวหนอนระยะที่1 (1st instars)ที่ 27 °C (Developmental time and developmental rate between egg stage to first instars of blowfly, *C. megacephala* at 27 °C)

ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของไข่ (External morphology of its eggs)

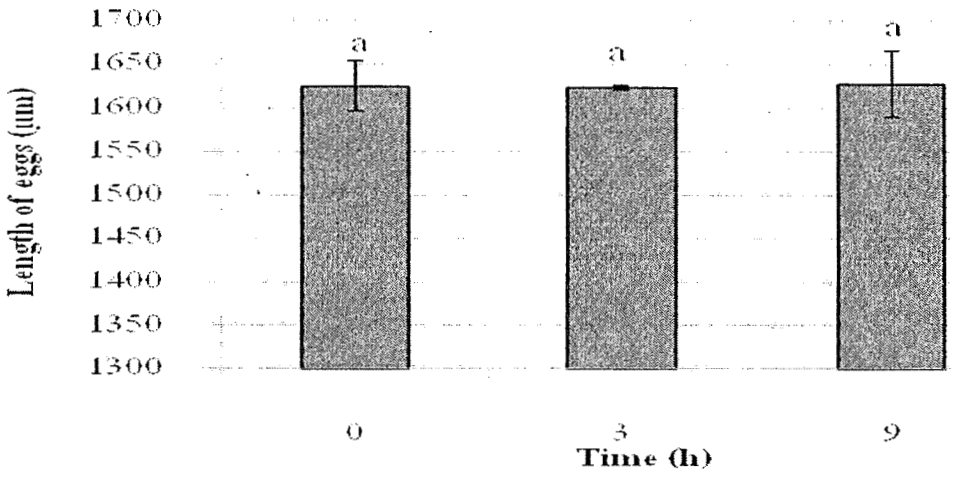
ไข่มีลักษณะเรียวยาวคล้ายทรงกระบอก ปลายมนทั้งสองข้าง มีสีเหลืองอ่อนหรือขาวเหลือง ดังรูปที่ 4.15 ผิวเปลือกไข่ มีลักษณะเรียบ มี median area แคบมากและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ และmedian area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว "Y" ดังรูปที่ 4.16 มีขนาดความยาวและความกว้างอยู่ระหว่าง 1623.6 ± 2.4 – 1627.8 ± 37.6 µm และ 418.1 ± 45.7 – 431.9 ± 56.6 µm ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.17 และ 4.18 ตัวเต็มวัยวางไข่จำนวน 197 ± 33 ฟองต่อกอง มีเปอร์เซ็นต์ การฟักออกเป็นตัวหนอน (hatch) เท่ากับ 98.89 ± 1.47 % ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่เป็นตัวหนอน ระยะที่1 (1stinstars) ใช้เวลา 9.45 ± 0.40 ชั่วโมง



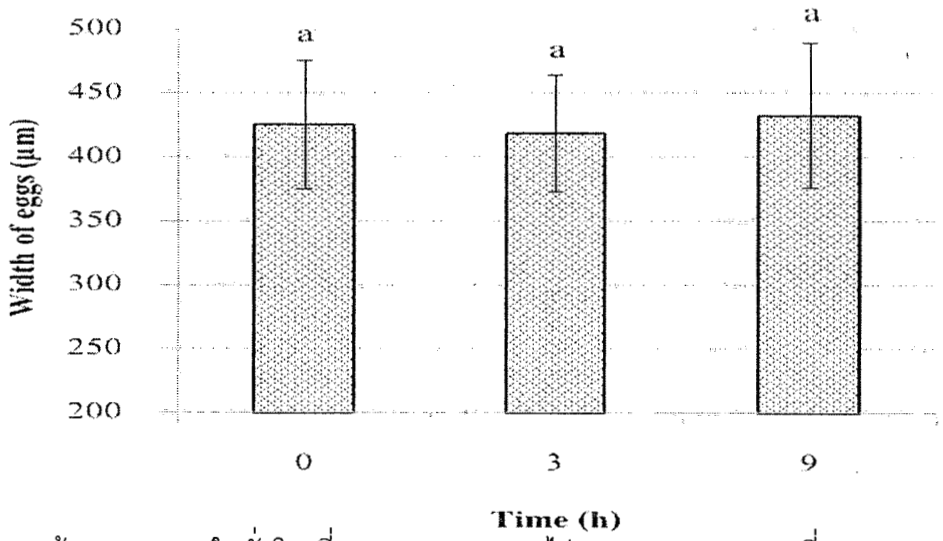
รูปที่ 4.15 ระยะไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อายุ 6 ชั่งโมง (40X)



รูปที่ 4.16 ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราดของไข่ของ *C. megacephala* (A) Median area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว "Y" (B) Plastron network (C) Median area ยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ (D) Micropyle



รูปที่ 4.17 ขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27 °C (F=0.02, df=2,6, *P*=0.9820)



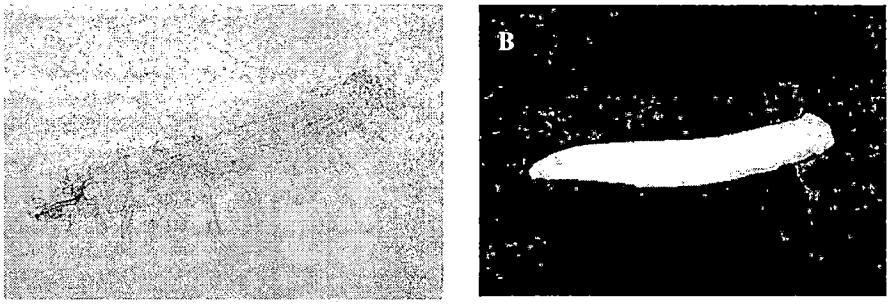
รูปที่ 4.18 ความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27°C (F=0.06, DF=2,6, *P=0.9460*)

ตารางที่ 4.3 ความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 9 ของไข่ *C. megacephala* ที่ 27 °C

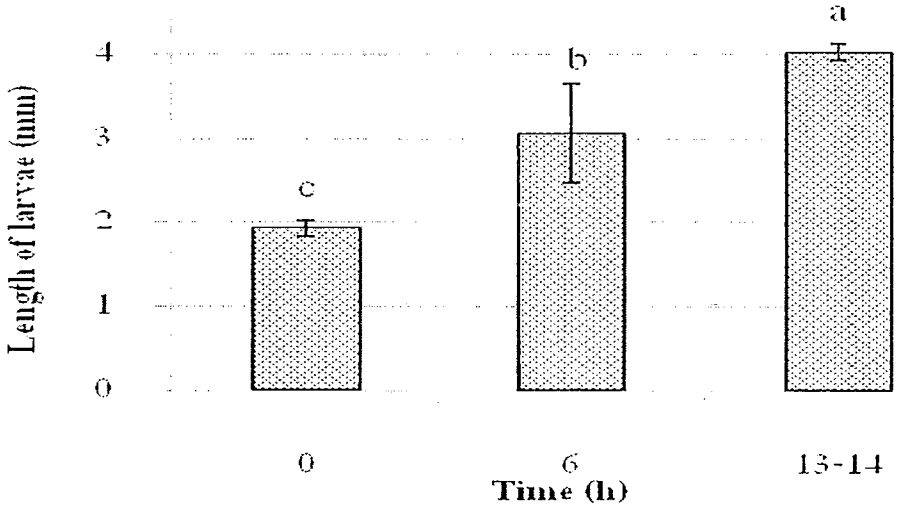
Time (h)	Egg size (µm)	
	Length	Width
0	1625.0 ± 28.9	425.0 ± 50.0
3	1623.6 ± 2.4	418.1 ± 45.7
9	1627.8 ± 37.6	431.9 ± 56.6

4.8 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ระยะตัวหนอนระยะที่** 1 (1st instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 2 (2 nd instars) **ที่** 27°C (Developmental time and developmental rate between the first instars to second instars of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 27 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 1 มีสีขาว ขนาดเล็ก ผิวลำตัวเรียบ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า รูปร่างเป็นทรงกระบอก และเรียวยาว บริเวณหัวหรือปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้องมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูปที่ 4.19 เมื่อฟักออกจากไข่มีความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 1.9 ± 0.1 mm โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1.9 ± 0.1 – 4.0 ± 0.1 mm ดังรูปที่ 4.20 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 1 เข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 2 (2nd instars) ใช้เวลา 15.38 ± 0.41 ชั่วโมง



รูปที่ 4.19 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 6 ชั่วโมง

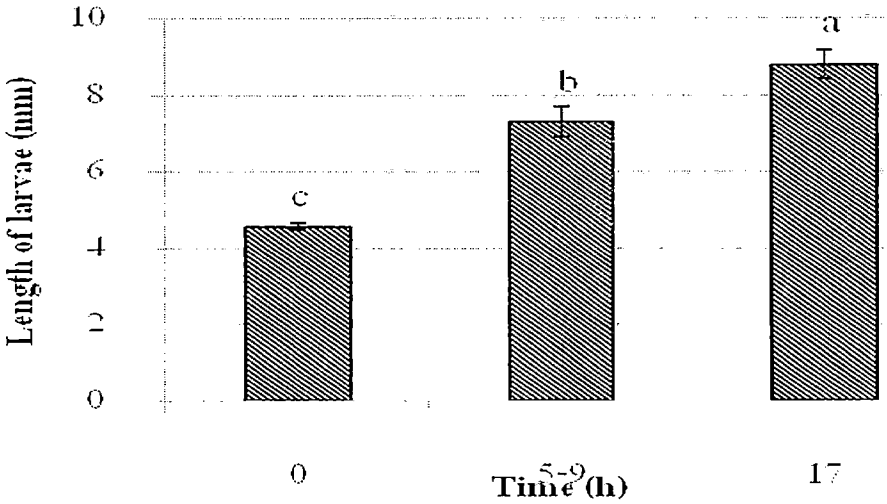


รูปที่ 4.20 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1 (1st instars) ที่ 27 °C (F=29.25, DF=2,6, *P=0.0008*)

4.9 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 2 (2nd instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **ที่** 27°C (Developmental time and developmental rate between the second instars to the third instars of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 27 °C)

ตัวหนอนระยะที่ 2 มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้ายมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัวและบริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ ดังรูปที่ 4.21 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 4.6 ± 0.1 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 4.6 ± 0.1 – 8.8 ± 0.4 mm ดังรูปที่ 4.22 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 2 เข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 3 (3rd instars)ใช้เวลา 17.59 ± 0.30 ชั่วโมง

รูปที่ 4.21 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. megacephala* อายุ 5 ชั่วโมง

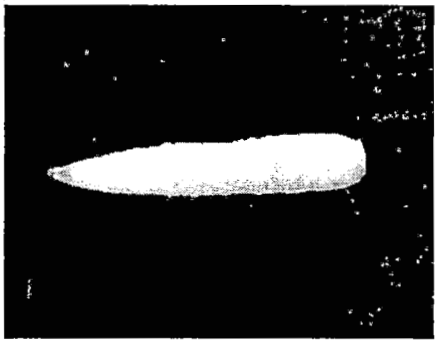


รูปที่ 4.22 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 2 (2nd instars) ที่ 27 °C (,F=151.70, DF=2,6, *P*<0.0001)

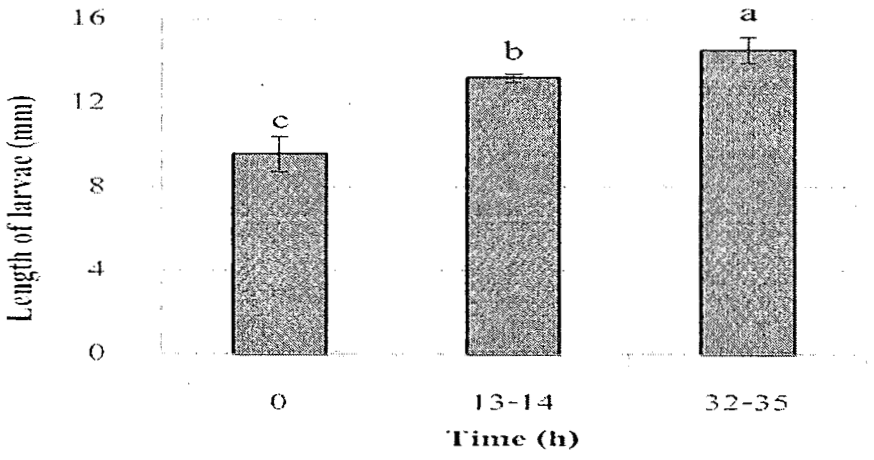
4.10 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **สู่ระยะหยุดกินอาหาร** (post feeding larva) **ที่** 27°C (Developmental time and developmental rate between the third instars to the post feeding larvae of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 27 °C) .

4.4.1 ลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกของตัวหนอนระยะที่ 3 (External morphology of the third instars)

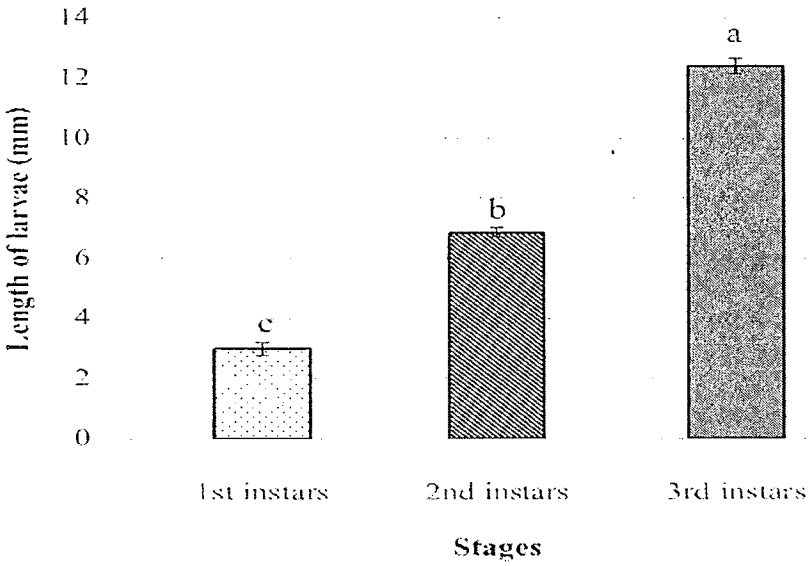
ตัวหนอนระยะที่ 3 มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 มีรูปร่างคล้ายกับตัวหนอนระยะที่ 2 บริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ และสามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน ในระยะ post-feeding larvae ดังรูปที่ 4.23 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ (pupariation)ใช้เวลา 33.41 ± 1.09 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 9.6 ± 0.8 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 9.6 ± 0.8 – 14.5 ± 0.6 mm ดังรูปที่ 4.24



รูปที่ 4.23 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. megacephala* อายุ 34 ชั่วโมง



รูปที่ 4.24 ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 3 (3rd instars) ที่ 27 °C (F=54.95, DF=2,6, *P=0.0001*)



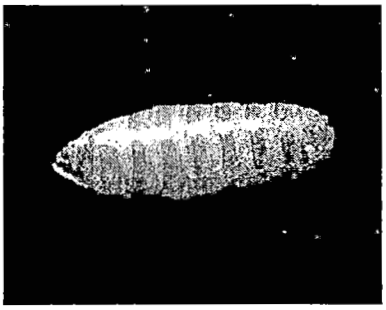
รูปที่ 4.25 ขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3 ที่ 27 °C (F=1628.86, DF=2,6, *P<0.0001*)

ตารางที่ 4.4 ขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่ 27°C

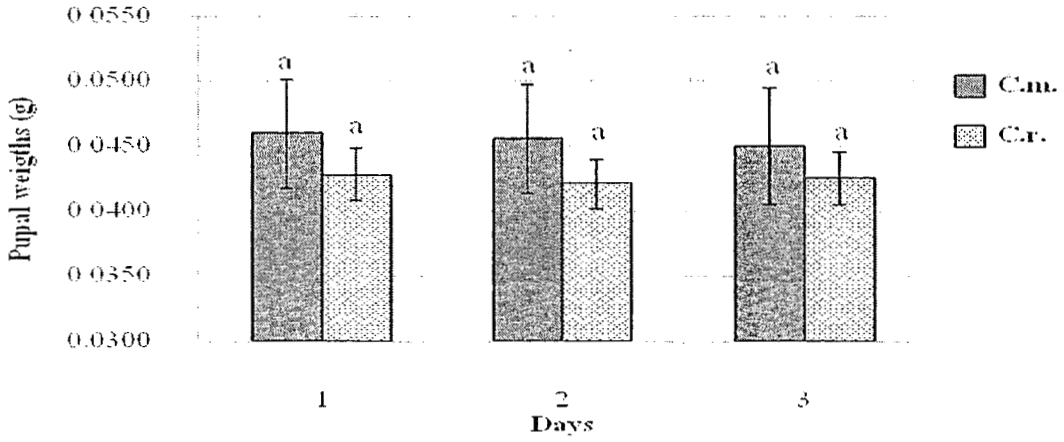
Stages	Time period (h)	Time (h) oviposition to post-feeding	Length of larvae (mean mm. ± S.D.)	Range
1st instars	0	10	1.9 ± 0.1	1.9 ± 0.0 - 2.0 ± 0.0
	6	16	3.0 ± 0.6	2.4 ± 0.2 - 3.4 ± 0.1
	13-14	23-24	4.0 ± 0.1	4.0 ± 0.1 - 4.1 ± 0.2
2nd instars	0	25-26	4.6 ± 0.1	4.4 ± 0.2 - 4.7 ± 0.3
	5-9	30-35	7.3 ± 0.4	7.0 ± 0.2 - 7.7 ± 0.3
	17	42	8.8 ± 0.4	8.6 ± 0.6 - 9.2 ± 0.7
3rd instars	0	44	9.6 ± 0.8	8.7 ± 0.5 - 10.3 ± 0.4
	13-14	57-58	13.1 ± 0.2	13.0 ± 0.1 - 13.3 ± 0.6
post-feeding	32-35	76-79	14.5 ± 0.6	13.8 ± 0.5 - 15.0 ± 0.0

4.11 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะดักแด้** (pupae) **สู่ระยะตัวเต็มวัย** (eclosion) **ที่** 27 ±2°C (Developmental time and developmental rate between pupae to eclosion of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 27 °C)

ดักแด้ (pupae) มีปลอกหุ้มลักษณะหัวและท้ายมน คล้ายถังเบียร์ (puparium) ลำตัวเป็นปล้องติดกัน ระยะแรกมีสีครีม ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองน้ำตาล สีน้ำตาลแดง และเมื่อดักแด้อายุมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ดังรูปที่ 4.26 เปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย เท่ากับร้อยละ 81.08 ± 21.13 ซึ่งเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย ร้อยละ 39.95 ± 11.21 และตัวเต็มวัยเพศผู้ร้อยละ 60.04 ± 11.23 คิดเป็นอัตราส่วน 2 : 3 ตามลำดับ น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ เมื่ออายุครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วันเท่ากับ 0.0460 ± 0.0042 g 0.0455 ± 0.0042 g และ 0.0450 ± 0.0045 g ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.27 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะดักแด้ไปเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 117.34 ± 1.54 ชั่วโมง



รูปที่ 4.26 ลักษณะดักแด้ของ *C. megacephala* อายุ 1 วัน



รูปที่ 4.27 แสดงน้ำหนักดักแด้ (g) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 27 °C (*C. megacephala* : F=0.06, DF=2,6 , *P=0.9445*; *C. rufifacies* : F=0.10, DF=2,6, *P=0.9039*)

ตารางที่ 4.5 แสดงน้ำหนักดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 27 °C

Species	Pupal weigth (g)			$\overline{X} \pm S.D.$
	1 day	2 days	3 days	
C. megacephala	0.0460 ± 0.0042	0.0455 ± 0.0042	0.0450 ± 0.0045	0.0455 ± 0.0005
C. rufifacies	0.0428 ± 0.0020	0.0421 ± 0.0019	0.0425 ± 0.0020	0.0425 ± 0.0004

4.12 **ผลการคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมวัน** (accumulated degree day) **และค่าความร้อนสะสมชั่วโมง** (accumulated degree hour) **ของ** *Chrysomya megacephala* **ที่** 27°C

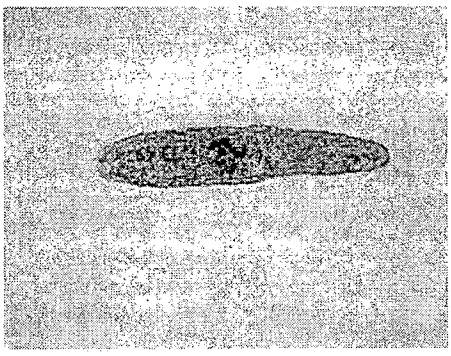
จากการคำนวณค่า ADD และ ADH โดยใช้ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงเจริญได้ (lower threshold temperature) ที่ 10 °C แสดงได้ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.6 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่า Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่ 27°C

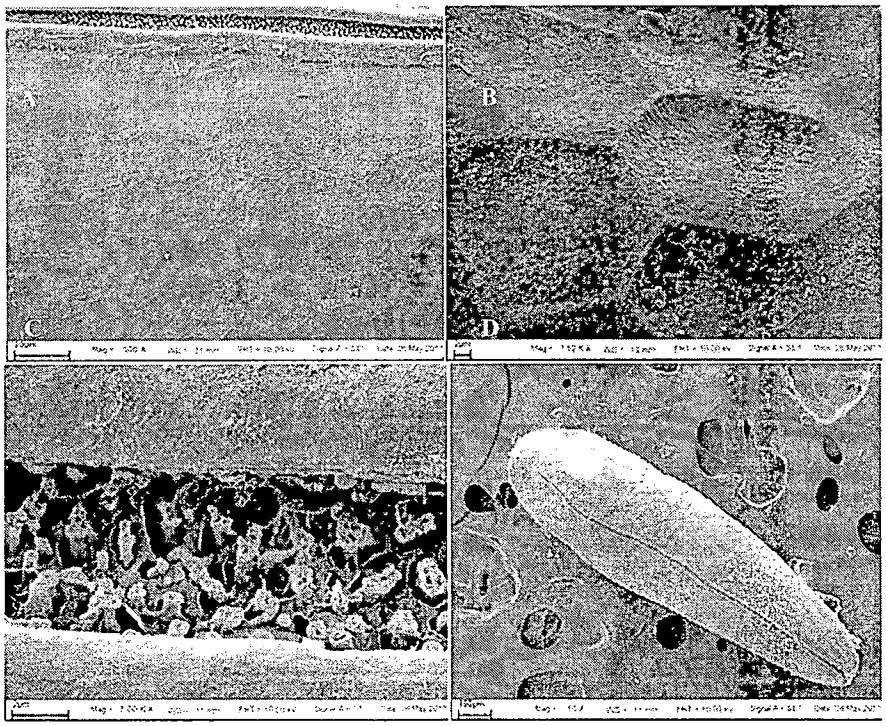
Stages	Min. Time (h)	Max. Time (h)	Average Time (h)	S.D.	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	9.39	10.41	9.45	0.40	160.65	160.65	6.69	6.69
1st Instars	15.30	15.50	15.38	0.41	261.46	422.11	10.89	17.59
2nd Instars	17.11	18.47	17.59	0.30	299.03	721.14	12.46	30.05
3rd Instars+Prepupa	33.48	34.14	33.41	1.09	567.97	1289.11	23.67	53.71
Pupa	112.29	125.17	117.34	1.54	1994.78	3283.89	83.12	136.83
Total			193.17	3.74		3283.89		136.83

4.13 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* ระยะไข่ (egg) สู่ระยะตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) ที่ 27 °C**

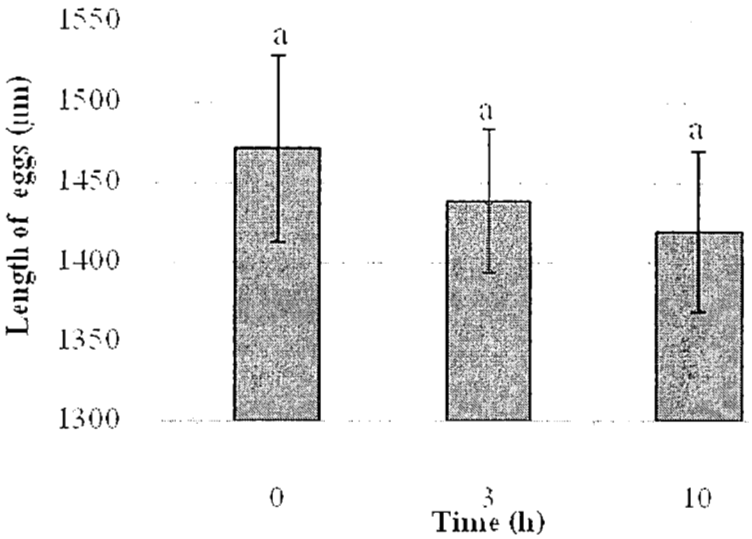
ไข่มีลักษณะคล้ายแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* แต่ผิวของเปลือกไข่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยมคล้ายรังผึ้ง median area แคบมากและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ median area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว Y ดังรูปที่ 4.28 ตัวเต็มวัยวางไข่จำนวน 196 ± 102 ฟองต่อกอง มีเปอร์เซ็นต์ การฟัก (Hatch) เท่ากับ 97.67 ± 1.84 % ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่1 (1^{st}instars) ใช้เวลา 10.17 ± 1.40 ชั่วโมง มีขนาดความยาวและความกว้างอยู่ระหว่าง 1419.0 ± 50.6 – 1470.8 ± 58.3 µm และ 320.8 ± 18.2 – 362.5 ± 46.4 µm ตามลำดับ



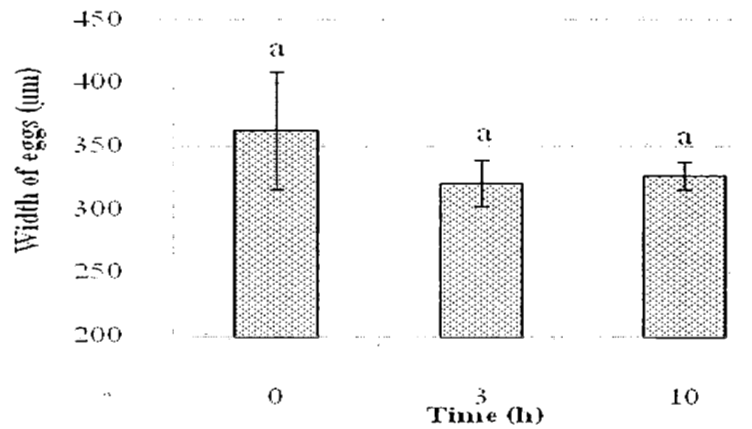
รูปที่ 4.28 ไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* อายุ 10 ชั่งโมง (40X)



รูปที่ 4.29 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* (A) และ (B) รอยต่อของผิวไข่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม (C) Plastron network (D) Median area แคบและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่



รูปที่ 4.30 กราฟแสดงขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ10 (X) ของ*C. rufifacies* ที่ 27 °C (F=0.76, DF=2,6, *P=0.5085*)



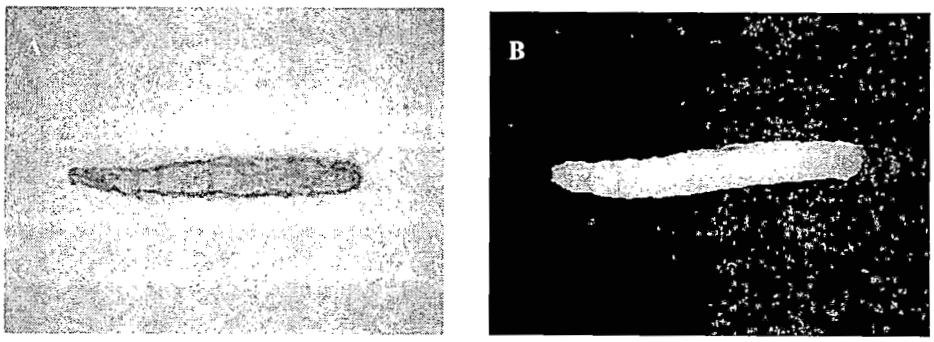
รูปที่ 4.31 กราฟแสดงขนาดความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ10 (X) ของไข่ *C. rufifacies* ที่ 27 °C (F=1.78, DF=2,6, *P=0.2478*)

ตารางที่ 4. 7 แสดงความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 10 ของไข่ *C. rufifacies* ที่ 27 °C

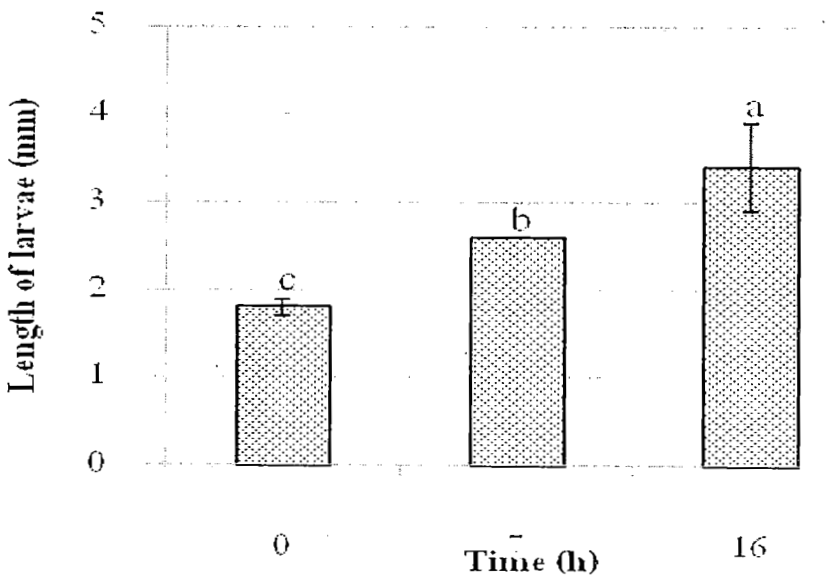
Time	**Egg size (µm)**	
(h)	**Length**	**Width**
0	1470.8 ± 58.3	362.5 ± 46.4
3	1438.1 ± 44.6	320.8 ± 18.2
10	1419.0 ± 50.6	326.4 ±10.5

4.14 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 1 (1st instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 2 (2nd instars) **ที่** 27 °C

ตัวหนอนระยะที่ 1 มีสีขาว ขนาดเล็ก ผิวลำตัวเรียบ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า รูปร่างเป็นทรงกระบอก และเรียวยาว บริเวณหัวหรือปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้องมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูป 4.32 เมื่อฟักออกจากไข่มีความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 1.8 ± 0.1 mm ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 1 เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 (2nd instars) ใช้เวลา 19.13 ± 0.50 ชั่วโมง โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1.8 ± 0.1 – 3.4 ± 0.5 mm ดังรูปที่ 4.33



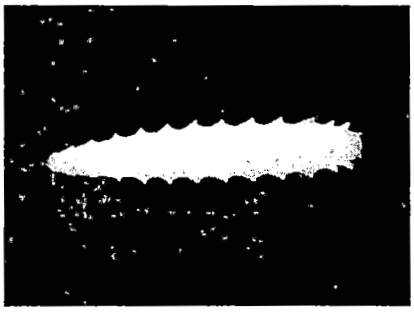
รูปที่ 4.32 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. rufifacies* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 7 ชั่วโมง



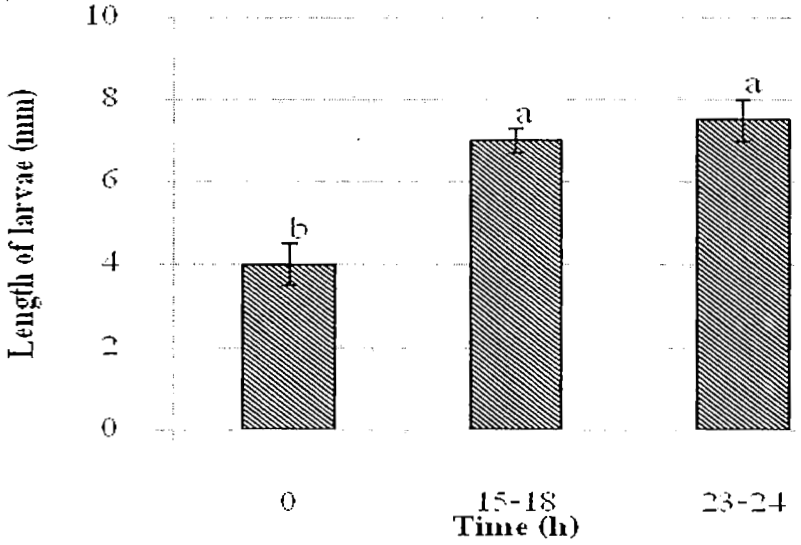
รูปที่ 4.33 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1 (1st instars) ที่ 27 °C (P=0.0029, F=18.04, DF=2,6)

4.15 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 2 (2nd instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **ที่** 27 °C

ตัวหนอนระยะที่ 2 ลำตัวมี tubercle ยื่นออกมาทางด้านบนและด้านข้าง ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้ายมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูปที่ 4.34 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นตัวหนอนระยะที่ 3 (3rd instars) ใช้เวลา 26.02 ± 0.55 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 4.0 ± 0.5 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 4.0 ± 0.5 – 7.5 ± 0.5 mm ดังรูปที่ 4.35



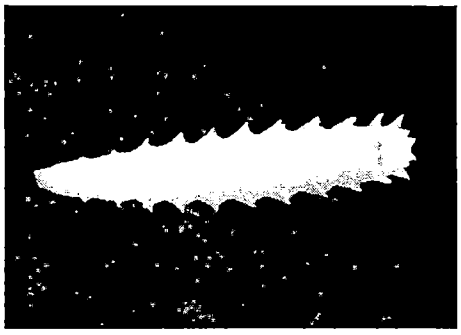
รูปที่ 4.34 แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. rufifacies* อายุ 18 ชั่วโมง



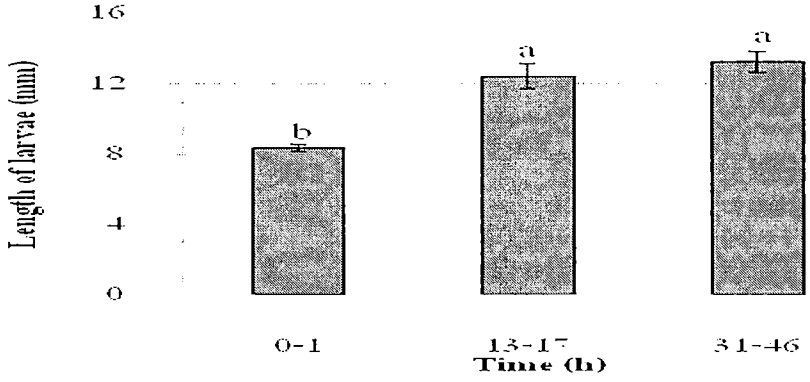
รูปที่ 4.35 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 2 (2nd instars) ที่ 27 °C (F=64.47, DF=2,6, *P<0.0001*)

4.16 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* ระยะตัวหนอนระยะที่ 3 (3rd instars) สู่ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ที่ 27 °C

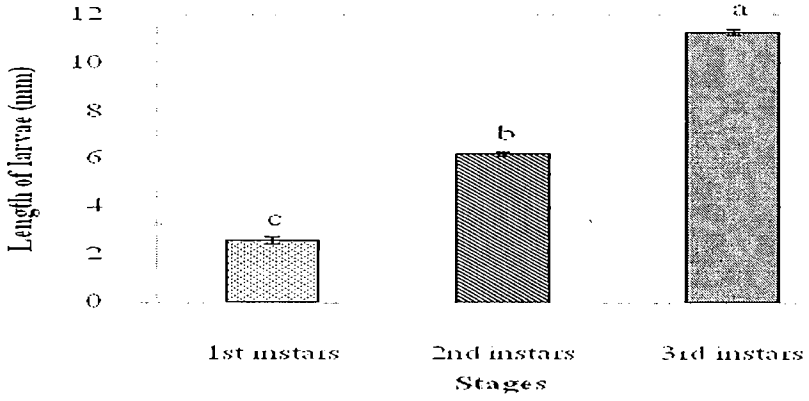
ตัวหนอนระยะที่ 3 ผิวลำตัวขรุขระ มี tubercle ยื่นออกมาทางด้านบนและด้านข้าง ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 ดังรูปที่ 4.36 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ (pupariation)ใช้เวลา 43.00 ± 4.10 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 8.4 ± 0.2 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 8.4 ± 0.2 – 13.2 ±0.6 ดังรูปที่ 4.37



รูปที่ 4.36 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. rufifacies* อายุ 14 ชั่วโมง



รูปที่ 4.37 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 3 (3rd instars) ที่ 27 °C (F=66.19, DF=2,6, *P<0.0001*)



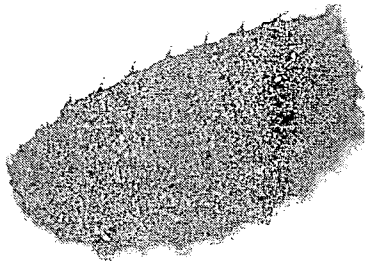
รูปที่ 4.38 กราฟแสดงขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3 ที่ 27 °C (F=3972.54, DF=2,6, *P<0.0001*)

ตารางที่ 4.8 แสดงขนาดความยาว(mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1^{st} instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (Post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 27 °C

Stages	Time period (h)	Time (h) oviposition to post-feeding	Length of larvae (mean mm. ± S.D.)	Range
1st instars	0	11	1.8 ± 0.1	1.7 ± 0.2 - 1.9 ± 0.1
	7	18	2.6 ± 0.0	2.5 ± 0.4 - 2.6 ± 0.4
	16	27	3.4 ± 0.5	2.8 ± 0.2 - 3.8 ± 0.5
2nd instars	0	30	3.4 ± 0.5	3.4 ± 0.5 - 4.3 ± 0.1
	15-18	45-48	7.0 ± 0.3	6.8 ± 0.8 - 7.3 ± 0.2
	23-24	53-54	7.5 ± 0.5	7.1± 0.8 - 8.0 ± 0.4
3rd instars	0-1	55-58	8.4 ± 0.2	8.2 ± 0.4 - 8.7 ± 0.5
	13-17	68-72	12.4 ± 0.7	11.7 ± 0.8 - 13.1 ± 0.4
post-feeding	31-46	86-101	13.2 ± 0.6	12.6 ± 0.4 - 13.7 ± 0.7

4.17 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* ระยะดักแด้ (pupae) สู่ระยะตัวเต็มวัย (eclosion) ที่ 27 °C

ดักแด้ มีลักษณะเด่นคือ มี tubercle ที่ด้านบนและด้านข้าง หัวและท้ายมน คล้ายถังเบียร์ ลำตัวเป็นปล้อง ดังรูปที่ 4.39 เปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย เท่ากับ 72.27± 7.30 % ซึ่งเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย 50.84± 37.00% และตัวเต็มวัยเพศผู้ 47.8± 39.10% คิดเป็นอัตราส่วน 1: 1 ตามลำดับระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะดักแด้ไปเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 118.00 ± 4.15 ชั่วโมง น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ เมื่ออายุครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วันเท่ากับ 0.0428 ± 0.0020 g 0.0421 ± 0.0019 g และ 0.0425 ± 0.0020 g ตามลำดับ



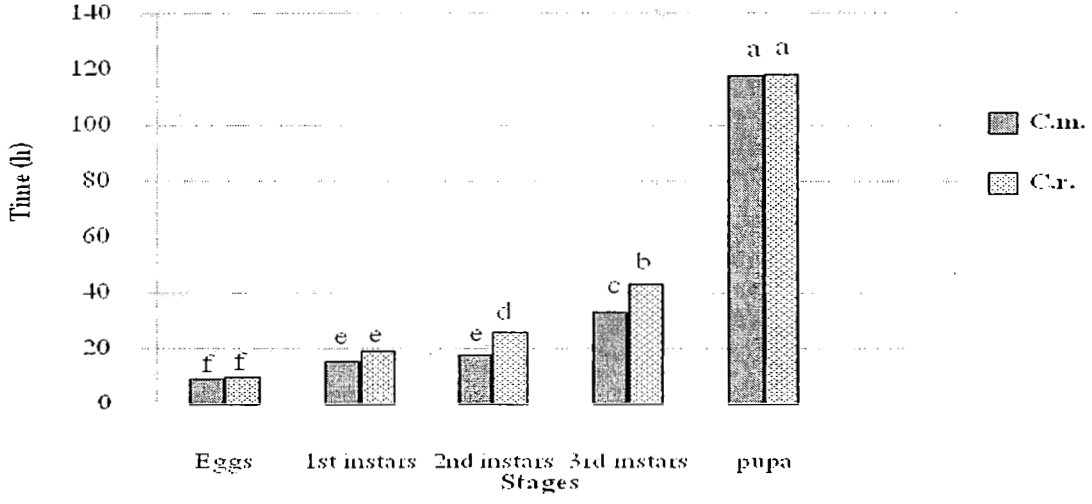
รูปที่ 4.39 ลักษณะดักแด้ของ *C. rufifacies* อายุ 2 วัน

4.18 **ผลการคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมวัน** (accumulated degree day) **และค่าความร้อนสะสมชั่วโมง** (accumulated degree hour) **ของ** *Chrysomya rufifacies* **ที่** 27 °C

จากการคำนวณค่า ADD และ ADH โดยใช้ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงเจริญได้ (lower threshold temperature) ที่ 10 °C แสดงได้ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่า Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 27 °C

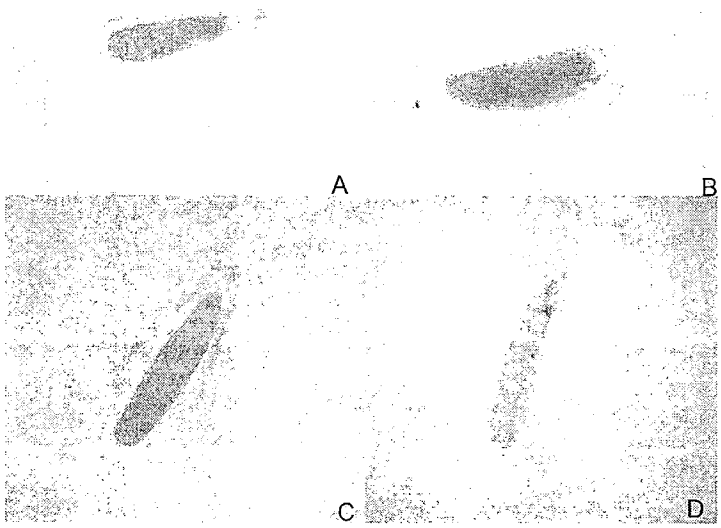
Stages	Min. Time (h)	Max. Time (h)	Average Time (h)	S.D.	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	10.29	12.49	10.17	1.40	172.89	172.89	7.20	7.20
1st Instars	18.04	19.58	19.13	0.50	325.21	498.10	13.55	20.75
2nd Instars	25.09	26.50	26.02	0.55	442.34	940.44	18.43	39.19
3rd Instars+Prepupa	38.55	48.34	43.00	4.10	731.00	1671.44	30.46	69.64
Pupa	114.36	127.35	118.00	4.15	2006.00	3677.44	83.58	153.23
Total			216.32	10.70		3677.44		153.23



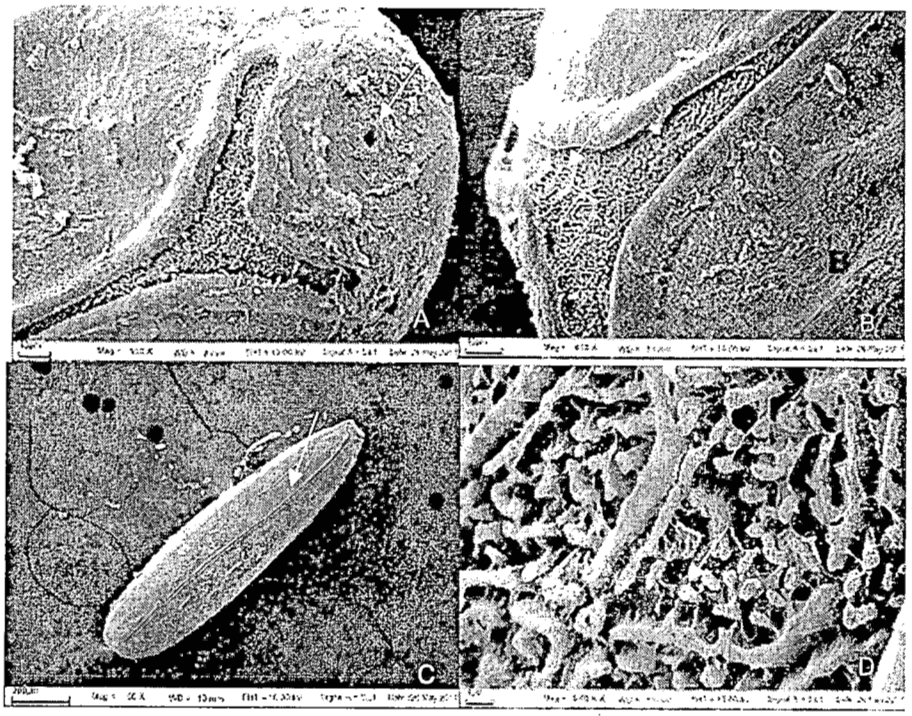
รูปที่ 4.40 ระยะเวลา (ชั่วโมง) ที่ใช้ในการเจริญ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่ 27 °C (F=1130.15, DF=9,20, *P<0.0001*)

4.19 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ระยะไข่ สู่ระยะตัวหนอนระยะที่** 1 (1st instars) **ที่อุณหภูมิ** 30°C (Developmental time and developmental rate between egg stage to first instars of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 30 °C)

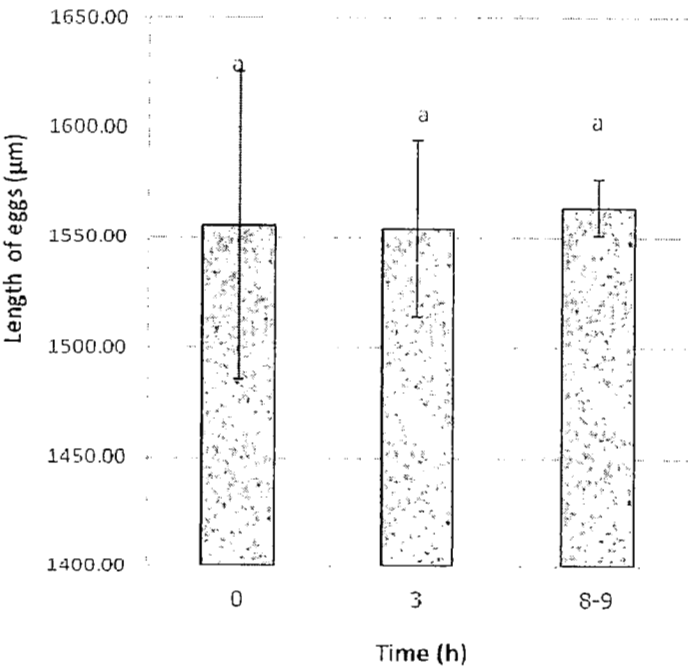
ไข่มีลักษณะเรียวยาวคล้ายทรงกระบอก ปลายมนทั้งสองข้าง มีสีเหลืองอ่อนหรือขาวเหลือง ดังรูปที่ 4.41 ผิวเปลือกไข่ มีลักษณะเรียบ มี median area แคบมากและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ และmedian area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว "Y" ดังรูปที่ 4.42 มีขนาดความยาวและความกว้างอยู่ระหว่าง 1475.00 ± 25.00 – 1600.00 ± 25.0 ไมโครเมตร และ 383.33±14.43 – 500.00 ± 35.36 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.43 และ 4.44 ตัวเต็มวัยวางไข่จำนวน 183.67 ± 57.49 ฟองต่อกอง มีเปอร์เซ็นต์ การฟักออกเป็นตัวหนอน (hatch) เท่ากับร้อยละ 99.85 ± 0.25 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่เป็นตัวหนอน ระยะที่1 (1stinstars) ใช้เวลา 9.14 ± 0.87 ชั่วโมง



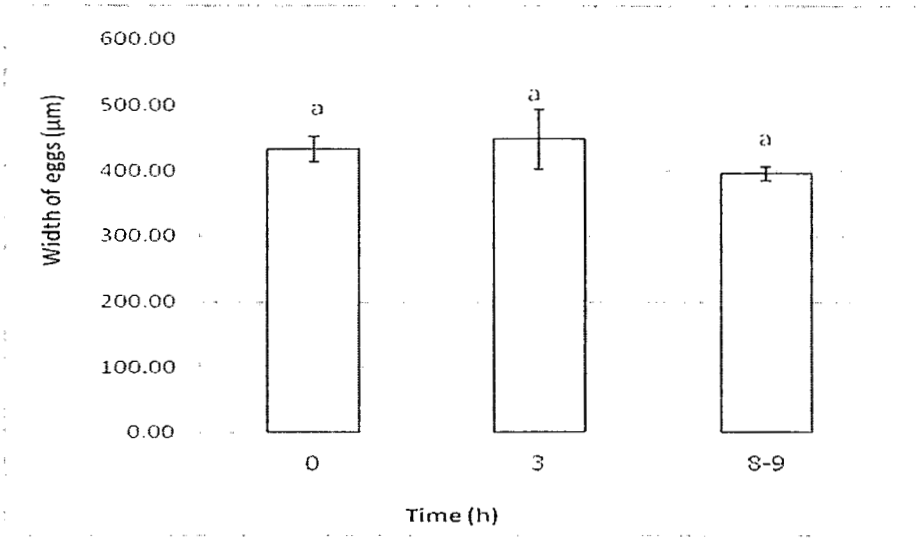
รูปที่ 4.41 ภาพถ่ายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 40X (A) แสดงระยะไข่ แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* อายุ 0 ชั่วโมง (B) ไข่ *C. megacephala* อายุ 3 ชั่วโมง (C) ไข่ *C. megacephala* อายุ 6 ชั่วโมง (D) *C. megacephala* อายุ 9 ชั่วโมง)



รูปที่ 4. 42 ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (A) แสดงรู micropyle ของ *C. megacephala* (B) แสดงบริเวณภายใน plaston (C) แสดงบริเวณ median area และ (D) แสดงบริเวณ islands ภายใน plastron



รูปที่ 4.43 ขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 30°C (F= 0.04 DF=2,6, *P=0.9635*)



รูปที่ 4.44 ความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของไข่ *C. megacephala* ที่ 30°C (F= 2.58, DF =2,6, *P*= 0.1556)

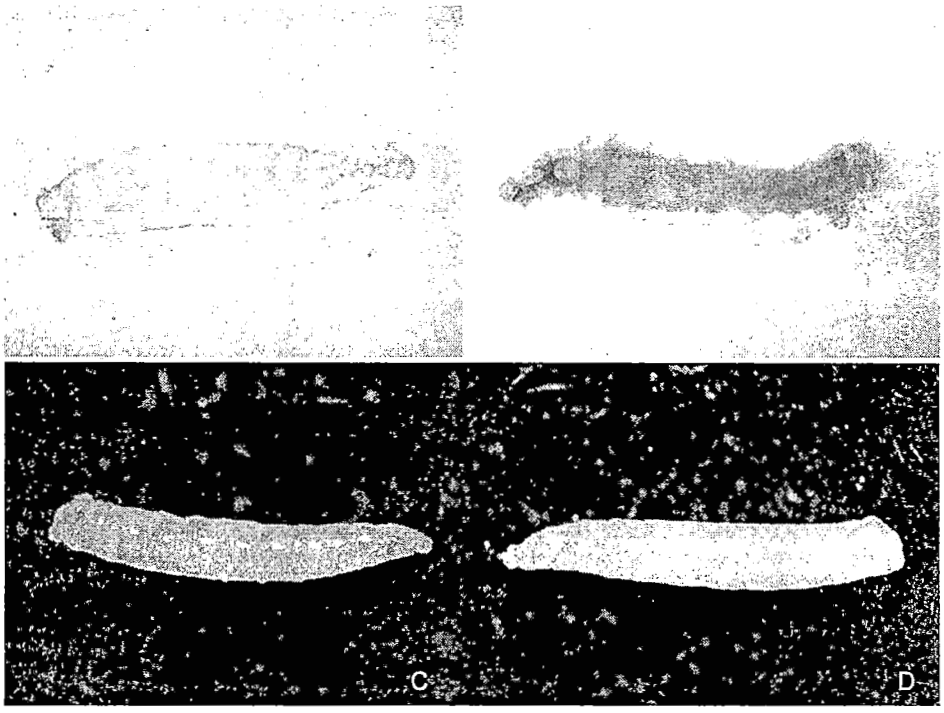
ตารางที่ 4.10 ความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 ของไข่ *C. megacephala* ที่ 30°C

Time (h)	Eggs size (µm) (mean± S.D.)	
	Length	Width
0	1555.56 ± 69.89	433.33± 19.09
3	1554.17± 40.18	448.61± 45.71
8-9	1563.89± 12.73	395.83± 11.02

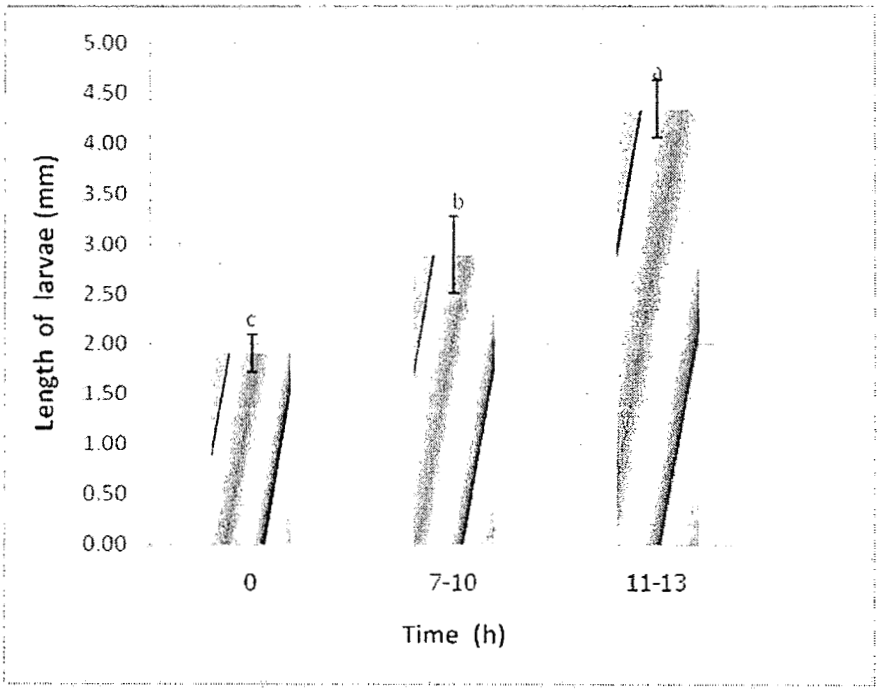
ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 1 เข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 2 (2nd instars) ใช้เวลา 12.32 ± 0.8 ชั่วโมง

4.20 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ระยะตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) สู่ตัวหนอนระยะที่ 2 (2 nd instars) ที่ 30°C** (Developmental time and developmental rate between the first instars to second instars of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 30°C)

ตัวหนอนระยะที่ 1 มีสีขาว ขนาดเล็ก ผิวลำตัวเรียบ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า รูปร่างเป็นทรงกระบอก และเรียวยาว บริเวณหัวหรือปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้องมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูปที่ 4.45 เมื่อฟักออกจากไข่มีความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 1.9 ± 0.19 มิลลิเมตร โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1.9 ± 0.19 – 4.33 ± 0.28 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.46



รูปที่ 4.45 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 2 ชั่วโมง ถ่ายจากใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy) (C) อายุ 7 ชั่วโมง และ (D) อายุ 13ชั่วโมง ถ่ายจากใต้ กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (Stereo microscope)

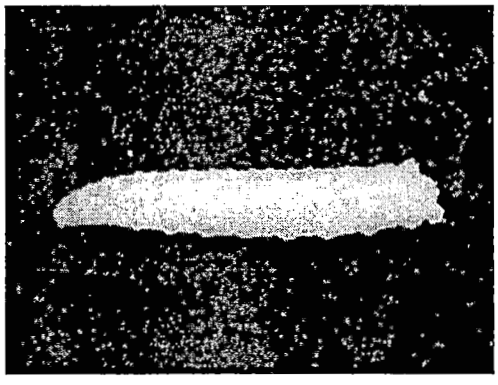


รูปที่ 4.46 แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1 (1st instars) ที่ 30 C (F=50.77, DF=2,6, *P*=0.0002)

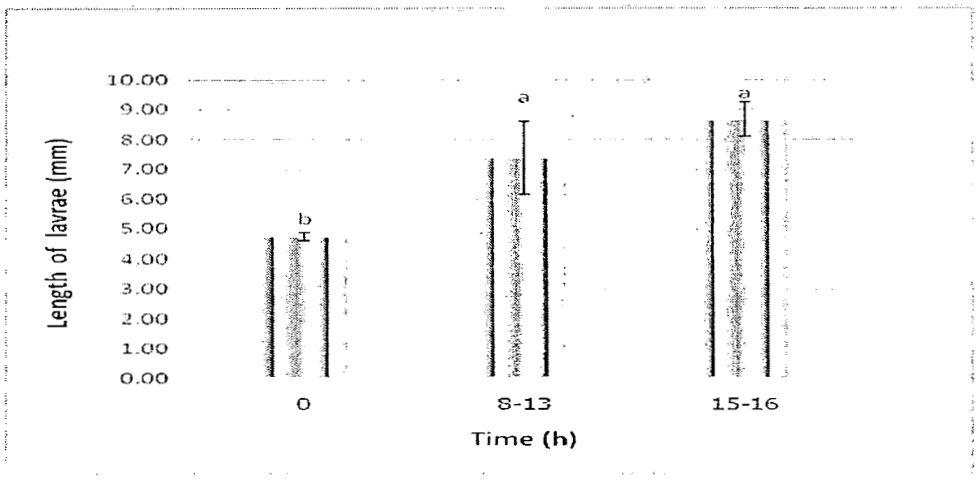
4.21 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 2 (2nd instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 3 (3^{rd} instars) **ที่** 30°C (Developmental time and developmental rate between the second instars to the third instars of blow fly, *Chrysomya megacephala* at 30°C)

ตัวหนอนระยะที่ 2 มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้ายมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัวและบริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ ดังรูปที่ 4.47 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 4.13 ± 0.13 มิลลิเมตร และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 4.13 ± 0.13 – 8.67 ± 0.57 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.4ค

ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 2 เข้าสู่ตัวหนอนระยะที่ 3 (3^{rd} instars)ใช้เวลา 15.31 ± 0.57 ชั่วโมง



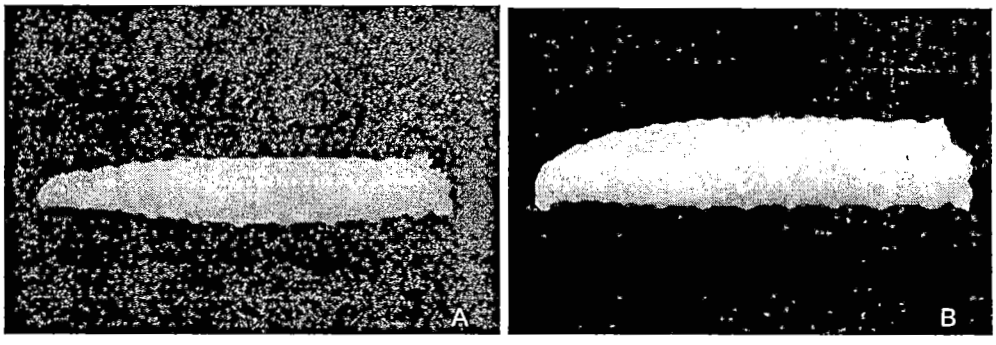
รูปที่ 4.47 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. megacephala* อายุ 15 ชั่วโมง



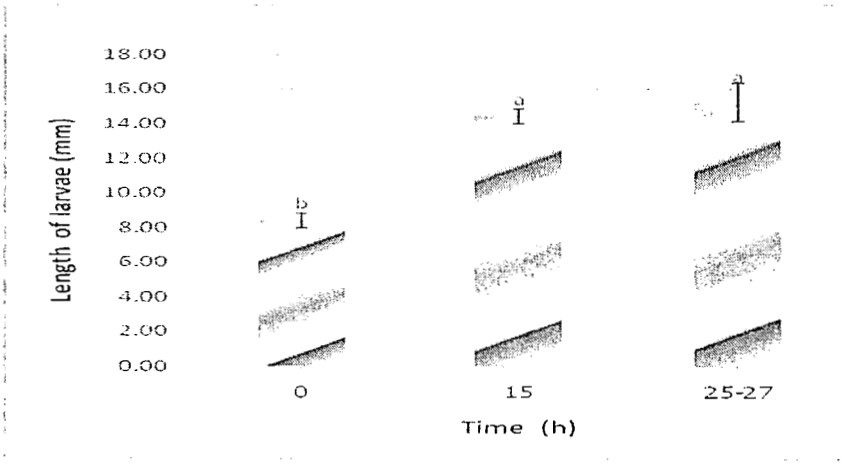
รูปที่ 4.48 ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala*ระยะที่ 2 (2^{nd} instars) ที่ 30°C (F=19.63, df=2,8,*P*=0.0023)

4.4 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **สู่ระยะหยุดกินอาหาร** (post feeding larva) **ที่** 30°C (Developmental time and developmental rate between the third instars to the post feeding larvae of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 30°C)

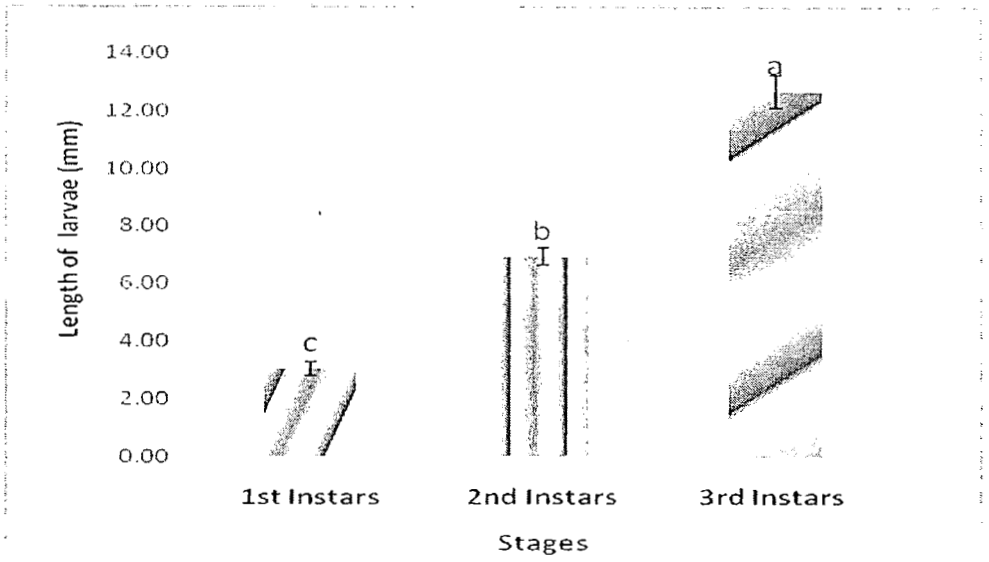
ตัวหนอนระยะที่ 3 มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 มีรูปร่างคล้ายกับตัวหนอนระยะที่ 2 บริเวณลำตัวแบ่งออกเป็นปล้องๆ และสามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจน ในระยะpost-feeding larvae ดังรูปที่ 4.49 มีขนาดความยาวเริ่มต้น 9.6 ± 0.8 มิลลิเมตร และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 9.6 ± 0.8 – 14.5 ± 0.6 มิลลิเมตร ดังรูปที่ 4.50 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ (pupariation)ใช้เวลา 33.41 ± 1.09 ชั่วโมง



รูปที่ 4.49 (A) ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. megacephala* อายุ 10 ชั่วโมง (B) อายุ 20 ชั่วโมง



รูปที่ 4.50 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 3 (3rd instars) ที่ 30°C (F = 79.67, df = 2,6, *P*<0.0001)



รูปที่ 4.51 ขนาดความยาว (mm) ของตัวหนอน *C. megacephala* ระยะที่ 1-3 ที่ 30± 2°C (F=454.61, df=2,6, *P*<0.0001)

ตารางที่ 4.11 ขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่30± 2°C

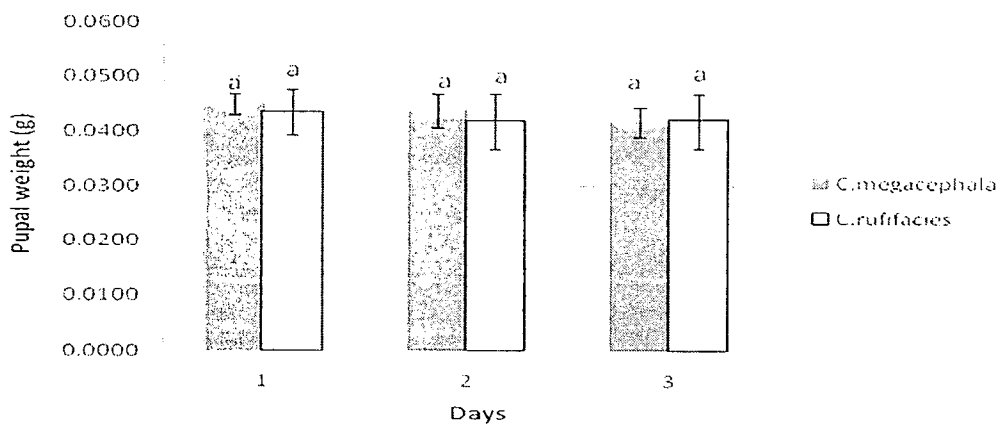
Stages	Time period	Time(h) oviposition to post- feeding	Length of larvae (mean ±S.D.)	Range
1st instars	0	8-9	1.9 = 0.2	1.7 = 0.4 - 2.1 = 0.6
	7-10	15-16	2.9 = 0.4	2.5 = 0.0 - 3.3 = 2.1
	11-13	26-27	4.3 = 0.3	4.0 = 0.6 - 4.6 = 0.2
2nd instars	0	27	4.7 = 0.1	4.6 = 0.2 - 4.9 = 0.2
	8-13	35-39	7.4 = 1.2	6.1 = 0.1 - 8.5 = 0.1
	15-16	50-51	8.7 = 0.6	8.1 = 0.1 - 9.2 = 0.5
3rd instars	0	51	8.4 = 0.4	8.2 = 0.2 - 8.8 = 0.6
	15	62	14.4 = 0.4	14.0 = 0.6 - 14.5 = 0.5
	25-35	72-82	15.8 = 1.1	14.0 = 0.9 - 16.2 = 0.3

4.22 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya megacephala* **ระยะดักแด้** (pupae) **สู่ระยะตัวเต็มวัย** (eclosion) **ที่** 30°C (Developmental time and developmental rate between pupae to eclosion of blowfly, *Chrysomya megacephala* at 30°C

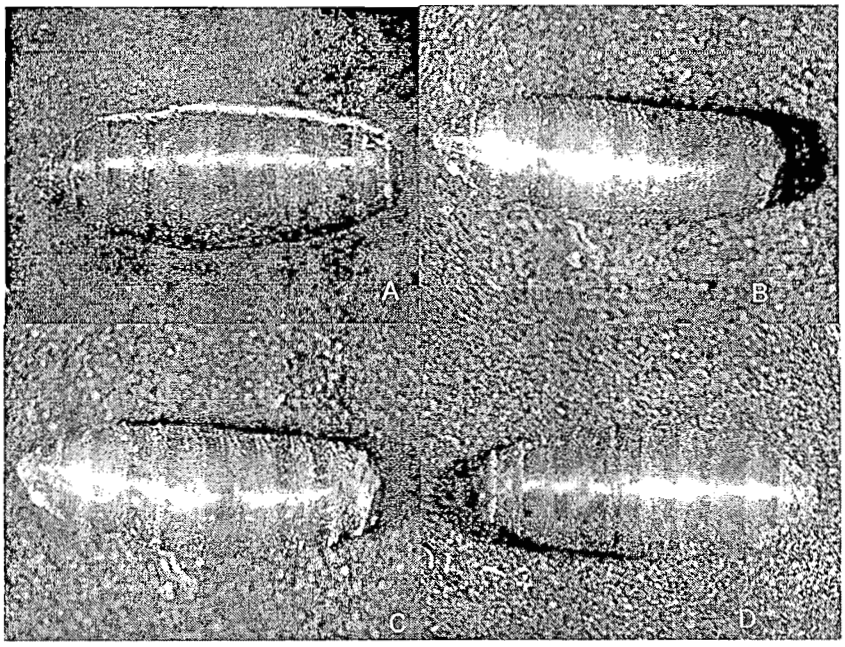
ดักแด้ (pupae) มีปลอกหุ้มลักษณะหัวและท้ายมน คล้ายถังเบียร์ (puparium) ลำตัวเป็นปล้องติดกัน ระยะแรกมีสีครีม ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองน้ำตาล สีน้ำตาลแดง และเมื่อดักแด้อายุมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ดังรูปที่ 4.52 เปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย เท่ากับร้อยละ 96.90 ± 3.66 ซึ่งเป็นตัวเต็มวัยเพศเมีย ร้อยละ 44.44 ± 8.70 และตัวเต็มวัยเพศผู้ร้อยละ 52.27 ± 11.03 คิดเป็นอัตราส่วน 1 : 1 ตามลำดับ น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ เมื่ออายุครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วันเท่ากับ 0.0449 ± 0.0019 กรัม 0.0437 ± 0.0031 กรัม และ 0.0415 ± 0.0027 กรัม ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.53 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะดักแด้ไปเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 103.33 ± 2.08 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.12 น้ำหนักดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 30°C

Species	Pupal weigth (mean g ±S.D.			$\overline{X} \pm S.D.$
	1 days	2 days	2 days	
C.megacephala	0.0449 ± 0.0019	0.0437 ± 0.0032	0.0415 ± 0.0027	0.0434 ± 0.0017
C.rufifacies	0.0434 ± 0.0042	0.0417 ± 0.0051	0.0419 ± 0.0050	0.0419 ± 0.0009



รูปที่ 4.52 น้ำหนักดักแด้ (กรัม) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เทียบกับและ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วัน ที่ 30 °C (F= 0.14, df = ,12, *P*>0.8672)



รูปที่ 4.53 (A) ลักษณะสีและรูปร่างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เมื่ออายุ 24 ชั่วโมง (B) อายุ 48 ชั่วโมง (C) อายุ 72 ชั่วโมง และ (D) อายุ 96 ชั่วโมง

4.23 ผลการคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมวัน (accumulated degree day) **และค่าความร้อนสะสมชั่วโมง** (accumulated degree hour) **ของ** *Chrysomya megacephala* **ที่** 30°C

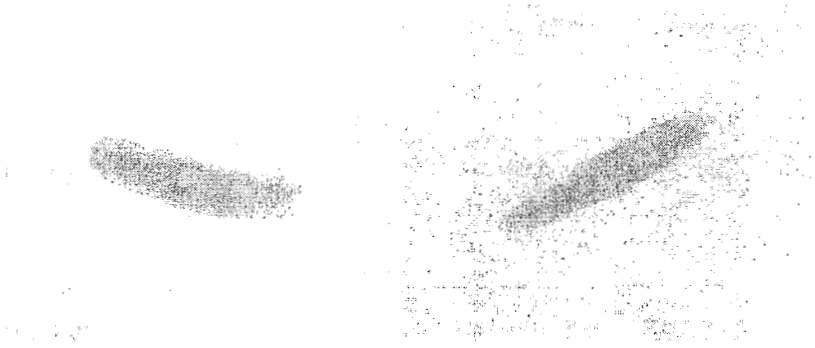
จากการคำนวณค่า ADD และ ADH โดยใช้ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงเจริญได้ (lower threshold temperature) ที่ 10 °C แสดงได้ดังตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่า Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่ 30°C

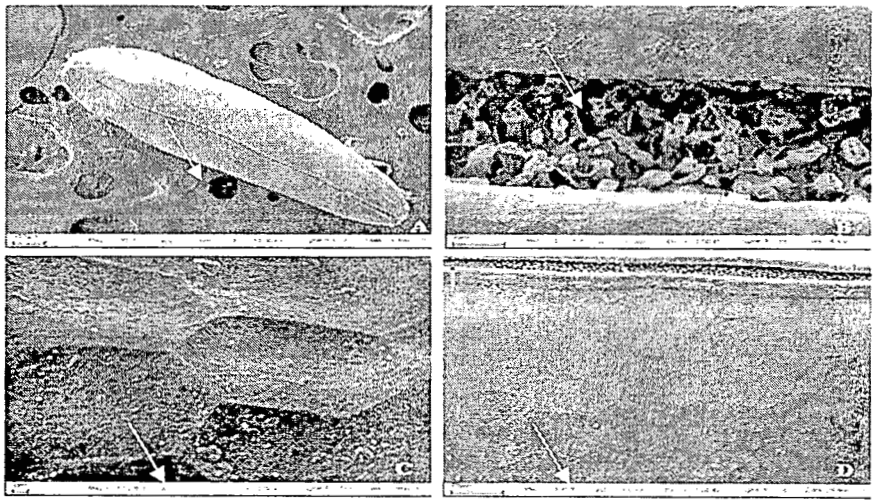
Stages	Min. Time (h)	Max.Time(h)	Average Time(h)	S.D.	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	8.34	9.54	9.14	0.87	182.80	182.80	7.62	7.62
1st Instars	12.05	12.57	12.32	0.8	246.40	429.20	10.27	17.88
2nd Instars	14.53	16.19	15.31	0.57	306.20	735.40	12.76	30.64
3rd Instars + Prepupa	28.06	28.31	28.06	0.92	561.20	1296.60	23.38	54.03
Pupation	101.49	105.24	103.33	2.08	2066.60	3363.20	86.11	140.13
Total			168.16	5.24	3363.20		140.13	

4.24 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะไข่ สู่ระยะตัวหนอนระยะที่** 1 (1st instars) **ที่** 30°C (Developmental time and developmental rate between egg stage to first instars of blowfly, *Chrysomya rufifacies* at30°C)

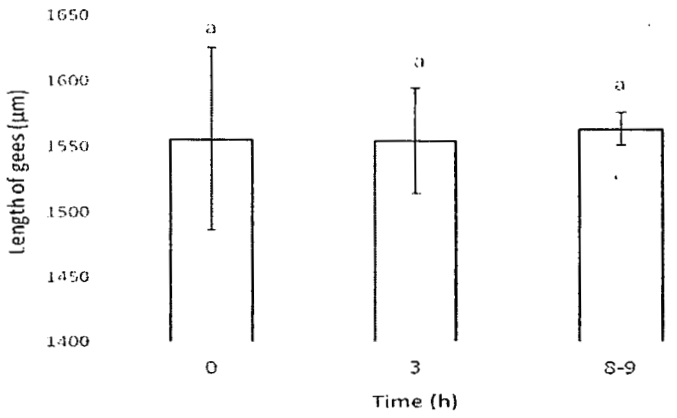
ไข่มีลักษณะคล้ายแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* แต่ผิวของเปลือกไข่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยมคล้ายรังผึ้ง median area แคบมากและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ median area ที่โอบรอบ micropyle มีลักษณะคล้ายตัว Y ดังรูปที่ 4.54 ตัวเต็มวัยวางไข่จำนวน 218 ± 73.45 ฟองต่อกอง มีเปอร์เซ็นต์ การฟัก (hatch) เท่ากับ 98.91 ± 0.09 % ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่1(1^{st}instars)ใช้เวลา 9.23 ± 0.30 ชั่วโมง มีขนาดความยาวและความกว้างอยู่ระหว่าง 1325.00±108.97 –1504.17 ± 26.02 ไมโครเมตร และ 333.33 ± 7.22 – 445.83 ± 19.09 ไมโครเมตร ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.55 และ 4.56



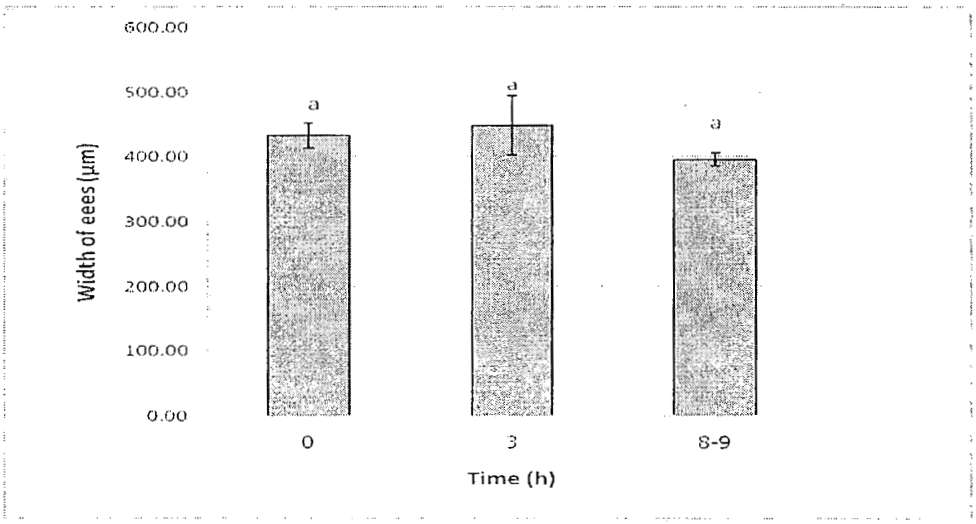
รูปที่ 4.54 (A) ไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* อายุ 3 ชั่วโมง (B) อายุ 9 ชั่วโมง (40X)



รูปที่ 4.55 ภาพจากกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด แสดงไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* (A) Median area แคบและยาวเกือบสุดความยาวทั้งหมดของไข่ (B) Plastron network (C) และ(D) รอยต่อ ของผิวไข่ที่มีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม



รูปที่ 4.56 แสดงขนาดความยาว (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 (X) ของ*C. rufifacies* ที่ 30 °C (F=0.65, df =2,6, *P*=0.5574)



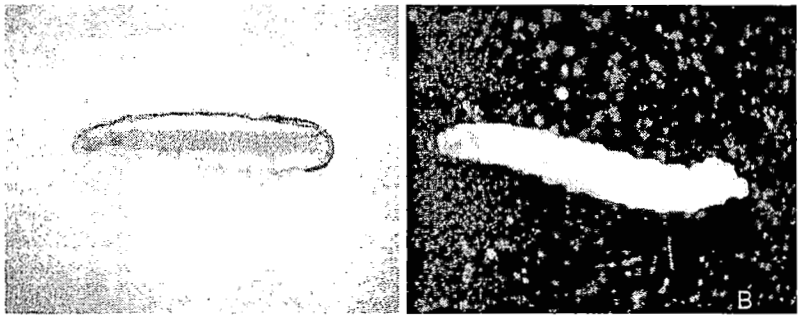
รูปที่ 4.57 กราฟแสดงขนาดความกว้าง (µm) (Y) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ8-9 (X) ของไข่ *C. rufifacies* ที่30 °C (F=2.81, df =2,6,*P*= 0.1375)

ตารางที่ 4.14 ความยาวและความกว้าง (µm) ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 ของไข่ *C. rufifacies* ที่ 30 °C

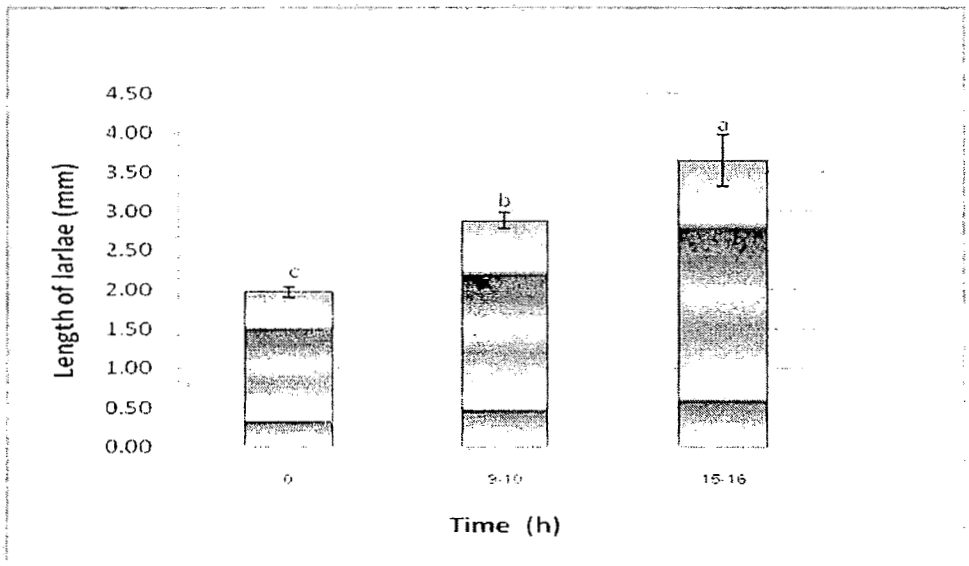
Time (h)	Eggs size (µm)(mean± S.D.)	
	Length	Width
0	1555.56 ± 69.89	433.33 ± 19.09
3	1554.17 ± 40.18	448.61 ± 45.71
8-9	1563.89 ± 12.73	395.83 ± 11.02

4.24 ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* ระยะตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) สู่ตัวหนอนระยะที่ 2 (2 nd instars) ที่ 30°C

ตัวหนอนระยะที่ 1 มีสีขาว ขนาดเล็ก ผิวลำตัวเรียบ สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า รูปร่างเป็นทรงกระบอก และเรียวยาว บริเวณหัวหรือปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้องมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูปที่ 4.58 เมื่อฟักออกจากไข่มีความยาวเริ่มต้นเท่ากับ 1.97 ± 0.1 mm ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 1 เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 (2nd instars) ใช้เวลา 15.41 ± 0.16 ชั่วโมง โดยมีขนาดความยาวระหว่าง 1.91 ± 0.1 – 3.64 ± 0.33 mm ดังรูปที่ 4.59



รูปที่ 4.58 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. rufifacies* (A) อายุ 0 ชั่วโมง (40X) (B) อายุ 9 ชั่วโมง

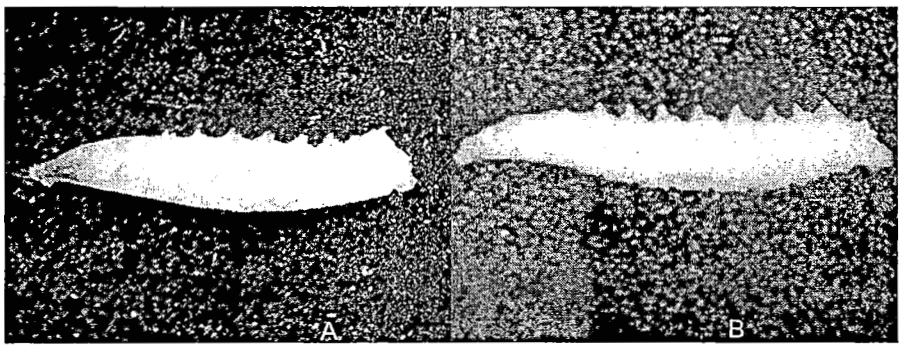


รูปที่ 4.59 ความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1 (1st instars) ที่ (F=53.27 , df=2,6 *P*=0.002)

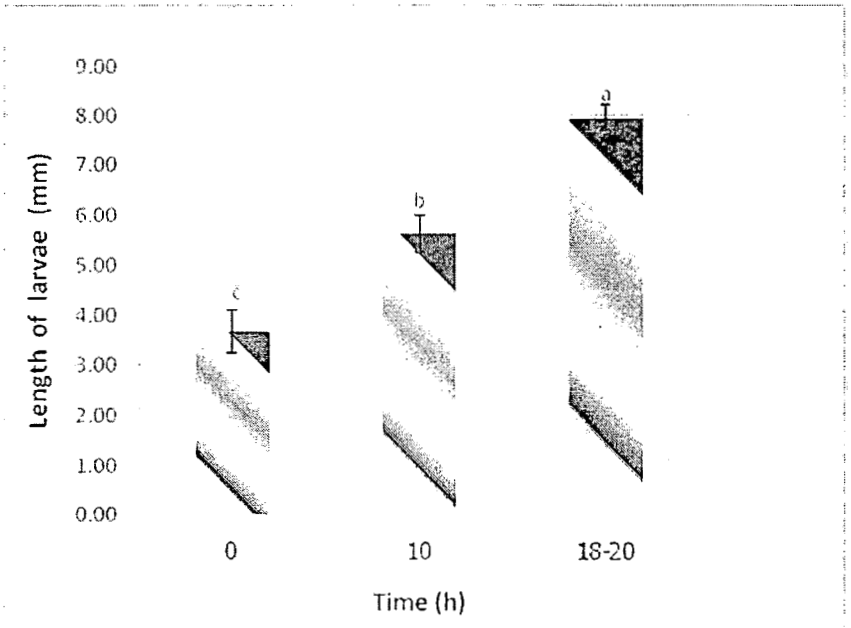
4.25 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะตัวหนอน**

ระยะที่ 2 (2nd instars) **สู่ตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **ที่** 30 °C

ตัวหนอนระยะที่ 2 ลำตัวมี tubercle ยื่นออกมาทางด้านบนและด้านข้าง ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 สามารถสังเกตได้ด้วยตาชัดเจน มีรูปร่างเป็นทรงกระบอก ปากเรียวแหลมและแข็ง ส่วนปลายด้านท้ายมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณหัว ดังรูปที่ 4.60 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 2 เป็นตัวหนอนระยะที่ 3 (3rd instars) ใช้เวลา 19.53 ± 0.55 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 3.69 ± 0.44 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 43.69± 0.44 – 7.97 ± 0.26 mm ดังรูปที่ 4.61



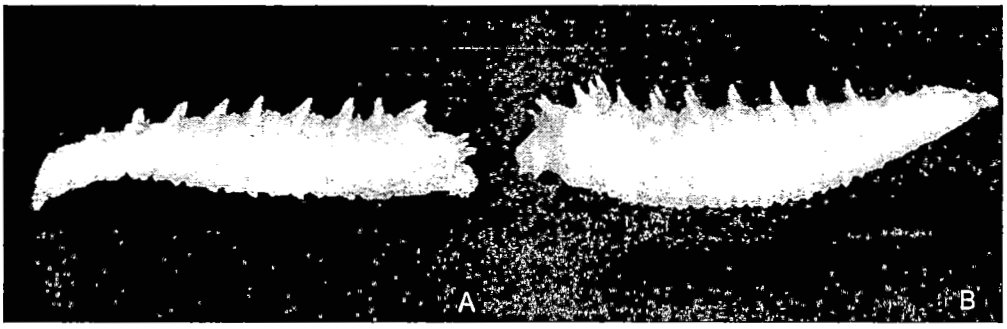
รูปที่ 4.60 ลักษณะตัวหนอนระยะที่ 2 ของ *C. rufifacies* (A) อายุ 10 ชั่วโมง (B) อายุ 19 ชั่วโมง



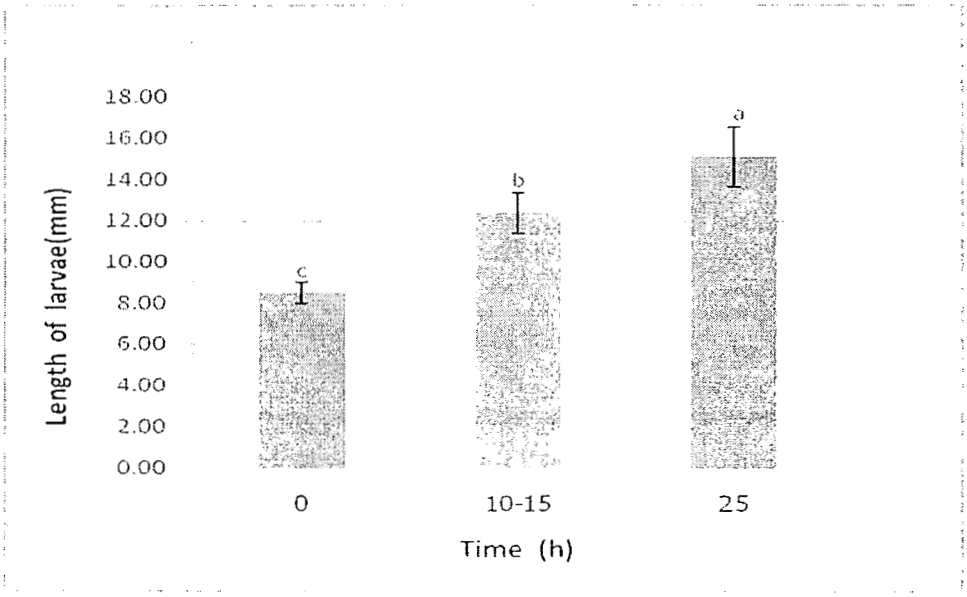
รูปที่ 4.61 กราฟแสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 2 (2nd instars) ที่ 30 °C (F=106.20, df=2,6, *P*=0.002)

4.26 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะตัวหนอนระยะที่** 3 (3rd instars) **สู่ระยะหยุดกินอาหาร** (post feeding larva) **ที่** 30 °C

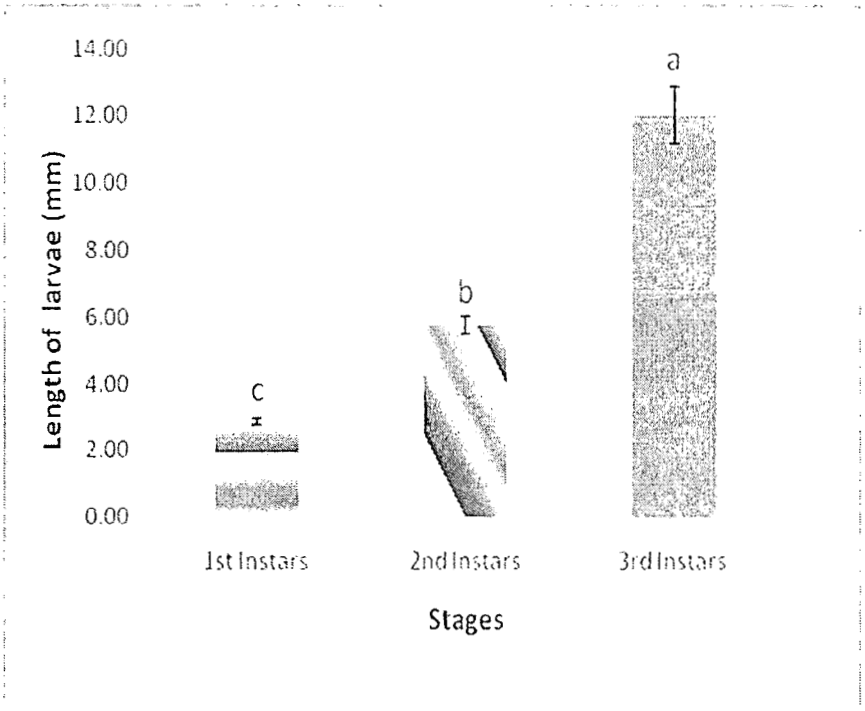
ตัวหนอนระยะที่ 3 ผิวลำตัวขรุขระ มี tubercle ยื่นออกมาทางด้านบนและด้านข้าง ขนาดลำตัวใหญ่กว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และ 2 ดังรูปที่ 4.62 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากตัวหนอนระยะที่ 3 ก่อนเข้าระยะดักแด้ (pupariation)ใช้เวลา 31.09 ± 0.39 ชั่วโมง มีขนาดความยาวเริ่มต้น 8.5 ± 0.5 mm และมีขนาดความยาวอยู่ระหว่าง 8.5 ± 0.5 – 15.11 ± 1.46 ดังรูปที่ 4.63



รูปที่ 4.62 (A)แสดงลักษณะตัวหนอนระยะที่ 3 ของ *C. rufifacies* อายุ 15 ชั่วโมง และ (B) อายุ 20 ชั่วโมง



รูปที่ 4.63 แสดงความยาว (mm) (Y) ในแต่ละช่วงเวลา (h) (X) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ (3rd instars) (F=30.13 , df =2,6 *P*=0.0007)



รูปที่ 4.64 แสดงขนาดความยาว(mm) ของตัวหนอน *C. rufifacies* ระยะที่ 1-3 ที่ 30 °C

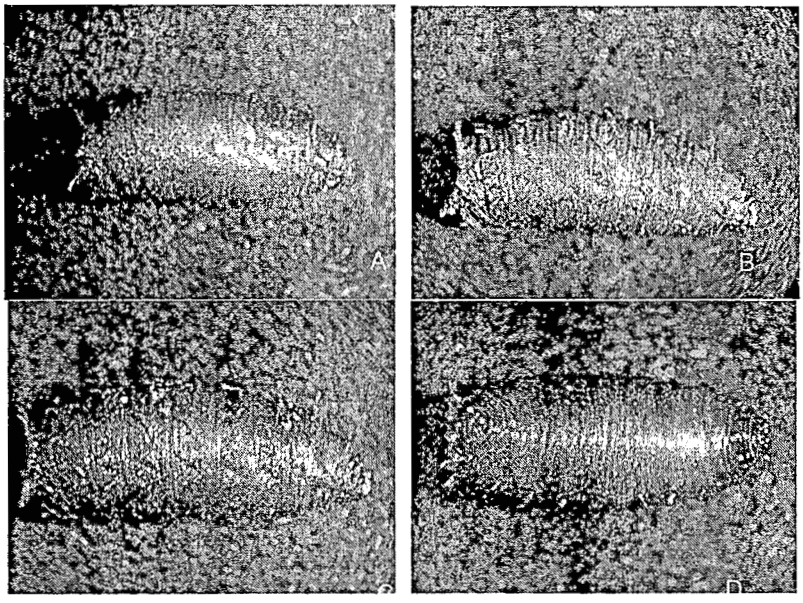
(F=246.27, df=2,6,*P* < 0.001)

ตารางที่ 4.15 แสดงขนาดความยาว (mm) ในแต่ละช่วงเวลาการเจริญของตัวหนอนระยะที่ 1 (1st instars) จนถึงระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larva) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 30 °C

Stages	Time period	Time(h)oviposition to post- feeding	Length of larvae (mean mm.±S.D.)	Range
1st instars	0	8-9	1.97 ± 0.07	1.90 ± 0.10 - 2.03 ± 0.06
	9 -10	17-18	2.89 ± 0.10	2.77 ± 0.23 - 2.90 ± 0.50
	15-16	32-33	3.64 ± 0.34	3.27 ± 0.21 - 3.83 ± 0.25
2nd instars	0	33	3.69 ± 0.44	3.20 ± 0.10 - 4.23 ± 0.25
	10	43	5.62 ± 0.37	5.20 ± 0.26 - 5.83 ± 1.03
	18-20	51-53	7.97 ± 0.26	7.67 ± 0.58 - 8.07 ± 0.06
3rd instars post feeding	0	54	8.50 ± 0.50	8.00 ± 0.50 - 9.00 ± 0.50
	10-15	64-69	12.39 ± 0.96	11.83 ± 0.58 - 13.50 ± 0.86
	25-35	79-89	14.83 ± 1.42	13.00 ± 0.50 - 16.33 ± 0.28

4.27 **ผลการศึกษาระยะเวลาและอัตราการเจริญของแมลงวันหัวเขียว** *Chrysomya rufifacies* **ระยะดักแด้** (pupa) **สู่ระยะตัวเต็มวัย** (eclosion) **ที่** 30°C

ดักแด้ มีลักษณะเด่นคือ มี tubercle ที่ด้านบนและด้านข้าง หัวและท้ายมน คล้ายถังเบียร์ ลำตัวเป็นปล้อง ดังรูปที่ 4.65 เปอร์เซ็นต์การฟักเป็นตัวเต็มวัย เท่ากับร้อยละ 98.06 ± 1.7 ซึ่งเป็นตัวเต็มวัยเพศเมียร้อยละ 59.63 ± 12.79 และตัวเต็มวัยเพศผู้ร้อยละ 40.37 ± 12.79 คิดเป็นอัตราส่วน 3 : 2 ตามลำดับระยะเวลาที่ใช้ใน การพัฒนาการจากระยะดักแด้ไปเป็นตัวเต็มวัยใช้เวลา 110.58 ± 3.30 ชั่วโมง น้ำหนักเฉลี่ยของดักแด้ เมื่ออายุครบ 1 วัน 2 วันและ 3 วันเท่ากับ 0.0434 ± 0.0042 กรัม0.0417 ± 0.0051 กรัม 0.0419 ± 0.0050 กรัม ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.66



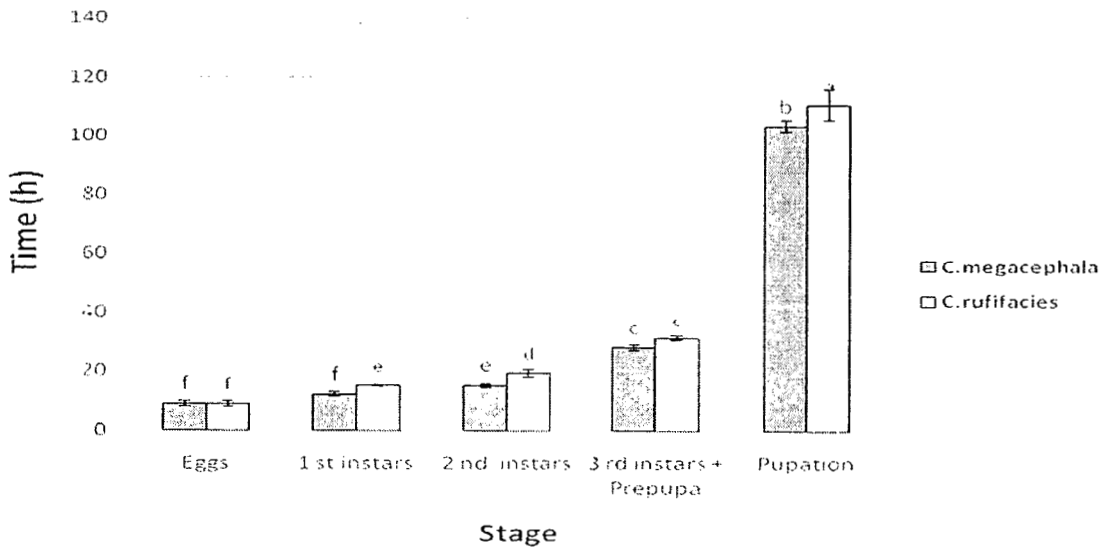
รูปที่ 4.65 (A) ลักกษณะสีและรูปร่างของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* เมื่ออายุ 24 ชั่วโมง (B) อายุ 48 ชั่วโมง (C) อายุ 72 ชั่วโมง และ (D) อายุ 72 ชั่วโมง ด้าน ventral

4.28 **ผลการคำนวณหาค่า ความร้อนสะสมวัน** (accumulated degree day) **และค่าความร้อนสะสมชั่วโมง** (accumulated degree hour) **ของ** *Chrysomya rufifacies* **ที่** 30 °C

จากการคำนวณค่า ADD และ ADH โดยใช้ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงเจริญได้ (lower threshold temperature) ที่ 10 °C แสดงได้ดังตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนถึงฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย และค่า Accumulated Degree Hour (ADH) และค่า Accumulated Degree Day (ADD) ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่ 30 °C

Stages	Min. Time (h)	Max.Time (h)	Average Time (h)	S.D.	DH-B10	ADH-B10	DD-B10	ADD-B10
Eggs	8.06	10.09	9.23	0.93	184.60	184.60	7.69	7.69
1st Instars	15.12	16.12	15.41	0.27	308.20	492.80	12.84	20.53
2nd Instars	18.03	21.03	19.53	1.20	390.60	883.40	16.28	36.81
3rd Instars +prepupa	29.46	32.4	31.09	0.80	621.80	1505.20	25.91	62.72
Pupation	105.33	118.5	110.58	5.12	2211.60	3716.80	92.15	154.87
Total			185.84	8.32	3716.80		154.87	



รูปที่ 4.66 แสดงระยะเวลา (ชั่วโมง) ที่ใช้ในการเจริญ ตั้งแต่ระยะไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่ 30 °C (F=824.30, df=9,20,*P<0.0001*)

บทที่ 5
สรุปและอภิปรายผลการทดลอง
Conclusion and Discussion

5.1 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญของ *Chrysomya megacephala*

จากการศึกษา ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตของ *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 26- 38 °C (เฉลี่ย 31 °C) และที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมระหว่าง 23 - 34 °C (เฉลี่ย 29 °C) พบว่าใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต (df=11,24 F=Infty, P<0.0001) โดยที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C ใช้เวลาเจริญเติบโตจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย 155 ± 0 ชั่วโมง แต่ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 29 °C ใช้เวลา 201 ± 0 ชั่วโมง แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ โดยเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น สามารถเร่งอัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตน้อย แต่เมื่ออุณหภูมิลดลงอัตราการเจริญเติบโตจะช้าลง ทำให้ใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตนาน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anderson (2000), Byrd and Allen (2001), Ames and Turner (2003), Grassberger and Reiter (2001, 2002a, 2002b) และ Grassberger et al. (2003)

นอกจากนี้ยังพบว่าระยะดักแด้นั้นใช้ระยะเวลาในการเจริญนานที่สุด เฉลี่ย 79.00 ชั่วโมง รองมาคือตัวหนอนระยะที่ 3 ระยะที่ 2 ระยะหยุดกินอาหาร (post feeding larvae) ระยะไข่ และ ตัวหนอนระยะที่ 1 โดยใช้เวลาเฉลี่ย 33.50 32.0 19.0 9.0 และ 5.5 ชั่วโมงตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติสามารถแบ่งช่วงการเจริญและชั่วโมงเฉลี่ยได้เป็น 6 กลุ่มดังตารางที่ 5.1

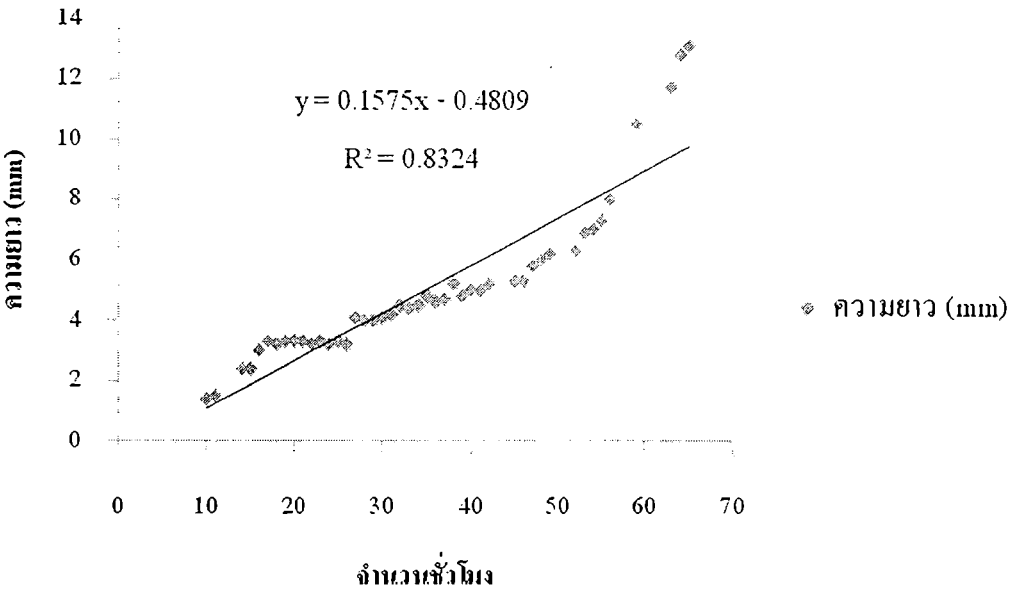
ตารางที่ 5.1 แสดงจำนวนชั่วโมงเฉลี่ยที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C

กลุ่มที่	จำนวนชั่วโมงเฉลี่ย	ระยะการเจริญของ *C. megacephala*
1	79.00	pupa
2	33.50	3rd instars
2	33.50	2nd instars
1	79.00	prepupa
2	9.00	eggs
2	5.50	1st instars

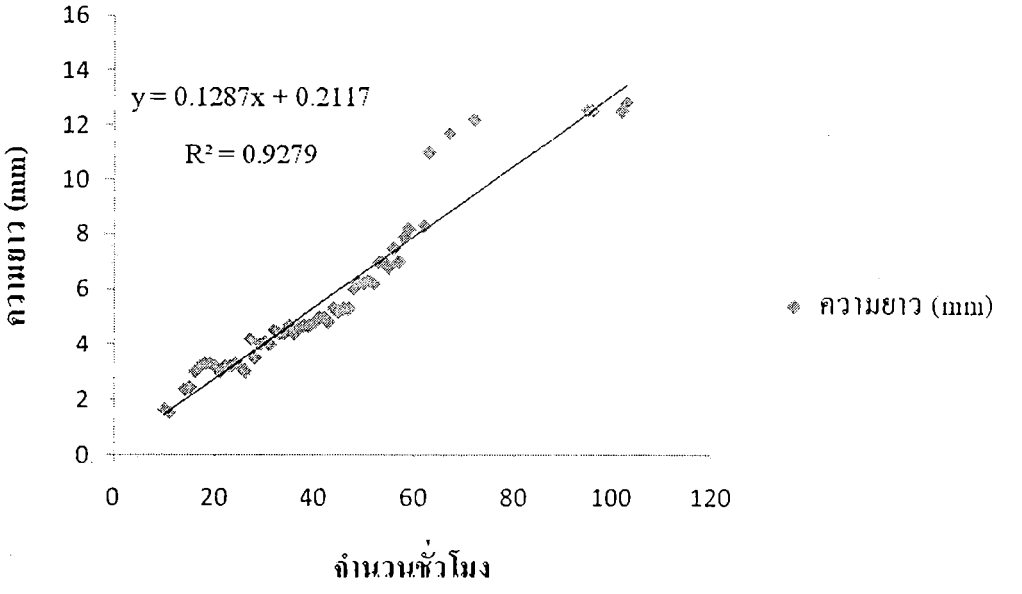
จากผลการศึกษาผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C ต่อต่อขนาดความยาวและขนาดความกว้างของไข่ *C. megacephala* พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*df*=1, *F*=3.13, *P* = 0.0900; *df*=1, *F*=0.17, *P* = 0.6882) แต่ขนาดความยาวและความกว้างของไข่ที่อุณหภูมิเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C ขึ้นอยู่กับจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*df*=11,23; *F*=3.72 ; *P*<0.0038; *df*=11,22; *F*=1.74; *P*<0.1306) โดยที่ 0 – 3 ชั่วโมงและ 5 – 9 ชั่วโมงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*df*=5, *F*=5.91, *P* = 0.0012; *df*=5; *F*=3.34; *P* = 0.0216) ผลของอุณหภูมิต่อขนาดความยาวของตัวหนอนที่อุณหภูมิเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*df*=85,172; *F*=146.02; *P*<0.001) โดยแบ่งออกเป็น 11 กลุ่มใหญ่ดังนี้

ตารางที่ 5.2 แสดงขนาดความยาว และจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญและพัฒนาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C และ 29 °C

กลุ่ม	ช่วงความยาว (mm)	ระยะเวลาการเจริญ (ชั่วโมง)
1	1.48 - 1.50	0 - 1
2	2.40 - 2.42	0 - 1
1	3.00 - 3.30	6 - 16
2	3.77 - 4.12	17 - 21
2	4.38 - 4.73	22 - 29
6	4.90 - 5.25	28 - 35
6	5.33 - 5.58	36 - 37
2	6.00 - 6.25	38 - 42
2	6.95 - 7.08	43 - 45
10	7.75	46
11	9.33	49
12	11.33	53



รูปที่ 5.1 แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instar - 3rd instar ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C



รูปที่ 5.2 แสดงความยาว (mm) (y) ในแต่ละชั่วโมง (x) ของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะที่ 1st instar - 3rd instar ที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 29 °C

5.2 ผลของอุณหภูมิกับอัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27°C

จากการศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27°C พบว่าระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=31.28, df=1,20, P<0.0001)โดย *C. megacephala* ใช้เวลาการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย193.17 ± 3.74 ชั่วโมง ส่วน *C. rufifacies* ใช้เวลาการเจริญเติบโตจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย216.32 ±10.70 ชั่วโมง ดังตารางที่ 5.1 แสดงให้เห็นว่า *C. megacephala*ใช้ระยะเวลาการเจริญน้อยกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิดังกล่าว ดังนั้น *C. megacephala* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมินี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ นภาพร ศรีตะวานิช และคณะ(2550-2552) โดยศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ*C. Rufifacies* ที่อุณหภูมิ 29 ±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพันธ์ในอากาศร้อยละ 54-68 โดยใช้ตับหมูดิบเป็นอาหาร พบว่า *C. megacephala* มีแนวโน้มของการเจริญเช่นเดียวกับการทดลองนี้ และจากการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. rufifacies* ของการทดลองนี้และการทดลองของ Dhang et al., 2008) ดังตารางที่ 5.3 พบว่าใช้ระยะเวลาในการเจริญน้อยกว่า อาจเป็นไปได้ว่าความแตกต่างของภูมิศาสตร์แหล่งที่อยู่อาศัย ความแตกต่างทางสายพันธุ์ มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว

ตารางที่ 5.3 ระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

Stages	Time (mean hours ± S.D.)	
	C. megacephala	***C. rufifacies***
Eggs	9.45 ± 0.40	10.17 ± 1.40
1st Instars	15.38 ± 0.41	19.13 ± 0.50
2nd Instars	17.59 ± 0.30	26.02 ± 0.55
3rd Instars+Prepupa	33.41 ± 1.09	43.00 ± 4.10
Pupa	117.34 ± 1.54	118.00 ± 4.15
Total	**193.17 ± 3.74**	**216.32 ± 10.70**

ตารางที่ 5.4 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตของ*C. Rufifacies* ระหว่างการทดลองนี้และการทดลองของ Dhang *et al.*, 2008

Stages	Developmental time (mean hours ± S.D.)	
	a Present study	b Dhang C.
Eggs	10.17 ± 1.40	11.00 ± 2.30
1st Instars	19.13 ± 0.50	13.60 ± 0.98
2nd Instars	26.02 ± 0.55	19.20 ± 0.80
3rd Instars	43.00 ± 4.10	61.60 ± 3.17
Pupa	118.00 ± 4.15	121.60 ± 7.86
Total	**216.32 ± 10.70**	**227.00 ± 15.11**

a 27 ± 2 องศาเซลเซียส b 28 ± 2 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้ในระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ใช้ระยะเวลาการเจริญนานที่สุด 118.00 ± 3.49 ชั่วโมง รองลงมา คือ ตัวหนอนระยะที่ 3 ตัวหนอนระยะที่ 2 ตัวหนอนระยะที่ 1 และระยะไข่โดยใช้ระยะเวลา 43.00 ±4.10 ชั่วโมง 26.02 ± 0.55 ชั่วโมง 19.13 ± 0.50 ชั่วโมง และ10.17 ±1.40 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งระยะเวลาการเจริญของ*C. megacephala* มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยในระยะดักแด้ใช้ระยะเวลาการเจริญ 117.34 ± 1.54 ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 3 33.41 ±1.09 ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 2 17.59± 0.30 ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 1 15.38± 0.41ชั่วโมง และระยะไข่โดยใช้ระยะเวลา 9.45±0.40 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และตัวหนอนระยะที่ 2ใช้เวลาในการเจริญเติบโตใกล้เคียงกันดังตารางที่ 5.1 เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญแต่ละระยะของแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดนี้ พบว่าระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1 และระยะดักแด้ใช้ระยะเวลาในการเจริญไม่แตกต่างกัน

จากผลการศึกษาขนาดความยาวและความกว้างของไข่ *C. megacephala* ในช่วงแรก(ชั่วโมงที่ 0) ช่วงกลาง (ชั่วโมงที่ 3) และช่วงปลาย (ชั่วโมงที่ 9) ของการเจริญ พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=0.02, df=2,6,P=0.9820; F=0.06, df=2,6,P=0.9460) เช่นเดียวกับ*C. rufifacies* (F=0.76, df=2,6,P=0.5085; F=1.78, df=2,6,P=0.2478) ซึ่งขนาดไข่ของแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออายุของการเจริญเพิ่มขึ้น โดยไข่ของ*C. Megacephala* มีขนาดมากกว่า *C. rufifacies*

ขนาดตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* เมื่ออายุของการเจริญเพิ่มขึ้นพบว่าขนาดความยาวในช่วงแรก ช่วงกลาง และช่วงปลายของการเจริญ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=29.25,

df=2,6,*P*=0.0008) เช่นเดียวกับตัวหนอนระยะที่ 2 (*F*=151.70, *df*=2,6,*P*<0.0001; *F*=54.95, *df*=2,6,*P*=0.0001) และตัวหนอนระยะที่ 3 (*F*=1628.86, *df*=2,6,*P*<0.0001)

ขนาดความยาวในช่วงแรก ช่วงกลาง และช่วงปลายของการเจริญ ตัวหนอนระยะที่ 1ของ *C. rufifacies* มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=18.04, *df*=2,6 *P*=0.0029) แต่ตัวหนอนระยะที่ 2 และตัวหนอนระยะที่ 3 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=64.47, *df*=2,6, *P*<0.0001; *F*=66.19, *df*=2,6 *P*<0.0001)

ขนาดตัวหนอนทั้ง 3 ระยะ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=3972.54, *df*=2,6*P*<0.0001) ความยาวของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออายุของการเจริญเพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าความยาวตัวหนอนขึ้นอยู่กับจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ คือ ความยาวของตัวหนอนมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Day and Wallman (2006) ที่ศึกษาขนาดความยาวและความกว้างตัวหนอนของ *Calliphora augur* ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวหนอน *C. Megacephala* มีขนาดยาวกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

น้ำหนักดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วัน และ 3 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=0.06, *df*=2,6,*P*=0.9445, *F*=0.10, *df*=2,6,*P*=0.9039) แต่น้ำหนักดักแด้ของ *C. megacephala* มากกว่า *C. rufifacies* มีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ เนื่องจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) เพื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย อาจเป็นไปได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงของสารต่าง ๆ รวมทั้งอาจสูญเสียน้ำในระหว่างขั้นตอนต่าง ๆ ในบางช่วงของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว โดยจะเห็นได้จากน้ำหนักดักแด้สัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่เพิ่มขึ้นและลดลงในเวลาต่อมา ดังนั้นน้ำหนักดักแด้ที่เปลี่ยนแปลงจึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการบอกอายุการเจริญได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นอีก เช่นการถูกกัดกินจากสัตว์อื่นทำให้น้ำหนักดักแด้น้อยกว่าปกติ ปริมาณดินที่ติดดักแด้แต่ละตัวไม่เท่ากัน เป็นต้น ซึ่งทั้งหมดนี้จะส่งผลให้การชั่งน้ำหนักของดักแด้มีความคลาดเคลื่อน

จากการคำนวณค่าความร้อนสะสมวัน (ADD) และความร้อนสะสมชั่วโมง (ADH) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ*C. Rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27องศาเซลเซียส พบว่า *C. megacephala* มีค่า ADD และ ADH คือ 136.83 และ 3283.89 ตามลำดับ ส่วน *C. rufifacies* มีค่า ADD และ ADH คือ 153.23และ 3677.44 ตามลำดับ ซึ่งแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดใช้ระยะเวลาในการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=31.28, *df*=1,20, *P*<0.0001) สามารถสรุปได้ว่า *C. megacephala* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิดังกล่าว (โดยใช้เงื่อนไขในการเลี้ยงตามที่ได้รายงานในบทที่ 3)

โดยทั่วไประยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัย อาจ มีปัจจัยหลายอย่างมาเกี่ยวข้อง เช่น อาหาร ความหนาแน่นของประชากร สภาพภูมิศาสตร์ และสภาพอากาศ เป็นต้น แมลงแต่ละชนิดจะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน และมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ต่างกัน ซึ่งแมลงชนิดไหนสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมขณะนั้นได้มากที่สุด ก็จะเจริญเติบโตและดำรงเผ่าพันธุ์ได้ดี ดังนั้นงานทางด้านนิติกีฏวิทยาต้องมีการศึกษาต่อไปและการประมาณระยะเวลาหลังการตาย ควรคำนึงถึงปัจจัยภายนอกและภายในที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนั้นๆด้วย เพื่อทำให้การประมาณระยะเวลาหลังการตายแม่นยำมากขึ้น

5.3 ผลของอุณหภูมิกับอัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30°C

ผลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เพื่อคำนวณหาค่า ADD และ ADH พบว่าที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 31 °C ระยะเวลาการเจริญตั้งแต่ระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1 2 3 ระยะก่อนดักแด้ และระยะดักแด้จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวใช้เวลา 9, 5, 24, 23, 22, 72 ชั่วโมงตามลำดับ มีค่า ADD และค่า ADH คือ 138.9 และ 3332.5 ส่วนที่อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเฉลี่ย 29 °C ใช้เวลา 9, 6, 40, 44, 16, 86 ชั่วโมงตามลำดับ มีค่า ADD และ ADH คือ 149.5 และ 3588.5 ซึ่งทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (df=11,24; F=Infty; P<0.0001)

โดยทั่วไประยะเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัว อาจมีปัจจัยหลายอย่าง เช่น อาหาร ความหนาแน่นของประชากร สภาพภูมิศาสตร์ และสภาพอากาศ เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้สามารถส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตโดยเฉพาะอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการเจริญเติบโตจะเพิ่มขึ้น แต่ถ้าอุณหภูมิลดต่ำลงอัตราการเจริญเติบโตจะลดลง แต่อย่างไรก็ตามในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย ควรมีความรู้เกี่ยวกับปัจจัยภายในและปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงที่มีความสำคัญทางนิติกีฏวิทยาชนิดนั้น ๆ ด้วย ซึ่งจะทำให้การประมาณระยะเวลาหลังการตายมีความแม่นยำมากขึ้น

ผลของอุณหภูมิกับอัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 °C เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญพัฒนาของแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งถึงระยะออกมาเป็นตัวเต็มวัย พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=824.30, df=9,20, P<0.0001) โดยในแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ใช้เวลาการเจริญเติบโตพัฒนาจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย 168 ± 5.24 ชั่วโมง หรือประมาณ 7 วัน ส่วน *C. rufifacies* ใช้เวลาการเจริญเติบโตพัฒนาจากระยะไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัย 185.84 ± 8.32 ชั่วโมง หรือประมาณ 7 วัน 17 ชั่วโมง *C. megacephala* ใช้ระยะเวลาการเจริญพัฒนาน้อยกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิดังกล่าว ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า *C. megacephala* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *C. rufifacies* ซึ่งอุณหภูมิ

นี้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ นภาพร ศรีตะวานิช และคณะ(2550-2552) โดยศึกษาชีววิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ*C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 29 ±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพันธ์ในอากาศร้อยละ 54-68 พบว่า *C. megacephala* มีแนวโน้มของการเจริญเช่นเดียวกับการทดลองนี้และจากการเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตจากไข่จนฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. rufifacies* ของการทดลองนี้และการทดลองของ Sritavanich *et al.*, 2009) ดังตารางที่ 5.2 พบว่าใช้ระยะเวลาในการเจริญน้อยกว่า อาจเป็นไปได้ว่าความแตกต่างของภูมิศาสตร์แหล่งที่อยู่อาศัยระดับความสูงจากระดับน้ำทะเล ความแตกต่างทางสายพันธุ์ มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของแมลงวันหัวเขียว (Grassbergar et al.,2002)

ตารางที่ 5.5 ระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตจากระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัยของ *C. megacephala* และ *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

Stages	Time (mean hours ± S.D.)	
	C. megacephala	*C. rufafacies*
Eggs	9.14 ± 0.87	9.23 ± 0.93
1st Instars	12.32 ± 0.80	15.41 ± 0.27
2nd Instars	15.31 ±0.57	19.53 ± 1.20
3rd Instars + prepupa	28.06 ± 0.92	31.09 ± 0.80
Pupation	103.33 ± 2.08	110.58 ± 5.12
Total	168.16 ± 5.24	185.84 ± 8.32

ตารางที่ 5.6 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในเจริญเติบโตของ*C. Rufifacies* ระหว่างการทดลองนี้และการทดลองของ Sritavanich *et al.*, 2009

Stages	Developmental time (mean hours± S.D.)	
	Present study[a]	Sritavanich[b]
Eggs	9.23 ± 0.93	12.00 ± 0.42
1st Instars	15.41 ± 0.27	35.68 ± 3.10
2nd Instars	19.53 ± 1.20	25.44 ± 3.42
3rd Instars	31.09 ± 0.80	36.36 ± 0.24
Pupa	110.58 ± 5.12	85.55 ± 5.86
Total	185 ± 8.32	230.03 ± 13.04

a 30 องศาเซลเซียส b 29 ± 1 องศาเซลเซียส

ในการศึกษาขนาดความยาวและความกว้างและความยาวของไข่ของแมลงวันหัวเขียว*C. megacephala* และ *C. rufifacies* ในชั่วโมงที่ 0 3 ที่เป็นชั่วโมงแรก ๆ และชั่วโมงที่ 8- 9 ซึ่งเป็นชั่วโมงท้ายของระยะไข่ พบว่าใน *C. megacephala* ความยาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=0.04, df=2,6, P=0.9635) และความกว้างของไข่ที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=2.58, df=2,6, P=0.1556) และใน *C. rufifacies* ความยาวของ ไข่ ในชั่วโมงที่ 0 3 และ 8-9 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=0.65, df=2,6, P=0.5574) แนวโน้มความความกว้างมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=2.81, df=2,6, P=0.1375)

ตารางที่ 5.7 ความยาวและความกว้างของไข่แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C. rufifacies*

Time (h)	Eggs size (μm) (mean± S.D.)			
	C. meagacephala		*C. rufacies*	
	Length	Width	Length	Width
0	1555.56 ± 69.89	433.33± 19.09	1555.56 ± 69.89	433.33 ± 19.09
0	1554.17± 40.18	448.61± 45.71	1554.17 ± 40.18	448.61 ± 45.71
8-9	1563.89± 12.73	395.83± 11.02	1563.89 ± 12.73	395.83 ± 11.02

ระยะดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ใช้ระยะเวลาการเจริญนานที่สุดคือ 110.58 ± 5.12 ชั่วโมง รองลงมา คือ ตัวหนอนระยะที่ 3 ตัวหนอนระยะที่ 2 ตัวหนอนระยะที่ 1 และระยะไข่ โดยใช้ระยะเวลา 31.09 ±0.08 ชั่วโมง 19.53± 1.20 ชั่วโมง 15.41 ± 0.27 ชั่วโมง และ9.23 ±0.93 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งระยะเวลาการเจริญของ *C. megacephala* มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยในระยะดักแด้ใช้ระยะเวลาการเจริญ 168.16± 5.24 ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 3 28.06 ± 0.92ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 2 15.31± 0.57 ชั่วโมง ตัวหนอนระยะที่ 1 12.32± 0.80 ชั่วโมง และระยะไข่โดยใช้ระยะเวลา 9.23±0.93 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าตัวหนอนระยะที่ 1 และตัวหนอนระยะที่ 2ใช้เวลาในการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 5.1 เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญแต่ละระยะของแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดนี้ พบว่าระยะไข่ ตัวหนอนระยะที่ 1 และระยะดักแด้ใช้ระยะเวลาในการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=824.30, df=9.20, P<0.0001)

จากผลการศึกษา ขนาดตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *C. megacephala* เมื่ออายุของการเจริญเพิ่มขึ้น พบว่าขนาดความยาวในช่วงแรก ช่วงกลาง และช่วงปลายของการเจริญ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=50.77, df=2,6,*P*=0.0002) เช่นเดียวกับตัวหนอนระยะที่ 2 (F=19.63, df=2,6,*P*<0.0023) และตัวหนอนระยะที่ 3 (F=79.67, df=2,6,*P*<0.0001)

ขนาดความยาวในช่วงแรก ช่วงกลาง และช่วงปลายของการเจริญ ตัวหนอนระยะที่ 1ของ *C. rufifacies* มีความแตกต่างกันอย่างนัยสำคัญทางสถิติ *(F=53.27, df=2,6, P*=0.0002) เช่นเดียวกับตัวหนอนระยะที่ 2 และตัวหนอนระยะที่ 3 มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(F=106.20, df=2,6, P*<0.0001; F=30.13, df=2,6 ,*P*<0.0007)

ขนาดตัวหนอนทั้ง 3 ระยะ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=3972.54, df=2,6, *P*<0.0001) ความยาวของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดนี้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่ออายุของการเจริญเพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าความยาวตัวหนอนขึ้นอยู่กับจำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ คือ ความยาวของตัวหนอนมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Day and Wallman (2006) ที่ศึกษาขนาดความยาวและความกว้างตัวหนอนของ *Calliphora augur* ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส และนอกจากนี้ยังพบว่า ตัวหนอน*C. Megacephala* มีขนาดยาวกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

น้ำหนักดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ*C. rufifacies* เมื่ออายุการเจริญครบ 1 วัน 2 วัน และ 3 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (F=1.29, df=2,6, *P*=0.3422, F=0.11, df=2,6, *P*=0.8935) แต่น้ำหนักดักแด้ของ *C. megacephala* มากกว่า *C. rufifacies* และดักแด้ของแมลงวันทั้งสองชนิดมีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ เนื่องจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (metamorphosis) เพื่อเข้าสู่ระยะตัวเต็มวัย อาจเป็นไปได้ว่ามีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการเปลี่ยนแปลงของสารต่าง ๆ รวมทั้งอาจสูญเสียน้ำในระหว่างขั้นตอนต่าง ๆ ในบางช่วงของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว โดยจะเห็นได้จากน้ำหนักดักแด้สัมพันธ์กับจำนวนชั่วโมงที่เพิ่มขึ้นและลดลงในเวลาต่อมา ดังนั้นน้ำหนักดักแด้ที่เปลี่ยนแปลงจึงไม่สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการบอกอายุการเจริญได้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นอีก เช่นการถูกกัดกินจากสัตว์อื่นทำให้น้ำหนักดักแด้น้อยกว่าปกติ ปริมาณดินที่ติดดักแด้แต่ละตัวไม่เท่ากัน เป็นต้น ซึ่งทั้งหมดนี้จะส่งผลให้การชั่งน้ำหนักของดักแด้มีความคลาดเคลื่อน

จากการคำนวณค่าความร้อนสะสมวัน (ADD) และความร้อนสะสมชั่วโมง (ADH) ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ*C. Rufifacies* ที่อุณหภูมิ 30± 2 องศาเซลเซียส พบว่า *C. megacephala* มีค่า ADD และ ADH คือ 154.87 และ 3716.80 ตามลำดับ ส่วน *C. rufifacies* มีค่า ADD และ ADH คือ 154.87และ 3716.80 ตามลำดับ ซึ่งแมลงวันหัวเขียวทั้งสองชนิดใช้ระยะเวลาในการเจริญแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (*F*=824.30, *df*=9,20, *P*<0.0001) สามารถสรุปได้ว่า *C. megacephala* เจริญเติบโตได้ดีกว่า *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิดังกล่าว

ระยะเวลาโดยทั่วไปที่แมลงวันหัวเขียวใช้ในการพัฒนาตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวเต็มวัย อาจมีปัจจัยหลายอย่างมาเกี่ยวข้อง เช่น อาหาร ความหนาแน่นของประชากร สภาพภูมิศาสตร์ และสภาพอากาศ รวมทั้งการปรับตัวด้านวิวัฒนาการของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิด ให้สามารถอาศัยที่ที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน ซึ่งแมลงชนิดสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมขณะนั้นได้มากที่สุด ก็จะเจริญเติบโตและดำรงเผ่าพันธุ์ได้ดี ดังนั้นงานทางด้านนิติกีฏวิทยาต้องมีการศึกษาต่อไปและการประมาณระยะเวลาหลังการตาย ควรคำนึงถึงปัจจัยภายนอกและภายในที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแมลงชนิดนั้นๆด้วย เพื่อให้มีข้อมูลพื้นฐานที่แน่น ทำให้การประมาณระยะเวลาหลังการตายแม่นยำมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

Adams, Z. J. O. and Hall 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. and Turner, 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. 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. 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. 2004. Determining time of death using blow fly eggs in the early postmortem interval. **International Journal of Legal Medicine** 118, 240–241.

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. and Turner, B. 2008. Post-feeding larval behaviour in the blowfly, *Calliphora vicina*: Effects on post-mortem interval estimates. **Forensic Science International** 177, 162–167

Bourel, B., Callet, B., Hedouin, V. and Gosset, D. 2003. Flies egg : a new method for the estimation of short–term post–mortem interval. **Forensic Science International** 135, 27-34.

Byrd, J. H. and Castner, J. L. 2001. **Forensic Entomology: The Utility of Arthropods in Legal Investigations**. CRC Press, Boca Raton, Florida.

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. and Goff, 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.

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.

Day, D. M. and Wallman J. F. 2006. Width as an alternative measurement to length for post-morteminterval 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 Sofian-Azirun, M. 2008. Larval Growth Parameters and Growth Rates of Forensically Important Flies, *Hypopygiopsis violacea* Macquart, 1835 and *Chrysomya rufifacies* Macquart, 1842. **The 3rd Asean Congress of Tropical Medicine and Parasitology** 3, 97-100.

Erzinclioglu, Y. Z. 1989. The value of chorionic structure and size in the diagnosis of blowfly eggs. **Medical Veterinary Entomology** 3, 281–285.

Gabre, R. M., Adham, F. K., Chi, H. 2005. Life table of *Chrysomya megacephala* (Fabricius) (Diptera: Calliphoridae). **Acta Oecologica** 27, 179–183.

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. and Zuben, C. J. V. 2006. Forensic Entomology and Main Challenges in Brazil. **Neotropical Entomology** 35(1), 1-11.

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. 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., 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.

Grassberger, M., 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. and Reiter, 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. and Szyska, M. L. 1984. Immature stages and biology of fifteen species of Peruvian Calliphoridae (Diptera). **Annals of the Entomological Society of America** 77, 488–517.

Greenberg, B. and Singh, D. 1995. Species identification of Calliphorid (Diptera) eggs. **Journal Medical Entomology** 32, 21–26.

Greenberg, B. and Kunich, J. C. 2002. **Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators**. Cambridge University Press, United Kingdom.

Hall, M. 2008. Forensic entomology: using insects to solve crime. **Catalyst** 9: 1-3.

Hall, M. and Brandt, A. 2006. Forensic entomology. **Science in School** 2: 49-53.

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 Remians**, *In*: W. D. Haglund and M. H. Sorg (eds.). CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 415-448.

Haskell, N. H. and Williams, R. E. .2008. **Entomology & Death: A Procedural Guide, 2nd edition.** East Park Printing, Clemson, USA. 216 p.

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. and Haskell, N. H. 2001. **Insect development and forensic entomology.** Boca Raton, Florida. Pp. 287-302.

Ireland, S. and Turner, 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.

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 speciail 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.

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 Reseach.** 66, 195-203.

Leblanc, H. N. and Strongmanu, 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. and Greenberg, B. 1989. Immature stages of some flies of forensic. importance. **Annals of the Entomological Society of America** 82, 80–93.

Lomnicki, A. 1988. **Population Ecology of Individuals**, Princeton Press, Princeton, 233 pp.

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.

Matoba, K. and Terazawa, 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.

Martinez, E., Duque, P. and Wolff, M. 2007. Succession pattern of carrion-feeding insects in Paramo, Colombia . **Forensic Science International** 166,182–189.

Mendonca, M. P., Mallet, S. R. J., Mello, P. R., Gomes, L. and Queiroz, M. M. 2008. Identification of fly eggs using scanning electron microscopy for forensic Investigations. **Micron** 39(7), 802–807.

Oliveira-Costa, J. and de Mell-Patiu, 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.

Rodriguez, W. C. and Bass, W. M. 1983. Insect activity and its relationship to decay rates of human cadavers in East Tennessee. **Journal of Forensic science** 28, 423-432.

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, 51-4.

Smith, K. V. G. 1986. **A Manual of Forensic Entomology**. Cornell University Press,

New York.

Shan, Z. A. and Sakhawat, 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.

Sripakdee, D., Sukontason, K. L., Piangjai, S., Ngern-Klun, R. and Sukontason, K. 2005. Effect of microwave irradiation on Blow fly *Chrysomya magacephala* (F.) (Diptera: Calliphoridae). Southeast Asian **Journal of Tropical Medicine and Public Health** 36(4), 893-895.

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., 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., 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., Kanchai, C., Piangjai, S., Boonsriwong, W., Bunchu, N., Sripakdee, D.,Chaiwong, T., Kuntalue, B., Siriwattanarungsee, 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., Siriwattanarungsee, S. and Sukontason K. 2006. Morphological comparison between *Chrysomya rufifacies* (Macquart) and *Chrysomya villeneuvi* Patton (Diptera: Calliphoridae) puparia, forensically important blow flies. **Forensic Science International** 164, 230–234.

Sukontason, K., Piangjai, S., Siriwattanarungsee, 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.

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.

Wang, J., Varatharajan, R. and Sen, A. (2000) Role of entomology in forensic entomology. *Current Science* 78(5): 544-546.

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. and Kurahashi, 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. and Villet, 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, *Calliphor avomitoria* and *Lucilia sericata*, in the dark. **Forensic Science International** 172, 94–97.

วิเคราะห์ขนาดความยาวของไข่ที่อุณหภูมิ 32°C และ 28°C

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Temp	2	28C 32C
Hour	6	3H 4H 5H 6H 8H 9H

Number of observations 36

NOTE: Due to missing values, only 33 observations can be used in this analysis

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: egg

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	430151.5152	39104.6832	3.73	0.0047
Error	21	220312.5000	10491.0714		
Corrected Total	32	650464.0152			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	egg Mean
0.661299	7.876623	102.4259	1300.379

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Temp	1	34265.1411	34265.1411	3.27	0.0851
Hour	5	313349.4318	62669.8864	5.97	0.0014
Temp*Hour	5	82536.9423	16507.3885	1.57	0.2108

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for egg

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	10491.07
Harmonic Mean of Cell Sizes	16.48485

NOTE: Cell sizes are not equal

Number of Means	2
Critical Range	74.19

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Temp
A	1333.59	16	28C
A	1269.12	17	32C

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for egg

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	21
Error Mean Square	10491.07
Harmonic Mean of Cell Sizes	5.373134

NOTE: Cell sizes are not equal.

Number of Means	2	3	4	5	6
Critical Range	130.0	136.4	140.6	143.5	145.6

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Hour
A	1420.83	6	8H
A	1356.25	4	9H
A	1312.50	6	6H
A	1312.50	6	4H
A	1307.50	5	5H
B	1112.50	6	3H

วิเคราะห์ขนาดความกว้างของไข่ที่อุณหภูมิ 32°C และ 28°C

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Temp	2	28C 32C
Hour	6	3H 4H 5H 6H 8H 9H

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	22
Error Mean Square	2533.144
Harmonic Mean of Cell Sizes	5.625

NOTE: Cell sizes are not equal.

Number of Means	2	3	4	5	6
Critical Range	62.24	65.35	67.34	68.74	69.78

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Hour
A	356.25	6	9H
A	320.83	6	8H
A	320.00	5	4H
A	315.00	5	6H
A	306.25	6	5H
B	241.67	6	3H

The ANOVA Procedure

วิเคราะห์ขนาดความยาวของตัวหนอนที่อุณหภูมิ 32°C และ 28°C

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Temp	2	28C 32C
Hour	43	10H 11H 14H 15H 16H 17H 18H 19H 20H 21H 22H 23H 24H 25H 26H 27H 28H 29H 30H 31H 32H 33H 34H 35H 36H 37H 38H 39H 40H 41H 42H 45H 46H 47H 48H 49H 52H 53H 54H 55H 56H 59H 63H

Number of observations 258

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: larvae

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	85	955.8634109	11.2454519	146.02	<.0001
Error	172	13.2466667	0.0770155		
Corrected Total	257	969.1100775			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	larvae Mean
0.986331	5.997596	0.277517	4.627132

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Temp	1	2.0862016	2.0862016	27.09	<.0001
Hour	42	944.2434109	22.4819860	291.92	<.0001
Temp*Hour	42	9.5337984	0.2269952	2.95	<.0001

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for larvae

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	172
Error Mean Square	0.077016
Number of Means	2
Critical Range	.06821

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Temp
A	4.71705	129	32C
B	4.53721	129	28C

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for larvae

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	172
Error Mean Square	0.077016

Number of Means	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Critical Range	.3163	.3329	.3440	.3521	.3585	.3636	.3679	.3716	.3747	.3775	.3799
Number of Means	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23
Critical Range	.3821	.3841	.3859	.3875	.3889	.3903	.3915	.3927	.3938	.3948	.3957
Number of Means	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
Critical Range	.3966	.3974	.3981	.3989	.3995	.4002	.4008	.4013	.4019	.4024	.4028
Number of Means	35	36	37	38	39	40	41	42	43		
Critical Range	.4033	.4037	.4041	.4045	.4049	.4053	.4056	.4059	.4062		

Means with the same letter are not significantly different.

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for larvae

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Hour
A	11.3333	6	63H
B	9.3333	6	59H
C	7.7500	6	56H
D	7.0833	6	55H
D	7.0000	6	54H
D	6.9500	6	53H
E	6.2500	6	52H
E	6.1667	6	49H
E	6.0000	6	48H
F	5.5833	6	47H
G F	5.3333	6	46H
G H	5.2500	6	45H
G H	5.1167	6	42H
G H I	5.0167	6	41H
H I	4.9167	6	38H
H I	4.9000	6	40H
J I	4.7333	6	39H
J I	4.7333	6	35H
J I	4.6833	6	37H
J	4.4833	6	36H
J	4.4833	6	32H
J	4.4667	6	34H
K J	4.3833	6	33H
K L	4.1167	6	27H
K L	4.1000	6	30H
K L	4.0833	6	31H
L	3.9667	6	29H

L	3.7667	6	28H
M	3.3000	6	19H
M	3.2500	6	24H
M	3.2500	6	18H
M	3.2500	6	25H
M	3.2500	6	20H
M	3.2500	6	23H
M	3.2167	6	17H
M	3.1667	6	22H
M	3.1667	6	21H
M	3.0833	6	26H
M	3.0000	6	16H
N	2.4167	6	15H
N	2.4000	6	14H
O	1.5000	6	11H
O	1.4833	6	10H

The ANOVA Procedure

Level of	Level of		----------larvae----------	
Temp	Hour	N	Mean	Std Dev
28C	10H	3	1.5000000	0.10000000
28C	11H	3	1.5000000	0.10000000
28C	14H	3	2.4333333	0.11547005
28C	15H	3	2.4333333	0.11547005
28C	16H	3	3.0000000	0.00000000
28C	17H	3	3.1666667	0.28867513
28C	18H	3	3.3000000	0.00000000
28C	19H	3	3.3333333	0.28867513
28C	20H	3	3.1666667	0.28867513
28C	21H	3	3.0000000	0.00000000
28C	22H	3	3.1666667	0.28867513
28C	23H	3	3.1666667	0.28867513
28C	24H	3	3.3333333	0.28867513

28C	25H	3	3.1666667	0.28867513
28C	26H	3	3.0000000	0.00000000
28C	27H	3	4.1666667	0.28867513
28C	28H	3	3.5000000	0.50000000
28C	29H	3	3.9666667	0.05773503
28C	30H	3	4.0666667	0.05773503
28C	31H	3	3.9666667	0.45092498
28C	32H	3	4.4666667	0.45092498
28C	33H	3	4.3666667	0.23094011
28C	34H	3	4.4333333	0.11547005
28C	35H	3	4.6666667	0.28867513
28C	36H	3	4.4000000	0.17320508
28C	37H	3	4.6333333	0.32145503
28C	38H	3	4.6666667	0.28867513
28C	39H	3	4.6666667	0.28867513
28C	40H	3	4.8333333	0.28867513
28C	41H	3	5.0000000	0.00000000
28C	42H	3	5.0000000	0.00000000
28C	45H	3	5.1666667	0.28867513
28C	46H	3	5.3333333	0.28867513
28C	47H	3	5.3333333	0.28867513
28C	48H	3	6.0000000	0.00000000
28C	49H	3	6.1666667	0.28867513
28C	52H	3	6.1666667	0.28867513
28C	53H	3	7.0000000	0.00000000
28C	54H	3	6.9666667	0.05773503
28C	55H	3	6.8333333	0.57735027
28C	56H	3	7.5000000	0.50000000
28C	59H	3	8.1666667	0.28867513
28C	63H	3	11.0000000	1.00000000
32C	10H	3	1.4666667	0.11547005
32C	11H	3	1.5000000	0.10000000

32C	14H	3	2.3666667	0.11547005
32C	15H	3	2.4000000	0.10000000

The ANOVA Procedure

Level of	Level of		----------larvae----------	
Temp	Hour	N	Mean	Std Dev
32C	16H	3	3.0000000	0.00000000
32C	17H	3	3.2666667	0.25166115
32C	18H	3	3.2000000	0.17320508
32C	19H	3	3.2666667	0.25166115
32C	20H	3	3.3333333	0.28867513
32C	21H	3	3.3333333	0.28867513
32C	22H	3	3.1666667	0.28867513
32C	23H	3	3.3333333	0.28867513
32C	24H	3	3.1666667	0.28867513
32C	25H	3	3.3333333	0.28867513
32C	26H	3	3.1666667	0.28867513
32C	27H	3	4.0666667	0.11547005
32C	28H	3	4.0333333	0.05773503
32C	29H	3	3.9666667	0.05773503
32C	30H	3	4.1333333	0.05773503
32C	31H	3	4.2000000	0.20000000
32C	32H	3	4.5000000	0.00000000
32C	33H	3	4.4000000	0.17320508
32C	34H	3	4.5000000	0.10000000
32C	35H	3	4.8000000	0.26457513
32C	36H	3	4.5666667	0.11547005
32C	37H	3	4.7333333	0.25166115
32C	38H	3	5.1666667	0.28867513
32C	39H	3	4.8000000	0.26457513
32C	40H	3	4.9666667	0.15275252
32C	41H	3	5.0333333	0.05773503
32C	42H	3	5.2333333	0.25166115

32C	45H	3	5.3333333	0.28867513
32C	46H	3	5.3333333	0.28867513
32C	47H	3	5.8333333	0.28867513
32C	48H	3	6.0000000	0.00000000
32C	49H	3	6.1666667	0.28867513
32C	52H	3	6.3333333	0.28867513
32C	53H	3	6.9000000	0.10000000
32C	54H	3	7.0333333	0.05773503
32C	55H	3	7.3333333	0.28867513
32C	56H	3	8.0000000	0.50000000
32C	59H	3	10.5000000	0.50000000
32C	63H	3	11.6666667	0.57735027

วิเคราะห์จำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญเติบโต

The SAS System 15:03 Tuesday, April 18, 2000 21

Obs	Temp	Stage	rep	hour
1	32C	eggs	1	9
2	32C	eggs	2	9
3	32C	eggs	3	9
4	32C	1ins	1	5
5	32C	1ins	2	5
6	32C	1ins	3	5
7	32C	2ins	1	24
8	32C	2ins	2	24
9	32C	2ins	3	24
10	32C	3ins	1	23
11	32C	3ins	2	23
12	32C	3ins	3	23
13	32C	prep	1	22
14	32C	prep	2	22
15	32C	prep	3	22
16	32C	pupa	1	72
17	32C	pupa	2	72

18	32C	pupa	3	72
19	28C	eggs	1	9
20	28C	eggs	2	9
21	28C	eggs	3	9
22	28C	1ins	1	6
23	28C	1ins	2	6
24	28C	1ins	3	6

Obs	Temp	Stage	rep	hour
25	28C	2ins	1	40
26	28C	2ins	2	40
27	28C	2ins	3	40
28	28C	3ins	1	44
29	28C	3ins	2	44
30	28C	3ins	3	44
31	28C	prep	1	16
32	28C	prep	2	16
33	28C	prep	3	16
34	28C	pupa	1	86
35	28C	pupa	2	86
36	28C	pupa	3	86

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
Temp	2	28C 32C
Stage	6	1ins 2ins 3ins eggs prep pupa

Number of observations 36

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: hour

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	11	22868.00000	2078.90909	Infty	<.0001
Error	24	0.00000	0.00000		
Corrected Total	35	22868.00000			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	hour Mean
1.000000	0	0	29.66667

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
Temp	1	529.00000	529.00000	Infty	<.0001
Stage	5	21473.00000	4294.60000	Infty	<.0001
Temp*Stage	5	866.00000	173.20000	Infty	<.0001

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for hour

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	24
Error Mean Square	0
Number of Means	2
Critical Range	0

Means with the same letter are not significantly different

Duncan Grouping	Mean	N	Temp
A	33.50	18	28C
B	25.83	18	32C

The ANOVA Procedure

Duncan's Multiple Range Test for hour

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05				
Error Degrees of Freedom	24				
Error Mean Square	0				
Number of Means	2	3	4	5	6
Critical Range	0	0	0	0	0

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	Stage
A	79.00	6	pupa
B	33.50	6	3ins
C	32.00	6	2ins

D	19.00	6	prep
E	9.00	6	eggs
F	5.50	6	1ins

The ANOVA Procedure

Level of Temp	Level of Stage	N	----------hour---------- Mean	Std Dev
28C	1ins	3	6.0000000	0
28C	2ins	3	40.0000000	0
28C	3ins	3	44.0000000	0
28C	eggs	3	9.0000000	0
28C	prep	3	16.0000000	0
28C	pupa	3	86.0000000	0
32C	1ins	3	5.0000000	0
32C	2ins	3	24.0000000	0
32C	3ins	3	23.0000000	0
32C	eggs	3	9.0000000	0
32C	prep	3	22.0000000	0
32C	pupa	3	72.0000000	0

ตารางที่ 1 การเก็บตัวอย่างไข่ และตัวหนอนระยะที่ 1-3 ในช่วงแรก ช่วงกลางและช่วงปลายของการเจริญของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* และ *C .rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C

Species	Stages	Time period (h)		
C. megacephala	Eggs	0	3	9
	1st instars	0	6	13-14
	2nd instars	0	5-9	17
	3rd instars	0	13-14	32-35
C. rufifacies	Eggs	0	3	10
	1st instars	0	3	10
	2nd instars	0	15-18	23-24
	3rd instars	0-1	13-14	31-46

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนไข่ต่อหนึ่งกองและร้อยละของการฟักเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C

Rep.	No. of eggs per cluster	% hatch
1	235 eggs	100%
2	235 eggs	97.23%
1	182 eggs	99.45%
$\overline{X} \pm S.D.$	197 ± 33 eggs	98.89 ± 1.47%

ตารางที่ 3 แสดงร้อยละของการฟักเป็นตัวเต็มวัยและอัตราการเกิดของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมียของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C

Rep.	% Emerges	% Adult eclosion		female:male
		female	male	
1	93.55%	51.73%	48.23%	1:1
2	94.44%	29.41%	70.59%	1:1
3	57.41%	38.72%	61.29%	2:3
$\overline{X} \pm S.D.$	81.08 ± 21.13%	39.95 ± 11.21%	60.04 ± 11.23%	2:3

Time (h)	Length of eggs (µm)								
	1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
	1	2	2	1	2	3	1	2	3
0	1625.0	1675.0	1625.0	1650.0	1650.0	1625.0	1575.0	1575.0	1625.0
3	1625.0	1625.0	1625.0	1600.0	1637.5	1625.0	1625.0	1650.0	1600.0
9	1600.0	1600.0	1575.0	1700.0	1625.0	1675.0	1625.0	1675.0	1575.0

Time (h)	Length of eggs (µm)								
	1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
	1	2	2	1	2	3	1	2	3
0	375.0	375.0	375.0	450.0	425.0	400.0	450.0	475.0	500.0
3	375.0	350.0	375.0	412.5	500.0	450.0	450.0	500.0	350.0
9	375.0	375.0	350.0	500.0	450.0	437.5	500.0	450.0	450.0

Time (h)	Length of eggs (µm)			$\overline{X} \pm S.D.$	Range
	3	2	3		
0	1641.7 ± 28.9	1641.7 ± 14.4	1591.7 ± 28.9	1625.0 ± 28.9	1591.7 ± 28.9 - 1641.7 ± 28.9
3	1625.0 ± 0.0	1620.8 ± 19.1	1625.0 ± 25.0	1623.6 ± 2.4	1620.8 ± 19.1 - 1625.0 ± 25.0
9	1591.7 ± 14.4	1666.7 ± 38.2	1625.0 ± 50.0	1627.8 ± 37.6	1591.7 ± 14.4 - 1666.7 ± 38.2

Time (h)	Weight of eggs (µm)			$\overline{X} \pm S.D.$	Range
	1	2	3		
0	375.0 ± 0.0	425.0 ± 25.0	475.0 ± 25.0	425.0 ± 50.0	375.0 ± 0.0 - 475.0 ± 25.0
3	366.7 ± 14.4	454.2 ± 43.9	433.3 ± 76.4	418.1 ± 45.7	366.7 ± 14.4 - 454.2 ± 43.9
9	366.7 ± 14.4	462.5 ± 33.1	466.7 ± 28.9	431.9 ± 56.6	366.7 ± 14.4 - 466.7 ± 28.9

ตารางที่ 6 แสดงขนาดความยาว (mm) แต่ละระยะของตัวหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ตั้งแต่ไข่ฟักจนถึง post-feeding ณ อุณหภูมิคงที่ 27±2 °C

Stages	Time period (h)	Time (h) oviposition to post-feeding	Length of larvae (mm)								
			1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3
1st Instars	0	10	2.0	2.0	2.0	1.6	2.0	2.0	1.9	1.9	1.9
	6	16	3.3	3.4	3.4	2.2	2.4	2.6	3.5	3.6	3.0
	13-14	23-24	4.1	3.8	4.0	4.0	4.0	3.9	4.0	4.0	4.4
2nd instars	0	25-26	4.5	4.2	4.0	4.5	4.0	4.6	4.0	5.0	4.5
	5-9	30-35	7.9	7.4	7.8	7.0	6.9	7.2	7.0	7.2	7.3
	17	42	9.0	8.9	8.0	7.7	7.0	11.0	9.4	9.8	8.5
3rd instars	0	44	10.0	9.0	10.0	10.5	10.6	9.8	9.0	8.2	9.0
	13-14	57-58	13.5	13.0	13.0	12.9	13.9	13.0	12.9	13.0	13.0
post-feeding	32-35	76-79	15.0	15.0	15.0	13.2	14.1	14.0	15.5	14.6	14.0

Stages	Time period (h)	Time (h) oviposition to post-feeding	Length of larvae (mm)			$\overline{X} \pm S.D.$
			1	2	3	
1st instars	0	10	2.0 ± 0.0	1.9 ± 0.2	1.9 ± 0.0	1.9 ± 0.1
	6	16	3.4 ± 0.1	2.4 ± 0.2	3.4 ± 0.3	3.0 ± 0.6
	13-14	23-24	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.1
2nd instars	0	25-26	4.0 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.7 ± 0.3	4.0 ± 0.1
	5-9	30-35	7.7 ± 0.3	7.0 ± 0.2	7.2 ± 0.2	7.3 ± 0.4
	17	42	8.6 ± 0.6	8.6 ± 2.1	9.2 ± 0.7	8.8 ± 0.4
3rd instars	0	44	9.7 ± 0.6	10.3 ± 0.4	8.7 ± 0.5	9.6 ± 0.8
	13-14	57-58	13.2 ± 0.3	13.3 ± 0.6	13.0 ± 0.1	13.1 ± 0.2
post-feeding	32-35	76-79	15.0 ± 0.0	13.8 ± 0.5	14.7 ± 0.8	14.5 ± 0.6

ตารางที่ 7 แสดงข้อมูลน้ำหนัก(g) ของดักแด้แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* แต่ละตัวเมื่ออายุครบ 1วัน 2 วัน และ3 วัน ที่อุณหภูมิ 27±2°C

No.	weight of *C.megacephala* pupae (g)								
	1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
	1 day	2 days	3 days	1 day	2 days	3 days	1 day	2 days	3 days
1	0.0453	0.0447	0.0446	0.0502	0.0501	0.0499	0.0444	0.0441	0.0437
1	0.0394	0.0393	0.0393	0.0483	0.0485	0.0479	0.0386	0.0382	0.0378
3	0.0398	0.0396	0.0393	0.0521	0.0521	0.0517	0.0423	0.0420	0.0415
4	0.0503	0.0501	0.0493	0.0549	0.0539	0.0535	0.0462	0.0459	0.0454
5	0.0498	0.0497	0.0492	0.0468	0.0467	0.0463	0.0461	0.0443	0.0432
6	0.0490	0.0425	0.0418	0.0512	0.0506	0.0503	0.0470	0.0468	0.0465
7	0.0402	0.0402	0.0397	0.0523	0.0521	0.0517	0.0432	0.0431	0.0423
8	0.0434	0.0430	0.0428	0.0481	0.0474	0.0471	0.0471	0.0466	0.0465
9	0.0402	0.0398	0.0349	0.0479	0.0485	0.0478	0.0444	0.0440	0.0435
10	0.0416	0.0406	0.0398	0.0479	0.0465	0.0461	0.0465	0.0466	0.0456
Average	0.0453	0.0430	0.0421	0.0500	0.0496	0.0492	0.0446	0.0440	0.0436
S.D.	0.0040	0.0040	0.0046	0.0026	0.0025	0.0026	0.0027	0.0025	0.0026

ตารางที่ 8 แสดงแสดงจำนวนไข่ต่อหนึ่งกองและร้อยละของการฟักเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ของ ไข่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 °C

Rep.	No. of eggs per cluster	% hatch
1	312 eggs	100%
1	312 eggs	97.50%
3	312 eggs	96.40%
$\overline{X} \pm S.D.$	196 ± 102 eggs	97.67 ± 1.84 %

ตารางที่ 9 แสดงข้อมูลระยะเวลาการเจริญเติบโต เวลาต่ำสุดและเวลาสูงสุดที่แมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ใช้ในการเจริญเติบโตได้ตั้งแต่ระยะไข่จนกระทั่งตัวเต็มวัย ที่ 27±2°C

stages	Time (h)	Rep.			Average (h)
		1	2	3	
Eggs	Mean	11.48	11.03	8.38	10.17
	S.D.	0.48	0.06	0.09	0.12
	Min	12.33	11.00	8.15	10.29
	Max	17.38	11.50	9.58	10.29
1st instars	Mean	19.08	18.47	20.14	19.13
	S.D.	0.25	0.53	1.15	0.38
	Min	18.39	17.39	18.42	18.04
	Max	19.39	19.39	21.12	19.58
2nd instars	Mean	25.51	25.51	21.12	26.02
	S.D.	0.00	0.48	1.17	0.38
	Min	25.51	24.52	25.43	25.09
	Max	25.51	26.52	28.48	26.02
3rd instars + Prepupa	Mean	39.37	42.08	47.56	43.00
	S.D.	0.28	9.32	1.17	0.38
	Min	39.25	30.50	47.01	38.55
	Max	40.27	54.45	51.01	38.55
2nd instars	Mean	119.38	121.42	113.23	118.00
	S.D.	7.23	2.25	2.00	3.49
	Min	112.37	119.12	112.35	114.36
	Max	134.22	128.32	120.21	127.35

ตารางที่ 10 แสดงขนาดความยาวและความกว้าง(µm)ของไข่แมลงวันหัวเขียว*C.rufifacies* ชั่วโมงที่0 3และ 10 ที่ 27±2 ºC

Time (h)	Length of eggs (µm)								
	1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	1487.5	1450.0	1400.0	1537.5	1537.5	-	1375.0	1437.5	1475.0
3	1362.5	1325.0	1475.0	1470.0	1470.0	1475.0	1450.0	1450.0	1465.0
10	1375.0	1350.0	1375.0	1457.5	1457.5	1487.5	1425.0	1425.0	-

Time (h)	width of eggs (µm)								
	1st rep.			2nd rep.			3rd rep.		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	325.0	325.0	312.5	425.0	400.0	-	362.5	350.0	350.0
3	300.0	300.0	300.0	337.5	325.0	325.0	325.0	350.0	325.0
10	312.5	300.0	337.5	312.5	337.5	325.0	325.0	350.0	-

Time (h)	Length of eggs (µm)			$\overline{X} \pm S.D.$	Range
	1	2	3		
0	1445.8 ± 43.9	1537.5 ± 0.0	1429.2 ± 50.5	1470.8 ± 58.3	1429.2 ± 50.5 - 1537.5 ± 0.0
3	1387.5 ± 78.1	1471.7 ± 2.9	1455.0 ± 8.7	1438.1 ± 44.6	1387.5 ± 78.1- 1471.7 ± 2.9
10	1366.7 ± 14.4	1467.5 ± 17.3	1425.0 ± 0.0	1419.0 ± 50.6	1366.7 ± 14.4 - 1467.5 ± 17.3

Time (h)	Weight of eggs (µm)			$\overline{X} \pm S.D.$	Range
	1	2	3		
0	320.8 ± 7.2	412.5 ± 17.7	354.2 ± 7.2	362.5 ± 46.4	320.8 ± 7.2 - 412.5 ± 17.7
3	300.0 ± 0.0	329.2 ± 7.2	333.3 ± 14.4	320.8 ± 18.2	300.0 ± 0.0 - 333.3 ± 14.4
10	316.7 ± 19.1	325.0 ± 12.5	337.5 ± 17.7	326.4 ±10.5	316.7 ± 19.1 - 337.5 ± 17.7

ตารางที่ 11 แสดงร้อยละของการฟักของตัวเต็มวัยและอัตราการเกิดของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย ของแมลงวันหัวเขียว *C. rufifacies* ที่อุณหภูมิ 27 ± 2 ºC

Rep.	% Emerges	% Adult eclosion		female:male
		female	male	
1	80.00%	14.29%	85.71%	1:6
2	71.43%	50.00%	50.00%	1:6
3	65.38%	88.24%	7.69%	11:1
$\overline{X} \pm S.D.$	72.27 ± 7.3%	50.84 ±37.0%	47.8 ±39.1%	1:1