Thesis Title Modification of a Wind Tunnel with Dual-choice Flight Tunnel for Studying Behavioral Responses of the Blow Fly, *Chrysomya megacephala*, to Airborne Olfactory Stimuli

Author Miss Nophawan Bunchu

Degree Doctor of Philosophy (Parasitology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Kabkaew L. Sukontason — Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Kom Sukontason — Member

ABSTRACT

Chrysomya megacephala is a medically-important blow fly species. Its adults are not only mechanical carriers of several pathogens, and a cause of annoyance to humans and livestock, but its larvae are also a producing-myiasis agent. Regarding this, control of this fly population in the community is necessary.

While there are several tactics for controlling fly populations, non-insecticide-related and environmentally safe methods have been progressively investigated and increasingly acceptable. The baited-trap has been a widely-used method for controlling fly populations for a long time. As *C. megacephala* prevails over a wide area of Thailand, attempts have been made to control this blow fly species by using a trap. To employ the baited-trap efficiently, investigation is primarily needed regarding

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

the behavioral response of *C. megacephala* to important factors that influence the effectiveness of bait in the laboratory. Therefore, the main objective of this study was to construct a dual-choice flight tunnel and detection system for investigating the behavioral responses of *C. megacephala* toward different wind speed levels and odors emitting from natural products, thereby providing information on the most efficient bait to attract this fly.

Firstly, this work was initiated by designing and constructing the dual-choice flight tunnel and apparatus that would be used to determine the behavioral response of insects to olfactory stimuli. The dual-choice flight tunnel resembled the letter "T" (300.0 cm in horizontal length, 160.0 cm in vertical length, 60.0 cm in width, and 60.0 cm in height). It consisted of two lateral stimulus partitions, used for placing odor sources, and one central partition for releasing flies into the tunnel. The flight tunnel was mainly constructed from acrylic coated plywood supported by a stainless steel frame. The partitions were divided in equal length by two opaque white square polypropylene plates. Each side of the stimulus partition was installed with a ventilating fan to draw air into the tunnel, which passed simultaneously through two tightly packed filters of the dust filter and activated charcoal filter. Each stimulus partition comprised 4 trapping funnels; each having 3 central rectangular opening gateways (0.9 cm in width, 3.0 cm in length and 1.0 cm in height) used as fly entrances to the odor sources.

Secondly, a detection system was developed for monitoring and recording the number of responding flies. The detection system was mainly composed of three parts; detector module, micro-controller and a data logger program. Each trapping funnel was installed with a detector module, which was technically modified from a

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

simple infrared emitting diode for a remote control device. This infrared emitting diode was regulated to emit only 38 kHz by using the pulse-width modulation technique to protect the system against interference from other frequency infrared waves that may come from natural resources. This detector module worked in harmony with a micro-controller and a data logger program. In this study, the principle of the detection system used a network of bi-directional entrance counters, which monitored flies entering and leaving the stimulus partitions. The detection concept was a methodology of objects completely interrupting an infrared beam of two infrared sets. The detector module immediately transferred signals to the micro-controller, whenever the detector module recognized an interruption of the infrared beam. Thereafter, the micro-controller selected and sent the signals to the data logger program for data analysis.

The accuracy of each detector module was determined, and it was found to be relatively high (80.00-96.67%). However, errors in detection were also found, but only in some data when compared with those in the manual count (mean error = 39.09±24.18%). This may be due to certain factors that affected the accuracy of the detection system. The most probable factor may be that adult flies cannot completely interrupt both sets of infrared beams; thus, that signal and information would not be autonomously recorded by the detector and ultimately not appear in the data logger program. Accordingly, this detector module merits further investigations to improve its accuracy, such as using only one set of infrared beams or developing a computer program for detecting fly activity more accurately.

Thirdly, the efficacy of wind speed on the behavioral response of flies to airborne olfactory stimuli inside the dual-choice flight tunnel was investigated. The

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

results demonstrated that the flies increasingly responded with the increment of wind speed level. The wind speed set at 0.5 m/s was considered as the optimal one for *C. megacephala* in this dual-choice flight tunnel.

To determine the behavioral responses of *C. megacephala* in the laboratory, two main procedures were performed in this study, those being the screening of odors from natural products in the rearing cage and evaluating efficient odors within the dual-choice flight tunnel. The screening of odors from natural products was determined by counting the *C. megacephala* that landed on each natural product in the rearing cage for a 5-min period. Of a total 72 natural products determined, 24 kinds could attract >50% of tested flies; and all of these products contained a high protein content. Thereafter, these 24 kinds of natural products were evaluated within the dual-choice flight tunnel to verify the fly's responses to them. They received correlated responses in that all of them attracted >50% of the tested flies, and the 1-day tainted pork viscera was revealed as the most attractive natural product with >90% of flies responding. With its potency being 1.578 times greater, this natural product was also more attractive to flies than the 1-day tainted beef liver, which was commonly used as bait for the blow fly species.

In conclusion, the results from this study suggested that the dual-choice flight tunnel may be utilized to evaluate the behavioral responses of flies toward olfactory stimuli in the laboratory. Data pertaining to the most attractive natural product would be useful information in developing an efficient bait that could be used to attract and control *C. megacephala* in the future.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การดัดแปลงอุโมงค์ลมแบบสองทิศทางเพื่อศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองของแมลงวันหัวเขียว *Chrysomya megacephala* ต่อสิ่งเร้าทางด้านการดมกลิ่นที่มาตามกระแสลม
ผู้เขียน	นางสาว นพวรรณ บุญชู
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ปรสิตวิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. กาบแก้ว สุคนธสรรพ์ ประธานกรรมการ รศ.ดร.นพ. คม สุคนธสรรพ์ กรรมการ

บทคัดย่อ

Chrysomya megacephala เป็นแมลงวันหัวเขียวที่มีความสำคัญทางการแพทย์ ตัวเต็มวัยนอกจากเป็นพาหะเชิงกลนำพาเชื้อโรคที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในมนุษย์แล้ว ยังก่อความรำคาญทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์เศรษฐกิจ นอกจากนี้ตัวอ่อนเป็นสาเหตุของโรคหนอนแมลงวันทั้งในมนุษย์และสัตว์ได้ ดังนั้นการควบคุมจำนวนประชากรแมลงวันชนิดนี้จึงเป็นสิ่งที่จำเป็น

ถึงแม้ว่าการควบคุมจำนวนประชากรแมลงวันจะสามารถกระทำได้หลายวิธี แต่ปัจจุบันวิธีที่หลีกเลี่ยงการใช้สารฆ่าแมลงและไม่ส่งผลกระทบทางลบต่อสิ่งแวดล้อมได้รับการศึกษาและนิยมใช้เพิ่มมากขึ้น การใช้กับดักที่มีเหยื่อล่อแมลงวันเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ อย่างไรก็ตามการล่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แมลงวันตัวเต็มวัยให้มาที่กับดักได้มากที่สุด กับดักควรประกอบด้วยเหยื่อล่อที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดสำหรับแมลงวันชนิดนั้นๆ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างอุโมงค์ลมแบบสองทิศทางและระบบการตรวจนับแมลงวันโดยอัตโนมัติเพื่อนำมาใช้ศึกษาการตอบสนองทางพฤติกรรมของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ต่อความเร็วลมระดับต่างๆและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์สำหรับหากลิ่นที่เหมาะสมสำหรับดึงดูดแมลงวันชนิดนี้ต่อไป

ขั้นตอนแรกได้ออกแบบและสร้างอุโมงค์ลมแบบสองทิศทางเพื่อนำไปใช้ในการศึกษาพฤติกรรมในการตอบสนองของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ต่อสิ่งเร้าภายนอกที่มีผลให้แมลงวันแสดงพฤติกรรมการบิน ซึ่งประกอบด้วยความเร็วลมและสิ่งเร้าทางด้านการดมกลิ่น อุโมงค์ลมแบบสองทิศทางมีลักษณะเป็นรูปตัว T (ตามแนวนอนมีความยาว 300 เซนติเมตร ตามแนวตั้งมีความยาว 160 เซนติเมตร กว้าง 60 เซนติเมตร สูง 60 เซนติเมตร) อุโมงค์ลมแบ่งออกเป็นสามส่วนคือ ส่วนที่ใช้สำหรับวางเหยื่อล่อสองส่วนอยู่ทางด้านข้าง (stimulus partition) และสำหรับปล่อยแมลงวันเข้าสู่อุโมงค์ลมหนึ่งส่วนอยู่ตรงกลาง โครงสร้างหลักของอุโมงค์ลมเป็นเหล็กกล่องภายนอกบุด้วยแผ่นไม้อัดเคลือบด้วยอะครีลิคสีขาว ภายในแต่ละส่วนกั้นด้วยแผ่นพลาสติกทึบสีขาว แต่ละด้านของ stimulus partition มีพัดลมดูดอากาศเพื่อดูดอากาศจากภายนอกผ่านเข้าสู่อุโมงค์ลม โดยอากาศจะผ่านแผ่นกรองฝุ่นและแผ่นกรองถ่านกัมมันต์ เพื่อกรองฝุ่นและกลิ่นที่อาจมากับอากาศภายนอก โดยแต่ละ stimulus partition ประกอบด้วยกรวยทางเข้าของแมลงวัน 4 กรวย แต่ละกรวยมีรูเปิดเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาดเล็ก 3 ช่องทาง โดยแต่ละช่องทางมีความกว้าง 0.9 เซนติเมตร ความยาว 3 เซนติเมตร และความสูง 1 เซนติเมตร สำหรับแมลงวันบินเข้าไปหาเหยื่อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้ทำการพัฒนาระบบการตรวจนับแมลงวันโดยอัตโนมัติ ระบบดังกล่าวประกอบด้วยอุปกรณ์ตรวจนับ (detector module), micro-controller และ data logger program โดยแต่ละกรวยทางเข้าของแมลงวันจะติดตั้ง detector module ไว้ทางด้านหลังของกรวยทางเข้า ซึ่งการศึกษาครั้งนี้ได้ดัดแปลงใช้หลอดอินฟราเรดที่ใช้สำหรับเครื่องควบคุมระยะไกลมาเป็นตัวตรวจนับแมลงโดยการควบคุมให้หลอดอินฟราเรดปล่อยคลื่นความถี่เฉพาะ 38 กิโลเฮิร์ทซ์ โดยใช้เทคนิค pulse-width modulation ซึ่งจะช่วยลดการรบกวนคลื่นอินฟราเรดที่อาจมาจากธรรมชาติ detector module จะทำงานร่วมกับ micro-controller ซึ่งเป็นตัวประสานงานส่งผ่านข้อมูลระหว่าง detector module และ data logger program โดยโปรแกรมดังกล่าวจะทำงานโดยแปรสัญญาณจาก micro-controller มาเป็นข้อมูลซึ่งถูกเก็บไว้ในเครื่องคอมพิวเตอร์ นอกจากนี้โปรแกรมดังกล่าวเป็นตัวควบคุมการทำงานของ micro-controller อีกด้วย หลักการของระบบการตรวจนับแมลงวันโดยอัตโนมัติคือการนับแบบมีทิศทาง กล่าวคือมีการนับจำนวนแมลงทั้งแมลงเข้าและออกจาก stimulus partition โดยแมลงวันบินเข้าหรือออกจาก stimulus partition จะผ่าน detector module ซึ่งประกอบด้วยชุดอินฟราเรดจำนวน 2 ชุดและเมื่อใดก็ตามแมลงวันมีการตัดผ่านแสงอินฟราเรด detector module จะส่งสัญญาณไปยัง micro-controller ซึ่ง micro-controller จะเลือกส่งสัญญาณที่มีการตัดแสงอินฟราเรดโดยสมบูรณ์ทั้งสองจุดไปยัง data logger program เพื่อแปรสัญญาณที่ส่งมาและบันทึกข้อมูลเก็บไว้สำหรับทำการวิเคราะห์ต่อไป

จากการศึกษาความเที่ยงตรงของชุดการตรวจจับอัตโนมัติโดยใช้ detector module พบว่ามีค่าความเที่ยงตรงค่อนข้างสูง (ร้อยละ 80.00-96.67) อย่างไรก็ตาม ระบบการตรวจจับอัตโนมัติมีความผิดพลาดอยู่บ้างในบางข้อมูล (ค่าความผิดพลาดร้อยละ 39.09±24.18) เมื่อเปรียบเทียบกับการนับจำนวนแมลงวันโดยนับด้วยมือ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย แต่ที่สำคัญคือแมลงวันไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สามารถผ่านชุดอินฟราเรดโดยสมบูรณ์ทั้งสองจุด ทำให้เครื่องไม่สามารถเก็บข้อมูลได้ การแก้ไขในอนาคตอาจกระทำโดยลดจำนวนชุดอินฟราเรดเหลือเพียงชุดเดียวเพื่อทำให้เครื่องตรวจนับได้แม่นยำขึ้น หรือพัฒนาโปรแกรมให้สัมพันธ์กับพฤติกรรมแมลงวันมากยิ่งขึ้น

จากการประเมินความเร็วลมที่เหมาะสมสำหรับการบินของแมลงวันภายในอุโมงค์ลม พบว่าระดับความเร็วลมมีความสัมพันธ์กับจำนวนแมลงวันที่ตอบสนองต่อสิ่งเร้า และที่ความเร็วลมระดับ 0.5 เมตรต่อวินาที เป็นระดับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับนำไปใช้เพื่อศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายใน อุโมงค์ลมแบบสองทิศทาง

ทำการศึกษากลิ่นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับดึงดูดตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ขั้นตอนแรกได้คัดกรองกลิ่นจากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติในกรงเลี้ยงแมลงวัน (ขนาด 30×30×30 เซนติเมตร) สังเกตจากพฤติกรรมการตอบสนองของแมลงวันโดยนับจำนวนแมลงวันที่มาตอมกลิ่นภายในเวลา 5 นาที พบว่าผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติจำนวน 72 ชนิดที่ทำการทดสอบ มีผลิตภัณฑ์จำนวน 24 ชนิดที่มีกลิ่นสามารถดึงดูดให้แมลงวันมาเกาะมากกว่าร้อยละ 50 ซึ่งผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติทั้งหมดนั้นมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบส่วนใหญ่ และเมื่อนำผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติทั้ง 24 ชนิดไปทดสอบการตอบสนองของแมลงวันในอุโมงค์ลมแบบสองทิศทาง พบว่าแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ตอบสนองต่อกลิ่นจากผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากกว่าร้อยละ 50 ของแมลงวันที่ทดสอบ ซึ่งสอดคล้องกับผลจากการศึกษาในกรงเลี้ยงแมลงวัน โดยเครื่องในหมูเน่า 1 วัน สามารถดึงดูดแมลงวันได้ดีที่สุด (มากกว่าร้อยละ 90) และมีประสิทธิภาพมากกว่าตับวัวเน่า 1 วันซึ่งถูกใช้เป็นเหยื่อล่อมาตรฐาน คิดเป็น 1.578 เท่า

จากผลการศึกษาครั้งนี้ จึงมีความเป็นไปได้ที่จะสามารถประยุกต์ใช้อุโมงค์ลมแบบสองทิศทางเพื่อศึกษาพฤติกรรมการตอบสนองต่อสิ่งเร้าทางด้านการดมกลิ่นของแมลงวัน เพื่อที่จะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำข้อมูลของเหยื่อล่อที่ดีที่สุด เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาเหยื่อล่อที่มีประสิทธิภาพในการใช้ควบคุมประชากรแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ในอนาคต

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved