การศึกษาอนุกรมวิธานตัวอ่อนแมลงวันผลไม้เผ่า Dacini (Diptera: Tephritidae) ร่วมกับการใช้เทคนิค Morphometric ในตัวเต็มวัย

Taxonomy of Fruit Fly Larvae in Tribe Dacini (Diptera: Tephritidae) and Using Morphometric Technique in Adults

ยุวรินทร์ บุญทบ ชมัยพร บัวมาศ เกศสุดา สนสิริ
จอมสุรางค์ ดวงธิสาร สิทธิสิโรดม แก้วสวัสดิ์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจากพื้นที่ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคเหนือ รวมทั้งเก็บตัวอ่อนจากพืชอาหารชนิดต่างๆ เช่น บวบ เมลอน พริก ฝรั่ง และมะม่วง และนำตัวอ่อนแมลงวันผลไม้จากพืชอาหารชนิดต่างๆ มาเลี้ยงจนได้ตัวหนอนในระยะที่ 3 ซึ่งเป็นระยะที่ตัวหนอนเจริญเติบโตเต็มที่ก่อนที่จะเข้าดักแด้ ซึ่งจัดเป็นระยะที่ตัวหนอนมีความสมบูรณ์ที่สุด ศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของตัวอ่อนจากแมลงวันผลไม้ 5 ชนิด ได้แก่ *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett), *Z. tau* (Walker), *Bactrocera correcta* (Bezzi), *B. latifrons* (Hendel), *B. carambolae* Drew & Hancock และ *B. dorsalis complex* ทั้งหมดจำนวน 158 ตัวอย่าง ถ่ายภาพ วัดขนาด และทำสไลด์ถาวรส่วนที่มีลักษณะสำคัญ เช่น ปาก (mouth hook; cephalofaryngeal) รูหายใจด้านข้าง (anterior spiracle) และด้านท้าย (posterior spiracle) จากตัวอ่อน และทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาที่สำคัญจากสไลด์ถาวร พร้อมทั้งวาดภาพประกอบลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ Dacini

---

รหัสการทดลอง 03–30-60-01-01-01-02-60

คำนำ

แมลงวันผลไม้หรือแมลงวันทอง เป็นแมลงศัตรูที่มีความ สำคัญมาก สำหรับผลไม้และผักในเขตร้อน (Tropical) และเขตร้อนชื้น (Sub-tropical) ทั่วโลกพบแมลงวันผลไม้มากมายหลากหลายชนิด แต่ในทวีปเอเชียพบว่าแมลงวันผลไม้ใน Tribe Dacini นั้นเป็นกลุ่มแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะสกุล *Zeugodacus, Bactrocera* และ *Dacus* ทั่วโลกพบว่ามีมากกว่า 700 ชนิด (Krosch *et al*., 2012) เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตทางการเกษตรอย่างสูง (Aluja & Norrbom, 2001)

แมลงวันผลไม้ใน Tribe Dacini บางชนิดมีรูปร่างทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันมาก (Ibrahim & Ibrahim, 1990; Stone, 1942; Drew & Hancock, 1994; Vera *et al*., 2006; Cameron *et al.,* 2010; Schutze *et al*., 2012; Kitthawee & Rungsri, 2011; Hernández-Ortiz *et al*., 2012; Krosch *et al.,* 2013) โดยตัวเต็มวัยจะเข้าทำลายผลไม้โดยการวางไข่ กับผลไม้ที่มีเปลือกบาง หรืออ่อนนุ่ม จากนั้นตัวหนอนจะเจริญเติบโตอยู่ภายในผลทำให้ ผลไม้เน่าเสีย ก่อนการเก็บเกี่ยว เนื่องจาก และบ่อยครั้งที่พบว่าตัวหนอนของแมลงวันผลไม้ติดไปภายในผล พร้อมการส่งออกผักผลไม้ ดังนั้น จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จะเป็นการศึกษาชนิดของแมลงวันผลไม้ Tribe Dacini ตัวอ่อนด้วยวิธีการดั้งเดิม (Traditional taxonomy) และการประยุกต์ใช้การวิเคราะห์มอร์โฟเมตรีแบบจีโอเมตริกมาผสมผสานกับการศึกษาอนุกรมวิธานแบบดั้งเดิมของแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยใน Tribe Dacini ของประเทศไทย โดยข้อมูลที่ได้จะสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการอ้างอิงและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ใน Tribe Dacini รวมทั้งสามารถนำไปใช้ประยุกต์เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการป้องกันกำจัด รวมทั้งการนำเข้าส่งออกผักผลไม้ไปยังต่างประเทศต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และ compound microscope
- กล้องถ่ายรูปจากกล้องจุลทรรศน์
- อุปกรณ์ใช้ในการวาดภาพ
- คอมพิวเตอร์
- เตาไฟฟ้า
- กล่องรักษาความเย็นขนาด 68 ควอทซ์
- ตู้อบ /เครื่องอุ่นสไลด์
- เอกสารประกอบการจำแนกแมลงวันผลไม้

- แผ่นสไลด์แก้ว cover glass กล่องใส่สไลด์ถาวร

- อุปกรณ์และสารเคมีในการเก็บตัวอย่างแมลง (ขวดดอง เอทิลอาซีเตด กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก อุปกรณ์บันทึกข้อมูลเช่น ปากกา ดินสอ แฟ้ม)

- อุปกรณ์สำหรับเลี้ยงตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ เช่น ตะแกรง ขี้เลื่อย พลาสติกใส่ในกรงผ้า น้ำตาลผสม บรีเวอร์ยีสต์ในอัตรา 1:4

- กับดักแมลงวันผลไม้ (Wet budget trap) สารฟีโรโมนที่ใช้ล่อแมลงวันผลไม้ ได้แก่ Cue lure และ Methyl Eugenol)

- สารเคมีและอุปกรณ์ในการทำสไลด์ถาวร เช่น Canada balsam

- อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ (กระดาษ แผ่นบันทึกข้อมูล หมึกพิมพ์ ซีดี)

วิธีการ

1. วิธีดำเนินการวิจัยเก็บตัวอย่างตัวอ่อนและตัวเต็มวัย

- สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ในแปลงเพาะปลูกและในสภาพธรรมชาติโดยใช้กับดักล่อแมลงวันผลไม้แบบ ซึ่งประกอบด้วยสารล่อแมลงวันผลไม้ 2 ประเภท ได้แก่ Cue lure และ Methyl Eugenol จากพื้นที่เพาะปลูกทางการเกษตร เก็บรวบรวมผลไม้ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันผลไม้ พร้อมพืชใส่ถุงพลาสติกหรือ กล่องพลาสติก เพื่อให้ระบายอากาศได้ดี บันทึกวันที่ เดือน พ.ศ. สถานที่เก็บ นำกลับมาเลี้ยงยังห้องปฏิบัติการ จนเป็นตัวเต็มวัย นำตัวอย่างแมลงที่ได้ดองไว้ใน แอลกอฮอล์ 95% และเก็บตัวอย่างที่ได้มา ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- การศึกษาครั้งนี้มีแผนการปฏิบัติการเก็บตัวอย่างแมลงวันทองจากพื้นที่การเกษตร และพื้นที่ป่าธรรมชาติ แต่เนื่องจากแมลงวันผลไม้แต่ละชนิดใน Tribe Dacini มีการเข้าทำลายพืชอาหารแตกต่างกัน ดังนั้น จึงต้องพยายามเก็บรวบรวมตัวอย่างของ ตัวอ่อนจากพืช ให้ได้มีความหลากหลายที่สุด โดยจะเก็บรวบรวมตัวอย่างจากพื้นที่ต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย (ในแต่ละปีจะออกเก็บตัวอย่าง ในทุกๆ เดือน หมุนเปลี่ยนไปในภาคต่างๆ ดังนี้ ภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคะวันออก ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ซึ่งคาดว่าภายในหนึ่งปีจะสามารถเก็บตัวอย่างได้ภาคละ 3-5 จังหวัด และในแต่ละจังหวัดจะเก็บสามจุดสำรวจ และใช้กับดักฟีโรโมน 2 ประเภทได้แก่ CUE lure และ Methyl Eugenol โดยติดตั้งใน พื้นที่เก็บตัวอย่างละ 5 อัน/ต่อจุดสำรวจ บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) โดยแบ่งเป็น พื้นที่ต่างๆ ดังนี้

(1) แปลงพืชผักสวนครัว เช่น แตงกวา ฟักทอง และถั่วฝักยาว

(2) แปลงผลไม้ (ขึ้นอยู่กับพื้นที่ที่เข้าสำรวจในแต่ละจังหวัด)

(3) พื้นที่ป่าธรรมชาติ เช่น สวนพฤกษศาสตร์ อุทยานแห่งชาติ

รายละเอียดจังหวัดที่เป็นตัวแทนพื้นที่ปลูกพืชที่ต้องการไปเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้

ปี 2560 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจาก 3 ภาคดังนี้

(1) ภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดนครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี และนครนายก

(2) ภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี ตาก ราชบุรี และเพชรบุรี

(3) ภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงราย น่าน เชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน แพร่ ลำปาง และลำพูน

ปี 2561 สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างจาก 3 ภาคดังนี้

(1) ภาคตะวันออก ได้แก่ จังหวัดสระแก้ว ปราจีนบุรี ชลบุรี ระยอง จันทบุรี และตราด

(2) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัด ขอนแก่น เลย หนองคาย หนองบัวลำภู และอุดรธานี

(3) ภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พังงา พัทลุง ตรัง และสงขลา และสตูล

- ส่วนของพืชมายังห้องปฏิบัติการนำตัวอย่างพืชแยกชนิดของตัวหนอน และทำการดองด้วยแอลกอฮอล์ 95-100% (เพื่อใช้นำไปศึกษาอนุกรมวิธานของตัวอ่อน) นำตัวอ่อนที่เหลือใส่กล่องพลาสติกที่ มีตะแกรงรองก้นซึ่งด้านล่างใส่ขี้เลื่อย นำกล่องพลาสติกใส่ในกรงผ้าเพื่อให้ตัวเต็มวัยเจริญออกมาให้อาหาร คือ น้ำตาลผสม บรีเวอร์ยีสต์ในอัตรา 1:4 เพื่อให้สืบนลำตัวพัฒนาได้ดี

- เตรียมตัวอย่างตัวเต็มวัยเพื่อใช้ในการจำแนก ชนิดแมลงวันผลไม้ โดยใช้ตัวอย่างตัวเต็มวัยที่อบแห้งหรือฆ่า ด้วยเอทิลอาซีเตด หรือเก็บแมลงใส่หลอดแก้ว แช่ในช่องน้ำแข็ง 4 - 5 ชั่วโมง วิธีนี้จะทำให้สีไม่ เปลี่ยนแปลงไป เมื่อได้ตัวอย่างแล้ว ใช้เข็มขนาดเล็ก (micropin) แทงบริเวณ ด้านข้างของส่วนอกใต้ปีก ให้ไปทางด้านหน้าของลำตัว แล้วจึงเสียบ micropin กับโฟมหรือ ค๊อกขนาดเล็กที่มีเข็มปักแมลงเสียบอยู่ โดยมีป้ายเล็กๆ บันทึกกำกับ บอก สถานที่ วันเดือนปี และชื่อผู้เก็บ และมีป้ายบันทึก แยกบันทึกชื่อพืช ที่เก็บมา และชื่อแมลงที่จำแนกได้อีก 1 ป้าย

2. การศึกษาอนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันแมลงด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ดำเนินการปี 2560-2561)

- นำตัวอย่างตัวอ่อนมาศึกษาลักษณะต่างๆ โดยละเอียด ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจดูลักษณะที่แตกต่างกันซึ่งเป็นลักษณะสำคัญในการจำแนกชนิด

- นำลักษณะบางอย่างที่มีความสำคัญในการจัดจำแนกชนิด เช่น รยางค์ปาก หรือบริเวณด้านท้ายของลำตัว มาทำสไลด์ ถาวร เพื่อใช้ในการทำการตรวจ วิเคราะห์ชนิดตัวอ่อน แมลงวันทอง

- บันทึกรายละเอียดต่างๆ เช่น รูปร่าง ลักษณะ ขนาด และสีเป็นต้น โดยตรวจสอบ ลักษณะที่สำคัญทางอนุกรมวิธานด้วยการใช้เอกสารแนวทางการวินิจฉัยชนิดของตัวอ่อนแมลงวันทอง ประกอบการเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เก็บรวบรวมไว้ในพิพิธภัณฑ์

- บันทึกลักษณะสัณฐานวิทยา โดยการถ่ายภาพใต้กล้องจุลทรรศน์ รวมถึงให้รายละเอียดบนแผ่นป้าย บันทึกของขวดดองตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ทุกขวด ได้แก่ ชื่อวิทยาศาสตร์ที่จำแนกได้ วัน/เดือน/ปี สถานที่เก็บตัวอย่าง และชื่อผู้เก็บตัวอย่าง

- จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) Tribe สกุล และชนิดของตัวอ่อนแมลงวันทองที่รวบรวม ได้พร้อมภาพประกอบ

- จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามระบบสากลของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง

3. การศึกษาอนุกรมวิธานแมลงด้วยวิธีการทางจีออเมตริก โมโฟเมตริก (ดำเนินการปี 2561)

- การทำสไลด์ปีกถาวรเพื่อใช้ในการศึกษา wing morphometric โดยใช้แมลงวันผลไม้ จำนวน 10-20 ตัวอย่าง/ชนิด

- ตัดส่วนปีกด้านขวาของแมลงวันผลไม้ มาวางบนสไลด์ ที่หยดน้ำยาที่จะทำสไลด์ คือ Canada balsam แล้วปิดทับด้วย กระจกปิดสไลด์ นำไปอบให้แห้งรวม 2-6 สัปดาห์ในตู้อบอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จึงนำออกมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่มีกำลังขยายสูง

- ถ่ายภาพ ปีกและกำหนด Landmark ของปีกแมลงวัน โดยใช้โปรแกรม TPS Dig2 เป็นตัวกำหนดและสร้างไฟล์ในรูปแบบของ TPS.file

- ทำการศึกษาความแตกต่างของสัณฐานวิทยา โดยใช้ โปรแกรม Morpho J เป็นตัววิเคราะห์ความแตกต่างของรูปร่างของปีกแมลงแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ

- ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขนาดของร่างกายที่มีผลต่อรูปร่างของปีก (allometry) โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ด้วยการทำการทดสอบแบบถดถอย (regression analysis) พร้อมทั้งทำการแสดงผลทาง จีออเมตริกโมโฟเมตริกของปีกแมลงวันแต่ละชนิด

- จัดทำแนวทางวินิจฉัย (key) ทั้งสกุลและชนิดของแมลงวันผลไม้ ที่รวบรวมได้พร้อมภาพประกอบ

- จัดเก็บตัวอย่างที่ได้ศึกษาไว้ในพิพิธภัณฑ์โดยแบ่ง เป็น หมวดหมู่ตามระบบสากล ของการเก็บรักษาตัวอย่างแมลง (แมลงวันผลไม้ ทุกชนิดที่รายงาน ไว้ต้องเก็บรักษาตัวอย่างจริงไว้ เพื่อการตรวจสอบ สืบค้น และอ้างอิงในภายหลัง)

เวลาและสถานที่

ระยะเวลาการทดลอง : ตุลาคม 2559 - กันยายน 2561

สถานที่ : 1) แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ของภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคเหนือ ภาคะวันออก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้

2) ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตวิวทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจากพื้นที่ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคเหนือ และเก็บตัวหนอนจากพืชอาหาร (host plant) ชนิดต่างๆ เช่น บวบ เมลอน พริก ฝรั่ง และมะม่วง (Table 1) รวมทั้งติดตั้งกับดักแมลงวันผลไม้ด้วยสารล่อ ประเภท CUE lure และ Methyl eugenol เพื่อนำตัวอย่างแมลงวันผลไม้ไปใช้ในการศึกษา wing morphometrics ต่อไป

การศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันผลไม้

นำตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ที่ได้จากพืชอาหารชนิดต่าง ๆ มาเลี้ยงจนได้ตัวหนอนในระยะที่ 3 (third instar) ซึ่งเป็นระยะที่ตัวหนอนเจริญเติบโตเต็มที่ก่อนที่จะเข้าดักแด้ ซึ่งจัดเป็นระยะที่ตัวหนอนมีความสมบูรณ์ที่สุด (Figure 1) และจากการเลี้ยงเพื่อจะเตรียมตัวอ่อนเพื่อศึกษาอนุกรมวิธานนั้น พบว่า วงจรชีวิตแมลงวันผลไม้แต่ละชนิดจะมีระยะเวลาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชอาศัย รวมทั้งอุณหภูมิและสภาพแวดล้อมนั้น ๆ โดยวงจรชีวิตแมลงวันผลไม้นั้นเริ่มจากแมลงวันผลไม้เพศเมียวางไข่โดยแทงอวัยวะวางไข่ที่ตั้งอยู่บริเวณปลายสุดของส่วนท้อง ลงในเนื้อเยื่อผักหรือผลไม้ลึกประมาณ 3 มิลลิเมตร โดยไข่ของแมลงวันผลไม้มีสีขาว ลักษณะยาวรีประมาณ 1 มิลลิเมตร ระยะไข่ใช้เวลา 2-4 วัน จากนั้นจะฟักเป็นตัวอ่อนมีลักษณะเป็นตัวหนอน (maggot) และกัดกินอยู่ภายในผล ตัวหนอนมีสีครีมเรียวยาวและบริเวณส่วนปลายตัดทู่ โดยพบว่าบริเวณส่วนหัวมีลักษณะเรียวแหลมและบริเวณด้านหน้าของส่วนปากจะมีลักษณะโครงกระดูกที่มีลักษณะคล้ายตะขอ (mouth hook: cephalopharyngeal) ซึ่งปากที่มีลักษณะเป็นตะขอนั้นก่อให้เกิดประโยชน์ในการฉีกกินเนื้อผักและผลไม้ โดยตัวหนอนมีการเจริญเติบโต 3 ระยะ (9-12 วัน) เมื่อเติบโตเต็มที่มีสีเหลืองอ่อน ความยาวประมาณ 9 มิลลิเมตร จากนั้นจะพัฒนาเป็นดักแด้ ที่มีลักษณะคล้ายถังเบียร์สีน้ำตาล (obtect) และดักแด้จะแตกออกเจริญเติบโตกลายเป็นตัวเต็มวัย (8-10 วัน) โดยแมลงวันผลไม้ตัวเต็มวัยจะกินอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตจากแหล่งต่าง ๆ เช่น ผลไม้ น้ำหวาน น้ำหวานจากเพลี้ยและแมลงขนาดเล็ก รวมทั้งแหล่งโปรตีนธรรมชาติ เช่น แบคทีเรียและมูลนก โดยตัวเต็มวัยมีระยะการเจริญเติบโตของแมลงวันผลไม้ประมาณ 85-115 วัน

ในการศึกษาอนุกรมวิธานตัวอ่อนแมลงวันผลไม้นั้นจะต้องทำการถ่ายรูปพร้อมวัดขนาดตัวหนอนที่สำรวจได้จากพืชอาหารชนิดต่าง ๆ โดยการนำตัวหนอนในระยะการเจริญเติบโตที่ 3 มาต้มในน้ำร้อนที่เดือดเป็นอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อทำให้ตัวหนอนคงสภาพที่สมบูรณ์และสีไม่เปลี่ยนแปลง วัดขนาดพร้อมถ่ายรูปหนอนแต่ละชนิด (Table 2) จากนั้นนำตัวอย่างทั้งหมดเก็บรักษาไว้ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ เพื่อจะนำมาทำสไลด์ถาวรในส่วนที่มีความสำคัญ เช่น ปาก (mouth hook) รูหายใจบริเวณข้างลำตัว (anterior spiracle) และรูหายใจส่วนปลายท้อง (posterior spiracle) (Figure 2)

การทำสไลด์ถาวรลักษณะสำคัญที่ใช้ในการศึกษาอนุกรมวิธาน

ในการศึกษาลักษณะทางอนุกรมวิธานของตัวอ่อนแมลงวันผลไม้นั้น พบว่า ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกนั้น ต้องมีการทำสไลด์เพื่อให้เห็นลักษณะสำคัญต่างๆ ดังต่อไปนี้

1. **ส่วนปาก (mouth hook)** คือ ส่วนของปากที่มีลักษณะเป็นโครงสร้างแข็ง (cephalopharygeal) โดยโครงสร้างที่มีความสำคัญในการศึกษาได้แก่
   - Apical tooth : ส่วนปลายสุดของฟัน
   - Pre - apical tooth : ส่วนที่เป็นโครงสร้างแข็ง พบก่อนบริเวณสุดของฟัน
   - Ventral apodeme : ส่วนที่เป็นโครงสร้างแข็ง พบก่อนบริเวณด้านล่างของกราม
   - Neck : พื้นที่ด้านหลัง ventral apodeme
   - Dorsal apodeme : ส่วนที่เป็นโครงสร้างแข็ง พบก่อนบริเวณด้านบนของกราม

2. ส่วนของรูหายใจด้านหน้า (anterior spiracle) เป็นรูหายใจที่พบบริเวณด้านข้างของลำตัว โดยรูหายใจนี้จะติดอยู่ส่วนหน้าของลำตัว มีลักษณะเป็นเนื้อยื่นออกมาคล้ายนิ้วมือ มีรูปร่างและจำนวนแตกต่างกันในแต่ละชนิดของแมลงวันผลไม้

3.รูหายใจบริเวณท้าย (posterior spiracle) เป็นส่วนปลายสุดของตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ ซึ่งประกอบด้วยส่วนสำคัญต่างๆ ที่ใช้ในการจำแนกชนิดตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ ได้แก่

- ส่วนของรูหายใจด้านหลัง (posterior spiracle) ซึ่งมีลักษณะและจำนวนแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดแมลงวันผลไม้

- Tubercles เป็นเนื้อเยื่อที่พบบริเวณส่วนปลายท้องของตัวอ่อน ซึ่งระยะห่างระหว่าง tubercle และพื้นที่ระหว่าง tubercle นั้นจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน (Figure 3)

<u>แนวทางวินิจฉัยตัวอ่อนแมลงวันแมลงวันผลไม้ Tribe Dacini</u>

1. Posterior end with a short transverse line at the apex (between the tubercles); posteriors spiracular slits nearly equidistant from each other and nearly parallel 2

- Posterior end without a transverse line at the apex (between the tubercles); posteriors spiracular slits variable..... 3

2. Preapical tooth present. Anterior spiracle with 18 - 20 tubules.....*Z. cucurbitae*

- Preapical tooth absent. Anterior spiracle with 14 -16 tubules.....*Z. tau*

3. Anterior spiracle 2-branched (fig1), with papillae present along each diverging arm. Anterior spiracle with more than 14 tubules (15-17).....*B. latifrons*

- Anterior spiracle with less than 14 tubules.....4

4. Anterior spiracles with 8-12 (9-11) tubules.....*B. correcta*
- Anterior spiracles with 10-12 tubules.....*B. dorsalis*

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมลงวันผลไม้ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจากพื้นที่ภาคใต้ ภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคเหนือ รวมทั้งเก็บตัวหนอนจากพืชอาหารชนิดต่างๆ เช่น บวบ เมลอน พริก ฝรั่ง และมะม่วง และนำตัวอ่อนแมลงวันผลไม้จากพืชอาหารชนิดต่างๆ มาเลี้ยงจนได้ตัวหนอนในระยะที่ 3 พร้อมทั้งถ่ายภาพ วัดขนาด และทำสไลด์ถาวรส่วนที่มีลักษณะสำคัญเช่น ปาก รูหายใจด้านข้าง และด้านท้าย จากตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ 5 ชนิด จำนวน 158 ตัวอย่าง พร้อมทั้งวาดภาพประกอบลักษณะทางอนุกรมวิธาน และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดตัวอ่อนแมลงวันผลไม้เผ่า Dacini ซึ่งนอกจากนี้ควรมีการศึกษา DNA Barcode ของตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ร่วมกับลักษณะสัณฐานเพื่อยืนยันความถูกต้อง การศึกษาครั้งนี้ยังไม่สิ้นสุดต้องดำเนินการทดลองต่อในปี 2561 ซึ่งในการศึกษาครั้งต่อไปเป็นการศึกษา Wing Morphometric ของแมลงวันผลไม้ Tribe Dacini เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำมาประกอบการแยกชนิดของแมลงในผลไม้ Tribe Dacini ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

Aluja, M. & Norrbom, A.L. 2001. *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of behavior*. Florida, USA, CRC Press.

Cameron, E.C., Sved, J.A. & Gilchrist, A.S. 2010. Pest fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northwestern Australia: one species or two? *Bulletin of Entomological Research* 100: 197-206.

Drew, R.A.I. & Hancock, D.L. 1994. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) in Asia. *Bulletin of Entomological Research Supplement Series* 2: 1-68.

Hernández-Ortiz, V., Bartolucci, A.F., Morales-Valles, P., Frias, D. & Selivon, D. 2012. Cryptic species of the *Anastrepha fraterculus* complex (Diptera: Tephritidae): a multivariate approach for the recognition of South American morphotypes. *Annals of the Entomological Society of America* 105: 305-318.

Ibrahim, R. & Ibrahim, G.A. 1990. *Handbook on Identification of Fruit Flies in the Tropics*. Kaula lumpur, Malaysia, Universiti Pertanian Malaysia Press.

Kitthawee, S. & Rungsri, N. 2011. Differentiation in wing shape in the *Bactrocera tau* (Walker) complex on a single fruit species in Thailand. *Science Asia* 37: 308-313.

Krosch, M.N., Schutze, M., Armstrong, K.F., Graham, G.C., Yeates, D.K. & Clarke, A.R. 2012. A molecular phylogeny for the Tribe Dacini (Diptera: Tephritidae): Systematic and biogeographic implications. A molecular phylogeny for the Tribe Dacini (Diptera: Tephritidae): Systematic and biogeographic implications. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. doi.org/ 10.1016/j.ympev.2012.05.006

Krosch, M.N., Schutze, M.K., Armstrong, K.F., Boontop, Y., Boykin, L.M., Chapman, T.A., Englezou, A., Cameron, S.L. & Clarke, A.R. 2013. Piecing together an integrative taxonomic puzzle: microsatellite, wing shape and aedeagus length analyses of *Bactrocera dorsalis s.l.* (Diptera: Tephritidae) find no evidence of multiple lineages in a proposed contact zone along the Thai/Malay Peninsula. *Systematic Entomology* 38: 2-13.

Schutze, M.K., Jessup, A. & Clarke, A.R. 2012. Wing shape as potential discriminator of morphologically similar pest taxa within the *Bactrocera dorsalis* species complex (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research* 102: 103-111.

Stone, A. 1942. The fruit flies of the genus Anastrepha. *United States Department of Agriculture Miscellaneous Publications* 439: 1-112.

Vera, M.T., Cáceres, C., Wornoayporn, V., Islam, A., Robinson, A.S., De la Vega, M.H., Hendrichs, J. & Cayol, J.P. 2006. Mating incompatibility among populations of the South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) *Annals of the Entomological Society of America* 99: 387-397.

Table 1 Host plants, number of larvae and distribution of fruit fly larvae

	Host plants)	(No. larvae)	(Distribution)
1	gourd	50	Suratthani, Bangkok, Kanchanaburi and Nakhon Ratchasima
2	melon	45	Nonthaburi, Nakkonnayok and Nan
3	chili	59	Bangkok, Pathumthani, Kanchanaburi and Nakhon Ratchasima
4	guava	179	Pathumthani, Ratburi and Nonthaburi
5	mango	77	Suratthani, Bangkok and Pathumthani, Kanchanaburi and Nakhon Ratchasima

Table 2 Scientific name, number of slides, length and width of fruit fly larvae

	Scientific name	number of slides	length	width
1	*Zeugodacus. cucurbitae*	25	9.381 + 0.442	1.400 + 0.133
2	*Z. tau*	25	9.262 + 0.610	1.414 + 0.155
3	*Bactrocera correcta*	23	8.619 + 0.494	1.499 + 0.116
4	*B. latifrons*	25	8.219 + 0.410	1.199 + 0.096
5	*B. dorsalis* complex	60	10.084 + 0.269	1.755 + 0.068
6	*B. carambolae*		9.647 + 0.486	1.494 + 0.113

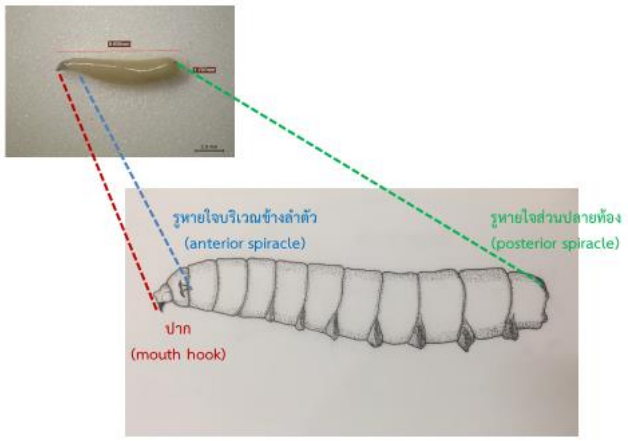

Figure 1 Morphological character of third instar of fruit fly larva (lateral view). The important characteristics of larvae are mouth hook, anterior spiracle and posterior spiracle

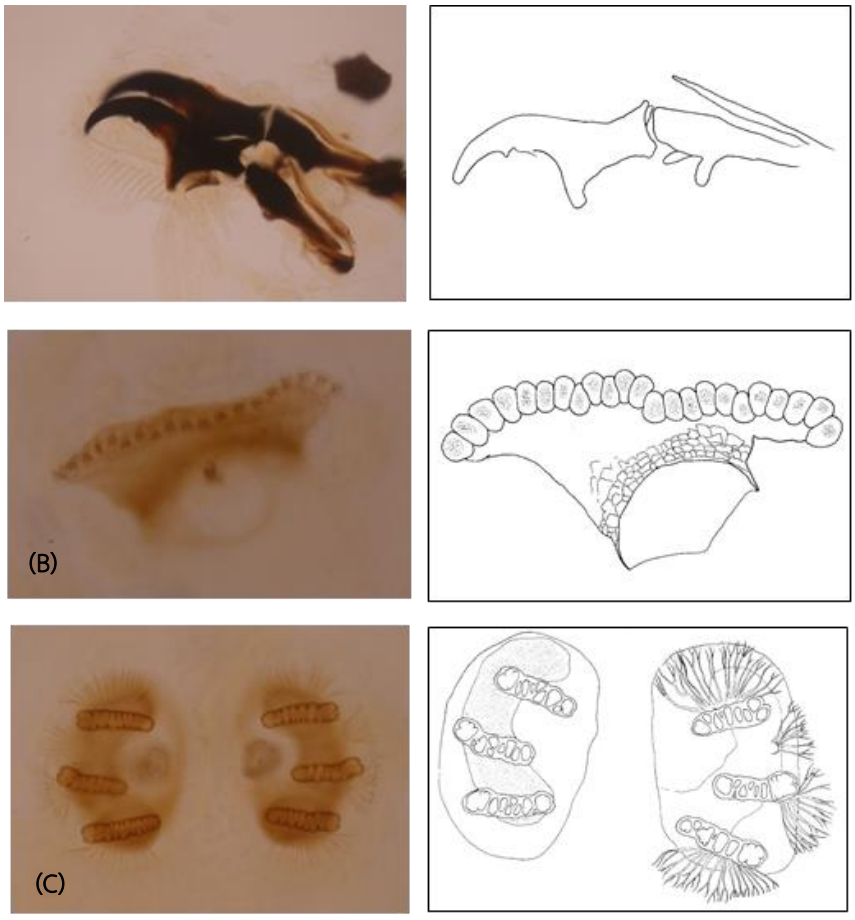

Figure 2 Taxonomic character of fruit fly larva

(A) Cephalofaryngeal skeleton of third instar larva in lateral view

(B) Anterior spiracle of third instar larva in lateral view

(C) Posterior spiracle of third instar larva (posterior view)