

Thesis Title	Ultramorphology of the Reproductive System of the Blow Fly, <i>Chrysomya megacephala</i> and Efficacy of Human Contraceptive on Fly Development	
Author	Ms. Tarinee Chaiwong	
Degree	Doctor of Philosophy (Parasitology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Kabkaew L. Sukontason	Chairperson
	Assoc. Prof. Dr. Kom Sukontason, M.D.	Member
	Assoc. Prof. Dr. Udom Chaithong	Member

ABSTRACT

Chrysomya megacephala (F.) (Diptera: Calliphoridae) is the most important blow fly species of medical concern in Thailand. The adults are mechanical vectors of various pathogens and nuisance pests, while the larvae can cause myiasis. Problems arising from *C. megacephala* in the country result from its rapid development under warm temperatures as well as the availability of sources of filth material that can be used as breeding sites. The suppression of the reproductive success of this fly is of interest as an alternative control strategy. To investigate this possibility, the ultramorphology of the reproductive organs of *C. megacephala* was studied to provide

both basic information and that which can be applied to developing better control strategies.

The internal reproductive organs in male *C. megacephala* are comprised of a pair of testes, vas deferens and accessory glands, one ejaculatory duct and one sperm pump. Transmission electron microscopy (TEM) investigations of the testis wall showed that the outer epithelium is full of the rounded grains containing pigment, which give the organ its characteristic color. The spermatozoa of *C. megacephala* have an elliptical head and a wavy long tail. The testes of 3 day-old adult males are characterized by three stages of developing spermatozoa. As for the accessory glands, investigations using TEM of 3-day-old males show that it is a multicellular gland appearing as a simple tubular structure. The vas deferens consists of three layers including an epithelial cell layer, a connective tissue layer and a plasma membrane layer adjacent to the duct lumen. Transverse sections of the ejaculatory duct show it is composed of epithelial and luminal cells.

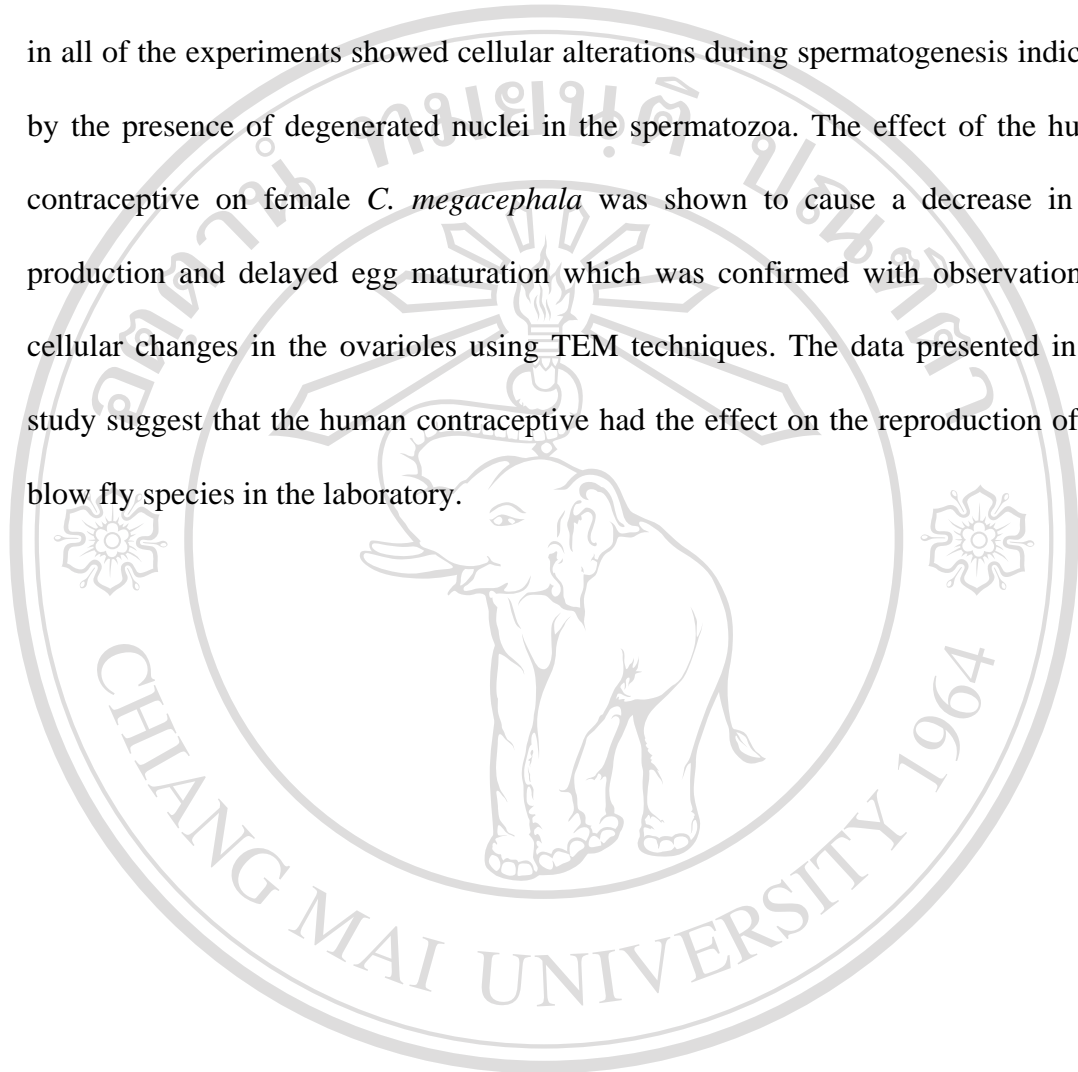
The female internal reproductive organs of *C. megacephala* consist of 2 ovaries, 2 lateral oviducts, a common oviduct, 3 spermathecae, 2 accessory glands and genital chamber or vagina. In this investigation, *C. megacephala* females completed egg development in eight stages and about ten days under ambient temperature (18-27°C). TEM images documenting the development of the follicular epithelium of 3- and 7-day-old blow flies showed that it progresses through eight distinct stages of oogenesis. TEM analyses illustrated the differentiation of the developing chorion layers in young and old adult females. Regarding accessory glands, the epithelial cells consist of both secretory cells and duct forming cells. The spermathecae exhibit in 1:2 configuration, and the epithelial cells showed that cistern cells are present which store

secretions and spermatozoa. The genital chamber or vagina consists of a central lumen wrapped by five distinct cell layers, with each layer characterized by a difference in structure and cellular organelles.

The external genitalia of male and female *C. megacephala* was also investigated using scanning electron microscopy (SEM). The male genitalia exhibits the specific characters of cercus, surstylus, epandrium, phallus, ejaculatory apodeme, and aedeagal apodeme. Sensilla chaetica and sensilla trichodea were found densely on the cercus and surstylus. Regarding females, several types of sensilla were found on the supra-anal plate, sub-anal plate and cercus, including the sensilla trichodea, sensilla basiconica, sensilla placodea and sensilla styloconica.

As an added feature to this investigation, the human contraceptive was tested to determine its ability to suppress the reproductive success of *C. megacephala* and to assess any effects the hormones might have on the morphology of the reproductive system. Adult *C. megacephala* were fed human contraceptive at two concentrations consisting of 0.036 mg/ml and 0.072 mg/ml (Microgest[®], Thailand; containing both levonorgestrel and ethinylestradiol) added to their drinking water for seven days and then maintained without further treatment for three generations after crossing and inbreeding. A reduction in egg production and delayed egg maturation was evident in females treated with human contraceptive in all three experiments. These effects were only observed in the first, second and third generations but not in the parental generation. Additionally, delayed egg maturation was found in adult flies treated with human contraceptive in all three of the experiments. Morphological alterations were observed under SEM showing that the ovarian envelope was thicker than, or slower develop than, in the control and cracks were present in the surface of the ovarioles,

there were instances where the ovarian envelope had worn away to reveal the chorion of the developing egg, as well as the presence of immature eggs. In males, the testes in all of the experiments showed cellular alterations during spermatogenesis indicated by the presence of degenerated nuclei in the spermatozoa. The effect of the human contraceptive on female *C. megacephala* was shown to cause a decrease in egg production and delayed egg maturation which was confirmed with observations of cellular changes in the ovarioles using TEM techniques. The data presented in this study suggest that the human contraceptive had the effect on the reproduction of this blow fly species in the laboratory.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	กายสัณฐาน โดยละเอียดของระบบอวัยวะสืบพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียวและ ประสิทธิผลของยาคุมกำเนิดต่อการเจริญเติบโตของแมลงวัน		
ผู้เขียน	นางสาว ชารินี ไชยวงศ์		
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (ปรสตีวิทยา)		
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. กาบแก้ว สุคนธสรณ์	ประธานกรรมการ	
	รศ. ดร. นพ. คม สุคนธสรณ์	กรรมการ	
	รศ. ดร. อุดม ชัยทอง	กรรมการ	
	บทคัดย่อ		

Chrysomya megacephala (F.) (Diptera: Calliphoridae) เป็นแมลงวันหัวเขียวชนิดที่มี

ความสำคัญทางการแพทย์มากที่สุดในประเทศไทย ตัวเต็มวัยนอกจากเป็นพาหะเชิงกลนำพาเชื้อโรคที่สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในมนุษย์ ยังก่อความรำคาญทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสัตว์เศรษฐกิจ นอกจากนี้ระยะตัวอ่อนยังเป็นสาเหตุของโรคหนอนแมลงวันทั้งในมนุษย์และสัตว์สำหรับประเทศไทย ปัญหาที่เกิดจากแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้เนื่องมาจากการเพิ่มจำนวนประชากรอย่างรวดเร็วของแมลงวัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของระยะต่างๆของแมลงวัน ดังนั้นการควบคุมจำนวนประชากรแมลงวันชนิดนี้จึงเป็น

สิ่งที่เป็น โดยการยับยั้งไม่ให้เกิดการสืบพันธุ์ของแมลงเกิดขึ้นได้อย่างสมบูรณ์เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่ น่าจะนำมาใช้ในการควบคุมประชากรแมลงวันได้ ดังนั้นการศึกษาชีววิทยาด้านต่างๆ รวมถึงกาย ศึกษาน โดยละเอียดของระบบอวัยวะสืบพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ จึงเป็นข้อมูลพื้นฐาน สำคัญที่จะนำไปสู่การพัฒนาวิธีการควบคุมประชากรแมลงวันหัวเขียวชนิดนี้ต่อไปในอนาคต

ระบบอวัยวะสืบพันธุ์ภายในของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เพศผู้ ประกอบด้วย อัณฑะ (testis) 1 คู่ ก้านหลอดผลิตอสุจิ (vas deferens) 1 คู่ ต่อมเกลือเพศ (accessory glands) 1 คู่ ท่ออสุจิ (ejaculatory duct) 1 ท่อ และตัวสูบน้ำอสุจิ (sperm pump) 1 อัน การศึกษา ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่าน (transmission electron microscopy, TEM) พบว่าผนัง เซลล์ชั้นผิวนอกของอัณฑะประกอบด้วยเม็ดกลมจำนวนมาก ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้กำเนิดสีส้มของ อัณฑะ เซลล์อสุจิ มีส่วนหัวรี หางเรียวยาวและคดเคี้ยว ตัวเต็มวัยอายุ 3 วันมีการพัฒนาของเซลล์ อสุจิเป็น 3 ขั้นตอน ในส่วนของต่อมเกลือเพศพบว่ามีลักษณะเป็นท่อ ที่ประกอบด้วยเซลล์หลาย เซลล์ (multicellular gland) ภายในท่อ ภายในก้านหลอดผลิตอสุจิแบ่งเป็น 3 ชั้น ได้แก่ ชั้นของเซลล์ บุผนัง (epithelial cell layer) ชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue layer) และชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane layer) ส่วนภายในท่ออสุจินั้นประกอบด้วยชั้นของเซลล์บุผนัง (epithelial cell) และชั้นลูมินัลเซลล์ (luminal cell)

ระบบอวัยวะสืบพันธุ์ภายในของตัวเต็มวัยแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เพศเมีย ประกอบด้วย รังไข่ (ovary) 1 คู่ ท่อนำไข่ด้านข้าง (lateral oviduct) 1 คู่ ท่อนำไข่หลัก (common oviduct) 1 ท่อ ต่อมเกลือเพศ (accessory glands) 1 คู่ ถุงเก็บอสุจิของเพศเมีย (spermatheca) 3 ถุง และช่องคลอด (genital chamber or vagina) 1 อัน ระยะเวลาพัฒนาของเซลล์ไข่จนเจริญเป็นไข่ที่ สมบูรณ์แบ่งเป็น 8 ระยะ โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 10 วันภายใต้อุณหภูมิห้อง (18-27 องศา

เซลล์) การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านแสดงถึงการพัฒนาของชั้นบุผิวที่ห่อหุ้มเซลล์ไข่ที่กำลังพัฒนาและสร้างผนังเซลล์ไขื่อด้านนอก (follicular epithelium) ของแมลงวันตัวเต็มวัยอายุ 3 และ 7 วัน นอกจากนี้ยังสามารถจำแนกการพัฒนาของชั้นเปลือกไข่หรือผนังหุ้มไขื่อด้านนอก (chorion layer) ระหว่างแมลงวันที่มีอายุน้อยกับแมลงวันที่มีอายุมาก ในส่วนของต่อมเกลือเพศ ประกอบด้วย secretory cell และ duct forming cell ถูกกักเก็บอสุจิของเพศเมียมีการจัดเรียงตัวเป็นแบบ 1:2 ซึ่งภายในเซลล์เชื่อมผนังพบ cistern cells ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้เก็บของเหลวและเซลล์อสุจิ ในส่วนของช่องคลอดตอนบนมีลักษณะเป็นท่ออยู่ตรงกลางที่มีชั้นเซลล์ล้อมรอบจำนวน 5 ชั้น ซึ่งแต่ละชั้นเซลล์มีโครงสร้างภายในที่แตกต่างกัน

ระบบอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* เพศผู้ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกวาด (scanning electron microscopy, SEM) พบว่าอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกประกอบด้วย cercus, surstylus, epandrium, phallus, ejaculatory apodeme และ aedeagal apodeme มีอวัยวะรับรู้สัมผัสแบบ sensilla chaetica และ sensilla trichodea บริเวณ cercus และ surstylus ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอกของแมลงวันเพศเมีย บริเวณ supra-anal plate, sub-anal plate และ cercus มีอวัยวะรับรู้สัมผัสหลายชนิดได้แก่ sensilla trichodea, sensilla basiconica, sensilla placodea และ sensilla styloconica

การศึกษาประสิทธิภาพของยาคุมกำเนิด (Microgest[®], Thailand) ซึ่งประกอบด้วยสารเคมี 2 ชนิดคือ levonorgestrel และ ethinylestradiol ในการยับยั้งการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* โดยการผสมยาคุมกำเนิดในน้ำหวานที่เป็นอาหารของตัวเต็มวัยนาน 7 วัน การศึกษาแบ่งเป็นสามกลุ่มคือกลุ่มควบคุม กลุ่มทดลองที่ให้อาหารความเข้มข้น 0.036 mg/ml และกลุ่มทดลองที่ให้อาหารความเข้มข้น 0.072 mg/ml จากนั้นเลี้ยงแมลงวันและติดตามผลของ

ยาคุมกำเนิดต่อระบบสืบพันธุ์ทั้งในแมลงวันรุ่นลูกนาน 3 รุ่น ผลจากการศึกษาพบว่าแมลงวันในกลุ่มทดลองมีจำนวนไข่ลดลงและไข่พัฒนาช้ากว่าในกลุ่มควบคุม ความผิดปกตินี้เกิดขึ้นในแมลงวันกลุ่มทดลองเฉพาะรุ่นลูกทั้ง 3 รุ่น แต่ไม่เกิดกับรุ่นพ่อแม่ที่ได้รับยาคุมกำเนิด การศึกษาผลของยาคุมกำเนิดต่ออวัยวะสืบพันธุ์ภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกวาดพบว่าในแมลงวันเพศเมียมีเชื้อหุ้มรังไข่หนากว่าหรือเจริญช้ากว่าในกลุ่มควบคุม หลอดผลิตเซลล์ไข่ (ovariolate) มีรอยแตกอย่างเด่นชัดและพบไข่ที่มีการเจริญไม่สมบูรณ์ ส่วนการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องผ่านในเพศผู้ของแมลงวันกลุ่มทดสอบ พบความผิดปกติของเซลล์ในกระบวนการกำเนิดเซลล์อสุจิ (spermatogenesis) คือลักษณะของ nuclei ของเซลล์อสุจิที่ไม่สมบูรณ์ ไซโตพลาสซึมเป็นโพรงมากขึ้น ซึ่งข้อมูลดังกล่าวแสดงถึงประสิทธิภาพของยาคุมกำเนิดชนิดนี้มีผลในการลดความสามารถในสืบพันธุ์ของแมลงวันหัวเขียว *C. megacephala* ในห้องปฏิบัติการได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved