



การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงสร้างกระดูกเซฟา
โลฟาริงซ์ โดยวิธีจีไอเมเทริกส์ มอร์โฟเมตริกส์



โดย
นางสาวนภาพร เฉลิมชาติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงสร้าง
กระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์



โดย
นางสาวนภาพร เณลิมขวลิต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชานิติวิทยาศาสตร์ แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

DETERMINATION OF *CHRYSOMYA MEGACEPHALA* LARVAL STAGES FROM
CEPHALOPHARYNGEAL SKELETON BY GEOMETRIC MORPHOMETRIC METHOD



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for Master of Science (FORENSIC SCIENCE)
Graduate School, Silpakorn University
Academic Year 2019
Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงสร้างกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์

โดย นวพร เฉลิมขวลิต

สาขาวิชา นิติวิทยาศาสตร์ แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทมหาบัณฑิต

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก ดร. พงษ์พิชญ์ ภัคดีณรงค์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก ดร. นพรุจ คักดีศิริ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก ดร. พงษ์พิชญ์ ภัคดีณรงค์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จันทรี ระเบียบเลิศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ณัฐ มาลัยนวล)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงสุภัทรา เตียวเจริญ)

58312307 : นิติวิทยาศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : นิติเวชกีฏวิทยา, หนอนแมลงวันหัวเขียว, จีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์, โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์

นางสาว นวพร เฉลิมขวลิต: การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงสร้างกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก ดร. พงษ์พิชญ ภัคดิณรงค์

แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) เป็นสปีชีส์ที่พบบริเวณศพเป็นกลุ่มแรกในประเทศไทย ดังนั้นรูปแบบพัฒนาการและการเจริญของหนอนแมลงวันเกี่ยวข้องกับการประเมินระยะการตายช่วงสั้นๆ วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ เป็นเครื่องมือสมัยใหม่ที่ใช้อธิบายความผันแปรของรูปร่าง มีหลายรายงานที่ใช้วิธีนี้ในการตรวจทั้งตัวเต็มวัยและตัวอ่อน วัตถุประสงค์ของการศึกษาเพื่อตรวจระบุอายุตัวอ่อนหนอน จากโครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ทั้งหมดเปรียบเทียบกับส่วนขากรรไกรล่าง และ แผ่นยึดคอหอย โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ ผลการศึกษาระบุที่อุณหภูมิ $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 65% การเจริญเติบโตของหนอนทั้งหมดวันที่ 1 ถึง วันที่ 4 แปรตามน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 1 ถึง วันที่ 4 โดยความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 3 ไม่แตกต่างกับ หนอนวันที่ 4 สำหรับการเตรียมความใส (clearing) ของ cephalopharyngeal skeleton ใช้น้ำยา 3% โซเดียมไฮคาร์บอเนต บ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ่ายรูปภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและกำหนดจุดแลนด์มาร์คโดยการใช้โปรแกรม XYOM การวิเคราะห์ Centroid size แสดงรูปร่างของ cephalopharyngeal skeleton, mandible หรือ pharyngeal sclerite เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในหนอนทุกกลุ่ม Discriminant Analysis (DA) แสดงรูปร่างของ cephalopharyngeal skeleton เกี่ยวข้องกับการแยกแต่ละวันออกจากกัน ในทางตรงกันข้าม รูปร่างของ pharyngeal sclerite เกี่ยวข้องกับการแยกหนอนแต่ละวัน อย่างไรก็ตาม รูปร่างของ mandible สามารถแยกหนอนวันที่ 1 ได้เพียงวันเดียว การวิเคราะห์ Mahalanobis distances แสดง cephalopharyngeal skeleton, mandible หรือ pharyngeal sclerite แยกหนอนแมลงวันหัวเขียวแต่ละวันออกจากกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} < 0.05$) ความแตกต่างระหว่างวัน เป็นประโยชน์สำหรับการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. Megacephala* สรุปผลการศึกษาวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์สามารถตรวจระบุการเจริญเติบโตของหนอนโดยใช้ cephalopharyngeal skeleton ซึ่งเป็นประโยชน์ในนิติเวชกีฏวิทยา

58312307 : Major (FORENSIC SCIENCE)

Keyword : Forensic entomology, *Chrysomya megacephala*, Geometric morphometric, Cephalopharyngeal skeleton

MISS NAVAPORN CHALERMCHAVALIT : DETERMINATION OF *CHRYSOMYA MEGACEPHALA* LARVAL STAGES FROM CEPHALOPHARYNGEAL SKELETON BY GEOMETRIC MORPHOMETRIC METHOD THESIS ADVISOR : ASSOCIATE PROFESSOR POLICE COLONEL. PONGPITSANU PAKDEENARONG

Chrysomya megacephala (Fabricius, 1794) is the most abundant and predominant species which arrives and colonizes a cadaver first in most parts of Thailand. Therefore, its growth and development patterns have great implications in the estimation of minimum post mortem interval (mPMI). Geometric morphometrics is a recent tool that describes the shape variation. Several reports used this technique evaluated both mature and immature. The goal of this study was to identify maggots/larvae from total cephalopharyngeal skeleton compared with mandible and pharyngeal sclerite by geometric morphometrics. The results revealed of *Chrysomya megacephala* at $29 \pm 1^\circ\text{C}$, relative humidity. Growth of larvae in day 1 to day 4 depend on average weights and lengths of day 1 to day 4, thereby average lengths of day 3 was different from day 4. For clearing preparation of cephalopharyngeal skeleton, 3% sodium bicarbonate for 18-24 h, photographed under light microscope and landmarked using XYOM program. Analysis of Centroid size demonstrated that shape of cephalopharyngeal skeleton, mandible or pharyngeal sclerite was influenced by growth. Discriminant Analysis (DA) showed that cephalopharyngeal skeleton shape separated among day, but pharyngeal sclerite shape did not. However, mandible shape separated only day 1. Analysis of Mahalanobis distances showed cephalopharyngeal skeleton, mandible or pharyngeal sclerite significantly separated each days ($p\text{-value} < 0.05$). Geometric morphometric was found to be practical to visualize larval growth based on cephalopharyngeal skeletons which can be useful in forensic entomology.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากรองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอกพงษ์พิชญ ภัคดีณรงค์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จันทร์ดี ระเบียบเลิศ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐ มาลัยนวล ซึ่งเป็นที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของอาจารย์ที่คอยให้ความช่วยเหลือทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ ผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ พันตำรวจเอก ดร.นพรุจ ศักดิ์ศิริ ประธานกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สุภัทรา เดียวเจริญ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่สละเวลามาเป็นคณะกรรมการในการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ คณาจารย์คณะนิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร คณาจารย์และบุคลากร ภาควิชาประวัติศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล คณาจารย์คณะนิติวิทยาศาสตร์ โรงเรียนนายร้อยตำรวจสามพราน ที่ได้ให้ความรู้ ความอนุเคราะห์ในการทำวิทยานิพนธ์ อีกทั้งยังให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยเรื่องนี้ตลอดมา

ขอแสดงความขอบคุณครอบครัวอันเป็นที่รักซึ่งเปิดโอกาสให้ได้รับการศึกษาเล่าเรียนตลอดจนคอยช่วยเหลือและให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษาขอบคุณพี่และเพื่อนๆ ที่คอยสนับสนุนช่วยเหลือและให้คำปรึกษามาโดยตลอด

ผู้วิจัยขอกล่าวคำขอบคุณให้แก่เหล่าคณาจารย์ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จากบทกวีที่ว่า ผู้ใดเคยเอื้อเฟื้อและเกื้อหนุน จะแทนคุณจนกว่าจะอาสัญ แม้นไม่มีสิ่งใดจะให้ป็นก็จะหมั่นสรรเสริญเจริญคุณ

ท้ายที่สุดนี้ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง สำหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิดเพียงผู้เดียว และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

นภาพร เฉลิมขวลิต

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญรูปภาพ.....	ญ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
1.3 สมมติฐานของการวิจัย.....	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย.....	3
1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
บทที่ 2	6
แนวคิด ทฤษฎี และวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1 นิติเวชกีฏวิทยา (Forensic entomology).....	6
2.2 การประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Post Mortem Interval).....	6
2.3 กระบวนการสลายตัวและความสัมพันธ์ของแมลงตามการย่อยสลายของร่างกาย (Decomposition processes and relationships of insects to decomposed body)	15
2.4 แมลงวันหัวเขียว (Blow fly).....	16

2.5 วิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว (Method for determine blow fly larvae ages).....	20
2.6 วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ (Geometric morphometric)	22
2.7 กรอบแนวคิดงานวิจัย.....	29
บทที่ 3	30
วิธีดำเนินการวิจัย	30
3.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย	30
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย.....	31
3.3 ประชากรศึกษา.....	31
3.4 เก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัย.....	31
บทที่ 4	36
ผลการศึกษา	36
4.1 การเจริญเติบโต (Growth) ของแมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya megacephala</i>	36
4.2 โครงสร้าง Cephalopharyngeal skeleton จากส่วนปากของหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา.....	37
4.3 การจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya megacephala</i> ในห้องปฏิบัติการ ด้วยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ โดยการใช้ cephalopharyngeal skeleton.....	39
บทที่ 5	46
สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	46
5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย.....	46
5.2 ข้อเสนอแนะ	49
รายการอ้างอิง	52
ภาคผนวก.....	57
ประวัติผู้เขียน.....	78

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การประมาณระยะเวลาหลังการตายสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของร่างกาย ปรับปรุงจาก วิสุทธิ์ ชะริโต (2552).....	8
ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการใช้งานโปรแกรม TPS, CLIC package และ XYOM.....	26
ตารางที่ 3 การเจริญเติบโต (Growth) ของหนอนแมลงวันหัวเขียว <i>Chrysomya megacephala</i> . 37	
ตารางที่ 4 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	40
ตารางที่ 5 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ cephalopharyngeal skeleton ระหว่างวันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM.....	41
ตารางที่ 6 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Mandible จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM	42
ตารางที่ 7 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ Mandible ระหว่างวันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM.....	43
ตารางที่ 8 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Pharyngeal sclerite จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	44
ตารางที่ 9 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ Pharyngeal sclerite ระหว่าง วันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM.....	45
ตารางที่ 10 วิเคราะห์รูปร่าง Mandible, Pharyngeal sclerite, cephalopharyngeal skeleton ในหนอนระหว่างวัน โดยการใช้ Mahalanobis ด้วยโปรแกรม XYOM.....	45
ตารางที่ 11 การจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว <i>C. megacephala</i> จากวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ	49
ตารางที่ 12 เปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton จากตัวอ่อนหนอน แมลงวันหัวเขียววันที่ 3 วงศ์ Calliphoridae	50
ตารางที่ 13 เปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton, Mandible และ Pharyngeal sclerite	51

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การตกลงสู่ที่ต่ำของเลือดบริเวณหลัง	10
ภาพที่ 2 การตรวจลิวิดิตี้หลังการตาย (Postmortem lividity)	10
ภาพที่ 3 วงชีวิตการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ของ แมลงวันหัวเขียว <i>C. megacephala</i>	17
ภาพที่ 4 สัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว <i>C. megacephala</i>	18
ภาพที่ 5 ภาพจากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล แสดง ตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว <i>C. megacephala</i>	19
ภาพที่ 6 ความยาวลำตัว	20
ภาพที่ 7 หายใจส่วนท้ายของแมลงวันหัวเขียว <i>Hemipyrellia ligurriens</i>	20
ภาพที่ 8 โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton)	21
ภาพที่ 9 โปรแกรม Tps series.....	25
ภาพที่ 10 โปรแกรม C L I C package.....	26
ภาพที่ 11 โปรแกรม XYOM	27
ภาพที่ 12 Centroid size แสดงความผันแปรของปีกระหว่างประชากรยุงก้นปล่อง.....	28
ภาพที่ 13 ขอบเขตของวัน (Clusters' boundaries).....	29
ภาพที่ 14 การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ระยะตัวเต็มวัย ในกรง ซึ่งบรรจุงานแก้วใส่หัวปลาทุสด	32
ภาพที่ 15 เก็บหัวปลาซึ่งบรรจุไข่จำนวน 300-500 ฟอง ออกจากกรง.....	32
ภาพที่ 16 เก็บหนอนแมลงวันโดยการใช้ปากคีบ	33
ภาพที่ 17 ต้มหนอนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที.....	33
ภาพที่ 18 วัดขนาดความยาวของหนอนแต่ละตัวโดยการใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ และชั่งน้ำหนัก.....	33
ภาพที่ 19 แช่หนอนในสารละลายโซเดียมไฮคาร์บอเนต.....	34
ภาพที่ 20 ดึง cephalopharyngeal skeleton โดยการใช้ที่คีบปลายแหลมวาง cephalopharyngeal skeleton ลงบนสไลด์แก้ว หยดด้วยน้ำยา permount.....	34

ภาพที่ 21 ถ่ายรูป cephalopharyngeal skeleton ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงติดกับกล้อง ดิจิตอลที่กำลังขยาย 40X เท่า จำนวน 400 ภาพ.....	34
ภาพที่ 22 อัปโหลดภาพเข้าสู่โปรแกรม XYOM (https://xyom.io/me).....	35
ภาพที่ 23 Cephalopharyngeal skeleton ของหนอนวันที่ 3	35
ภาพที่ 24 โครงสร้างของ Cephalopharyngeal skeleton จากหนอนแมลงวันหัวเขียว.....	38
ภาพที่ 25 จุดแลนด์มาร์ค ของ Cephalopharyngeal skeleton จากหนอนทุกวัน	39
ภาพที่ 26 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	40
ภาพที่ 27 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ cephalopharyngeal skeleton ระหว่างวันของหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM	40
ภาพที่ 28 จุดแลนด์มาร์ค ของ Mandible จากหนอนทุกระยะ สเกล 1 bar = ความยาว 1 mm ..	41
ภาพที่ 29 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Mandible จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	42
ภาพที่ 30 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ Mandible ระหว่างวันของหนอน <i>C.</i> <i>megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	42
ภาพที่ 31 จุดแลนด์มาร์คของ Pharyngeal sclerite จากหนอนทุกระยะสเกล 1 bar = ความยาว 1mm	43
ภาพที่ 32 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Pharyngeal sclerite จากหนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	44
ภาพที่ 33 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ Pharyngeal sclerite ระหว่างวันของ หนอน <i>C. megacephala</i> ด้วยโปรแกรม XYOM.....	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นิติเวชกีฏวิทยา (Forensic entomology) เป็นวิชาการใช้ ตัวอย่างจากตัวเต็มวัย (adult) และหนอน (larva) ของแมลงวันหัวเขียว (Blow fly) ที่พบบนศพผู้เสียชีวิตเป็นวัตถุพยานในการประมาณระยะเวลาหลังการตายช่วงเวลาที่ต่ำสุด (minimum postmortem interval, mPMI) อายุหนอนแมลงวันเป็นพารามิเตอร์การเจริญเติบโต (growth parameter) โดยวัดจากความยาวลำตัวหนอนแมลงวัน (larval body length) เนื่องจากความยาวลำตัวหนอนแมลงวันเป็นโมเดลที่มีความจำเพาะต่อสปีชีส์ (Sharma, Garg, & Gaur, 2015) อย่างไรก็ตามมีข้อเสียเปรียบด้านการใช้ความยาวลำตัวของหนอนโดยตรงเนื่องจากการจัดการตัวอย่าง (specimen handling) นำไปสู่การประเมินระยะเวลาในการตายช่วงต่ำสุด (mPMI) ขาดความแม่นยำ มีรายงานก่อนหน้านี้ระบุ การใช้โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) เป็นพารามิเตอร์ทางเลือกใหม่ในการประเมินการเจริญเติบโตจากความยาวลำตัวหนอนแมลงวัน เนื่องจากการวัดเซฟาโลฟาริงซ์มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความยาวลำตัวหนอนสอดคล้องกับการเจริญเติบโต (Rabbani & Zuha, 2017), (Eliza & Zuha, 2018), (Sim & Zuha, 2019) โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ในหนอนแมลงวันหัวเขียววงศ์ Calliphoridae เป็นส่วนปาก (mouthpart) ที่เว้าเข้าไปในส่วนหัวของตัวหนอน โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ประกอบด้วย pharyngeal sclerites และ mandibles ใช้ในการกินอาหาร มีรายงานการใช้โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ในการจำแนกสปีชีส์หนอนแมลงวันหัวเขียว *Hemipyrellia ligurriens* ที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์ด้วยวิธีสัณฐานวิทยา (Morphology) วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายแต่จำเป็นต้องใช้หนอนจำนวนมากในแต่ละระยะและผู้เชี่ยวชาญในการจำแนก (Bunchu et al., 2012)

มีรายงานการใช้ วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ (Geometric morphometrics, GM) ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์พหุตัวแปร (Multivariate Analysis) ได้มีการประยุกต์ใช้ด้านกีฏวิทยาการแพทย์ครั้งแรกโดย (J.-P. Dujardin, 2008) เพื่อแยกแมลงในวัน cryptic species ที่มีรูปร่างทางสัณฐานวิทยาและอนุโมเลกุลเหมือนกันออกจากกันโดยอาศัยข้อมูลความผันแปรทางสัณฐานวิทยา

(morphometric variation) เนื่องจากวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ เป็นวิธีที่ง่าย ราคาถูก และรวดเร็วกว่าวิธีทางอนุโมเลกุล

มีหลายรายงานระบุการใช้วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ จำแนกสปีชีส์แมลง (Flies) และ sexual dimorphism ของระยะตัวเต็มวัย (mature) โดยอาศัยรูปร่างทางสัณฐานวิทยา (morphological shape) ได้แก่ ขนาดและรูปร่างปีก (wing size and shape) ในแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819), *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794) และ *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830) วงศ์ Caliphoridae (Nuñez-Rodríguez & Liria, 2017), และแมลงวันเนยแข็ง (cheese fly) *Piophilidae casei* (Linnaeus, 1758) วงศ์ Piophilidae (José Antonio Nuñez & Liria, 2017)

วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ จำแนกสปีชีส์ของหนอนแมลงระยะก่อนตัวเต็มวัย (immature) เช่น การจำแนกหนอนแมลงผลไม้ (fruit fly) *Anastrepha fraterculus* (Diptera, Tephritidae) ระยะที่ 3 ออกจาก cryptic species complex ที่มีทั้งหมด 5 ชนิด (morphotypes) (Canal, Hernández-Ortiz, Salas, & Selivon, 2015), การจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. albiceps*, *C. megacephala* และ *Lucilia cuprina* ระยะที่ 3 (Jose A Nuñez & Liria, 2016) และการจำแนกระยะต่างๆของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* (Sim & Zuha, 2019)

วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ เป็นวิธีการทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (morphological transformation) และความแตกต่างของลักษณะการวางตัวหรือการเชื่อมโยงกัน (morpho-spatial) ของรูปร่างและขนาดที่มีความจำเพาะแต่ละสปีชีส์ โดยการใช้พิกัดสถานที่สำคัญ (landmark coordinates) ทำให้เกิดการแบ่งแยกสปีชีส์แม่นยำมากขึ้น (Cooke & Terhune, 2015) นอกเหนือจากการแบ่งแยกสปีชีส์ตามฟีโนไทป์ (phenotype) วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ ครอบคลุม ontogenetic allometry ซึ่งสามารถอธิบายความผันแปรทางสัณฐานวิทยาสอดคล้องกับการเจริญเติบโตโดยตรง ดังนั้นวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ จึงเหมาะในการประยุกต์ใช้ในการอธิบายการเจริญเติบโตของแมลงที่มีความสำคัญทางนิติวิทยาศาสตร์

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยใช้วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ วิเคราะห์การพัฒนาของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* โดยการใช้การเปลี่ยนแปลงรูปร่างโครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง mandible และ pharyngeal sclerite

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาการเจริญเติบโต (Growth) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*
2. จำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* วันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 ด้วยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ โดยการใช้ cephalopharyngeal skeleton
3. เปรียบเทียบรูปร่างของ cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharyngeal sclerite จากหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* แต่ละวันโดยการใช้โปรแกรม XYOM

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

(M. L. Zelditch, Swiderski, & Sheets, 2012) ระบุ รูปร่างโครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton shape) มีความจำเพาะและสัมพันธ์กับ centroid size (รากที่สองของผลรวมระยะห่างระหว่างแต่ละพิกัด (landmark) และ centroid ของ โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ cephalopharyngeal skeleton) ผู้วิจัยตั้งสมมติฐานว่า centroid size มีความแตกต่างกันระหว่างวัน (age group) อย่างมีอิสระ วิเคราะห์ความแตกต่างขนาดและรูปร่างของหนอนแต่ละระยะโดยการใช้ Discriminant Analysis และวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนระหว่างวันโดย Mahalanobis Distances

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษากับหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยการผ่าเอาส่วน cephalopharyngeal skeleton จากหนอนแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้จำนวน 10 รุ่นเพื่อนำไปศึกษาการจำแนกอายุของหนอนด้วยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์

1.5 นิยามศัพท์เฉพาะ

Postmortem interval (PMI) คือ การประมาณระยะเวลาหลังการตายเป็นการหาว่าผู้ตายเสียชีวิตเป็นระยะเวลาานานเท่าใด ซึ่งมีความสำคัญทางกฎหมายทั้งทางแพ่งและอาญา โดยในทางแพ่งจะสามารถช่วยบอกได้ว่าใครเป็นทายาทผู้ที่จะมารับมรดกสืบทอดหรือในกรณีอื่นๆ เช่น กรณีการรับเงินประกันชีวิต ส่วนในทางอาญานอกจากจะช่วยบอกว่าฆาตกรรมเกิดขึ้นเมื่อใดแล้วยังสามารถหาคนที่เป็ผู้ต้องสงสัยหรือค้ดคนที่เป็ผู้ต้องสงสัยออกได้ และอาจช่วยยืนยันข้อห้กกลางและแก้ตัวของผู้ต้องสงสัย

Chrysomya megacephala คือ แมลงวันหัวเขียวชนิดหนึ่งพบได้มากในประเทศไทย ลำตัวมีสีเขียวถึงสีน้ำเงินปนดำ ลำตัวมีลักษณะค่อนข้างกลม ขอบอาศัยตามบริเวณบ้าน กองขยะ รวมทั้งซากเน่าเปื่อย และสิ่งปฏิกูลต่างๆ

Geometric morphometrics คือ วิธีการหรือเครื่องมือที่ถูกใช้ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตด้วยวิธีการเปรียบเทียบเชิงปริมาณโดยใช้หลักและวิธีการทางคณิตศาสตร์ และสถิติการวิเคราะห์ทางจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์สามารถใช้อธิบายและเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มีความคลุมเครือ ใกล้เคียงกัน หรือซับซ้อนได้อย่างชัดเจน แม่นยำ โดยผลของการศึกษาทำให้สามารถอธิบายหรือเปรียบเทียบความแปรผันและความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตได้ทั้งในระดับประชากร (population) ชนิด (species) สกุล (genus) หรือตามลำดับขั้นที่สูงขึ้นไป

Forensic entomology คือ การนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตในไฟลัมอาร์โทโปดา (Phylum Arthropod) ชั้นอินเซคตา (Class insecta) มาประยุกต์ใช้อ้างอิงกระบวนการทางกฎหมาย

Cephalopharyngeal skeleton คือ ส่วนโครงร่างแข็งที่อยู่บริเวณภายในส่วนปาก ซึ่งมีลักษณะจำเพาะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันในหนอนระยะที่ 1 หนอนระยะที่ 2 และ หนอนระยะที่ 3

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์ฟอเมทริกส์ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วกว่าวิธีทางอนุวิทยาในการตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*
2. นำการตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์ฟอเมทริกส์ ไปใช้ในการประเมินระยะเวลาหลังการเสียชีวิต
3. ประยุกต์ใช้วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์ฟอเมทริกส์ ในการจำแนกอายุหนอนของแมลงชนิดอื่นๆ



บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงกระดูก เซฟาโลฟาริงซ์โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ งานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 นิติเวชกีฏวิทยา (Forensic entomology)

รายงานของ(วิสุทธิ์ ชะริโต, 2552) ระบุ นิติเวชกีฏวิทยาหมายถึงการนำความรู้ทางด้านชีววิทยาของแมลงซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตใน ไฟลัมอาร์โทโปดา (Phylum Arthropod) ชั้นอินเซกตา (Class insecta) มาประยุกต์ใช้อ้างอิงกระบวนการทางกฎหมาย โดยสามารถแบ่งเป็นสาขาย่อยได้ดังนี้

(1) Stored product entomology เป็นการนำความรู้เรื่องแมลงไปใช้ในกระบวนการพิจารณาทางกฎหมายในเรื่องเกี่ยวกับอาหารหรือผลิตภัณฑ์ต่างๆเพื่อใช้ในการนำมาบริโภค เช่น หนอนแมลงในผัก และตัวมอดในข้าวสาร เป็นต้น

(2) Structural/urban entomology เป็นการนำความรู้เกี่ยวกับแมลงไปใช้ในกระบวนการพิจารณาทางกฎหมายในส่วนของสิ่งปลูกสร้าง หรืออาคารต่างๆ เช่น การพบปลวกในโครงสร้างอาคาร หรือ การพบแมลงสาบภายในบ้าน เป็นต้น

(3) Medicolegal entomology เป็นการนำความรู้เกี่ยวกับการแพทย์และชีววิทยาของแมลงมาประยุกต์ใช้ในทางกฎหมาย

2.2 การประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Post Mortem Interval)

การประมาณระยะเวลาหลังการตายเป็นการหาว่าผู้ตายเสียชีวิตเป็นระยะเวลาานเท่าใด ซึ่งมีความสำคัญทางกฎหมายทั้งทางแพ่งและอาญา โดยในทางแพ่งจะสามารถช่วยบอกได้ว่าใครเป็นทายาทผู้ที่จะมารับมรดกสืบต่อหรือในกรณีอื่นๆ เช่น กรณีการรับเงินประกันชีวิต ส่วนในทางอาญานอกจากจะช่วยบอกว่าฆาตกรรมเกิดขึ้นเมื่อใดแล้วยังสามารถหาคนที่เป็นผู้ต้องสงสัยหรือคัดคนที่เป็นผู้ต้องสงสัยออกได้ และอาจช่วยยืนยันข้อหากล้างและแก้ตัวของผู้ต้องสงสัย วิธีต่างๆที่แพทย์นิติเวชใช้ในการหาระยะเวลาหลังการตายนั้นล้วนแต่ยังมีข้อจำกัดอยู่อีกมากจึงทำให้เกิดความไม่แม่นยำ ถ้าสภาพร่างกายขณะตายเหมือนกันการเปลี่ยนแปลงหลังการตายนั้ก็จะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม ถ้าสิ่งแวดล้อมนั้นต่างกันการเปลี่ยนแปลงทางร่างกายจะต่างกันโดยสิ้นเชิง และยิ่งเวลาที่ตายนานขึ้นระยะเวลาการตายที่ประเมินได้ยิ่งมีความคลาดเคลื่อนมากขึ้น นอกจากนั้นบาดแผลที่พบในศพก็ไม่ได้

หมายความว่าผู้ตายนั้นไม่ได้ตายทันทีที่เกิดบาดแผลแต่อาจจะสลบอยู่หลายชั่วโมงก่อนตายก็เป็นได้ ฉะนั้นการประมาณระยะเวลาหลังการตายจึงต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงหลังการตายหลายอย่างประกอบกันเพื่อให้ได้ระยะเวลาที่ใกล้เคียงที่สุด (ตารางที่ 1)

การประมาณระยะเวลาหลังการตายทางนิติเวชนั้นยังมีข้อจำกัดอยู่มาก กรณีที่เสียชีวิตในระยะแรกไม่เกิน 24 ชั่วโมง สามารถใช้ข้อมูลจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของศพ เช่น การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ (Rigidity) การตกลงสู่เบื้องต่ำของเม็ดเลือดแดง (Lividity) และอุณหภูมิร่างกายที่ลดลง เป็นต้น แต่ถ้าหากเกินระยะเวลาดังกล่าวแล้วศพจะเริ่มเน่าทำให้การประมาณระยะเวลาหลังการตายมีความแม่นยำน้อยลง

การเปลี่ยนแปลงหลังการตายของร่างกายผู้ตาย จะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง 2 ระยะเวลาด้วยกัน คือ การเปลี่ยนแปลงในระยะแรกและการเปลี่ยนแปลงในระยะหลัง สำหรับการเปลี่ยนแปลงในระยะแรก ร่างกายของผู้ตายจะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดคือ

การเปลี่ยนแปลงของร่างกายระยะแรกภายหลังการตาย

1. การเปลี่ยนแปลงของตา (Eye change)

1.1 หลอดเลือดที่มาเลี้ยงจอร์ับภาพ มีลักษณะเป็นท่อนๆมอดดูคล้ายๆขบวนตู้โดยสารรถไฟ เรียกลักษณะนี้ว่า “Truckings”

1.2 เม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดดังกล่าว ตกนอนกันอยู่เบื้องล่างตามแนวโน้มถ่วงของโลก เรียกลักษณะนี้ว่า “Rouleaux” หรือ “Boxcar”

1.3 การอ่อนนุ่มของลูกตา (Softness of eye ball) เนื่องจากไม่มีความดันในลูกตา และในที่สุดลูกตาจะจมลงไปในเบ้าตา

1.4 กระจกตาขุ่น (Opacity of cornea)

1.5 เยื่อตาขาวแห้งและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เรียกลักษณะนี้ว่า “Tacke noire”

2. การเปลี่ยนแปลงของผิวหนัง (Skin change)

2.1 การสูญเสียความใสของผิวหนัง (Loss of transparency)

2.2 การสูญเสียความยืดหยุ่นของผิวหนัง (Loss of elasticity)

2.3 การเปลี่ยนสีของผิวหนัง (Discoloration)

ตารางที่ 1 การประมาณระยะเวลาหลังการตายสังเกตจากการเปลี่ยนแปลงของร่างกาย ปรับปรุงจาก
วิสุทธิ์ ชะวีโต (2552)

ระยะเวลา หลังการตาย	การเปลี่ยนแปลงของร่างกาย
2-3 ชั่วโมง	ร่างกายจะอ่อนปวกเปียก และอาจรู้สึกว่ายิ่งอุนๆ ยกเว้นกรณีบางรายอาจเกิดการแข็งตัวของร่างกายฉับพลัน (cadaveric spasm) \pm 1-2 ชั่วโมง
6 ชั่วโมง	เกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อบางส่วน แต่การตกลงสู่เบื้องต่ำของเม็ดเลือดแดง (lividity) ยังเกิดไม่เต็มและยังไม่คงที่ \pm 3-4 ชั่วโมง
12 ชั่วโมง	เกิดการแข็งตัวของร่างกายทั้งตัวและการตกลงสู่เบื้องต่ำของเม็ดเลือดแดงปรากฏเต็มที่ \pm 4-6 ชั่วโมง
18 ชั่วโมง	ร่างกายจะแข็งไม่ทั้งตัว แต่การตกลงสู่เบื้องต่ำของเม็ดเลือดแดงจะปรากฏเต็มที่และคงที่ \pm 6-8 ชั่วโมง
1 วัน (24 ชั่วโมง)	ร่างกายจะแข็งไม่ทั้งตัว ท้องส่วนล่างเริ่มปรากฏสีเขียวคล้ำด้านเดียวหรือทั้งสองด้านและการตกของเลือดยังเห็นเต็มที่ \pm 6-8 ชั่วโมง
2 วัน	ร่างกายอ่อนตัว ไม่มีการแข็งตัว มีสีคล้ำตามร่างกายส่วนบน พบเส้นเลือดขึ้นเขียวไปทั่วร่างกาย และร่างกายเริ่มอืดพองสังเกตได้ \pm 12-24 ชั่วโมง
4 วัน	ร่างกายจะขึ้นอืดเต็มที่ ลิ้นจุกปาก ตาถลน หนังจะลอกเป็นบางส่วน ใบหน้ามีสีคล้ำมาก \pm 1-2 วัน
7 วัน	เนื้อเยื่อบริเวณหน้าผาก หรือ บริเวณใบหน้า เริ่มหายไปบางส่วน อาจมองเห็นกระดูกหน้าผากหรือ โหนกแก้มบางส่วน \pm 2-3 วัน
14 วัน	เนื้อเยื่อของร่างกายเกิดการสลายตัวมากขึ้นอาจทำให้เห็นกระดูกซี่โครงและพบการเน่าของอวัยวะภายในช่องอก \pm 5-6 วัน
21 วัน	เกิดการสลายตัวของเนื้อเยื่อมากขึ้น ด้านบนของศีรษะอาจพบเหลือแต่กะโหลก เห็นซี่โครงมากขึ้น เนื้อเยื่อหน้าท้องเริ่มหายไปอาจทำให้เห็นลำไส้และอวัยวะภายในที่กำลังเน่าสลาย \pm 7-10 วัน
1 เดือน (30 วัน)	เนื้อเยื่อสลายตัวเกือบทั้งหมดแต่ยังคงมีเนื้อเยื่อเหลืออยู่บางส่วน เช่น บริเวณต้นขา สะโพก หรือ หลังส่วนที่มีการกดทับอยู่ \pm 1-2 สัปดาห์
3 เดือน (90 วัน)	เนื้อเยื่อสลายตัวไปจนเกือบหมดกระดูกบางส่วนเริ่มมีการหลุดออกจากกัน เช่น กระดูกบริเวณนิ้วมือ นิ้วเท้า แต่จะพบว่ากระดูกสันหลังยังคงยึดติดกันอยู่ด้วยพังผืด \pm 1-2 เดือน
6 เดือน (180 วัน)	พบกระดูกหลุดออกจากกันเป็นชิ้นๆ พังผืดสลายตัวจนหมดแต่ยังมีกลิ่นเน่าให้สังเกตได้ \pm 2-3 เดือน
1 ปี (365วัน)	พบแต่กระดูกและไม่มีการเน่าหลงเหลือแล้ว \pm 4-6 เดือน

3. การเย็นตัวของศพ (Algor mortis)

3.1 อุณหภูมิปกติของร่างกาย 98 ฟาเรนไฮต์ (วัดทางปาก) หรือ 99 ฟาเรนไฮต์ (วัดทางทวารหนัก)

3.2 ในศพจะวัดอุณหภูมิที่อวัยวะภายใน หรือ ที่ทวารหนัก (visceral or rectal temperature)

3.3 อาจวัดที่ส่วนลึกของโพรงจมูกและโพรงหู

กฎการเย็นตัวของนิวัตน์ คือ อัตราการเย็นตัวเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของศพกับสิ่งแวดล้อม ลักษณะการเย็นตัวของศพนั้นจะเป็นรูปตัว S

ปัจจัยที่มีผลต่อการเย็นตัวของศพ

1. อุณหภูมิของร่างกายขณะตาย
2. อุณหภูมิของสภาพแวดล้อม
3. เสื้อผ้าหรือสิ่งที่ปกคลุมร่างกาย
4. อัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อน้ำหนักร่างกาย
5. ท่าทางของศพ
6. อากาศ แสงลม และความชื้น
7. สิ่งแวดล้อมที่ศพสัมผัส
8. การเสียดสีของร่างกาย

ความคลาดเคลื่อนในการใช้อุณหภูมิเพื่อบอกเวลาตายก็คือ ไม่มีใครทราบแน่ชัดว่าก่อนตายนั้นผู้ตายมีอุณหภูมิร่างกายเท่าไรและจะมีอัตราการลดลงของอุณหภูมิเท่าไร

4. การเกิดจ้ำเลือดภายหลังตาย (Livor mortis)

- 4.1 เริ่มเกิดเมื่อการไหลเวียนโลหิตหยุดทำงาน
- 4.2 เม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดส่วนต่างๆของร่างกายจะตกลงสู่เบื้องต่ำจากแรงโน้มถ่วง
- 4.3 เริ่มปรากฏให้เห็นที่ผิวหนังเป็นสีม่วงแดง
- 4.4 เป็นจ้ำๆ ขนาดแตกต่างกันต่อมาจะมีขนาดใหญ่ขึ้นแล้วในที่สุดจะรวมตัวกันเป็นปื้น
- 4.5 ลักษณะตำแหน่งที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับท่าทางของศพขณะตาย

กของเม็ดเลือดแดงจะเริ่มปรากฏตั้งแต่ ครึ่งชั่วโมงถึงสองชั่วโมงหลังตาย ในคนไข้ที่ป่วยเป็นโรคหัวใจวายระยะสุดท้ายและมีอาการหัวใจหยุดเต้นเป็นครั้งคราวนั้นอาจจะพบว่ามี livor ตั้งแต่ก่อนตายได้ การตกของเม็ดเลือดแดงจะเกิดขึ้นที่ประมาณ 8-12 ชั่วโมงและเริ่มอยู่ตัว (fixed) คือเมื่อกลับท่าของศพเม็ดเลือดแดงก็จะไม่เคลื่อนไหวหรือไหลไปอยู่ในที่ใหม่ การอยู่ตัวอาจจะเกิดเร็วกว่า 8-12

ชั่วโมงและบางรายอาจจะเกิดซ้ำถึง 24-36 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับอัตราการเนาของศพด้วย การประเมินระยะเวลาการโดยใช้ลิวิตี้จึงเป็นเพียงการประมาณเวลาเท่านั้น (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 การตกลงสู่ที่ต่ำของเลือดบริเวณหลัง
(Valente-Aguiar, Magalhães, & Dinis-Oliveira, 2019)

การตรวจลิวิตี้สามารถตรวจได้โดยการใช้นิ้วมือกดลงไปตำแหน่งลิวิตี้ถ้าไม่อยู่ตัวลิวิตี้ส่วนนั้นก็จะซีดขาวไปชั่วคราวเมื่อปล่อยมือสีของลิวิตี้ก็จะปรากฏกลับมา ถ้าลิวิตี้ที่อยู่ตัวแล้วผิวหนังส่วนนั้นจะไม่ปรากฏการซีด (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การตรวจลิวิตี้หลังการตาย (Postmortem lividity)
(Bucholtz, 2019)

ลิวิตี้ที่ย่อมเกิดที่อวัยวะภายในด้วย ในปอด ตับ ไต ฯลฯ สีของอวัยวะทางด้านลิวิตี้จะดูคล้ำและคั่งเลือดมากกว่าทางด้านบนจะเห็นได้อย่างชัดเจนในปอดปอดด้านหลังมักจะคั่งเลือดมากกว่าปอดด้านหน้าบางครั้งเราจึงเข้าใจผิดว่าเป็นพยาธิสภาพของปอด ผลของลิวิตี้ที่อาจจะดูคล้ายพยาธิสภาพได้ เช่น

1. สีของผิวหนังที่คล้ำลงอาจจะมองคล้ายแผลฟกช้ำ แต่สามารถแยกกันได้โดยการใช้มีดกรีดไปบนผิวหนังที่สงสัย ถ้าเป็นฟกช้ำจะเห็นมีเลือดแทรกอยู่ในเนื้อเยื่อชัดเจนกว่าลิวิตี้

2. บางครั้งเลือดที่ไปคั่งอยู่บริเวณนั้นมากๆทำให้เกิดแรงดันลาะอาจจะทำให้เส้นเลือดฝอยบริเวณนั้นแตกเกิดเป็นจุดเลือดออก ซึ่งมักจะพบเมื่อเกิดลิวิตี้นานๆเช่น 18-24 ชั่วโมงและเริ่มสลายตัวหลังการเน่า จุดเลือดออกเหล่านี้เรียกว่าทาร์ดิว (Tardieu spot) และถ้าพบศพหลังการเกิดทาร์ดิวนานๆจะแยกยากกว่าเป็นจุดเลือดออกที่เกิดก่อนหรือหลังการเสียชีวิต แต่ข้อสังเกตที่แน่นอนคือทาร์ดิวจะเกิดเฉพาะบริเวณที่มีลิวิตี้นั้น

3. ในรายที่ศพเริ่มเน่าลิวิตี้นั้นของหนังศีรษะบริเวณท้ายทอยอาจจะมองคล้ายแผลฟกช้ำได้ ซึ่งบางครั้งการแยกต้องอาศัยหลักเกณฑ์อื่นช่วยวินิจฉัย เช่น บริเวณนั้นไม่มีมีผิวลอกหรือไม่มีการฉีกขาดร่วมด้วยแต่ก็ต้องคิดเพื่อไว้ด้วยว่าการที่ศีรษะถูกกระแทกนั้นบางครั้งก็ไม่ได้เกิดแผลลอกหรือฉีกขาดได้เช่นกัน

4. สมองบริเวณส่วนท้ายทอยก็อาจเห็นคล้ายเลือดออกใต้เยื่อหุ้มสมองชั้นในด้วย

5. กรณีจมน้ำเสียชีวิตและบังเอิญติดอยู่ในท่าหัวอยู่ต่ำแล้วศพเริ่มเน่าหนังศีรษะอาจจะมีลักษณะคล้ายถูกของแข็งกระแทกบริเวณรอบศีรษะได้

เพราะฉะนั้นเมื่อศพเริ่มมีการเน่าการตรวจบาดแผลต้องคำนึงถึงสภาพของลิวิตี้นี้ไว้เสมอ และเมื่อเริ่มเน่าจะมีก๊าซจากลำไส้ไปตามเส้นเลือด (เมื่อเสียชีวิตเกิน 36-48 ชั่วโมง) การสังเกตท่าทางของศพโดยอาศัยลิวิตี้นี้จะเชื่อถือไม่ได้อีกต่อไปเพราะสีของผิวหนังในช่วงเวลานี้จะเปลี่ยนแปลงไปมาก และการแห้งของตาขาวจะทำให้เกิดสีคล้ำขึ้นในตาขาวเกิดจากการแห้ง (Tache noire) เพราะตาปิดไม่สนิทหลังตายไม่ใช่พยาธิสภาพ สรุปลิวิตี้นี้จะเริ่มเกิด ที่ครึ่งชั่วโมง-2 ชั่วโมง และจะเกิดเต็มที่เมื่อเวลาผ่านไป 8-12 ชั่วโมง จะเริ่มมีสีอื่นแทรกเมื่อระยะเวลาผ่านไป 36 ชั่วโมง

5. การแข็งตัวของกล้ามเนื้อ (Rigor mortis)

5.1 จะเกิดขึ้นที่กล้ามเนื้อทุกส่วนของร่างกายในอัตราที่เท่ากัน

5.2 จะเกิดขึ้นสมบูรณ์ในกล้ามเนื้อมัดเล็กก่อนกล้ามเนื้อมัดใหญ่ และข้อเล็กก่อนข้อใหญ่

5.3 จะหมดไปก่อนหลังเรียงตามลำดับที่เกิด

การแข็งตัวของร่างกายหลังการเสียชีวิตนั้นยังเชื่อกันว่าเกิดจากการที่ ATP (Adenosin triphosphate) ในกล้ามเนื้อสลายตัวไป หรืออาจจะบอกสาเหตุการเกิดหลักๆได้ 2 กรณีคือ (1) การลดลงของปริมาณ ATP (2) การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติก (Lactic Acid) ในกรณีที่กล้ามเนื้อถูกใช้งานหนักก่อนตายกล้ามเนื้อนั้นจะแข็งตัวเร็วเมื่อตายลักษณะของกล้ามเนื้อที่ถูกใช้งานหนัก เช่น ออกกำลังอย่างรุนแรง ออกกำลังมาก ชักหรือมีไข้สูงก็ได้ และการทำให้ ATP ในกล้ามเนื้อนั้นหมดไป ทำให้กล้ามเนื้อเกิดการแข็งตัวทันทีหลังตายเรียกว่า คาดาเวอริคสปัสซึม (Cadaveric spasm) เช่นในรายที่จมน้ำตาย การแข็งตัวของกล้ามเนื้อนั้นก็มักเกิดขึ้นเร็วซึ่งน่าจะเกิดจากการที่พยายามตะเกียดตะกายอย่างมากก่อนตายและพบว่ามีการคาเวอริคสปัสซึมที่มีบ่อยเพราะพยายามจะไขว่คว้าเพื่อหลุดตัวเองขึ้นมาจากรน้ำ

โดยปกติการแข็งตัวของกล้ามเนื้อจะเริ่มประมาณ 2-4 ชั่วโมงหลังตายและแข็งตัวเต็มที่ประมาณ 6-12 ชั่วโมง และจะสลายตัวไปพร้อมกับ การเน่าของร่างกายกล้ามเนื้อจะเริ่มแข็งตัวพร้อมกันทุกมัดแต่มัดเล็กจะปรากฏให้ตรวจพบได้เร็วกว่ามัดใหญ่

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการแข็งเกร็งของกล้ามเนื้อ

1. อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมสูงทำให้เกิดการแข็งตัวของกล้ามเนื้อเกิดได้เร็ว
2. กิจกรรมทางร่างกายก่อนตาย
3. การช็อก
4. การถูกไฟฟ้าดูด
5. ภาวะอุณหภูมิร่างกายสูง
6. ภาวะกรดและยูเรีย
7. มวลกล้ามเนื้อทั้งหมดถ้าเนื้อมากหรืออ้วนจะเกิดการแข็งเกร็งของกล้ามเนื้อเร็ว

6. คาตาเวอริคสพาสซึม (cadaveric spasm)

- 6.1 เกิดทันทีขณะตายไม่ผ่านการอ่อนตัวของกล้ามเนื้อและไม่ผ่านกระบวนการเกิดโรกออร์มอดิส
- 6.2 มีความเครียดทางร่างกายหรือจิตใจอย่างขีดสุด เช่น กรณีผู้ตกน้ำเสียชีวิตไขว่คว้าสิ่งใกล้ตัว
- 6.3 ปกติจะเกิดในกล้ามเนื้อมัดที่ทำงานขณะตาย

การเปลี่ยนแปลงของร่างกายระยะท้ายภายหลังการเสียชีวิต

1. การเน่าของศพ (Decomposition) การเน่าของศพมีกระบวนการดังต่อไปนี้

1.1 การย่อยสลายตัวเอง (Autolysis) เป็นกระบวนการทางเคมีที่เกิดจากการปลดปล่อยของน้ำย่อยจากเซลล์และเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว โดยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีนั้นจะมีเรื่องอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ถ้าสิ่งแวดล้อมภายนอกมีอุณหภูมิสูงจะทำให้ปฏิกิริยาเคมีนั้นเกิดขึ้นได้เร็ว ในทางตรงข้ามกันถ้าสิ่งแวดล้อมภายนอกมีอุณหภูมิต่ำปฏิกิริยาเคมีนั้นจะเกิดได้ช้า โดยอวัยวะใดที่สามารถผลิตน้ำย่อยได้มาก อวัยวะนั้นจะเกิดการสลายตัวได้เร็ว เช่น ตับอ่อนจะเกิดการสลายตัวก่อนหัวใจ เป็นต้น

1.2 การเน่า (Putrefaction) เป็นการย่อยสลายเซลล์และเนื้อเยื่อด้วยแบคทีเรียจากทั้งภายในและภายนอกร่างกาย โดยมีลำดับการเปลี่ยนแปลงของการเน่าคือ

1. การเปลี่ยนเป็นสีเขียวของผิวหนังหน้าท้องส่วนล่างจะเกิดเมื่อประมาณ 24 ชั่วโมง
2. ก๊าซที่เกิดจากการเน่าส่วนใหญ่จะเป็นก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์
3. การปรากฏสีเขียวหรือแดงคล้ำตามแขนงของเส้นเลือดที่ผิวหนัง

4. การเกิดตุ่มพองที่มีของเหลวปนเลือดอยู่ภายใน
5. การหลุดลอกของผิวหนังชั้นนอก
6. ลื่นจุกปากและอวัยวะภายในมากองอยู่ข้างนอก
7. ศพพองตัวอย่างมากหอบและผิวหนังเปลี่ยนเป็นสีแดงค่อนไปทางดำ
 - ปัจจัยที่มีผลต่อการเน่า
 1. อุณหภูมิและความชื้นของสภาพแวดล้อมภายนอก
 2. การสัมผัสต่อสิ่งแวดล้อม
 3. ภาวะของสุขภาพ ได้แก่ อุณหภูมิของร่างกาย โรคและการได้รับบาดเจ็บ ภาวะของสารน้ำในร่างกาย
 4. การกีดกันศพของตัวอ่อนแมลงและสัตว์กินเนื้อ
2. การเหลือแต่ซากกระดูก
 - 2.1 ใช้เวลาอย่างน้อย 18 เดือน
 - 2.2 ผ่านกระบวนการ “Weathering” ได้แก่ การกีดกันผิว (bleaching), การขจัดผิว (exfoliation), การสลายของกระดูก (demineralization)
3. การกลายเป็นมัมมี่ (Mummification)
 - 3.1 ผิวหนังของศพจะแห้งติดกระดูกและผิวหนังจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเป็นลักษณะคล้ายหนังหมุดากแห้ง
 - 3.2 เกิดในสภาวะแวดล้อมที่ร้อน แห้ง และมีอากาศถ่ายเทได้ดี
4. การแข็งตัวของไขมัน (Adipocere)
 - 4.1 ไขมันกลายเป็นลักษณะคล้ายขี้ผึ้งด้วยการผ่านกระบวนการทางเคมี
 - 4.2 มีลักษณะเป็นสีขาวขุ่นและเปราะ
 - 4.3 จะเกิดเมื่ออยู่ในสภาพภูมิอากาศที่เย็นและชื้น
 - 4.4 มีกลิ่นเหม็นหืนที่เป็นลักษณะเฉพาะ
 - 4.5 มักจะพบที่ไหหนักแก้ม ทรวงอก และทวาร

การเปลี่ยนแปลงหลังการตายที่เกิดจากสาเหตุที่ไม่เป็นไปตามธรรมชาติ

1. การฉีดยาและการตกแต่งศพ (Embalment) คือการรักษาสภาพของศพโดยการฉีดสารเคมีเข้าไปในศพซึ่งมักเป็นสารประกอบประเภทฟอร์มาลดีไฮด์ อาจมี ฟีนอล โซเดียมเบนโซเอท แอลกอฮอล์ รวมอยู่ด้วย ซึ่งสารเหล่านี้จะทำให้ไม่สามารถตรวจ ยาเสพติด แอลกอฮอล์ ไซยาไนด์ บาบิทูเรท ในศพได้ การฉีดสารเหล่านี้ยังส่งผลให้หนังของศพมีการแข็งตัว ผิวหนังมีสีคล้ำลง ทำให้การตรวจบาดแผลบนศพมีความคลาดเคลื่อนได้ง่าย

2. การเผาศพ (Incineration and Cremation) คือการทำลายศพโดยการจุดไฟเผา การเผาศพบริเวณกลางแจ้งนั้นมักจะมีความร้อนสะสมถึง 1,000 องศาเซลเซียส กระจกที่เหลือจากการเผาไหม้กลางแจ้ง (incineration) จะพบได้ว่ามีก้อนใหญ่กว่าการเผาไหม้ในการเผาศพในเตาเผา (cremation) ซึ่งการเผาในเตาเผาอาจจะมีอุณหภูมิสะสมถึง 2,200 องศาเซลเซียส การเผาในกรณีนี้จะเหลือเถ้ากระดูกโดยเฉลี่ยผู้หญิง 2.5 กิโลกรัม ผู้ชาย 3 กิโลกรัม ถ้าพบเถ้ากระดูกเกิน 6 กิโลกรัม ให้สันนิษฐานว่ามีศพ มากกว่าศพเดียว

3. การขุดศพ (Exhumation) คือการขุดศพเพื่อตรวจ เมื่อมีการฝังศพก่อนศพถูกฝังนั้นบางศพมักจะได้รับการฉีดยารักษาศพ ตกแต่งศพ ก่อนการฝัง หรือในบางกรณีไม่ได้มีการดำเนินการใดๆ แต่สถานที่และภาชนะที่ใส่ศพก่อนนำไปฝังนั้นไม่มีความชื้นหรือมีแมลงและสัตว์เข้าไปได้ ศพอาจจะมีลักษณะดีกว่าปล่อยทิ้งไว้ในธรรมชาติ การประมาณระยะเวลาการเสียชีวิตจึงต้องใช้ความระมัดระวังอย่างสูง

4. สัตว์กัดแทะ (Animal Bite) นอกจากมนุษย์แล้วสัตว์ต่างๆก็มีส่วนเกี่ยวข้องที่จะทำลายสภาพของศพให้เสียไปได้เช่นกันและอาจทำให้ผู้ตรวจศพให้ความเห็นผิดพลาดไปได้

2.3 กระบวนการสลายตัวและความสัมพันธ์ของแมลงตามการย่อยสลายของร่างกาย (Decomposition processes and relationships of insects to decomposed body)

กระบวนการสลายตัวของสิ่งมีชีวิตเป็นการเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังการตายซึ่งอาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับ ช่วงเวลาและสภาวะแวดล้อม เช่น แสงแดด อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น แมลงแต่ละชนิดจะเข้ามาตามการย่อยสลายแต่ละระยะแตกต่างกันไปซึ่งถ้าหากมีการเก็บข้อมูลสายพันธุ์ของแมลงที่พบได้บริเวณศพในช่วงระยะเวลาต่างๆ ก็สามารถนำมาอ้างอิงในการประมาณระยะเวลาหลังการตายได้ นอกจากนี้สามารถใช้ข้อมูลระยะเวลาการเปลี่ยนแปลงในช่วงของวงจรชีวิตของแมลงที่พบบริเวณศพ ซึ่งวิธีนี้เหมาะสำหรับการประเมินระยะเวลาในช่วงไม่กี่สัปดาห์หลังการเสียชีวิต

การเปลี่ยนแปลงของร่างกายหลังการตาย แบ่งออกเป็น 5 ระยะ ได้แก่

(1) ระยะเวลาสด (fresh) - เริ่มตั้งแต่ช่วงเวลาที่ศพเริ่มมีการเสียชีวิตจนถึงก่อนระยะที่ศพมีการพองบวม ระยะนี้ศพยังไม่มีกลิ่นและอุณหภูมิจะเริ่มลดต่ำลง แต่เริ่มมีแมลงวันหัวเขียวเข้ามาที่ศพและวางไข่ ระยะนี้ใช้เวลา 0-3 วัน หรืออาจนานถึง 6 วัน ถ้าศพอยู่ในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ เริ่มมีการวางไข่ของแมลงวันหัวเขียว และเริ่มพบตัวหนอนวันที่ 1

(2) ระยะเวลาพองบวม (bloat) - บริเวณส่วนท้องของศพจะบวมพองขึ้นเกิดจากการสะสมของแก๊สภายใน สีของผิวหนังเริ่มเปลี่ยนเป็นสีคล้ำเริ่มมีการส่งกลิ่นเหม็นอุณหภูมิของศพจะเพิ่มขึ้นและทวารหนักเริ่มโผล่ออกมา ระยะนี้ใช้เวลา 4-6 วัน พบตัวหนอนเพิ่มมากขึ้น และเริ่มพบดักแด้

(3) ระยะเวลาเสื่อมสลายอย่างรุนแรง (active decay) - ระยะนี้จะเริ่มมีการยุบตัวของหน้าอกเนื่องจากการกินของตัวอ่อนแมลงวัน บริเวณลำตัวของศพจะกลิ่นเหม็นมีน้ำมัน (greasy) และส่งกลิ่นเหม็นมาก ระยะนี้ใช้เวลาอยู่ระหว่าง 7 ถึง 30 วัน ยังคงพบตัวหนอนและดักแด้ของแมลงวัน แต่จำนวนเริ่มลดลง

(4) ระยะเวลาหลังของการเสื่อมสลาย (advanced decay) - ระยะนี้จะพบตัวหนอนของแมลงวันเริ่มหายไป ผิวหนังของศพเริ่มแห้งและน้ำหนักของศพจะลดลงอย่างมาก ระยะนี้ใช้เวลาอยู่ระหว่าง 31-51 วัน เริ่มมีการเข้ามาของด้วง

(5) ระยะเวลาแห้ง (dry remain) - ศพจะเหลือแต่โครงกระดูก ผิวหนังแห้งไม่ส่งกลิ่นจะเริ่มไม่เห็นตัวอ่อนของแมลงวัน ระยะนี้จะเริ่มหลังจาก 52 วัน (เผด็จ สิริยะเสถียร, 2005)

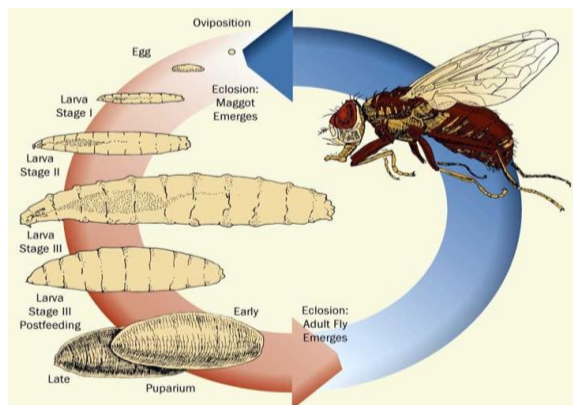
2.4 แมลงวันหัวเขียว (Blow fly)

แมลงวันหัวเขียว จัดอยู่ใน ไฟลัมอาร์โทพอดา (Phylum Arthropod) ชั้นเฮกซาพอดา (Class Hexapoda) อันดับดิฟเทอร่า (Order Diptera) อันดับย่อยบราไคซีรา (Suborder Brachycera), วงศ์คาริฟอร์อิดี (Family Calliphoridae) แมลงวันหัวเขียวพบกระจายอยู่เกือบทุกทวีปทั่วโลกยกเว้น ทวีปแอนตาร์กติกา จำแนกเป็น 133 สกุล ประกอบด้วย 1,450 ชนิด มีการสำรวจบริเวณป่าละเมาะของจังหวัดเชียงใหม่พบแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (ร้อยละ 74.6 ถึง 78.0) รองลงมาคือ *Achoetandrus ruffacies* (ร้อยละ 16.8 ถึง 19.6) ส่วนแมลงวันชนิดอื่นๆพบน้อยมากในประเทศไทยพบแมลงวันหัวเขียวมากถึง 76 ชนิด แต่ชนิดที่ชอบตอมศพและพบได้มากที่สุดคือ แมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* (Sukontason, Piangjai, Siriwattananurongsee, & Sukontason, 2008)

วงจรชีวิต (life cycle)

แมลงวันหัวเขียว มีการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis) ประกอบด้วย 4 ระยะ คือ ระยะไข่, ระยะตัวอ่อน (หนอน), ระยะดักแด้ และระยะตัวเต็มวัย

ตัวเต็มวัยเพศเมียที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการอายุ 8-9 วัน วางไข่เป็นวันประมาณ 220 ฟอง ที่อุณหภูมิ 26°C และความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ประมาณ 12-24 ชั่วโมง ช่วงเวลาที่ยังเป็นระยะไข่ ภายในมีการพัฒนาและเจริญเพื่อเป็นหนอนแมลงวันระยะที่ 1 (1st instar larva) ใช้เวลาประมาณ 23 ชั่วโมง หนอนแมลงวันจะลอกคราบ 2 ครั้งเพื่อเป็นหนอนแมลงวันระยะที่ 2 และ 3 ตามลำดับ โดยหนอนแมลงวันระยะที่ 1 ใช้เวลาประมาณ 23 ชั่วโมงเพื่อเจริญเป็นหนอนแมลงวันระยะที่ 2 และ หนอนแมลงวันระยะที่ 2 ใช้เวลาประมาณ 27 ชั่วโมง เจริญเป็น หนอนแมลงวันระยะที่ 3 เมื่อหนอนแมลงวันระยะที่ 3 โตเต็มที่ (peak feeding) จะหยุดกินอาหารและเคลื่อนที่เข้าหาที่มืดและแห้งเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้ ซึ่งหนอนแมลงวันใช้เวลาตั้งแต่ฟักออกจากไข่จนเป็นดักแด้ใช้เวลาประมาณ 4-5 วัน ภายในดักแด้ของตัวหนอนแมลงวันจะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างเพื่อเจริญไปเป็นแมลงวันตัวเต็มวัยโดยใช้ระยะเวลาในดักแด้ประมาณ 5-7 วัน ทั้งนี้ ระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละระยะ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น อุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณอาหาร ความหนาแน่นของหนอนแมลงวัน แต่ปัจจัยที่สำคัญมากที่สุดคืออุณหภูมิ (ภาพที่ 3) (ธีรภมร เพ็งสกุล, 2551)



ภาพที่ 3 วงชีวิตการเจริญเติบโตแบบสมบูรณ์ของ แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

ที่มา : <https://slideplayer.com/slide/10535890/>

สัณฐานวิทยา ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะตัวเต็มวัย ลำตัวประกอบด้วย ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ลำตัวมีสีเขียวถึงสีน้ำเงินปนดำ ลำตัวมีลักษณะค่อนข้างกลม มีขนขนาดใหญ่ปกคลุมทั่วตัว ความยาว 7.5 ถึง 10.0 มิลลิเมตร ตาประกอบมีขนาดใหญ่ มีลักษณะเด่นคือ

ระยะไข่ (Egg) - ไข่มีลักษณะเรียวยาวคล้ายเมล็ดข้าวสีขาวยาวเฉลี่ย 1.40 ± 0.05 มิลลิเมตร ความกว้างเฉลี่ย 0.04 ± 0.06 มิลลิเมตร median area ยาวมาก จนเกือบความยาวทั้งหมดของไข่ (ความยาวเฉลี่ย 1.33 ± 0.05 มิลลิเมตร) median area แคบมาก (ภาพที่ 4ก) เฉลี่ย 0.008 ± 0.002 มิลลิเมตร flange ไม่ยกตัวขึ้นเป็นแผ่นบาง รอยต่อเหลี่ยมของผิวไข่ไม่เด่นชัด

ระยะหนอน (larva)

ลักษณะเด่นของหนอนแมลงวันคือ ลำตัวค่อนข้างอ้วน สีขาวครีม ผิวเรียบ

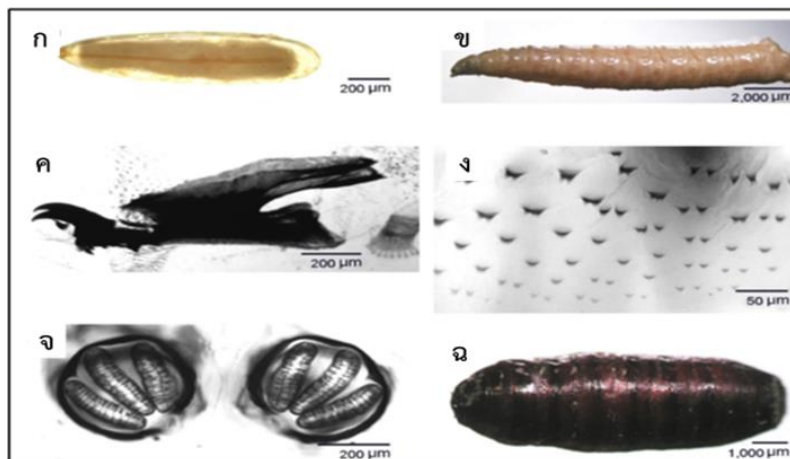
หนอนวันที่ 1 (1st instar larval stage) มักจะใช้คำเรียกเฉพาะว่า maggot มีสีขาว ขนาดเล็ก ผิวลำตัวเรียบ ความยาว 1.7-3.5 มิลลิเมตร รูหายใจส่วนหน้าขนาดเล็กมาก รูหายใจส่วนหลังเจริญยังไม่เต็มที่ spiracular slit 2 อันแต่ปลายชิดกันคล้ายตัวอักษร V

หนอนวันที่ 2 (2nd instar larval stage) มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ความยาวได้ถึง 8 มิลลิเมตร แขนงของรูหายใจส่วนหน้ามี 8 ถึง 13 แขนง รูหายใจส่วนหลังมี spiracular slit 2 อันและแยกกัน

หนอนวันที่ 3 (3rd instar larval stage) มีสีครีม ผิวลำตัวเรียบ ปลายปล้องสุดท้ายป้าน (ภาพที่ 4ข) เมื่อโตเต็มที่มีลำตัวยาวได้ถึง 19 มิลลิเมตร แขนงของรูหายใจส่วนหน้ามี 8 ถึง 13 แขนง cephaloparyngeal skeleton (ภาพที่ 4ค) ลักษณะหนามระหว่างอกปล้องที่ 1 และ อกปล้องที่ 2 (ภาพที่ 4ง) รูหายใจส่วนหลังมี peritreme เป็นวงแบบไม่สมบูรณ์ (ภาพที่ 4จ)

ระยะดักแด้ (pupa)

ลักษณะเด่นของดักแด้ เป็นรูปคล้ายถังเบียร์ มีสีน้ำตาลเข้มเกือบดำ ความยาวเฉลี่ย 9.16 ± 0.50 มิลลิเมตร ความกว้างเฉลี่ย 3.34 ± 0.20 มิลลิเมตร (ภาพที่ 4ฉ)



ภาพที่ 4 สัณฐานวิทยาของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

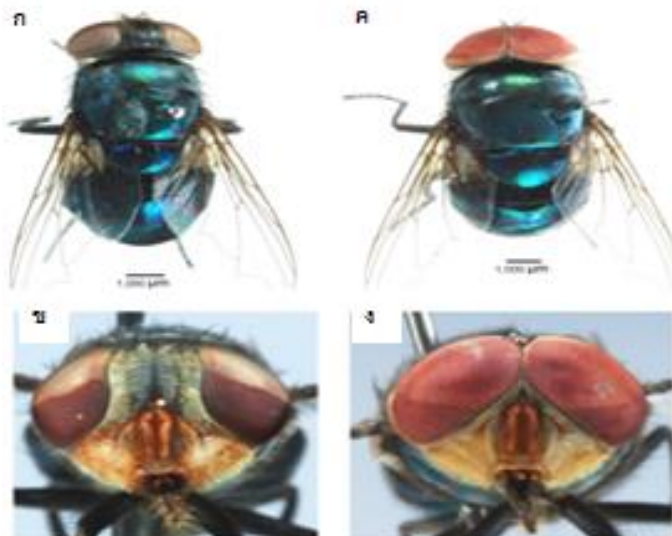
ก) ไข่, (ข) หนอนวันที่ 3, (ค) cephaloparyngeal skeleton, (ง) ลักษณะหนามระหว่างอกปล้องที่ 1 และ อกปล้องที่ 2, (จ) รูหยาใจส่วนหลัง และ (ฉ) ระยะดักแด้ (คม สุคนธสรทรัพย์, 2548)

ระยะตัวเต็มวัย (adult)

ส่วนหัว

เพศเมีย (ภาพที่ 5ก) มีตาประกอบสีน้ำตาล-แดง แต่ละ facet มีขนาดเล็กและเมื่อกันเกือบทั้งหมด ตาประกอบทั้งสองข้างอยู่ห่างกันทำให้บริเวณ frontal vitta (ด้านหน้าของหัวระหว่างตา) กว้าง สีเกือบดำ บริเวณใต้ frontal vitta เรียกว่า parafacial มีสีส้มปกคลุมด้วยขนเล็กๆสีเหลืองอ่อน หนวด แก้ม และ palpus มีสีส้ม (ภาพที่ 5ข)

เพศผู้ (ภาพที่ 5ค) มีตาประกอบสีน้ำตาล-แดง ประมาณ 2 ใน 3 ของพื้นที่ตาประกอบส่วนบนมี facet มีขนาดใหญ่ ในขณะที่ด้านล่างประมาณ 1 ใน 3 มี facet มีขนาดเล็ก ตาประกอบทั้งสองข้างอยู่ชิดกันที่ตรงกลางของหัวทำให้บริเวณ frontal vitta แคบกว่าในเพศเมีย มีสีเกือบดำ เช่นเดียวกับในเพศเมีย parafacial หนวด แก้ม และ palpus มีลักษณะเช่นเดียวกับเพศเมีย (ภาพที่ 5ง)



ภาพที่ 5 ภาพจากกล้องถ่ายภาพดิจิทัล แสดง ตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*
(ก) เพศเมีย, (ข) เพศเมียแสดงด้านหน้าส่วนหัว, (ค) เพศผู้, และ (ง) เพศผู้แสดงด้านหน้าส่วนหัว
(คม สุคนธสรณ์, 2548)

ส่วนอก ทั้งสองเพศมีลักษณะเหมือนกัน สะท้อนแสงสีเขียวแกมน้ำเงิน แต่อกส่วน scutum มีแสงที่สะท้อนออกมาค่อนข้างไปทางสีเขียวมากกว่าส่วน scutellum ที่ค่อนข้างสีน้ำเงิน รู หายใจส่วนหน้า (anterior spiracle) มีขนาดใหญ่ สีน้ำตาลเข้ม บริเวณอกมี katepisternal setae 2 เส้น

Calypter upper calypter แยกเป็นสองส่วนชัดเจน ด้านหน้าสีขาวครีมด้านหลังสี น้ำตาลอ่อน lower calypter สีน้ำตาล

ขา ขาเล็กยาวเรียวสีดำ

ปีก โปร่งแสงฐานปีกสีเข้ม

ท้อง สีเขียวแกมน้ำเงินแต่ค่อนข้างไปทางสีเขียว ปล้องท้องปล้องที่ 2 และปล้องที่ 3 มี แถบดำที่ปลายปล้อง ด้านบนของทุกปล้องมีขนสีดำปกคลุม ท้องด้านล่างปกคลุมด้วยขนสีดำเป็นส่วน ใหญ่แทรกด้วยขนสีครีมและสีน้ำตาลอ่อน (คม สุคนธสรณ์, 2548)

2.5 วิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว (Method for determine blow fly larvae ages)

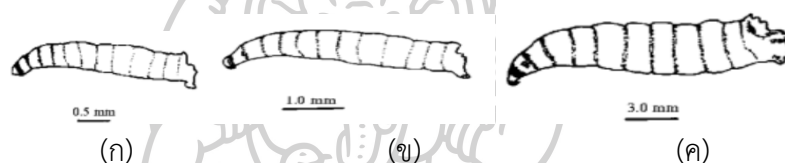
การประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) สิ่งสำคัญที่ใช้ตรวจสอบ คือ อายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวซึ่งเป็นข้อมูลที่รวดเร็วและแม่นยำ

นอกจากการใช้สัณฐานวิทยาในการใช้จำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียวได้มีการพยายามศึกษาวิธีการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียวด้วยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่

2.5.1 การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา (Morphology)

การจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียวตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของส่วนต่างๆดังนี้

(1) ความยาวลำตัว หนอนระยะที่ 1 มีความยาว 1.7 ถึง 3.5 มิลลิเมตร, หนอนระยะที่ 2 มีความยาว 6-9 มิลลิเมตร และ หนอนระยะที่ 3 มีความยาว 1 ถึง 2 เซนติเมตร

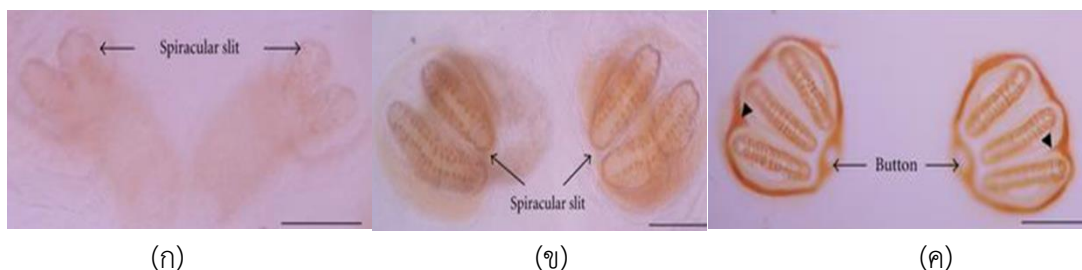


ภาพที่ 6 ความยาวลำตัว

(ก) หนอนระยะที่ 1, (ข) หนอนระยะที่ 2 และ (ค) หนอนระยะที่ 3

ที่มา : <https://slideplayer.com/slide/10535890/>

(2) รูหายใจส่วนท้าย (posterior spiracle) หนอนระยะที่ 1 รูหายใจส่วนท้ายยังไม่เจริญเต็มที่, หนอนระยะที่ 2 รูหายใจส่วนท้ายยังไม่เจริญเต็มที่ที่มี spiracular slit จำนวน 2 อัน และ หนอนระยะที่ 3 รูหายใจหลังเจริญเต็มที่มี spiracular slit จำนวน 3 อัน แยกออกจากกันบางชนิดมีส่วนที่เรียกว่า ecdysial scar (botton) รูปร่างกลมอยู่เกือบตรงกลางระหว่าง spiracular slit ที่ล้อมรอบด้วยวง peritreme สีเข้ม (ภาพที่ 7ค) (Greenberg & Kunich, 2002)



(ก)

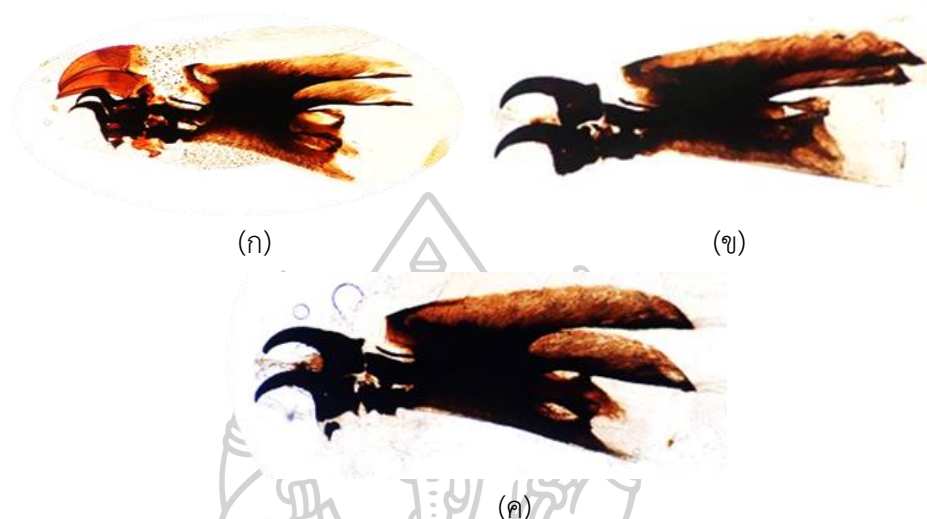
(ข)

(ค)

ภาพที่ 7 หายใจส่วนท้ายของแมลงวันหัวเขียว *Hemipyrellia ligurriens*

(ก) หนอนระยะที่ 1, (ข) หนอนระยะที่ 2 และ (ค) หนอนระยะที่ 3 (Bunchu et al., 2012)

(3) โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) คือ ส่วนโครงร่างแข็งที่อยู่บริเวณภายในส่วนปาก ซึ่งมีลักษณะจำเพาะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันในหนอนระยะที่ 1 หนอนระยะที่ 2 และ หนอนระยะที่ 3 (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 โครงกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ (cephalopharyngeal skeleton) ของ (ก) หนอนระยะที่ 1, (ข) หนอนระยะที่ 2 และ (ค) หนอนระยะที่ 3

2.5.2 สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (Volatile organic compounds, VOCs)

(Alfaro, Vacas, Zarzo, Navarro-Llopis, & Primo, 2011) ศึกษา VOCs ในหนอนแมลงวันผลไม้ *Bactrocera oleae* L. พบว่ามี VOCs จำนวน 32 ชนิดที่ปล่อยออกมาจากตัวหนอน ซึ่งมีสารประกอบหลักคือ α - pinene, limonene, sabinene, β - pinene, myrcene และ careen

(Frederickx et al., 2012) ศึกษา VOCs ในหนอนระยะที่ 1, 2, 3 และ ดักแด้ของแมลงวันหัวเขียว *Lucilia sericata* Meigen พบว่า VOCs มีความหลากหลายทั้งในด้านองค์ประกอบและปริมาณซึ่งยังต้องทำการศึกษาค้นคว้า VOCs ที่จำเพาะในการจำแนกอายุหนอนแมลงวันต่อไป

(Al-Khshemawee, Agarwal, & Ren, 2017) ศึกษา VOCs ในระยะหนอน ดักแด้ และ ตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ Mediterranean fruit fly (Medfly) ด้วยการใช้ Stable Isotope $^{13}\text{C}_6$ - glucose พบว่าจำนวนชนิดของ VOCs มีความแตกต่างกันในระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันโดยในระยะหนอนมี VOCs จำนวน 27 ชนิด ดักแด้จำนวน 23 ชนิด และตัวเต็มวัยจำนวน 29 ชนิด โดยเป็น VOCs คนละชนิดกัน

2.5.3 การแสดงออกของยีน (Gene expression analysis)

(Preativatanyu, Eakachaiworrawut, Chutivongse, Sirisup, & Siriyasatien, 2010) ประยุกต์ใช้ยีน cytochrome oxidase (COI) ในการระบุสปีชีส์ ของหนอนแมลงวันโดยเทคนิคทาง อนุชีววิทยาผลการศึกษาระบุลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอที่ได้จากเทคนิค PCR ให้ ผลผลิตที่มีขนาด 351 คู่เบสเท่ากันในทุกตัวอย่าง เมื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์พบว่า 5 ตัวอย่าง สามารถระบุว่าเป็นสปีชีส์ *Sarcophaga ruficornis* และ 1 ตัวอย่างที่เหลือเป็น สปีชีส์ *Chrysomya rufifacies* แสดงให้เห็นชัดเจนว่าสามารถประยุกต์ใช้เทคนิคทาง อนุชีววิทยาในการระบุสปีชีส์ของหนอน แมลงวันที่เก็บได้จากศพและ ให้ผลที่น่าเชื่อถือ

(Tarone, Jennings, & Foran, 2007) ศึกษาการแสดงออกของยีน *bicoid (bcd)*, *slalom (sll)*, *chitin synthase (cs)* ในระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียว *Lucilia sericata* พบว่ามีการ แสดงออกของยีนทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกันโดยพบการแสดงออกของยีน *bcd* และ *sll* เพิ่มขึ้นตามอายุ ของไข่ในขณะที่การแสดงออกของยีน *cs* ลดลงแต่คงที่ในระยะท้ายของไข่อ่อนพักเป็นตัว

2.5.4 การวิเคราะห์สารประกอบไฮโดรคาร์บอน (Cuticular hydrocarbon analysis)

(Zhu, Ye, Hu, Xu, & Li, 2006) ในหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya rufifacies* พบ Cuticular hydrocarbon ที่เป็นชนิดอัลเคน (alkanes) ที่มีความยาวโซ่ของคาร์บอนอยู่ที่ 21-31 และ อัลคีน (alkenes) 6 ชนิด โดยปริมาณของอัลคีนส่วนใหญ่จะมีโมเลกุลต่ำลงในทางตรงกันข้าม ปริมาณของอัลเคนจะมีโมเลกุลสูงขึ้นและมีความยาวโซ่เพิ่มมากกว่า C25 และจะค่อยๆเพิ่มขึ้นตาม อายุของตัวหนอน

2.6 วิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ (Geometric morphometric)

จีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ (geometric morphometric) เป็นวิธีการหรือเครื่องมือที่ถูกใช้ ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตด้วยวิธีการเปรียบเทียบเชิงปริมาณโดยใช้หลักและ วิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติ การวิเคราะห์สามารถใช้อธิบายและเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐาน วิทยาที่มีความคลุ่มเครือใกล้เคียงกัน หรือซับซ้อนได้อย่างชัดเจนและแม่นยำ และเห็นภาพชัดเจน โดยผลจากการศึกษาทำให้สามารถอธิบายหรือเปรียบเทียบความแปรผันและความแตกต่างของ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิตได้ทั้งในระดับประชากร (population) ชนิด (species) สกุล (genus) หรือตามลำดับขั้นที่สูงขึ้นไปอีกทั้งยังสามารถใช้ประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับการจัดจำแนก อนุกรมวิธาน (taxonomic classification) การเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาเนื่องจากกระบวนการ เจริญพัฒนาและวิวัฒนาการ (ontogeny and evolution) การศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์รูปแบบ ทางสัณฐานวิทยากับการทำงานหรือที่เรียกว่าลักษณะสัณฐานวิทยาเชิงหน้าที่ (functional

morphology) และการศึกษาเกี่ยวกับปฏิสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยากับปัจจัยของสิ่งแวดล้อมในแหล่งอาศัยหรือที่เรียกว่าลักษณะสัณฐานวิทยาเชิงนิเวศ (ecomorphology) เป็นต้น (พรพิมล เจียรณัยปริเปรม, 2557)

2.6.1 ลักษณะของข้อมูลสำหรับการวิเคราะห์

(1) ข้อมูลเชิงโครงร่าง (outline-based data) เป็นข้อมูลของเส้นรอบรูปแสดงถึงเค้าโครงของรูปร่างของวัตถุหรือโครงสร้างที่สนใจ

(2) ข้อมูลเชิงจุดกำหนด (landmark based data) เป็นข้อมูลพิกัดคาร์ทีเซียน (Cartesian coordinate) ในระนาบสองมิติ (x, y) หรือระนาบสามมิติ (x, y, z) ของจุดที่กำหนดลงบนโครงสร้างหรืออวัยวะของตัวอย่างที่สนใจ โดยจุดดังกล่าวต้องเป็นจุดคู่เหมือน (homologous point) ที่มีตำแหน่งตรงกันทั้งในระดับภายในและระหว่างประชากรของตัวอย่างสิ่งมีชีวิตที่ทำการศึกษานอกจากนี้จุดดังกล่าว ต้องแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงหน้าที่ของโครงสร้างหรืออวัยวะนั้นๆ ที่เรียกว่า “โฮโมโลยี” (homology) ด้วย (M. Zelditch & Swiderski, 2004), (Hammer & Harper, 2006)

2.6.2 รูปแบบจุดกำหนดที่ใช้ในการวิเคราะห์

(1) จุดกำหนดเชิงกายวิภาค (anatomical landmark) เป็นจุดที่กำหนดขึ้นโดยอาศัยความสอดคล้องและตรงกันในเชิงหน้าที่ของโครงสร้างหรืออวัยวะในทุกตัวอย่าง ตัวอย่างของจุดกำหนดประเภทนี้ได้แก่ จุดเชื่อมระหว่างกล้ามเนื้อและกระดูก จุดสิ้นสุดของขอบเขี้ยว และจุดเริ่มต้นของฐานครีบ เป็นต้น

(2) จุดกำหนดเชิงคณิต (mathematical landmark) เป็นจุดที่กำหนดขึ้นโดยอาศัยคุณสมบัติทางคณิตศาสตร์หรือเรขาคณิต เช่น จุดที่มีความโค้งมากที่สุด จุดที่เว้าลึกที่สุด และจุดปลายแหลมที่สุด เป็นต้น

(3) จุดกำหนดเทียม (pseudo-landmark) เป็นจุดที่สร้างขึ้นโดยอ้างอิงจากจุดกำหนดสองประเภทแรก ตัวอย่างเช่น จุดกึ่งกลางระหว่างจุดกำหนดเชิงกายวิภาคสองจุด เป็นต้น

2.6.3 โปรแกรมที่ใช้วิเคราะห์

(1) Tps series เป็นโปรแกรมที่ใช้สำหรับใช้ศึกษาสัณฐานวิทยาในทางเรขาคณิตบนคอมพิวเตอร์ Windows XP – Windows 10 และ Windows emulators บน Macs and Linux (ภาพที่ 9) โปรแกรม Tps series แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ฟรีโปรแกรม และ กลุ่มที่ 2 โปรแกรมการค้า [Rohlf, 2015]

กลุ่มที่ 1 โปรแกรม ได้แก่ (1) tpsBias: ใช้สำรวจความคลาดเคลื่อนและข้อผิดพลาดในการประเมินรูปร่างเฉลี่ย (2) tpsDig: แปลงพิกัดของจุดกำหนดและเส้นโครงร่าง (3) tpsPLS: ศึกษาความสัมพันธ์ที่วัดความสัมพันธ์ของตัวแปรสองตัว (Covariance, COV) ระหว่างรูปร่างและชุดของตัวแปรหรือระหว่างสองรูปร่าง (4) tpsPower: ประมาณค่าสถิติสำหรับทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสองรูปร่าง (5) tpsRelw: วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนเชิงสัมพัทธ์ (6) tpsRegr: วิเคราะห์ค่าถดถอยพหุนามของรูปร่างที่ไปยังตัวแปรตัวหนึ่งหรือหลายตัวแปรเป็นอิสระต่อกัน (7) tpsSmall: ทดสอบความผันแปรของรูปร่างขนาดเล็กเพียงพอที่จะประมาณพื้นที่แทนเจนต์ ค่าที่ได้เกือบถูกต้องเสมอ (8) tpsSplin: คำนวณเส้นโค้งแผ่นบาง (9) tpsSuper: วิเคราะห์การซ้อนทับของ GLS ภาพที่ไม่ได้ขยับและค่าภาพเฉลี่ย (10) tpsSurfPlot: ใช้แสดงผลลัพธ์การพล็อตพื้นผิว (เฉพาะพื้นที่สามเหลี่ยม) ของ tpsPower และ tpsBias (11) tpsTree: จัดรูปร่างให้พอดีกับรูปร่างตามลำดับชั้นแบบต้นไม้ (12) tpsTri: สำรวจค่าสถิติของรูปร่างเฉพาะพื้นที่สามเหลี่ยม (13) tpsUtil: เป็นโปรแกรมเสริมที่มีประโยชน์เมื่อทำงานร่วมกับ tps

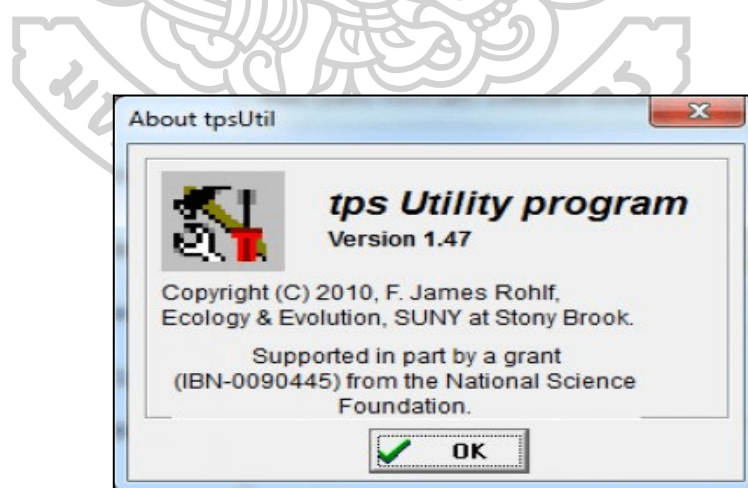
กลุ่มที่ 2 โปรแกรมการค้า ได้แก่ (1) BIOMstat ver 4.0 สำหรับ Windows 7 ถึง Windows 10 เป็นแพ็คเกจสถิติพื้นฐานที่ออกแบบโดย Sokal และ Rohlf เพื่อใช้กับชีวมิติ (Biometry) รุ่นที่ 4 และชีวสถิติประยุกต์ (2) NTSYSpC ver. 2.2 สำหรับ Windows 7 ถึง Windows 10 เป็นแพ็คเกจการวิเคราะห์ข้อมูลพหุนามของโปรแกรมทางชีวสถิติประยุกต์

มีรายงานระบุการใช้โปรแกรม Tps series ในการวิเคราะห์ทางจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ โดยอาศัยรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของตัวอย่าง เช่น การศึกษารูปร่างของปีกแมลงวันหัวเขียว *Lucilia sericata* (Espra et al., 2015) การจำแนกสปีชีส์ของแมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญทางการแพทย์ 12 ชนิด (Sontigun et al., 2017) โปรแกรม Tps series เป็นโปรแกรมที่วิเคราะห์ค่าทางสถิติได้หลากหลายและแม่นยำแต่ยังพบข้อบกพร่องคือในการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Tps series นั้นจำเป็นต้องใช้หลายแถบเมนูในการวิเคราะห์ซึ่งค่อนข้างใช้งานยากและซับซ้อน

(2) CLIC package เป็นโปรแกรม ใช้สำหรับการรวบรวมจุดกำหนด (Landmarks) ในการจำแนก (identification) และการอธิบายลักษณะ (characterization) (ภาพที่ 10) แพ็คเกจ CLIC เป็นแพ็คเกจขนาดเล็กที่รวบรวมเครื่องมือในการวิเคราะห์สัณฐานวิทยาสมัยใหม่ที่ไม่ยุ่งยาก (J.-P. Dujardin et al., 2014) รายงานของ (Chaiphongpachara & Laojun, 2019) ระบุการใช้โปรแกรม CLIC package วิเคราะห์รูปร่างทางสัณฐานวิทยาของปีกในการจำแนกสปีชีส์ของยุง CLIC package เป็นโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ค่าทางสถิติและการวิเคราะห์ทางจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ได้หลากหลาย เช่น การวิเคราะห์ Centroid size variation , Mahalanobis distance และ Generalised Procrustes Analysis เป็นต้น ปัจจุบันแพ็คเกจ CLIC ยังมีการใช้งานอยู่แต่น้อยลงส่วน

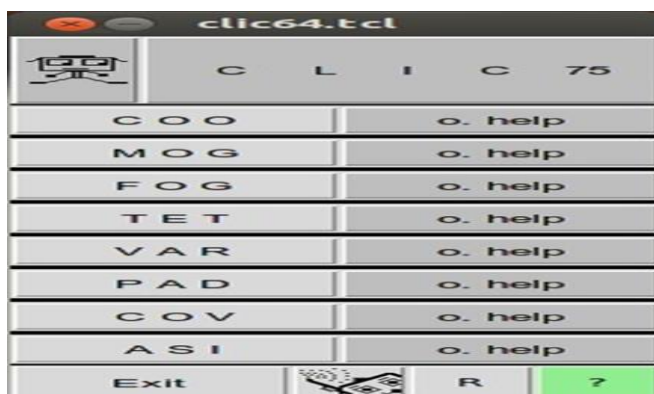
ใหญ่ถูกใช้ในการวิเคราะห์ร่วมกับโปรแกรมอื่นเนื่องจาก CLIC package ได้มีการพัฒนารูปแบบใหม่เพื่อให้ใช้งานง่ายขึ้น

(3) XYOM เป็นโปรแกรมออนไลน์ที่ใช้ภาพดิจิทัลและวิเคราะห์ภาพสองมิติ (ภาพที่ 11) ใช้ศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphometric) สมัยใหม่ โดยการรวบรวมข้อมูลดิจิทัลแบบออนไลน์ (online digitization) ใช้ศึกษารูปร่างที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการเพียงเล็กน้อย (microevolutionary) แต่ยังคงมีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่อง (falconer) วิธีมอร์โฟเมตริกส์ใช้วัดรูปร่าง วิธีนี้มีต้นทุนต่ำ เหมาะในการประยุกต์ใช้ศึกษาลักษณะฟีโนไทป์ (phenotypes) ในแมลงที่มีความสำคัญทางการแพทย์ตามสายวิวัฒนาการซึ่งมีความสำคัญในระดับระบาดวิทยา (epidemiological level) ขึ้นมีหลายรายงานระบุการใช้โปรแกรม XYOM ศึกษารูปร่างทางสัณฐานวิทยาของสิ่งมีชีวิต เช่น การจำแนกสปีชีส์และเพศของแตนเบียนจากรูปร่างทางสัณฐานวิทยาของปีก (Kitthawee & Dujardin, 2016), รูปร่างมอร์โฟเมตริกส์ส่วนปีกของแมลงจำพวก tsetse fly (Kaba et al., 2017), ศึกษารูปร่างทางสัณฐานวิทยาของไขในแมลงเทอร์โตมินี (Santillán-Guayasamín, Villacís, Grijalva, & Dujardin, 2017), วิเคราะห์รูปร่างทางสัณฐานวิทยาของปีกแมลงวันคอกสัตว์ (Changbunjong, Sumruayphol, Weluwanarak, Ruangsittichai, & Dujardin, 2016) เป็นต้น จากมุมมองของผู้ใช้คุณสมบัติที่น่าสนใจของโปรแกรมนี้อาจไม่ต้องดาวน์โหลดไม่มีการติดตั้งไม่มีการกำหนดค่าและการอัปเดตอัตโนมัติ เนื่องจาก XYOM สามารถเข้าถึงได้ผ่านเว็บเบราว์เซอร์เฟสมาตรฐาน จึงคาดว่าจะช่วยให้กระบวนการเรียนรู้ง่ายขึ้นและเร็ว (S. Dujardin & Dujardin, 2019)



ภาพที่ 9 โปรแกรม Tps series

ที่มา: <https://tpsutil.software.informer.com/>



ภาพที่ 10 โปรแกรม C L I C package

ที่มา: <https://www.scoop.it/topic/morphometrics>

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการใช้งานโปรแกรม TPS, CLIC package และ XYOM

การใช้งานโปรแกรม	TPS	CLIC package	XYOM
ความหลากหลายของ การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ	✓	✓	✓
ใช้งานง่าย	✗	✗	✓
ฟรีโปรแกรม	✓	✓	✓
ไม่ต้องติดตั้งโปรแกรม	✗	✗	✓
อัปเดตอัตโนมัติ	✗	✗	✓
ปรับปรุงการใช้งานล่าสุด	✗	✗	✓
ความนิยมในการใช้งาน	✓	✓	✓

2.6.4 การวิเคราะห์ค่าสถิติเบื้องต้น

Centroid size เป็นสแควร์รูทของผลรวมระยะทางยกกำลังสองของจุดกำหนดทั้งหมดจากเซนทรอยด์ (ศูนย์กลางของแรงโน้มถ่วงซึ่งเป็นตำแหน่งที่ได้มาโดยเฉลี่ยพิกัด x และ y ของ จุดกำหนดทั้งหมด) เป็นการวัดขนาดที่ใช้กันอย่างแพร่หลายใน geometric morphometrics เนื่องจากมีความสัมพันธ์กับตัวแปรรูปร่างทุกตัวโดยประมาณเมื่อจุดสังเกตถูกกระจายไปรอบ ๆ ตำแหน่งเฉลี่ยที่เป็นอิสระจากความแปรปรวนขนาดเดียวกันในทุกจุดสังเกตและในทุกทิศทาง เป็นการวัดขนาดที่ใช้ในการปรับขนาดของจุดสังเกตเพื่อให้สามารถพล็อตเป็นจุดในพื้นที่รูปร่างของ Kendall (ภาพที่ 12)

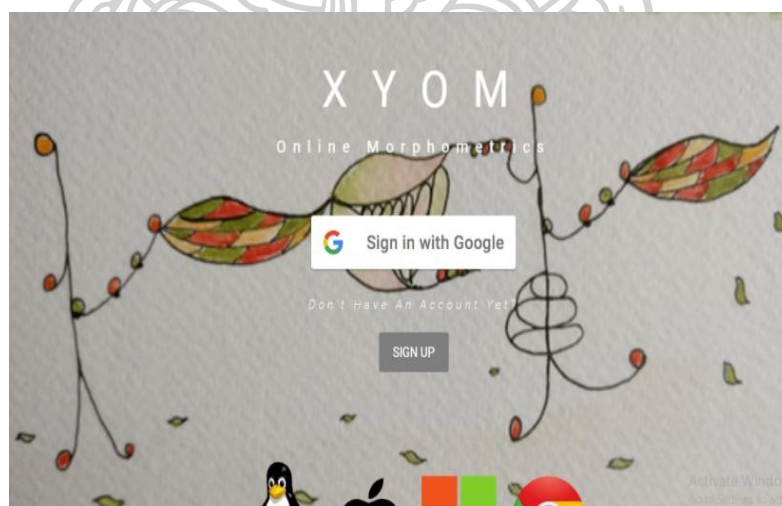
การวิเคราะห์จำแนกกลุ่ม (Discriminant analysis, DA) เป็นวิธีการทางสถิติที่ใช้วิเคราะห์จำแนกวัน (classification) ตั้งแต่ 2 วันขึ้นไป ด้วยการวิเคราะห์จากตัวแปรตาม 1 ตัวและตัวแปรอิสระตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้นอกจากจะสามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างวันได้

แล้ว ยังสามารถบอกธรรมชาติบางอย่างของการจำแนกวันได้ด้วย เช่น บอกได้ว่าตัวแปรใดจำแนกได้ดีมากกว่ากัน นั่นคือ สามารถบอกประสิทธิภาพ หรือน้ำหนักในการจำแนกของตัวแปรเหล่านั้น การวิเคราะห์จำแนกวันเป็นการใช้ตัวแปรพยากรณ์หรือตัวแปรอิสระที่ร่วมกันพยากรณ์ตัวแปรตาม ซึ่งเป็นเทคนิคทางสถิติที่คล้ายคลึงกับการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ (Multiple Regression Analysis)

ข้อตกลงเบื้องต้นของการวิเคราะห์ตัวแปรอิสระมีการแจกแจงปกติหลายตัวแปร (Normality of Independent Variables) ตรวจสอบได้จากการแจกแจงปกติแบบตัวแปรเดียว (Univariate Normal Distribution) โดยแยกทำการตรวจสอบตัวแปรอิสระทีละตัว หากพบว่าตัวแปรอิสระทุกตัวมีการแจกแจงปกติ ก็มีความน่าจะเป็นสูงที่จะมีการแจกแจงแบบปกติหลายตัวแปรด้วยหรืออาจจะตรวจสอบการแจกแจงแบบปกติหลายตัวแปรด้วยข้อมูลสุดโต่งแบบหลายตัวแปร (Multivariate Outliers) จากการวิเคราะห์ Mahalanobis Distances และถ้าพบว่ามีข้อมูลสุดโต่งแบบหลายตัวแปร ก็มีความน่าจะเป็นสูงที่จะมีการแจกแจงแบบปกติหลายตัวแปรด้วย

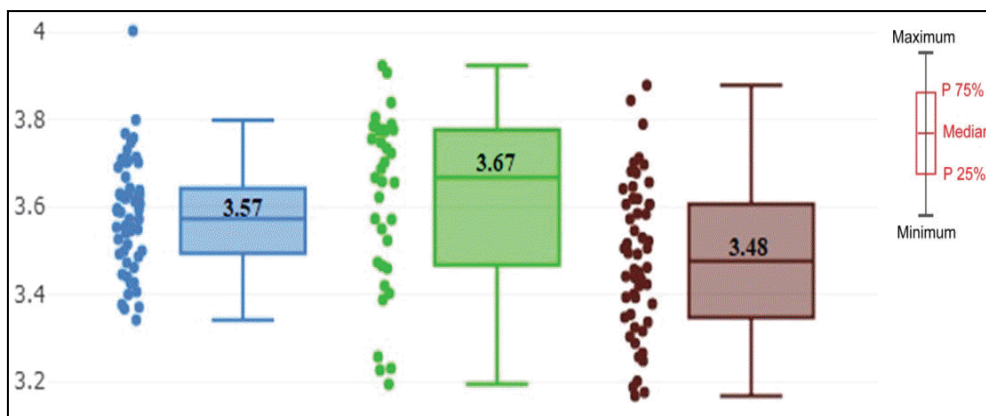
ลักษณะข้อมูลและการเตรียมข้อมูลที่จะนำมาวิเคราะห์

1. แบ่งวันประชากรหรือวันตัวอย่างออกเป็นวันอย่างน้อย 2 วัน (ต้องทราบมาก่อนการวิเคราะห์ว่าจะแบ่งเป็นกี่วัน)
2. เลือกตัวแปรอิสระที่คาดว่าจะทำให้วันที่แบ่งไว้ในข้อ 1 แตกต่างกัน



ภาพที่ 11 โปรแกรม XYOM

ที่มา: <https://xyom.io/me>



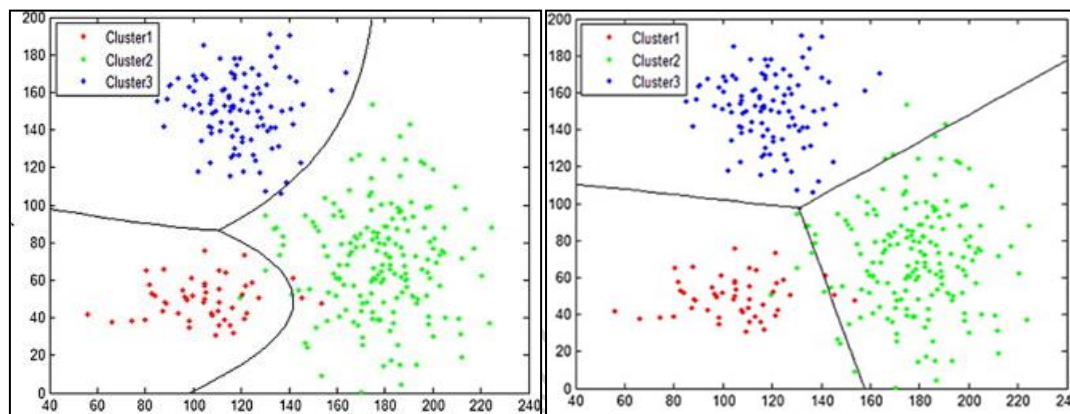
ภาพที่ 12 Centroid size แสดงความผันแปรของปีกระหว่างประชากรยุงก้นปล่อง *Anopheles (Cellia) epiroticu* ในแต่ละปี แสดงผลแบบ quartile boxes แต่ละ boxes แสดงค่ามัธยฐาน (median scores) ในแนวนอนซึ่งแยก quartile ลำดับที่ 25 และ ลำดับที่ 75 (Chaiphongpachara et al., 2019)

3. ตัวแปรตาม (ตัวแปรที่ถูกจำแนกหรือถูกทำนาย) เป็นตัวแปรที่แบ่งเป็นวันๆตั้งแต่ 2 วันขึ้นไป มีระดับการวัดในมาตรานามบัญญัติ (Nominal Scale) หรือมาตราเรียงอันดับ (Ordinal Scale) และถ้าหากมีข้อมูลอยู่ในระดับอื่นให้แปลงข้อมูลเป็นตัวแปรเชิงวันก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์

4. ตัวแปรอิสระ (ตัวแปรที่ใช้ในการจำแนกหรือตัวแปรที่ใช้ในการทำนาย) เป็นตัวแปรต่อเนื่องที่มีระดับการวัดอยู่ในมาตราอันตรภาค (Interval Scale) หรือมาตราอัตราส่วน (Ratio Scale) และถ้าหากมีข้อมูลอยู่ในระดับอื่นให้แปลงให้เป็นตัวแปรหุ่น (Dummy Coding) ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์

Mahalanobis distance เป็นการวัดระยะทางของความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรและรูปแบบที่แตกต่างกันซึ่งสามารถจำแนกและวิเคราะห์ด้วยค่าพื้นฐานและจุดอ้างอิง (ภาพที่ 13ก) วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประโยชน์อย่างมากในการกำหนดความคล้ายคลึงกันของชุดข้อมูลที่ได้จากการวัดตัวอย่างที่ทราบค่าวิธีนี้ดีกว่า Euclidean distance (ระยะทางปกติระหว่างจุดสองจุดในแนวเส้นตรง) (ภาพที่ 13ข) เพราะใช้ค่าการกระจายตัวของจุดที่สัมพันธ์กันนำไปสู่การการแจกแจงคะแนน (สหสัมพันธ์) วิธีนี้จำแนกวันที่แตกต่างกันโดยการสังเกต ผลของการใช้อัลกอริธึมนี้ (กับ GIS) คือภาพเดี่ยวกราฟิกส์แรสเตอร์ (ภาพที่ประกอบด้วยจุดสีต่างๆที่มีจำนวนคงที่ตายตัว) ที่มีค่าของระยะห่างทางเชิงนิเวศน์ (Ecological Distance) จากสปีชีส์ที่มีระยะทางเพิ่มขึ้น พิกเซลที่เหมาะสมก็จะน้อยลง นอกจากนี้ Mahalanobis distance ใช้คำนวณค่าเฉลี่ย, ค่าความแปรปรวนและค่าความแปรปรวนร่วมของตัวแปรที่วัดได้ วิธีนี้นับช่วงของการยอมรับได้ (ความแปรปรวน) ระหว่างตัวแปร กรณีตัวแปรกระจายตัว

แบบปกติ ข้อมูลจะเปลี่ยนเป็นค่าความน่าจะเป็นโดยใช้ฟังก์ชันความหนาแน่น (Mahalanobis, 1936), (Zhao, Li, & Zhao, 2015)



(ก) (ข)

ภาพที่ 13 ขอบเขตของวัน (Clusters' boundaries)

โดยการใช้ (ก) Mahalanobis distance และ (ข) Euclidean distance (Zhao et al., 2015)

2.7 กรอบแนวคิดงานวิจัย

ตัวแปรต้น : Cephalopharyngeal skeleton หนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

ตัวแปรตาม : อายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

ตัวแปรควบคุม : หนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เลี้ยงใน

ห้องปฏิบัติการสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยศิลปากร

ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65% โดยอาหารที่ใช้เลี้ยงหนอนคือ เนื้อปลาหุส

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย เพื่อตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จากโครงสร้างกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์

3.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

1. กรงเลี้ยงแมลงวันตัวเต็มวัย ขนาด 30x30x30 cm
2. กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)
3. กระจกสไลด์ ขนาด 25.4x76.2 mm. (Huida, China)
4. กระดาษชำระ เพื่อเช็ดทำความสะอาด และวางหนอน
5. ขวดแก้วสำหรับใส่สารเคมี (Schott Duran)
6. ซีลี้อยเลี้ยงหนอน
7. งานแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15x100 mm
8. โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate) (MaGarrett)
9. ถูมียาง (ไทยรับเบอร์ลาเท็กซ์คอร์ปอเรชั่น, Thailand)
10. ถังพลาสติกสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 17 cm.
11. ถ้วยใส่น้ำสำหรับตัวเต็มวัย
12. นาฬิกาจับเวลา
13. น้ำยา permount
14. ปีกเกอร์ขนาด 100 ml
15. ปลายุสำหรับเลี้ยงตัวอ่อน (ตลาดไท, ปทุมธานี)
16. ปากคีบ (forceps)
17. ไขมีด
18. ฟองน้ำชุบน้ำเลี้ยงตัวเต็มวัย
19. เวอร์เนียคาลิเปอร์ (Vernier Caliper)
20. สมุดบันทึก
21. หลอดปั่นขนาด 1.5 ml
22. หน้ากากอนามัย

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Olympus, Japan)
2. คอมพิวเตอร์ (microsoft word 2010)
3. เครื่องชั่งสาร 3 ตำแหน่ง (Precisa, United Kingdom)
4. ตู้เย็น (Sanyo, Japan)
5. โปรแกรม XYOM (<https://xyom.io/me>)

3.3 ประชากรศึกษา

แมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เลี้ยงในห้องปฏิบัติการสาขาชีววิทยาคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

3.4 เก็บรวบรวมข้อมูลในการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยดำเนินการทดลองจำนวน 10 ขั้นตอน

(1) เลี้ยงแมลงวันหัวเขียวระยะตัวเต็มวัย คละเพศ จำนวน 200 ตัว/กรง จำนวน 2 กรง วางจานแก้วซึ่งบรรจุน้ำเต้าหูผง 28 กรัม ผสมกับน้ำตาลทราย 5 กรัม เพื่อเป็นอาหารของตัวเต็มวัยและวางจานแก้วซึ่งบรรจุหัวปลาสดลงในกรง เพื่อให้แมลงวันหัวเขียววางไข่ (ภาพที่ 14)

(2) เก็บจานแก้วซึ่งบรรจุหัวปลาที่มีไข่จำนวน 300-500 ฟอง ออกจากกรงและนำไปใส่ในถังพลาสติก ซึ่งบรรจุขี้เลื่อยเพื่อทำการฟักไข่ออกเป็นหนอนวันที่ 1 บันทึกผล (ภาพที่ 15)

(3) สุ่มเก็บหนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3 และหนอนวันที่ 4 โดยการใช้ปากคีบจำนวน 10 ตัวต่อวัน บันทึกผล (ภาพที่ 16) ส่วนหนอนที่เหลืออยู่ เลี้ยงให้เข้าสู่ระยะดักแด้และระยะตัวเต็มวัยตามลำดับ บันทึกผล

(4) ต้มหนอนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที (ภาพที่ 17)

(5) วัดขนาดความยาวของหนอนแต่ละตัวโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ และชั่งน้ำหนักของหนอนครั้งละ 10 ตัว โดยการใช้เครื่องชั่งสาร 3 ตำแหน่ง (Precisa, United Kingdom) บันทึกผล (ภาพที่ 18)

(6) แช่หนอนแต่ละตัวในสารละลายโซเดียมโบคาร์บอเนตเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง (ภาพที่ 19)

(7) นำหนอนที่เก็บได้มาทำการดึง cephalopharyngeal skeleton โดยการใช้ที่คีบปลายแหลมปากขนาดเล็ก วาง cephalopharyngeal skeleton ลงบนสไลด์แก้ว หยดด้วยน้ำยา permount แล้วปิดด้วย cover slip (ภาพที่ 20)

(8) ถ่ายรูป cephalopharyngeal skeleton ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงติดกับกล้องดิจิทัลที่กำลังขยาย 40X เท่า จำนวน 400 ภาพ (ภาพที่ 21)

(9) อัปโหลดภาพเข้า Google Drive และเข้า โปรแกรม XYOM (<https://xyom.io/me>) (ภาพที่ 22)

(10) กำหนดจุดแลนมาร์คของ cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharygeal sclerite จำนวน 13, 8 และ 7 ตำแหน่ง ตามลำดับ (ภาพที่ 23)

(11) วิเคราะห์ ค่ากลาง (Median) \pm ค่าความคลาดเคลื่อน ของ cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharygeal sclerite ด้วย Centroid Sizes

(12) วิเคราะห์ระยะห่างระหว่างวัน ของ cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharygeal sclerite ด้วย Discriminant Analysis (DA)

(13) วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharygeal sclerite ด้วย Mahalanobis distances

(14) สรุปผลการทดลอง



ภาพที่ 14 การเลี้ยงแมลงวันหัวเขียว ระยะตัวเต็มวัย ในกรง ซึ่งบรรจุงานแก้วใส่หัวปลาทุสด



ภาพที่ 15 เก็บหัวปลาทุซึ่งบรรจุไข่จำนวน 300-500 ฟอง ออกจากกรง



ภาพที่ 16 เก็บหนอนแมลงวันโดยการใช้อุปกรณ์



ภาพที่ 17 ต้มหนอนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที



ภาพที่ 18 วัดขนาดความยาวของหนอนแต่ละตัวโดยใช้เวอร์เนียคาลิเปอร์ และชั่งน้ำหนัก



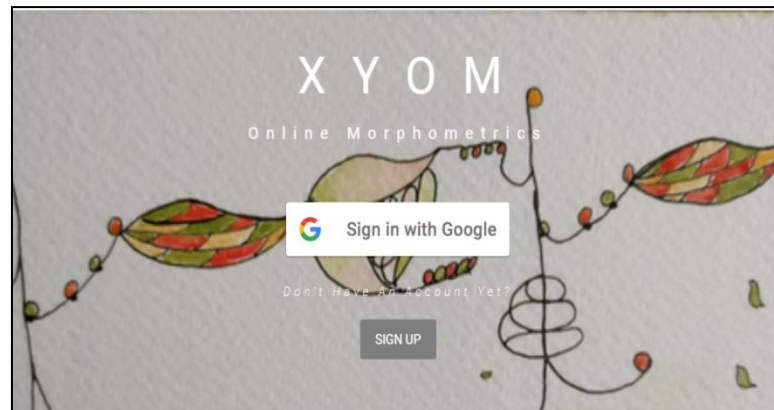
ภาพที่ 19 แช่หนอนในสารละลายโซเดียมโบคาร์บอเนต



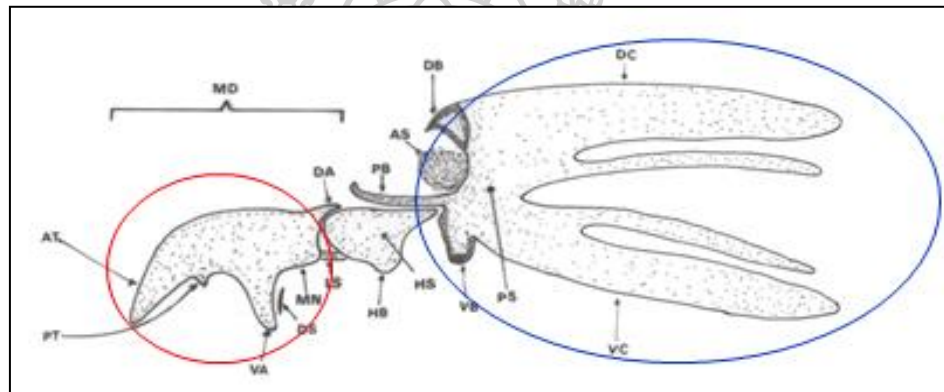
ภาพที่ 20 ตึง cephalopharyngeal skeleton โดยการใช้ที่คีบปลายแหลมวาง cephalopharyngeal skeleton ลงบนสไลด์แก้ว หยดด้วยน้ำยา permount แล้วปิดด้วย cover slip



ภาพที่ 21 ถ่ายรูป cephalopharyngeal skeleton ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงติดกับ กล้องดิจิทัลที่กำลังขยาย 40X เท่า จำนวน 400 ภาพ



ภาพที่ 22 อัปโหลดภาพเข้าสู่โปรแกรม XYOM (<https://xyom.io/me>)



ภาพที่ 23 Cephalopharyngeal skeleton ของหนอนวันที่ 3

AS = Anterior sclerite; AT = Apical tooth; DA = Dorsal apodeme; DB = Dorsal bridge; DC = Dorsal cornu; DS = Dental sclerite; HB = Hypopharyngeal bridge; HS = Hypopharyngeal sclerite; LS = Labial sclerite; MD = Mandible; MN = Mandibular neck; PB = Parastomal bar; PS = Pharyngeal sclerite; PT = Preapical tooth; VA = Ventral apodeme; VB = Ventral bridge; VC = Ventral cornu. (Frías, Hernández-Ortiz, Vaccaro, Bartolucci, & Salles, 2006)

บทที่ 4

ผลการศึกษา

การศึกษาการตรวจระบุอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* จาก โครงสร้างกระดูกเซฟาโลฟาริงซ์ โดยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ ได้ผลการศึกษาดังนี้

4.1 การเจริญเติบโต (Growth) ของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

เลี้ยงแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระยะตัวเต็มวัย ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 °C , ความชื้นสัมพัทธ์ 65% เพื่อศึกษาช่วงเวลาพัฒนาการของแมลงวันหัวเขียวแต่ละระยะ ผู้วิจัยเก็บระยะไข่, หนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3 และ หนอนวันที่ 4 จำนวน 10 ตัวต่อวัน แบบ 10 ซ้ำ บันทึกช่วงเวลาพัฒนาการทุกวัน ที่เวลา 10.00 น. บันทึกผล

เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันหัวเขียว ผู้วิจัยสุ่มเก็บและจำแนกหนอน ออกเป็น 4 วันดังนี้ หนอนวันที่ 1, หนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3 และ หนอนวันที่ 4 ตามลำดับ ต้มหนอนแต่ละวัน (10 ตัว/วัน) ที่อุณหภูมิ 90 °C เวลา 3 นาที ชั่งน้ำหนักและวัดความยาวของหนอน 10 ตัว/วัน บันทึกผล

ผลการศึกษา ระบุ น้ำหนักเฉลี่ยของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* วันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 เท่ากับ 0.4 ± 0.1 , 7.1 ± 0.6 , 23.8 ± 1.4 , และ 51.2 ± 5.8 mg ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าน้ำหนักเฉลี่ยของหนอนแมลงวันแปรตามการเจริญเติบโตของหนอนแต่ละวัน

ความยาวเฉลี่ยของหนอนแมลงวัน วันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 เท่ากับ 2.20 ± 0.04 , 6.91 ± 0.05 , 12.68 ± 0.63 และ 13.83 ± 0.64 mm ตามลำดับ ความยาวเฉลี่ยของหนอนแมลงวัน วันที่ 1 < วันที่ 2 < วันที่ 3 และ วันที่ 4 แสดงให้เห็นว่าความเฉลี่ยของหนอนวันที่ 1 วันที่ 2 วันที่ 3 แปรตามการเจริญเติบโตแต่ละวัน ยกเว้นในหนอนวันที่ 4

ตารางที่ 3 การเจริญเติบโต (Growth) ของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala*

อายุหนอน (วัน)	จำนวนตัวอย่าง	น้ำหนักเฉลี่ย \pm s.d.(mg)	ความยาวเฉลี่ย \pm s.d.(mm)
1	100	0.4 \pm 0.1	2.20 \pm 0.04
2	100	7.1 \pm 0.6	6.91 \pm 0.05
3	100	23.8 \pm 1.4	12.68 \pm 0.63
4	100	51.2 \pm 5.8	13.83 \pm 0.64

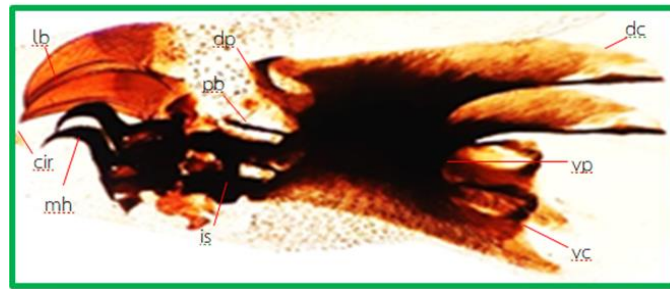
4.2 โครงสร้าง Cephalopharyngeal skeleton จากส่วนปากของหนอน *C. megacephala*

ด้วยวิธีทางสัณฐานวิทยา

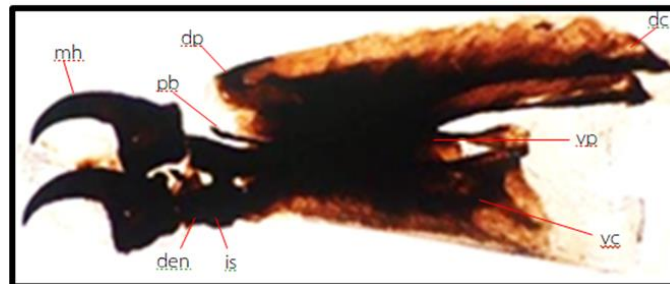
ส่วน cephalopharyngeal skeleton ของหนอนวันที่ 1 (ภาพที่ 24ก) ประกอบด้วย อวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ (cirri) ซึ่งพบมากบริเวณปลายสุด, ตะขอหลัง (backward hook) เชื่อมต่อกับ mouthhooks (mh), บริเวณ labrum (lb) ซึ่งมีลักษณะเป็นโครงสร้างแข็ง ทั้งสองส่วนมีการพัฒนาและเชื่อมต่อกับ parastomal bar (pb) บริเวณ ventical plate (vp) มีขนาดไม่กว้างมากและ dorsal cornua (dc) ยาวกว่า ventral cornua (vc) เล็กน้อย

ส่วน cephalopharyngeal skeleton ของหนอนวันที่ 2 (ภาพที่ 24ข) เหมือนกันกับหนอนวันที่ 1 ยกเว้นส่วน mouth hooks (mh) จะมีขนาดกว้างและหนาขึ้นเริ่มมีการพัฒนาของ dental sclerite (den) ส่วน parastomal bar (pb) มีรูปร่างเรียวยาวและงอขึ้นเล็กน้อย dorsal bridge (db) ยื่นออกมายาวกว่า parastomal bar (pb) และ dorsal cornua (dc) ยาวกว่า ventral cornua (vc) อย่างมาก

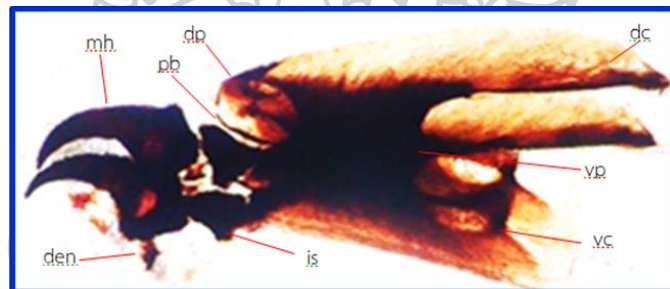
ส่วน cephalopharyngeal skeleton ของหนอนวันที่ 3 (ภาพที่ 24ค) และ หนอนวันที่ 4 (ภาพที่ 24ง) มีการพัฒนามากที่สุดบริเวณด้านหลังของ mouthhooks (mh) จะมีขนาดกว้างและหนามากกว่าในหนอนวันที่ 2 ส่วน dental sclerite (den) มีการพัฒนาและแยกออกจากฐานของ mouthhooks (mh) ส่วน labial sclerite (ls) ได้รับการพัฒนาอย่างสมบูรณ์และงอลงด้านล่างส่วน intermediate sclerite (is) มีรูปร่างคล้ายถ้วยขนาดใหญ่ parastomal bar (pb) เรียวโค้งขึ้นไปทางด้านบน dorsal bridge (db) หดตัวลงและมีความยาวเท่ากับ parastomal bar (pb) บริเวณ dorsal cornua (dc), ventical plate (vp) และ ventral cornua (vc) มีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้น



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 24 โครงสร้างของ Cephalopharyngeal skeleton จากหนอนแมลงวันหัวเขียว (ก) วันที่ 1, (ข) วันที่ 2, (ค) วันที่ 3, และ (ง) วันที่ 4 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงกำลังขยาย 400; as, (accessory sclerite); cir, (cirri); db, (dorsal bridge); dc, (dorsal cornua); den, (dental sclerite); is, (intermediate sclerite); lb, (labrum); ls, (labial sclerite); mh, (mouthhooks); pb, (parastomal bar); vc, (ventral cornua); vp, (ventral plate)

4.3 การจำแนกอายุของหนอนแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ใน

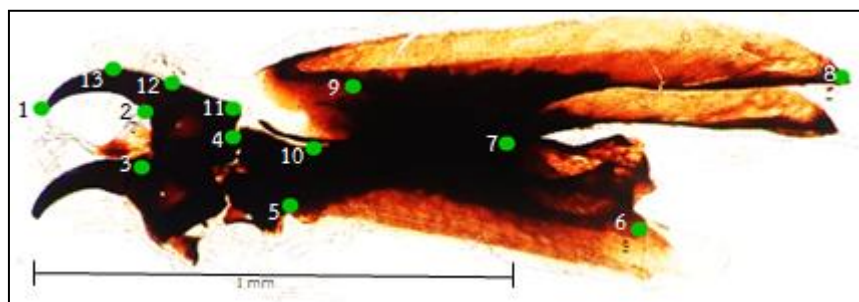
ห้องปฏิบัติการด้วยวิธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์ โดยการใช้ cephalopharyngeal skeleton

วางภาพ cephalopharyngeal skeleton กำหนดจุดแลนด์มาร์ค จำนวน 13 จุด ต่อมา เลือกเฉพาะ mandible และ pharyngeal sclerite กำหนดจุดแลนด์มาร์ค จำนวน 8 จุดและจำนวน 7 จุด ตามลำดับ วิเคราะห์ข้อมูล cephalopharyngeal skeleton, mandible และ pharyngeal sclerite ด้วยวิธีทางสถิติโดยการใช้โปรแกรม XYOM

4.3.1 Cephalopharyngeal skeleton

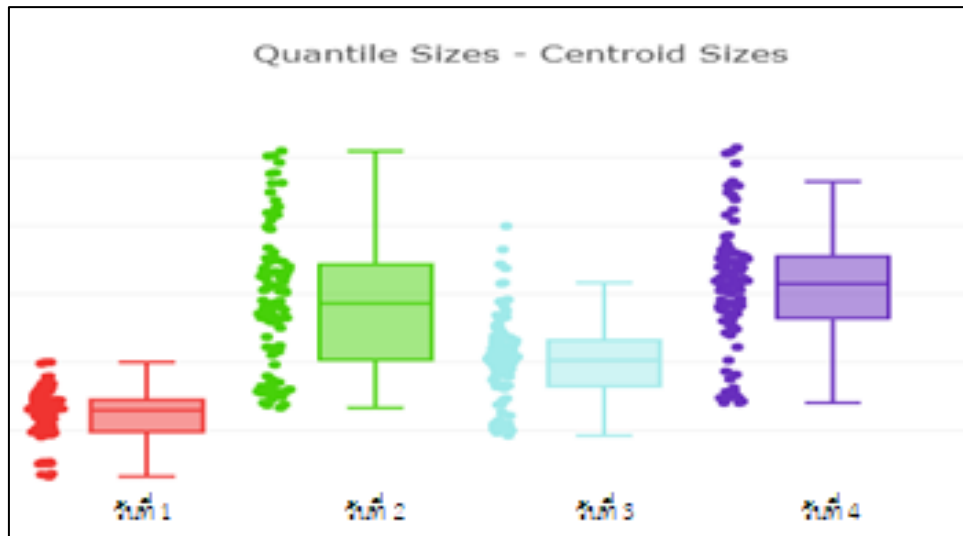
จุดแลนด์มาร์ค ของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอนแต่ละระยะ จำนวน 13 จุด ประกอบด้วย (1) apical hook, (2) preapical tooth, (3) ventral apodeme, (4) union between hypostomal sclerite & mouth hook, (5) hypopharyngeal bridge, (6) ventral cornu, (7) concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma), (8) dorsal cornu, (9) unknown, (10) base of parastomal bar, (11) dorsal apodeme of mouth hook, (12) unknown, และ (13) apical tooth (ภาพที่ 25)

Centroid size แสดงมัธยฐาน \pm ค่าความคลาดเคลื่อนของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอนวันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 เท่ากับ 4.589 ± 0.07 , 7.721 ± 0.07 , 6.054 ± 0.07 และ 8.302 ± 0.07 ตามลำดับ (ภาพที่ 26 และ ตารางที่ 4) Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอนวันที่ 1 แยกออกจากหนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3, หรือ หนอนวันที่ 4 อย่างชัดเจน ในทำนองเดียวกัน หนอนวันที่ 2 แยกออกจาก หนอนวันที่ 3, หรือ หนอนวันที่ 4 อย่างชัดเจนอย่างไรก็ตาม DA ไม่สามารถแยกหนอนวันที่ 3 ออกจาก หนอนวันที่ 4 (ภาพที่ 27) Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอนแต่ละวันแยกออกจากกันอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตาราง 5)



ภาพที่ 25 จุดแลนด์มาร์ค ของ Cephalopharyngeal skeleton จากหนอนทุกวัน

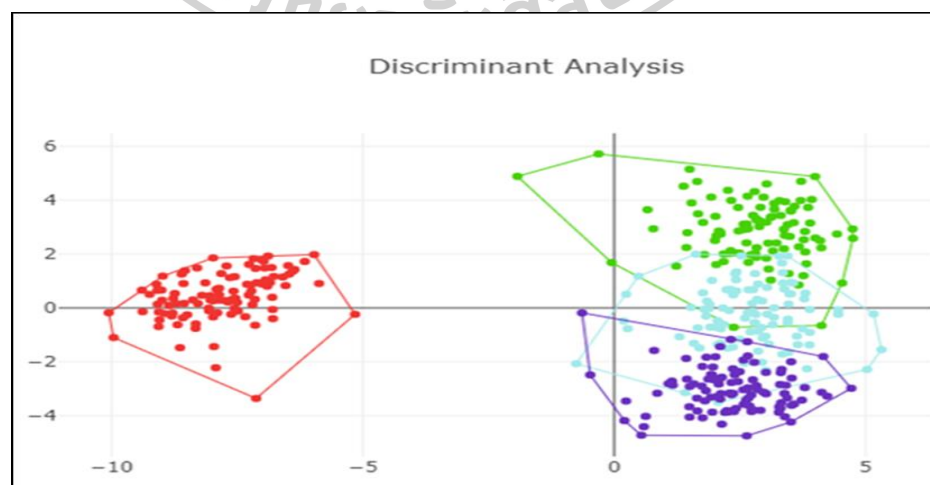
สเกล 1 bar = ความยาว 1 mm



ภาพที่ 26 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 4 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ cephalopharyngeal skeleton จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

อายุหนอน (วัน)	มัธยฐาน \pm s.d.	ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด
1	4.589 \pm 0.07	2.642 – 5.995
2	7.721 \pm 0.07	4.660 – 12.193
3	6.054 \pm 0.07	3.045 – 9.990
4	8.302 \pm 0.07	4.804 – 12.287



ภาพที่ 27 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ cephalopharyngeal skeleton ระหว่างวันของหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 5 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ cephalopharyngeal skeleton ระหว่างวันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM

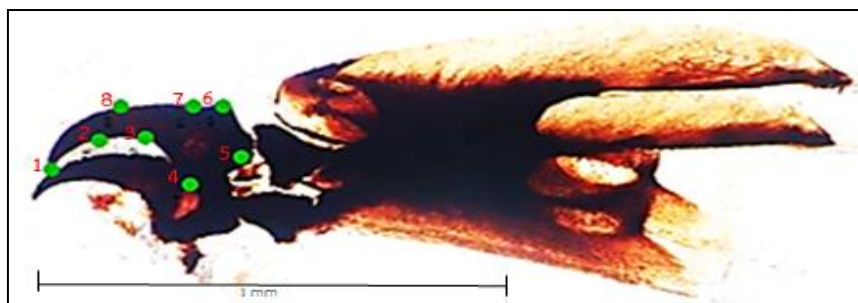
อายุหนอน (วัน)	1	2	3	4
1	-	10.914*	10.527*	10.727*
2		-	3.556*	5.964*
3				2.913*
4				-

* แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

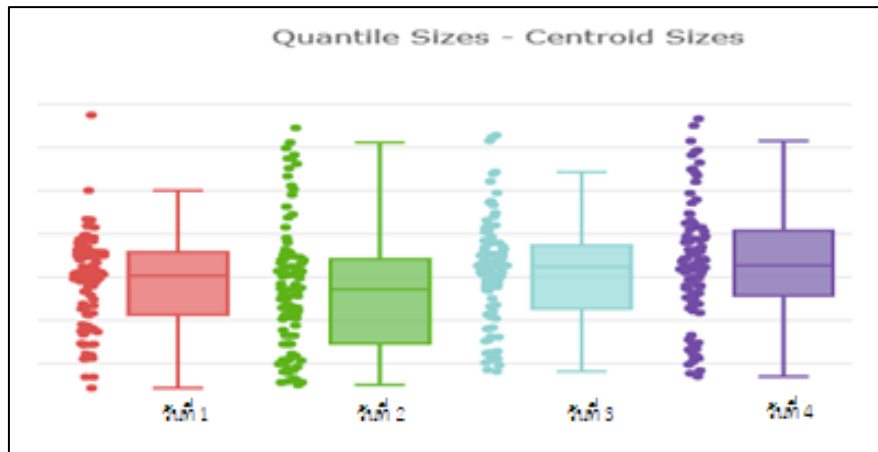
4.3.2 Mandible

จุดแลนด์มาร์ค ของ Mandible จากหนอนแต่ละระยะ จำนวน 8 จุด ประกอบด้วย (1) apical hook, (2) unknown, (3) preapical tooth, (4) ventral apodeme, (5) mandibular neck, (6) dorsal apodeme, (7) unknown และ (8) apical tooth (ภาพที่ 28)

Centroid size แสดงมีรยฐาน \pm ค่าความคลาดเคลื่อนของ mandible จากหนอนวันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 เท่ากับ 1.206 ± 0.23 , 1.142 ± 0.41 , 1.248 ± 0.14 และ 1.255 ± 0.12 ตามลำดับ (ภาพที่ 29 และ ตารางที่ 6) Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ mandible จากหนอนวันที่ 1 แยกออกจากหนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3, หรือ หนอนวันที่ 4 อย่างชัดเจน ในทางตรงกันข้ามระยะห่างของ mandible จากหนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3, หรือ หนอนวันที่ 4 ไม่สามารถแยกออกจากกันได้ (ภาพที่ 30) Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ mandible จากหนอนแต่ละวันสามารถแยกออกจากกันอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตาราง 7)



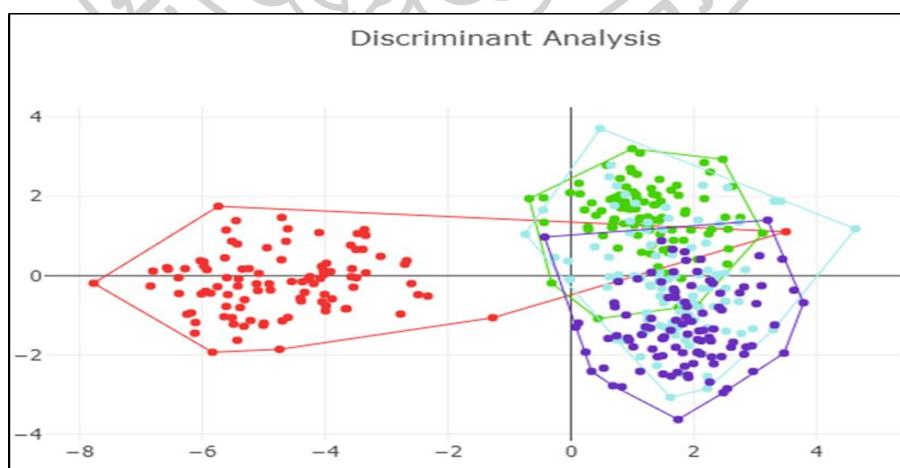
ภาพที่ 28 จุดแลนด์มาร์ค ของ Mandible จากหนอนทุกระยะ สเกล 1 bar = ความยาว 1 mm



ภาพที่ 29 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Mandible จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 6 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Mandible จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

อายุหนอน (วัน)	มัธยฐาน \pm s.d.	ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด
1	1.206 \pm 0.23	0.686 – 1.949
2	1.142 \pm 0.41	0.700 – 1.890
3	1.248 \pm 0.14	0.763 – 1.856
4	1.255 \pm 0.12	0.740 – 1.932



ภาพที่ 30 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ Mandible ระหว่างวันของหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 7 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ Mandible ระหว่างวันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM

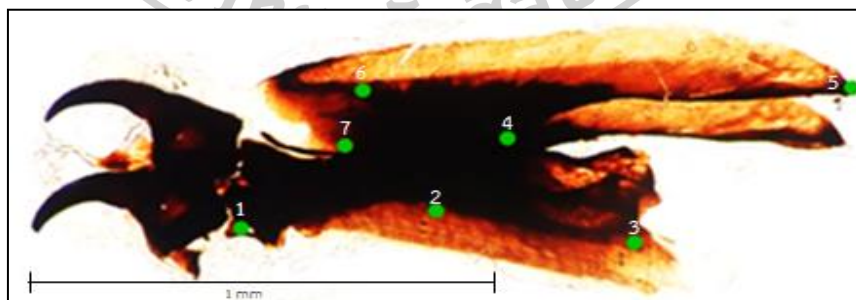
อายุหนอน (วัน)	1	2	3	4
1	-	6.124*	6.417*	6.626*
2		-	2.195*	2.822*
3				2.022*
4				-

* แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

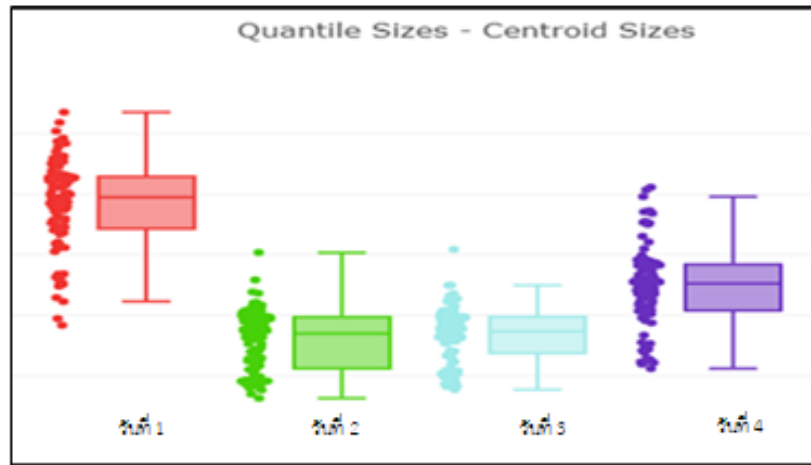
4.3.3 Pharyngeal sclerite

จุดแลนด์มาร์ค ของ Pharyngeal sclerite จากหนอนแต่ละระยะ จำนวน 7 จุด ประกอบด้วย (1) labial sclerite, (2) unknown, (3) ventral cornu, (4) concavity, (5) dorsal cornu, (6) unknown และ (7) base of parastomal bar (ภาพที่ 31)

Centroid size แสดงมีฐาน \pm ค่าความคลาดเคลื่อนของ pharyngeal sclerite จากหนอนวันที่ 1, วันที่ 2, วันที่ 3, และ วันที่ 4 เท่ากับ) 1.206 ± 0.23 , 1.142 ± 0.41 , 1.248 ± 0.14 และ 1.255 ± 0.12 ตามลำดับ (ภาพที่ 32 และ ตารางที่ 8) Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ pharyngeal sclerite จากหนอนแต่ละวันไม่ชัดเจน (ภาพที่ 33) Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ pharyngeal sclerite จากหนอนแต่ละวันสามารถแยกออกจากกันอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตาราง 9)



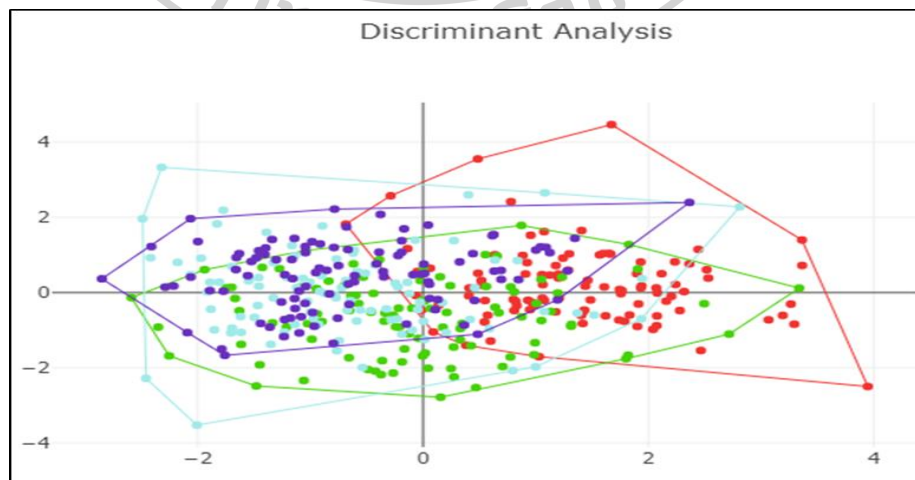
ภาพที่ 31 จุดแลนด์มาร์คของ Pharyngeal sclerite จากหนอนทุกระยะสเกล 1 bar = ความยาว 1mm



ภาพที่ 32 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Pharyngeal sclerite จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 8 Centroid Sizes แสดง มัธยฐาน (Median) และค่าต่ำสุด-สูงสุด (Minimum-Maximum) ของ Pharyngeal sclerite จากหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

อายุหนอน (วัน)	มัธยฐาน \pm s.d.	ค่าต่ำสุด-ค่าสูงสุด
1	2.437 \pm 0.11	1.416 – 3.177
2	1.347 \pm 0.11	0.812 – 2.018
3	1.364 \pm 0.11	0.884 – 2.043
4	1.761 \pm 0.09	1.058 – 2.557



ภาพที่ 33 Discriminant Analysis (DA) แสดงระยะห่างของ Pharyngeal sclerite ระหว่างวันของหนอน *C. megacephala* ด้วยโปรแกรม XYOM

ตารางที่ 9 Mahalanobis distances แสดงค่าความแปรปรวนของ Pharyngeal sclerite ระหว่างวันสองวัน ด้วยโปรแกรม XYOM

อายุหนอน (วัน)	1	2	3	4
1	-	1.736*	2.123*	2.155*
2		-	1.146*	1.260*
3				0.930*
4				-

* แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การใช้รูปร่าง (shape) ของ mandible, pharyngeal sclerite หรือ cephalopharyngeal skeleton เปรียบเทียบค่าความแปรปรวนระหว่างวันโดยการใช้ค่าสถิติของ Mahalanobis distances ระบุ หนอนวันที่ 1 แยกออกจากหนอนวันที่ 2, หนอนวันที่ 3 หรือ หนอนวันที่ 4 อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในทำนองเดียวกัน หนอนวันที่ 2 สามารถแยกออกจากหนอนวันที่ 3 หรือ หนอนวันที่ 4 อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ หนอนวันที่ 3 สามารถแยกออกจากหนอนวันที่ 4 อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 วิเคราะห์รูปร่าง Mandible, Pharyngeal sclerite, cephalopharyngeal skeleton ในหนอนระหว่างวัน โดยการใช้ Mahalanobis ด้วยโปรแกรม XYOM

Shape	Mahalanobis Distance between Day					
	1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	2 vs 3	2 vs 4	3 vs 4
Mandible	6.124*	6.417*	6.626*	2.195*	2.822*	2.022*
Pharyngeal sclerite	1.736*	2.123*	2.155*	1.141*	1.260*	0.930*
Cephalopharyngeal skeleton	10.914*	10.527*	10.727*	3.556*	5.964*	2.913*

* แสดงค่าความแตกต่างอย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

การสำรวจแมลงวันที่เกี่ยวข้องกับศพและใช้เป็นดัชนีบ่งบอกเวลาตายที่พบในประเทศไทย คือ หนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* พบมากที่สุด มากกว่า *C. rufifacies* มากกว่า *S. ruficornis* (เผด็จ สิริยะเสถียร, 2005) การที่จะนำข้อมูลของแมลงวันมาใช้ประโยชน์ในการประเมินระยะเวลาหลังการตาย (Badenhorst & Villet, 2018) จำเป็นต้องมีความรู้เกี่ยวกับรูปร่างลักษณะ และวงจรชีวิตของแมลงวันเป็นอย่างดี

การศึกษากาการเจริญเติบโตของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ผู้วิจัยพบค่าความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 1 และ วันที่ 2 สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าของ (ศรีัญญา จารย์ลี, 2551), (Bansode, More, Zambare, & Fahd, 2016) ในขณะที่ค่าความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 3 แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ความหนาแน่นของตัวหนอน (Shiao & Yeh, 2008) และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง (Li et al., 2014) ผลการศึกษานี้พบว่าที่อุณหภูมิ $29 \pm 1^\circ\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 65% การเจริญเติบโตของหนอนทั้งหมดวันที่ 1 ถึง วันที่ 4 แปรตามน้ำหนักเฉลี่ยและความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 1 ถึง วันที่ 4 โดยความยาวเฉลี่ยของหนอนวันที่ 3 ไม่แตกต่างกับ หนอนวันที่ 4

การเตรียมจากส่วนหัวของหนอนแมลงวันหัวเขียว เพื่อใช้โครง Cephalopharyngeal skeleton ในการตรวจหนอน *C. megacephala* ผู้วิจัยประยุกต์ใช้เทคนิคของ Elisa & Zuha (2018) และ Nateeworanart (2010) กล่าวโดย ผู้วิจัยแช่ตัวหนอนใน 70 % EtOH เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ในขณะที่วิธีของ Elisa & Zuha (2018) แช่หนอนใน 10 % KOH เป็นเวลา 5 นาที, 10 % KOH เป็นเวลา 30 วินาที, 10% acetic acid เป็นเวลา 30 วินาที และ 70 % EtOH เป็นเวลา 3 นาที ผลการศึกษา หนอนมีสีดำทั้งตัว เนื้อเยื่อของส่วนหัวและลำตัวขาดแยกออกเป็นส่วนๆ ดึง Cephalopharyngeal skeleton ออกจากส่วนหัว นำไป mount slide ส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 400 เท่า ผลการทดลองพบว่า Cephalopharyngeal skeleton มีสีดำ ภาพที่ได้ไม่คมชัด ต่อมา ผู้วิจัยแช่ตัวหนอนใน 3% NaHCO₃ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ผลการศึกษา พบว่า การแช่ หนอนแมลงวันหัวเขียว ในน้ำยา 3% โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO₃) เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ตัว หนอนสีขาวคงสภาพ ภาพ CS ที่ได้มีคมชัด แสดงว่า น้ำยา 3% โซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO₃) เหมาะที่จะใช้ในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างใส (clearing) เนื่องจากวิธีนี้ง่าย ราคาถูกกว่า รายงานก่อนหน้า (Eliza & Zuha, 2018), (Nateeworanart, Boonchu, & Vitta, 2010)

การวิเคราะห์ Centroid size แสดง รูปร่างของ cephalopharyngeal skeleton, mandible หรือ pharyngeal sclerite เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตในหนอนทุกวัน Discriminant Analysis (DA) แสดงรูปร่างของ cephalopharyngeal skeleton เกี่ยวข้องกับการแยกหนอนแต่ละวันออกจากกัน ในทางตรงกันข้าม รูปร่างของ pharyngeal sclerite ไม่เกี่ยวข้องกับการแยกหนอนแต่ละวัน อย่างไรก็ตามรูปร่างของ mandible สามารถแยกหนอนวันที่ 1 เพียงวันเดียว การวิเคราะห์ Mahalanobis distances แสดง cephalopharyngeal skeleton, mandible หรือ pharyngeal sclerite แยกหนอนแมลงวันหัวเขียวแต่ละวันออกจากกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value < 0.05) ความแตกต่างระหว่างวัน มีประโยชน์ใช้เป็นเครื่องมือสำหรับการจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

ในการศึกษาครั้งนี้ Centroid sizes แสดงความแตกต่างของขนาดข้อมูล cephalopharyngeal skeleton จากตัวอ่อนหนอนทุกวัน สอดคล้องกับรายงานของ Sim & Zuha [2019] ในการจำแนกตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* นอกจากนี้ Centroid sizes แสดงความแตกต่างของขนาดข้อมูล Mandible และ Pharyngeal sclerite เช่นเดียวกับ cephalopharyngeal skeleton จากตัวอ่อนหนอนทุกวัน แสดงให้เห็นว่า Centroid sizes มีความสัมพันธ์กับช่วงเวลาพัฒนาการ

เปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton ของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ของรายงานวิจัยครั้งนี้กับรายงานของ Nunez & Liria [2016] ระบุ มีจุดแลนดมาร์ค เหมือนกัน 4 ตำแหน่ง คือ apical hook (ตำแหน่งที่ 1 = ตำแหน่งที่ 6), union between hypostomal sclerite & mouth hook (ตำแหน่งที่ 4 = ตำแหน่งที่ 5), concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma) (ตำแหน่งที่ 7 = ตำแหน่งที่ 3) และ base of parastomal bar (ตำแหน่งที่ 10 = ตำแหน่งที่ 8) ซึ่งตำแหน่งเหล่านี้ Nunez & Liria [2016] ใช้ในการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. albiceps*, *C. megacephala* และ *Lucilia cuprina* วงศ์ Calliphoridae เปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Cs ของตัวอ่อนหนอนวันที่ 1 ถึง วันที่ 4 ของรายงานวิจัยครั้งนี้กับรายงานของ Sim & Zuha [2019] ระบุ จุดแลนดมาร์ค เหมือนกัน 4 ตำแหน่ง คือ ventral cornu (ตำแหน่งที่ 6 = ตำแหน่งที่ 4), concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma) (ตำแหน่งที่ 7 = ตำแหน่งที่ 3), dorsal cornu (ตำแหน่งที่ 8 = ตำแหน่งที่ 2) และ base of parastomal bar (ตำแหน่งที่ 10 = ตำแหน่งที่ 5) ซึ่งตำแหน่งเหล่านี้ (Sim & Zuha, 2019) ใช้ในการจำแนกตัวอ่อนของหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* แสดงให้เห็นว่าจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton ของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* สามารถใช้ในการจำแนกชนิดของหนอนแมลงวันหัวเขียววงศ์ Calliphoridae และ ระบุวัยของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala*

Discriminant Analysis ระบุ การใช้ Mandible สามารถแยกหนอนวันที่ 1 ออกจากหนอนวันอื่นได้เพียงวันเดียวเปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Mandible กับจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton ของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระบุ จุดแลนดมาร์ค เหมือนกัน 7 ตำแหน่ง ได้แก่ apical hook (ตำแหน่งที่ 1 = ตำแหน่งที่ 1), preapical tooth (ตำแหน่งที่ 3 = ตำแหน่งที่ 2), ventral apodeme (ตำแหน่งที่ 4 = ตำแหน่งที่ 3), (6) dorsal apodeme (ตำแหน่งที่ 6 = ตำแหน่งที่ 11), unknow (ตำแหน่งที่ 7 = ตำแหน่งที่ 12), และ apical tooth (ตำแหน่งที่ 8 = ตำแหน่งที่ 13) แสดงให้เห็นว่าจุดแลนดมาร์คบน Mandible ของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* สามารถใช้ระบุตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* วันที่ 1 เท่านั้น

Discriminant Analysis ระบุ การใช้ Pharyngeal sclerite ไม่สามารถแยกหนอนแต่ละวันออกจากกันเปรียบเทียบจุดแลนดมาร์คบน Pharyngeal sclerite กับจุดแลนดมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton ของตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ระบุ จุดแลนดมาร์ค เหมือนกัน 5 ตำแหน่ง ได้แก่ ventral cornu (ตำแหน่งที่ 3 = ตำแหน่งที่ 6), concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma) (ตำแหน่งที่ 4 = ตำแหน่งที่ 7), dorsal cornu (ตำแหน่งที่ 5 = ตำแหน่งที่ 8), unknown (ตำแหน่งที่ 6 = ตำแหน่งที่ 9) และ base of parastomal bar (ตำแหน่งที่ 7 = ตำแหน่งที่ 10) รายงานของ (Sim & Zuha, 2019) ระบุตำแหน่งเหล่านี้ใช้ในการจำแนกหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* วันที่ 1 ถึง วันที่ 3 แสดงให้เห็นว่า Pharyngeal sclerite สามารถจำแนกหนอนวันที่ 1 ถึงวันที่ 3 ได้ อย่างไรก็ตามแต่ละวันมีความใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นการศึกษาวีธีจีโอเมทริกส์ มอร์โฟเมทริกส์สามารถตรวจระบุการเจริญเติบโตของหนอนโดยการใช้ cephalopharyngeal skeleton ซึ่งเป็นประโยชน์ในนิติเวชกีฏวิทยา

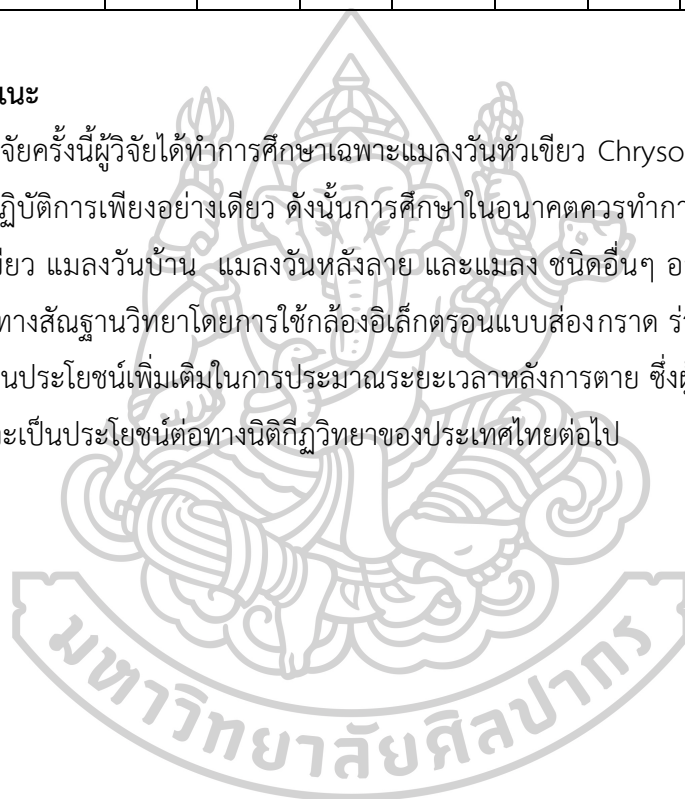
สรุปได้ว่าการใช้ Mahalanobis distance และ Centroid size สามารถจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียวได้ดีกว่าการใช้ Discriminant analysis และสามารถใช้กับส่วนต่างๆของ cephalopharyngeal skeleton ได้ดังสรุปในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 การจำแนกอายุหนอนแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* จากวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ	Centroid size			Discriminant analysis			Mahalanobis distance		
	1 vs 2	2 vs 3	3 vs 4	1 vs 2	2 vs 3	3 vs 4	1 vs 2	2 vs 3	3 vs 4
cephalopharyngeal skeleton	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
mandible	✓	✓	✓	✓	-	-	✓	✓	✓
phryngeal sclerite	✓	✓	✓	-	-	-	✓	✓	✓

5.2 ข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเฉพาะแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพียงอย่างเดียว ดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรทำการศึกษาเปรียบเทียบกับแมลงวันหัวเขียว แมลงวันบ้าน แมลงวันหลังลาย และแมลง ชนิดอื่นๆ อาจใช้วิธีทางอณูโมเลกุล และ/หรือ วิธีทางสัณฐานวิทยาโดยการใช้กล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด ร่วมในการจำแนก เพื่อใช้เป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์เพิ่มเติมในการประมาณระยะเวลาหลังการตาย ซึ่งผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยชิ้นนี้จะเป็นประโยชน์ต่อทางนิติวิทยาศาสตร์ของประเทศไทยต่อไป



ตารางที่ 12 เปรียบเทียบจุดแลนมาร์คบน Cephalopharyngeal skeleton จากตัวอ่อนหนอนแมลงวันหัวเขียววันที่ 3 วงศ์ Calliphoridae

Cephalopharyngeal skeleton		
นภาพร เถลิษชวลิต (รายงานฉบับนี้, 13 จุดแลนมาร์ค)	Sim & Zuha [2019] 5 จุดแลนมาร์ค	Nunez & Liria [2016] 8 จุดแลนมาร์ค
	(1) 50lypeal arc	(1) 50lypeal arc
(1) apical hook	ND.	(6) apical hook
(2) preapical tooth	ND.	ND.
(3) ventral apodeme	ND.	ND.
(4) union between hypostomal sclerite & mouth hook	ND.	(5) union between hypostomal sclerite & mouth hook
(5) hypopharyngeal bridge	ND.	ND.
(6) ventral cornu	(4) ventral cornu	(4) ventral cornu
(7) concavity of phryngeal sclerite (tentorail phragma)	(3) concavity of phryngeal sclerite (tentorail phragma)	(3) concavity of phryngeal sclerite (tentorail phragma)
(8) dorsal cornu	(2) dorsal cornu	(2) dorsal cornu
(9) unknown	ND.	
(10) base of parastomal bar	(5) base of parastomal bar	(8) base of parastomal bar
(11) dorsal apodeme of mouth hook	ND.	(7) dorsal apodeme of mouth hook
(12). unknown	ND.	ND.
(13) apical tooth	ND.	ND.

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบจุดแลนมาร์กบน Cephalopharyngeal skeleton, Mandible และ Pharyngeal sclerite

Cephalopharyngeal skeleton 13 จุดแลนมาร์ก	Mandible 8 จุดแลนมาร์ก	Pharyngeal sclerite 7 จุดแลนมาร์ก
ND.	ND.	(1) labial sclerite
(1) apical hook	(1) apical hook	ND.
ND.	ND.	(2) unknown
ND.	(2) unknown	ND.
(2) preapical tooth	(3) preapical tooth	ND.
(3) ventral apodeme	(4) ventral apodeme	ND.
ND.	(5) mandibular neck	ND.
(4) union between hypostomal sclerite & mouth hook	ND.	ND.
(5) hypopharyngeal bridge	ND.	ND.
(6) ventral cornu	ND.	(3) ventral cornu
(7) concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma)	ND.	(4) concavity of pharyngeal sclerite (tentorial phragma)
(8) dorsal cornu	ND.	(5) dorsal cornu
(9) unknown	ND.	(6) unknown
(10) base of parastomal bar	ND.	(7) base of parastomal bar
(11) dorsal apodeme of mouth hook	(6) dorsal apodeme	ND.
(12). unknown	(7) unknown	ND.
(13) apical tooth	(8) apical tooth	ND.

รายการอ้างอิง

- Al-Khshemawee, H., Agarwal, M., & Ren, Y. (2017). Evaluation of stable isotope $^{13}\text{C}_6$ -glucose on volatile organic compounds in different stages of Mediterranean fruit fly (Medfly) *Ceratitis Capitata* (Diptera: Tephritidae). *Entomology, Ornithology & Herpetology: Current Research*, 6(3), 1000195.
- Alfaro, C., Vacas, S., Zarzo, M., Navarro-Llopis, V., & Primo, J. (2011). Solid phase microextraction of volatile emissions of *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae): influence of fly sex, age, and mating status. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 298-306.
- Badenhorst, R., & Villet, M. H. (2018). The uses of *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)(Diptera: Calliphoridae) in forensic entomology. *Forensic sciences research*, 3(1), 2-15.
- Bansode, S., More, V., Zambare, S., & Fahd, M. (2016). Effect of constant temperature (20 0C, 25 0C, 30 0C, 35 0C, 40 0C) on the development of the Calliphorid fly of forensic importance, *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(3), 193-197.
- Bucholtz, J. (2019). Livor Mortis Provides Crucial Evidence for Investigators.
- Bunchu, N., Thaipakdee, C., Vitta, A., Sanit, S., Sukontason, K., & Sukontason, K. L. (2012). Morphology and developmental rate of the blow fly, *Hemipyrellia ligurriens* (Diptera: Calliphoridae): Forensic entomology applications. *Journal of parasitology research*, 2012.
- Canal, N. A., Hernández-Ortiz, V., Salas, J. O. T., & Selivon, D. (2015). Morphometric study of third-instar larvae from five morphotypes of the *Anastrepha fraterculus* cryptic species complex (Diptera, Tephritidae). *ZooKeys*(540), 41.
- Chaiphongpachara, T., & Laojun, S. (2019). Effectiveness of landmark-and semi-landmark-based geometric morphometric to identify four species of *Culex* mosquitoes in Thailand. *Journal of advanced veterinary and animal research*, 6(3), 278.
- Chaiphongpachara, T., Sriwichai, P., Samung, Y., Ruangsittichai, J., Vargas, R. E. M., Cui, L.,

- . . . Sumruayphol, S. (2019). Geometric morphometrics approach towards discrimination of three member species of *Maculatus* group in Thailand. *Acta tropica*, 192, 66-74.
- Changbunjong, T., Sumruayphol, S., Weluwanarak, T., Ruangsittichai, J., & Dujardin, J.-P. (2016). Landmark and outline-based geometric morphometrics analysis of three *Stomoxys* flies (Diptera: Muscidae). *Folia parasitológica*, 63, 1.
- Cooke, S. B., & Terhune, C. E. (2015). Form, function, and geometric morphometrics. *The Anatomical Record*, 298(1), 5-28.
- Dujardin, J.-P. (2008). Morphometrics applied to medical entomology. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(6), 875-890.
- Dujardin, J.-P., Kaba, D., Solano, P., Dupraz, M., McCoy, K., & Jaramillo-o, N. (2014). Outline-based morphometrics, an overlooked method in arthropod studies? *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 704-714.
- Dujardin, S., & Dujardin, J.-P. (2019). Geometric morphometrics in the cloud. *Infection, Genetics and Evolution*, 70, 189-196.
- Eliza, P., & Zuha, R. M. (2018). Preliminary assessment of cephalopharyngeal skeleton length and body length of *Hemipyrellia ligurriens* (Wiedemann)(Diptera: Calliphoridae) larvae as potential parameters to estimate minimum post mortem interval. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 8(1), 39.
- Espra, A. S., Tabugo, S. R. M., Torres, M. A. J., Gorospe, J. G., Manting, M. M. E., & Demayo, C. G. (2015). Describing dimorphism in wing shapes in the blowfly *Lucilia sericata* Meigen (Diptera: Calliphoridae) using geometric morphometrics. *Advances in Environmental Biology*, 9(19 S4), 64-71.
- Frederickx, C., Dekeirsschieter, J., Brostaux, Y., Wathelet, J.-P., Verheggen, F., & Haubruge, E. (2012). Volatile organic compounds released by blowfly larvae and pupae: New perspectives in forensic entomology. *Forensic Science International*, 219(1-3), 215-220.
- Frías, D., Hernández-Ortiz, V., Vaccaro, N., Bartolucci, A., & Salles, L. (2006). Comparative morphology of immature stages of some frugivorous species of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Israel Journal of Entomology*, 35(36), 423-457.
- Greenberg, B., & Kunich, J. C. (2002). *Entomology and the law: flies as forensic*

indicators: Cambridge University Press.

Hammer, Ø., & Harper, D. (2006). *Paleontological Data Analysis* Blackwell Publishing Malden. In: MA.

Kaba, D., Berté, D., Ta, B., Tellería, J., Solano, P., & Dujardin, J.-P. (2017). The wing venation patterns to identify single tsetse flies. *Infection, Genetics and Evolution*, 47, 132-139.

Kitthawee, S., & Dujardin, J.-P. (2016). The *Diachasmimorpha longicaudata* complex in Thailand discriminated by its wing venation. *Zoomorphology*, 135(3), 323-332.

Li, X., Yang, Y., Li, G., Li, H., Wang, Q., & Wan, L. (2014). The effect of dietary fat levels on the size and development of *Chrysomya megacephala* (Diptera: Calliphoridae). *Journal of Insect Science*, 14(1), 174.

Mahalanobis, P. C. (1936). *On the generalized distance in statistics*.

Nateeworanart, S., Boonchu, N., & Vitta, A. (2010). Cephalopharyngeal Skeleton Measurement of *Chrysomya megacephala*, Third Instar Larvae, Collected from Naresuan University, Phitsanulok Province. *Journal of the Medical Technologist Association of Thailand*, 38(1).

Nuñez-Rodríguez, J. A., & Liria, J. (2017). Geometric morphometrics sexual dimorphism in three forensically-important species of Blow Fly (Diptera: Calliphoridae). *Life: The Excitement of Biology*, 4(4), 272-284.

Nuñez, J. A., & Liria, J. (2016). Cephalopharyngeal geometric morphometrics in three blowfly species (Diptera: Calliphoridae).

Nuñez, J. A., & Liria, J. (2017). Sexual Wing Shape Dimorphism in *Piophilidae* (Linnaeus, 1758 Diptera: Piophilidae).

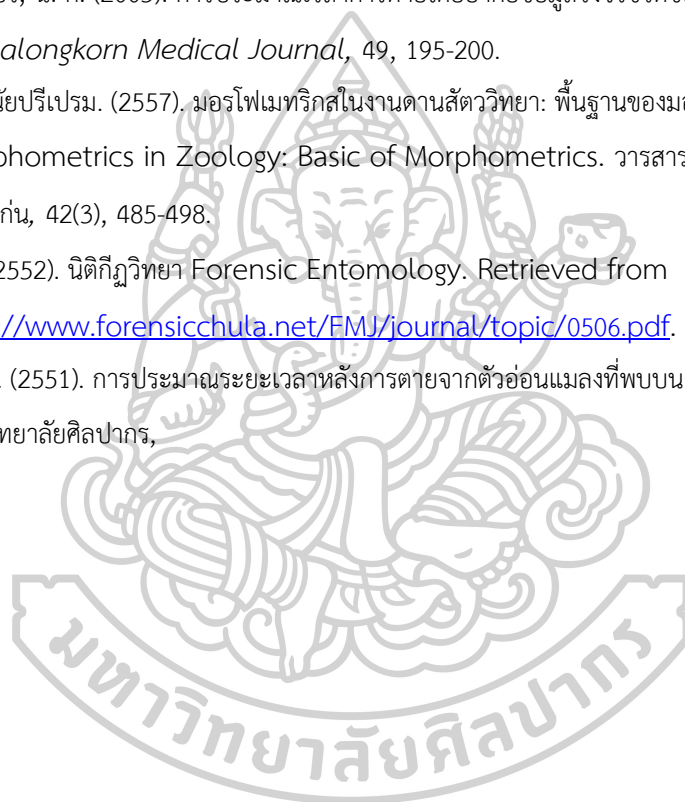
Preativatanyu, K., Eakachaiworrawut, N., Chutivongse, P., Sirisup, N., & Siriyasatien, P. (2010). Molecular identification of maggots captured from forensic cases. *Chula Med. J*, 54, 637-647.

Rabbani, A., & Zuha, R. M. (2017). Cephalopharyngeal skeleton morphometry of *Hypopygiopsis violacea* (Macquart)(Diptera: Calliphoridae): A preliminary assessment for its application in forensic entomology. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(51), 777-782.

Santillán-Guayasamín, S., Villacís, A. G., Grijalva, M. J., & Dujardin, J.-P. (2017). The

- modern morphometric approach to identify eggs of Triatominae. *Parasites & vectors*, 10(1), 1-10.
- Sharma, R., Garg, R. K., & Gaur, J. (2015). Various methods for the estimation of the post mortem interval from Calliphoridae: A review. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 5(1), 1-12.
- Shiao, S.-F., & Yeh, T.-C. (2008). Larval competition of *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* (Diptera: Calliphoridae): behavior and ecological studies of two blow fly species of forensic significance. *Journal of Medical Entomology*, 45(4), 785-799.
- Sim, L.-X., & Zuha, R. M. (2019). *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)(Diptera: Calliphoridae) development by landmark-based geometric morphometrics of cephalopharyngeal skeleton: a preliminary assessment for forensic entomology application. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 9(1), 55.
- Sontigun, N., Sukontason, K. L., Zajac, B. K., Zehner, R., Sukontason, K., Wannasan, A., & Amendt, J. (2017). Wing morphometrics as a tool in species identification of forensically important blow flies of Thailand. *Parasites & vectors*, 10(1), 229.
- Sukontason, K., Piangjai, S., Siri wattanarungsee, S., & Sukontason, K. L. (2008). Morphology and developmental rate of blowflies *Chrysomya megacephala* and *Chrysomya rufifacies* in Thailand: application in forensic entomology. *Parasitology Research*, 102(6), 1207-1216.
- Tarone, A. M., Jennings, K. C., & Foran, D. R. (2007). Aging blow fly eggs using gene expression: a feasibility study. *Journal of forensic sciences*, 52(6), 1350-1354.
- Valente-Aguiar, M. S., Magalhães, T., & Dinis-Oliveira, R. J. (2019). Suicide by Inhalation of Carbon Monoxide of Car Exhausts Fumes. *Current Drug Research Reviews Formerly: Current Drug Abuse Reviews*, 11(2), 145-147.
- Zelditch, M., & Swiderski, D. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. London: Elsevier Academic Press. 437 p.
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. (2012). *Geometric morphometrics for biologists: a primer*: Academic Press.
- Zhao, X., Li, Y., & Zhao, Q. (2015). Mahalanobis distance based on fuzzy clustering algorithm for image segmentation. *Digital Signal Processing*, 43, 8-16.

- Zhu, G., Ye, G., Hu, C., Xu, X., & Li, K. (2006). Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age. *Medical and veterinary entomology*, 20(4), 438-444.
- คม สุคนธสรณ์, ก. ส. (2548). แผลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย. In แผลงวันที่มีความสำคัญทางการแพทย์ในประเทศไทย เล่มที่ 1 (Vol. 3, pp. 59-84).
- ธีรภมล เพ็งสกุล. (2551). การจำแนกหนอนแมลงวันที่พบบนศพโดยอาศัยข้อมูลทางชีววิทยา และอนุวิทยา. จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย,
- เผด็จ สิริยะเสถียร, น. ศ. (2005). การประมาณเวลาการตายโดยอาศัยข้อมูลวงจรชีวิตของแมลงวันบนศพ. *Chulalongkorn Medical Journal*, 49, 195-200.
- พรพิมล เจียรนัยปริเปรม. (2557). มอร์โฟเมตริกในงานด้านสัตววิทยา: พื้นฐานของมอร์โฟเมตริกส Morphometrics in Zoology: Basic of Morphometrics. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 42(3), 485-498.
- วิสุทธิ์ ชะริโต. (2552). นิติกีฏวิทยา Forensic Entomology. Retrieved from <http://www.forensicchula.net/FMJ/journal/topic/0506.pdf>.
- ศรัญญา จารย์ลี. (2551). การประมาณระยะเวลาหลังการตายจากตัวอ่อนแมลงที่พบบนศพ. (ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร,





ภาคผนวก

ตารางที่ 1 ชนิดของแมลงที่ตรวจพบจากศพจำนวน 30 ศพ ทางภาคเหนือของประเทศไทย

Family	Species	Location			Total
		Forest	Outdoor	Indoor	
Order Diptera					
Calliphoridae	<i>Chrysomya megacephala</i>	11	3	6	20
	<i>Chrysomya rufifacies</i>	8	4	5	17
	<i>Chrysomya bezziana</i>	1	0	0	1
	<i>Chrysomya chain</i>	1	0	0	1
	<i>Chrysomya nigripes</i>	3	0	0	3
	<i>Chrysomya villenuevi</i>	6	0	1	7
	<i>Hemipyrellia ligurriens</i>	1	0	0	1
	<i>Lucilia cuprina</i>	2	1	0	3
	Two unidentified	7	1	1	9
Muscidae	<i>Hydrotaea spinigera</i>	7	0	0	7
	<i>Synthesiomyia nudiseta</i>	0	0	3	3
Sarcophagidae	<i>Parasarcophaga ruficornis</i>	0	0	2	2
	Three unidentified	3	1	3	7
Phoridae	<i>Megaselia scalaris</i>	2	0	0	2
Piophilidae	<i>Piophila casei</i>	3	0	0	3
Stratiomyiidae	<i>Sargus sp.</i>	2	0	0	2
Order Coleoptera					
Demestidae	<i>Dermestes maculates</i>	4	0	0	4
	One unidentified	3	0	0	3
Order Hymenoptera					
Formicidae	One unidentified	1	0	0	1

ที่มา : Kom Sukontason et al, "Forensic entomology cases in Thailand : a review of cases from 2000 to 2006," 1417-1423.

ตารางที่ 2 ชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในแต่ละระยะของการย่อยสลาย

Day	Stage	Family	Species
1	Fresh	Formicidae	<i>Spp.</i>
2	Bloated	Formicidae Calliphoridae Muscidae Tephritidae	<i>Spp.</i> <i>Chrysomya albiceps</i> <i>Musca domestica</i> , <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
3	Bloated	Formicidae Muscidae	<i>Spp.</i> <i>Musca domestica</i> , <i>Spp.</i>
4	Bloated	Formicidae Muscidae Phoridae	<i>Spp.</i> <i>Ophyra</i> <i>chalcogaster</i> , <i>M.domestica</i> , <i>Spp.</i> <i>Megaselia scalaris</i>
5	Bloated	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> , <i>M.domestica</i> , <i>Spp.</i> <i>Patonella</i> <i>intermutans</i> , <i>Spp.</i>
6	Bloated	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>M.domestica</i> , <i>Spp.</i> <i>P.intermutans</i> , <i>Spp.</i>
7	Bloated	Formicidae Calliphoridae Muscidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> , <i>M.domestica</i> , <i>Spp.</i>

Day	Stage	Family	Species
		Sarcophagidae	<i>Spp.</i>
8	Bloated	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps, Leximia</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
9	Bloated	Formicidae Muscidae	<i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
10	Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps,</i> <i>Cochlyomia</i> <i>Macellaria</i> <i>C.megacephala</i> <i>O.chalcogaster, Spp.</i> <i>P.intermutans, Spp.</i>
11	Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Piophilidae Sarcophagidae Histeridae Staphylinidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>M.domestica</i> <i>P.casei</i> <i>P.intermutans, Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
12	Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Phoridae Sarcophagidae Histeridae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps, Spp.</i> <i>M.domestica</i> <i>O.chalcogaster, Spp.</i> <i>Megaselia scalaris</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
13	Decay	Formicidae	<i>Spp.</i>

Day	Stage	Family	Species
		Calliphoridae Muscidae Piophilidae Sarcophagidae Histeridae Staphylinidae	<i>C.albiceps</i> <i>M.domestica</i> , <i>O.chalcogaster</i> , <i>Spp.</i> <i>P.casei</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
14	Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Piophilidae Sarcophagidae Histeridae Scarabaeidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>M.domestica</i> , <i>O.chalcogaster</i> , <i>Spp.</i> <i>P.casei</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i>
15	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae Histeridae Cleridae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> , <i>Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>N.rufipes</i>
16	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Sarcophagidae Histeridae Cleridae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>Spp.</i> <i>Spp.</i> <i>N.rufipes</i>
17	Post Decay	Formicidae Calliphoridae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i>

Day	Stage	Family	Species
		Muscidae Piophilidae Sarcophagidae Histeridae Cleridae	<i>M.domestica</i> , <i>O.chalcogaster</i> , Spp. <i>P.casei</i> Spp. Spp. <i>N.rufipes</i>
18	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Histeridae Cleridae Dermestidae	Spp. <i>C.albiceps</i> <i>M.domestica</i> , <i>O.chalcogaster</i> , Spp. Spp. <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
19	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Piophilidae Sarcophagidae Cleridae Dermestidae	Spp. <i>C.megacephala</i> <i>M.domestica</i> , <i>O.chalcogaster</i> , Spp. <i>P.casei</i> <i>P.intermutans</i> , Spp. <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
20	Post Decay	Muscidae	<i>O.chalcogaster</i> , Spp.
21	Post Decay	Formicidae Muscidae Phoridae Neridae Histeridae Cleridae Dermestidae	Spp. <i>O.chalcogaster</i> , Spp. <i>M.scalar</i> Spp. Spp. <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>

Day	Stage	Family	Species
22	Post Decay	Formicidae Muscidae Calliphoridae Phoridae Vespidae	<i>Spp.</i> <i>O.chalcogaster, Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>M.scalar</i> <i>Spp.</i>
23	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Phoridae Sarcophagidae Cleridae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster, Spp.</i> <i>M.scalar</i> <i>Spp.</i> <i>N.rufipes</i>
24	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Piophilidae Cleridae Dermestidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>P.casei</i> <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
25	Post Decay	Formicidae Muscidae Calliphoridae	<i>Spp.</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>C.albiceps</i>
26	Post Decay	Formicidae	<i>Spp.</i>
27	Post Decay	Formicidae Muscidae Cleridae Dermestidae	<i>Spp.</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
28	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Vespidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>Spp.</i>

Day	Stage	Family	Species
29	Post Decay	Formicidae Muscidae Vespidae Dermestidae	<i>Spp.</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>Spp.</i> <i>D.maculatus</i>
30	Post Decay	Formicidae Calliphoridae Muscidae Cleridae Dermestidae	<i>Spp.</i> <i>C.albiceps,</i> <i>C.megacephala</i> <i>O.chalcogaster</i> <i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
31	Post Decay	Cleridae Dermestidae	<i>N.rufipes</i> <i>D.maculatus</i>
32	Post Decay	Dermestidae	<i>D.maculatus</i>
33	Post Decay	Dermestidae	<i>D.maculatus</i>
34	Post Decay	Dermestidae	<i>D.maculatus</i>
35	Post Decay	Formicidae Dermestidae	<i>Spp.</i> <i>D.maculatus</i>
36	Skeletal	Formicidae	<i>Spp.</i>
37	Skeletal	Formicidae	<i>Spp.</i>

ตารางที่ 3 ตัวอ่อนระยะ 3 ที่พบบนซากสุกรในแต่ละระยะของการย่อยสลาย

Day	Stage	Family	Species
8	Bloated	Calliphoridae	<i>C. megacephala</i> , <i>C. albiceps</i> <i>L. eximia</i>
9	Fermentation	Calliphoridae Muscidae	<i>C. albiceps</i> <i>M. domestica</i> <i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>
10	Fermentation	Calliphoridae	<i>L. eximia</i> <i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>
11	Fermentation	Calliphoridae	<i>L. eximia</i> <i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>
12	Fermentation	Calliphoridae	<i>C. putoria</i>
13	Fermentation	Calliphoridae	<i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>
14	Fermentation	Calliphoridae	<i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>
15	Putrefaction	Calliphoridae	<i>L. eximia</i>
16	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i> <i>C. putoria</i>
17	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i>
18	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i>
19	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i>
20	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i>
25	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. albiceps</i>
28	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C. megacephala</i> <i>C. albiceps</i>

Day	Stage	Family	Species
29	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C.megacephala</i> <i>C.albiceps</i>
30	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C.megacephala</i> <i>C.albiceps</i>
31	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C.megacephala</i> <i>C.albiceps</i>
32	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C.albiceps</i>
33	Putrefaction	Calliphoridae	<i>C.albiceps</i>

ที่มา: L.M.L.Carvalho, P.J.Thyssen, M.L.Goff & A.X.Linhares (2004)

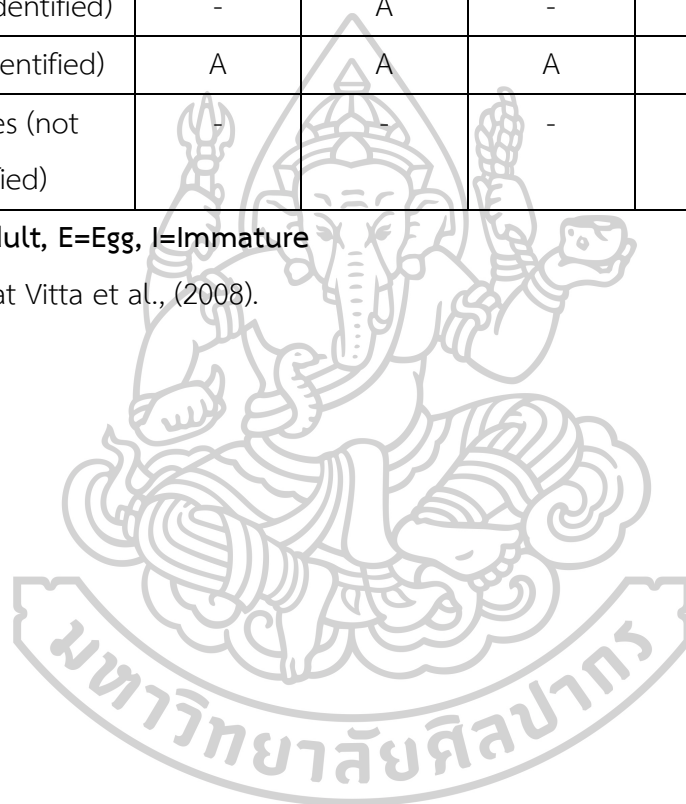
ตารางที่ 4 ชนิดของแมลงที่เข้ามาหาอาหารจากซากสุกรในแต่ละระยะของการย่อยสลายในจังหวัดพิษณุโลก

Genus/species	Stages of Decaying pig				
	Fresh (0-1 Day)	Bloated (2 Day)	Active (3 Day)	Advanced (4-6 Day)	Dry (7-30 Day)
Order Diptera					
<i>Chrysomya rufifacies</i>	A	E,I,A	E,I,A	I	I
<i>Chrysomya megacephala</i>	A	A	A	-	-
<i>Parasarcophaga suficonis</i>	A	A	A	A	-
<i>Musca domestica</i>	A	A	-	-	-
<i>Fannia canicularis</i>	-	A	-	-	-
<i>Piophilha casei</i>	-	-	A	-	-
Order Coleoptera					
<i>Dermestes maculatus</i>	-	-	-	A	A
<i>Hister sp.</i>	-	-	-	A	-

Genus/species	Stages of Decaying pig				
	Fresh (0-1 Day)	Bloated (2 Day)	Active (3 Day)	Advanced (4-6 Day)	Dry (7-30 Day)
<i>Necrobia rufipes</i>	-	-	-	A	-
<i>Trox sp.</i>	-	-	-	A	A
Spider (not identified)	-	A	A	A	A
Bees (not identified)	-	A	-	-	-
Ant (not identified)	A	A	A	A	A
Millipedes (not identified)	-	-	-	A	A

Note: A=Adult, E=Egg, I=Immature

ที่มา : Apichat Vitta et al., (2008).

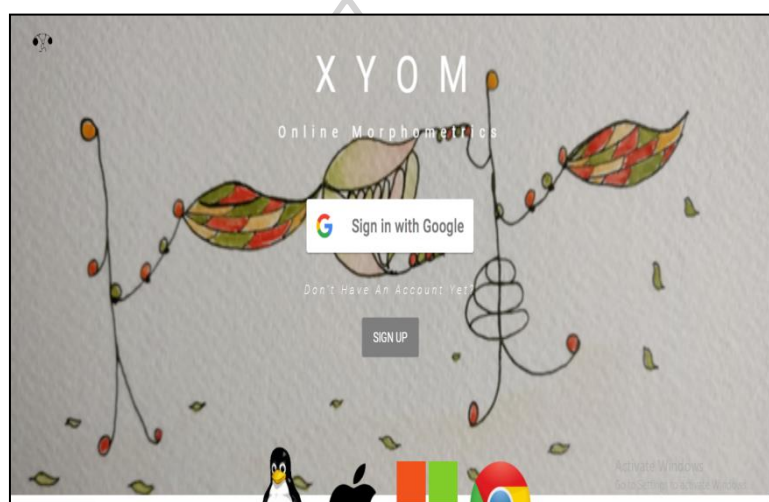


การใช้งานโปรแกรม XYOM

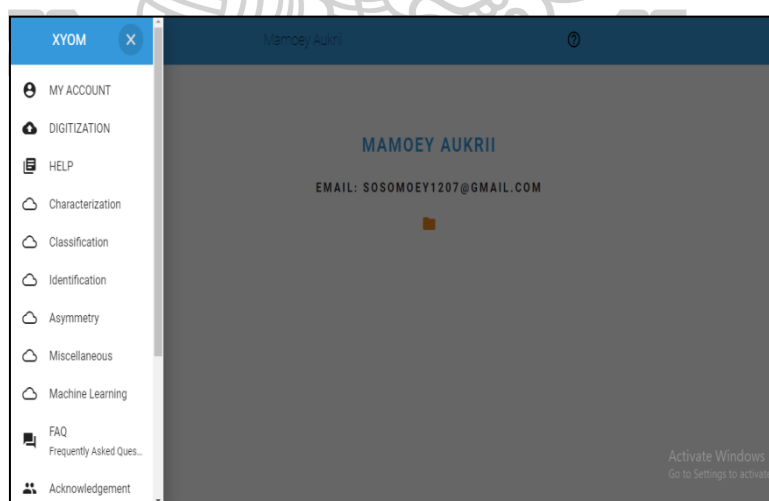
การใช้งานและรายละเอียดข้อมูลในแต่ละเมนู

(1) การ log in เพื่อเข้าใช้งาน

เริ่มต้นการใช้งานเมื่อผู้ใช้งานเปิดหน้า browser และเรียก URL ไปยัง web server ที่ XYOM อยู่ <https://xyom-v1.appspot.com/me> จะปรากฏหน้าจอ login ดังแสดงในภาพที่ 1.1 โดยผู้ใช้งานจำเป็นต้องระบุ username ของ gmail เพื่อ login เข้าสู่โปรแกรม เมื่อเข้าสู่โปรแกรมแล้วจะปรากฏดัง ภาพที่ 1.2



ภาพ 1.1



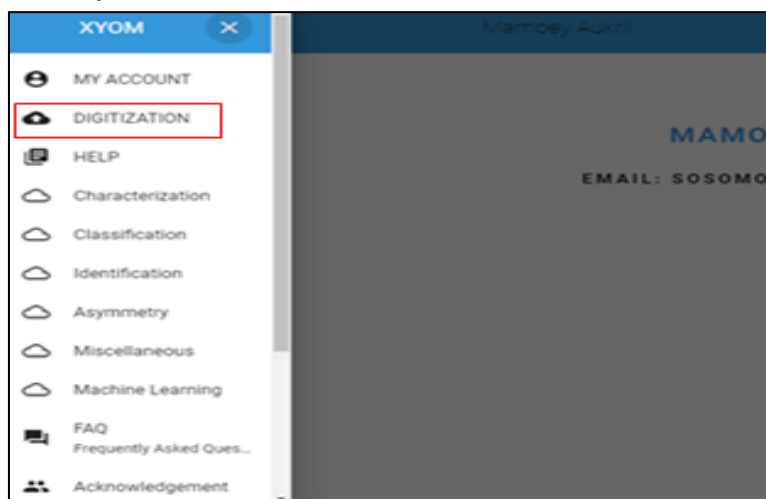
ภาพ 1.2

(2) รายละเอียดแต่ละเมนู

ในส่วนนี้จะเป็นการอธิบายโดยละเอียดของแต่ละเมนูที่จำเป็นในการใช้งาน

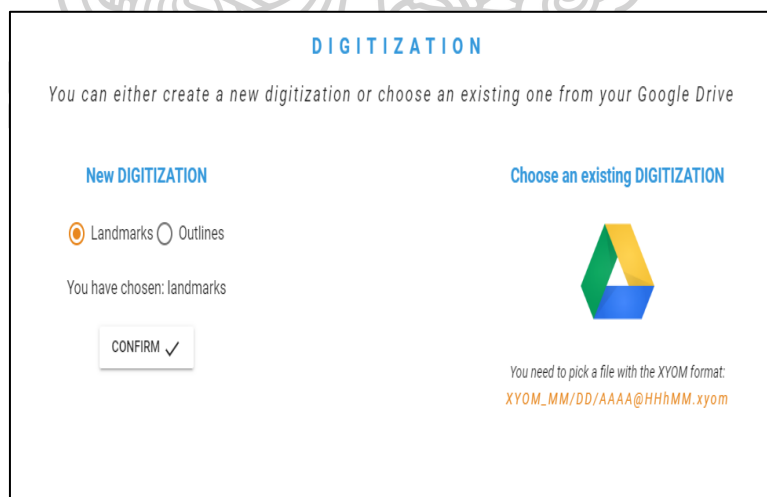
2.1 เมนู DIGITIZATION ใช้ในการอัปโหลดรูปเข้าสู่โปรแกรมและทำการจุดแลนด์มาร์คมีวิธีการใช้งานดังนี้

1. กดเลือกแถบเมนู DIGITIZATION ดังภาพ 2.1.1



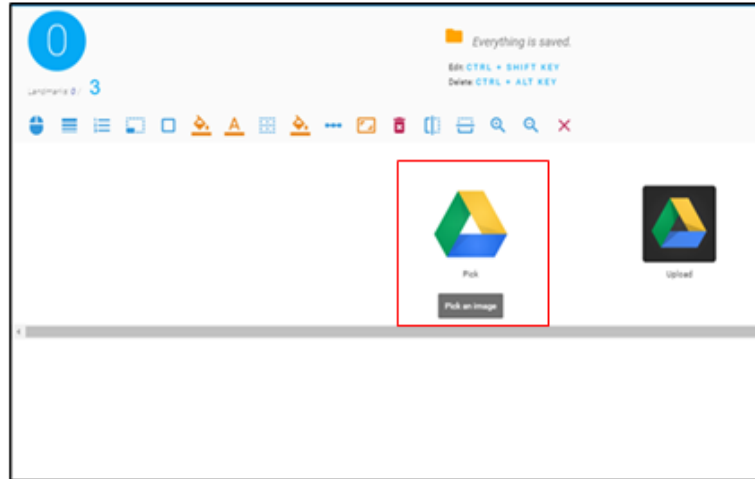
ภาพ 2.1.1

2. กดเลือก Landmarks และกด CONFIRM ดังภาพ 2.1.2

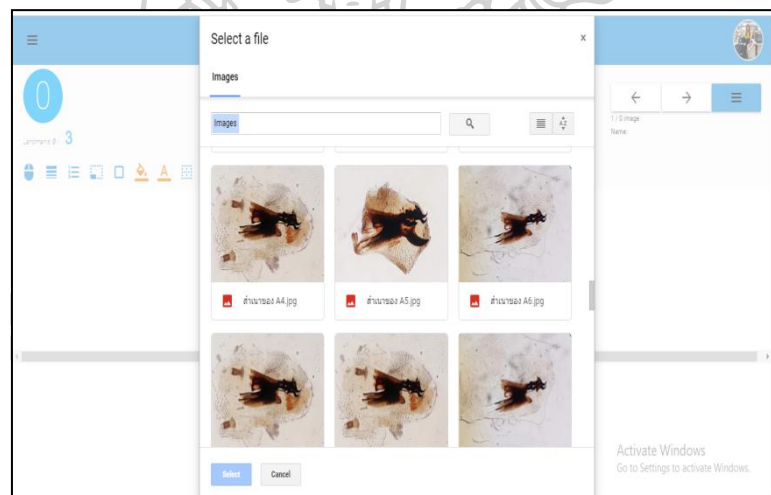


ภาพ 2.1.2

3. เลือกแถบเมนู PICK ภาพ 2.1.3 จะปรากฏหน้าจอให้นำเข้าไฟล์ภาพที่ผู้ใช้งานอัปโหลดไว้ในคลัง Google drive ดังภาพ 2.1.4

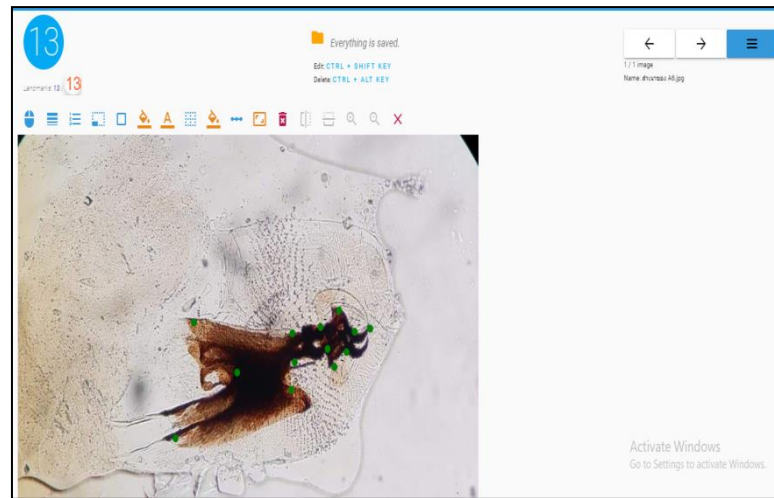


ภาพ 2.1.3

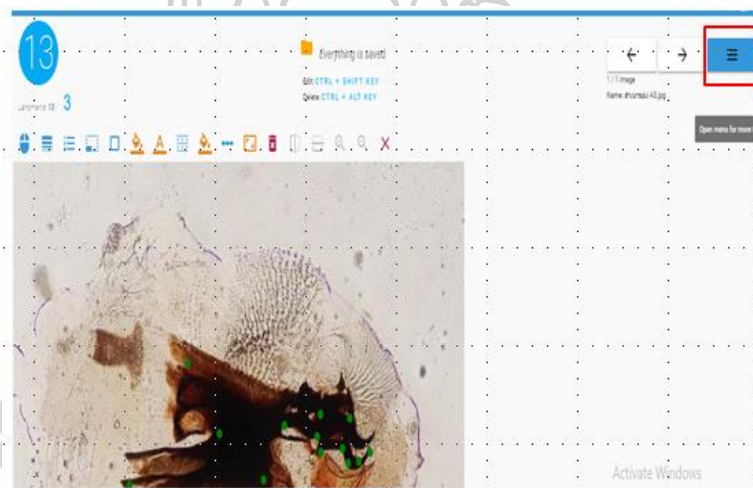


ภาพ 2.1.4

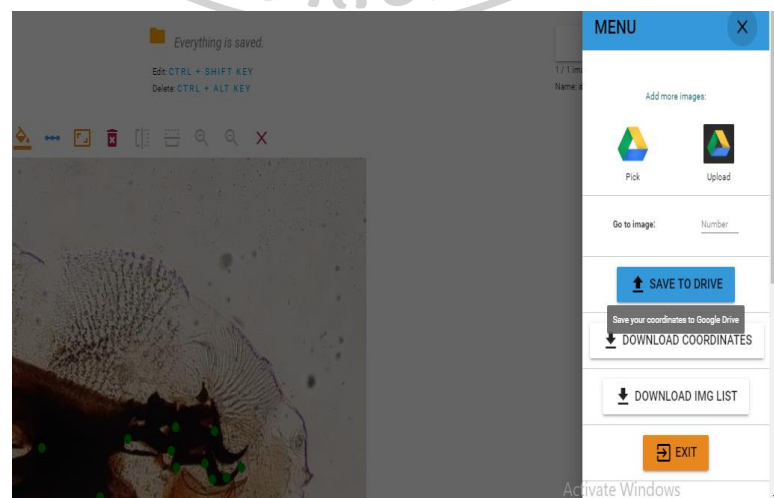
จะปรากฏหน้าจอตั้ง ภาพ 2.1.5 จากนั้นทำการจุดแลนด์มาร์คลงบนภาพที่ผู้ใช้งานต้องการเมื่อครบจำนวนที่กำหนดให้ทำการบันทึกโดยการเลือกแถบเครื่องมือด้านขวา ภาพ 2.1.6 และเลือกแถบเมนู SAVE TO DRIVE ภาพ 2.1.7 โปรแกรมจะทำการจัดเก็บข้อมูลออกมาดังภาพ 2.1.8



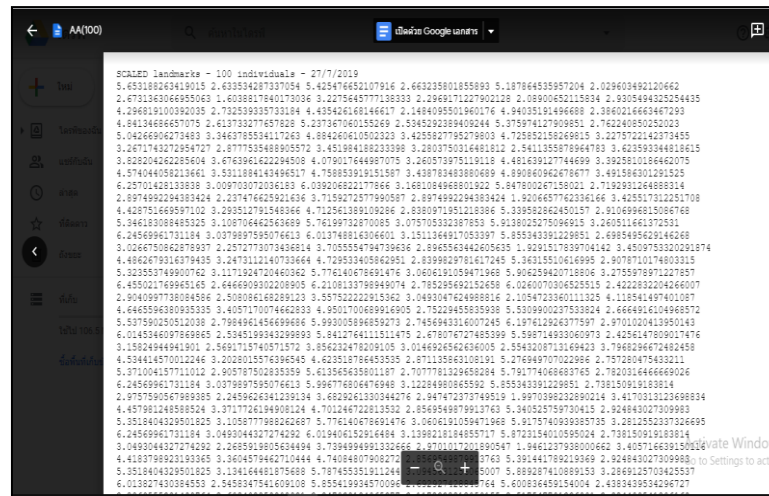
ภาพ 2.1.5



ภาพ 2.1.6



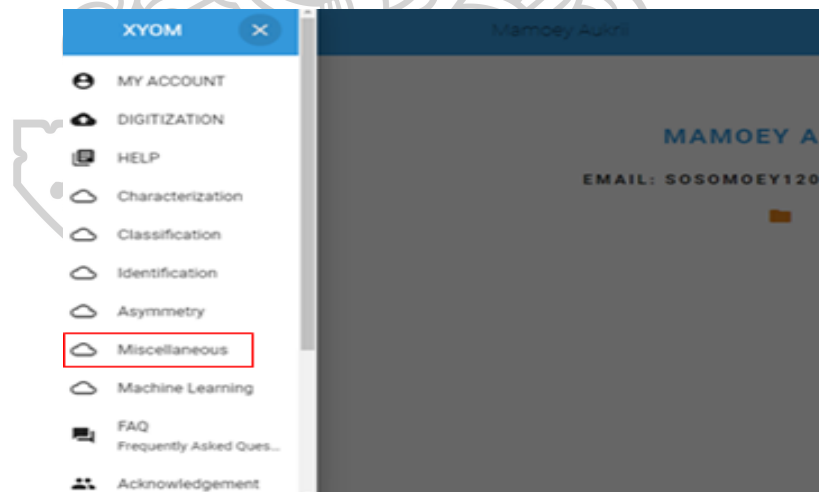
ภาพ 2.1.7



ภาพ 2.1.8

2.2 เมนู MISCELLANEOUS ใช้ในการรวมไฟล์ข้อมูลเนื่องจากโปรแกรมนี้ใช้ในการคำนวณความแตกต่างระหว่างวันดังนั้นเราจำเป็นต้องนำข้อมูลแต่ละวันมาทำการรวมกันก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์มีวิธีการใช้งานดังนี้

1. กดเลือกแถบเมนู MISCELLANEOUS ภาพ2.2.1

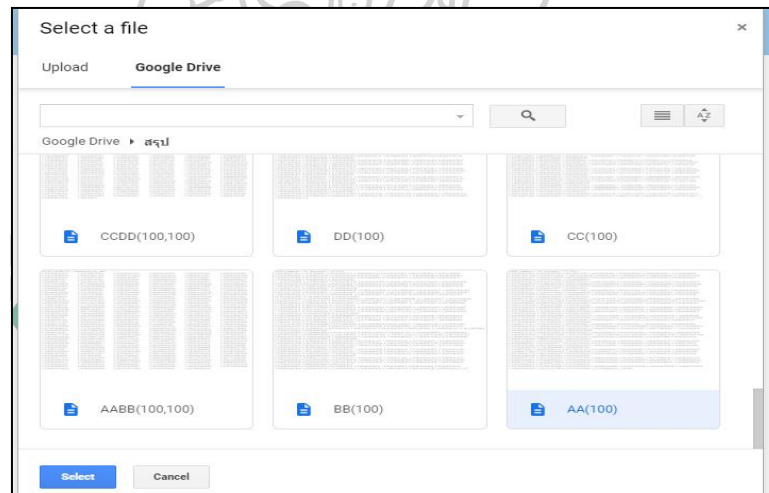


ภาพ 2.2.1

2. กดเลือกแถบเมนู INPUT DATA ภาพ 2.2.2 หน้าจอจะปรากฏดังภาพ ภาพ 2.2.3 เพื่อให้ผู้ใช้งานนำเข้าเลือกไฟล์ข้อมูล que ผู้ใช้งานำทำการรวมไฟล์กัน ยกตัวอย่างการใช้งาน ภาพ 2.2.4 เมื่อรวม

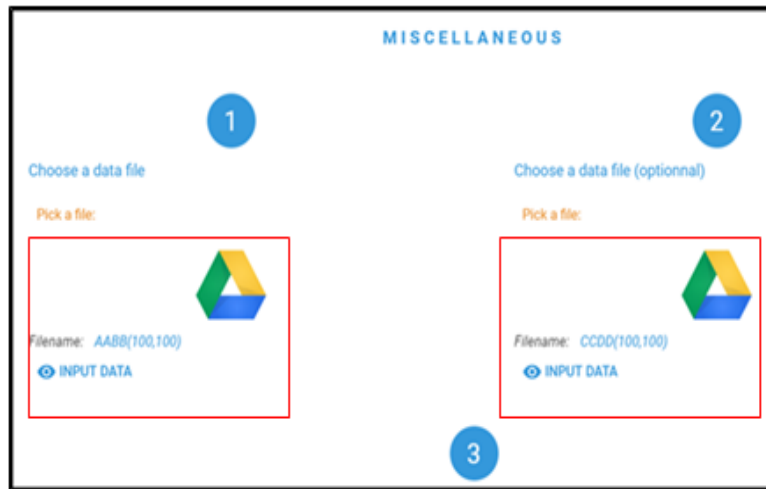


ภาพ 2.2.2

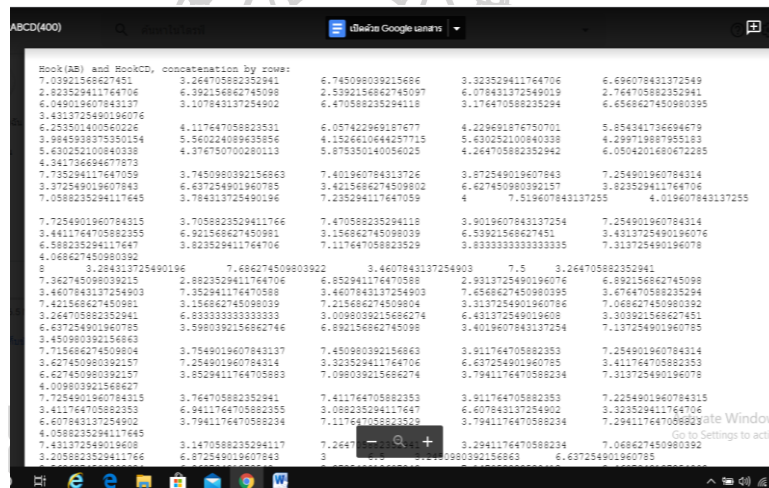


ภาพ 2.2.3

ตัวอย่าง การรวมไฟล์ข้อมูล ผู้ใช้งานต้องการรวมไฟล์ AABB(100,100) รวมกับ CCDD(100,100) โปรแกรมจะทำการจัดเก็บข้อมูลออกมาดังภาพ 2.2.5



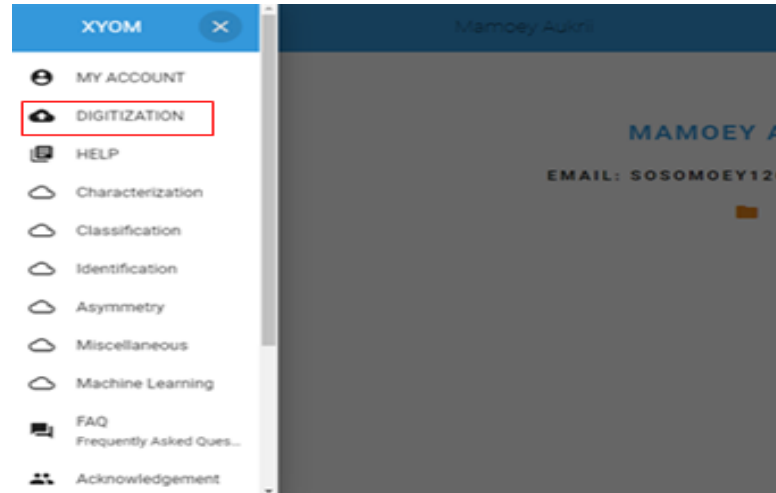
ภาพ 2.2.4



ภาพ 2.2.5

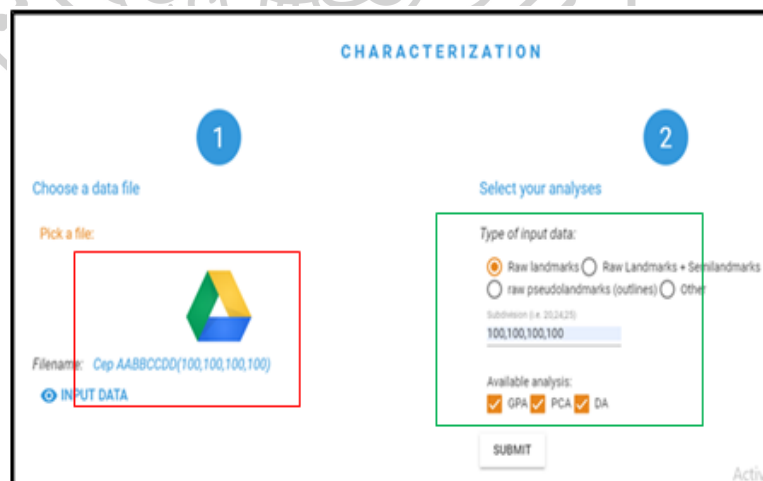
2.3 เมนู DIGITIZATION ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลวิธีการใช้งานดังนี้

1. กดเลือกแถบเมนู DIGITIZATION ภาพ 2.3.1

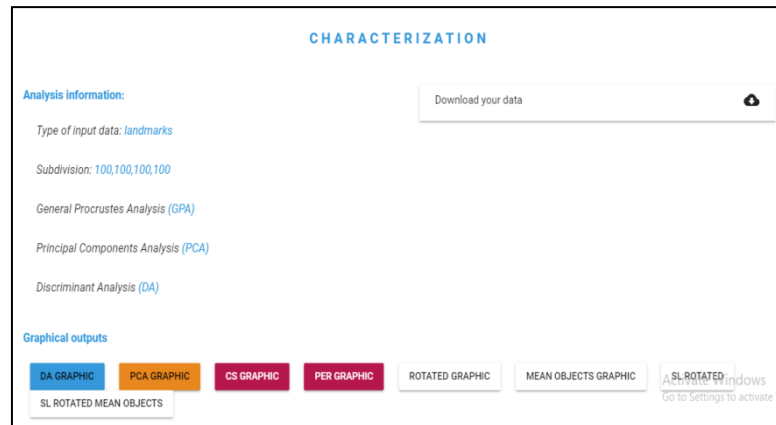


ภาพ 2.3.1

2. กดเลือกแถบเมนูตามกล่องสีแดงและทำการโหลดไฟล์ที่ได้จากการ MISCELLANEOUS เรียบร้อยแล้ว จากนั้นกรอกข้อมูลลงในกล่องสีเขียว วิธีการกรอกข้อมูล เลือก Raw landmarks กรอกจำนวนข้อมูลที่ใช้จะทำการวิเคราะห์ในภาพตัวอย่างเป็นการวิเคราะห์ข้อมูล 4 วันคือ วัน AA, BB, CC และ DD โดยแต่ละวันมีข้อมูลอย่างละ 100 ตัว จากนั้นให้เลือกการวิเคราะห์ตามกล่องสีเขียวแล้วกด SUBMIT หน้าจอจะปรากฏดังภาพ 2.3.2



ภาพ 2.3.2

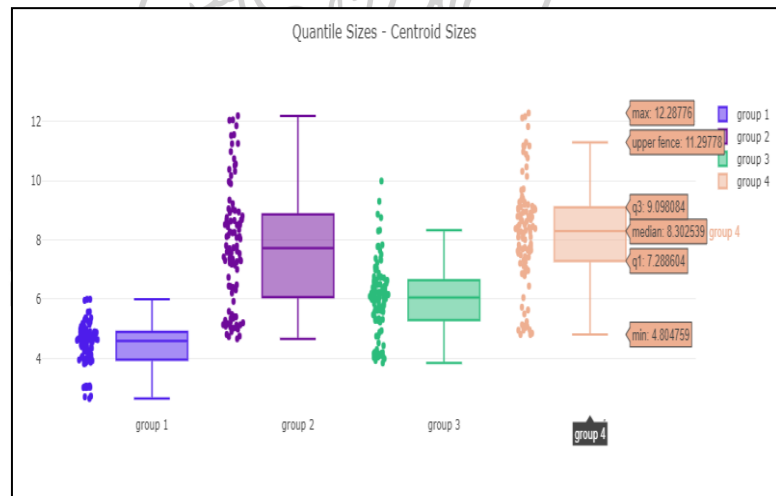


ภาพ 2.3.3

3. โปรแกรม XYOM จะทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ผู้ใช้งานต้องการออกมาเป็นกราฟและข้อมูลในรูปแบบต่างๆ

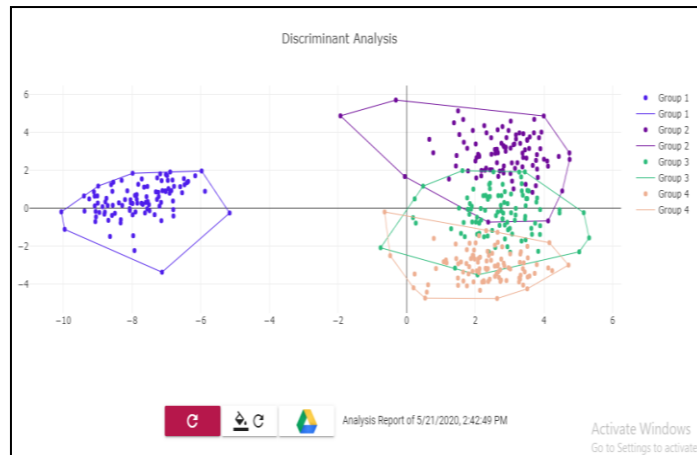
ตัวอย่าง

1 กราฟ Quantile Sizes – Centroid Sizes



2.3.4

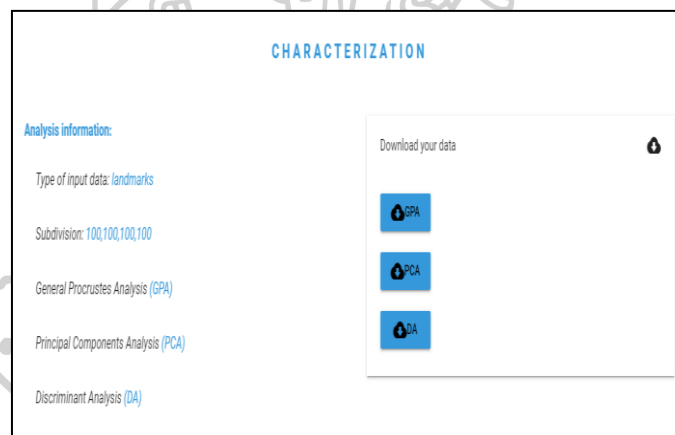
2 กราฟ Discriminant Analysis



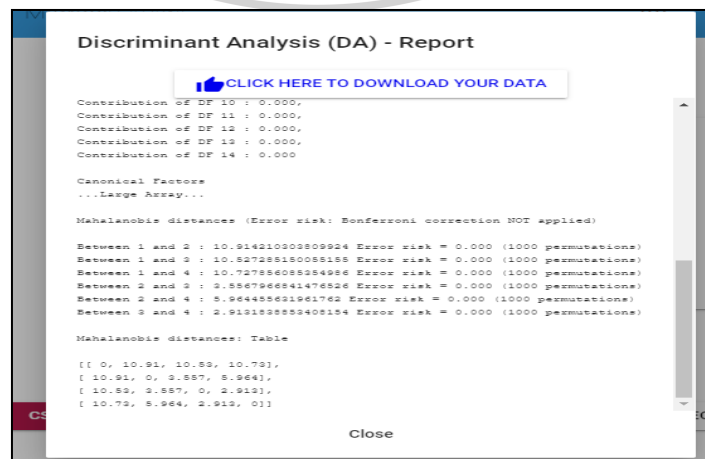
ภาพ 2.3.5

3 โปรแกรมยังสามารถขอข้อมูล TXT หากผู้ใช้งานต้องการรายละเอียด DATA ดังภาพ

2.3.6



ภาพ 2.3.6



ภาพ 2.3.7

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายพร เฉลิมขวาลิต
วัน เดือน ปี เกิด	12 กรกฎาคม 2536
สถานที่เกิด	พระนครศรีอยุธยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	3/1 ม.2 ต.สำเภาล่ม อ.พระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000

