บทคัดย่อ

ยุงก้นปล่องหลายชนิดแม้จะเป็นพาหะของเชื้อมาลาเรีย แต่ผลจากการคัดเลือกในห้องปฏิบัติการ ก็สามารถสร้างบางสายพันธุ์ที่สามารถต่อต้านหรือยอมรับเชื้อมาลาเรียได้น้อยลง อย่างไรก็ตามความรู้เกี่ยวกับกลไกที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวยังมีอยู่จำกัด การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ยุงก้นปล่องที่สามารถต่อต้านเชื้อมาลาเรียจากยุงพาหะมาลาเรียในประเทศไทย ได้แก่ *Anopheles dirus* species A, D, *An. minimus* species A และ *An. sawadwongporni* โดยใช้เชื้อมาลาเรียของหนู *Plasmodium yoelii nigeriensis* เป็นรูปแบบ และให้ทราบลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ความสามารถในการต่อต้านเชื้อมาลาเรียชนิดอื่น ตลอดจนระดับเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนในกระเพาะยุงซึ่งอาจเป็นกลไกหนึ่งในการต่อต้านเชื้อมาลาเรีย

การคัดเลือกสายพันธุ์เริ่มต้นจากการให้ยุงตัวเมียที่ผสมพันธุ์แล้วกินเลือดหนูที่ติดเชื้อมาลาเรีย จากนั้นแยกขังยุงที่กินเลือดเต็มที่ไว้เดี่ยว ๆ ในถ้วยที่มีน้ำจนวางไข่ แล้วจึงผ่าดูกระเพาะยุงว่าตัวไหนมี oocyst หรือไม่มี ไข่ที่มาจากยุงที่ติดเชื้อจะถูกนำมารวมกันแล้วเลี้ยงจนเป็นตัวยุงเพื่อทำการคัดเลือกต่อไปในฐานะเป็นสายพันธุ์ยอมรับ ทำนองเดียวกันกับไข่ที่มาจากยุงที่ไม่ติดเชื้อจะเป็นสายพันธุ์ที่ต่อต้าน การคัดเลือกดำเนินไปซ้ำแล้วซ้ำอีกจนกว่าจะได้สายพันธุ์ที่มีการยอมรับและต่อต้านเต็มที่ ผลการคัดเลือกสามารถได้สายพันธุ์ยุง *An. dirus* species A ที่ต่อต้านและยอมรับเชื้อ 100% หลังจากการคัดเลือกแบบกลุ่ม 17 รุ่นและตามด้วยแบบเดี่ยว 1-2 รุ่น ส่วนการคัดเลือกยุงชนิดอื่นไม่ประสพผลสำเร็จ เนื่องจากมีการติดเชื้อ 100% ใน *An. minimus* species A และ *An. sawadwongporni* และไม่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการติดเชื้อใน *An. dirus* species D เอนไซม์ aminopeptidase หรือ trypsin ในกระเพาะยุง *An. dirus* species A สายพันธุ์ที่ต่อต้านมีระดับไม่สูงกว่าในสายพันธุ์ที่ยอมรับ แสดงถึงการมีบทบาทน้อยมากต่อกลไกการต่อต้าน ลักษณะการต่อต้านเชื้อมาลาเรียที่สำคัญ คือ การยับยั้งการเจริญของ oocyst ที่ผนังกระเพาะยุง หลังจากที่ ookinete ไชเข้าไป การทำ cross และ back-cross ระหว่างสายพันธุ์ทั้งสองพบว่าลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมการต่อต้านเป็นแบบเด่นไม่สมบูรณ์และซับซ้อน แม้ว่ายุงสายพันธุ์นี้สามารถต่อต้านเชื้อมาลาเรียของหนูได้สมบูรณ์ แต่ยังมีการยอมรับเชื้อมาลาเรียของคน *P. falciparum* และ *P. vivax* แสดงถึงกลไกการต่อต้านที่มีความจำเพาะ แม้กระนั้นก็ตามสายพันธุ์ดังกล่าวยังนับว่ามีประโยชน์และสะดวก สำหรับเป็นรูปแบบหนึ่งต่อการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างยุงก้นปล่องกับเชื้อมาลาเรียที่สลับซับซ้อนนี้

ABSTRACT

Although several *Anopheles* species are vectors of malarial parasites, selections in laboratory have produced some malaria refractory strains. However, knowledge on mechanism conferring the susceptibility is still limited. The objectives of this study were to select a malaria refractory strain from the Thai malaria vectors, *Anopheles dirus* species A, D, *An. minimus* species A and *An. sawadwongporni*, by using the rodent malaria *Plasmodium yoelii nigeriensis* as a model, and then determine genetic basic for refractoriness, ability of inhibiting human malaria parasites, including protease enzyme activities in the midgut of mosquito which may play a role for refractoriness.

Selection began by allowing inseminated female mosquitoes to take blood from infected mice and the fully fed females were kept individually in small cups containing water until oviposition. The females were then dissected for checking oocyst infection. Eggs of those with oocyst infection were pooled and reared to adults for further selection as a susceptible line and eggs of those without oocyst as a refractory line. Selection was repeatedly performed until a fully susceptible line and a fully refractory line have been established. The selection succeeded in obtaining a 100% susceptible line and a 100% refractory line of only *An. dirus* species A, after a mass selection of 17 generations followed by 1-2 generations of individual selection. Selection of the other species failed to produce a refractory line as a result of 100% susceptibility in *An. minimus* species A and *An. sawadwongporni*, and no progress of change of infection rate in *An. dirus* species D. In the midgut of refractory females of *An. dirus* species A, neither aminopeptidase nor trypsin activity is higher than that in the susceptible females, suggesting that these two enzymes play little role in refractory mechanism. The most important refractory mechanism appeared to be the inhibition of growth of young oocysts on the stomach wall, after the penetration of ookinetes. Cross and back-cross experiments revealed that refractoriness to *P. y. nigeriensis* is intermediate dominance with a complex mode of inheritance. Although the selected line is fully refractory to the rodent malaria studied, it is still susceptible to human malaria parasites, *P. falciparum* and *P.* vivax, indicating that the mechanism is specific. Nevertheless, this refractory line is considered useful and convenient as a model for study of the complexity of malaria-mosquito relationship.