



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแมลงเบียน
(ศัตรูแมลงวันผลไม้) ชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* กับ
พันธุ์ใกล้เคียงต่าง ๆ ในประเทศไทย

Studies on systematics and distribution of fruit fly parasitoids,
Diachasmimorpha longicaudata and related species,
in Thailand

โดย

รศ. ดร. สัจจวรรณ กิจทวี

ธันวาคม 2545

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ

การศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแมลงเบียน
(ศัตรูแมลงวันผลไม้) ชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* กับ
พันธุ์ใกล้เคียงต่าง ๆ ในประเทศไทย

Studies on systematics and distribution of fruit fly parasitoids,
Diachasmimorpha longicaudata and related species,
in Thailand

ผู้วิจัย

รศ. ดร. สักรินทร์ กิจทวี
มหาวิทยาลัยมหิดล

สังกัด

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย น.ส.ชลวรรณ ทองอ่วม ที่ช่วยให้การทดลองดำเนินไปได้ด้วยดี น.ส. ผกามาศ ทับรอด ที่ช่วยดูแลแมลงที่เก็บจากภาคสนาม และเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ขอขอบคุณ นักศึกษาที่มีส่วนร่วมวิจัยดังนี้ นายสิริพงศ์ สิงห์พงษ์ น.ส.กมลวรรณ ศรีปลั่ง นายวันวิวัฒน์ หล่อวิจิตร และนายชาติรี เอี่ยมพรสิน

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.ปรีชา ประเทพา แห่งมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ร่วมศึกษาในส่วน Molecular systematics Dr. Robert A. Wharton แห่ง Texas A&M University สหรัฐอเมริกา ที่ช่วยยืนยันชนิดของแมลงเบียน Dr. Mohsen M. Ramadan และ Dr. Russell Messing แห่ง University of Hawaii สหรัฐอเมริกา ที่ให้คำแนะนำด้านชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแมลงเบียน

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุน จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) “ทุนพัฒนานักวิจัย” ปี 2543 (RSA43-8-0015) ทำการวิจัยระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม 2542 ถึง 30 พฤศจิกายน 2545

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: RSA43-8-0015

ชื่อโครงการ: การศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแมลงเบียน (ศัตรูแมลงวันผลไม้) ชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* กับพันธุ์ใกล้เคียงต่าง ๆ ในประเทศไทย

ชื่อผู้วิจัย: สวรรณ์ กิจทวี

E-mail Address: grskt@mahidol.ac.th

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย: 1 ธันวาคม 2542 ถึง 30 พฤศจิกายน 2545

สรุปผลการวิจัย:

แมลงเบียน (parasitoids) เป็นศัตรูธรรมชาติที่เป็นประโยชน์ สามารถใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ (fruit flies) การศึกษาการจัดจำแนกแมลงเบียนกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน (complex species) จะช่วยในการเลือกใช้แมลงเบียนสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้อย่างถูกต้อง การศึกษาชีววิทยาของแมลงเบียนเพิ่มเติม จะยังประโยชน์ในการประยุกต์ใช้แมลงเบียนในการควบคุมแมลงวันผลไม้ อย่างมีประสิทธิภาพ

การสำรวจและจัดจำแนกแมลงเบียนระหว่าง พ.ศ. 2542-2545 พบแมลงเบียนที่ใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ 2 วงศ์ คือ วงศ์ Braconidae และวงศ์ Pteromalidae ในส่วนของวงศ์ Braconidae จัดได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ I. *Dichasmimorpha longicaudata* (ได้แก่ *D. longicaudata* v.A, B, C และ D) กลุ่มที่ II. *Fopius* spp. (ได้แก่ *F. arisanus*, *F. vandenboschi* และ *Biosteres* sp.E) กลุ่มที่ III. *Psytalia* spp. (ได้แก่ *P. fletcheri*, *P. incisi*, *P. makii*, *P. manii*, *P. sp.A*, B, C และ *P. new sp.*) ส่วนวงศ์ Pteromalidae พบเฉพาะ *Spalangia endius*

การศึกษาความแตกต่างภายในกลุ่มด้วยเทคนิค morphometric analysis สามารถสรุปกลุ่ม *D. longicaudata* ที่พบขณะนี้ประกอบด้วยสปีชีส์ใกล้เคียงอย่างน้อย 4 สายพันธุ์ คือ *D. longicaudata* v.A, B, C และ D การศึกษาโครโมโซม ของกลุ่ม *Diachasmimorpha* spp. ($2n = 40$), *Fopius* spp. ($2n = 46$) และ *Psytalia* spp. ($2n = 34$) ร่วมกับการตรวจสอบจากขนาด โครงสร้าง และรูปร่างของโครโมโซม ให้ข้อมูลสนับสนุนความแตกต่างของสปีชีส์ภายในกลุ่ม ส่วนวงศ์ Pteromalidae พบ *Spalangia endius* มีโครโมโซม $2n = 8$ ในการวิเคราะห์ลำดับ nucleotide บริเวณ 16s และ 28s rRNA gene ของกลุ่ม *Fopius* spp. สามารถจำแนกสปีชีส์และอธิบายความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสปีชีส์ใกล้เคียง (phylogenetic relationships) ได้

ศึกษาการศึกษชีววิทยา (Biology) เปรียบเทียบระบบสืบพันธุ์และความสามารถในการโจมตีแมลงวันผลไม้ของแมลงเบียน *D. longicaudata* พบว่า *D. longicaudata* เพศเมียที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จะผลิตลูกออกมาเป็นเพศผู้ทั้งหมด โดยสามารถผลิตลูกได้มากถึง 2 รอบ ส่วนเพศเมียที่ได้รับการผสมพันธุ์จะผลิตลูกได้ทั้งเพศผู้และเพศเมีย โดยสามารถผลิตลูกได้มากถึง 3 รอบ *D. longicaudata* สามารถโจมตีตัวอ่อนแมลงวันผลไม้ระยะที่ 3 ได้ดีที่สุด

การศึกษาชีววิทยา และพฤติกรรมของแมลงเบียน *S. endius* พบว่าแมลงเบียนอายุ 3 วัน สามารถทำลายแมลงวันผลไม้ *B. correcta* ระยะ pupae ที่มีอายุ 1 วัน ได้ดีที่สุด แมลงเบียน 1 ตัวสามารถทำลายแมลงวันผลไม้ *B. correcta* ได้เฉลี่ย 8.42 ± 1.19 ตัว / วัน เมื่อทดลองเพิ่มความหนาแน่นของแมลงวันผลไม้ พบว่าอัตราการโจมตีแมลงวันผลไม้ / แมลงเบียนเพิ่มขึ้น ขณะที่ทดลองเพิ่มความหนาแน่นของแมลงเบียน *S. endius* พบว่าเปอร์เซ็นต์แมลงวันผลไม้ที่ถูกโจมตีเพิ่มขึ้น การวิเคราะห์พฤติกรรมการค้นหา (area discovery) ของแมลงเบียน *S. endius* ต่อแมลงวันผลไม้ พบว่าแมลงเบียน *S. endius* ค้นหาแมลงวันผลไม้ *B. correcta* (area discovery = $0.38 - 0.21 \log P$) ได้ดีกว่า *B. dorsalis* (area discovery = 0.18) การศึกษาชีววิทยาและพฤติกรรมของแมลงเบียนนี้ ช่วยให้เข้าใจความสามารถในการทำลายแมลงวันผลไม้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ต่อไป

คำหลัก: แมลงวันผลไม้, แมลงเบียน, การควบคุมโดยชีววิธี

Abstract

Project Code: RSA43-8-0015
Project Title: Studies on systematics and distribution of fruit fly parasitoids, *Diachasmimorpha longicaudata* and related species, in Thailand
Investigator: Sangvorn Kitthawee
E-mail Address: grskt@mahidol.ac.th
Project Period: 1 December 1999 – 30 November 2002

Summary:

Parasitoids are natural enemies of the Oriental fruit fly. The current trend of control should be to reduce the use of chemicals and at the same time to increase the use of biological methods such as parasitoids. This project is therefore directed toward understanding the systematic and distribution as well as biology of some parasitoids in Thailand.

Parasitoids were collected from fruit fly infested fruits of wild and cultivated plants between 1999 and 2002. Identification was conducted using several methods:- e.g. host plants, host flies, morphology, morphometric analysis, cytogenetics and molecular systematics. From the survey work and identification, tephritid parasitoids were found in 2 families (Braconidae and Pteromalidae). Braconid parasitoids were divided into 3 groups:- group I. *Diachasmimorpha longicaudata* (e.g. *D. longicaudata* v.A, B, C, D); group II. *Fopius* spp. (e.g. *F. arisanus*, *F. vandenboschi*, *Biosteres* sp.E); group III. *Psytalia* spp. (e.g. *P. fletcheri*, *P. incisi*, *P. makii*, *P. manii*, *P. sp.A*, *sp.B*, *sp.C* and *P. new sp.*). Only one species, *Spalangia endius*, in family Pteromalidae was found.

Morphometric analysis was conducted in order to distinguish member of the *D. longicaudata* complex. Discriminant analysis indicated that *D. longicaudata* complex consisted of 4 strains (A, B, C and D). Studies mitotic karyotype of parasitoids revealed that differences in chromosome numbers served to distinguish genera (*Diachasmimorpha* spp. (2n)=20, *Fopius* spp. (2n)=46, *Psytalia* spp. (2n)=34 and *Spalangia endius* (2n)=8) whereas differences in chromosome sizes and shapes served to distinguish species. Molecular analysis of nucleotide sequences of the 16S and 28S rRNA genes in *Fopius* spp. confirmed the existence of a species complex and explained their phylogenetic relationships.

Biological studies of the larval parasitoid, *D. longicaudata*, showed that females (2n=diploid) arise from fertilized eggs, whereas males (n=haploid) develop from unfertilized

eggs of virgin females. During their life span, virgin females lay their eggs in 2 cycles, whereas mated females lay their eggs in 3 cycles. The rate of parasitism was highest on 3rd instar larvae of fruit flies.

Biological and behavioral studies on the pupal parasitoid, *Spalangia endius* were performed in the laboratory. Female *S. endius* attacked the pupal fruit fly hosts at peak rates at 3 days of age. The mean numbers of host pupae attacked per female parasitoid were 8.42 ± 1.19 . The number of pupae parasitized increased with host density. The percentage parasitism increased with parasitoid density. The oviposition efficiency of *S. endius* on *B. correcta* (area discovery = $0.38 - 0.03 \log P$) is higher than on *B. dorsalis* (area discovery = 0.18). These results suggest that host and parasitoid densities play important roles in the attack rate by the parasitoid, *S. endius*, and that it may be more effective in biological control of tephritid fruit flies.

Keywords: fruit flies, parasitoids, biological control

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อไทย	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	5
สารบัญ	-
บทนำ	7
วิธีการวิจัย	9
ผลการวิจัย	10
บทวิจารณ์	33
เอกสารอ้างอิง	34
ผลงานวิจัย	37
ภาคผนวก	40
เอกสารหมายเลข 1	
เอกสารหมายเลข 2	
เอกสารหมายเลข 3	
เอกสารหมายเลข 4	
เอกสารหมายเลข 5	
เอกสารหมายเลข 6	
เอกสารหมายเลข 7	
เอกสารหมายเลข 8	
เอกสารหมายเลข 9	

บทนำ

แมลงวันผลไม้ (Oriental fruit fly) เป็นแมลงศัตรูผลไม้ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทำลายพืชผลหลายชนิด โดยเฉพาะพืชผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น กระถ่อน มะม่วง มะเฟือง มะละกอ ชมพู ฝรั่ง พุทรา ลองกอง เชอร์รี่ ฯลฯ แมลงวันแดง (Melon fly) เป็นแมลงศัตรูพืชผักชนิดผลที่สำคัญเช่น บวบ แตงกวา ตำลึง ฟักทอง ฟักข้าว มะระ ฯลฯ แมลงศัตรูผลไม้และแมลงศัตรูพืชผักชนิดผลกำลังเป็นปัญหาสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศไทย (แสน ดิกพัฒนานนท์, 2529) และภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ (Hardy, 1973; Yunus and Ho, 1980; Tan and Lee, 1982) แมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* (Hendel), *B. correcta* (Bezzi), *B. latifrons* และแมลงวันแดง *B. cucurbitae* กำลังเป็นปัญหา สามารถเข้าทำลายพืชผล ทำความเสียหายรวดเร็ว และรุนแรงอยู่ทั่วไป ไม้ผลหลายชนิดของประเทศประสบปัญหาทางด้านการเพิ่มผลผลิต ทำให้สูญเสียรายได้เป็นจำนวนมหาศาล ปัจจุบันนี้ การศึกษาแนวทางป้องกันไม่ให้เกิดการระบาดของแมลงศัตรูผลไม้ ที่ทำความเสียหายแก่การปลูกไม้ผลทางการเกษตร เกษตรกรส่วนมากจะมุ่งเน้นในการใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลักสำคัญ ซึ่งโดยหลักวิชาการแล้ว ควรเป็นทางเลือกสุดท้าย ทั้งนี้เพราะสารเคมีส่วนใหญ่ต้องสั่งซื้อมาจากต่างประเทศ ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงเกินความจำเป็น ที่สำคัญสารเคมีนำมาซึ่งความเสียหายต่อสภาพแวดล้อม ต่อสุขภาพของประชาชน และยังเป็นปัญหาในการส่งออกพืชผลทางการเกษตร ของประเทศในปัจจุบันและในอนาคต ทำให้ประเทศสูญเสียรายได้ และสูญเสียดุลการค้าเป็นจำนวนมาก

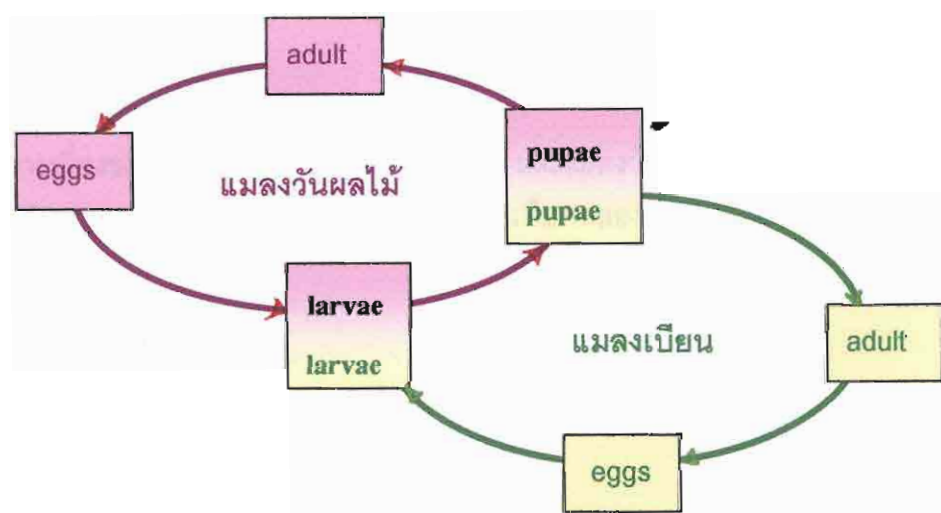
ดังนั้นแนวทางป้องกันไม่ให้เกิดการระบาดของแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี (biological control) จึงได้รับความสนใจขึ้นทุกวัน เนื่องจากเป็นวิธีการที่ยอมรับกันทั่วโลกว่าเป็นวิธีที่ปลอดภัย ประหยัดต้นทุน ให้ผลผลิตสูงขึ้น และสามารถควบคุมปริมาณศัตรูพืชไม่ให้ระบาดจนทำความเสียหายทางเศรษฐกิจได้ผลถาวร ดังนั้นการค้นหาค้นหาและศึกษาแมลงเบียน (parasitoids) ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติ (natural enemies) ใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ จัดว่าเป็นการลดการระบาดของแมลงวันผลไม้ที่ได้รับการสนับสนุนแทนการใช้สารเคมี แต่การควบคุมโดยชีววิธีให้ได้ผลจริงจึง ต้องการความรู้ความเข้าใจทั้งแมลงเบียนและแมลงวันผลไม้

แมลงเบียน (parasitoids) เป็นแมลงที่จัดอยู่ใน order Hymenoptera แมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ จะเบียนแมลงวันผลไม้โดยเข้าทำลายวัยต่าง ๆ ของแมลงวันผลไม้ เช่น ไข่ ตัวหนอน ดักแด้ โดยใช้แมลงวันผลไม้เป็นอาหารและที่อยู่อาศัย จนพัฒนาออกเป็นตัวเต็มวัย (ดังภาพที่ 1) แมลงเบียนเป็นแมลงที่มีอยู่ในธรรมชาติ จึงจัดว่าเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติ สำหรับประวัติการศึกษาแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ นั้น ได้รับความสนใจมากกว่า 100 ปี (Berlese, 1911; Back and Pemberton, 1915) และวิธีนี้ได้รับการสนับสนุนมากที่สุดในช่วง 50 ปีที่ผ่านมา (Clausen et al., 1965; Clausen, 1978; Gilstrap and Hart, 1987) ได้มีการเลี้ยงแมลงเบียน และใช้ควบคุมประชากรของแมลงวันผลไม้ในระดับหนึ่ง นับว่ายังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร

(Clausen, 1978) เนื่องจากยังขาดการศึกษารายละเอียดของแมลงเบียน ไม่ว่าจะเป็นชีววิทยาพื้นฐาน สายพันธุ์ พฤติกรรม ตลอดจนถิ่นอาศัย ฯลฯ

สำหรับประเทศไทยนั้นพบหลักฐานบันทึกของแมลงเบียน (พิมลพร และคณะ, 2525) ว่ามีผู้มาสำรวจแมลงดังกล่าว แต่ขาดการศึกษาในรายละเอียดในหลายประการ โครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาระบบการจัดจำแนกสายพันธุ์ (systematics) ของกลุ่มประชากรแมลงเบียน *Diachasmimorpha longicaudata* ซึ่งเป็นศัตรูธรรมชาติ สามารถเข้าทำลายแมลงวันผลไม้ได้ดี ศึกษารูปแบบการกระจายตัว การปรับตัว รวมทั้งความผันแปรทางพันธุกรรมของแมลงเบียนเหล่านี้มีความสำคัญต่อการแยกเป็นสปีชีส์ใหม่ๆ จึงสมควรที่จะมีการตรวจสอบให้ละเอียด อาศัยการเชื่อมโยงความแตกต่างในระดับต่าง ๆ เช่น ระดับพืชอาศัย (host plants), ชนิดของแมลงให้อาศัย (host flies) ระดับสัณฐานวิทยา (morphology) ระดับโครโมโซม (chromosome) และ ระดับอนุชีววิทยา (molecular systematics) รวมทั้งการผสมข้ามพันธุ์ (cross-breeding) จากการตรวจสอบในระดับต่าง ๆ นี้จะช่วยไขปัญหาในการจัดจำแนกสายพันธุ์ของแมลงเบียนกลุ่ม *D. longicaudata* ซึ่งอาจเป็นกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน และอาจพบสปีชีส์ใกล้เคียง (related species) อยู่ด้วย

ผลของการศึกษาของโครงการนี้จะช่วยให้เกิดความเข้าใจ เกี่ยวกับแมลงเบียนสปีชีส์ต่าง ๆ ทั้งสปีชีส์ซับซ้อนและสปีชีส์ใกล้เคียง เข้าใจชีววิทยาของแมลงเบียน ตลอดจนความเข้าใจการแพร่กระจายและลักษณะเฉพาะทางนิเวศวิทยาของกลุ่มประชากร ข้อมูลเหล่านี้จะเอื้อประโยชน์ในการวางแผนในการควบคุมการระบาดของแมลงวันผลไม้ให้มีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 1 วงชีวิตของแมลงเบียน (สีม่วง) ที่เจริญในตัวหนอนของแมลงวันผลไม้ (สีเขียว)

วิธีการวิจัย

วิธีวิจัยในภาคสนาม

สำรวจแมลงเบียนกลุ่ม *D. longicaudata* และกลุ่มอื่นๆ จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยการค้นหาผลไม้ที่พบหนอนแมลงวันผลไม้อาศัยอยู่ โครงการนี้จะต้องเก็บข้อมูลทั้งชนิดของไม้ผลและชนิดของแมลงวันผลไม้ เพื่อเชื่อมโยงกับข้อมูลกับชนิดของแมลงเบียน แมลงเบียนที่สำรวจได้นี้จะนำไปศึกษาและตรวจสอบต่อไปในห้องปฏิบัติการ

วิธีวิจัยในห้องปฏิบัติการ

แมลงวันผลไม้ (fruit flies)

เพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น *Bactrocera dorsalis*, *B. correcta*, *B. latifrons*, *B. cucurbitae*, *B. tau* ฯลฯ สำหรับเป็นอาหารและที่อยู่อาศัยของแมลงเบียนที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

แมลงเบียน (parasitoids)

จัดจำแนกชนิด/สปีชีส์ของกลุ่ม *D. longicaudata* และสปีชีส์ใกล้เคียงโดยเทคนิคต่าง ๆ

- เทคนิคการหาความสัมพันธ์ระหว่างแมลงเบียนกับแมลงวันผลไม้ และพืชอาศัย
- เทคนิคทางสัณฐานวิทยา (Morphology) ทำการจัดจำแนกจากรูปร่างภายนอก โดยศึกษาลายปีกตามอนุกรมวิธานของ Wharton and Gilstrap (1983)
- เทคนิค Morphometric analysis
- เทคนิค Chromosomes
- เทคนิค Molecular systematics
- การศึกษา Cross-breeding experiments

ทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์แมลงเบียนชนิดต่างๆ และแมลงวันผลไม้ชนิดที่สำคัญ เพื่อใช้ในการศึกษาชีววิทยาและพฤติกรรมของแมลงเบียน และเพื่อทดลองค้นคว้าอื่นๆ

ผลการวิจัย

งานวิจัยในภาคสนาม

การดำเนินการวิจัย: โดยการสำรวจและค้นหาแมลงเบียนในธรรมชาติ จากไม้ผลที่ถูกแมลงวันผลไม้ทำลาย ในเขตจังหวัดกรุงเทพฯ, กาญจนบุรี, จันทบุรี, ลพบุรี, นครปฐม, นครราชสีมา, แม่ฮ่องสอน, ปราจีนบุรี, พิษณุโลก, เพชรบุรี, ประจวบคีรีขันธ์, สระบุรี, ตาก และจังหวัดยะลา

ผลการดำเนินงาน: พบแมลงเบียนใน Order Hymenoptera จัดอยู่ Family Braconidae คือ Genus: *Diachasmimorpha*, *Fopius*, *Psytalia* และ Family Pteromalidae คือ *Spalangia endius* ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 1 แสดงผลการสำรวจแมลงเบียนและแมลงวันผลไม้ จากไม้ผลหลากหลายชนิดตามแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย ระหว่างวันที่ 1 ธันวาคม 2542 – 30 พฤศจิกายน 2545

Date	Code	จังหวัด	Host plants (ชื่อท้องถิ่น)	Host flies	Parasitoids
*/12/43	BK(PG)-1	กรุงเทพฯ	<i>Psidium guajava</i> (ฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>S. endius</i>
*/12/43	BK(PL)-2	กรุงเทพฯ	<i>Polyathia longifolia</i> (โสกอินเดีย)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>F. arisanus</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P. incisi</i> <i>P. new sp.</i>
*/04/43	BK(MI)-1	กรุงเทพฯ	<i>Mangifera indica</i> (มะม่วง)	<i>B. dorsalis</i>	<i>S. endius</i>
/05/44	BK(SS)-3	กรุงเทพฯ	<i>Syzygium samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>F. arisanus</i>
/06/44	BK(SC)-4	กรุงเทพฯ	<i>Spondias cytherea</i> (มะกอกฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	-
/07/44	BK(GP)-5	กรุงเทพฯ	<i>Gmelina philippensis</i> (ช้องแมว)	-	-
1/09/44	BK(TC)-6	กรุงเทพฯ	<i>Terminaria catappa</i> L. (ทุกวาง)	<i>B. dorsalis</i>	-
/09/44	BK(CG)-7	กรุงเทพฯ	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	-
/09/44	CT(AC)101	จันทบุรี	<i>Averrhoa carambola</i> (มะเฟือง)	<i>B. dorsalis</i>	<i>F. arisanus</i>

9/12/43	KB(CG)-101	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	<i>P. fletcheri</i>
9 /12/43	KB(ZM)-102	กาญจนบุรี	<i>Zizyphus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> near v.C <i>F. arisanus</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P. incisi</i>
9/12/43	KB(ST)-103	กาญจนบุรี	<i>Solanum torvum</i> (มะเขือพวง)	<i>B. latifrons</i>	-
9/12/43	KB(CM)-104	กาญจนบุรี	<i>Cucurbita moschata</i> (ฟักทอง)	<i>B. tau</i>	<i>D.longicaudata</i> v.D
9/12/43	KB(Msp.)-105	กาญจนบุรี	<i>Monordia sp.</i> (มะระขี้นก)	<i>B. cucurbitae</i>	-
9/12/43	KB(Msp.)-106	กาญจนบุรี	<i>Monordia sp.</i> (มะระขี้นก)	<i>B. tau</i>	-
5/08/44	KB(ZM)-107	กาญจนบุรี	<i>Zizyphus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i> <i>C. vesuviana</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>P. sp.C</i>
5/8/44	KB(ZM)-114	กาญจนบุรี	<i>Zizyphus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A
6/04/44	KB(CG)-115	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i> <i>B. tau</i>	-
6/04/44	KB(SA)-116	กาญจนบุรี	<i>Solanum aculeatissimum</i> (มะเขือเปราะ)	-	-
6/04/44	KB(TT)-117	กาญจนบุรี	<i>Gynopetalum integrifolium</i> (ขี้กาแดง)	<i>B. tau</i>	-
6/04/44	KB(CP)-118	กาญจนบุรี	<i>Carica papaya</i> (มะละกอ)	<i>B. dorsalis</i>	-
6/04/44	KB(MC)-119	กาญจนบุรี	<i>Mangifera caloneura</i> (มะม่วงป่า)	-	-
6/04/44	KB(GP)-120	กาญจนบุรี	<i>Gmelina philippensis</i> (ช้างมัว)	<i>B. dorsalis</i> <i>Philophylla</i> sp.	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>B. sp.E</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P. new sp.C</i> Unknown
6/04/44	KB(DO)-121	กาญจนบุรี	<i>Dillenia obovata</i> (ถ้าน)	-	-

6/04/44	KB(SS)-122	กาญจนบุรี	<i>Syzygium samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i>	<i>F. arisanus</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P.sp.C</i>
6/04/44	KB(MI)-123	กาญจนบุรี	<i>Mangifera indica</i> (มะม่วง)	<i>B. dorsalis</i>	<i>F. arisanus</i> <i>P.incisi</i>
6/04/44	KB(SS)-124	กาญจนบุรี	<i>Syzygium samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>F. arisanus</i> <i>P. incisi</i> <i>P.sp.C</i>
6/04/44	KB(GA)-125	กาญจนบุรี	<i>Gmelina arborca</i> (ร่มผ้า)	-	-
5/08/44	KB(PG)-126	กาญจนบุรี	<i>Psidium guajava</i> (ฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i>	<i>F. arisanus</i>
5/08/44	KB(CG)-127	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	<i>P. fletcheri</i>
5/08/44	KB(CG)-128	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i> <i>B. tau</i>	-
15/8/44	KB(CG)-129	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	<i>P. sp.C</i>
5/08/44	KB(CG)-130	กาญจนบุรี	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	-
5/08/44	KB(ZM)-131	กาญจนบุรี	<i>Zizyphus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>Drosophila</i> spp.	<i>Drosophila's</i> parasitoids
5/08/44	KB(FI)-132	กาญจนบุรี	<i>Flacourtia indica</i> Merr (ตะขบป่า)	-	-
2/02/44	LB(MI)-1	ลพบุรี	<i>Mangifera indica</i> (มะม่วง)	<i>B. dorsalis</i>	-
2/02/44	LB(ZM)-2	ลพบุรี	<i>Zizyphus mauritiana</i> (พุทรา)	-	Unknown
2/04/44	LB(SS)-3	ลพบุรี	<i>Syzygium samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	-
/11/44	MS(TT)-101	แม่ฮ่องสอน	<i>Gymnopetalum integrifolium</i> (ข้ากาแดง)		
11/10/45	NR(CG)	นครราชสีมา	<i>Cucumis sativus</i> (แตงกวา)	<i>B. cucurbitae</i>	-
11/10/45	NR(CG)	นครราชสีมา	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง) <i>Syzygium</i>	<i>B. cucurbitae</i> <i>B. dorsalis</i>	<i>P. fletcheri</i> <i>P. manii</i>

			<i>samarangense</i> (ชมพู)		
12/10/45	NR(LC)	นครราชสีมา	<i>Luffa cylindrica</i> (บวบหอม)	<i>B. cucurbitae</i>	-
12/10/45	NR(LA)	นครราชสีมา	<i>Luffa acutangula</i> บวบเหลี่ยม	<i>B. cucurbitae</i>	-
12/10/45	NR(TA)	นครราชสีมา	<i>Trichosanthes anguin</i> (บวบงู)	<i>B. cucurbitae</i> <i>Dacus sp.?</i>	-
*12/43	NP(PG)-1	นครปฐม	<i>Psidium guajava</i> (ฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>S. endius</i>
*12/43	NP(TC)-3	นครปฐม	<i>Terminaria catappa</i> L. (ทุกวาง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>D. longicaudata</i> v.B <i>D. longicaudata</i> near v.C <i>D. longicaudata</i> near v. D <i>F. arisanus</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P. incis</i> <i>S. endius</i>
*01/44	NP(CG)-5	นครปฐม	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	<i>P. fletcheri</i>
*01/44	NP(GP)-6	นครปฐม	<i>Gmelina philippensis</i> (ช้องแมว)	-	-
*02/44	NP(MC)-7	นครปฐม	<i>Momordica cochinchinensis</i> (ผักขี้าว)	<i>B. tau</i>	<i>P. incis</i>
*02/44	NP(SI)-8	นครปฐม	<i>Solanum indicum</i> (มะม่วงต้น)	<i>B. latifrons</i>	-
*02/44	NP(MG)-9	นครปฐม	<i>Malpignia glabra</i> (เขอริ)	<i>B. dorsalis</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>F. arisanus</i>
/07/44	NP(TC)-10	นครปฐม	<i>Terminaria catappa</i> L. (ทุกวาง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	-
/07/44	NP(PL)-11	นครปฐม	<i>Polyathia longifolia</i> (โสกอินเดีย)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A
24/9/44	NP(AS)-12	นครปฐม	<i>Artabotrys siamensis</i> (การะเวก)	-	-
24/9/44	NP(SS)-13	นครปฐม	<i>Syzygium samarangense</i>	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	Unknown

			(ชมพู่)		
18/09/45	PS 002_NU	พิษณุโลก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B.cucurbitae</i>	<i>P. fletcheri</i>
18/09/45	PS(CG)	พิษณุโลก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B.cucurbitae</i>	-
13/10/45	PS 002_NU	พิษณุโลก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B.cucurbitae</i>	<i>P. fletcheri</i>
23/10/45	PS 001_NU	พิษณุโลก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B.cucurbitae</i> <i>B. tau</i>	<i>P. fletcheri</i>
23/10/45	PS(LC)	พิษณุโลก	<i>Luffa cylindrica</i> (บวบหอมอ่อน)	<i>B. dorsalis</i> <i>Dacus sp.</i> <i>B. tau</i> <i>complex</i>	-
23/10/45	PS(Msp)	พิษณุโลก	<i>Monordia sp.</i> (มะระขี้นก)	<i>B. dorsalis</i> <i>B.cucurbitae</i>	-
/05/44	PB(SK)-101	ปราจีนบุรี	<i>Sandoricum koetijape</i> (กระท้อน)	<i>B. dorsalis</i>	-
/05/44	PB(SC)-102	ปราจีนบุรี	<i>Spondias cytherea</i> (มะกอกฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i>	-
/12/43	PK(PG)-1	ประจวบ- คีรีขันธ์	<i>Psidium guajava</i> (ฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata v.A</i>
/06/44	PK(PG)-101	ประจวบ- คีรีขันธ์	<i>Psidium guajava</i> (ฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	-
/06/44	PK(SS)-102	ประจวบ- คีรีขันธ์	<i>Syzygium</i> <i>samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i>	-
/06/44	PK(SK)-103	ประจวบ- คีรีขันธ์	<i>Sandoricum koetijape</i> (กระท้อน)	<i>B. dorsalis</i>	-
13/8/44	PH(SC)-101	เพชรบุรี	<i>Spondias cytherea</i> (มะกอกฝรั่ง)	<i>B. dorsalis</i>	-
2 /02/44	SR(ZM)-1	สระบุรี	<i>Zizyhus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata v.A</i>
8/02/44	TK(ZM)-5	ตาก	<i>Zizyhus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i> <i>C. vesuviana</i>	<i>D. longicaudata v.A</i> <i>F. arisanus</i> <i>F. vandenboschi</i> <i>P. incisi</i> <i>P. sp.A</i> Unknown

8/02/44	TK(ZM)-6	ตาก	<i>Zizyhus mauritiana</i> (พุทรา)	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	<i>D. longicaudata</i> v.A <i>P. incisi</i> <i>P. sp.C</i> Unknown
29/7/44	TK(CG)-5	ตาก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i> <i>B. tau</i>	-
29/7/44	TK(SS)-7	ตาก	<i>Syzygium samarangense</i> (ชมพู่)	<i>B. dorsalis</i>	-
29/7/44	TK(SA)-8	ตาก	<i>Solanum aculeatissimum</i> (มะเขือเปราะ)	-	-
29/10/45	TK(CG)	ตาก	<i>Coccinia grandis</i> (ตำลึง)	<i>B. cucurbitae</i>	-
29/8/44	YL(AC)-101	ยะลา	<i>Areca catechu</i> Linn (หมาก)	<i>B. dorsalis</i>	<i>F. arisanus</i> <i>P. sp.B</i>
1/10/44	YL(AD)-102	ยะลา	<i>Aglaia dookkoo</i> (ลองกอง)	<i>B. dorsalis</i>	-

*=สำรวจสม่ำเสมอตลอดโครงการ

งานวิจัยในห้องปฏิบัติการ

แมลงวันผลไม้ (Fruit flies)

การดำเนินงาน: เพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ

ผลการดำเนินงาน: สามารถเพาะเลี้ยงแมลงวันผลไม้ชนิด *B. dorsalis*, *B. correcta*, *B. cucurbitae*, *B. latifrons*, *B. pyrifoliae*, *B. tau* เพื่อใช้ในงานทดลองอื่น ๆ

แมลงเบียน (Parasitoids)

การดำเนินงาน: เพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงเบียนชนิดต่าง ๆ

ผลการดำเนินงาน: ขณะนี้ สามารถทำการเพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์แมลงเบียน *D. longicaudata* v.A, *D. longicaudata* v.B, *P. fletcheri*, *P. incisi*, *P. manii*, *S. endius* สายพันธุ์อื่น ๆ ยังคงดำเนินงานต่อไป สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงและขยายพันธุ์ได้แล้ว ได้นำไปใช้ในการศึกษาชีววิทยาของแมลงเบียน รวมทั้งใช้เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ใกล้ชิด หรือสายพันธุ์ที่สงสัย โดยการผสมข้ามพันธุ์ตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

การศึกษาการจัดจำแนกโดยวิธีต่าง ๆ :

การจัดความสัมพันธ์

การดำเนินงาน: แมลงเบียนและแมลงวันผลไม้จากไม้ผลต่าง ๆ ได้รับการจัดจำแนกตามอนุกรมวิธานดังนี้ แมลงเบียนจำแนกตามอนุกรมวิธานของ Wharton and Gipstrap (1983) แมลงวันผลไม้โดยอนุกรมวิธานของ White and Elson-Harris (1992) ส่วนพืชอาศัยโดยวิธีของ Smitinand (1980) มาจัดความสัมพันธ์ระหว่าง แมลงเบียน แมลงวันผลไม้ และพืชอาศัย

ผลการดำเนินงาน: ขณะนี้พบความสัมพันธ์ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแมลงเบียน (parasitoids) แมลงวันผลไม้ (fruit flies) และพืชอาศัย (host plants)

Parasitoids	Host flies	Host plants
Family Braconidae		
กลุ่ม Diachasmimorpha		
<i>D. longicaudata</i> v.A	<i>B. correcta</i> <i>Philophylla</i> sp.	ไม้ผล (เช่น โสภอินเตีย, ฝรั่ง, พุทรา, ช้องแมว, หูกวาง ฯลฯ)
<i>D. longicaudata</i> v.B	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น หูกวาง ฝรั่ง มะเฟือง ฯลฯ)
<i>D. longicaudata</i> near v.C	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น พุทรา, หูกวาง ฯลฯ)
<i>D. longicaudata</i> v.D	<i>B. tau</i>	พืชผักประเภทผล (เช่น พักทอง ฯลฯ)
<i>D. longicaudata</i> near v.D	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น หูกวาง ฯลฯ)
กลุ่ม Fopius (Blosteres)		
<i>F. arisanus</i>	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น โสภอินเตีย, ฝรั่ง, พุทรา, ชมพู, มะเฟือง, มะม่วง, หนาม, หูกวาง ฯลฯ)
<i>F. vandenboschi</i>	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น โสภอินเตีย, พุทรา, ช้องแมว, ชมพู, หูกวาง ฯลฯ)
<i>B. sp.E</i>	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น ช้องแมว)

Parasitoids	Host flies	Host plants
Family Braconidae		
กลุ่ม <i>Psytalia</i>		
<i>P. fletcheri</i>	<i>B. cucurbitae</i>	พืชผักประเภทผล (แตงต่าง ๆ , ตำลึง ฯลฯ)
<i>P. incisi</i>	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น โสภณอินเดีย, พุทรา, ชมพู, มะม่วง, ทูกวาง ฯลฯ)
	<i>B. tau</i>	พืชผักประเภทผล (เช่น พักขั่ว ฯลฯ)
<i>P. makii</i>	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	ไม้ผล (เช่น พุทรา ฯลฯ)
<i>P. manii</i>	<i>B. cucurbitae</i>	พืชผักประเภทผล (ตำลึง ฯลฯ)
<i>P. sp.A</i>	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	ไม้ผล (เช่น พุทรา ฯลฯ)
<i>P. sp.B</i>	<i>B. dorsalis</i>	หมาก
<i>P. sp.C</i>	<i>B. dorsalis</i>	ไม้ผล (เช่น พุทรา, ชมพู ฯลฯ)
	<i>B. correcta</i>	พืชผักประเภทผล (เช่น ตำลึง ฯลฯ)
<i>P. new sp.</i>	<i>B. dorsalis</i> <i>B. correcta</i>	ไม้ผล (เช่น โสภณอินเดีย)
<i>P. new sp.C</i>	<i>B. dorsalis</i>	ไม้ผล (เช่น ช้องแมว)
<i>Unknown</i>	<i>B. dorsalis</i> complex	ไม้ผล (เช่น ช้องแมว, พุทรา, ชมพู ฯลฯ)
Family Pteromalidae		
กลุ่ม <i>Spalangia</i>		
<i>S. endius</i>	<i>B. dorsalis</i>	ไม้ผล (เช่น ฝรั่ง, มะม่วง, ทูกวาง ฯลฯ)
	<i>B. correcta</i>	

-การจัดจำแนกแมลงเบียนตามตารางข้างต้น พบ *Psytalia* (new sp.) และ unknown คาดว่า เป็นสายพันธุ์ที่ยังไม่เคยพบมาก่อน (new species or new record) และยังไม่สามารถเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการนี้

การศึกษาสัณฐานวิทยา (Morphology)

- การดำเนินงาน:**
- ทำการจัดจำแนกจากรูปร่างภายนอกโดยศึกษาสายปีกตามอนุกรมวิธานของ Wharton and Gilstrap (1983)
 - ทำการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะอื่น ๆ ทั้งภายนอกและภายใน เช่น ไข่, อวัยวะวางไข่, Poison gland, Hagen's gland และ Male genitalia
 - ตรวจสอบการจัดจำแนกเพิ่มเติมโดยวิธี SEM

ผลการดำเนินงาน:

- จากการจัดจำแนกโดยอนุกรมวิธานของ Wharton and Gilstrap (1983) ทำให้ได้ list ของแมลงเบียนดังนี้

Family Braconidae

Diachasmimorpha longicaudata v.A

Diachasmimorpha longicaudata v.B

Diachasmimorpha longicaudata v.C

Diachasmimorpha longicaudata v.D

Fopius arisanus

Fopius vandenboschi

Biosteres sp.E

Psytalia fletcheri

Psytalia incisi

Psytalia makii

Psytalia manii

Psytalia sp.A

Psytalia sp.B

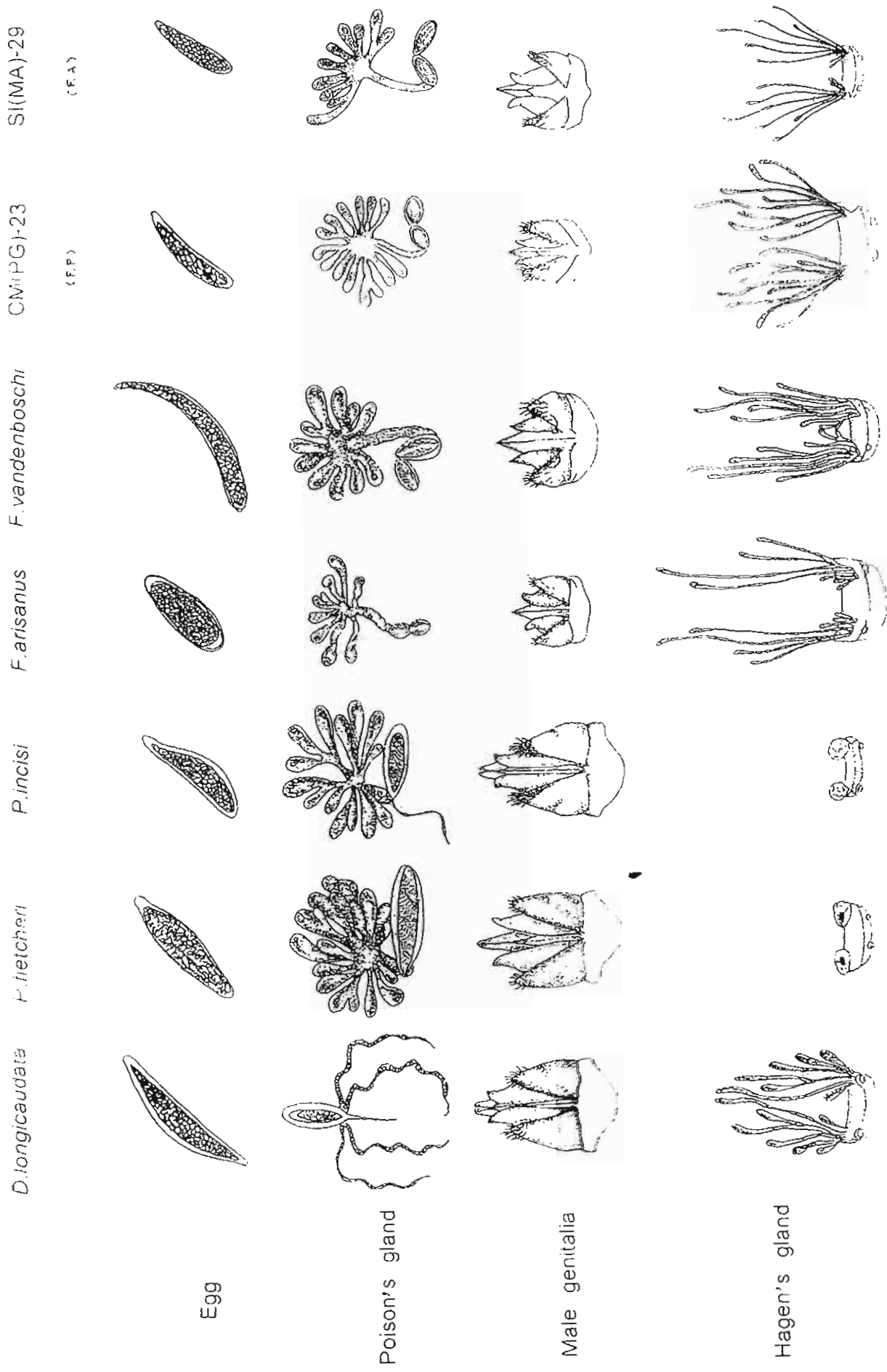
Psytalia sp.C

Unknown (*P. new* sp.)

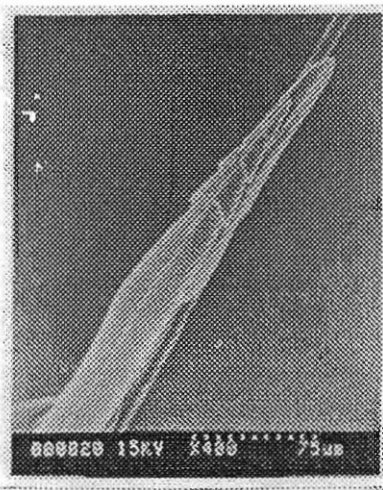
Family Pteromalidae

Spalangia endius

- การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะอื่นๆ ทั้งลักษณะภายนอกและลักษณะภายใน เช่น ไข่, Poison gland, Hagen's gland และ Male genitalia ก็ช่วยยืนยันสปีชีส์ดังกล่าวข้างต้นได้ชัดเจนดังภาพ (ภาพที่ 2)
- การศึกษา ovipositor โดย SEM ช่วยสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดและช่วย ยืนยันสปีชีส์ ดังแสดงในภาพ (ภาพที่ 3 และ4)

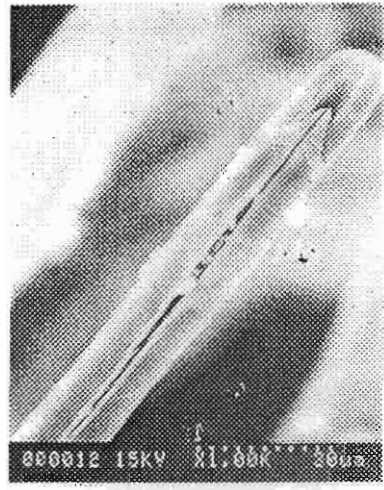


ภาพที่ 2 แสดง Eggs, Poison's gland, Male genitalia และ Hagen gland ของแมลงเป็นสายพันธุ์ต่างๆ



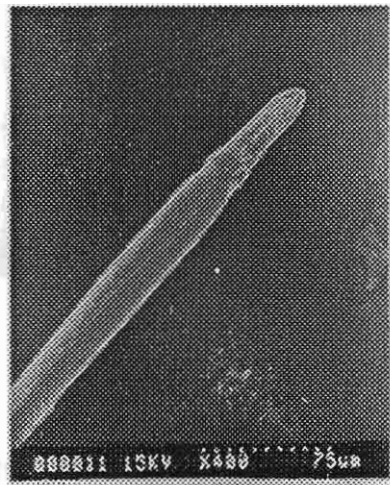
Diachasmimorpha spp.

(Braconidae)



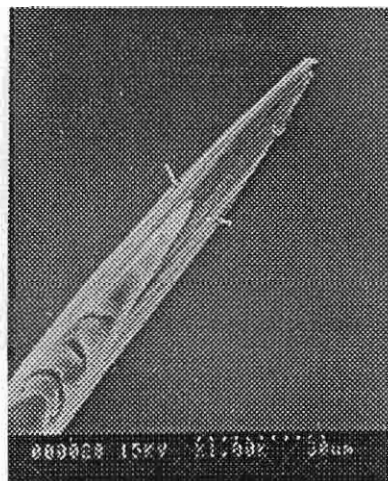
Fopius spp.

(Braconidae)



Psytalia spp.

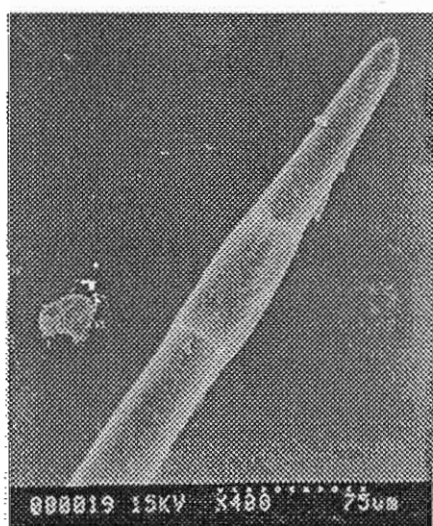
(Braconidae)



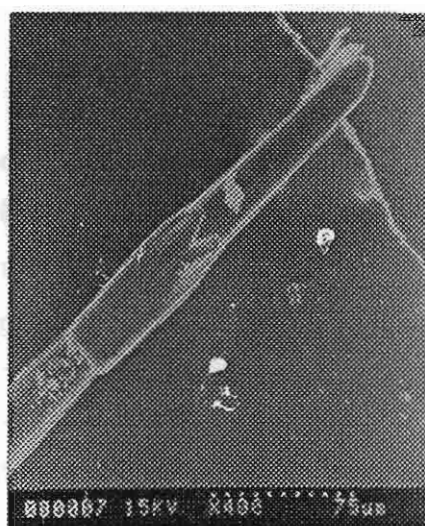
S. endius

(Pteromalidae)

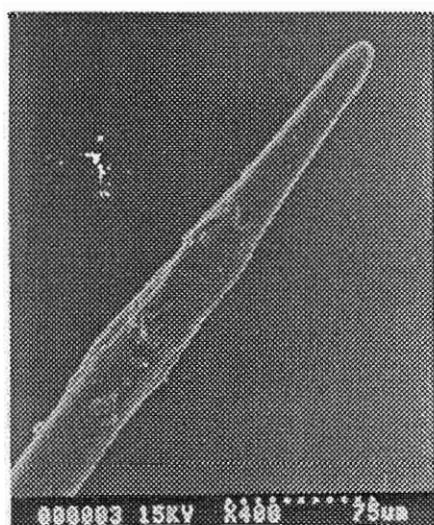
ภาพที่ 3 ภาพถ่าย SEM ของ ovipositor ของแมลงเบียนในวงศ์ Braconidae (genera: *Diachasmimorpha*, *Fopius*, *Psytalia*) และวงศ์ Pteromalidae (*Spalangia endius*)



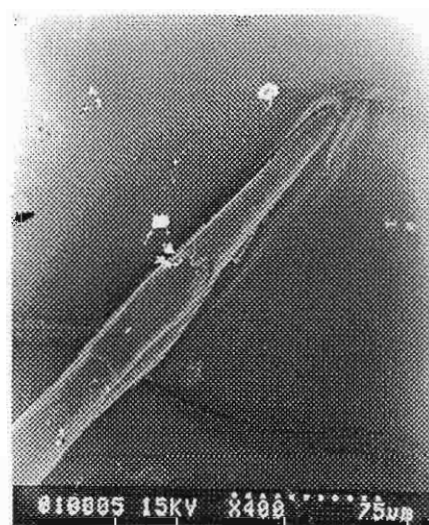
D. longicaudata v.A



D. longicaudata v. B



D. longicaudata v.C



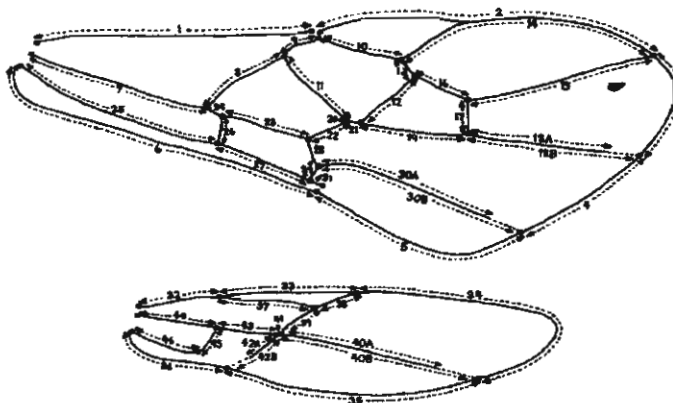
D. longicaudata v.D

ภาพที่ 4 ภาพถ่ายของ ovipositor ของแมลงเบียนกลุ่มเข้าซ้อน *D. longicaudata* (สายพันธุ์ A, B, C, D)

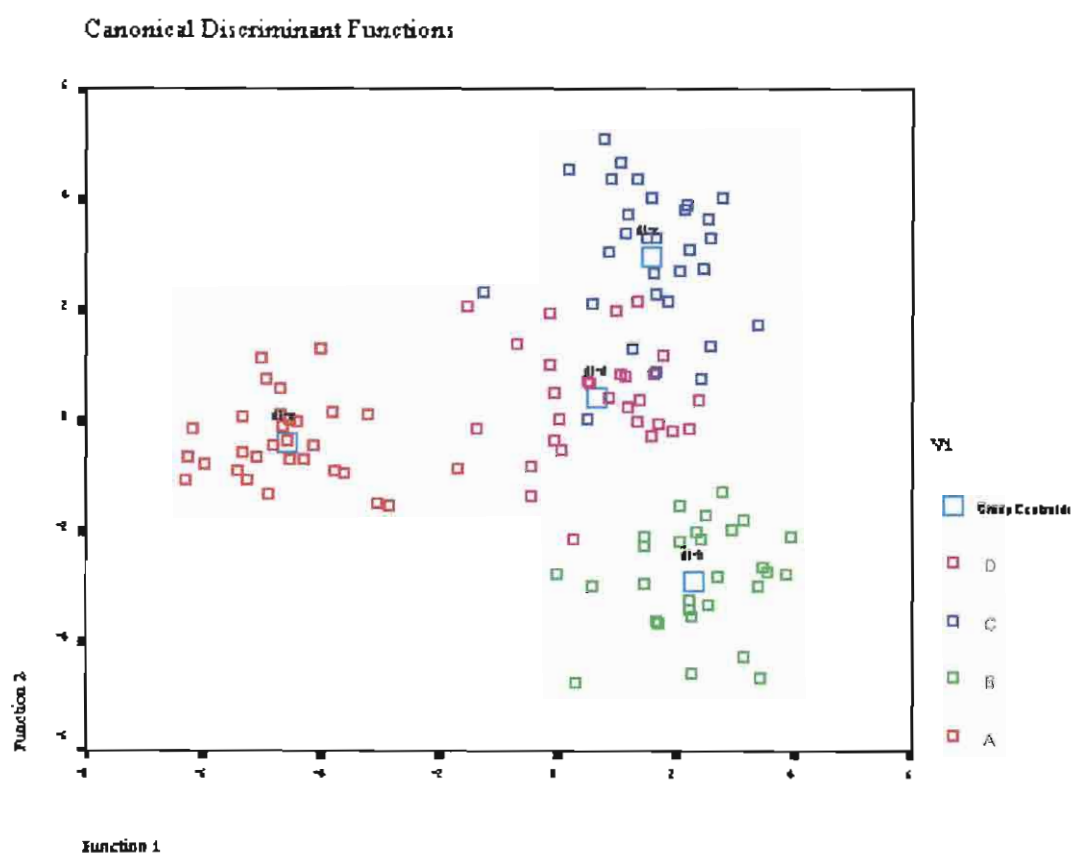
การศึกษาโดยวิธี (Morphometric analysis)

การดำเนินงาน: จากการวัดส่วนต่าง ๆ ของ เส้นปีก และพื้นที่บนปีก (ภาพที่ 5) ของแมลงเบียนกลุ่ม *D. longicauda* และเก็บข้อมูลด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (Image Pro Plus version 4.1.0.0 และ Microsoft Excel 97 version 8.0) นำข้อมูลมาวิเคราะห์และคำนวณหาความแตกต่างของสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันโดยใช้วิธีทางสถิติ discriminant analysis และ stepwise analysis ด้วยโปรแกรม SPSS for window (version 10.0.1)

ผลการดำเนินงาน: พบว่า *D. longicauda* v.A, *D. longicauda* v.B, *D. longicauda* v.C และ *D. longicauda* v.D สามารถแยกด้วย canonical discriminant functions ได้ชัดเจนดังภาพ (ภาพที่ 6) การวิเคราะห์ด้วย discriminant analysis นี้สามารถยังตรวจสอบ *D. longicauda* สายพันธุ์ต่าง ๆ ได้ถูกต้อง >95 % ดังตารางที่ 3 การวิเคราะห์ด้วยการวัดลักษณะของเส้นปีกและรวมทั้งพื้นที่บนปีก และนำมาคำนวณหาค่าที่บ่งชี้ความแตกต่างของสายพันธุ์ สามารถทำได้สะดวก รวดเร็ว และแม่นยำ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับแมลงเบียนชนิดอื่นๆ และ/หรือแมลงที่มีความสำคัญได้ดี ดังตัวอย่างการจำแนกชนิดของผึ้งโดย Howell et al. (1982)



ภาพที่ 5 แผนภาพแสดงเส้นและพื้นที่ต่างๆ ที่วัดจากปีกของแมลงเบียน *D. longicauda*



ภาพที่ 6 แสดงความแตกต่างของ *D. longicaudata* complex โดย canonical discriminant analysis (สายพันธุ์ A, B, C, D)

ตารางที่ 3 แสดงผลการจัดจำแนก (classification results^a)

			Predicted <i>D. longicaudata</i> group				Total
			A	B	C	D	
Original	Count	A	30	0	0	0	30
		B	0	29	1	0	30
		C	0	0	30	0	30
		D	0	1	1	28	30
	%	A	100	0	0	0	100
		B	0	96.7	3.3	0	100
		C	0	0	100	0	100
		D	0	3.3	3.3	93.3	100

^a =97.5% of original grouped cases correctly classified.

การศึกษาโครโมโซม (Chromosomes)

การดำเนินงาน: ทำการศึกษาโครโมโซมของ genera: *Diachasmimorpha*, *Fopius* และ *Psittalia* รวมทั้ง *Spalangia endius* โดยวิธีของ Kitthawee et al. (1999)

ผลการดำเนินงาน: การตรวจสอบ chromosome พบว่า จำนวน chromosome สามารถจัดจำแนกแมลงเบียนได้ในระดับ genus และสปีชีส์ คือ

Family Braconidae

Diachasmimorpha spp. พบ $2n = 40$, $n = 20$

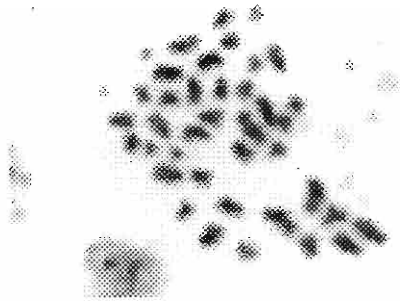
Fopius spp. พบ $2n = 46$, $n = 23$

Psittalia spp. พบ $2n = 34$, $n = 17$

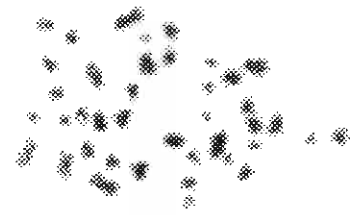
Family Pteromalidae

Spalangia endius พบ $2n = 8$, $n = 4$

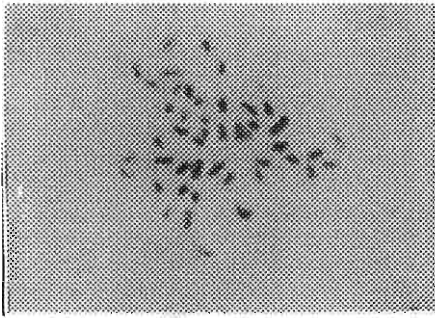
พบความแตกต่างกันในรายละเอียดของโครโมโซมภายในกลุ่มที่ I. *D. longicaudata* โดยเฉพาะ *D. longicaudata* v.A และ *D. longicaudata* v.C ในกลุ่มที่ II. *Fopius* spp. โดยเฉพาะ *F. arisanus* และ *F. vandenboschi* ในกลุ่มที่ III. *Psittalia* spp. พบ *P. fletcheri* และ *P. incisi* มีตำแหน่ง centromere แตกต่างกัน (ภาพที่ 7 และ 8)



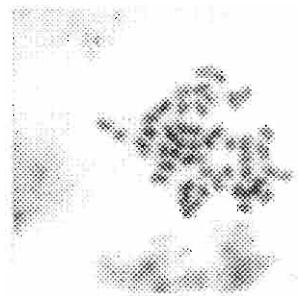
D. longicaudata v.A



D. longicaudata v.C



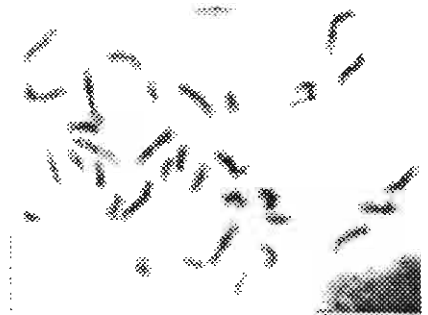
F. arisanus



F. vandenboschi

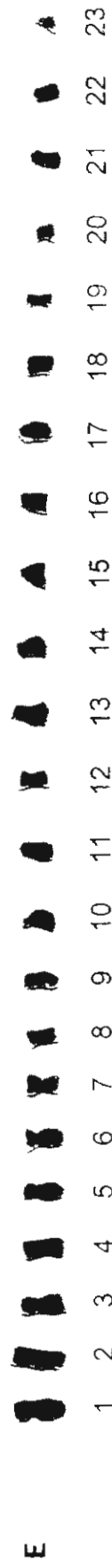
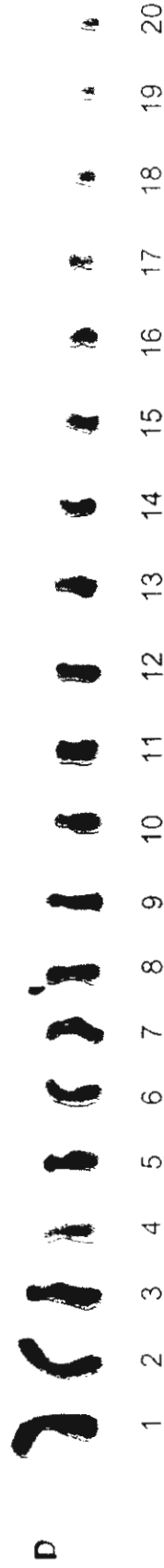
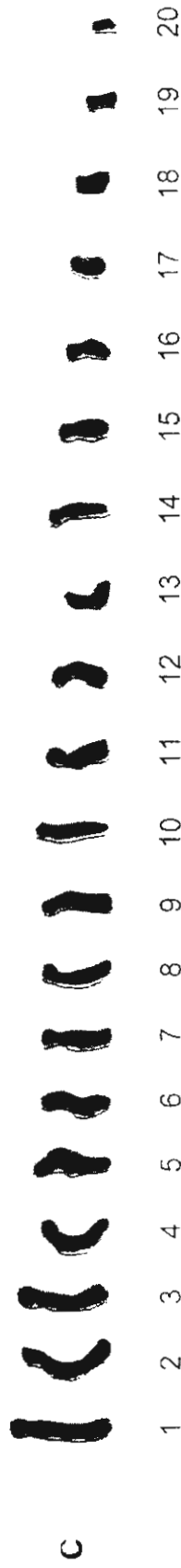
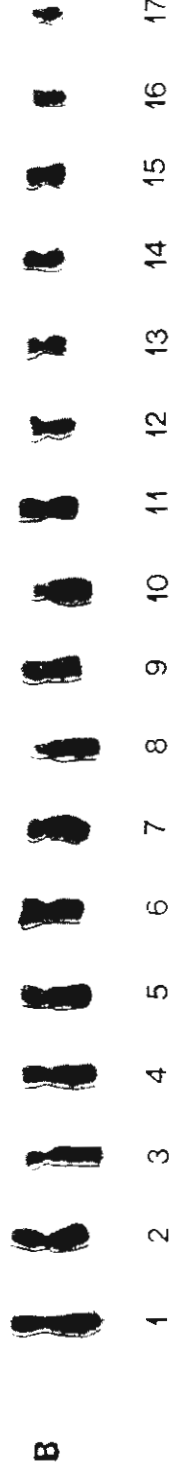


P. incisi



P. fletcheri

ภาพที่ 7 ภาพถ่ายไมโททิกคาริโอไทที่ย้อมด้วยสี Giemsa ของแมลงเบียนชนิดต่างๆ ใน genera: *Diachasmimorpha* ($2n=40$), *Fopius* ($2n=46$) และ *Psytalia* ($2n=34$)

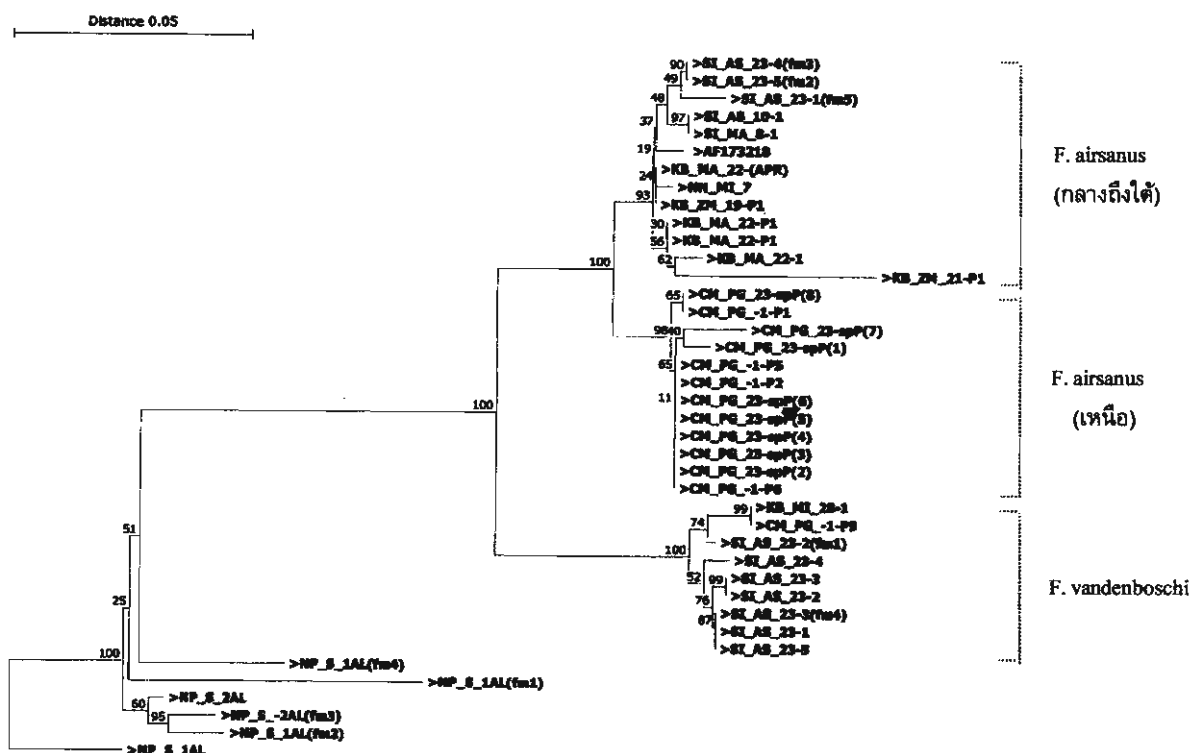


ภาพที่ 8 ภาพการโอโตไทป์ของแมลงเป็นชนิดต่างๆ ใน *Psytalia* spp. (A, B), *Diachasmimorpha* spp. (C, D), และ *Fopius* sp. (E)

การศึกษาโดยเทคนิค Molecular systematics

การดำเนินงาน: โดยใช้ 16S และ 28S rRNA ในการแยกความแตกต่างของแมลงเบียนกลุ่ม *Fopius* spp. ดูความแตกต่างระหว่างสปีชีส์และภายในสปีชีส์ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้ primer จาก GenBank ขั้นตอนการสกัด DNA ของแมลงนั้นใช้วิธีของ Doyle and Doyle (1987) PCR products นำมา sequence และ aligned โดยโปรแกรม Clustal W (Smith et al., 1996) นำมาสร้าง Phylogenetic tree ด้วยโปรแกรม TREECON (Van de Peer and De Wachter, 1997)

ผลการดำเนินงาน: พบว่าการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S และ 28S RNA gene ของกลุ่ม *Fopius* spp. แยกได้เป็น *F. vandenboschi* และ *F. airisanus* อย่างชัดเจนขณะเดียวกันพบว่า *F. airisanus* แยกเป็น 2 กลุ่มย่อย (ภายในสปีชีส์) ตามสภาพภูมิศาสตร์ (ดังภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 แสดง Phylogenetic tree ของแมลงเบียน กลุ่ม *Fopius* spp. ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ของ 28S rRNA gene

การตรวจสอบโดยวิธีผสมข้ามพันธุ์ (Cross-breeding experiments)

การดำเนินงาน: นำแมลงเบียน กลุ่ม *D. longicaudata* สายพันธุ์ต่าง ๆ มาผสมกับ *D. longicaudata* v.A ที่เพาะเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการ (stock) โดยให้ F₁ offspring เจริญภายในกลุ่ม (host)

ผลการดำเนินงาน: ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 4 ตารางตรวจสอบยืนยันกับ *D. longicaudata* v.A

10 pairs (mating)		F1 offsprings	
Female	Male (code)	Female	Male
<i>D. longicaudata</i> v.A (Stock)	BK(PG)-1	++	++
	BK(PL)-2	++	++
	BK(SS)-3	++	++
	KB(ZM)-102	-	+
	KB(CM)-104	-	+
	KB(ZM)-114	++	++
	KB(ZM)-120	++	++
	NP(PG)-1	++	++
	NP(TC)-3	++	++
	NP(TC)-3	-	+
	NP(PL)-11	++	++
	JPk(PG)-1	++	++
	SR(ZM)-1	++	++
	TK(ZM)-5	++	++
	TK(ZM)-6	++	++

BK(PG)-1	<i>D. longicaudata</i> v.A (Stock)	++	++
BK(PL)-2		++	++
BK(SS)-3		++	++
KB(ZM)-102		-	-
KB(CM)-104		-	-
KB(ZM)114		++	++
KB(ZM)-120		++	++
NP(PG)-1		++	++
NP(TC)-3		++	++
NP(TC)-3		-	-
NP(PL)-11		++	++
JPK(PG)-1		++	++
SR(ZM)-1		++	++
TK(ZM)-5		++	++
TK(ZM)-6		++	++

++ = successful crosses

+ = F₁ male from parthenogenesis

- = unsuccessful crosses

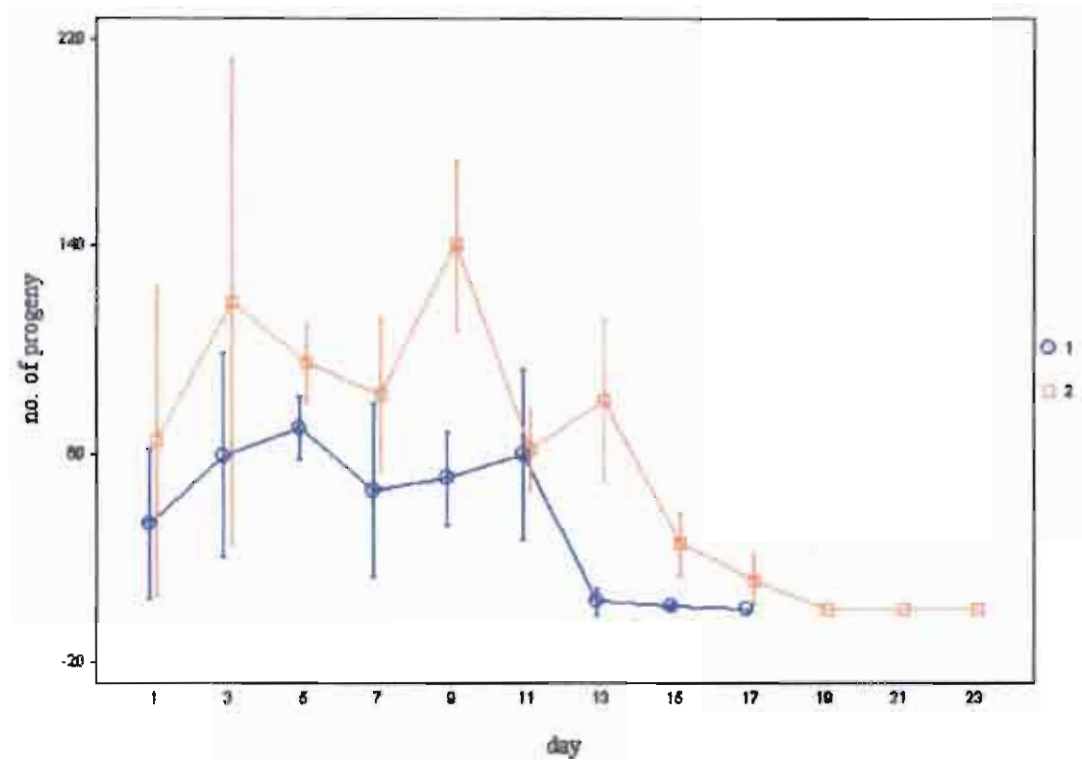
การตรวจสอบโดยวิธีผสมข้ามสายพันธุ์ระหว่าง *D. longicaudata* จากแหล่งต่าง ๆ ให้ผลที่ยืนยันได้กับ *D. longicaudata* v.A เท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจาก *D. longicaudata* v.B, v.C และ v.D ยังสำรวจได้ไม่มาก และยังไม่สามารถเลี้ยงให้สม่ำเสมอได้ในห้องปฏิบัติการ
(note : ขณะนี้เริ่มเลี้ยง *D. longicaudata* v.B ได้ 2-3 generations)

การศึกษาชีววิทยาของแมลงเบียน (Biology of parasitoids)

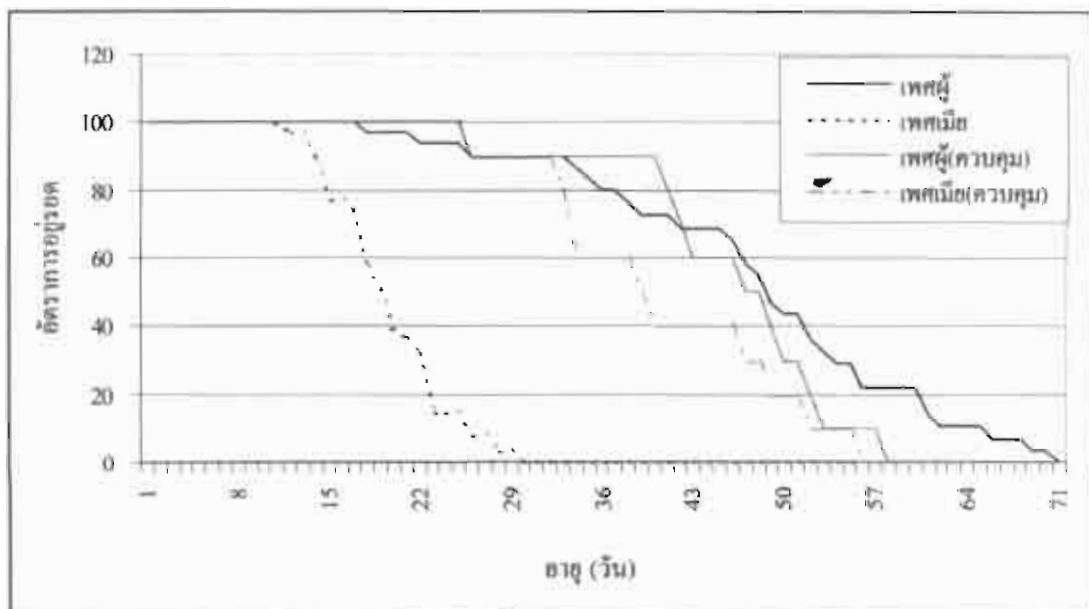
- การดำเนินงาน :
- ศึกษาชนิดของ host ที่เหมาะสมกับชนิดของแมลงเบียน
 - ศึกษาอายุของ host และแมลงเบียนที่เหมาะสม
 - ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความหนาแน่นของ host กับปริมาณความหนาแน่นของแมลงเบียน
 - ศึกษาพฤติกรรมการค้นหาและการทำลายแมลงวันผลไม้

ผลการดำเนินงาน : ผลการศึกษาชีววิทยาของแมลงเบียนชนิด *D. longicaudata* พบว่า *D. longicaudata* อายุ 6 วัน โจมตีแมลงวันผลไม้ *B. correcta* ในระยะตัวอ่อนระยะที่ 3 ได้ดีที่สุด *D. longicaudata* ที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์ (virgin female) จะผลิตลูกออกมาเป็นเพศผู้ทั้งหมด (haploid) โดยสามารถผลิตลูกได้ถึง 2 รอบ ส่วน *D. longicaudata* ที่ได้รับการผสมพันธุ์จะให้ลูกทั้งเพศผู้และเพศเมีย (diploid) โดยสามารถผลิตลูกได้ 3 รอบ (ภาพที่ 10) และพบว่า DNA ของทั้ง 2 เพศ มีขนาดเท่ากัน แต่เพศเมีย (diploid) จะมีปริมาณมากกว่าเพศผู้ (haploid) นอกจากนี้ *D. longicaudata* เพศเมียที่ให้อาหารไข่ม้วนอัตราการอยู่รอดน้อยกว่าที่ไม่ให้อาหารไข่ม้วน (ภาพที่ 11)

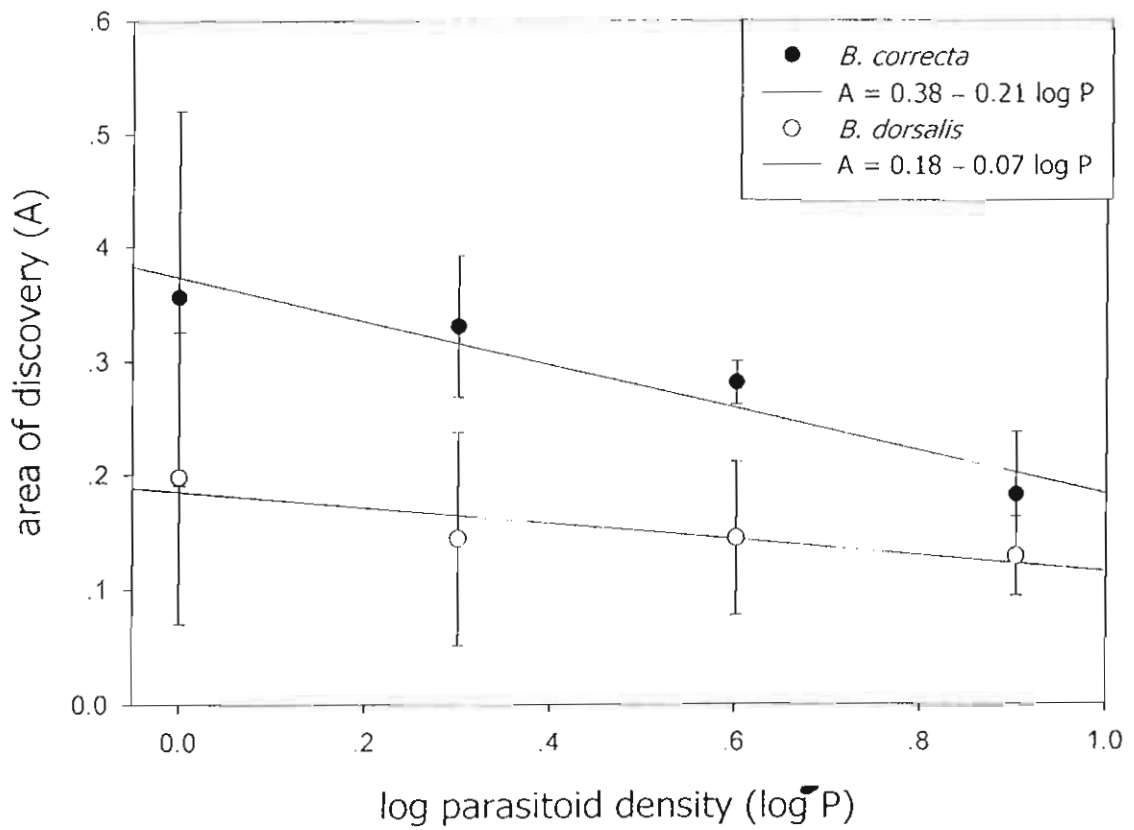
ผลการศึกษาชีววิทยาและพฤติกรรมของแมลงเบียนชนิด *S. endius* พบว่า *S. endius* อายุ 3 วัน มีประสิทธิภาพการทำลายดักแด้แมลงวันผลไม้สูงสุด โดยสามารถโจมตีแมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* เฉลี่ย 8.42 ± 1.72 ตัว / วัน ได้ดีกว่า *B. dorsalis* เฉลี่ย 7.37 ± 1.72 ตัว / วัน อัตราการโจมตีสูงขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนแมลงวันผลไม้และเมื่อเพิ่มจำนวนแมลงเบียน พบเปอร์เซ็นต์การโจมตีสูงขึ้นการวิเคราะห์พฤติกรรมการค้นหา (area discovery) ของแมลงเบียนพบว่า *S. endius* สามารถค้นหาแมลงวันผลไม้ *B. correcta* ได้ดีโดย $\text{area discovery} = 0.38\text{--}0.21 \log \text{ parasitoids}$ ส่วนค่าการค้นหาแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* กลับคงที่ $\text{area discovery} = 0.18$ (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 10 แสดงผลการผลิตรูปของ virgin female (สีน้ำเงิน) และ mated female (สีส้ม)



ภาพที่ 11 แสดงอัตราการอยู่รอดของแมลงเบียนที่ให้วางไข่ กับที่ไม่วางไข่ (control และ เพศผู้)



ภาพที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ของการค้นหา (A= area discovery) โฮสต์ (*B. correcta*, *B. dorsalis*) กับความหนาแน่นของแมลงเบียน (P)

บทวิจารณ์

แมลงเบียน (parasitoids) เป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญ ช่วยลดประชากรของแมลงวันผลไม้ตามธรรมชาติ และในระบบนิเวศที่มนุษย์สร้างขึ้น เช่น เรือนปลูกพืชผล ฯลฯ การศึกษาค้นคว้าแมลงเบียนเพื่อนำมาใช้ควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้ยังคงดำเนินอยู่ และมีแนวโน้มที่จะเร่งทำการศึกษามากยิ่งขึ้น เพื่อให้ได้แมลงเบียนสายพันธุ์ที่เหมาะสม สามารถปรับตัวได้ดีในธรรมชาติ ขณะเดียวกันไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและมนุษย์ จึงสามารถนำมาใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้แทนการใช้สารเคมีได้

การควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี ได้รับความสนใจและมีผู้พยายามศึกษาค้นคว้าทดลองมาอย่างสม่ำเสมอ (Rao et al., 1971; Greathead, 1971, 1976; Benett et al., 1976; Delucchi, 1977; Clausen, 1978; Gilstrap and Hart, 1987) โครงการการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้โดยชีววิธี เช่น การใช้แมลงเบียนนี้มีอยู่เกือบทุกประเทศทั่วโลก (Laing and Hamai, 1976) การทดลอง แต่การประเมินผลการทดลองยังดำเนินไปได้ไม่ค่อยราบรื่นนัก (Hawkins et al., 1999) ทั้งนี้ด้วยปัญหาของข้อมูลทางสปีชีส์ (Wharton, 1999) เช่น สปีชีส์ประจำถิ่น สปีชีส์ที่นำเข้า (อาจโดยตั้งใจหรือไม่ตั้งใจ) การจัดจำแนกสปีชีส์ และการทดสอบสปีชีส์ที่มีประสิทธิภาพทั้งในห้องปฏิบัติการและในภาคสนาม

การใช้แมลงเบียนควบคุมกำจัดแมลงศัตรูพืชต่าง ๆ (นอกจากแมลงวันผลไม้) มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะการศึกษา host-parasitoid systems ในรูปแบบของการศึกษาวิวัฒนาการ (evolution) (Holt and Hochberg, 1997) และวิวัฒนาการร่วม (coevolution) ระหว่างแมลงให้อาศัยกับแมลงเบียน (Eggleton and Belshaw, 1992; Hochberg and Holt, 1995) ในการศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของแมลงให้อาศัยและแมลงเบียน (population dynamics) พบว่ามีการศึกษาในรายละเอียด เช่น การศึกษาปฏิกริยาร่วมระหว่างแมลงเบียนกับแมลงให้อาศัย (Beckage, 1985) การศึกษาความรุนแรงของแมลงเบียน (parasitoid virulence) และการต่อต้านของแมลงให้อาศัย (host resistance) (Sasaki and Godfray, 1999) เริ่มมีการศึกษามากขึ้นในระดับโครงสร้างทางประชากรของแมลงเบียนและแมลงให้อาศัย (Murdoch et al., 1987; Briggs, 1993) การศึกษาที่กล่าวมานี้มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาในแมลงเบียนศัตรูธรรมชาติของวันผลไม้เช่นกัน

อดีตประเทศไทยขาด ผู้ศึกษาแมลงเบียนเพื่อใช้ควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้อย่างจริงจัง ทำให้ขาดข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผู้สนใจ ในงานวิจัยของโครงการ "การศึกษากำจัดจำแนกสายพันธุ์และการแพร่กระจายของแมลงเบียน (ศัตรูแมลงวันผลไม้) ชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* กับพันธุ์ใกล้เคียงต่าง ๆ ในประเทศไทย" นี้ จึงให้ข้อมูลพื้นฐาน ทางสายพันธุ์ ความสัมพันธ์ระหว่างแมลงเบียน-แมลงวันผลไม้-พืชอาศัย ชีววิทยา และพฤติกรรมของแมลงเบียนบางสายพันธุ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้ และเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้สนใจในการศึกษาค้นคว้าในระดับลึก ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- พิมลพร นันทะ, สติชัย ปฐมรัตน์, รัตนา รุ่งฟ้า และ รุจ มรกต. 2525. รายชื่อแมลงศัตรูธรรมชาติของพืชเศรษฐกิจบางชนิดในประเทศไทย การสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง การควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี ครั้งที่ 1 (2-4 มิถุนายน 2525) กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 121-151.
- แสน ดิถุพัฒนานนท์. 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆ ในประเทศไทย. ว. เกษตรพระจอมเกล้า 4: 1-15.
- Back, E.A. and Pemberton, C.E. 1915. Parasitism among the larvae of the Mediterranean fruit fly (*C. capitata*) in Hawaii during 1914. Report to the Board of Commissioners for Agriculture and Forestry, Territory of Hawaii 1914: 153-161.
- Beckage, N.E. 1985. Endocrine interactions between endoparasitic insects and their hosts. Annual Review of Entomology 30: 371-413.
- Bennett, F.D., Rosen, D., Cocherneau, P. and Wood, B.J. 1976. Biological control of pests of tropical fruits and nuts. In: C.B. Huffaker and P.S. Messenger (Editors), Theory and Practice of Biological Control. Academic Press, New York, San Francisco, London, pp.359-395.
- Berlese, A. 1911. Diffusione in Italia di un *Opius australiano* contro il *Dacus oleae*. Redia 7: 470.
- Briggs, C.J. 1993. Competition among parasitoid species on a stage-structured host and its effect on host suppression. American Naturalist 141: 372-397.
- Clausen, C.P. 1978. Tephritidae (Trypetidae, Trupaneidae). In : C.P. Clausen (Editor), Introduced parasites and predators of arthropod pests and weeds: a world review. United State Department of Agriculture Handbook 480: 320-325.
- Clausen, C.P., Clancy, D.W. and Chock, Q.C. 1965. Biological control of the Oriental fruit fly (*Dacus dorsalis* Hendel) and other fruit flies in Hawaii. United State Department of Agriculture Technical Bulletin 1322: 1-102.
- Delucchi, V. 1977. La lutte biologique contre les ravageurs de l'olivier. In :J. Humanes Guillen and J.M. Philippe (Editors), Manuel d'oleiculture, United Nations Food and Agriculture Organization, Rome pp.207-227.

- Doyle, J.J. and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Eggleton, P. and Belshaw, R. 1992. Insect parasitoids: An evolutionary overview. *Proceedings of the Royal Society of London B* 337:1-20.
- Gilstrap, F.E. and Hart, W.G. 1987. Biological control of the Mediterranean fruit fly in the United States and Central America. United State Department of Agriculture ARS-56: 1-64.
- Greathead, D.J. 1971. A review of biological control in the Ethiopian Region. Commonwealth Institute of Biological Control Technical Communication 5: 1-162.
- Greathead, D.J. 1976. Mediterranean Fruitfly, Olive Fly. In: D.J. Greathead (Editor), A review of biological control in western and southern Europe. Commonwealth Institute of Biological Control Technical Communication 7: 37-43.
- Hardy, D.E. 1973. The fruit flies (Tephritidae—Diptera) of Thailand and bordering countries. Bernice P. Bishop Museum, Hawaii 353 pp.
- Hawkins, B.A., Mills, N.J., Jervis, M.A. and Price, P.W. 1999. Is the biological control of insects a natural phenomenon? *Oikos* 86: 493-506.
- Hochberg, M.E. and Holt, R.D. 1995. Refuge evolution and the population dynamics of coupled host-parasitoid association. *Evolutionary Ecology* 9: 633-661.
- Holt, R.D. and Hochberg, M.E. 1997. When is biological control evolutionarily stable (or is it)? *Ecology* 78: 1673-1683.
- Howell, V.D., Hoelmer, K., Norman, P. and Allen, T. 1982. Computer-assisted measurement and identification of honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America* 75: 591-594.
- Kitthawee, S., Singhapong, S., Baimai, V. 1999. Metaphase chromosomes of parasitic wasp, *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. *Cytologia* 64: 111-115.
- Laing, J.E. and Hamai, J. 1976. Biological control of insect pests and weeds by imported parasites, and pathogens. In: C.B. Huffaker and P.S. Messenger (Editors), *Theory and Practice of Biological Control*. Academic Press, New York, San Francisco, London pp.685-743.

- Murdoch, W.W., Nisbet, R.M., Blythe, S.P., Gurney, W.S.C. and Reeve, J.D. 1987. An invulnerable age class and stability in delayed-differential parasitoid-host models. *American Naturalist* 129: 263-282.
- Rao, V.P., Ghani, M.A., Sankaran, T. and Mathur, K.C. 1971. A review of the biological control of insects and other pests in Southeast Asia and the Pacific Region. *Commonwealth Institute of Biological Control Technical Communication* 6: 43-45, 81-83.
- Smith, R.F., Wiese, B.A., Wojzynski, M.K., Davison, D.B. and Worley, K.C. 1996. BCM search launcher- - An integrated interface to molecular biology data base search and analysis services available on the world wide web. *Genome Research* 6(5): 454-62.
- Smitinand, T. 1980. Thai plant names (botanical names - vernacular names). Royal Forest Department, Bangkok, Thailand.
- Tan, K.H. and Lee, S.L. 1982. Species diversity and abundance of *Dacus* (Diptera-Tephritidae) in five ecosystems of Penang, West Malaysia. *Bulletin of Entomological Research* 72: 709-716.
- Van de Peer, Y. and De Wachter, R. 1997. Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. *Computer Applications in the Biosciences* 13: 227-230.
- Wharton, R.A. 1999. A review of the old world genus *Fopius* Wharton (Hymenoptera: Braconidae: Opiinae), with description of two new species reared from fruit-infesting Tephritidae (Diptera). *Journal of Hymenoptera Research* 8(1): 48-64.
- Wharton, R.A. and Gilstrap, F.E. 1983. Key to and status of opiine braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus* s.l. (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 76: 721-742.
- White, I.M. and Elson-Harris, M.M. 1992. *Fruit Flies of Economic Significance: Their Identification and Bionomics*. Centre for Agriculture and Biosciences International Wallingford Oxon, UK
- Yunus, A. and Ho, T.H. 1980. List of economic pests, host plants, parasites and predators in West Malaysia (1920-1978). *Bulletin, Ministry of Agriculture, Malaysia* 153: 1-538.

ผลงานวิจัย

ผลงานวิจัยตีพิมพ์ (published)

1. **Kitthawee S.** and L. Vasinpiyamongkol. 2002. Mitotic karyotype of *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae), a pupal parasitoid of tephritid flies (Diptera: Tephritidae) in Thailand. *Cytologia* 67(4): 435-438. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 1)
2. สัศวรณ กิจทวี และชวลวรรณ ทองอ่วม 2544. ใช้แตนเบียนทำลายแมลงวันผลไม้กันเกิด. นวัตกรรม ฉบับที่ 8 สิงหาคม, หน้า 12. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 2)

ผลงานวิจัยที่ส่งพิจารณาเพื่อตีพิมพ์ (submitted)

1. **Kitthawee S.**, K. Sriplang, W. Y. Brockelman and V. Baimai. Laboratory evaluation in density relationships of the parasitoid, *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae), with two species of tephritid fruit fly pupal hosts in Thailand. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 3)
2. **Kitthawee S.**, S. Singhapong and V. Baimai. Karyotype of five species of tephritid fruit fly parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) from Thailand. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 4)

ผลงานวิจัยที่กำลังเตรียมต้นฉบับ (in preparation)

1. Prathepha P., **S. Kitthawee** and V. Baimai. Molecular systematics of *Fopius* (Hymenoptera: Braconidae) based on 16S and 28S rRNA gene.
2. **Kitthawee S.** and W. Lovichit. Morphometric analysis of selected species in the *Diachasmimorpha longicaudata* group.

ผลงานวิจัยในการเสนอผลงานด้วยวาจา (oral presentation)

1. Sriplang K. and **S. Kitthawee**. 2001. Density relationships of the parasitoid, *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae) with their fruit fly hosts. The 2nd Science project exhibition, Faculty of Science, Mahidol University, 15 March 2001. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 5)

ผลงานวิจัยในการเสนอผลงานแบบ poster

1. Yimlamai W. and **S. Kitthawee**. 2001. Suitability of a fruit fly and its parasitoid as hosts of the hyperparasitoid, *Spalangia endius* (Hymenoptera:

- Pteromalidae). The 2nd Science project exhibition, Faculty of Science, Mahidol University, 15 March 2001. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 6)
2. Seneewongse Na Ayudthaya S., **S. Kitthawee** and S. Ubol. 2001. Fecundity of virgin females and mated females of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*. The 2nd Science project exhibition, Faculty of Science, Mahidol University, 15 March 2001. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 7)
 3. Wanwiwat Lovichit. Morphometric and **S. Kitthawee**. 2002. Morphometric analysis of selected strains in the *Diachasmimorpha longicaudata* complex (Hymenoptera: Braconidae) by using statistical analysis and computer techniques. The 3rd Science project exhibition, Faculty of Science, Mahidol University, 15 March 2002. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 8)
 4. Thatri lampornsri and **S. Kitthawee**. 2003. Biology of the fruit fly parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), for the control of fruit flies. The 4th Science project exhibition, Faculty of Science, Mahidol University, 13 March 2003. (ภาคผนวก เอกสารหมายเลข 9)

นักศึกษาร่วมงานวิจัย

- นักศึกษา senior project 3 คน จบการศึกษาระดับปริญญาตรี 2543-44
- นักศึกษา senior project 1 คน จบการศึกษาระดับปริญญาตรี 2544-45
- นักศึกษา senior project 1 คน จบการศึกษาระดับปริญญาตรี 2545-46
- นักศึกษานิเทศศาสตร์ 2 คน กำลังศึกษา

การเชื่อมโยงกับนักวิชาการต่างประเทศ

- ทางโครงการได้รับคำแนะนำทางด้าน ecology of parasitoids อย่างสม่ำเสมอจาก Dr. Russell Messing แห่ง U. of Hawaii โดยเฉพาะแมลงเบียนที่สามารถใช้ควบคุมแมลงวันผลไม้ (biological control)
- ทางโครงการได้รับคำแนะนำทางด้าน biology of parasitoids อย่างสม่ำเสมอจาก Dr. Mohsen M. Ramadan แห่ง State of Hawaii Department of Agriculture, Division of Plant Industry, Plant Pest Control
- ทางโครงการได้รับคำแนะนำอย่างสม่ำเสมอจาก Dr. Jay Rosenheim แห่ง UC Davis, USA

การเชื่อมโยงกับนักวิชาการอื่นๆ

- ทางโครงการได้รับความร่วมมือจาก ดร. อัจฉริยา รั้งศิริ แห่งมหาวิทยาลัยศรี-

นครินทร์วิโรฒ ในการศึกษาการจัดจำแนกแมลงเบียนโดยวิธีทาง molecular systematics (ITS 1, ITS 2)

- ทางโครงการได้รับความร่วมมือจาก ดร.ปรีชา ประเทพา แห่งมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ในการศึกษาการจัดจำแนกแมลงเบียนโดยวิธีทาง molecular systematics (16S และ 28S r-RNA)
- ทางโครงการได้รับความร่วมมือจาก ดร.วิภา จิงจุตพรชัย สถาบันอนุชีววิทยาและพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ในการศึกษา transposable elements ในแมลงเบียน

การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการภายในสถาบันเดียวกัน

งานวิจัยนี้มีความเชื่อมโยงกับโครงการเมธีวิจัยอาวุโสของ ศ.ดร.วิสุทธิ์ ไบไม่ การดำเนินการวิจัยบางส่วนได้รับการสนับสนุนจากโครงการดังกล่าว

ภาคผนวก

Mitotic Karyotype of *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae), A Pupal Parasitoid of Tephritid Flies (Diptera: Tephritidae) in Thailand

S. Kitthawee* and L. Vasinpiyamongkol

Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand

Received September 18, 2002; accepted October 7, 2002

Summary *Spalangia endius*, a pupal parasitoid of tephritid flies, has a karyotype of $n=4$, the lowest haploid chromosome number ever recorded for a pteromalid. This was determined by examining mitotic cells of the neuroganglia of male pupae. A diploid chromosome number ($2n$)=8 was also determined from the neuroganglia of female pupae. The diploid mitotic karyotype is comprised of 4 metacentric chromosome pairs.

Pteromalid pupal parasitoids (*Spalangia* spp.) are normally found in various dipteran hosts (Clancy 1950, Schmidt and Morgan 1978, Meyer *et al.* 1991, Hogsette *et al.* 1994, Gut and Brunner 1994), e.g., the house fly (*Musca domestica* L.), stable fly (*Stomoxys calcitrans* L.), horn fly (*Haematobia irritans* L.), *Drosophila* spp. and fruit flies (*Rhagoletis* spp., *Bactrocera* spp.). From our observations, *S. endius* is a natural enemy of the tephritid fruit flies, *Bactrocera correcta* Bezzi and *Bactrocera dorsalis* Hendel, which attack various economically important fruits in Thailand (Hardy 1973, White and Elson-Harris 1992). *Bactrocera correcta*, the major host of *S. endius*, often occurs as a mixed infestation with *B. dorsalis*, the major fruit pest in Thailand. There have been attempts to suppress or eradicate *B. dorsalis* in some areas of Thailand using the sterile male technique (Sutantawong 1991). If successful, such control may result in increases in *B. correcta* populations and lead to it becoming an economically important pest in the future. *Spalangia endius* is a potential biological control agent against *B. correcta*.

From our behavioral observations and dissections, *S. endius* can sting both normal fruit fly hosts and those previously parasitized by the braconid parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* (Kitthawee unpublished data). *Spalangia endius* acts as a primary parasitoid of *B. correcta* and as a hyperparasitoid of *D. longicaudata*. Dissections of exposed puparia have revealed that one *S. endius* larva feeds externally on the body of each host, either the fruit fly or braconid wasp, within the puparium. From our observations, *S. endius* preferred fruit fly hosts rather than fruit fly parasitoids. This agrees with Dresner (1954) who observed that *S. endius* tends to attack the fruit fly host rather than their parasitoids. From our observations, each puparium that showed one emergence hole was associated with one *S. endius* (Kitthawee unpublished data) thus indicating that the *S. endius* parasitoid always emerges at the expense of any other parasitoid. *Spalangia endius* is one of the few pupal parasitoids of fruit flies that may be sufficiently efficient to be useful for suppressing fruit fly populations.

Karyotype investigations of the family Pteromalidae have been conducted for 7 species representing 7 genera (Makino 1951, Gokhman and Quicke 1995). The lack of cytological study of *Spalangia* spp. is surprising in view of the interest in them as a natural enemy of the house fly (Propp and Morgan 1983) and fruit fly (Clancy 1950). Here, we investigate and report the karyotype of the pteromalid, *S. endius*.

* Corresponding author, e-mail: grskt@mahidol.ac.th

Materials and methods

The pteromalid, *S. endius*, was primarily obtained from fruit fly infested fruit of guava growing in Nakornpathom Province, central Thailand. The culture currently maintained in our laboratory was established by rearing *S. endius* on *B. correcta* pupae. Emerged adults were kept in plastic containers (7×12×4.5 cm) provided with honey.

During cytological work, we found that the pupal stage provided the best chromosome preparation. This stage was dissected from the host pupae in a colchicine-hypotonic solution (0.01% colchicine in 0.50% sodium citrate solution). Metaphase chromosomes were processed according to the following method based on Kitthawee *et al.* (1999). Brains of pupae were treated with demecolcine solution (Sigma) for 10 min and returned to fresh colchicine-hypotonic solution for 15 min. Tissues were fixed in 3:1 absolute ethanol:glacial acetic acid for 2–3 min, covered with a cover slip and then squashed. Slides were frozen for 2–3 min and the cover slips were removed before drying, staining and squashing in 2% lacto-aceto-orcein for 3 min. Slides were viewed under a compound microscope at 100×. Well spread metaphase chromosomes were photographed with Kodak Technical Pan Film for further analysis. At least 30 well spread cells were scored for chromosome number. The mitotic karyotypes were determined and analysed based on the centrometric position as described by Levan *et al.* (1964). The karyogram was arranged in a diploid set from the largest to the smallest chromosome.

Results

Karyotype data of *S. endius* are summarized in Table 1. The chromosome number of the haploid male is $n=4$ (Fig. 1a) and of the diploid female is $2n=8$ (Fig. 1b). Their mitotic metaphase karyotypes are uniform in that all chromosomes are metacentric in shape. A karyogram (Fig. 2) shows the metacentric chromosomes.

Table 1. Relative length, centrometric index, and type of each mitotic chromosome of *S. endius*

Chromosome pair	Relative length Mean ± S.E.	Centrometric index Mean ± S.E.	Type
1	14.91 ± 0.09	0.583 ± 0.002	Metacentric
2	12.71 ± 0.09	0.565 ± 0.003	Metacentric
3	11.73 ± 0.09	0.539 ± 0.003	Metacentric
4	10.66 ± 0.15	0.519 ± 0.004	Metacentric



Fig. 1. Photomicrograph(s) of metaphase chromosomes of *S. endius*. a) haploid male chromosome $n=4$. b) diploid female chromosome $2n=8$. The bar indicates 1 μ m.



Fig. 2. Diploid mitotic karyotype of *S. endius* showing size and shape.

Discussion

Chromosome numbers of hymenopteran insects are known for nearly 150 species representing 20 families. However, Makino (1951) only listed one species, in the genus *Pteromalus*, for the family Pteromalidae and it had a haploid chromosome number $n=5$. Since Makino, there have been other reports. Crozier (1975) updated the list and included the chromosome number of another pteromalid, *Nasonia vitripennis* ($n=5$). Most recently, the list was updated by Gokhman and Quicke (1995) who listed 6 species from 6 genera in the family Pteromalidae. The haploid chromosome numbers of these latter species were all $n=5$ except for a species in the genus *Anisopteromalus* which had the highest haploid number of 7.

Haploid chromosome numbers in the family Pteromalidae have been reported ranging from 5 to 7, as noted above. The haploid chromosome number of $n=5$ is the most common and is considered as the lowest number in the Pteromalidae (Makino 1951, Crozier 1975, Gokhman and Quicke 1995). Here, we found that *S. endius* has a diploid chromosome number of $2n=8$ and a haploid chromosome number of $n=4$ which are the lowest diploid and haploid chromosome numbers so far recorded for species in the family Pteromalidae. The results presented here are the first published documentation of chromosome numbers of a species in the subfamily Spalanginae of the family Pteromalidae. The diploid metaphase karyotype revealed 4 large metacentric chromosome pairs. These lower-numbered karyotypes have larger chromosomes than high-numbered karyotypes and their investigation may determine useful taxonomic characters in this parasitoid group.

Mitotic chromosomes of *Spalangia* spp. are difficult to prepare unlike those of other hymenopteran parasitoids because they are tiny parasitoids and the neuroganglial cells are difficult to locate. It is also difficult to determine the stages of these insects that are most suitable for chromosome preparation. However, the results presented here indicate that *S. endius* is suitable for future cytological study. Such study may prove useful for identifying sibling species in the *S. endius* complex (Legner 1983) and may indicate a possible mechanism of chromosomal evolution within the genus *Spalangia*. It is also hoped that this knowledge will aid in the development of this group as biological-control agents of fruit flies.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. John Milne for useful comments on a draft of this manuscript and Miss Anchana Thancharoen for photographic support. This work was supported by Thailand Research Fund grant number RSA/15/2543.

References

- Clancy, D. W. 1950. Notes on parasites of tephritid flies. *Proc. Hawaii Entomol. Soc.* **14**: 23–28.
- Crozier, R. H. 1975. Hymenoptera. In: John, B. (ed.). *Animal Cytogenetics*. Vol. 3, Insecta 7. Gebrüder Borntraeger, Berlin and Stuttgart.
- Dresner, E. 1954. Observations on the biology and habitats of pupal parasites of the oriental fruit fly. *Proc. Hawaii Entomol. Soc.* **15**: 299–310.
- Gokhman, V. E. and Quicke, D. L. J. 1995. The last twenty years of parasitic Hymenoptera karyology: An update and phylogenetic implications. *J. Hym. Res.* **4**: 41–63.
- Gut, L. J. and Brunner, J. F. 1994. Parasitism of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella*, infesting hawthorns in Washington. *Entomophaga* **39**: 41–49.
- Hardy, D. E. 1973. The fruit flies (Tephritidae-Diptera) of Thailand and bordering countries. *Pac. Insects Monogr.* **31**: 1–353.
- Hogsette, J. A., Farkas, R. and Coler, R. R. 1994. Hymenopteran pupal parasites recovered from house fly and stable fly (Diptera: Muscidae) pupae collected on livestock and poultry facilities in northern and central Hungary. *Environ. Entomol.* **23**: 778–781.
- Kitthawee, S., Singhapong, S. and Baimai, V. 1999. Metaphase chromosomes of parasitic wasp, *Diachasmimorpha longi-*

- caudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. *Cytologia* **64**: 111–115.
- Legner, E. F. 1983. Broadened view of *Muscidifurax* parasites associated with endophilous synanthropic flies and sibling species in the *Spalangia endius* complex. *Proc. California Mosquito and Vector Control Assoc.* pp. 41–42.
- Levan, A., Fredga, K. and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centrometric position on chromosomes. *Hereditas* **52**: 201–220.
- Makino, S. 1951. *An Atlas of the Chromosome Numbers in Animals*. Iowa State Univ. Press, Ames.
- Meyer, J. A., Shultz, T. A., Collar, C. and Mullens, B. A. 1991. Relative abundance of stable fly and house fly (Diptera: Muscidae) pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae; Coleoptera: Staphylinidae) on confinement dairies in California. *Environ. Entomol.* **20**: 915–921.
- Propp, G. D. and Morgan, P. B. 1983. Superparasitism of house fly (*Musca domestica* L.) pupae by *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae). *Environ. Entomol.* **12**: 561–566.
- Schmidt, C. D. and Morgan, P. B. 1978. Parasitism of pupae of the horn fly, *Haematobia irritans* (L.), by *Spalangia endius* Walker. *Southwest-Entomol.* **3**: 69–72.
- Sutantawong, M. 1991. Fruit Flies and Their Control by the Sterile Insect Technique in Thailand. In: Kawasaki, K., Iwahashi, O. and Kaneshiro, K. Y. (eds.). *Proceedings of the International Symposium on the Biology and Control of Fruit Flies*, Ginowan, Okinawa, Japan.
- White, I. M. and Elson-Harris, M. M. 1992. *Fruit Flies of Economic Significance: Their Identification and Bionomics*. Centre for Agriculture and Biosciences International Wallingford Oxon, UK.
-

นวัตกรรม

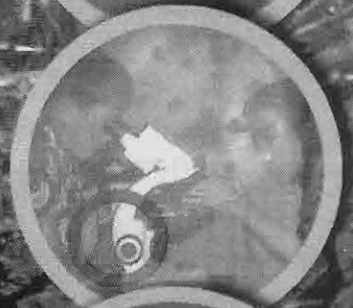
แกลบ

ทำเงินได้มากกว่าที่คิด

เศรษฐกิจ
ฐานความรู้

เงินกู้
ดอกเบี้ยต่ำ

ฟื้นดินเค็ม...
คืนป่าภาคอีสาน



ขอเชิญร่วมงาน
สัปดาห์วิทยาศาสตร์
18-26 สิงหาคม



ใช้แตนเบียน ทำลายแมลงวันผลไม้กันเกิด

ดร.สังวรณ กิจทวี / ชลวรณ ทองอ่วม *

เรารู้จักตัวแตนว่าตอยเจ็บไม่น้อยหน้าผึ้งหรือต่อ แต่หลายคนคงไม่รู้จัก “แตนเบียน” ซึ่งเป็นแมลงในกลุ่มเดียวกับผึ้ง ต่อ แตน และมด แมลงกลุ่มนี้จัดอยู่ในอันดับ Hymenoptera มีคุณสมบัติพิเศษคือ เข้าใจผิดศัตรูหรือผู้ที่มาก่อนกวนด้วยการตอย และอาศัยอวัยวะวางไข่ (ovipositor) แทงไปที่ศัตรูที่มารบกวน



รูปร่างหน้าตาของแตนเบียนนั้นคล้ายกับแตนโดยทั่วไป มีความยาวของตัวโดยรวมประมาณ 3-15 มิลลิเมตร มีปีกบางและใส 2 คู่ เราสามารถแยกแยะระหว่างเพศผู้และเพศเมียได้ง่าย โดยเพศเมียจะมีอวัยวะวางไข่ยื่นยาวออกจากส่วนท้ายของช่วงท้อง (ดังรูป) อวัยวะนี้ใช้สำหรับแทงและวางไข่ในแมลงวันผลไม้ แตนเบียนมีมากมายหลายชนิด อาจแบ่งตามพฤติกรรมการวางไข่ในแต่ละระยะของแมลงวันผลไม้ ถ้าแตนเบียนวางไข่เข้าไปในไข่ของแมลงวันผลไม้ จะเรียกว่าแตนเบียนระยะไข่ ถ้าแตนเบียนวางไข่เข้าไปในตัวอ่อนของแมลงวันผลไม้จะเรียกว่าแตนเบียนระยะตัวอ่อน และถ้าแตน

เบียนวางไข่เข้าไปในระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้ก็จะเรียกว่าแตนเบียนระยะดักแด้ เมื่อไข่ของแตนเบียนอยู่ในไข่ ตัวอ่อน หรือดักแด้ของแมลงวันผลไม้ ไข่ของแตนเบียนก็จะพัฒนาเป็นตัวอ่อน ตัวอ่อนของแตนเบียนที่อาศัยในระยะต่างๆ ของแมลงวันผลไม้จะอาศัยแบบเบียนเบียนและทำลายแมลงวันผลไม้ในลักษณะเดียวกับปรสิต (parasite) ด้วยพฤติกรรมเช่นนี้แตนเบียนจึงมีชื่อสามัญว่า parasitoids และในที่สุดแตนเบียนก็จะทำลายแมลงวันผลไม้ถึงแก่ชีวิต และยังได้อาศัยคราบของดักแด้ที่แมลงวันผลไม้ที่สร้างไว้เป็นเกราะกำบังตัวเองก่อนที่จะแข็งแรงเพียงพอที่จะออกสู่โลกภายนอกเป็นแตน

เบียนตัวเต็มวัย

แตนเบียนจึงเป็นแมลงที่ให้ประโยชน์สามารถใช้ควบคุมประชากรของแมลงวันผลไม้ได้ดี เนื่องจากมีความสามารถในการใช้อวัยวะวางไข่แทงเข้าไปในผลไม้ที่มีแมลงวันผลไม้เป็นเป้าหมายได้ แม้ว่าแมลงเป้าหมายจะมีจำนวนน้อยและไม่สามารถเห็นได้จาก

ภายนอก เป็นวิธีที่ปลอดภัยและไม่ก่ออันตรายต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ นอกจากความสามารถในการเจาะจงหาแมลงวันผลไม้แล้ว แตนเบียนยังมีการผสมพันธุ์และวางไข่ตลอดชีวิต ซึ่งนับว่าเป็นข้อดี เพราะทุกครั้งที่แตนเบียนวางไข่จะถือว่าการควบคุมกำจัดโดยชีววิธีที่พอดี และเมื่อจำนวนประชากรของแมลงวันผลไม้มีเพิ่มมากขึ้น

จำนวนของแตนเบียนก็จะเพิ่มขึ้นตามกัน จึงเกิดความสัมพันธ์และสมดุลระหว่างจำนวนประชากรของแมลงสองกลุ่ม การใช้แตนเบียนควบคุมจำนวนประชากรของแมลงวันผลไม้ไม่ก่อความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อม ไม่มีปัญหาสารเคมีตกค้างแล้ว ยังไม่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้และผู้บริโภค แต่กลับเสริมสร้างระบบนิเวศให้อยู่ในสภาพสมบูรณ์และสมดุล

ถึงเวลาหรือยังที่เกษตรกรควรทำความเข้าใจกับแตนเบียนให้มากขึ้น

การศึกษาแตนเบียนนี้ ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว. RSA/15/2543) ท่านใดสนใจ ขอรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่ ดร. สังวรณ กิจทวี ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โทรศัพท์ 0-2201-5276 ■



* ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

Karyotypes of five species of tephritid fruit fly parasitoid (Hymenoptera:
Braconidae) from Thailand

Sangvorn Kitthawee*, Siripong Singhapong and Visut Baimai

Department of Biology, Faculty of Science, Mahidol University,
Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand

*Corresponding author: Sangvorn Kitthawee, Department of Biology,
Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI Road, Bangkok 10400,
Thailand. Tel: +662 201 5276 Fax: +662 274 0079
e-mail: grskt@mahidol.ac.th

Abstract

Mitotic karyotypes of five species of tephritid fruit fly parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) belonging to the three genera, *Psyttalia*, *Diachasmimorpha* and *Fopius*, are described. The haploid chromosome numbers (n) of the three genera are distinct, i.e., *Psyttalia* $n = 17$, *Diachasmimorpha* $n = 20$ and *Fopius* $n = 23$. The species within each genus share the same haploid chromosome number but the chromosomes differ in size and shape: 7 metacentric (M), 7 submetacentric (SM) and 3 subtelocentric (ST) chromosomes in *P. fletcheri* compared with 6 M, 9 SM and 2 ST in *P. incisi*; and 5 M, 13 SM and 2 ST in *D. longicaudata* compared with 6 M, 12 SM and 2 ST in *D. dacusii*. *F. arisanus* showed 5 M, 13 SM and 5 ST. These karyological data are useful for cytotaxonomy and contribute to a better understanding of the chromosomal evolution of these fruit fly parasitoids.

Key words: fruit fly parasitoids, mitotic karyotype, cytotaxonomy.

INTRODUCTION

Tephritid fruit fly parasitoids are beneficial wasps that are particularly useful in biological control programs. They have been used directly against their insect hosts since the early 1900's (Clausen 1956). However, taxonomic problems still exist among these insects due to their small size and similarity in external morphology (Wharton and Marsh 1978, Wharton and Gilstrap 1983, Wharton 1987, Wharton 1997, Wharton 1999). Most species of tephritid fruit fly parasitoid belong to the family Braconidae (Hymenoptera) and are distinguished on the basis of external morphological characters. Wharton and Gilstrap (1983) described 42 species and presented a morphological key of the opiine Braconidae used in biological control. These authors pointed out that more work on the systematic biology of these parasitoids was required to solve the remaining taxonomic problems.

Cytological studies have played an important role in determining the systematics of various groups of hymenopterous insects including braconid parasitoids (Makino 1951, Crozier 1975, Gokhman and Quicke 1995). Although metaphase chromosomes of approximately 20 species in the family Braconidae have been reported (Gokhman and Quicke 1995), information on mitotic karyotypes of tephritid fruit fly parasitoids is rare. Cytological study of parasitoid wasps is particularly difficult mainly due to the small size of the brain ganglia of the small immature parasitoids.

Recently, Kitthawee et al. (1999) described a technique for preparing metaphase chromosomes from neuroganglial cells of the immature endoparasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata*.

In this report, we present mitotic karyotypes of five species of tephritid fruit fly parasitoids belonging to three genera. Systematic relationships within and between genera of these tephritid fruit fly parasitoids based on these karyotypes are discussed.

MATERIALS AND METHODS

Collections of specimens

The endoparasitoids used in this study included *Psytalia fletcheri* Silvestri, *P. incisi* Silvestri, *D. longicaudata* Ashmead, *D. dacusii* (Cameron) and *Fopius arisanus* (Sonan). They were obtained from fruit fly larvae that infested ripe fruits collected from different localities in Thailand (Table 1). The larvae of fruit flies were reared in the insectary at Mahidol University until the adults emerged that were then used for species identification. Meanwhile, larval parasitoids were allowed to develop within larval fruit fly hosts until the prepupal stage. For each collection, at least twenty prepupal parasitoids were sacrificed for chromosome preparation. The remaining larval parasitoids were reared until the adults emerged which were then used for identification. All parasitoids, their host fruit flies and host plants were identified to species