

บทที่ 2

บทสอบสวนเอกสารและงานที่เกี่ยวข้อง

(Literature reviews)

2.1 ประวัติการเกิดของสาขานิติกีฏวิทยา (History of Forensic Entomology)

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

Knipling (1936) ได้ตีพิมพ์หนังสือเกี่ยวกับการจำแนกตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) ของแมลงวันหลังลาย (flesh flies) และในปี ค.ศ. 1939 ได้เผยแพร่การจำแนกชนิดของแมลงวันหัวเขียว (blow flies) ในเขตอเมริกาเหนือ และในปี 1948 Hall's ได้ตีพิมพ์หนังสือการจำแนกตัวเต็มวัย (adults) และตัวหนอนที่เจริญเต็มที่ (mature larvae) ของแมลงวันหัวเขียวในวงศ์แคลลิฟอริดี (Family Calliphoridae) และต่อมาได้มีการเผยแพร่เกี่ยวกับชนิดและการกระจายของแมลงวันหัวเขียวในวงศ์แคลลิฟอริดี (Hall and Townsend, 1977; Hall, 1979; Goddard and Lago, 1983)

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

2.2 ชีววิทยาและวงจรชีวิตของแมลงวันหัวเขียว (Biology and Life Cycle of Blow Flies)

2.2.1 อนุกรมวิธานของแมลงวันหัวเขียว (Taxonomy of blow flies)

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

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

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

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

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

2.2.2 วงชีวิตของแมลงวันหัวเขียว (Life Cycle of Blow Flies)

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

2.3 การประเมินทางกีฏวิทยาเพื่อประมาณระยะเวลาหลังการตาย (Assumptions of Entomology –Based PMI Estimates)

เนื่องจากแมลงวันหัวเขียวเป็นแมลงชนิดแรกที่เข้ามาตอมศพและวางไข่ภายในเวลาไม่กี่นาทีหลังจากที่พบศพ ดังนั้นระยะเวลาตั้งแต่แมลงวันวางไข่จนถึงเวลาที่พบศพจะสามารถนำมาคำนวณหาระยะเวลาหลังการตาย ทั้งนี้จะต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่มาเกี่ยวข้องหลายอย่าง เวลาว่างไข่ การเจริญเติบโตของตัวหนอน และลำดับการเข้าตอมของแมลง มีความแตกต่างกันไปตามปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่พบศพซึ่งเป็นที่อาศัยของแมลง ที่ต้องนำกลับมาเพื่อตรวจพิสูจน์ ดังนั้นในการประมาณเวลาการตายเพื่อให้ได้เวลาที่ใกล้เคียงที่สุดหรือน่าเชื่อถือที่สุด จึงมีข้อตกลงหรือข้อเท็จจริงเกี่ยวกับแมลงและปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมอื่นๆ ดังนี้

- 1). แมลงวันหัวเขียวจะไม่วางไข่ในตอนกลางคืน ซึ่งคดีฆาตกรรมส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นในตอนกลางคืน และอาจทำให้การประมาณเวลาการตายผิดพลาดเนื่องจากแมลงวันจะวางไข่ในตอนเช้าของวันถัดไป ดังนั้นแสงสว่างในที่พบศพเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการวางไข่ของแมลงกลุ่มนี้
- 2). แมลงวันหัวเขียวจะวางไข่ทันทีหรือหลังจากที่เข้าตอมศพเพียงไม่กี่นาที ดังนั้นการประมาณเวลาการตายจึงเริ่มคำนวณตั้งแต่เวลาที่แมลงเข้าตอมศพ อย่างไรก็ตามก็จะมีปัจจัยที่ทำให้การวางไข่ของแมลงช้ากว่าปกติ ซึ่งต้องอาศัยข้อมูลที่เก็บได้บริเวณที่เกิดเหตุ หรือจากศพเอง
- 3). การเข้าตอมศพของแมลงแต่ละชนิดมีลำดับที่แน่นอน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ เช่น ฤดูกาล สถานที่พบศพ (ในอาคารหรือกลางแจ้ง) ลักษณะภูมิประเทศ (ภูเขา ป่าไม้ หรือหนองน้ำ) และสภาพอากาศ (ปริมาณน้ำฝนมาก หรือแห้งแล้ง) เป็นต้น
- 4). อุณหภูมิอากาศ (ambient temperature) เป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเจริญในแต่ละระยะของแมลง แต่จะมีผลในช่วงแรกของการเจริญซึ่งตัวหนอนมีขนาดเล็กและมีผลกระทบไม่มาก เมื่อตัวหนอนมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีปริมาณมากขึ้นเป็น maggot masses ความร้อนที่เพิ่มขึ้นเกิดจากเมแทบอลิซึม (metabolism) และการเคลื่อนที่ของตัวหนอน ทำให้อุณหภูมิภายในกลุ่มตัวหนอนสูงขึ้นและสูงกว่าอุณหภูมิอากาศ ซึ่งจะเห็นผลชัดเจนในกรณี queอุณหภูมิอากาศต่ำมาก เช่นกรณีที่ศพถูกเก็บไว้ในตู้เย็นหรือในประเทศเขตหนาว
- 5). สภาพภูมิอากาศ (climate) เป็นข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ (weather station) ที่ตั้งอยู่ใกล้กับสถานที่เกิดเหตุ (crime scene) ซึ่งจะใช้เป็นตัวบอกอุณหภูมิอากาศของสถานที่เกิดเหตุ ข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลที่ไม่ค่อยถูกนำมาพิจารณาสำหรับนักนิติกีฏวิทยา เนื่องจากข้อมูลอากาศที่ได้จากสถานีวัดอากาศกับข้อมูลที่ได้จากการวัด ณ ที่เกิดเหตุ อาจจะคลาดเคลื่อนกันซึ่งเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ลักษณะพื้นที่ที่พบศพซึ่งอาจจะเป็นทุ่งหญ้า ชายป่า หรือในหนองน้ำ ความเร็วและทิศทางลม เป็นต้น ดังนั้นจึงต้องทำการวัดอุณหภูมิ ณ ที่เกิดเหตุ หลังจากที่มีการพบศพต่ออีก ประมาณ 2-3 วัน หรือ 1

สัปดาห์ แล้วนำไปเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้จากสถานีวัดอากาศ ในกรณีที่พบศพในอาคาร (indoor) ให้ตรวจอุณหภูมิจากเครื่องบันทึกอุณหภูมิที่ติดตั้งไว้ในตัวอาคาร

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

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

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

2.4.1 บทบาทความสำคัญของระยะไข่ (The Importance role of eggs)

ไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะมีระยะเวลาฟักตัวสั้นและขึ้นอยู่กับอุณหภูมิอากาศ ณ ขณะนั้นด้วย ไข่อาจถูกเก็บมาจากศพโดยตรงหรือเก็บจากเสื้อผ้าของผู้ตาย โดยทั่วไปมักจะไม่นับไข่ของแมลงวันบนศพ เนื่องจากศพมักจะถูกพบ 2-3 วัน หรือมากกว่าหลังจากการตาย ดังนั้นการจำแนกชนิดของไข่ของแมลงวันที่พบบนศพที่ถูกต้องแม่นยำ ร่วมกับการเก็บรายละเอียดเรื่องของอุณหภูมิจะนำไปสู่การประมาณค่า PMI (post mortem interval) ได้รวมทั้งอาจบอกได้ว่าศพนั้นถูกเคลื่อนย้ายจากบริเวณอื่นหรือไม่ ซึ่งข้อมูลต่าง ๆ เหล่านี้อาจไปสอดคล้องกับข้อมูลของผู้ต้องสงสัย ข้อมูลการใช้ยาเสพติด เป็นต้น (Anderson, G.S., 2004) ระยะไข่ของแมลงวันหัวเขียวที่อยู่ใน Family Calliphoridae ที่มีบทบาทสำคัญต่อนิติเวชได้แก่ Genus *Chrysomya* และ *Lucilia* (Mendonca et al., 2008) ไข่ของแมลงวันหัวเขียวมีรูปร่างกระบอกปลายทั้งสองข้าง มน คล้ายเม็ดข้าวสาร ขนาดประมาณ 1.5-2.5 มิลลิเมตร (Haskell and Williams, 2008) สีเหลืองอ่อน มักพบอยู่บริเวณที่มีรอยบาดแผล และตามรูเปิดต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ช่องปาก หู จมูก ตา ทวารหนัก เป็นต้น เนื่องจากบริเวณเหล่านี้ มีความชื้นและมักส่งกลิ่นออกมาดึงดูดแมลงวันหัว

เขี้ยวเข้าไปวางไข่ แมลงวันสามารถวางไข่ได้ครั้งละประมาณ 100 - 150 ฟอง (Haskell and Williams, 2008) แต่ในกรณีที่อุณหภูมิอากาศต่ำ เช่น ในฤดูหนาวหรือในประเทศที่มีอากาศหนาวเย็นจำนวนไข่ที่วางแต่ละครั้งจะลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจำนวนไข่จะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากไข่จะสามารถเจริญและมีอัตราการรอดสูงมากขึ้นและปลอดภัยจากศัตรูต่าง ๆ ด้วย โดยเฉลี่ยไข่ของแมลงวันหัวเขียวจะฟักออกมาเป็นตัวหนอนใช้เวลาประมาณ 12-24 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันหัวเขียว และอุณหภูมิขณะฟักตัว ตัวอย่างเช่นใน *P. regina* เลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ที่ 26.7 องศาเซลเซียส มีระยะเวลาการเจริญเฉลี่ย 16 ชั่วโมง (Haskell and Williams, 2008) ขณะที่ไข่ของ *L. sericata* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิคงที่ 24, 30 และ 35 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 50% พบว่าระยะเวลาที่ใช้ตั้งแต่วางไข่จนกระทั่งฟักออกเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ใช้เวลา 17.40, 12.10 และ 8.50 ชั่วโมง ตามลำดับ (Bourel et al., 2003) ส่วนที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 ละ 34 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 50% มีระยะเวลาการเจริญเป็น 31 28 24 22 19 17 14 11 10 8.5 ชั่วโมงตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) ดังนั้นการเลี้ยงไขในห้องปฏิบัติการและบันทึกอุณหภูมิทุก ๆ ช่วง จะทำให้ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับระยะเวลาที่ใช้ในการฟักออกมาเป็นตัวหนอนได้ และใช้ข้อมูลที่ได้มาประมาณระยะเวลาหลังการตายของศพได้ ในกรณีที่เรากำเก็บไขจากศพจะต้องทราบทราบอุณหภูมิอากาศขณะที่พบและย้อนหลังประมาณ 1-2 วัน นอกจากนี้ยังสามารถผ่าตัดไข่เพื่อดูระยะการเจริญของตัวอ่อน (embryo) ซึ่งนำไปสู่การบอกระยะเวลากวางไข่ได้ และสามารถบอกได้ว่าศพนั้นตายมานานเท่าไรแล้ว อย่างไรก็ตามสิ่งที่สำคัญที่สุดคือต้องสามารถจำแนกชนิดของไขดังกล่าวได้ว่าเป็นของแมลงวันชนิดไหนก่อนเนื่องจากค่าเวลาการเจริญต่าง ๆ ของแต่ละชนิดมีความเฉพาะตัวและแตกต่างกัน ซึ่งลักษณะภายนอกและภายในของไขแมลงวันหัวเขียวหรือแมลงวันชนิดอื่น ที่พบในศพสามารถจำแนกได้ทั้งภายใต้กล้อง stereomicroscope และ scanning electron microscope (Kitching, 1976) ตัวอย่างเช่น ไข่ของแมลงวันหัวเขียวชนิด *C. megacephala* *C. putoria* *L. cuprina* และ *L. eximia* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้มีขนาดเป็น 786 1053 1027 (1090) และ 1106 ไมโครเมตร ตามลำดับ (Mendonca et al., 2008; Sukontason et al., 2007)

2.4.2 บทบาทความสำคัญของระยะตัวหนอน (The Importance role of maggots)

หลังจากที่ไข่ฟักออกมาเป็นตัวหนอน หรือ maggot จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตและลอกคราบ 3 ครั้ง ทำให้แบ่งระยะการเจริญได้เป็น 3 ระยะ คือ ตัวหนอนระยะที่ 1 (first instars) ตัวหนอนระยะที่ 2 (second instars) และตัวหนอนระยะที่ 3 (third instars) ตัวหนอนแต่ละระยะมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกัน และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร และผู้ล่า เป็นต้น เรามักจะพบหนอนแมลงวันจำนวนมากหลาย

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

จากข้อมูลข้างต้นหนอนแมลงวันในแต่ละระยะจะมีขนาด และใช้ระยะเวลาในการเปลี่ยนแปลงจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่งแตกต่างกัน (Joy et al., 2002) เช่น ตัวหนอนระยะที่ 1 ของ *P. regina* มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 2-4 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 2 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 5-8 มิลลิเมตร ตัวหนอนระยะที่ 3 มีขนาดเฉลี่ยประมาณ 9-18 มิลลิเมตร โดยใช้เวลาในการเจริญแต่ละระยะเท่ากับ 18, 11 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ ณ อุณหภูมิคงที่ 26.7 องศาเซลเซียส (Haskell and Williams, 2008) ซึ่งแตกต่างไปจากระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. sericata* พบว่าระยะเวลาการเจริญไปจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 1 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 56 39 27 24 23 19 16 11 10 และ 9.5 ชั่วโมง ตามลำดับ จากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 2 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 70 54 42 35 29 26 19 16 15 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนระยะเวลาการเจริญไปจากระยะไข่เป็นตัวหนอนระยะที่ 3 ที่อุณหภูมิ 15 17 19 20 21 22 25 28 30 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 115 79 60 53 47 46 36 30 27 และ 27 ชั่วโมง ตามลำดับ (Grassberger and reiter, 2001) จากการศึกษาใน

Protophormia terraenovae ที่รายงานว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ระยะเวลาการเจริญเติบโตลดลง เช่น ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 37.78 ± 2.96 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 9.19 ± 0.3 วัน และมีค่า minimum threshold temperature เท่ากับ 8.95 องศาเซลเซียส มีค่า ADD เท่ากับ 240.2 ± 9.3 (Grassberger and reiter, 2002) เนื่องจากในบางกรณีนักกีฏวิทยาไม่สามารถออกไปเก็บข้อมูลอุณหภูมิ และหลักฐานที่เกี่ยวข้อง ณ ที่เกิดเหตุได้ การเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันจากศพที่ถูกเก็บไว้ในโรงพยาบาลหรือสถานที่เก็บศพและทำการวัดขนาดตัวหนอนสามารถช่วยประมาณเวลาการตายได้เช่นกัน เช่นในกรณีศึกษาของ Rajagopal และคณะ (2008) พบว่าขนาดความยาวของหนอนแมลงวันสัมพันธ์กับ PMI คือหนอนแมลงวันขนาด 4-6 มม. ใช้เวลา 2 วัน ขนาด 10-12 มม. ใช้เวลา 3 วัน และขนาด 11-13 มม. ใช้เวลา 4-5 วัน จากการศึกษาขนาดของ *L. sericata* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าตัวหนอนมีขนาดอยู่ระหว่าง 3.8 – 8 มิลลิเมตรและจากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างขนาดความยาวของตัวหนอนกับเวลาที่ใช้ในการเจริญพบว่าที่อุณหภูมิสูงจะใช้เวลาในการเพิ่มขนาดน้อยกว่า (Adams and Hall, 2003; Ames and Tumer, 2003; Grassberger and reiter, 2001) อย่างไรก็ตามตัวหนอนที่อยู่ในสภาวะที่มีอาหารจำกัด มักมีการแก่งแย่งอาหารกันขึ้นเนื่องจากตัวหนอนแต่ละตัวจะพยายามแย่งกินอาหารให้ได้มากที่สุดก่อนที่อาหารจะหมดไป ดังนั้นในสถานที่เกิดเหตุจะเก็บตัวหนอนที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมาเทียบค่ากับ ความสัมพันธ์ของกราฟที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างขนาดของตัวหนอนกับช่วงเวลาที่ใช้ในการ

เจริญในแต่ละระยะ (Hayes et al., 1998; Levot et al., 1979; Lomnicki, 1988) การเปลี่ยนระยะเพื่อเจริญไปเป็นระยะที่พัฒนาสูงขึ้นจะมีการลอกคราบในการเปลี่ยนแต่ละระยะ สามารถจำแนกระยะต่าง ๆ ของตัวหนอนพวกนี้ได้ง่ายเนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันค่อนข้างชัดเจน ดังนั้นการทราบระยะเวลาตั้งแต่การฟักออกเป็นตัวเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 เจริญไปเป็นระยะที่ 2 และระยะที่ 3 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ สามารถที่จะนำข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาและอุณหภูมิ มาใช้ในการประมาณช่วงเวลาหลังการตายได้เช่นเดียวการใช้ระยะไข่ ตัวอย่างกรณีศึกษาที่ใช้ระยะตัวหนอนไปใช้ประมาณระยะเวลาหลังการเสียชีวิตได้แก่การศึกษาของ Costa และ Patiu ปี 2004 ที่ประเทศบราซิล ในศพของสตรีที่อยู่ในที่พักอาศัย โดยศพถูกห่อด้วยผ้าปูที่นอนหลายชั้น อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ได้จากสถานีอากาศที่ใกล้ที่เกิดเหตุสูงสุดเท่ากับ 27 องศาเซลเซียส และต่ำสุดคือ 15 องศาเซลเซียส ศพอยู่ในสภาวะบวม ตัวหนอนจากศพถูกนำไปเลี้ยงต่อที่ห้องปฏิบัติการจนกระทั่งฟักออกมาเป็นตัวเต็มวัย ซึ่งจำแนกได้เป็นแมลงวันหัวเขียวชนิด *Chrysomya megacephala* โดยใช้เวลา 240 ชั่วโมง พบว่าค่า ADD มีค่าเท่ากับ 12.75 วัน แต่ถ้าใช้ชนิด *C. albiceps* *C. chloropya* พบว่าค่าประมาณระยะเวลาหลังการตาย (PMI) จะต่ำกว่าชนิดแรก 1 วัน (Costa and Patiu, 2004)

2.4.3 บทบาทความสำคัญของระยะดักแด้ (The Importance role of pupae)

สัญญาณที่บ่งถึงการเข้าสู่ระยะดักแด้ของหนอนแมลงวัน คือ ตัวหนอนระยะที่ 3 จะเข้าสู่ระยะหยุดการกินอาหาร (post feeding larvae) ทำให้ขนาดของตัวหนอนระยะนี้เล็กลงเล็กน้อย จากนั้นจะเคลื่อนที่ออกจากศพ (dispersal stage, wandering larvae) เพื่อหาบริเวณที่เหมาะสมในการขุดลงไปฝังตัวในการเปลี่ยนเข้าสู่ระยะดักแด้ สำหรับระยะทางที่ตัวหนอนเคลื่อนที่อาจเป็นระยะทางตั้งแต่ 5 เซนติเมตร จนถึง 5 เมตร หรือมากกว่า (Greenberge, 1990) บางส่วนอาจขุดลงไปฝังตัวในดิน หรือหลบอยู่ใต้ใบไม้ ขอนไม้ หรือขี้เลื่อย เป็นต้น จากการทดลองในห้องปฏิบัติการที่กำหนดพื้นที่สำหรับการเคลื่อนที่ (arena) เป็นรูปวงกลมรัศมี 25 เซนติเมตร และปิดด้วยขี้เลื่อยลึก 40 เซนติเมตร พบว่าความลึกโดยเฉลี่ยที่ตัวหนอนขุดลงไปเพื่อเข้าสู่ระยะดักแด้อยู่ในช่วง 7-18 เซนติเมตร และสำหรับในแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. cuprina* เท่ากับ 12 เซนติเมตร ส่วนในชนิด *C. megacephala* เท่ากับ 11 เซนติเมตร และในชนิด *C. albiceps* เท่ากับ 9.8 เซนติเมตร นอกจากนี้ยังพบว่าระยะทางที่หนอนแมลงวันขุดลงไปลึกที่สุดที่พบใน *C. megacephala* เท่ากับ 32 เซนติเมตร และ *C. albiceps* เท่ากับ 23 เซนติเมตร (Gomes et al., 2005) เมื่อตัวหนอนเข้าสู่ระยะดักแด้ขนาดจะเล็กลงและสร้างสารพวกไคติน (chitin) ออกมาเพื่อห่อหุ้มตัว ทำให้เห็นเป็นสีน้ำตาลแดงหรือดำ เรียก puparium (พหุพจน์ puparia) ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาจากวางไข่จนถึงระยะดักแด้จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของแมลงวันและอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม จากรายงานการศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาดังแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ของ *Calliphora vicina* ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 18, 22 และ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาทั้งสิ้น 10, 8 และ 6.5 วัน ตามลำดับ (Reiter, 1984) ขณะที่

Anderson (2000) ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 15.8, 20.6 และ 23.3 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 15.25, 9.30 และ 8.4 วัน ตามลำดับ (Anderson, 2000) ในปีต่อมา Marchenko (2001) ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 12, 16, 19, 22, 25 และ 27 องศาเซลเซียส โดยใช้ค่า lower development threshold (หรือค่า minimum threshold temperature) ที่ 2.0 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้เวลาเท่ากับ 19.1, 13.6, 11.2, 9.6, 8.3 และ 7.6 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001)

การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ในแมลงวันหัวเขียวชนิด *L. sericata* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 15.8, 20.7 และ 23.3 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 382.3 ชั่วโมง (15.9 วัน), 245.7 ชั่วโมง (10.2 วัน) และ 264 ชั่วโมง (11 วัน) ตามลำดับ (Anderson, 2000) ในขณะที่ Grassberger and Reiter ทดลองเลี้ยงแมลงวันหัวเขียวชนิดเดียวกันนี้ที่อุณหภูมิ 17, 19, 20, 21, 22, 25, 28, 30 และ 34 องศาเซลเซียส ใช้เวลาทั้งสิ้นเท่ากับ 16.7, 11.3, 10.1, 9.2, 8.4, 7.2, 6.5, 6.2 และ 5.8 วัน ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2001) การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ในแมลงวันหัวเขียวชนิด *P. regina* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 14.7, 8.0, 6.5, 6.1 และ 4.6 วัน ตามลำดับ (Byrd and Allen, 2001) ที่อุณหภูมิ 16.1 และ 23 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 20.15 และ 10.15 วันตามลำดับ (Anderson, 2000) และขณะที่ Marchenko ทำการทดลองแมลงวันหัวเขียวชนิดเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 15, 16, 19, 20, 22, 23, 25, 27, 29 และ 30 องศาเซลเซียส และใช้ค่า baseline (หรือค่า lower development threshold) ที่ 11.4 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้ระยะเวลาเท่ากับ 28, 22, 13.3, 11.7, 9.5, 8.7, 7.4, 6.5, 5.7 และ 5.4 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001) การศึกษาช่วงเวลาที่ใช้ในการเจริญตั้งแต่วางไข่จนถึงระยะดักแด้ใน *Protophormia terraenovae* ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 12.5, 23, 29 และ 35 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเท่ากับ 60.6, 7.9, 6.2 และ 5 วัน ตามลำดับ (Greenberg and Tantawi, 1993) ที่อุณหภูมิ 15, 20, 25, 30 และ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ค่า baseline เท่ากับ 8.95 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD ใช้เวลาเท่ากับ 22.3, 13.1, 9.6, 6.1 และ 5.2 วัน ตามลำดับ (Grassberger and Reiter, 2002) Marchenko ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 13, 15, 20, 23, 25, 27, 28, 29 และ 30 องศาเซลเซียส และใช้ค่า baseline ที่ 7.8 องศาเซลเซียส ในการคำนวณค่า ADD พบว่าใช้ระยะเวลาเท่ากับ 30.8, 22.2, 13.1, 10.5, 9.3, 8.3, 7.9, 7.5 และ 7.2 วัน ตามลำดับ (Marchenko, 2001) และที่อุณหภูมิ 13, 15, 20, 25, 28, 30 และ 32 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการพัฒนาเท่ากับ 29, 22, 11, 8.5, 7.3, 6.5 และ 7.3 วัน ตามลำดับ (Warren and Anderson, 2005)

จะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงจากระยะไข่จนกระทั่งเข้าสู่ระยะดักแด้ที่รายงานในงานวิจัยต่างๆ เป็นค่าที่คำนวณได้จากการเลี้ยงแมลงวันที่มีบทบาทสำคัญในงานนิติเวชและทดลองที่อุณหภูมิคงที่ ดังนั้นในการเก็บบันทึกค่าอุณหภูมิ ณ ที่เกิดเหตุควรจะบันทึกอุณหภูมิหลังจากที่มีการพบศพ จ่อไปอีกประมาณ 2.3 วัน และเปรียบเทียบค่าอุณหภูมิจากข้อมูลจากสถานีอากาศที่อยู่ใกล้ที่สุดกับที่เกิด



เหตุ นอกจากนี้อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับบันทึกอุณหภูมิควรจะสามารถบันทึกค่าอุณหภูมิได้ในระดับที่ 2 องศา เพื่อ
ทำให้การคำนวณ PMI ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด

2.5 ค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (Minimum development threshold)

ผลการศึกษาระยะเวลาการเจริญของแมลงวันหัวเขียวแต่ละชนิดตั้งแต่ระยะไข่จนถึงฟักออกมา
เป็นตัวที่อุณหภูมิต่าง ๆ จะถูกนำมาใช้ในการคำนวณค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงแต่ละชนิดเจริญเติบโตได้
(lower thresholds) โดยคำนวณได้จาก linear regression ของกราฟอัตราการเจริญเติบโต
(developmental rate) แสดงบนแกน y ที่มีค่าเท่ากับส่วนกลับของเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโตแต่ละระยะ
(developmental time) นั่นคือ $y = 1/\text{developmental time}$ ที่อุณหภูมิคงที่ค่าต่าง ๆ ซึ่งแสดงบนแกน x
(Grassberger and Reiter, 2002) โดยทั่วไปค่า lower threshold หรือที่เรียกว่าค่า base line จะแตกต่างกัน
ในแมลงแต่ละชนิด โดยมากที่ศึกษาในประเทศเขตร้อนมีค่าที่นิยมใช้กัน 2 ค่าคือ 10 และ 6 องศา
เซลเซียส ใช้สัญลักษณ์เป็น B_{10} B_6 ตามลำดับ

นอกจากนี้ค่าคงที่ของอุณหภูมิ (thermal constant, K) สามารถคำนวณได้จาก $K = y(t - t_L)$ โดยค่า
y คือ ค่าเวลาที่ใช้ในการเติบโตแต่ละระยะ มีหน่วยเป็นวัน (days) ค่า t คือค่าอุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) ที่
ใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนค่า t_L คือค่าอุณหภูมิต่ำสุดที่แมลงสามารถเจริญเติบโตได้ (องศาเซลเซียส)
โดยมากค่า K มักคำนวณจากค่าอุณหภูมิคงที่ 5 อุณหภูมิ และค่า K ที่ได้คือค่าที่เรียกว่า number of
degree days (DD) (Grassberger and Reiter, 2002)

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

การประมาณเวลาหลังการตาย (PMI) นอกจากนักนิติวิทยาศาสตร์จะต้องทราบชนิดของหนอน
แมลงวันอย่างแม่นยำแล้ว การบันทึกอุณหภูมิบริเวณที่เกิดเหตุและจากสถานีวัดอากาศที่ใกล้ที่สุดถือเป็น
ขั้นตอนที่สำคัญในการคำนวณหา PMI เนื่องจากแมลงเป็นสัตว์เลือดเย็น (exothermic) คือร่างกาย
สามารถปรับอุณหภูมิได้ในช่วงค่อนข้างกว้าง ดังนั้นอุณหภูมิร่างกายและการเติบโตของแมลงจึงขึ้นอยู่กับ
อุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม การเจริญเติบโตของแมลงวันเป็นการเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์
ประกอบด้วย 4 ระยะซึ่งแต่ละระยะของการเติบโต แมลงต้องการความร้อน (heat) เพื่อใช้สำหรับการ
พัฒนาจากระยะหนึ่งไปยังอีกระยะหนึ่ง เช่น จากระยะไข่ (egg) ไปเป็นตัวหนอนระยะที่ 1 (first instar
larvae) และค่าความร้อนที่ใช้สำหรับการเติบโตจากไข่ไปเป็นตัวเต็มวัย คือ ค่าความร้อนสะสม (heat
accumulation) โดยทั่วไปจะเขียนเป็นค่าจำนวนชั่วโมงสะสม (accumulated degree hour; ADH) และค่า
จำนวนวันสะสม (accumulated degree day; ADD) ค่าจำนวนชั่วโมงและจำนวนวันสะสม เป็นการวัด
หน่วยความร้อน (heat units) ตลอดช่วงระยะเวลาที่แมลงวันใช้ในการเติบโตจากไข่ไปเป็นตัวเต็มวัย
คำนวณได้จากค่าอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดของแต่ละวัน โดยทั่วไปการเติบโตของแมลงวันจะถูกจำกัดโดย
ขีดจำกัดสูงสุด (upper limit) และต่ำสุด (lower limit) ของการเติบโต ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ การเติบโตของ

แมลงเกิดขึ้นได้ในช่วงค่าอุณหภูมิหนึ่ง คือ แมลงวันจะเริ่มเติบโตได้ที่อุณหภูมิที่ต่ำที่สุด (minimum temperature) ค่าหนึ่ง เรียกว่า lower development threshold หรือ baseline ซึ่งถ้าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมต่ำกว่าค่า baseline แมลงวันจะหยุดการเติบโตหรือไม่มีการเจริญเติบโต ในทางกลับกันเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจนถึงอุณหภูมิสูงสุด (maximum threshold temperature) ค่าหนึ่ง แมลงวันจะหยุดการเติบโต เรียกค่านี้ว่า upper development threshold หรือ cut off ดังนั้นการหาค่า ADD คำนวณได้จากสูตรต่อไปนี้

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

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

$$ADD = \frac{[(อุณหภูมิสูงสุด + อุณหภูมิต่ำสุด)/2] - ค่า baseline \times \text{จำนวนชั่วโมงที่ใช้ในการเจริญ}}{24}$$

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