

ตารางที่ 4.2 แสดงดัชนีที่ใช้ในการจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. dorsalis* complex จำนวน 8 ชนิด

Species	Index	value	% accuracy
<i>B. arecae</i> (G)	vein18+	25.80 (2.5)	98.9%
	vein7/vein14+	0.39 (0.03)	
	vein18/vein20	1.55 (0.09)	
B. anthocephala (E)	vein18+	31.00 (1.7)	98.9%
	vein7/vein14+	0.40 (0.01)	
	vein18/vein20	1.63 (0.08)	
<i>B. dorsalis</i> (A)	vein5/vein17 +	0.83 (0.05)	98.1%
	vein8/vein16 +	1.75 (0.07)	
	vein8/vein29 +	1.93 (0.26)	
	vein13/vein24	1.15 (0.04)	
<i>B. verbascifoliae</i> (D)	vein5/vein17 +	0.88 (0.05)	98.1%
	vein8/vein16 +	1.57 (0.08)	
	vein8/vein29 +	1.85 (0.26)	
	vein13/vein24	1.22 (0.04)	
<i>B. propinqua</i>	vein8 +	91.00 (7.2)	95.2%
	vein26 +	10.28 (1.57)	
	vein7/vein18 +	3.09 (0.23)	
	vein20/vein24 +	0.60 (0.05)	
	vein13/vein20	2.02 (0.14)	
<i>B. pyrifoliae</i> (E)	vein8 +	85.00 (7.9)	95.2%
	vein26 +	12.92 (1.27)	
	vein7/vein18 +	3.03 (0.12)	
	vein20/vein24 +	0.60 (0.04)	
	vein13/vein20	2.03 (0.22)	
B. payena (K)	vein23/perimeter +	0.03 (0.002)	84.6%
	vein18/vein21 +	0.77 (0.06)	
	vein13/vein24	1.16 (0.04)	
B. nauclea (P)	vein23/perimeter +	0.03 (0.002)	84.6%
	vein18/vein21 +	0.63 (0.03)	
	vein13/vein24	1.21 (0.04)	

ตารางที่ 4.3 แสดงดัชนีที่ใช้ในการจำแนกตัวอย่างของ *B. dorsalis* ที่มีถิ่นอาศัยใน 6 ภาคของประเทศไทย
(1 = North; 2 = Central; 3 = Northeast; 4 = South; 5 = West; 6 = East)

Species	Index	value	% accuracy
<i>B. dorsalis</i> (2)	vein12/vein16	2.35 (0.09)	83.3%
<i>B. dorsalis</i> (2)	vein12/vein16	2.17 (0.11)	83.3%
<i>B. dorsalis</i> (2)	vein5/vein14	1.34 (0.12)	86%
	vein5/vein14	1.00 (0.04)	
<i>B. dorsalis</i> (5)	vein12/vein24+	1.34 (0.12)	86.0%
	vein12/vein24	3.05 (0.08)	
<i>B. dorsalis</i> (1)	vein4/vein6+	1.49 (0.10)	91.0%
	vein4/vein16	1.29 (0.09)	
	vein10/vein20	0.71 (0.04)	
	vein4/vein6+	1.62 (0.09)	91.0%
	vein4/vein16	1.35 (0.09)	
	vein10/vein20	0.76 (0.04)	

4.2 การวิเคราะห์ไมโททิกโครโมโซม

การเตรียมไมโททิกโครโมโซมจากเซลล์สมองของหนอนของแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* complex ใช้วิธีการเดียวกันกับที่ทำในกลุ่ม *B. tau* complex ที่กล่าวไว้ข้างบน การศึกษาก่อนหน้านี้ (Baimai et al. 1995) ได้ผลชัดเจนว่า ลักษณะรูปร่าง ขนาด และปริมาณของเฮเทโรโครมาทินที่ปรากฏในไมโททิกโครโมโซมสามารถใช้จำแนกชนิดของกลุ่มซับซ้อนนี้ได้ คือ *B. dorsalis* (สปีชีส์ A), *B. kanchanaburi* (สปีชีส์ B), *B. raiensis* (สปีชีส์ C) และ *B. verbascifoliae* (สปีชีส์ D) และยังคงพบชนิดใหม่ที่ใกล้ชิดกับชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกันนี้ คือ สปีชีส์ E ซึ่งเป็นชื่อที่ใช้เรียกอย่างไม่เป็นทางการเพราะยังไม่ได้ศึกษาทางด้านอนุกรมวิธานอย่างเป็นทางการ ดังนั้น กลุ่มนักวิจัยของเราจึงได้นำเอาวิธีการวิเคราะห์ไมโททิกโครโมโซมมาใช้ศึกษาอย่างต่อเนื่องโดยการสำรวจเก็บตัวอย่างหนอนแมลงวันผลไม้ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex จากประชากรธรรมชาติจากพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทยดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 ผลจากการศึกษาครั้งนี้พบความแตกต่างทางไมโททิกโครโมโซมอย่างชัดเจนและใช้เป็นหลักฐานยืนยันความแตกต่างระหว่างสปีชีส์ที่จำแนกไว้ในทางอนุกรมวิธานของแมลงวันผลไม้กลุ่มนี้จำนวน 6 ชนิด คือ *B. propinqua*, *B. irvingiae*, *B. carambolae*, *B. pyrifoliae*, *B. arecae* และ *B. melastomatos* และได้ค้นพบแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ในกลุ่มซับซ้อนนี้อีกจำนวนมากถึง 17 ชนิด โดยอาศัยข้อมูลการวิเคราะห์โครโมโซมควบคู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชนิดของพืชอาศัยดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.4 แมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* complex ชนิดที่พบใหม่นี้ใช้ชื่ออย่างไม่เป็นทางการ คือ สปีชีส์ I จนถึงสปีชีส์ Z (ยกเว้นสปีชีส์ P ที่ยังไม่มีข้อมูลทางไมโททิกโครโมโซมเพียงพอเพราะขาดหนอนตัวอย่างที่จะใช้ศึกษา)

ผลการวิเคราะห์ไมโททิกโครโมโซมโดยยึดหลักรูปร่าง ขนาด ปริมาณและการกระจายของเฮเทโรโครมาทินในโครโมโซมเพศ (X และ Y) และในบริเวณเซนโทรเมียร์ของออโทโซม 2-6 ทำให้เห็นความแตกต่างค่อนข้างชัดเจนพอสมควร (ภาพที่ 4.5, 4.6 และ 4.7) แต่อาจไม่เด่นชัดเหมือนอย่างในกรณีของกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *B. tau* complex ที่เสนอไว้ในบทที่ 3 ทั้งนี้เพราะว่ากลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex มีสปีชีส์จำนวนมากกว่ากลุ่มซับซ้อนใน *B. tau* complex หลายเท่า และแต่ละชนิดก็มีความใกล้ชิดกันมากพอสมควร จึงทำให้เกิดปัญหายากมากขึ้นสำหรับการจำแนกชนิดและต้องอาศัยข้อมูลหลาย ๆ ด้านเพื่อประกอบการพิจารณาตัดสินการจำแนกชนิด อย่างไรก็ตาม รูปร่างลักษณะของไมโททิกคาริโอไทป์ของชนิดต่าง ๆ ทั้งหมดในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex อาจแบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ได้ 6 กลุ่ม (ภาพที่ 4.8) ที่พอสรุปลักษณะสำคัญได้ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โครโมโซม X มีรูปร่างแบบ metacentric โดยแขนข้างหนึ่งเป็นยูโครมาทินและอาจมีเฮเทโรโครมาทินอยู่บ้างในบริเวณเซนโทรเมียร์ และแขนอีกข้างหนึ่งเป็นเฮเทโรโครมาทินทั้งหมด โครโมโซม Y มีขนาดเล็กจนคล้ายกับ dot-shape ในภาพทั่วไป ส่วนออโทโซมนั้นส่วนมากจะแสดงเฮเทโรโครมาทินที่บริเวณเซนโทรเมียร์น้อย จะมีบางชนิดเท่านั้นที่แสดงว่ามีเฮเทโรโครมาทินมากพอสมควรในบางโครโมโซม เช่น ออโทโซม 2 ใน *B. propinqua* และออโทโซม 4 ในสปีชีส์ O

กลุ่มที่ 2 มีลักษณะเด่น คือ ออโทโซมทุกคู่ (2-6) มีเฮเทโรโครมาทินบริเวณเซนโทรเมียร์มากจนย้อมสีเห็นได้ชัดเจน และโครโมโซม X มีขนาดใหญ่ที่ประกอบด้วยเฮเทโรโครมาทินมากกว่า

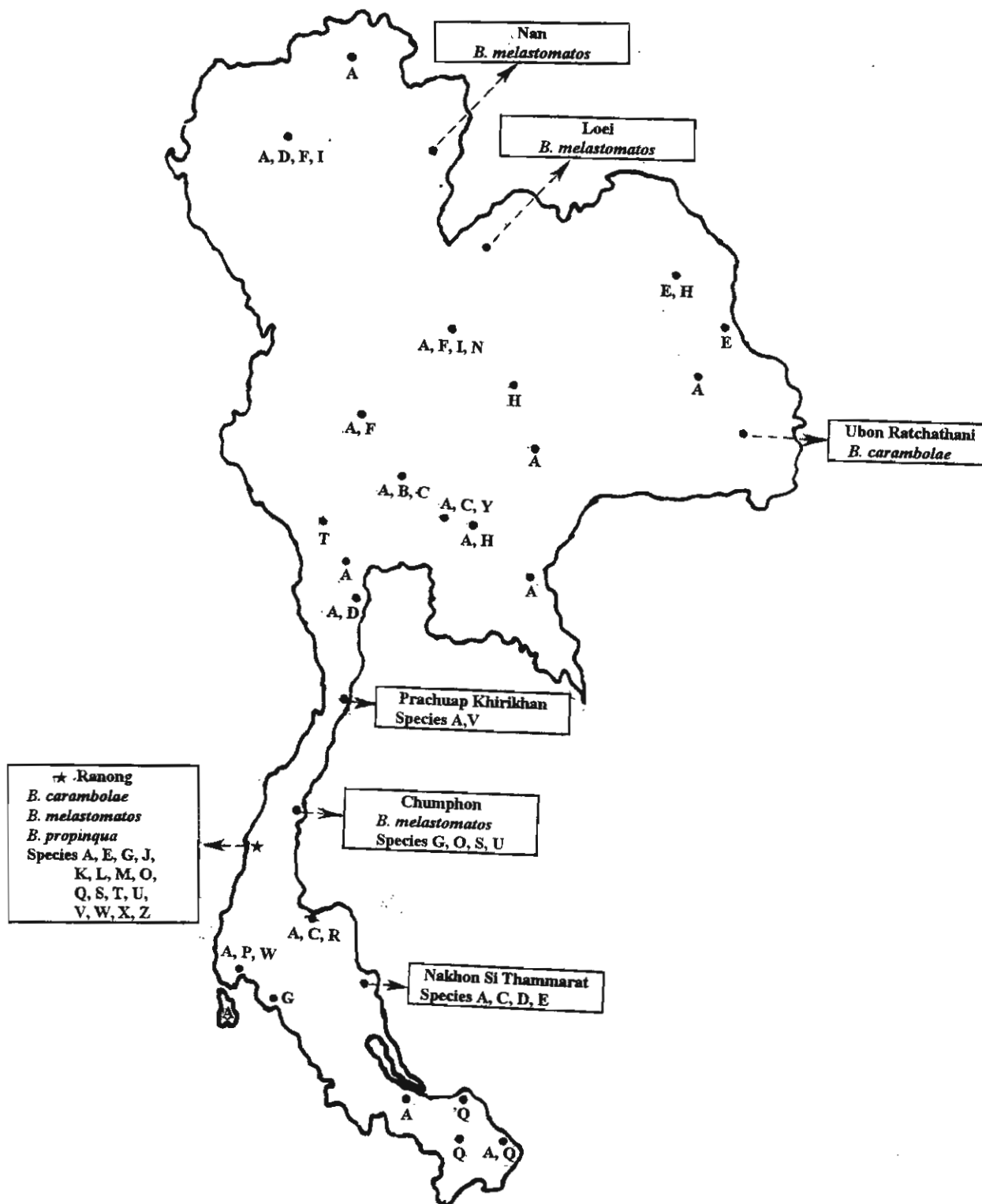
ยูโครมาทินหลายเท่า แต่อาจมีรูปร่างเป็นแบบ metacentric หรือ submetacentric ก็ได้ ส่วนโครโมโซม Y มีขนาดเล็กคล้ายกับกลุ่มที่ 1

กลุ่มที่ 3 ลักษณะสำคัญของกลุ่มนี้ คือ โครโมโซม X มีขนาดเล็กและมีรูปร่างแบบ telocentric หรือ subtelocentric โดยแขนยาวเป็นยูโครมาทินทั้งหมด และแขนสั้นเป็นเฮเทโรโครมาทิน ในขณะที่โครโมโซม Y มีขนาดเล็กจะมีกีสปีชีส์ J ที่มีโครโมโซม Y ใหญ่กว่าและแปลกกว่าสปีชีส์อื่นในกลุ่มนี้ ส่วนออโทโซมทุกคู่มีเฮเทโรโครมาทินในบริเวณเซนโทรเมียร์พอสมควร แต่ไม่มากเหมือนในกลุ่มที่ 2

กลุ่มที่ 4 แสดงลักษณะเด่นชัดในโครโมโซม X ที่มีขนาดใหญ่ถึงใหญ่มากและมีรูปร่างเป็น submetacentric โดยที่แขนยาวมียูโครมาทินอยู่ติดกับเซนโทรเมียร์และมีเฮเทโรโครมาทินยาวมากอยู่ไปทางด้านปลาย (distal end) ส่วนแขนสั้นเป็นเฮเทโรโครมาทินทั้งหมด โครโมโซม Y มีขนาดเล็กสำหรับออโทโซมของแต่ละสปีชีส์อาจมีเฮเทโรโครมาทินบริเวณเซนโทรเมียร์มากบ้างน้อยบ้าง และที่เห็นเด่นชัด คือ ในสปีชีส์ E และ M

กลุ่มที่ 5 มีลักษณะเด่นชัด คือ โครโมโซม X และ Y มีขนาดใหญ่มากและมีรูปร่างเป็นแบบ submetacentric โดยโครโมโซม X มียูโครมาทินอยู่ปลายสุดของแขนยาว ส่วนแขนสั้นเป็นเฮเทโรโครมาทิน โครโมโซม Y เป็นเฮเทโรโครมาทินทั้งหมด นอกจากนั้นออโทโซมทุกคู่มีเฮเทโรโครมาทินปริมาณมากในบริเวณรอบเซนโทรเมียร์ เท่าที่มีข้อมูลอยู่ในขณะนี้กลุ่มที่ 5 มีอยู่เพียงสปีชีส์เดียว คือ *B. arecae*

กลุ่มที่ 6 ลักษณะเด่นชัดของกลุ่มนี้ คือ โครโมโซม X และ Y มีรูปร่างเป็น metacentric แต่มีขนาดเล็กมากที่สุดเท่าที่ศึกษามาในกลุ่มสปีชีส์ซัปปอนนี้จนปรากฏเป็น dot ในไมโททิกคาริโอไทป์ โครโมโซม X มียูโครมาทินในแขนหนึ่งและเฮเทโรโครมาทินในอีกแขนหนึ่งนั้นมีปริมาณเท่า ๆ กัน ส่วนออโทโซมมีเฮเทโรโครมาทินมากในบริเวณเซนโทรเมียร์โดยเฉพาะคู่ที่ 5 และ 6 ลักษณะโครโมโซมแบบนี้พบใน *B. melastomatos* และที่น่าสนใจ คือ สปีชีส์นี้มีโครโมโซมบี (supernumerary B chromosome) ในประชากรธรรมชาติจากจังหวัดน่านและระนองด้วยซึ่งถือว่าเป็นลักษณะเฉพาะของประชากร



ภาพที่ 4.4 แผนที่ประเทศไทยแสดงการกระจายของแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *Bactrocera dorsalis* complex

ตารางที่ 4.4 ตัวอย่างหนอนแมลงวันผลไม้จำนวน 29 ชนิดในกลุ่ม *Bactrocera dorsalis* complex ที่เก็บจากผลไม้สุกของ
พรรณพืชต่าง ๆ ในประเทศไทย (1 = North; 2 = Central; 3 = Northeast; 4 = South; 5 = West;
6 = East)

Species	Locality	Host plant species (Family)	Number of larvae	Date of collection
<i>B. dorsalis</i> (A)	Chachoengsao ²	<i>Garcinia costata</i> (Clusiaceae)	6	May 93
	Chiang Mai ¹	<i>Litchi chinensis</i> (Sapindaceae)	5	May 93
		<i>Prunus persica</i> (Rosaceae)	6	May 93
	Chiang Rai ¹	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	8	Aug. 93
	Nakhon Nayok ²	<i>Ficus lepicarpa</i> (Moraceae)	5	May 93
		<i>Sandoricum koetjape</i> (Meliaceae)	7	May 93
		<i>Mangifera indica</i> (Anacardiaceae)	6	May 93
	Nakhon Ratchasima ³	<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae)	7	Sep. 93
	Narathiwat ⁴	<i>Averrhoa carambola</i> (Oxalidaceae)	5	Jun. 94
		<i>Terminalia catappa</i> (Combretaceae)	4	Jun. 94
		<i>Diospyros dasyphylla</i> (Ebenaceae)	4	Jun. 93
	Phangnga ⁴	<i>Polyalthia longifolia</i> (Annonaceae)	6	Aug. 94
		<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	8	Aug. 94
	Phetchaburi ²	<i>Musa acuminata</i> (Musaceae)	5	Jul. 94
	Phetchabun ²	<i>Zizyphus mauritiana</i> (Rhamnaceae)	5	Jan. 93
	Prachin Buri ⁵	<i>Irvingia malayana</i> (Irvingiaceae)	6	Jun. 93
	Prachuap Khirikhan ²	<i>Syzygium samarangense</i> (Myrtaceae)	5	Jan. 93
	Phuket ⁴	<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae)	5	Aug. 94
	Ranong ⁴	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	6	Jul. 94
	Ratchaburi ²	<i>Mangifera indica</i> (Anacardiaceae)	6	Feb. 93
	Srakaew ⁶	<i>Salacia verrucosa</i> (Celastraceae)	3	Jul. 93
	Saraburi ²	<i>Siphonodon celastrineus</i> (Celastraceae)	4	Jun. 93
	Songkhla ⁴	<i>Artabotrys siamensis</i> (Annonaceae)	5	Jun. 93
	Uthai Thani ²	<i>Areca catechu</i> (Palmae)	6	Apr. 93
	Yasothon ³	<i>Zizyphus mauritiana</i> (Rhamnaceae)	4	Nov. 92
<i>B. kanchanaburi</i> (B)	Chachoengsao ²	<i>Artabotrys siamensis</i> (Annonaceae)	4	Mar. 93
	Saraburi ²	<i>Artabotrys siamensis</i> (Annonaceae)	5	Jun. 93
<i>B. raiensis</i> (C)	Nakhon Nayok ²	<i>Sandoricum koetjape</i> (Meliaceae)	7	May 93
	Saraburi ²	<i>Artocarpus lakoocha</i> (Moraceae)	5	Jun. 93
	Nakhon Si Thammarat ⁴	<i>Artocarpus lakoocha</i> (Moraceae)	6	Mar. 94
	Surat Thani ⁴	<i>Artocarpus heterophyllus</i> (Moraceae)	6	Mar. 94
<i>B. verbascifoliae</i> (D)	Chiang Mai ¹	<i>Solanum erianthum</i> (Solanaceae)	10	Aug. 93
	Phetchaburi ²	<i>Solanum erianthum</i> (Solanaceae)	6	Sep. 93
	Nakhon Si Thammarat ⁴	<i>Solanum erianthum</i> (Solanaceae)	5	Apr. 94

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

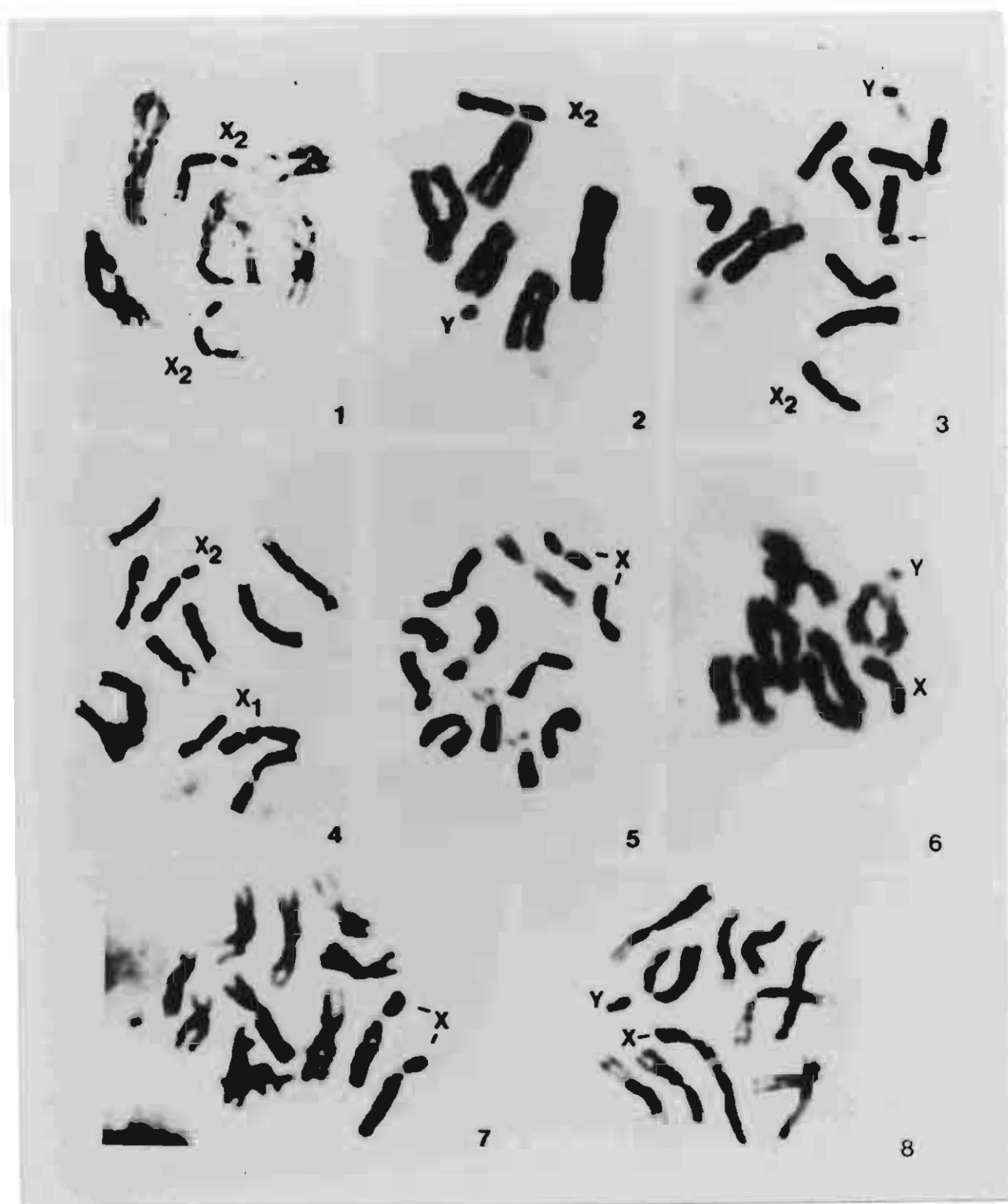
Species	Locality	Host plant species (Family)	Number of larvae	Date of collection
<i>B. anthocephala</i> (E)	Makda Han ³	<i>Anthocephalus chinensis</i> (Rubiaceae)	6	Dec. 93
	Sakon Nakhon ³	<i>Anthocephalus chinensis</i> (Rubiaceae)	6	Dec. 93
	Nakhon Si Thammarat ⁴	<i>Anthocephalus chinensis</i> (Rubiaceae)	4	Mar. 94
	Ranong ⁴	<i>Anthocephalus chinensis</i> (Rubiaceae)	5	Jan. 94
<i>B. pyriformis</i> (F)	Chiang Mai ¹	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	7	Nov. 95
	Chiang Mai ¹	<i>Prunus persica</i> (Rosaceae)	5	Apr. 96
	Phetchabun ²	<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	8	Dec. 93
	Phetchabun ²	<i>Mangifera indica</i> (Anacardiaceae)	10	Apr. 96
	Uthai Thani ²	<i>Cucurbita moschata</i> (Cucurbitaceae)	6	Nov. 95
<i>B. arecae</i> (G)	Ranong ⁴	<i>Areca catechu</i> (Palmae)	6	Jul. 95
	Chumphon ⁴	<i>Veitchia merrilli</i> (Palmae)	5	Jul. 95
	Krabi ⁴	<i>Pinanga limosa</i> (Palmae)	6	Jul. 95
<i>B. irvingiae</i> (H)	Sakon Nakhon ³	<i>Irvingia malayana</i> (Irvingiaceae)	6	Aug. 96
	Chaiyaphum ³	<i>Irvingia malayana</i> (Irvingiaceae)	7	Aug. 96
	Prachinburi ⁶	<i>Irvingia malayana</i> (Irvingiaceae)	5	Aug. 96
<i>B. propinqua</i>	Ranong ⁴	<i>Garcinia</i> sp. (Guttiferae)	7	May 96
		<i>Garcinia</i> sp. (Guttiferae)	11	Jun. 96
		<i>Garcinia</i> sp. (Guttiferae)	8	Apr. 96
<i>B. carambolae</i>	Ranong ⁴	<i>Anacardium occidentale</i> (Anacardiaceae)	1	May 96
		<i>Capparis micracantha</i> (Capparaceae)	15	Feb. 97
		<i>Chrysophyllum cainito</i> (Sapotaceae)	1	Feb. 97
		<i>Diospyros wallichii</i> (Ebenaceae)	1	Mar. 96
		<i>Elaeocarpus rugosus</i> (Elaeocarpaceae)	1	Jan. 97
		<i>Elaeocarpus</i> sp. (Elaeocarpaceae)	1	Jan. 97
		<i>Garcinia hanburyi</i> (Guttiferae)	1	Jun. 96
		<i>Garcinia</i> sp. (Guttiferae)	2	Jun. 96
		<i>Gnetum montanum</i> (Gnetaceae)	10	Apr. 96
		?	1	May 96
		<i>Manilkara</i> sp. (Sapotaceae)	2	Apr. 96
		<i>Melientha suavis</i> (Opiliaceae)	2	Jun. 96
		<i>Payena</i> sp. (Sapotaceae)	3	Apr. 96
		<i>Platsea latifolia</i> (Icacinaeae)	1	May 96
		<i>Polyalthia</i> sp. (Annonaceae)	2	Jan. 96
		?	8	Feb. 96
		<i>Psidium guajava</i> (Myrtaceae)	1	Jul. 96
		<i>Syzygium claviflora</i> (Myrtaceae)	1	Mar. 96
		<i>Syzygium</i> sp. (Myrtaceae)	2	Mar. 96

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

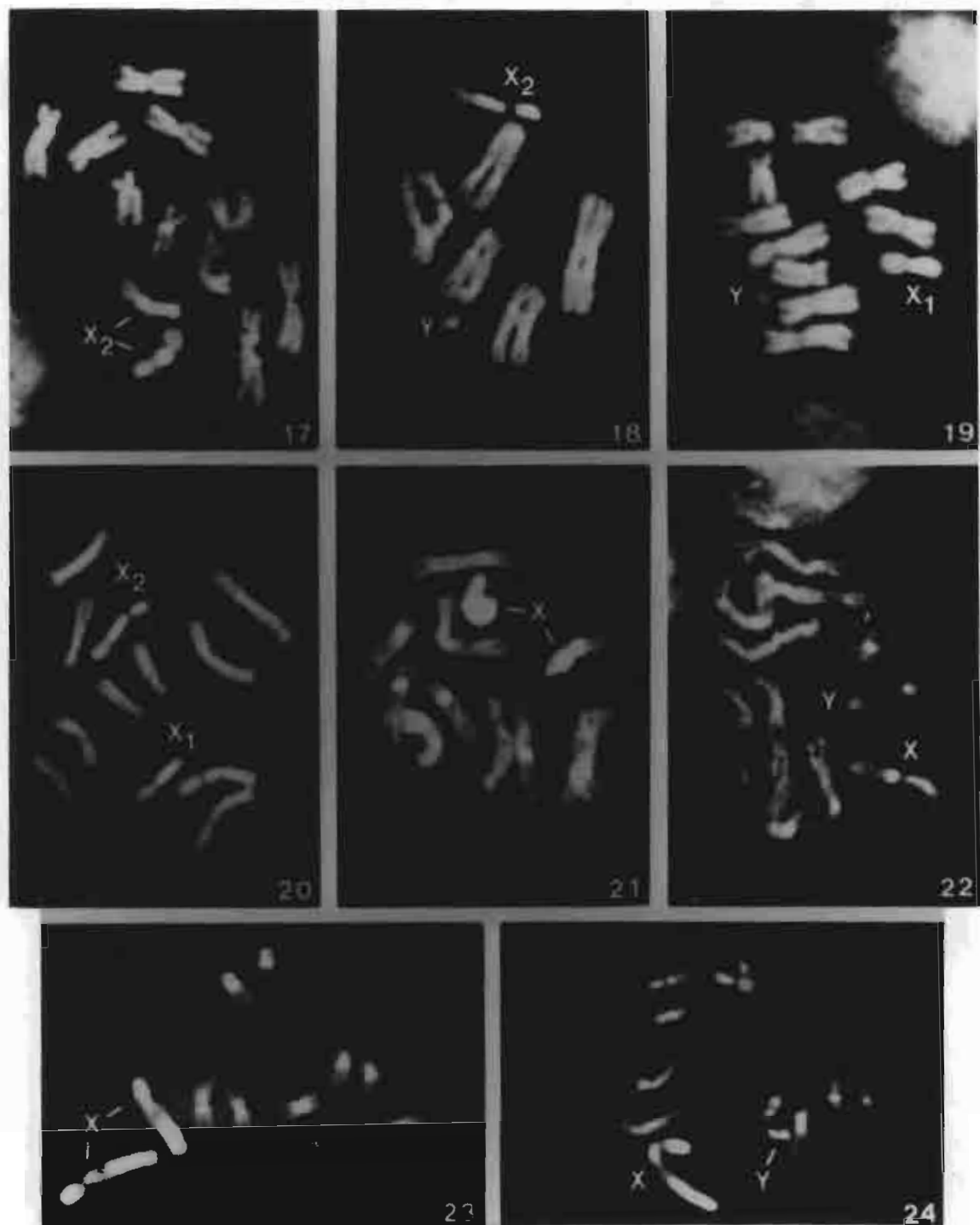
Species	Locality	Host plant species (Family)	Number of larvae	Date of collection
	Ubon Ratchathani ³	<i>Zizyphus</i> sp. (Rhamnaceae)	1	May 96
		<i>Elaeocarpus</i> sp. (Elaeocarpaceae)	2	Oct. 96
		<i>Gnetum macrostachyum</i> (Gnetaceae)	2	Mar. 97
<i>B. melastomatos</i>	Chumphon ⁴	<i>Melastoma malabathricum</i> (Melastomataceae)	4	May 96
	Ranong ⁴	<i>Melastoma malabathricum</i> (Melastomataceae)	9	Jan. 96
	Nan ¹	<i>Melastoma malabathricum</i> (Melastomataceae)	7	Feb. 96
	Loei ³	<i>Melastoma</i> sp. (Melastomataceae)	5	Dec. 96
<i>B. heliciopsis</i> (I)	Chiang Mai ¹	<i>Heliciopsis terminalis</i> (Proteaceae)	4	Mar. 95
	Phetchabun ²	<i>Heliciopsis terminalis</i> (Proteaceae)	2	Dec. 95
<i>B. operculata</i> (J)	Ranong ⁴	<i>Cleistocalyx operculatus</i> (Myrtaceae)	2	Jun. 96
	Ranong ⁴	<i>Syzygium claviflora</i> (Myrtaceae)	2	Mar. 96
<i>B. payena</i> (K)	Ranong ⁴	<i>Payena</i> sp. (Sapotaceae)	9	Apr. 96
<i>B. tonrianensis</i> (L)	Ranong ⁴	<i>Platea latifolia</i> (Icacinaceae)	6	May 96
		<i>Syzygium siamensis</i> (Myrtaceae)	2	May 96
		<i>Syzygium</i> sp. (Myrtaceae)	8	May 96
<i>B. phanensis</i> (M)	Ranong ⁴	<i>Fibraurea tinctoria</i> (Menispermaceae)	3	Apr. 96
<i>B. thaiensis</i> (N)	Phetchabun ²	<i>Dracontomelon dao</i> (Anacardiaceae)	7	Sep. 97
<i>B. near papayae</i> (O)	Chumphon ⁴	<i>Chrysophyllum cainito</i> (Sapotaceae)	4	Feb. 97
	Ranong ⁴	<i>Artocarpus rigidus</i> (Moraceae)	2	May 96
		<i>Bouea oppositifolia</i> (Anacardiaceae)	3	May 96
		<i>Chrysophyllum cainito</i> (Sapotaceae)	5	Feb. 97
		<i>Garcinia cornea</i> (Guttiferae)	3	May 96
		<i>Gnetum</i> sp. (Gnetaceae)	3	Apr. 96
		<i>Nephelium mutabile</i> (Sapindaceae)	5	Jun. 96
		<i>Sandoricum</i> sp. (Meliaceae)	1	Jun. 96
		<i>Willughbeia firma</i> (Apocynaceae)	11	May 96
				Jun. 96
<i>B. nauclea</i> (P)	Phangnga ⁴	<i>Nauclea brunnea</i> (Rubiaceae)	6	Apr. 96
<i>B. bifidaculeus</i> (Q)	Narathiwat ⁴	<i>Azadirachta excelsa</i> (Meliaceae)	4	Jun. 94
	Pattani ⁴	<i>Azadirachta excelsa</i> (Meliaceae)	3	May 94
	Ranong ⁴	<i>Azadirachta excelsa</i> (Meliaceae)	10	May 97
	Yala ⁴	<i>Azadirachta excelsa</i> (Meliaceae)	2	May 94

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

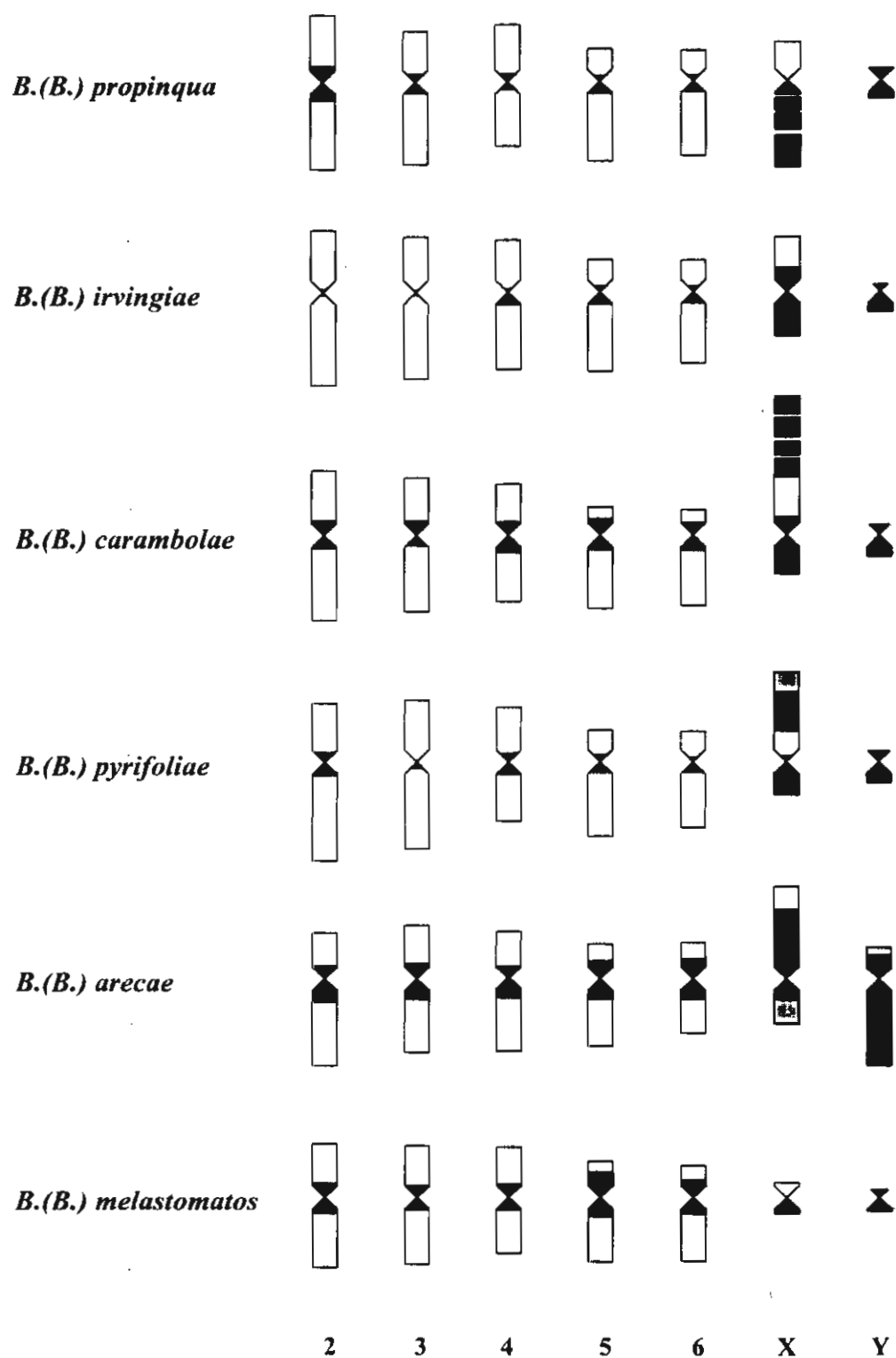
Species	Locality	Host plant species (Family)	Number of larvae	Date of collection
B. caramboloides (R)	Surat Thani ⁴	<i>Annona siamensis</i> (Annonaceae)	9	Aug. 98
B. chumphonensis (S)	Chumphon ⁴	<i>Aglaia domestica</i> (Meliaceae)	3	Jan. 94
	Ranong ⁴	<i>Aglaia domestica</i> (Meliaceae)	2	Aug. 94
		<i>Aglaia andamanica</i> (Meliaceae)	3	Apr. 96
		<i>Aglaia</i> sp. (Meliaceae)	3	Apr. 96
		<i>Aglaia</i> sp. (Meliaceae)	12	Jun. 98
B. drypetes (T)	Kanchanaburi ⁵	<i>Drypetes roxburghii</i> (Euphorbiaceae)	5	Feb. 97
		<i>Polyalthia longifolia</i> (Annonaceae)	12	Nov. 97
	Ranong ⁴	<i>Polyalthia longifolia</i> (Annonaceae)	4	Jul. 94
B. hinphanensis (U)	Chumphon ⁴	?	3	Aug. 95
	Ranong ⁴	?	12	Jul. 98
B. hinphingensis (V)	Prachuap Khirikhan ⁵	<i>Polyalthia</i> sp. (Annonaceae)	5	May 97
	Ranong ⁴	<i>Polyalthia</i> sp. (Annonaceae)	6	Jan. 96
		?	6	Jul. 97
		? (Annonaceae)	6	Jun. 98
		? (Annonaceae)	6	Jul. 98
		? (Annonaceae)	4	Aug. 98
B. salaciae (W)	Phangnga ⁴	<i>Salacia chinensis</i> (Celastraceae)	11	May 98
	Ranong ⁴	<i>Salacia chinensis</i> (Celastraceae)	3	Jun. 98
B. tonbaoensis (X)	Ranong ⁴	? (Strychnaceae)	10	Jul. 98
B. walsurae (Y)	Nakhon Nayok ²	<i>Walsura</i> sp. (Meliaceae)	5	May 95
		<i>Walsura</i> sp. (Meliaceae)	13	May 98
B. RN(M/2)669 (Z)	Ranong ⁴	?	3	Jun. 98



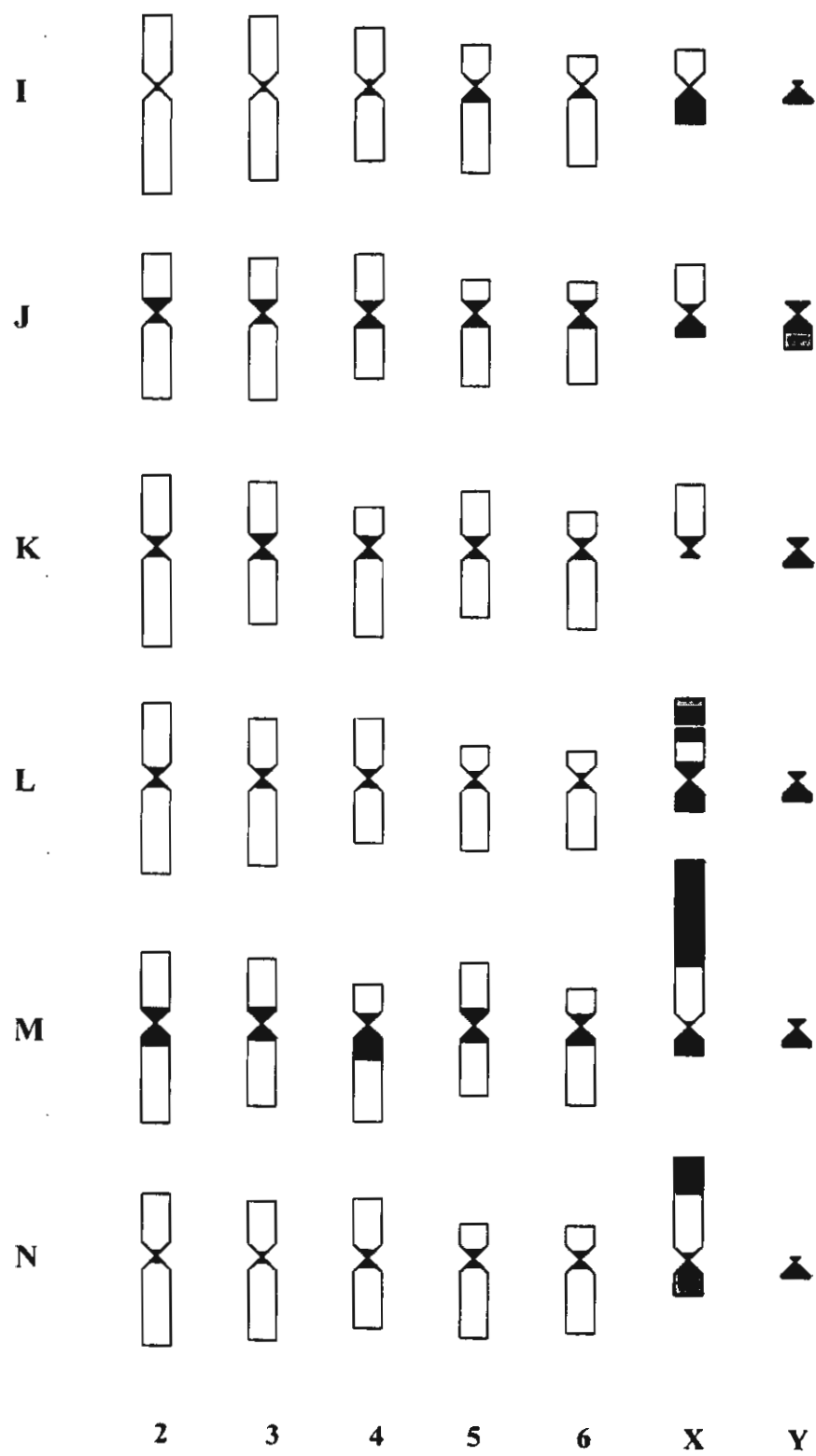
ภาพที่ 4.5 ภาพถ่ายไมโททิกคาริโอไทป์ที่ย้อมด้วยสี Giemsa ของแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *Bactrocera dorsalis* complex



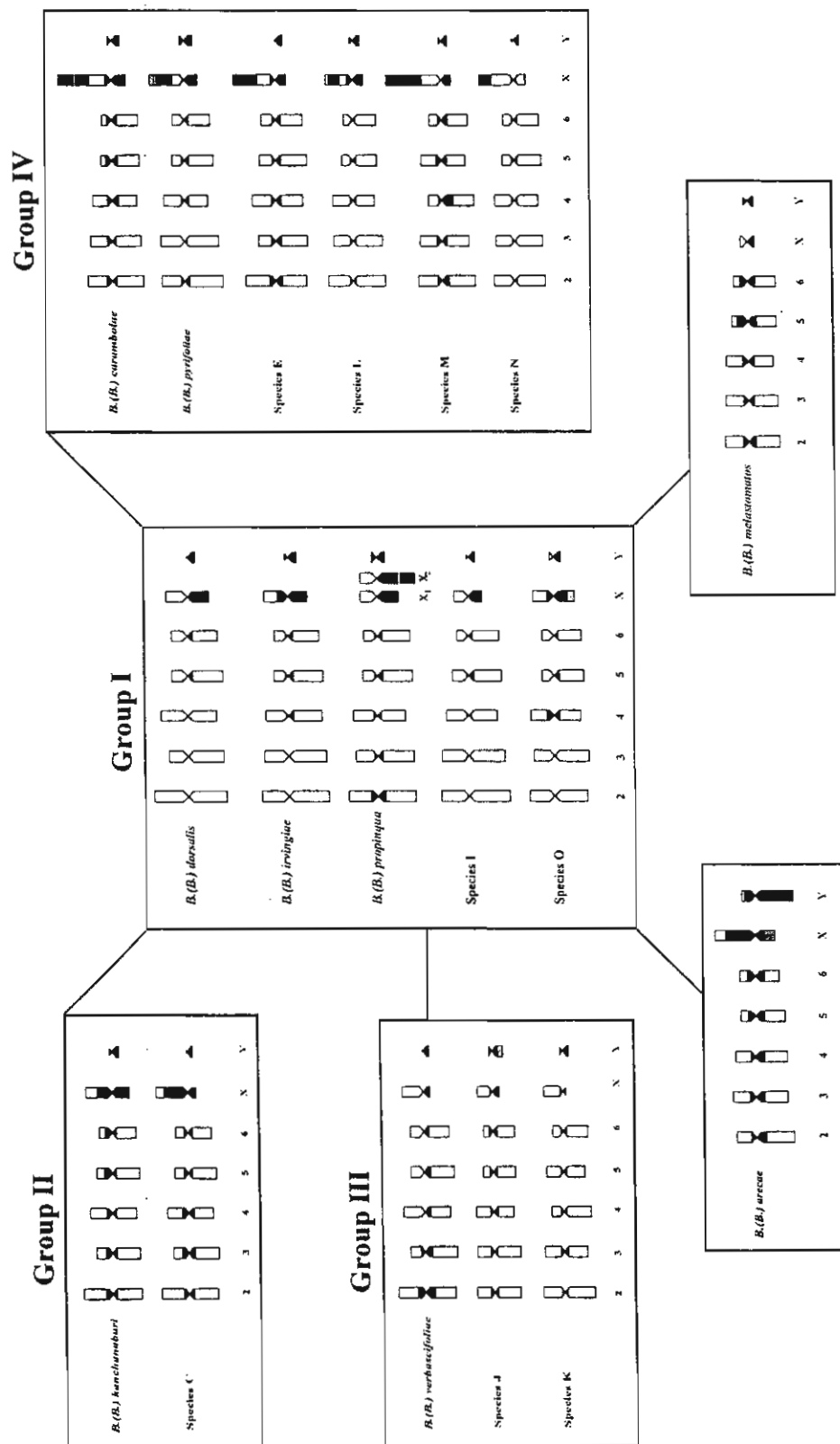
ภาพที่ 4.6 ภาพถ่ายไมโททิกคาริโอไทป์ที่ย้อมด้วยสี Hoechst 33258 ของแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ
ในกลุ่มซับซ้อน *Bactrocera dorsalis* complex



ภาพที่ 4.7 แผนภาพ idiogram ของคาริโอไทป์ของแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ
ในกลุ่มซับซ้อน *Bactrocera dorsalis* complex



ภาพที่ 4.7 (ต่อ)



ภาพที่ 4.8 แผนภาพไมโททิกโครโมโซมของแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *Bactrocera dorsalis* complex ที่จัดจำแนกได้เป็น 6 กลุ่ม (I-VI) ตามเกณฑ์ปริมาณและการกระจายของเฮเทอโรโครมาทินในโครโมโซมเพศและในออโทโซม

4.3 อิเล็กโทรฟอริซิส

ในโครงการวิจัยก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาความแตกต่างของรูปแบบแถบสีของเอนไซม์ (electromorph) ระหว่างสปีชีส์ต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex รวมทั้งความแปรผันทางพันธุกรรมในประชากรต่าง ๆ ของ *B. dorsalis* s.s โดยใช้วิธีการอิเล็กโทรฟอริซิสจนได้ผลดี (Satayalai 1995) การศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งเป็นกลุ่ม *B. dorsalis* complex และแมลงวันผลไม้อื่น ๆ พบว่าสามารถใช้เอนไซม์บางโลกส์เป็น genetic marker เพื่อจำแนกสปีชีส์ได้ โดยใช้หลักการเคลื่อนที่ในระยะทางที่แตกต่างกันบนเจล ตัวเลขที่กำกับแต่ละเอนไซม์โลกส์ของแมลงวันผลไม้แต่ละสปีชีส์นั้นเป็นตัวเลขที่แตกต่างจาก *B. dorsalis* ที่ใช้เป็นสปีชีส์มาตรฐานสำหรับการเปรียบเทียบ เมื่อกำหนดให้ระยะทางของอัลลีลที่พบบ่อยที่สุดของ *B. dorsalis* เท่ากับ 100 (ตารางที่ 4.5) แต่เนื่องจากข้อมูลการวิเคราะห์ไมโททิกโครโมโซมควบคุมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาตามที่กล่าวไว้ข้างบนบ่งชี้ว่ากลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex นี้มีจำนวนชนิดมากมายหลากหลายรูปแบบประกอบกับตัวอย่างแมลงวันผลไม้บางชนิดที่เก็บได้จากประชากรธรรมชาติมีไม่มากเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์โดยเทคนิคอิเล็กโทรฟอริซิส ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่สำคัญ ในขณะเดียวกันเราได้ใช้เวลาและงบประมาณส่วนใหญ่ในการวิเคราะห์เจาะลึกในกลุ่มซับซ้อน *B. tau* complex ที่มีความชัดเจนในเชิงของสายวิวัฒนาการมากกว่าดังบรรยายไว้ในบทที่ 3 ดังนั้น โครงการนี้จึงมีข้อมูลด้านอิเล็กโทรฟอริซิสของบางสปีชีส์ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex ที่เพิ่มเติมมาจากที่ Satayalai (1995) ได้ทำมาแล้ว และมีข้อมูลอิเล็กโทรฟอริซิสของสปีชีส์อื่น ๆ บ้างดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.5 ถ้ามีการสนับสนุนการวิจัยด้านความหลากหลายของสปีชีส์และความหลากหลายทางพันธุกรรมในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex ต่อไปคงจะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานมากขึ้นและอาจค้นพบสิ่งใหม่ ๆ ที่อาจนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมากมายทั้งในทางวิชาการและการประยุกต์ใช้ทางด้านเกษตรกรรม

ตารางที่ 4.5 แสดงเอนไซม์โลกัสที่ใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมในการจำแนกชนิดของแมลงวันผลไม้ในกลุ่ม *B. dorsalis* complex และสปีชีส์อื่น ๆ

สปีชีส์	เอนไซม์โลกัสที่มี common alleles แตกต่างจาก <i>B. dorsalis</i> ที่ใช้เป็นมาตรฐาน
<i>B. dorsalis</i> complex	
<i>B. arecae</i> (G)*	Adh-1 ¹⁴⁰ , Adh-2 ¹³⁰ , Gpi ¹⁰⁴ , Me-1 ⁸⁸ , Me-2 ¹⁰⁶ , Idh-1 ¹⁰⁵ , Idh-2 ¹⁰⁵ , Ldh ¹⁰⁵ , Gcd-1 ¹¹⁰ , Gcd-2 ¹⁰⁵ , Gcd-3 ¹⁰⁶ , Mdh-2 ¹⁰⁸ , Pgd-1 ¹¹⁰ , Pgd-2 ¹¹⁰ , Pgd-3 ¹⁰⁵ , G6pdh ¹¹⁰ , Pgm-2 ¹⁰⁵ , Mpi ¹⁰⁵
<i>B. bifidaculeus</i> (Q)*	Adh-1 ⁶⁵ , Adh-2 ⁷⁵ , Gcd-1 ¹⁰⁵
<i>B. carambolae</i>	Gpi ¹⁰⁴ , Idh ¹⁰³
<i>B. raiensis</i> (C)*	Gpi ⁹³ , Idh ⁹⁰
<i>B. nauclea</i> (P)*	Idh-1 ¹⁰⁵ , Idh-2 ¹⁰⁵ , Gcd-2 ¹⁰⁵ , Mdh-1 ¹²⁵
<i>B. operculata</i> (J)*	Adh-1 ¹⁴⁰ , Adh-2 ¹³⁴ , G6pdh ¹¹⁴
<i>B. payena</i> (K)*	Aat ¹¹¹ , G6pdh ⁸⁶ , Gpi ⁷⁹ , Idh ⁷⁶
<i>B. propinqua</i> *	Idh-1 ^{70,65} , Gcd-1 ⁶⁵ , Gcd-2 ⁷⁰ , Gcd-3 ⁹⁵ , G3pdh ⁷⁵
<i>B. pyrifoliae</i> (F)*	Adh-3 ¹⁶³ , Gpi ¹⁰³ , Me-2 ¹⁰³ , Idh-1 ¹⁰⁷ , Idh-2 ¹⁰³ , Gcd-1 ¹⁰⁴ , Gcd-2 ¹⁰⁴ , G6pdh ⁹⁴ , Pgm-1 ⁸² , Pgm-2 ⁹⁴ , Mpi ¹⁰⁹

ตารางที่ 4.5 ต่อ

สปีชีส์	เอนไซม์โลกัสที่มี common alleles แตกต่างจาก <i>B. dorsalis</i> ที่ใช้เป็นมาตรฐาน
สปีชีส์อื่น ๆ	
<i>B. albistrigata</i> *	Adh-3 ¹⁵⁰ , Gpi ¹¹⁰ , Me-1 ¹⁰⁷ , Idh-1 ¹⁰⁴ , Idh-2 ¹⁰³ , Ldh ⁹⁰ , Gcd-1 ¹⁰⁸ , Gcd-2 ¹⁰⁷ , Mdh-2 ⁹⁰ , Pgd-2 ¹⁰⁴ , Pgd-3 ¹⁰³ , G6pdh ¹¹⁰ , Pgm1 ⁹⁶ , Pgm-2 ⁹³ , Mpi ¹⁰³
<i>B. ascita</i> *	Adh-3 ⁷⁸ , Me-1 ¹¹⁰ , Me-2 ¹⁰⁹ , Idh-1 ¹²⁴ , Idh-2 ¹²⁸ , Ldh ⁹⁷ , Gcd-2 ¹³⁰ , Mdh-1 ¹²⁸ , G3pdh ⁸³ , Pgm-1 ⁸⁰ , Pgm-2 ¹¹⁰
<i>B. aptata</i> *	Aat ⁸⁹ , Adh-3 ²⁰⁰ , Ldh ⁸⁹ , Mdh-2 ⁹² , Pgd-1 ⁹¹ , G6pdh ¹⁰⁷ , Pgm-1 ¹¹⁰
<i>B. caudata</i> *	Gpi ¹³⁰ , Me-1 ¹²⁵ , Me-2 ¹³⁰ , Idh-1 ¹⁴⁰ , Idh-2 ¹³⁰ , Ldh ¹¹⁰ , Gcd-1 ¹²⁵ , Gcd-2 ¹¹⁴ , Mdh-1 ¹⁰⁷ , Mdh-2 ¹⁰⁸ , G3pdh ⁸³ , Pgd-1 ¹³⁰ , Pgd-2 ¹³⁰ , Pgd-3 ¹²⁰ , G6pdh ¹³⁵ , Pgm-1 ¹⁴⁰
<i>B. cilifer</i> *	Gpi ¹⁰⁷ , Me-1 ¹⁰³ , Idh-1 ¹¹⁶ , Idh-2 ¹¹⁰ , Ldh ⁹⁰ , Gcd-1 ¹¹⁵ , Gcd-2 ¹¹⁰ , Mdh-1 ¹²⁰ , G3pdh ¹⁰³ , Pgm-2 ¹⁰⁶ , Mpi ¹⁰⁶
<i>B. correcta</i> *	Idh-1 ¹¹⁵ , Idh-2 ¹¹⁰ , Ldh ¹⁰⁵ , Gcd-1 ¹⁰⁸ , Gcd-2 ⁹⁶ , Gcd-3 ¹²⁵ , Pgd-1 ⁸⁰ , Pgd-2 ¹⁰⁸ , Pgd-3 ¹¹⁰ , G9pdh ⁹⁰
<i>B. cucurbitae</i>	Aat ⁸² , Adh-1 ⁶⁶ , Adh-2 ⁷¹ , Adh-3 ⁵⁰ , G3pdh ⁸⁷ , Gpi ⁹⁵ , Idh ⁹⁶ , Mdh ¹²⁹ , Me ⁹⁷ , Pgd-2 ⁹⁷ , Sod ²⁹⁴
<i>B. diaphoropsis</i> *	Aat ⁸³ , Gpi ⁹² , Me-1 ⁹² , Me-2 ⁸⁷ , Idh-1 ⁸⁶ , Idh-2 ⁹¹ , Ldh ⁹⁰ , Gcd-1 ⁹⁰ , Gcd-2 ⁸⁹ , Mdh-2 ⁹³ , G3pdh ⁸⁵ , G6pdh ¹¹⁰ , Pgm-2 ¹⁰⁹ , Mpi ⁹⁷
<i>B. diversa</i>	Adh-1 ¹²⁹ , Adh-2 ¹²² , Adh-3 ⁴⁰ , G3pdh ⁸⁷ , Gpi ¹²⁹ , Idh ¹²⁷ , Mdh ¹⁰⁷
<i>B. infesta</i> *	Aat ⁸³ , Adh-1 ¹⁰³ , Gpi ¹⁴⁶ , Me-1 ¹¹⁵ , Me-2 ¹¹⁰ , Idh-1 ¹²⁸ , Idh-2 ¹²⁴ , Gcd-1 ¹³⁰ , Gcd-2 ¹³⁰ , Mdh-1 ¹⁴⁰ , G3pdh ⁸⁵ , Pgd-3 ¹²⁰ , G6pdh ¹¹⁷ , Pgm-1 ¹¹⁴ , Pgm-2 ¹²⁰ , Mpi ¹²²

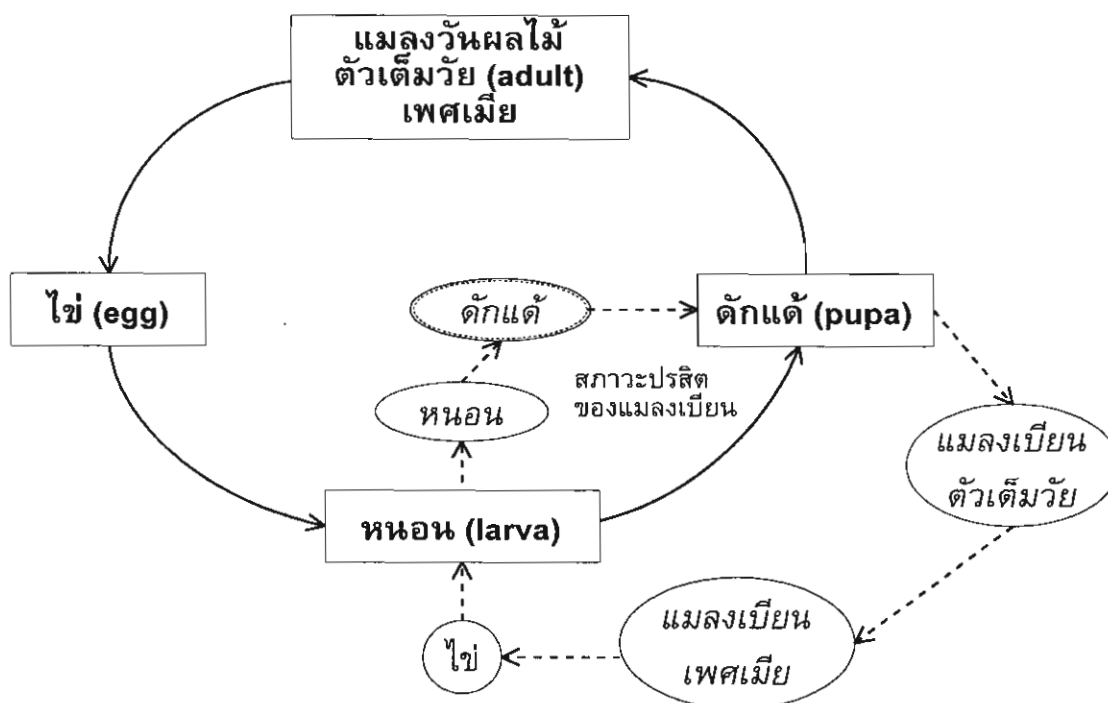
ตารางที่ 4.5 ต่อ

สปีชีส์	เอนไซม์โลกัสที่มี common alleles แตกต่างจาก <i>B. dorsalis</i> ที่ใช้เป็นมาตรฐาน
<i>B. latifrons</i>	Idh ¹⁰³
<i>B. limbifera</i> *	Gpi ¹⁰⁸ , Me-1 ⁹³ , Idh-1 ¹⁰³ , Idh-2 ¹⁰³ , Ldh ⁹⁰ , Gcd-1 ¹¹⁰ , Gcd-2 ¹¹⁰ , G6pdh ⁹⁴ , Pgm-2 ⁹⁰ , Mpi ¹¹⁶
<i>B. maculata</i> *	Me-1 ¹¹⁰ , Me-2 ¹¹⁰ , Idh-1 ¹²⁵ , Idh-2 ¹³⁰ , Ldh ¹¹⁰ , Gcd-2 ¹³⁰ , Mdh-1 ¹²⁸ , Mdh-2 ¹¹⁴ , G3pdh ⁸³
<i>B. maculifacies</i> *	Aat ⁸⁸ , Adh-1 ¹⁰³ , Adh-2 ¹⁰³ , Adh-3 ¹²⁰ , Gpi ¹⁰⁸ , Me-1 ⁸⁸ , Me-2 ⁹⁶ , Idh-1 ¹⁰⁶ , Idh-2 ¹⁰⁸ , Ldh ¹⁰⁶ , Gcd-2 ¹⁰³ , Mdh-1 ⁹⁶ , Mdh-2 ¹⁰⁵ , G3pdh ⁸⁸ , Pgd-3 ¹¹⁴ , G6pdh ¹⁰³ , Pgm-2 ⁹⁵ , Mpi ¹¹⁷
<i>B. modica</i> *	Gpi ¹⁰⁷ , Me-2 ¹²⁰ , Idh-1 ¹²⁰ , Idh-2 ¹²⁰ , Ldh ¹⁰⁸ , Pgd-3 ¹²⁵ , G6pdh ⁹⁰
<i>B. nayokensis</i> *	Aat ¹¹⁴ , Adh-3 ¹⁷⁰ , Gpi ¹⁰³ , Idh-1 ¹⁰³ , Idh-2 ¹⁰³ , Mpi ¹⁰³
<i>B. tonsiaensis</i>	Aat ^{96,111} , Idh ¹⁰³ , Mdh ¹⁰⁷
<i>B. tuberculata</i> *	Adh-1 ⁵⁰ , Adh-2 ⁵⁰ , Adh-3 ¹⁵⁰ , Gpi ¹⁰⁵ , Me-1 ¹⁰⁷ , Me-2 ¹⁰³ , Idh-1 ¹⁰⁵ , Idh-2 ¹⁰⁴ , Gcd-2 ¹⁰⁴ , Gcd-3 ¹⁰³ , Mdh ¹¹¹ , Pgd-3 ¹⁰² , G6pdh ¹⁰⁵ , Pgm-1 ¹⁰⁴ , Pgm-2 ¹⁰⁷ , Mpi ¹⁰³
<i>B. umbrosa</i> *	Adh-1 ¹⁰² , Adh-2 ¹²⁵ , Adh-3 ¹⁵⁰ , Gpi ¹⁰⁶ , Me-1 ¹⁰³ , Idh-1 ¹⁰³ , Idh-2 ¹⁰³ , Gcd-3 ¹⁰⁷ , Mdh-1 ⁷⁵ , Pgd-2 ¹⁰⁴ , Pgd-3 ¹⁰³ , G6pdh ⁹⁶ , Pgm-1 ¹¹⁰ , Pgm-2 ¹⁰³ , Mpi ¹⁰⁶

* Satayalai (1995)

แมลงเบียน

การวิวัฒนาการร่วมกันจนเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างแตนเบียนที่วางไข่และเจริญเติบโตในตัวหนอนของแมลงชนิดอื่นจนทำให้หนอนหรือตัวดักแด้ของแมลงเจ้าบ้านตาย เรียกแตนเบียนพวกนี้ว่า พาราซิโตยด์ (parasitoid) (Godfray 1994) นักวิจัยพบว่าไวรัสชนิดหนึ่งที่อาศัยอยู่ในระบบทางไข่ของแตนเบียนและช่วยทำให้ไข่ของแตนเบียนเข้าไปเจริญได้สำเร็จภายในตัวหนอนของแมลงเจ้าบ้านได้ ซึ่งสะท้อนให้เห็นถึงการปรับตัวทางพันธุกรรมร่วมกันระหว่างไวรัส แตนเบียน และแมลงเจ้าบ้าน จนทำให้สิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันวิวัฒนาการร่วมกันมาอย่างได้ดูลยภาพ ในประเทศไทยมีความหลากหลายทางชีวภาพของแตนเบียนหรือแมลงเบียนที่มีวงชีวิตส่วนหนึ่งอยู่ร่วมกับแมลงเจ้าบ้าน แต่ยังขาดการวิจัยเกี่ยวกับกลไกการอยู่ร่วมกันระหว่างแมลงเบียนกับแมลงเจ้าบ้าน เช่น แมลงวันผลไม้กับแมลงเบียนชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* s.l. วงชีวิตของแมลงเบียนชนิดนี้เริ่มต้นโดยการวางไข่ในตัวหนอนระยะท้าย ๆ ของแมลงวันผลไม้ ไข่ของแมลงเบียนจะเจริญเติบโตภายในหนอนแมลงวันผลไม้ที่ใกล้จะเป็นดักแด้จนกลายเป็นหนอนและดักแด้และฟักออกมาเป็นแมลงเบียนตัวเต็มวัย (ภาพที่ 5.1) ปล่อยให้หนอนระยะท้ายหรือระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้ที่มันอาศัยเจริญเติบโตอยู่ภายในต้องถูกทำลายและตายไป การศึกษาวิจัยพื้นฐานด้านชีววิทยาเชิงประชากรของพาราซิโตยด์พวกแมลงเบียนที่พบในแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในประเทศไทยจึงมีความสำคัญเพื่อให้เกิดความรู้และความเข้าใจในกระบวนการวิวัฒนาการร่วมกัน (coevolution) ของสิ่งมีชีวิตเหล่านี้ เพื่อนำไปสู่การหามาตรการควบคุมแมลงวันผลไม้ชนิดที่เกี่ยวข้องกันโดยชีววิธี (biological control) ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีประสิทธิผล



ภาพที่ 5.1 แสดงวงชีวิตของแมลงเบียน (กรอบกลม—เส้นประ) ที่เจริญเติบโตภายในตัวหนอนระยะท้าย และระยะดักแด้ของแมลงวันผลไม้ (กรอบเหลี่ยม—เส้นทึบ)

การจำแนกชนิดของแมลงเบียนเป็นความรู้ขั้นพื้นฐานที่มีความสำคัญในการค้นหาแมลงเบียนอย่างมีประสิทธิภาพเพื่อใช้ควบคุมและกำจัดแมลงวันผลไม้ การจำแนกชนิดของแมลงเบียนโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยายังคงเป็นปัญหาใหญ่สำหรับผู้ที่ยังไม่ชำนาญ ดังนั้น การพัฒนาเทคนิคทางอิเล็กโทรฟอรีซิส (electrophoresis) และ เซลล์อนุกรมวิธาน (cytotaxonomy) จึงมีบทบาทสำคัญเพื่อช่วยลดปัญหาทางด้านอนุกรมวิธานดังกล่าว

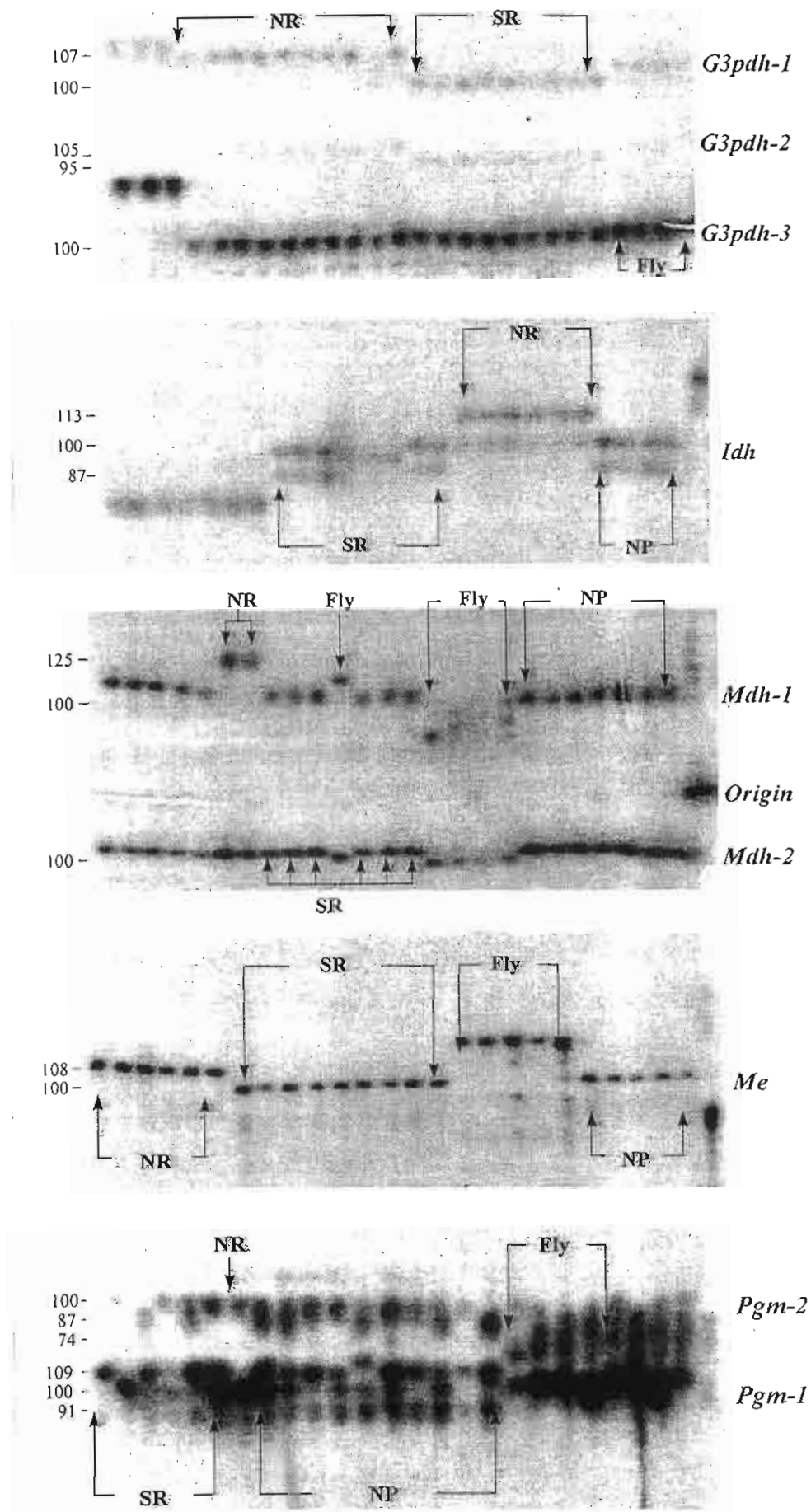
5.1 อิเล็กโทรฟอรีซิส

5.1.1 แมลงเบียนชนิด *D. longicaudata* การศึกษาแมลงเบียนชนิดนี้โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรฟอรีซิสที่พัฒนาจากเทคนิคของ Harris and Hopkinson (1976) ร่วมกับ Steiner and Joslyn (1979) พบว่ามีเอนไซม์ 8 ระบบดังนี้: G3PDH, GPI, IDH, MDH, ME, MPI, PGD และ PGM สามารถใช้ศึกษาจัดจำแนกแมลงเบียนในระดับชนิดหรือสปีชีส์ได้ และบอกความผันแปรทางพันธุกรรมภายในสปีชีส์ของแมลงเบียนชนิด *D. longicaudata* ได้ดี ในการศึกษาประชากรของ *D. longicaudata* จาก 6 จังหวัด คือ ออยุธยา กาญจนบุรี นครปฐม นครราชสีมา ประจวบคีรีขันธ์ และสระบุรี พบว่าเอนไซม์ทั้ง 8 ระบบควบคุมโดยยีน 12 loci สามารถใช้จัดจำแนกแมลงเบียนในระดับสปีชีส์ได้ดี นอกจากนี้ malic enzyme (Me) และ isocitrate dehydrogenase (Idh) สามารถใช้บอกความแตกต่างภายในสปีชีส์ของ *D. longicaudata* (form A และ form B) จากจังหวัดนครราชสีมา ดังตารางที่ 5.1 และภาพที่ 5.2

จากการวิเคราะห์ ข้อมูลเพื่อหาความผันแปรทางพันธุกรรมของแมลงเบียนชนิด *D. longicaudata* จากประชากรจาก 6 จังหวัดในประเทศไทย พบว่าเปอร์เซ็นต์ polymorphism ของแมลงเบียนจากนครราชสีมามีค่าสูงสุดถึง 83.3% และจากประจวบคีรีขันธ์มีค่าต่ำสุดคือ 33.0% (ตารางที่ 5.2) ค่า heterozygosity ค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากระบบการสืบพันธุ์ของแมลงเบียนแบบ parthenogenesis โดยที่เพศผู้ (haploid) พัฒนามาจากไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิจากสเปิร์ม ส่วนเพศเมีย (diploid) พัฒนามาจากไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว ดังนั้นการศึกษานี้จึงแยกวิเคราะห์เฉพาะข้อมูลของแมลงเบียนเพศเมียและพบว่า heterozygosity มีค่าเพิ่มขึ้นเป็นที่น่าสนใจมากขึ้น (ตารางที่ 5.2)

ตารางที่ 5.1 แสดงความถี่แถบเอนไซม์ (electromorph) ของประชากรแมลงเบียนเพศเมียชนิด *D. longicaudata* (forms A and B) โดย malic enzyme (Me) และ isocitrate dehydrogenase (Idh)

Population (code)	Form A		Form B	
	Me ¹⁰⁰	Idh ¹⁰⁰⁺⁸⁷	Me ¹⁰⁸	Idh ¹¹³
Phra Nakhon Si Ayutthaya (AY)	52	49	0	0
Kanchanaburi (KB)	15	15	0	0
Nakhon Pathom (NP)	178	155	0	0
Nakhon Ratchasima (NR)	2	2	11	11
Prachuap Khirikhan (PK)	26	23	0	0
Saraburi (SR)	26	25	0	0



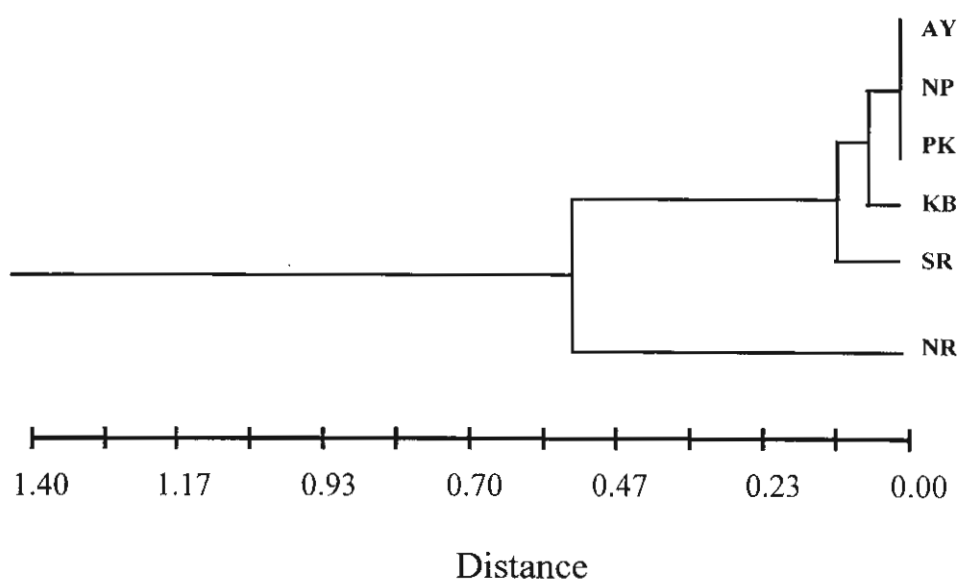
ภาพที่ 5.2 แสดงระบบเอนไซม์ที่สามารถใช้จัดจำแนกและบอกความผันแปรทางพันธุกรรมของแมลงเบียนชนิด *D. longicaudata*

ตารางที่ 5.2 เปอร์เซนต์ polymorphism และ heterozygosity ของ *D. longicaudata* ประชากรจาก 6 จังหวัด

Population	Sample size	Percentage of loci polymorphics*	Direct-count heterozygosity	HdyWbg expected**
AY Pool	128	33.3	0.044	0.142
Female	52	41.7	0.097	0.153
NP Pool	321	33.3	0.070	0.187
Female	178	41.7	0.119	0.153
PK Pool	70	33.3	0.028	0.128
Female	26	33.3	0.073	0.129
KB Pool	20	41.7	0.070	0.140
Female	15	33.3	0.093	0.119
SR Pool	61	58.3	0.038	0.203
Female	26	41.7	0.090	0.191
NR Pool	22	83.3	0.033	0.395
Female	13	83.3	0.032	0.358

* A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed 0.95

** Unbiased estimate (Nei, 1978)



ภาพที่ 5.3 แสดง phylogenetic tree ของแมลงเบียน *D. longicaudata* จากประชากร 6 จังหวัด

เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบ genetic distance และค่าความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มประชากรตลอดจนนำมาสร้าง phylogenetic tree (ภาพที่ 5.3) พบว่าประชากรจากนครราชสีมา (NR) มีความแตกต่างจากประชากรอื่น ๆ (form A) มาก ซึ่งอาจบ่งบอกว่าประชากรจากนครราชสีมาเป็น *D. longicaudata* ทั้ง form A และ form B (ตารางที่ 5.1)

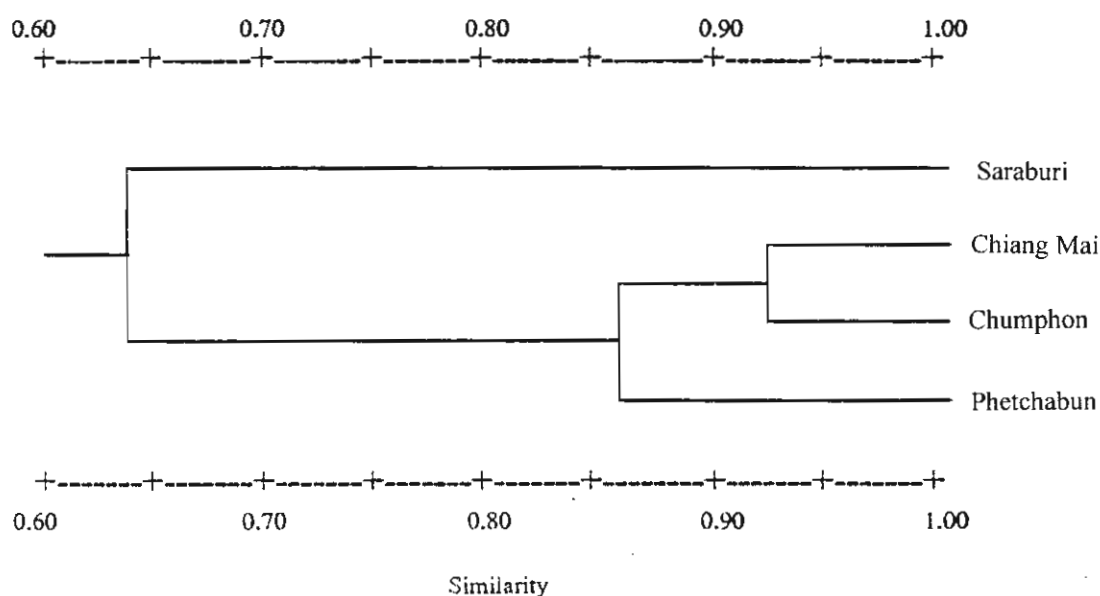
5.1.2 แมลงเบียนชนิด *B. arisanus* เนื่องจาก *Biosteres arisanus* เป็นแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่ง การศึกษาแมลงเบียนชนิดนี้โดยใช้เอนไซม์ทั้ง 8 ระบบดังกล่าวข้างต้น และเพิ่ม G6PDH ขึ้นมาอีก 1 ระบบรวมเป็น 9 ระบบซึ่งควบคุมโดยยีน 13 loci การศึกษา *B. arisanus* จากจังหวัดเพชรบูรณ์ เชียงใหม่ สระบุรี และชุมพร พบว่าค่าเฉลี่ยของ heterozygosity มีค่าต่ำ (0.029-0.094) (ตารางที่ 5.3) เช่นเดียวกับที่พบในแมลงเบียน *D. longicaudata* การที่ประชากรของแมลงเบียนมีแนวโน้มที่จะเป็น homozygote อาจเนื่องมาจากปัจจัยหลายประการที่เกิดขึ้นในประชากร เช่น ระบบสืบพันธุ์แบบ parthenogenesis และการผสมพันธุ์กันเองภายในกลุ่ม เป็นต้น เมื่อคำนวณหาค่า genetic identity และ genetic distance ตลอดจนวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของประชากรเพื่อสร้าง phylogenetic tree แล้วพบว่า *B. arisanus* จากเชียงใหม่และจากชุมพรมีความสัมพันธ์กันมากกว่า *B. arisanus* จากเพชรบูรณ์ ส่วนประชากรจากสระบุรีนั้นมีความแตกต่างอย่างชัดเจนจากประชากรอื่น ๆ (ตารางที่ 5.4 ภาพที่ 5.4)

ตารางที่ 5.3 แสดงเปอร์เซ็นต์ polymorphism และค่า heterozygosity รวม 13 loci ของประชากรแมลงเบียนชนิด *B. arisanus* ในประเทศไทย

Population	Percentage of loci polymorphic*	He**	Ho
Saraburi	38.5	0.143	0.041
Chiang Mai	61.5	0.258	0.086
Chumphon	30.8	0.182	0.047
Phetchabun	46.2	0.208	0.071

* A locus is considered polymorphic if the frequency of the most common allele does not exceed 0.95

** Unbiased estimate (Nei, 1978)



ภาพที่ 5.4 แสดง phylogenetic tree ของแมลงเบียนชนิด *B. arisanus* จากประชากร 4 จังหวัด

ตารางที่ 5.4 แสดง genetic identity (I) และ genetic distance (D) รวม 13 loci ของแมลงเบียนชนิด *B. arisanus* จากประชากร 4 จังหวัด

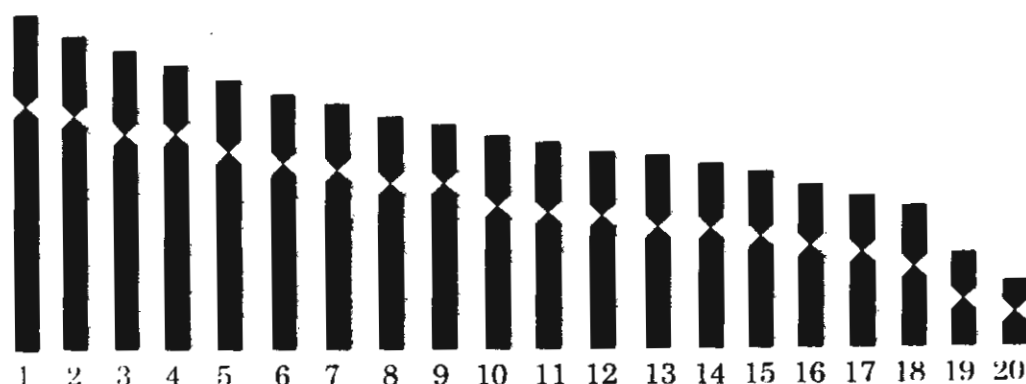
Population	Saraburi	Chiang Mai	Chumphon	Phetchabun
Saraburi	*****	0.437	0.417	0.412
Chiang Mai	0.646	*****	0.080	0.085
Chumphon	0.659	0.923	*****	0.228
Phetchabun	0.663	0.919	0.769	*****

5.2 เมทาเฟสโครโมโซม

การศึกษาคาร์ิโอไทป์ (karyotype) จากเซลล์สมองและเซลล์รังไข่ในระยะก่อนที่จะเป็นตัวเต็มวัยของ *D. longicaudata* นับว่าเป็นการศึกษาครั้งแรก พบว่าเพศเมียมี diploid chromosome $2n=40$ และการศึกษาในเซลล์สมองและเทสทิส (testis) ของเพศผู้พบว่ามี haploid chromosome $n=20$ ซึ่งประกอบด้วยโครโมโซมแบบ metacentric 5 แท่ง submetacentric 13 แท่ง และ subtelocentric 2 แท่ง (ภาพที่ 5.5 และ 5.6) การศึกษานี้ยังไม่สามารถแยกโครโมโซมเพศของ *D. longicaudata* ได้ชัดเจนเนื่องจากโครโมโซมมีขนาดเล็กและรูปร่างใกล้เคียงกันมาก



ภาพที่ 5.5 คาร์ิโอแกรมของ haploid โครโมโซมใน *D. longicaudata*



ภาพที่ 5.6 แสดง haploid idiogram ของ *D. longicaudata*

เซลล์พันธุศาสตร์และความหลากหลายของสปีชีส์ของริ้นดำ

ริ้นดำ (black flies) เป็นกลุ่มแมลง 2 ปีกหรือพวกติฟเทอรา (Diptera : Simuliidae) เช่นเดียวกับแมลงวันผลไม้และยุงที่กล่าวมาข้างบน ริ้นดำเป็นแมลงตัวดำ ขนาดเล็ก และแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในโลก และพบว่ามีริ้นดำมากกว่า 1,500 สปีชีส์ ส่วนมากจัดอยู่ในสกุล *Simulium* ในจำนวนนี้พบว่ามีอยู่ในประเทศไทยประมาณ 24 ชนิดที่จำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยนักวิชาการจากญี่ปุ่น (Takaoka & Saito, 1996) ริ้นดำก่อความรำคาญและรบกวนคนและสัตว์เลี้ยง คนที่ถูกริ้นดำกัดจะเกิดอาการแพ้ ผิวหนังอักเสบ บวมและคัน และถ้าโดนกัดมาก ๆ ก็อาจทำให้เกิดอาการที่เรียกว่า “ไข้ริ้นดำ” (black fly fever) ทำให้เกิดอาการปวดหัว มีไข้ คลื่นไส้ ผิวหนังอักเสบและมีอาการหอบหืด ริ้นดำยังก่อความรำคาญให้สัตว์เลี้ยงพวกวัวเนื้อ วัวนม และสัตว์ใช้งานอื่น ๆ เพราะแมลงพวกนี้จะคลานบนผิวหนังและไชบาดแผลของสัตว์ และพิษในน้ำลายของริ้นดำอาจทำให้สัตว์เลี้ยงเป็นอันตรายถึงตายได้ ซึ่งทำให้ผลผลิตของเนื้อและนมลดลงอย่างมาก ดังนั้น จึงจำเป็นต้องศึกษาหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับสปีชีส์ของริ้นดำ โดยใช้หลักเซลล์พันธุศาสตร์โดยการศึกษาแบบแผนของแบนด์บนโพลีทีนโครโมโซมควบคู่กับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตัวอ่อนจากประชากรธรรมชาติ โครงการวิจัยในส่วนนี้เริ่มต้นที่ประชากรริ้นดำบริเวณดอยอินทนนท์ที่พอจะสรุปผลได้ดังนี้

6.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างริ้นดำ

การสำรวจแหล่งเพาะพันธุ์และการแพร่กระจายของริ้นดำในถิ่นอาศัย (habitat) ตามธรรมชาติ คือ ตามแหล่งน้ำไหลบริเวณเชิงดอยอินทนนท์จนถึงยอดดอย โดยใช้ปากคีบเล็กจับตัวอ่อนที่เกาะตามก้อนหิน เศษวัสดุต่าง ๆ รวมทั้งพืชและใบพืชที่ลอยอยู่ในน้ำไหล โดยเก็บตัวอย่างจากประชากร 4 แห่ง ในเวลาต่าง ๆ กัน (ภาพที่ 6.1, ตารางที่ 6.1) การเก็บตัวอย่างตัวอ่อนริ้นดำแต่ละครั้งจะแบ่งตัวอ่อนริ้นดำออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่หนึ่งดองใน Carnoy's fixative (3 absolute ethanol: 1 glacial acetic acid) เพื่อนำไปศึกษาโพลีทีนโครโมโซม ส่วนกลุ่มที่สองดองใน 70% ethanol เพื่อนำไปศึกษาด้านสัณฐานวิทยาควบคู่กับตัวอ่อนในส่วนที่หนึ่ง

6.2 การศึกษาโพลีทีนโครโมโซม

โพลีทีนโครโมโซมของริ้นดำเตรียมได้จากเซลล์ต่อมน้ำลายของตัวอ่อนโดยการเชื่อมต่มน้ำลายของตัวอ่อนที่ดองในน้ำยา fixative บนแผ่นสไลด์และย้อมสีโพลีทีนโครโมโซมด้วย 1.6 % Lactopropionic-orcein ภายใต้ cover glass เลือกรูปโครโมโซมที่กระจายออกจากกันชัดเจน นำภาพโพลีทีนโครโมโซมที่เห็นแบนด์ติดสีชัดเจนมาตัดต่อเพื่อทำแผนภาพโครโมโซมตามวิธีของ Bedo (1977) โดยจัดเรียงสายโครโมโซมตามลำดับความยาว จากสายยาวไปหาสั้น คือ โครโมโซม I, II และ III ตามลำดับ สำหรับโครโมโซมแขนยาวจะใช้สัญลักษณ์เป็น L และ S สำหรับโครโมโซมแขนสั้น ตัวอย่างเช่น IS หรือ III L เป็นต้น ความยาวทั้งหมดของโครโมโซมจะแบ่งเป็น 100 ส่วน โดยแต่ละส่วนจะเริ่มจากปลายแขนสั้นของโครโมโซมแท่งที่หนึ่ง (IS) เรียงผ่านเซนโทรเมียร์ไปยังโครโมโซมแขนยาวและเรียง

ต่อไปยังโครโมโซมแท่งที่ 2 และ 3 จนถึงปลายแขนยาวของโครโมโซมแท่งที่ 3 (III L) จากนั้นแบ่งโครโมโซมแต่ละส่วนออกเป็น 2 ส่วนย่อย (A และ B) หรือ 3 ส่วนย่อย (A, B และ C) แบนด์ของโครโมโซมที่อยู่ภายในส่วนย่อย A, B และ C จะบ่งบอกไว้โดยเขียนเบอร์ของโครโมโซมส่วนใหญ่ พร้อมทั้งอักษรของส่วนย่อยและตำแหน่งของแบนด์ภายในส่วนย่อยนั้น ตัวอย่างเช่น 45B3 หมายถึงแบนด์ที่ 3 จากจุดเริ่มต้นของส่วนย่อย B ในโครโมโซมส่วนที่ 45 (ภาพที่ 6.2)

จากการศึกษาเบื้องต้นพบมีริ้นดำจำนวนมากมายหลายสปีชีส์อาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำไหลที่ระดับความสูงประมาณ 500 - 2,500 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล นั่นคือ ตั้งแต่บริเวณเชิงดอยจนถึงยอดดอย และดูเหมือนว่าการกระจายของสปีชีส์ของริ้นดำมีความสัมพันธ์กับระดับความสูงด้วยเพราะพบริ้นดำต่างสปีชีส์ในแหล่งน้ำที่มีระดับความสูงที่แตกต่างกันมาก เช่น จากการสำรวจจะไม่พบริ้นดำสปีชีส์ที่ชอบอาศัยอยู่บริเวณเชิงดอยและกลางดอย (ระดับความสูงประมาณ 500 - 1,300 เมตร) อยู่ในบริเวณยอดดอยเลย ในทำนองเดียวกันก็จะไม่พบริ้นดำสปีชีส์ที่ชอบอาศัยอยู่บนยอดดอยในแหล่งน้ำบริเวณเชิงดอยและกลางดอยด้วย ในทางตรงกันข้ามจะมีการกระจายของริ้นดำบางสปีชีส์ในแหล่งน้ำที่มีระดับความสูงที่ไม่ต่างกันมาก คือ แหล่งน้ำต่าง ๆ บริเวณกลางดอยซึ่งมีความสูงประมาณ 1,100 - 1,300 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล

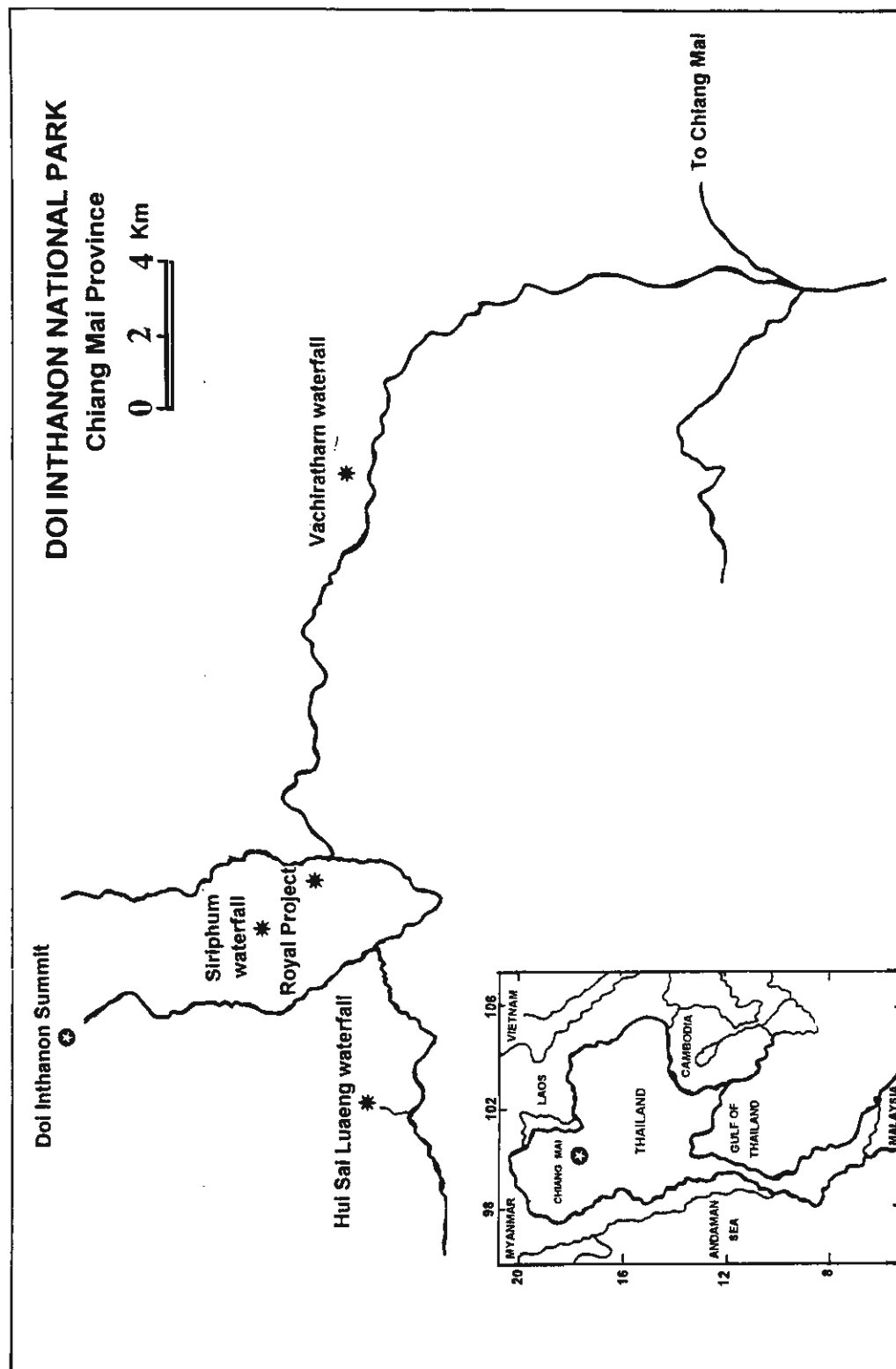
ผลการศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของริ้นดำจากดอยอินทนนท์มีดังนี้

1. บริเวณอ่างกา เป็นบริเวณสูงที่สุดของดอยอินทนนท์ สูงประมาณ 2,460 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล และมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 80% พบว่ามีริ้นดำจำนวน 3 สปีชีส์ และชนิดที่พบปริมาณมากที่สุด คือ *Simulium caudisclerum* (= *Simulium* sp. A ที่อ้างอิงใน Takaoka and Suzuki, 1984) รองลงมา คือ สปีชีส์ G ซึ่งคาดว่าเป็นริ้นดำชนิดใหม่ในโลก และชนิดที่พบน้อยที่สุด คือ สปีชีส์ H การใช้ชื่อเป็นรหัสตัวอักษร G และ H นั้น เนื่องจากสปีชีส์เหล่านี้ยังไม่มีการอ้างอิงในวารสารวิชาการ ริ้นดำเหล่านี้อาศัยบนใบไม้ร่วงในแหล่งน้ำไหลในบริเวณเดียวกัน
2. บริเวณที่ทำการโครงการหลวงไม่ดอกไม้ประดับ สูงประมาณ 1,260 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล พบริ้นดำจำนวน 7 สปีชีส์ที่มีปริมาณแตกต่างกันตามฤดูกาลในแต่ละปี คือ *Simulium feuerborni* (= *Simulium* sp. B ที่อ้างอิงใน Takaoka and Suzuki, 1984), *S. rufibasis*, *S. inthanonense*, *S. asakoe*, *S. fenestratum*, *S. chamlongi* และ *Simulium* sp. J ในจำนวนนี้พบ *S. feuerborni* ปริมาณมากที่สุดในปี 2539 และกลางปี 2540 หลังจากนั้นริ้นดำ *S. rufibasis* จะค่อย ๆ เพิ่มปริมาณขึ้นจากปลายปี 2540 ถึงต้นปี 2541 ส่วนริ้นดำสปีชีส์อื่นมีปริมาณค่อนข้างน้อยและอาจไม่พบในบางฤดู

การศึกษาไมโททิกโครโมโซมและโพลีทีนโครโมโซมของตัวอ่อนริ้นดำชนิด *S. feuerborni* พบว่าโครโมโซมโทพอยของริ้นดำชนิดนี้มีโครโมโซม 3 คู่ ($2n=6$) โดยโครโมโซมคู่ที่ 1 ยาวที่สุดและเป็นแบบเมทาเซนทริก โครโมโซมคู่ที่ 2 และ 3 สั้นกว่าคู่แรกและเป็นแบบซับเมทาเซนทริก นอกจากนี้ยังพบพาราเซนทริกอินเวอร์ชัน 6 แห่งบนแขนต่าง ๆ ของโครโมโซม 5 แขน (ภาพที่ 6.3) แต่ละอินเวอร์ชันมีความถี่แตกต่างกันในประชากรต่าง ๆ (ตารางที่ 6.1) ในประชากรริ้นดำสปีชีส์นี้อินเวอร์ชันส่วนมากอยู่ในสภาวะสมดุลภายใต้กฎฮาร์ดี-ไวน์เบิร์ก ผลการศึกษานี้กำลังอยู่ระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ Genome ประเทศแคนาดา

3. บริเวณที่ทำการอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ ที่ระดับความสูงประมาณ 1,180 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล พบริ้นดำจำนวน 5 สปีชีส์ คือ *S. tani*, *S. asakoe*, *S. rufibasis*, *S. nigrogilvum* และ *Simulium* sp. L ตัวอ่อนริ้นดำเหล่านี้อาศัยบนใบไม้ร่วงและต้นหญ้าที่ลอยในน้ำไหล
4. บริเวณโครงการหลวงบ้านขุนห้วยแห้ง ที่ระดับความสูงประมาณ 1,280 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล พบริ้นดำ 2 สปีชีส์ คือ สปีชีส์ *S. inthanonense* และ *S. asakoe* ซึ่งอาศัยบนใบไม้ร่วงและใบหญ้าในร่องน้ำไหล
5. บริเวณน้ำตกสิริภูมิที่ระดับความสูงประมาณ 1,270 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล พบริ้นดำ 2 สปีชีส์ คือ *S. rufibasis* และ *S. fenestratum* เป็นจำนวนมาก และพบสปีชีส์ *S. feuerborni*, *S. inthanonense*, *S. tani*, *S. chamlongi* และ *Simulium* species J ปะปนอยู่บ้าง ริ้นดำเหล่านี้เกาะอยู่ตามลำต้นและใบหญ้าในร่องน้ำไหล
6. บริเวณน้ำตกวังควาย ในบริเวณเชิงดอยที่มีระดับความสูงเพียง 410 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล ริ้นดำที่พบมากในบริเวณนี้ คือ *S. nakhonense* นอกจากนี้ยังพบ *S. quinquestriatum*, *S. nigrogilvum* และ *S. siripoomense* ริ้นดำเหล่านี้ส่วนใหญ่เกาะตามใบไม้ ต้นหญ้า และวัสดุที่ลอยในน้ำไหล ส่วนน้อยเกาะตามโขดหิน
7. บริเวณน้ำตกแม่ยะอยู่ห่างจากอำเภोजอมทองประมาณ 14 กิโลเมตร ที่ระดับความสูงประมาณ 520 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล พบริ้นดำชนิด *S. rudnicki* มากที่สุด ริ้นดำสปีชีส์นี้ต่างจากสปีชีส์อื่นๆ คือ ตัวอ่อนมีขนาดใหญ่มากและลำตัวมีสีดำ เกาะอยู่บนลานหินที่ลาดลงและมีน้ำไหลเชี่ยว ตัวอ่อนสร้างเส้นใยที่เหนียวมากเพื่อให้ตัวมันยึดติดกับแผ่นหินอย่างเหนียวแน่นโดยไม่ให้ไหลไปกับกระแสน้ำ นอกจากนี้ยังพบ *S. quinquestriatum* ที่ลำตัวมีขนาดเล็กและเกาะอยู่บนโขดหิน

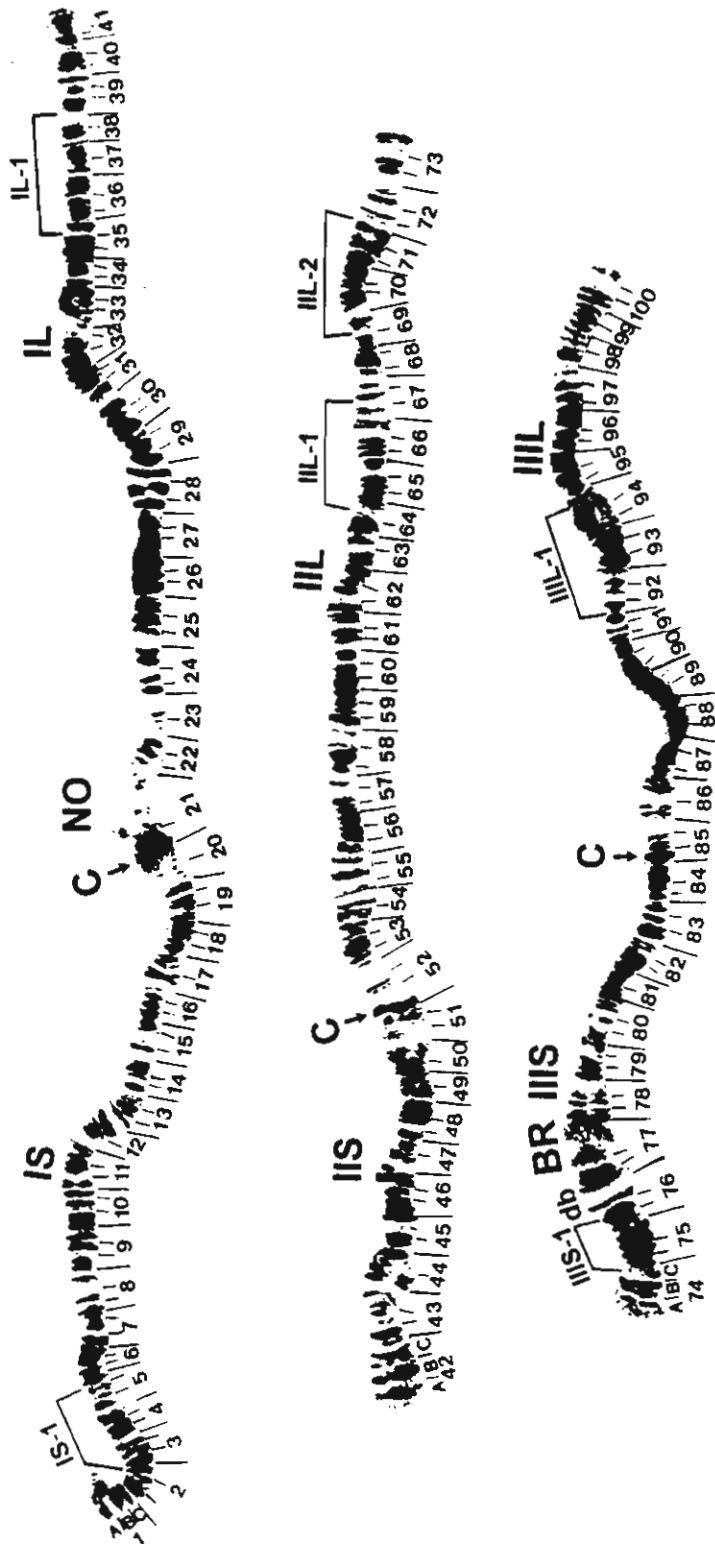
ผลการศึกษานี้สะท้อนให้เห็นถึงความหลากหลายของสปีชีส์ของริ้นดำในบริเวณอุทยานแห่งชาติดอยอินทนนท์ รวมทั้งการแพร่กระจายของริ้นดำชนิดต่าง ๆ ที่มีความสัมพันธ์กับระดับความสูงที่มีแหล่งน้ำไหลธรรมชาติและปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมของถิ่นอาศัยที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิของน้ำ และความเร็วของกระแสน้ำ เป็นต้น ข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นเช่นนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาริ้นดำในแนวสีกด้านอื่น ๆ ต่อไปในอนาคต เช่น นิเวศวิทยา พยาธิวิทยา และชีววิทยาของประชากรริ้นดำ เป็นต้น



ภาพที่ 6.1 แสดงแผนที่ตำแหน่งที่สำคัญเกี่ยวกับตัวอย่างรณดำ *Simulium feuerborni*

ตารางที่ 6.1 ความถี่ของอินเวอร์ชันในประชากรทั้ง 4 แห่งของ *Simulium feuerborni* จากดอยอินทนนท์ ; st = standard gene sequences

Populations	Date of collections	No. of larvae analyzed	Inversions											
			IS-st	IS-1	IL-st	IL-1	IIS-st	IIL-st	IIL-1	IIL-2	IHS-st	IHS-1	IIIL-st	III
1. Royal Project														
Collection A	2 April 1996	60	0.99	0.01	1.00	0	1.00	0.80	0.19	0.01	0.99	0.01	0.99	0.
Collection B	22 August 1996	14	1.00	0	1.00	0	1.00	0.64	0.29	0.07	0.96	0.04	0.89	0.
Collection C	1 November 1996	85	1.00	0	1.00	0	1.00	0.78	0.21	0.01	1.00	0	0.87	0.
2. Vachiratham waterfall	4 April 1996	6	1.00	0	0.92	0.08	1.00	0.83	0.17	0	1.00	0	0.67	0.
3. Hui Sai Luaeng waterfall	31 October 1996	79	1.00	0	1.00	0	1.00	0.89	0.10	0.01	1.00	0	0.77	0.
4. Siriphum waterfall	14 February 1997	13	1.00	0	1.00	0	1.00	0.62	0.38	0	1.00	0	0.88	0.



ภาพที่ 6.2 ภาพถ่ายแผนที่โพลีทีนโครโมโซมของ *Simulium feuerborni* : S = short arm; L = long arm; C = centromere; NO = nucleolar organizer; BR = Ring of Balbiani; db = double bubble. เส้นปีกแสดงขอบเขตของอินเวอร์ชัน



ภาพที่ 6.3 ภาพถ่ายแสดง heterozygous inversion ที่พบในประชากรธรรมชาติของ *Simulium feuerborni* : (a) IS-st/1, (b) IL-st/1, (c) IIL-st/1, (d) IIL-st/2, (e) IIIS-st/1, (f) IIIL-st/1, (g) IIL-st/1 and IIL-st/2 ลูกศรชี้ไปทางเซนโทรเมียร์

จุลินทรีย์กลุ่ม *Wolbachia*

ความหัตถ์อย่างหนึ่งของพวกโพรคาริโอตซึ่งรวมถึงพวกแบคทีเรียและอาร์เคีย (Archaea) คือ สมบัติที่หลากหลายในความสามารถที่จะสังเคราะห์สารอินทรีย์ที่จำเป็นในกระบวนการทางชีววิทยาเพื่อการดำรงชีวิตจากสารเริ่มต้นหรือซับสเตรต (substrate) อย่างง่าย ในทางกลับกันพวกยูคาริโอตส่วนมากไม่มีสมบัติและความสามารถดังกล่าว แต่ต้องพึ่งพาอาศัยผลผลิตสารอินทรีย์ที่ได้จากพวกโพรคาริโอตที่อาศัยอยู่ร่วมกันในเชิงพึ่งพาซึ่งกันและกันที่เรียกว่า ซิมไบโอซิส (symbiosis) ในบางกรณีสิ่งมีชีวิตพวกโพรคาริโอตและยูคาริโอตมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดแต่ก็ยังแยกกันอยู่ แต่ในบางกรณีพวกโพรคาริโอตอาศัยอยู่อย่างเรียบง่ายภายในเซลล์ของพวกยูคาริโอต จึงเรียกรวมการอยู่ร่วมกันเช่นนี้ว่า เอนโดซิมไบโอซิส (endosymbiosis) ส่วนใหญ่จะพบพวกโพรคาริโอตในร่างกายของแมลงกลุ่มต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพวก Homoptera (ได้แก่ พวกเพลี้ยชนิดต่าง ๆ และจักจั่น), พวก Blattaria (ได้แก่ แมลงสาบ), Coleoptera (ได้แก่ ตัวชนิดต่าง ๆ รวมทั้งตัวมูลสัตว์) แมลงเหล่านี้มักจะขาดสารอาหารที่จำเป็นบางอย่างเพราะไม่สามารถสร้างขึ้นมาได้เองหรือไม่สามารถหามาได้จากพืชอาหารอื่น ดังนั้น สารอาหารที่จำเป็นดังกล่าวจึงต้องได้มาจากพวกเอนโดซิมไบออนต์ (endosymbiont) ที่อาศัยอยู่ในเซลล์ของแมลงอาศัยหรือแมลงเจ้าบ้าน สภาวะการณ์ของการอาศัยอยู่ร่วมกันระหว่างพวกโพรคาริโอตและพวกยูคาริโอตเช่นนี้มีอยู่ทั่วไปในธรรมชาติและสามารถศึกษาได้สะดวกรวดเร็วโดยใช้ดีเอ็นเอเทคโนโลยี

วิวัฒนาการร่วมกันระหว่างเจ้าบ้านหรือโฮสต์ (host) กับผู้อาศัยพวกจุลชีพก่อโรค (pathogen) นำที่จะทำให้เกิดสภาวะการณ์ที่ต่อต้านจากเจ้าบ้านและความรุนแรงของผู้อาศัยเกิดขึ้นควบคู่กันและนำไปสู่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเจ้าบ้านกับผู้อาศัยอย่างได้ดุลยภาพ ดังนั้น การทำความเข้าใจในประเด็นที่ว่าผู้อาศัยและเจ้าบ้านมีวิวัฒนาการร่วมกันได้อย่างไร และปฏิสัมพันธ์เช่นนั้นจะมีอิทธิพลส่งผลกระทบต่อชุมชนสิ่งมีชีวิตอย่างไรบ้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งความสัมพันธ์ระหว่างพืชที่เป็นเจ้าบ้านหรือพืชอาศัยกับแมลงหรือจุลินทรีย์ที่เป็นผู้อาศัย ในบางกรณีนักวิทยาศาสตร์สามารถแยกเอาพวกแบคทีเรียผู้อาศัยออกมาเลี้ยงได้ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อจึงเอื้ออำนวยให้นักวิจัยศึกษาหาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของสิ่งมีชีวิตที่วิวัฒนาการร่วมกันได้โดยใช้เทคนิคทางด้านชีววิทยาเชิงโมเลกุลและพันธุศาสตร์ อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียผู้อาศัย เช่น *Wolbachia* กับแมลงเจ้าบ้านพวกติฟเทอร่า (Bourtzis & O' Neill 1998) นั้นนักวิทยาศาสตร์ยังไม่สามารถแยกเอาแบคทีเรียพวก *Wolbachia* ออกมาเลี้ยงในจานเพาะเลี้ยงได้ นักวิจัยจึงยังมีความรู้ความเข้าใจไม่มากนักเกี่ยวกับวิวัฒนาการร่วมกันระหว่าง *Wolbachia* กับแมลงกลุ่มนี้ การศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับ *Wolbachia* ในแมลงชนิดต่าง ๆ ในประเทศที่มีความหลากหลายของแมลงจะเปิดโอกาสให้เราเข้าใจวิวัฒนาการร่วมกันมากยิ่งขึ้น ความรู้ความเข้าใจในชีววิทยาขั้นพื้นฐานของสิ่งมีชีวิตที่วิวัฒนาการร่วมกันมาเช่นนี้จะช่วยทำให้นักวิทยาศาสตร์แสวงหามาตรการควบคุมและการจัดการกับแมลงศัตรูและแมลงพาหะอย่างมีประสิทธิภาพโดยไม่ก่อให้เกิดผลเสียต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนั้นการศึกษาพันธุศาสตร์เชิงประชากรยังจะช่วยให้การ

อนุรักษทรัพยากรชีวภาพและความหลากหลายทางชีวภาพดำเนินไปในทิศทางที่ถูกต้องและสอดคล้องกับธรรมชาติของท้องถิ่นไทยให้ยั่งยืนต่อไป

7.1 ในแมลงวันผลไม้

การสำรวจหา *Wolbachia* จากแมลงวันผลไม้ที่พบอยู่กับพืชอาศัยต่าง ๆ กัน 63 ชนิด ใน 34 จังหวัดจากทุกภาคของประเทศไทยโดยใช้เทคนิค PCR เพิ่มขยายชิ้นส่วนของ *ftsZ* gene ของ *Wolbachia* แมลงวันผลไม้ตัวอย่างที่ใช้ตรวจหา *Wolbachia* จัดอยู่ใน 4 สกุล รวมทั้งหมด 47 ชนิดมีจำนวนรวมทั้งสิ้น 1,154 ตัว เป็นตัวผู้ 583 และตัวเมีย 571 ตัว จากการสำรวจพบแมลงวันผลไม้ที่มี *Wolbachia* ทั้งหมด 13 ชนิด (27.7%) เป็นพวกที่อยู่ในสกุล *Bactrocera* 12 ชนิด คือ **B. ascitoides**, *B. caudata*, *B. correcta*, *B. cucurbitae*, *B. diversa*, *B. dorsalis*, *B. modica*, **B. payena**, *B. pyrifoliae*, **B. samlanensis**, **B. siphonodosa** และ *B. tau* และ อยู่ในสกุล *Dacus* 1 ชนิด คือ *D. distillatoria*

จากการสังเกตการตรวจพบ *Wolbachia* ในแมลงวันผลไม้จากพืชอาศัยต่าง ๆ กันและจากภูมิภาคต่าง ๆ กัน พบว่า *Wolbachia* มีการแพร่กระจายอยู่ในพืชอาศัยเฉพาะบางชนิดในบางจังหวัดของประเทศไทยเท่านั้น เช่น พบ *Wolbachia* ใน **B. ascitoides** จากจังหวัดแม่ฮ่องสอนโดยอาศัยอยู่บนดอกขี้กาแดง (*Trichosanthes tricuspidata*) ส่วน *B. caudata*, *B. cucurbitae*, *B. diversa* และ *B. tau* ที่มี *Wolbachia* อาศัยร่วมด้วยเก็บมาจากพืชอาศัยชนิดเดียวกัน คือ ดอกฟักทอง (*Cucurbita moschata*) โดยที่ *B. caudata* เก็บได้จากจังหวัดราชบุรี *B. diversa* เก็บมาจากจังหวัดอำนาจเจริญ และระนอง ส่วน *B. cucurbitae* และ *B. tau* เก็บมาจากจังหวัดสกลนคร แมลงวันผลไม้ชนิด *B. correcta* ที่มี *Wolbachia* พบเฉพาะในพืชอาศัยที่เป็นผลชมพู (*Syzygium samarangense*) จากจังหวัดระนอง ส่วน *B. cucurbitae* ที่มี *Wolbachia* จะพบในบวบขม (*Luffa cylindrica*) จากจังหวัดหนองคายและกาฬสินธุ์ และในตำลึง (*Coccinia grandis*) จากจังหวัดกาญจนบุรี แมลงวันผลไม้กลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex คือ *B. dorsalis* ที่เก็บจากพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ กันแต่ที่พบ *Wolbachia* นั้นมาจากฝรั่งไทย (*Psidium guajava*) ที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนและหูกวาง (*Terminalia catappa*) จากจังหวัดปราจีนบุรีและตาก ส่วน *B. pyrifoliae* พบ *Wolbachia* ด้วยและที่เก็บจากฝรั่งไทยจากจังหวัดแม่ฮ่องสอนเช่นเดียวกับ *B. dorsalis* และแมลงวันผลไม้ชนิด **B. payena** ที่มี *Wolbachia* อยู่ร่วมด้วยมีพืชอาศัยเป็นพิกุลป่า (*Payena* sp.) เก็บได้จากจังหวัดระนอง แมลงวันผลไม้ชนิดหนึ่ง คือ *B. modica* จะพบในพืชอาศัยที่เป็นดอกขี้กาตาย (*Diplocyclos palmatus*) จากจังหวัดเพชรบุรี สำหรับแมลงวันผลไม้ในสกุล *Dacus* ที่ทำการสำรวจมีเพียงชนิดเดียว คือ *Dacus distillatoria* มีพืชอาศัยเป็นบวบขม (*Luffa cylindrica*) เก็บได้จากจังหวัดนครพนมและอุบลราชธานี ตารางที่ 7.1 แสดงผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในแมลงวันผลไม้จากพืชอาศัยหลากหลายชนิดในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย

จากการศึกษาลำดับ DNA ของสายพันธุ์ *Wolbachia* ที่พบในแมลงวันผลไม้จากชิ้นส่วนของ outer surface protein gene ของ *Wolbachia* ที่เพิ่มขยายได้โดยวิธี PCR สามารถหาลำดับ DNA ได้ 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ที่พบในแมลงวันผลไม้ชนิด *B. caudata* และ *B. modica* ซึ่งทั้ง 2 สายพันธุ์จะมีลำดับ DNA ใกล้เคียงกับ *Wolbachia* สายพันธุ์ที่พบในยุงรำคาญ (*Culex pipiens*) คือจัดอยู่ในกลุ่ม B ลำดับ DNA ของ *Wolbachia* ทั้ง 2 สายพันธุ์ได้แสดงไว้ในภาพที่ 7.1 ส่วนการหาความสัมพันธ์

ทางด้านวิวัฒนาการของสายพันธุ์ทั้งสองกับ *Wolbachia* สายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีรายงานไว้แล้วได้แสดงไว้ในภาพที่ 7.2 *Wolbachia* สายพันธุ์ที่พบในแมลงวันผลไม้ชนิดอื่น ๆ ในประเทศไทยไม่สามารถหาลำดับ DNA ได้จากผลผลิต PCR จึงต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมโดยการทำ clone ดีเอ็นเอของ *Wolbachia* สายพันธุ์ดังกล่าว ซึ่งกำลังดำเนินการอยู่โดยเป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์นักศึกษาระดับปริญญาเอกกาญจนาภิเษกปี 2541 (นางสาววันวิสาข์ จานงค์ลักษณ์)

7.2 ในแมลงเบียน

นอกจากนี้ยังได้ทำการสำรวจหา *Wolbachia* ในแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ คือ *Diachasmimorpha longicaudata* และ *Biosteres arisanus* แมลงวันผลไม้ 2 ชนิด เก็บจากพืชอาศัยต่างชนิดกัน ผลการสำรวจพบว่าแมลงเบียนทั้ง 2 ชนิดมี *Wolbachia* อาศัยอยู่ด้วย (100%) ผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในแมลงเบียนจากพืชอาศัยต่างชนิดได้แสดงไว้ในตารางที่ 7.2 และจากการหาลำดับ DNA โดยใช้ผลผลิต PCR ของชิ้นส่วน outer surface protein gene ของ *Wolbachia* พบว่าสายพันธุ์ที่พบในแมลงเบียนใกล้เคียงกับสายพันธุ์ที่พบในแมลงหวี่ชนิด *Drosophila simulans* จาก Hawaii คือ จัดอยู่ในกลุ่ม A ลำดับ DNA ของ *Wolbachia* ที่พบในแมลงเบียนทั้ง 2 สายพันธุ์ได้แสดงไว้ในภาพที่ 7.1 ส่วนการหาความสัมพันธ์ตามสายวิวัฒนาการของ *Wolbachia* ทั้งสองสายพันธุ์กับสายพันธุ์ที่มีรายงานไว้แล้วได้แสดงไว้ในภาพที่ 7.2

ผลจากการสำรวจ *Wolbachia* ในแมลงวันผลไม้และแมลงเบียน แสดงให้เห็นว่า *Wolbachia* มีการแพร่กระจายในแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนหลายชนิดในประเทศไทย สายพันธุ์ของ *Wolbachia* ที่พบจากการสำรวจครั้งนี้มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ที่มีรายงานไว้แล้ว และบางสายพันธุ์ก็ไม่สามารถหาลำดับ DNA ได้ ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นสายพันธุ์ใหม่ ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับ *Wolbachia* ที่ได้จากการศึกษาในโครงการนี้จะประโยชน์ในการประยุกต์ใช้ *Wolbachia* เพื่อควบคุมแมลงที่มีความสำคัญทางการแพทย์และทางเกษตรต่อไปในอนาคต

7.3 ในยุงก้นปล่อง

การสำรวจหา *Wolbachia* ในยุงก้นปล่องสกุล *Anopheles* จำนวน 22 ชนิด รวมทั้งสิ้นจำนวน 370 ตัว จาก 13 จังหวัดในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย โดยอาศัยเทคนิค PCR เพิ่มขยายชิ้นส่วนของ *ftsZ* gene ของ *Wolbachia* เช่นเดียวกัน ผลจากการสำรวจไม่พบ *Wolbachia* ในยุงก้นปล่องเลย ซึ่งอาจจะตั้งสมมติฐานได้ 2 กรณี คือ ยุงก้นปล่องอาจจะไม่มีภูมิต้านทานต่อ *Wolbachia* หรือยุงก้นปล่องไม่เคยมีการวิวัฒนาการเกี่ยวข้องกับ *Wolbachia* มาก่อน ซึ่งการพิสูจน์สมมติฐานนี้จะต้องทำการทดลองฉีด *Wolbachia* เข้าไปในยุงก้นปล่องเพื่อดูว่ามันสามารถพัฒนาหรือเจริญในยุงก้นปล่องได้หรือไม่ ซึ่งจะต้องทำการศึกษากันต่อไป ตารางที่ 7.3 แสดงผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในยุงก้นปล่องที่เก็บได้จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย

ตารางที่ 7.1 ผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในแมลงวันผลไม้โดยเทคนิค PCR

ชนิดของ แมลงวันผลไม้	รหัส	จังหวัด	พืชอาศัย	จำนวน ทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
					12S ¹	<i>ftsZ</i> ²
<i>A. kraussi</i>	KB(S) 31	กาญจนบุรี	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
<i>B. albistrigata</i>	SO (A) 5	สงขลา	ทุกวาง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
<i>B. anthocephala</i> **	KB (U) 6	กาญจนบุรี	ก้านเหลือง	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	KB (U) 2	กาญจนบุรี	ค่อมหมู	9	100.00 (9)	0.00 (0)
<i>B. arecae</i>	KB (U) 3	กาญจนบุรี	หมาก	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	PN (A) 3	ปัตตานี	หมาก	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	SL (B) 3	สตูล	หมาก	3	100.00 (3)	0.00 (0)
	SO (C) 5	สงขลา	หมาก	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	YL (D) 7	ยะลา	หมาก	3	100.00 (3)	0.00 (0)
<i>B. ascitoides</i> **	KB (T) 11	กาญจนบุรี	ดอกชี่กาแดง	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	MS (E) 16	แม่ฮ่องสอน	ดอกชี่กาแดง	10	100.00 (10)	40% (4)
<i>B. axillaris</i> **	UD (E) 4	อุดรดิตถ์	-	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	NA (A) 1	น่าน	-	13	92.30 (13)	0.00 (0)
<i>B. carambolae</i>	RN 520	ระนอง	หว่ากอ, กระเบา	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 522	ระนอง	ชมพูเขียว	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	RN 650	ระนอง	ชมพูน้ำ	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	SR	สระบุรี	กระเวก	2	100.00 (2)	0.00 (0)
<i>B. caudata</i>	PG (G) 8	พังงา	ดอกฟักทอง	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	RB (C)14	ราชบุรี	ดอกฟักทอง	10	100.00 (10)	100% (10)
<i>B. chabunensis</i> **	CM (X) 8	เชียงใหม่	-	12	100.00 (12)	0.00 (0)
<i>B. cilifer</i>	RB (C) 18	ราชบุรี	ฟักข้าว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
<i>B. correcta</i>	CP (K) 2	ชุมพร	ชมพูเขียว	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	LB (A) 1	ลพบุรี	ทุกวาง	24	100.00 (24)	0.00 (0)
	MS (E) 1	แม่ฮ่องสอน	ทุกวาง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PK (C) 32	ประจวบคีรีขันธ์	กระโดน	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	PU (A) 10	ภูเก็ต	ชมพูพลาติก	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	PU (A) 11	ภูเก็ต	โคกอินเดียว	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RN522	ระนอง	ชมพู	2	100.00 (2)	50% (1)
	RN 643	ระนอง	พุทรา	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RN 645	ระนอง	-	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 646	ระนอง	หว่ามาเลย์	8	100.00 (8)	0.00 (0)
	RN 648	ระนอง	กระโดน	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN (A) 1	ระนอง	ทุกวาง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 116	ระนอง	กุ่มน้ำ	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RN 416	ระนอง	กุ่มน้ำ	1	100.00 (1)	0.00 (0)
<i>B. cratevoides</i> **	KA (A) 1	กาฬสินธุ์	บวบขม	10	100.00 (10)	25% (2)
<i>B. cratevae</i> **	KB (S) 26	กาญจนบุรี	ตำลึง	18	100.00 (18)	11.1% (2)
	NK (A) 11	หนองคาย	บวบขม	10	100.00 (10)	20% (2)
<i>B. cucurbitae</i>	NT (I) 26	นครศรีธรรมราช	ดอกชี่กาแดง	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	PH (M) 6	เพชรบุรี	ดอกชี่กาแดง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PH (M) 9	เพชรบุรี	ดอกชี่กาลาย	5	100.00 (5)	0.00 (0)

ตารางที่ 7.1 (ต่อ)

ชนิดของ แมลงวันผลไม้	รหัส	จังหวัด	พืชอาศัย	จำนวน ทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
					12S ¹	ftsZ ²
<i>B. diaphoropsis</i> <i>B. diversa</i>	RB (C) 11	ราชบุรี	ดอกผักทอง	10	100.00 (10)	-
	SK (D) 5	สกลนคร	ดอกผักทอง	4	75.00 (3)	66.7% (2)
	UB (F) 8	อุบลราชธานี	-	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	YL (A) 4	ยะลา	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	MS (E) 5	แม่ฮ่องสอน	มะตังต้น	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	AC (C) 1	อำนาจเจริญ	ดอกผักทอง	10	100.00 (10)	40% (4)
	CM (V) 15	เชียงใหม่	ดอกบวบขม	1	100.00 (1)	0.00 (0)
	KB (S) 38	กาญจนบุรี	ดอกบวบขม	10	100.00 (9)	0.00 (0)
	MS (E) 10	แม่ฮ่องสอน	ดอกผักทอง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	PE (U) 49	เพชรบูรณ์	ดอกน้ำเต้า	19	100.00 (19)	0.00 (0)
	RB (C) 14	ราชบุรี	ดอกผักทอง	12	100.00 (12)	0.00 (0)
	RB (C) 8	ราชบุรี	ดอกน้ำเต้า	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	RN 537	ระนอง	ดอกผักทอง	4	100.00 (4)	50% (2)
	KB (T) 11	กาญจนบุรี	ดอกขี้กาแดง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	CM (A) 5	เชียงใหม่	ดอกบวบขม	1	100.00 (1)	0.00 (0)
<i>B. diversoides</i> ^{**} <i>B. dorsalis</i>	CM (Z) 13	เชียงใหม่	มะตูก	20	90.00 (18)	0.00 (0)
	CP (I) 27	ชุมพร	ส้มจี๊ด	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	CP (I) 37	ชุมพร	ชมพูดักดา	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	CP (I) 38	ชุมพร	หาดสำเภา	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	CP (J) 8	ชุมพร	-	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	CP (K) 2	ชุมพร	ชมพูเขี้ยว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	CP (K) 3	ชุมพร	หูกวาง	4	100.00 (4)	0.00 (0)
	CP (L) 2	ชุมพร	ละมุดสวรรค์	10	100.00 (9)	0.00 (0)
	KB (S) 16	กาญจนบุรี	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	KB (S) 18	กาญจนบุรี	ชมพูดักดา	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	MS (E) 17	แม่ฮ่องสอน	ฝรั่งไทย	10	100.00 (10)	40% (4)
	PB (F) 1	ปราจีนบุรี	หูกวาง	5	100.00 (5)	40% (2)
	PG (G) 29	พังงา	โศกอินเดีย	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PK (C) 35	ประจวบคีรีขันธ์	กล้วยหอมแขก	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	PU (A) 2	ภูเก็ต	ชมพูมะเหมี่ยว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PU (A) 10	ภูเก็ต	ชมพูพลาสติก	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PU (A) 11	ภูเก็ต	โศกอินเดีย	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	PU (B) 1	ภูเก็ต	ฝรั่งไทย	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PU (C) 2	ภูเก็ต	พุทราแก้ว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN (A) 24	ระนอง	ผลพิทูล	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN (A) 31	ระนอง	ฝรั่งไทย	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN (C) 10	ระนอง	กล้วย	10	100.00 (9)	0.00 (0)
	RN (C) 12	ระนอง	มะหาดโหมด	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	RN 522	ระนอง	ชมพูเขี้ยว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 626	ระนอง	กล้วยป่า	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 636	ระนอง	ชมพู	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	RN 639	ระนอง	เมื่อยก้าน	10	100.00 (10)	0.00 (0)

ตารางที่ 7.1 (ต่อ)

ชนิดของ แมลงวันผลไม้	รหัส	จังหวัด	พืชอาศัย	จำนวน ทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
					12S ¹	ftsZ ²
<i>B. expandens</i>	RN 641	ระนอง	ฝรั่งไล่ขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 645	ระนอง	หาดสำเภา	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 646	ระนอง	หว้ามาเลย์	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	SP (C) 1	สุพรรณบุรี	ชมพูแขกดำ	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	TK (C) 2	ตาก	ทุกวาง	8	100.00 (8)	12.5% (1)
	UD (C) 1	อุดรธานี	พุทราแก้ว	10	80.00 (8)	0.00 (0)
	CM (Z) 22	เชียงใหม่	-	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PE (U) 46	เพชรบูรณ์	-	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	KB (S) 12	กาญจนบุรี	ดอกบวบขม	3	66.67 (2)	0.00 (0)
	SR (M) 14	สระบุรี	การะเวก	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	NT (F) 3	นครศรีธรรมราช	มะหาด	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	NT (L) 1	นครศรีธรรมราช	ดอกฟักทอง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RB (C) 5	ราชบุรี	-	6	100.00 (6)	0.00 (0)
	CM (2) 13	เชียงใหม่	-	20	90.00 (18)	0.00 (0)
	KR (E) 3	กระบี่	ดอกขี้กาตาย	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	PH (M) 10	เพชรบุรี	ดอกขี้กาตาย	10	100.00 (10)	60% (6)
	RN	ระนอง	ดอกฟักทอง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RN 332	ระนอง	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RN 577	ระนอง	แสงใจเถา	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	RB (C) 18	ราชบุรี	ผลฟักข้าว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 532	ระนอง	ชมพูแดง	5	100.00 (5)	0.00 (0)
	RN 543	ระนอง	เทพรส	5	100.00 (5)	0.00 (0)
<i>B. nongensis</i> **	RN 233	ระนอง	พิกุลป่า	2	100.00 (2)	50% (1)
<i>B. nigroabdominalis</i> **	PB (D) 4	ปราจีนบุรี	ส้มโอม	10	90.00 (9)	0.00 (0)
<i>B. operculata</i> **	PE (U) 40	เพชรบูรณ์	ส้มโอม	7	100.00 (7)	0.00 (0)
<i>B. near papayae</i> **	MS (E) 17	แม่ฮ่องสอน	ฝรั่งไทย	7	100.00 (7)	28.6% (2)
<i>B. payena</i> **	KB (S) 53	กาญจนบุรี	แดงโมป่า	10	100.00 (10)	0.00 (0)
<i>B. propinqua</i>	PH (M) 9	เพชรบุรี	แดงโมป่า	10	100.00 (10)	0.00 (0)
<i>B. pyrifoliae</i>	KB (S) 50	กาญจนบุรี	ผลฟักข้าว	10	100.00 (10)	40% (4)
<i>B. rubella</i>	-	-	ดอกฟักทอง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
<i>B. samlanensis</i> **	RB (U) 11	ราชบุรี	-	5	100.00 (5)	40% (2)
<i>B. scutellaris</i>	CM (Y) 1	เชียงใหม่	ดอกขี้กาแดง	20	95.00 (19)	0.00 (0)
<i>B. siphonodosa</i> **	CP (J) 9	ชุมพร	ดอกขี้กาแดง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
<i>B. tau</i>	KB (U) 12	กาญจนบุรี	ดอกขี้กาแดง	28	100.00 (28)	0.00 (0)
	KB (C) 10	กาญจนบุรี	แฟง (ผลอ่อน)	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	KB (S) 26	กาญจนบุรี	ตำลึง	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	KB (S) 48	กาญจนบุรี	ดอกขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	KB (T) 7	กาญจนบุรี	แฟง (ผลอ่อน)	10	100.00 (10)	30% (3)
	KB (U) 8	กาญจนบุรี	ผลกระดอม	10	100.00 (10)	20% (2)
	KB (U) 14	กาญจนบุรี	บวบขม	9	100.00 (9)	0.00 (0)
	KR (E) 4	กระบี่	ดอกขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	NA (E) 4	น่าน	บวบขม	1	100.00 (1)	0.00 (0)

ตารางที่ 7.1 (ต่อ)

ชนิดของ แมลงวันผลไม้ ⁺⁺	รหัส	จังหวัด	พืชอาศัย	จำนวน ทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
					12S ¹	<i>ftsZ</i> ²
B. tonrianensis ⁺⁺	NT (I) 26	นครศรีธรรมราช	ดอกขี้กาแดง	7	100.00 (7)	0.00 (0)
	PE	เพชรบูรณ์	บวบเหลี่ยม	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	PG (B) 117	พังงา	ดอกขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PH (M) 6	เพชรบุรี	ผลขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PH (M) 5	เพชรบุรี	ผลขี้กาแดง	20	100.00 (20)	0.00 (0)
	PH (M) 9	เพชรบุรี	ขี้กาลาย	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PL (C) 1	พัทลุง	ขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN (A) 25	ระนอง	ผลขี้กาแดง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	SI (I) 3	สุราษฎร์ธานี	ดอกขี้กาขาว	17	100.00 (17)	0.00 (0)
	SK (D) 5	สกลนคร	ดอกพิกทอง	4	100.00 (4)	50% (2)
	SO (A) 8	สงขลา	ผลขี้กาแดง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	SO (D) 1	สงขลา	ผลขี้กาขาว	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	PY	พะเยา	-	10	100.00 (10)	0.00 (0)
	RN 296	ระนอง	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
	B. trichosanthes ⁺⁺	ชุมพร	ขี้กาแดง	2	100.00 (2)	0.00 (0)
<i>B. tuberculata</i>	RN 648	ระนอง	กระโดน	6	100.00 (6)	0.00 (0)
<i>B. verbascifoliae</i>	PE (U) 36	เพชรบูรณ์	ตบยาง	10	100.00 (10)	0.00 (0)
<i>B. umbrosa</i>	NT (B) 2	นครศรีธรรมราช	-	15	100.00 (15)	0.00 (0)
	RN (E) 23	ระนอง	-	1	100.00 (1)	0.00 (0)
<i>C. vesuviana</i>	UD (A) 1	อุดรธานี	-	2	100.00 (2)	0.00 (0)
D. distillatoria	NM (A) 1	นครพนม	บวบขม	8	100.00 (8)	37.5% (3)
	UB (I) 2	อุบลราชธานี	บวบขม	3	100.00 (3)	33.3% (1)

+ A = *Anomoia*, B = *Bactrocera*, C = *Capomyia*, D = *Dacus*

++ ชนิดใหม่ที่ยังไม่ได้มีการตั้งชื่ออย่างเป็นทางการ

¹ Primer ที่ออกแบบจาก 12S r-RNA ใช้ตรวจสอบคุณภาพของ DNA ที่สกัดจากแมลงโดยทั่วไป

² Primer จำเพาะสำหรับตรวจหาชิ้นส่วนยีน *ftsZ* ของ *Wolbachia*

ตารางที่ 7.2 ผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในแมลงเบียนชนิด *D. longicaudata* และ *Biosteres arisanus* ของแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ โดยเทคนิค PCR

ชนิดของ แตนเบียน	ชนิดของ แมลงวันผลไม้ ให้อาศัย	พืชอาศัย	จังหวัด	จำนวน ทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ Positive โดย PCR	
					12S ¹	FtsZ ²
<i>D. longicaudata</i>	<i>B. diversa</i> <i>B. caudata</i>	ดอกขี้กาแดง	แม่ฮ่องสอน	7	100.00 (7)	28.58 (2)
<i>D. longicaudata</i>	<i>A. kraussi</i>	ช้องแมว	พิษณุโลก	9	100.00 (9)	11.11 (1)
<i>D. longicaudata</i>	B. axillaris *	มะกอกป่า	แม่ฮ่องสอน	10	100.00 (10)	60.00 (6)
<i>B. arisanus</i>	<i>B. dorsalis</i>	หมากกล้วย	เพชรบูรณ์	8	100.00 (8)	62.50 (5)
<i>B. arisanus</i>	<i>B. pyrifoliae</i> <i>B. dorsalis</i>	ฝรั่งไทย	แม่ฮ่องสอน	3	100.00 (3)	100.00 (3)
<i>B. arisanus</i>	B. axillaris *	มะกอกหนัง	แม่ฮ่องสอน	7	100.00 (7)	42.86 (3)
<i>B. arisanus</i>	<i>B. dorsalis</i> <i>B. carambolae</i>	มะเฟือง	ชุมพร	6	100.00 (6)	83.33 (5)
<i>Biosteres</i> sp.	<i>B. modica</i>	ดอกกระดอม	ชุมพร	11	100.00 (11)	90.90 (10)

¹ Primer ที่ออกแบบจาก 12S r-RNA ใช้ตรวจสอบคุณภาพของ DNA ที่สกัดจากแมลงโดยทั่วไป

² Primer จำเพาะสำหรับตรวจหาชิ้นส่วนยีน *ftsZ* ของ *Wolbachia*

* ชนิดใหม่ที่ยังไม่ได้มีการตั้งชื่ออย่างเป็นทางการ

ตารางที่ 7.3 ผลการสำรวจหา *Wolbachia* ในยุงก้นปล่องชนิดต่าง ๆ โดยเทคนิค PCR

ชนิดของ ยุงก้นปล่อง	จังหวัด	จำนวนทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
			12 S ¹	<i>ftsZ</i> ²
<i>An. aconitus</i>	แม่ฮ่องสอน	5	100.00 (5)	0.00 (5)
	ปัตตานี	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ตาก	5	100.00 (5)	0.00 (5)
<i>An. annularis</i>	เชียงใหม่	7	100.00 (7)	0.00 (7)
	แม่ฮ่องสอน	2	100.00 (2)	0.00 (2)
	ตาก	2	100.00 (2)	0.00 (2)
<i>An. barbirostris</i>	เชียงใหม่	2	100.00 (2)	0.00 (2)
	แม่ฮ่องสอน	3	100.00 (3)	0.00 (3)
	กำแพงเพชร	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ตาก	6	100.00 (6)	0.00 (6)
<i>An. culicifacies</i> s.l.	เชียงใหม่	2	100.00 (2)	0.00 (2)
<i>An. dirus</i> A	แม่ฮ่องสอน	20	85.00 (17)	0.00 (20)
	กาญจนบุรี	8	100.00 (8)	0.00 (8)
<i>An. dirus</i> C	กาญจนบุรี	10	80.00 (8)	0.00 (10)
<i>An. dirus</i> D	แม่ฮ่องสอน	9	89.47 (8)	0.00 (9)
	กาญจนบุรี	1	100.00 (1)	0.00 (1)
<i>An. dravidicus</i>	เชียงใหม่	1	100.00 (1)	0.00 (1)
<i>An. hyrcanus</i> group	เชียงใหม่	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	เชียงราย	19	89.47 (17)	0.00 (19)
	กาญจนบุรี	4	100.00 (4)	0.00 (4)
<i>An. jamesii</i>	เชียงใหม่	6	100.00 (6)	0.00 (6)
	ตาก	9	100.00 (9)	0.00 (9)
<i>An. kochi</i>	แม่ฮ่องสอน	7	100.00 (7)	0.00 (7)
	ตาก	6	100.00 (6)	0.00 (6)
<i>An. maculatus</i>	เชียงใหม่	2	100.00 (2)	0.00 (2)
	กาญจนบุรี	24	91.67 (22)	0.00 (24)
	กำแพงเพชร	4	100.00 (4)	0.00 (4)
	แม่ฮ่องสอน	26	80.77 (21)	0.00 (26)
	ตาก	3	100.00 (3)	0.00 (3)
<i>An. minimus</i> s.l	แม่ฮ่องสอน	22	100.00 (22)	0.00 (22)
	กาญจนบุรี	24	100.00 (24)	0.00 (24)
	ตาก	5	100.00 (5)	0.00 (5)
	กำแพงเพชร	4	100.00 (4)	0.00 (4)
<i>An. nivipes</i>	เชียงใหม่	13	100.00 (13)	0.00 (13)

ตารางที่ 7.3 (ต่อ)

ชนิดของยุงก้นปล่อง	จังหวัด	จำนวนทั้งหมด	% (จำนวน) ที่ positive โดย PCR	
			12 S ¹	ftsZ ²
<i>An. peditaeniatus</i>	กำแพงเพชร	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	กาญจนบุรี	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ประจวบคีรีขันธ์	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ตาก	10	100.00 (10)	0.00 (10)
	อุบลราชธานี	2	100.00 (2)	0.00 (2)
<i>An. pseudowillmori</i>	ตาก	10	99.00 (9)	0.00 (10)
<i>An. sawadwongporni</i>	กำแพงเพชร	7	100.00 (7)	0.00 (7)
	ตาก	6	100.00 (6)	0.00 (6)
<i>An. splendidus</i>	เชียงใหม่	3	100.00 (3)	0.00 (3)
	แม่ฮ่องสอน	8	100.00 (8)	0.00 (8)
	ตาก	13	100.00 (13)	0.00 (13)
<i>An. subpictus</i>	สตูล	17	100.00 (17)	0.00 (17)
<i>An. tessellatus</i>	กระบี่	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	กำแพงเพชร	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	พังงา	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ตาก	10	100.00 (10)	0.00 (10)
<i>An. vagus</i>	เชียงใหม่	6	100.00 (6)	0.00 (6)
	แม่ฮ่องสอน	3	100.00 (3)	0.00 (3)
	พิษณุโลก	1	100.00 (1)	0.00 (1)
	ตาก	4	100.00 (4)	0.00 (4)
<i>An. varuna</i>	ตาก	1	100.00 (1)	0.00 (1)

¹ Primer ที่ออกแบบจาก 12S r-RNA ใช้ตรวจสอบคุณภาพของ DNA ที่สกัดจากแมลงโดยทั่วไป² Primer จำเพาะสำหรับตรวจหาชิ้นส่วนยีน *ftsZ* ของ *Wolbachia*

	5	15	25	35	45
<i>Ae.alboA</i>	TAGCTACTAC	ATTTCGTTTGC	AATACAACGG	TGAATTTTTA	CCTCTTTTCA
<i>D.simRiv</i>	C	G.....	...C..C..	...A.....	...C..TT..
<i>G.mors</i>	C		...C..C..	...A.....	...C..TT..
<i>Cx.pipiens</i>	T		...T..T..	...G.....	...T..AAA.
<i>Ae.alboB</i>	T		...T..T..	...G.....	...T..AAA.
<i>D.simHaw</i>	C		...C..C..	...A.....	...C..TT..
<i>Biosteres.sp</i>					
<i>D.long</i>					
<i>B.caudata</i>				...G.....	...T..AAA.
<i>B.modica</i>	T	G..	...T..T..	...G.....	...T..AAA.
	55	65	75	85	95
<i>Ae.alboA</i>	CAAAAGTTGA	TGGTATTACC	TATAAGAAAG	ACAAGAGTGA	TTACAGTCCA
<i>D.simRiv</i>	A....	A.....GAA	A..G.	CC.CAGACAT	.C.T.A...A
<i>G.mors</i>	G....	T.....ACC	G....	AC.AT.GT.A	.T.C.G...A
<i>Cx.pipiens</i>	...G.....	C..C.....		GA..C..A..	...G....T
<i>Ae.alboB</i>	...G.....	C..C.....		GA..C..A..	...G....
<i>D.simHaw</i>	G....	T...GC.AC.	GG.GCT...A	AG.AGACT.C	GG...C.GA.
<i>Biosteres.sp</i>					
<i>D.long</i>	G....	T.....ACC	G....	AC.AGAGT.A	.T.C.G...A
<i>B.caudata</i>	...G.....	C..C.....		GA..C..A..	...G....
<i>B.modica</i>	...G.....	C..C.....		GA..C..A..	...G....
	105	115	125	135	145
<i>Ae.alboA</i>	-----	-----TTAAA	ACCATCTTTT	ATAGCTGGTG	GTGGTGCATT
<i>D.simRiv</i>	-----	-----	.G.....	.A.....	-----
<i>G.mors</i>	-----	-----	...GC.....	.A.T.....	-----G..
<i>Cx.pipiens</i>	-----	-----	-----	.G.....	...C.....
<i>Ae.alboB</i>	-----	-----	-----	-----	...C.....
<i>D.simHaw</i>	ACAACTACTG	ACCTT.AT..	...T.....	-----	-----
<i>Biosteres.sp</i>	.CAACTACNG	ACCTT.AT..	...T.....	C.	-----
<i>D.long</i>	-----	-----	.C.....	.A.....	-----
<i>B.caudata</i>	-----	-----	-----	-----	...C.....
<i>B.modica</i>	-----	-----	-----	-----	...C.....
	155	165	175	185	195
<i>Ae.alboA</i>	TGGTTACAAA	ATGGACGACA	TCAGGGTTGA	TGTTGAAGGA	GTTTATTTCAT
<i>D.simRiv</i>				G	C.....C
<i>G.mors</i>					G.....T
<i>Cx.pipiens</i>	T...	T.		...G...	...C....
<i>Ae.alboB</i>	T...	T.		...G...	...C....
<i>D.simHaw</i>			...A....	G	...G....
<i>Biosteres.sp</i>			...A....	G	...G....
<i>D.long</i>	...C.....				G.....T
<i>B.caudata</i>	T...	T.		...G...	...C....
<i>B.modica</i>	T...	T.		...G...	...C....
	205	215	225	235	245
<i>Ae.alboA</i>	ACCTAAACAA	AAATGATGTT	AAAGATGTAG	TATTTACCCC	AGCAGATACT
<i>D.simRiv</i>	.G.....	T..	.CA.G..C.G	C.....AC..	---GA.A.T
<i>G.mors</i>	.C.....	T..	.CA.A...A	A.....G..	---GA.A.T
<i>Cx.pipiens</i>	.A.....	...C..C..	.GT.....	T..	.A..AC.---

ภาพที่ 7.1 แสดงลำดับ DNA จากชิ้นส่วน outer surface protein gene ของ *Wolbachia* (*wsp*) ที่พบในแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera caudata* และ *B. modica* และในแมลงเบียนชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* และ *Biosteres arisanus* เปรียบเทียบกับลำดับ DNA ของ outer surface protein gene ของ *Wolbachia* ที่พบในแมลงชนิดอื่น ๆ

<i>Ae.alboB</i>	. A.	. . . C. . C. .	GGT.	 G. . . .	 - - -
<i>D.simHaw</i>	. G. . . . G. . .	GG. . ACAC. .	- - - - - G	ATG. AG. . . .	T. . TC. AG. A
<i>Biosteres.sp</i>	. G. . . . G. . .	GG. . ACAC. .	- - - - - G	ATG. AG. . . .	T. . TC. AG. A
<i>D.long</i>	. C.	 T. . .	. AA. A. . T. .	 GAC. .	. G. . . A. A. T
<i>B.caudata</i>	. A.	. . . C. . C. .	. GT.		 - - -
<i>B.modica</i>	. A.	. . . C. . C. .	. GT.		 - - -

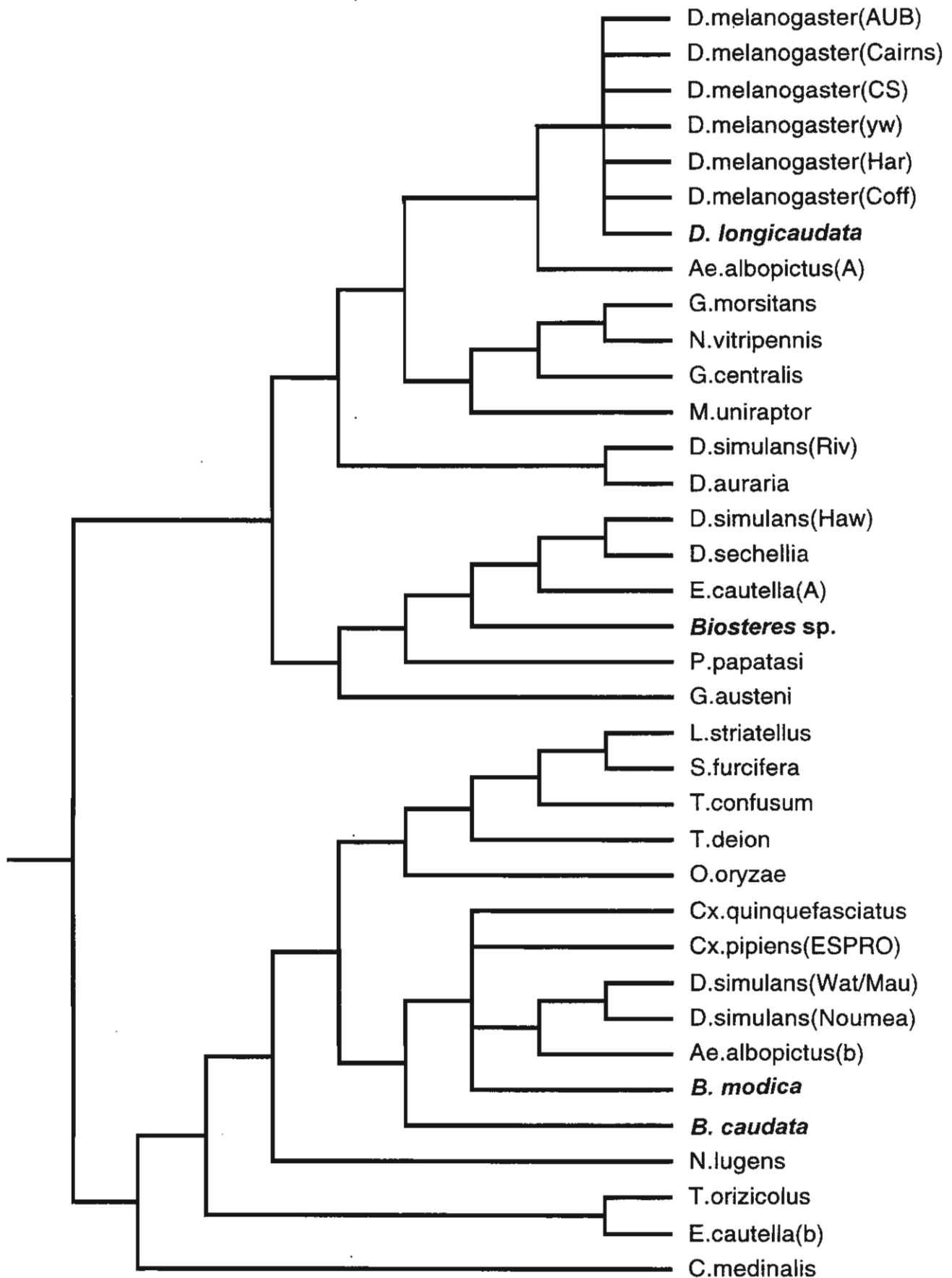
	<u>255</u>	<u>265</u>	<u>275</u>	<u>285</u>	<u>295</u>
<i>Ae.alboA</i>	ATTGCGAACA	GTTTAACAGC	AATTTTCAGGA	CTAGTTAACG	TTTATTACGA
<i>D.simRiv</i>	G. . . . AG. . .	. . . T.	. A. G	C.	
<i>G.mors</i>	 G. . .	. . . T.	. A.	C.	
<i>Cx.pipiens</i>	G.	. . . G. GG. . .	. T.	T. G.	
<i>Ae.alboB</i>	G.	. . . GG. . . T		. G.	
<i>D.simHaw</i>	 G. . .	. . . T.			
<i>Biosteres.sp</i>	 G. . .	. . . T.			
<i>D.long</i>	 G. . .		. A.	 G. . . .	. G.
<i>B.caudata</i>	G.	. . . GG. . .		. G.	
<i>B.modica</i>	G.	. . . GG. . .		. G.	

	<u>305</u>	<u>315</u>	<u>325</u>	<u>335</u>	<u>345</u>
<i>Ae.alboA</i>	TATAGCAATT	GAAGATATGC	CTATCACTCC	ATATGTTGGT	GTTGGTGTTG
<i>D.simRiv</i>				. . . T. . . .	
<i>G.mors</i>				. . . TA. . . .	
<i>Cx.pipiens</i>	 G. . .			. . . C. . . .	
<i>Ae.alboB</i>	 G. . .				
<i>D.simHaw</i>				. . . T. . . .	
<i>Biosteres.sp</i>				. . . T. . . .	
<i>D.long</i>				. . . A. . . .	
<i>B.caudata</i>	 G. . .				
<i>B.modica</i>	 G. . .				

	<u>355</u>	<u>365</u>	<u>375</u>	<u>385</u>	<u>395</u>
<i>Ae.alboA</i>	GTGCAGCGTA	TGTCAGCACT	CCTTTGAAAA	CCGCTATA - -	- AATAATCAA
<i>D.simRiv</i>		. A. T.	 A. . G	A. . . . GTG - -	- . . . G. . . .
<i>G.mors</i>		. . . T.	 A. . .	A. TG - -	-
<i>Cx.pipiens</i>	 A. . .	 A. . .	 CAG. . .	. TAG. . C. GT	T. . A.
<i>Ae.alboB</i>	 A. . .	 A. . .	 CA. . . .	. TAG. . . . GT	T. . A.
<i>D.simHaw</i>		. . . T. . . . A	 C. A	 TG - -	- . G. AG. . . .
<i>Biosteres.sp</i>		. . . T. . . . A	 C. A	 G - -	- . G. AG. . . .
<i>D.long</i>		. . . T.	 C	 TG - -	-
<i>B.caudata</i>	 A. . .	 A. . .	 CA. . . .	. TAG. . . . GT	T. . A.
<i>B.modica</i>	 A. . .	 A. . .	 CA. . . .	. TAG. . . . GT	T. . A.

	<u>405</u>	<u>415</u>	<u>425</u>	<u>435</u>	<u>445</u>
<i>Ae.alboA</i>	AACAGTAAAT	TTGGTTTTGC	TGGTCAAGTA	AAAGCTGGTG	TCAGCTATGA
<i>D.simRiv</i>	. . AA.		 T. . .		. T. . T. . . .
<i>G.mors</i>	. . . A.		 T. . .		
<i>Cx.pipiens</i>	. . . - - - GG. .		. TA. C.		
<i>Ae.alboB</i>	. . . - - - GG. .		. TA.		
<i>D.simHaw</i>	. . TG.	. . . C.		. G.	. C. . C. . . .
<i>Biosteres.sp</i>	. . TG.	. . . C.		. G. C.	. C. . C. . . .
<i>D.long</i>	. . . A.		 T. . .		
<i>B.caudata</i>	. . . - - - GG. .		. TA.		
<i>B.modica</i>	. . . - - - GG. .		. TA.		

	455	465	475	485	495
<i>Ae.alboA</i>	TGTA ACTCCA	GAAGTCAAAC	TTTATGCTGG	AGCTCGTTAT	TTCGGTTCTT
<i>D.simRiv</i>		... G.	. T.		
<i>G.mors</i>	 G	... G.	. T.		
<i>Cx.pipiens</i>	 C. .	... A.	. C. T.	. T.	... T.
<i>Ae.alboB</i>	 C. .	 G. .	. T.	. T.	... T.
<i>D.simHaw</i>	CA.		... C.		
<i>Biosteres.sp</i>	CA.		... C.		
<i>D.long</i>		... G. .	. T.		
<i>B.caudata</i>	 C. .		... T.	. T.	... T.
<i>B.modica</i>	 C. .		... T.	. T.	... T.
	505	515	525	535	545
<i>Ae.alboA</i>	TTGGTGCTCA	CTTTGATAGC	GAAACTACTG	GTGCAGATAA	CAAAAAAGTA
<i>D.simRiv</i>	T. C.	T. AA	-----	-----G.	TACTGCT. C.
<i>G.mors</i>	T. C.		-----	-----	. ---G. T. CT
<i>Cx.pipiens</i>	A. AG	... A.	... G. AGTAT	CA-----	-----
<i>Ae.alboB</i>	 G	... A.	... A. AGT. T	CA-----	-----
<i>D.simHaw</i>	T. T. C.		-----	-----	. ACTG. T. C.
<i>Biosteres.sp</i>	T. C.		-----	-----	. ACTG. T. C.
<i>D.long</i>		... GG.	A. . AAAAC. G	ATCCTAAA. .	. TCAA. CAG.
<i>B.caudata</i>	 G	... A.	... G. AGT. T	CA-----	-----
<i>B.modica</i>	. N. G	... A.	... G. NGT. T	CA-----	-----
	555	565	575		
<i>Ae.alboA</i>	GTTACCAAAG	ATGCA-----	-TACAAAGTT	CTT	
<i>D.simRiv</i>	. CAAG.	. CAAGGGGGA	ACT.	...	
<i>G.mors</i>	. CAGG.	. C. AA. . G. .	. C.	...	
<i>Cx.pipiens</i>	-----	C. . . TAAA. .	GA. . . . T. . C	...	
<i>Ae.alboB</i>	-----	C. . . TAAA. .	GA. . . . C. . .	...	
<i>D.simHaw</i>	. CAAG.	. C. AG. . G. .	. C.	...	
<i>Biosteres.sp</i>	. CAAG.	. C. AG. . G. .	. C.	...	
<i>D.long</i>	CAGGTT. CT.	. . G. A. . C. C	. TA.	...	
<i>B.caudata</i>	-----	C. . . TAAA. .	GA. . . NT. . C	...	
<i>B.modica</i>	-----	C. . . TAAA. .	GA. . . . T. . C	...	



ภาพที่ 7.2 แสดงความสัมพันธ์ตามสายวิวัฒนาการของ *Wolbachia* สายพันธุ์ที่พบในแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera caudata* และ *Bactrocera modica* และที่พบในแมลงเบียนชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* และ *Biosteres arisanus* กับ *Wolbachia* สายพันธุ์ที่พบในแมลงชนิดอื่น ๆ โดยใช้ PAUP program

พันธุกรรมสัญจร

นักพันธุศาสตร์ในอดีตมีความเชื่อว่าหน่วยพันธุกรรมหรือยีนเรียงตัวกันตามลำดับอย่างเป็นระบบและเป็นระเบียบอย่างถาวรภายในโครโมโซม ยีนหรือดีเอ็นเอมีรหัสสำหรับควบคุมการสังเคราะห์โปรตีนโดยการเปลี่ยนถ่ายรหัสพันธุกรรมผ่านมาทางอาร์เอ็นเอ (DNA→RNA→โปรตีน) การศึกษาด้านชีววิทยาเชิงโมเลกุลในเวลาต่อมาพบว่ามียีนดีเอ็นเอจำนวนมากที่มีลำดับเบสซ้ำ ๆ กัน เรียกรวมกันว่า “repetitive DNA sequence” กระจายอยู่ในโครโมโซม พวก repetitive DNA บางส่วนมีสมบัติเคลื่อนย้ายตำแหน่งได้ภายในโครโมโซมจึงเรียก repetitive DNA ประเภทนี้ว่า พันธุกรรมสัญจร (transposable element หรือ TE) ซึ่งมีอยู่ 4 รูปแบบ คือ retrotransposon element, retroviral-like element, foldback element, และ short inverted terminal repeat element ตัวอย่างพันธุกรรมสัญจรประเภทหลังนี้ได้แก่ *P* element, *mariner* element และ *hobo* element ทั้งหมดนี้พบเป็นครั้งแรกในแมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) หน่วยพันธุกรรมสัญจรกลุ่มนี้มีประโยชน์ทางด้านการวิจัยประยุกต์ เช่น เป็นตัวนำพา ยีนที่มีสมบัติต้านทานเชื้อจุลชีพก่อโรค (pathogen) ในแมลงพาหะเพื่อให้ยีนนั้นแพร่กระจายไปในประชากรธรรมชาติของแมลงพาหะ ซึ่งเป็นวิธีการควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อจุลชีพก่อโรคนั้นโดยวิธีการทางพันธุกรรมอย่างมีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง หรือช่วยในการทำแผนที่ยีนและการวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรของแมลงได้เป็นอย่างดี

มีการศึกษาพันธุกรรมสัญจรเหล่านี้ในแมลงชนิดอื่น ๆ ในหลายประเทศ แต่ยังไม่เคยมีการศึกษาในทำนองเดียวกันนี้ในประเทศไทยและในภูมิภาคเอเชีย กลุ่มนักวิจัยของเราเป็นกลุ่มแรกที่ได้เริ่มศึกษาค้นคว้าหาพันธุกรรมสัญจรกลุ่มนี้ในแมลงวันผลไม้และยุงชนิดต่าง ๆ ในโครงการนี้ เพื่อสำรวจค้นหาข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับพันธุกรรมสัญจรดังกล่าวที่อาจเป็นประโยชน์ทางวิชาการและการวิจัยเชิงประยุกต์ต่อไป

8.1 พันธุกรรมสัญจร *hobo*-like elements

การศึกษา *hobo*-like elements เริ่มจากการสำรวจในฐานข้อมูล GenBank ว่าผู้มีใดศึกษายีนนี้ในแมลงวันผลไม้ชนิดใดบ้างในสกุล *Bactrocera* และพบว่า Gomez และ Handler ระบุว่า มีบริเวณที่ถูกเก็บรักษาไว้ในสายวิวัฒนาการบริเวณ gene transposase ของพันธุกรรมสัญจรในตระกูลใหญ่ คือ *hAT* elements (*h*, *A* และ *T* elements ย่อมาจาก พันธุกรรมสัญจรตระกูล *hobo*, *Ac*, และ *Tam* ตามลำดับ) บริเวณที่ถูกเก็บรักษาไว้นี้มีอยู่ในจีโนมของแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis* และชนิด *B. cucurbitae* ดังนั้นการสำรวจพันธุกรรมสัญจรขั้นปฏิบัติการของเราจึงเริ่มต้นด้วยการออกแบบ PCR primers หนึ่งคู่จากฐานข้อมูลข้างต้นและความรู้ในเชิงวิวัฒนาการ

ต่อมาพบว่าสามารถใช้ primers ดังกล่าวขยายส่วนรหัสพันธุกรรมขนาดประมาณ 470 คู่เบสจากจีโนมของ *Bactrocera tau* s.s. เมื่อทำการโคลนและถอดรหัสพันธุกรรมแล้วพบว่าพันธุกรรมส่วนนี้มีขนาดและข้อมูลคล้ายส่วนของยีน transposase ของ *hobo* elements และ *Ac* elements ในขณะเดียวกันนี้ Gomez และ Handler ได้ค้นพบหน่วยพันธุกรรมสัญจรชนิดใหม่ชื่อ *hopper* element โดยมี

รหัส DNA ส่วน transposase คล้ายกันกับรหัสพันธุกรรมของผลผลิต PCR ที่ได้จากจีโนมของ *B. tau* s.s. ในทำนองเดียวกันพันธุกรรมสัญญาณนี้มีความคล้ายคลึงกับ *hopper* transposable element ที่พบใน *Bactrocera dorsalis* (Handler and Gomez, 1997) มากถึง 90% ที่ระดับกรดอะมิโน ในทางตรงกันข้ามเมื่อนำข้อมูลลำดับกรดอะมิโนที่แปลรหัสจากผลผลิต PCR ที่ได้ไปเปรียบเทียบกับเรียงลำดับกับกรดอะมิโนของ *hobo* transposable element พบว่ามีความเหมือนกันที่ระดับกรดอะมิโนไม่เกิน 30% จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าผลผลิต PCR ที่ได้จากจีโนมของ *B. tau* s.s. น่าจะเป็นส่วนหนึ่งของยีน transposase ที่อยู่ภายใน *hopper* transposable element นั้นเอง

เมื่อนำส่วนของ *hopper* transposable element นี้มาพัฒนาเป็น DNA probe ก็พบว่ามีสัญญาณ hybridization กับกลุ่มซับซ้อน *B. tau* complex และ *B. dorsalis* complex ในประเทศไทย ผลการทดลองส่วนนี้เป็นหลักฐานยืนยันเบื้องต้นว่า *hopper* transposable element มีการกระจายอยู่ในจีโนมของกลุ่มประชากรธรรมชาติของแมลงวันผลไม้ชนิดต่าง ๆ ในสกุล *Bactrocera* การศึกษาในระดับประชากรต่าง ๆ พบว่า *hopper* transposable element มีการกระจายตัวทั้งจำนวนและตำแหน่งต่าง ๆ ในจีโนมจากภูมิภาคต่าง ๆ เช่น จากจังหวัดอุบลราชธานี, จังหวัดน่าน, จังหวัดชุมพร จากการนับแถบสัญญาณ hybridization พบว่าน่าจะมี *hopper* transposable element อยู่ประมาณ 4 ถึง 8 ยีนในจีโนมของ *Bactrocera* ชนิดต่าง ๆ

ในการศึกษาหาความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความเป็นไปของ *hopper* transposable element ในจีโนมของแมลงวันผลไม้กลุ่มซับซ้อน เกี่ยวกับพลวัตและบทบาทในเชิงวิวัฒนาการ เช่น ความสามารถในการทำให้เกิดมิวเทชันเป็นต้น โครงการฯ ได้ขยายส่วนของ *hopper* transposable element จากแมลงวันผลไม้กลุ่มซับซ้อนต่าง ๆ ได้แก่ *B. tau*, *B. caudata*, *B. dorsalis*, *B. cucurbitae* complexes โดยนำชิ้นส่วนยาวประมาณ 470 คู่เบสของ *hopper* transposable element มาขยายทำโคลนและอ่านรหัส DNA รวมทั้งแปลรหัสพันธุกรรมให้เป็นลำดับกรดอะมิโน การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการนำเอาข้อมูลดังกล่าวมาเทียบเรียงกันระหว่างสปีชีส์ต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *B. tau* complex ด้วยกันเอง พบว่าในระดับกรดอะมิโนมีความเหมือนกันถึง 68% และในระดับกรดนิวคลีโอไทด์มีความเหมือนกันมากกว่า 90% จากนั้นก็นำเอาผลการเปรียบเทียบรหัส DNA ข้างต้นมาคำนวณหาค่า genetic distance ซึ่งในที่นี้เท่ากับค่า percentage divergence โดยใช้โปรแกรม Clustal W (1.5) จากนั้นก็นำค่าที่คำนวณได้มาสร้างเป็น phylogenetic tree แบบต่าง ๆ พบว่าโดยภาพรวมแล้วรหัส DNA ในส่วนของ *hopper* transposable element มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันตามสายวิวัฒนาการสอดคล้องกับลักษณะทางชีววิทยาลายประการ ได้แก่ ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology), ลักษณะทางคาริโอไทป์ (karyotype), ลักษณะแถบสีเอนไซม์ (electromorph) และชนิดของพืชอาศัย (host plants) (ดูบทที่ 3) ตลอดจนลักษณะชนิดของ DNA บริเวณฮีดร็อก (รายงานทุนเมธีวิจัยสุจินดา ณะภูมิ และสอดคล้องกับความรู้ในทางอนุกรมวิธานในกรณีที่เปรียบเทียบกับ *B. dorsalis* และ *B. cucurbitae*)

ในการเฝ้ากลุ่มซับซ้อน *B. tau* complex โดยเฉพาะในกลุ่มย่อยที่ประกอบด้วยชนิด B, F และ G ซึ่งมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมมากที่สุดก็แสดงให้เห็นว่ามี *hopper* transposable element ที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมมากที่สุดด้วย ข้อมูลนี้อาจแสดงให้เห็นว่ามี *hopper* transposable element เริ่มเข้ามาอยู่ในจีโนมของ *Bactrocera* ก่อนที่จะเกิดการแปลกแยกแตกต่างของแมลงวันผลไม้ในสกุล

ยอย *Bactrocera* และสกุลยอย *Zeugodacus* จึงทำให้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในระดับสปีชีส์สอดคล้องกับความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการในระดับยีนด้วย

อย่างไรก็ตามมีข้อมูลพื้นฐานอีกประการหนึ่งที่แสดงให้เห็นว่าหลังจากที่ *hopper* transposable element ได้เข้ามาอยู่ในจีโนมของสปีชีส์หนึ่งแล้วอาจมีการเคลื่อนที่เข้าออกในแนวราบ (horizontal transfer) ระหว่าง *B. tau* complex ชนิด A และ ชนิด C โดยนักวิจัยในกลุ่มของเราค้นพบวาร์ฮัส DNA ในส่วนของ *hopper* transposable element ที่มาจาก *B. tau* มีความเหมือนกันทุกประการ (ไม่มีระยะห่างทางพันธุกรรมเลย) ทั้ง ๆ ที่ทั้งสองชนิดนี้มีความแตกต่างกันในหลายระดับอื่น ๆ (ดูบทที่ 3) เช่น ระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างส่วนของฮีดรอกซิดจากทั้งสองชนิดทำให้ DNA ต่างกันประมาณ 3% หรือแม้แต่วาระห่างในระดับประชากรธรรมชาติของชนิดเดียวกันยังทำให้ต่างกันได้ประมาณ 1% ปรากฏการณ์ horizontal transfer ของ *hopper* transposable element ระหว่างสปีชีส์ดังกล่าวอาจจะเกี่ยวข้องกับการปรับตัวเข้ากับพืชอาศัยชนิดเดียวกันของชนิด A และชนิด C

เนื่องจากมีหลักฐานแสดงว่า *hopper* transposable element มีการเคลื่อนที่เข้าออกทั้งในระดับจีโนมของสปีชีส์เดียวกันจากประชากรธรรมชาติต่าง ๆ กันและระหว่างจีโนมของสปีชีส์ต่าง ๆ ในกลุ่มซับซ้อน *B. tau* complex จึงทำให้เกิดแนวความคิดการศึกษาขั้นต่อไป คือ การโคลนพันธุกรรมสัญจร *hopper* transposable element ที่ควบคุมสังเคราะห์เอนไซม์ transposase ที่มีความสำคัญสำหรับการเคลื่อนที่ของพันธุกรรมสัญจร ถึงแม้ว่า Handler และ Gomez (1997) จะสามารถโคลนยีน *hopper* transposable element ได้แล้ว แต่ว่ายีนที่โคลนได้เป็นยีนเทียม (pseudogene) เพราะว่ามีรหัส stop codon หลายที่ในยีน transposase นั้นทำให้ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ transposase ได้ ดังนั้นจึงไม่น่าจะเป็นยีนที่สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยตัวเอง (autonomous) กลุ่มนักวิจัยของเราจึงดำเนินการสรรหาและโคลนหน่วยพันธุกรรมสัญจร *hopper* ที่สมบูรณ์กว่าได้สำเร็จ กล่าวคือ มีความยาวทั้งสิ้นประมาณ 3.1 กิโลเบส และมียีน transposase ที่ไม่ถูกขัดด้วย stop codon อยู่ภายในยีนเลย นอกจากนั้นส่วนควบคุมการแสดงออกของยีนและรูปแบบของยีนในเบืองต้นแสดงให้เห็นว่า *hopper* transposable element ที่โคลนได้อาจสามารถเคลื่อนที่ได้ด้วยตัวเอง เมื่อใช้โคลนยีน *hopper* ที่สมบูรณ์กว่านี้เป็น DNA probe ก็จะสามารถศึกษาหาตำแหน่งของ *hopper* transposable element ในแมลงวันผลไม้ได้ทีละตัวและทำให้เข้าใจการเคลื่อนที่และบทบาทของ transposable element ชนิดนี้ในประชากรธรรมชาติได้

8.2 *Mariner* transposable element

พันธุกรรมสัญจร *mariner* element เป็นยีนที่สามารถเคลื่อนที่ได้บนโครโมโซมโดยใช้ DNA เป็นตัวกลาง (DNA intermediate) ยีนที่สามารถเคลื่อนที่ได้บนโครโมโซมนี้ได้รับความสนใจอย่างมากจากนักวิทยาศาสตร์ เพราะมีความเป็นไปได้ที่จะนำพันธุกรรมสัญจรชนิดนี้ไปใช้เป็นพาหะนำพายีน (transformation vector) ในประชากรเพื่อประโยชน์ในการควบคุมแมลงพาหะนำโรคหรือแมลงศัตรูพืชโดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม

การศึกษาในโครงการนี้ได้ดำเนินการตรวจหา *mariner* element ในตัวอย่างยุงก้นปล่องจำนวน 220 ตัว ที่จับได้จากประชากรธรรมชาติจากที่ต่าง ๆ กันทั้งหมด 23 ชนิด ในประเทศไทย และพบ *mariner* element ในยุงก้นปล่อง 9 ชนิด คือ *An. annularis*, *An. dirus* A, C and D, *An. dravidicus*,

An. maculatus, *An. sawadwongporni*, *An. vagus* และ *An. willmori* (ตารางที่ 8.1) การวิเคราะห์หาลำดับเบสใน DNA จากชิ้นส่วนของ *mariner* element ที่พบในยุงก้นปล่องเหล่านี้สามารถจัดอยู่ใน 3 subfamilies ในจำนวนทั้งหมด 5 subfamilies ที่รู้จักกันในขณะนี้ นั่นคือ (1) *An. maculatus*, *An. dirus* A, *An. dirus* C, *An. dravidicus*, *An. sawadwongporni* จัดอยู่ใน Irritans subfamily (2) *An. dirus* D และ *An. sawadwongporni* จัดอยู่ใน Mauritiana subfamily และ (3) *An. vagus* จัดอยู่ใน Mellifera subfamily (ภาพที่ 8.1) จากการเปรียบเทียบค่า Kimura 2-parameter distance ระหว่างสปีชีส์ของยุงก้นปล่องทั้ง 6 ชนิดในประเทศไทยโดยใช้เปรียบเทียบกับยุงก้นปล่องชนิด *An. gambiae* จากทวีปแอฟริกาสะท้อนให้เห็นว่ายุงก้นปล่องเหล่านี้มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมพอสมควร ก่อนที่จะมีเหตุการณ์สปีชีส์เกิดขึ้น จากข้อมูลจะสังเกตเห็นว่า *An. dirus* A และ C มีความใกล้เคียงกันมาก (2.0 และ 2.9) ซึ่งเป็นการยืนยันข้อมูลทางด้านเซลล์พันธุศาสตร์ที่รายงานมาแล้ว (Baimai et al. 1987)

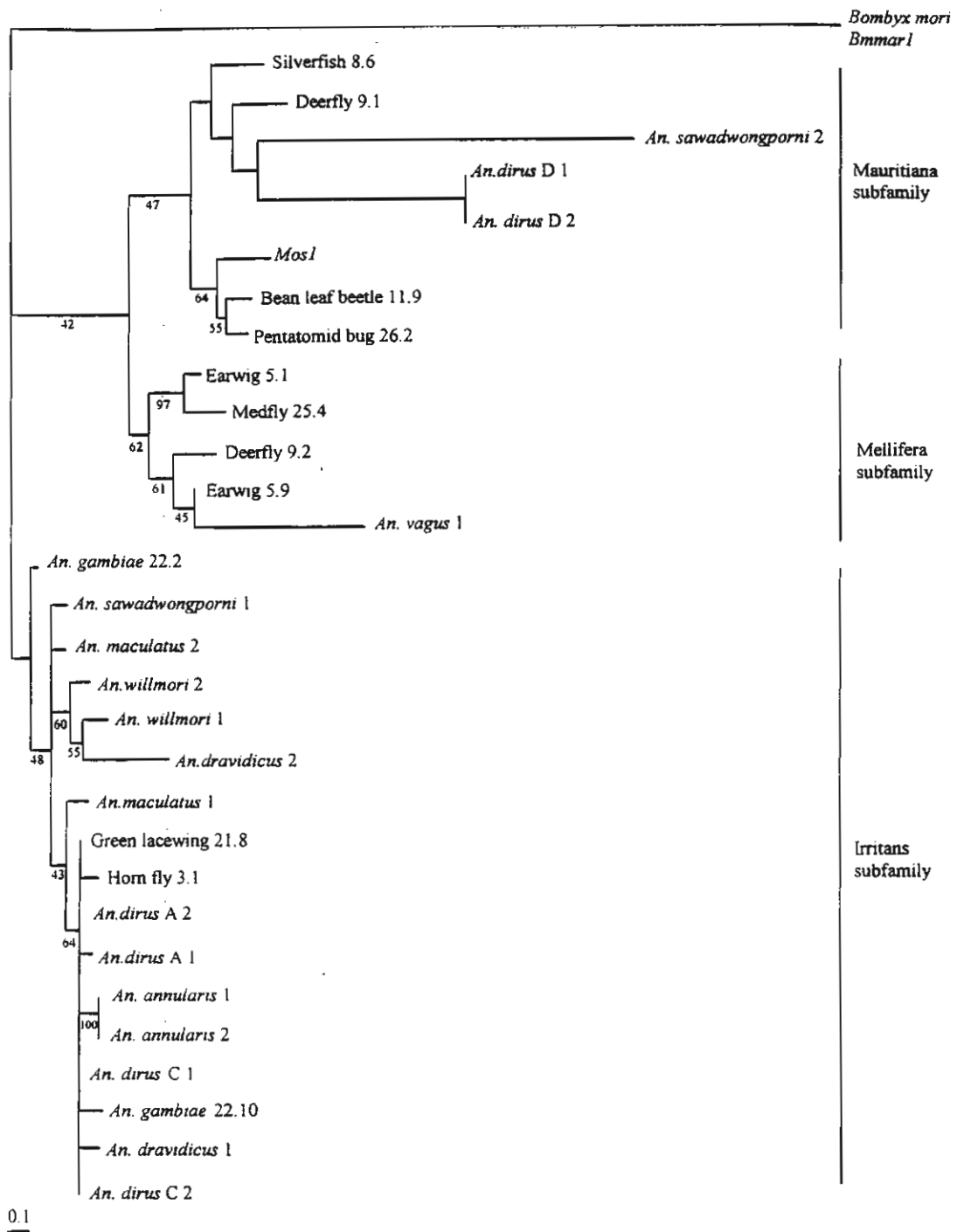
ลำดับเบสใน DNA ของ *mariner* element ที่พบในยุงก้นปล่องเหล่านี้ ส่วนใหญ่มีการกลายพันธุ์หรือมิวเทชัน (mutation) และพบรหัสหยุด (stop codon) มากกว่า 1 ตำแหน่ง ซึ่งอาจสันนิษฐานได้ว่า *mariner* element ที่พบนี้เป็นชนิดที่ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ (nonautonomous) แต่จากข้อมูลที่มียังไม่สามารถสรุปผลได้แน่นอนอันเนื่องมาจากการเคลื่อนที่ของ *mariner* element ซึ่งอาจเกิดจาก trans-acting ในแต่ละ subfamily ของ *mariner* element ในแมลงหลายชนิดโดยเฉพาะในยุงพาหะ ทำให้ความพยายามของนักวิทยาศาสตร์ที่จะใช้ *mariner* element เป็น transformation vector ในแมลงพาหะมีความเป็นไปได้มากขึ้น

ตารางที่ 8.1 ผลการตรวจสอบหา *mariner* element โดยใช้เทคนิค PCR
จากดีเอ็นเอของยุงก้นปล่อง 23 ชนิด

ชนิด	จำนวน ที่ตรวจ	พบ (+) หรือ ไม่พบ (-)	Subfamily ของ <i>mariner</i> (จำนวน clone ที่ทำ)
<i>An. aconitus</i>	11	-	
<i>An. annularis</i>	8	+	irritans (2)
<i>An. barbirostris</i>	12	-	
<i>An. culicifacies</i> s.l.	3	-	
<i>An. dirus</i> A	9	+	irritans (2)
<i>An. dirus</i> C	21	+	irritans (2)
<i>An. dirus</i> D	4	+	irritans (2)
<i>An. dravidicus</i>	1	+	irritans (2)
<i>An. hyrcanus</i> s.l.	10	-	
<i>An. jamesii</i>	10	-	
<i>An. kochi</i>	13	-	
<i>An. maculatus</i> s.s	40	+	irritans (2)
<i>An. minimus</i> s.l.	40	-	
<i>An. nivipes</i>	12	-	
<i>An. peditaeniatus</i>	9	-	
<i>An. pseudowillmori</i>	1	-	
<i>An. sawadwongporni</i>	10	+	irritans + mauritiana (2)
<i>An. splendidus</i>	23	-	
<i>An. subpictus</i>	11	-	
<i>An. tessellatus</i>	17	-	
<i>An. vagus</i>	8	+	mellifera (1)
<i>An. varuna</i>	1	-	
<i>An. willmori</i>	11	+	irritans (2)

ตารางที่ 8.2 แสดงค่า Kimura 2-parameter distance เปรียบเทียบระหว่างยุงก้นปล่องชนิดต่าง ๆ
ทั้ง 8 ชนิด สังเกตความใกล้ชิดระหว่าง *An. dirus* A และ C

ชนิด	<i>annularis</i>	<i>dirus</i> A	<i>dirus</i> C	<i>maculatus</i>	<i>dravidicus</i>	<i>willmori</i>	<i>sawadwongporni</i>	<i>gambiae</i>
<i>An. annularis</i>	-	8.8	2.9	18.4	15.9	28.3	21.8	13.8
<i>An. dirus</i> A		-	2.0	17.6	14.8	27.0	20.6	12.5
<i>An. dirus</i> C			-	19.0	16.5	28.3	22.0	14.0
<i>An. maculatus</i>				-	16.9	17.0	15.5	15.9
<i>An. dravidicus</i>					-	18.9	18.0	18.0
<i>An. willmori</i>						-	14.5	20.7
<i>An. sawadwongporni</i>							-	14.6
<i>An. gambiae</i>								-



ภาพที่ 8.1 แผนภาพ phylogram ที่สร้างจากข้อมูลลำดับเบสที่พบใน *mariner* element ของยุงก้นปล่อง 9 ชนิดและจัดจำแนกอยู่ใน subfamily ทั้ง 3

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชีววิทยาเชิงประชากรของแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและทางการแพทย์ในประเทศไทย ได้แก่ แมลงวันผลไม้ แมลงเบียน ยุงชนิดต่าง ๆ และริ้นดำ โดยใช้หลักพันธุศาสตร์เชิงประชากรเพื่อการจำแนกชนิดและหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมลงบางชนิด ตลอดจนสายสัมพันธ์โยงใยในทางวิวัฒนาการของกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนบางกลุ่มที่เป็นศัตรูพืชหรือพาหะนำโรคเขตร้อน
2. กิจกรรมการวิจัยประกอบด้วย การสำรวจเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ แมลงเบียน ยุง และริ้นดำจากประชากรธรรมชาติ เพื่อหาข้อมูลทางนิเวศวิทยาและเพื่อนำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการด้านสัณฐานวิทยา อนุกรมวิธาน โครโมโซม อิเล็กโทรโฟรีซิส และอนุพันธุศาสตร์
3. การสำรวจศึกษาแมลงวันผลไม้จากพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศสามารถจำแนกได้ทั้งหมด 87 ชนิด จัดอยู่ใน 2 วงศ์ย่อยใน 9 สกุล ในจำนวนนี้มีอยู่ 79 ชนิดที่จัดอยู่ในสกุล *Bactrocera* การศึกษาพบว่า มีแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ ๆ และพบเป็นครั้งแรกในประเทศไทยไม่น้อยกว่า 50 ชนิด และอาจยังมีอีกหลายชนิดที่ยังรอการค้นพบ ข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นนี้สะท้อนให้เห็นถึงความหลากหลายของสปีชีส์ของแมลงวันผลไม้ในประเทศไทย
4. การศึกษาทางสัณฐานวิทยาของอวัยวะวางไข่ (ovipositor) และรูปแบบแผนของปีก (wing pattern) สามารถจำแนกชนิดแมลงวันผลไม้ได้อย่างชัดเจนในบางกรณี แต่มักจะมีปัญหาด้านสัณฐานวิทยาและอนุกรมวิธานในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน จึงต้องอาศัยข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์เป็นบรรทัดฐานสำหรับการจำแนกชนิดในเบื้องต้นของกลุ่มซับซ้อน โดยเฉพาะกลุ่ม *B. dorsalis* และ *B. tau* complexes
5. การวิเคราะห์จากการวัดลักษณะเส้นปีกโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Sigma Scan สามารถจำแนกแมลงวันผลไม้ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* complex ที่ใช้เป็นตัวอย่างจำนวน 9 ชนิด คือ *B. dorsalis* (A), *B. arecae* (G), *B. carambolae*, *B. propinqua*, *B. pyrifoliae* (F), *B. verbascifoliae* (D), ***B. anthocephala* (E)**, ***B. payena* (K)**, ***B. nauclea* (P)** โดยใช้ *B. tau* เป็นชนิดนอกกลุ่มเพื่อการเปรียบเทียบ นอกจากนั้นตัวอย่างของ *B. dorsalis* s.s. จากประชากรภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ สะท้อนให้เห็นถึงความแตกต่างแปรผันของลักษณะปีกบ้างพอสมควร
6. การวิเคราะห์ไมโททิกโครโมโซมโดยใช้แถบย้อมสี G และ H ที่มีความจำเพาะสำหรับส่วนที่เป็นเฮเทโรโครมาทินโดยการวิเคราะห์จากปริมาณและการกระจายของเฮเทโรโครมาทินในโครโมโซมเพศและเซนโทรเมียร์ของออโทโซม ผสมผสานกับข้อมูลทางด้านนิเวศวิทยา สัณฐานวิทยา และอนุพันธุศาสตร์สามารถจำแนกชนิดใหม่ ๆ ของแมลงวันผลไม้ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis* และ *B. tau* complexes ได้มากถึง 28 ชนิด และ 8 ชนิด ตามลำดับ
7. การศึกษาหารายละเอียดในกลุ่ม *B. tau* complex โดยเทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิสและดีเอ็นเอของ *hobo-like element* ได้ข้อมูลทางด้านโมเลกุลที่สอดคล้องกันและยืนยันข้อมูลทางด้านโครโมโซมว่ามี

ชนิดใหม่ 6 ชนิดในกลุ่มนี้ คือ ชนิด C, D, E, F, G, I ส่วนชนิด B ที่จำแนกได้โดยใช้ไมโททิกโครโมโซมและลักษณะสัณฐานวิทยานั้นไม่ได้รวมอยู่ในการศึกษานี้เพราะไม่มีตัวอย่างตัวเต็มวัย ข้อมูลทางด้านพันธุศาสตร์ช่วยบ่งบอกความสัมพันธ์โยงใยตามสายวิวัฒนาการของชนิดต่าง ๆ ในกลุ่มนี้ และที่ชัดเจนที่สุด คือ ชนิด B, F, G ซึ่งใกล้ชิดกันมากอาจเรียกได้ว่าเป็นสปีชีส์พี่น้องหรือซิบลิงสปีชีส์ ส่วนข้อมูลด้านสัณฐานวิทยาของอวัยวะวางไข่มีความแตกต่างกันบ้างพอสมควร กลุ่ม *B. tau complex* นับได้ว่าเป็นต้นแบบที่ดีมากสำหรับการศึกษากระบวนการสปีชีเอชันและชีววิทยาเชิงวิวัฒนาการ (evolutionary biology) ของแมลงในเซตร่อน

8. การศึกษาไมโททิกโครโมโซมของแมลงวันผลไม้ในกลุ่มซับซ้อน *B. dorsalis complex* ทั้งหมด 28 ชนิด สามารถแบ่งออกเป็น 6 กลุ่มตามลักษณะปริมาณและการแพร่กระจายของเฮเทอโรโครมาทินในโครโมโซมเพศและในบริเวณเซนโทรเมียร์ของออโทโซม แมลงวันผลไม้กลุ่มนี้มีความซับซ้อนมากยากต่อการหาสายสัมพันธ์โยงใยตามสายวิวัฒนาการเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม *B. tau complex*
9. การศึกษาพันธุศาสตร์เชิงประชากรของแมลงเบียนชนิด *Diachasmimorpha longicaudata* ที่เป็นศัตรูตัวสำคัญของแมลงวันผลไม้โดยใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟริซิสของเอนไซม์ 9 ระบบที่ควบคุมโดยยีน 13 โลคัส พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างประชากรโดยเฉพาะจากนครราชสีมา ซึ่งอาจสะท้อนให้เห็นว่าแมลงเบียนชนิดนี้น่าจะเป็นกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนที่มีสมาชิกอย่างน้อย 2 ชนิดที่น่าสนใจศึกษาต่อไป นอกจากนั้นยังได้ศึกษาไมโททิกโครโมโซมของ *D. longicaudata* เป็นครั้งแรกในประเทศไทยและในภูมิภาคนี้และพบว่ามีโครโมโซม $2n=40$ น่าจะได้ศึกษาแมลงเบียนกลุ่มนี้ต่อไป
10. การวิเคราะห์โพลีทินโครโมโซมของริ้นดำจากประชากรธรรมชาติบนดอยอินทนนท์สามารถสร้าง standard polytene chromosome map ทั้ง 6 แขนของ *Simulium feuerborni* ได้อย่างละเอียด และพบอินเวอร์ชันในประชากรธรรมชาติจำนวน 6 แห่ง กระจายอยู่ใน 5 แขน ส่วนแขน IIS ไม่พบว่ามีอินเวอร์ชัน นอกจากนั้นยังพบว่ามีหลากหลายของสปีชีส์ของริ้นดำในพื้นที่ที่ศึกษา จึงน่าจะได้มีการสำรวจศึกษาในพื้นที่อื่น ๆ ของประเทศไทยต่อไป
11. การสำรวจจุลินทรีย์กลุ่ม *Wolbachia* พบว่ามีอยู่ในแมลงวันผลไม้ 13 ชนิดในจำนวนทั้งหมด 47 ชนิดที่ตรวจสอบจากแมลงตัวอย่างทั้งหมด 1,154 ตัว และพบ *Wolbachia* ในแมลงเบียน *D. longicaudata* และ *B. arisanus* จากจำนวนตัวอย่าง 26 ตัวและ 35 ตัว ตามลำดับ การค้นพบเอนโดซิมไบออนต์กลุ่มนี้ในแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนน่าสนใจอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตามการตรวจสอบ *Wolbachia* ในยุงก้นปล่อง 22 ชนิดจำนวน 370 ตัวอย่างที่ได้ตรวจสอบไม่พบหลักฐานว่ามี *Wolbachia* เลย และควรตรวจสอบต่อไปในยุงก้นปล่องชนิดอื่น ๆ เพิ่มมากขึ้นและแมลงกลุ่มอื่น ๆ ด้วย
12. การตรวจพบ *mariner transposable element* ในยุงก้นปล่องกลุ่ม *An. dirus* และ *An. maculatus complexes* และชนิดอื่น ๆ รวมทั้ง 23 ชนิด และพบ *mariner element* ในยุงก้นปล่อง 9 ชนิด ข้อมูลทางด้านอนุพันธุศาสตร์นี้เป็นประโยชน์ในการศึกษา phylogenetic tree ของยุงชนิดต่าง ๆ

เอกสารอ้างอิง

- วิสุทธิ ไบไม้ 2538 สถานภาพความหลากหลายทางชีวภาพในประเทศไทย สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) กรุงเทพฯ
- วิสุทธิ ไบไม้ 2540 ความแปรผันทางพันธุกรรม วารสารราชบัณฑิตยสถาน 22: 112-120
- วิสุทธิ ไบไม้, แสน ดิถพัฒนานนท์, รัตนา ปรมาคม และ Paul J. Grote 2538 รายงานการวิจัย "การศึกษาพันธุศาสตร์เชิงประชากรและพฤติกรรมการผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้เพื่อการควบคุมจำนวนประชากร" รายงานฉบับสมบูรณ์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- Baimai V. 1977. Chromosomal polymorphisms of constitutive heterochromatin and inversion in *Drosophila*. Genetics 85: 85-93.
- Baimai V. 1998. Heterochromatin accumulation and karyotypic evolution in some Diptera insect. Zoological studies 37(2): 75-88.
- Baimai V., Andre R.G., Harrison B.A., Kijchalao U., and Panthusiri L. 1987. Crossing and Chromosomal evidence for two additional sibling species within the taxon *Anopheles dirus* Peyton and Harrison (Diptera: Culicidae) in Thailand. Proc. Entomol. Soc. Wash. 89(1): 157-166.
- Baimai V., Trinacharvanit W., Tigvattananont S., Grote P.L., Poramarcom R., and Kijchalao U. 1995. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. I. Five sibling species of the *Bactrocera dorsalis* complex. Genome 38: 1015-1022.
- Bedo D.G. 1977. Cytogenetics and evolution of *simulium ornatipes* Skuse (Diptera: Simuliidae) I. Sibling speciation. Chromosome 64: 37-65.
- Berlocher S.H. 1980. An Electrophoretic key for distinguishing species of the genus *Rhagoletis* (Diptera:Tephritidae) as larvae, pupae, or adults. Ann. Entomol. Soc. Am. 73: 131-137.
- Bourtzis K., and O'Neill S. 1998. *Wolbachia* infections and arthropod reproduction. BioScience 48: 287-293.
- Drew R.A.I. 1989. The topical fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of the Australasian and Oceanian regions. Mem. Queensl. Mus. 26: 1-521.
- Drew R.A.I., and Hancock D.L. 1994. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) in Asia. Bull. Entomol. Res. (Suppl. Ser., Suppl. 2). 1-68.
- Drew R.A.I., and Romig M.C. 1997. Overview-Tephritidae in the Pacific and Southeast Asia. In: Management of Fruit Flies in the Pacific. A regional symposium (eds. A.J. Allwood and R.A.I. Drew) pp. 46-53. Australian Center for International Agriculture Research Proceeding No. 76, Canberra, Australia.
- Handler A.M. and Gomez S.P. 1997. A new hobo, Ac, Tam3 transposable element, hopper, from *Bactrocera dorsalis* is distantly related to hobo and Ac. Gene 185: 133-135

- Hardy D.E. 1973. The fruit flies (Tephritidae-Diptera) of Thailand and bordering countries. Pac. Insects Monogr. 31: 1-353.
- Hardy D.E., and Adachi M.S. 1954. Studies in the fruit flies of the Philippine Islands, Indonesia, and Malaya. Part I. Dacini (Tephritidae-Diptera). Pac. Sci. 8: 147-204.
- Harris H., and Hopkinson D.A. 1976. Handbook of Enzyme electrophoresis in human genetics. North-Holland Biomedical Press.
- Gilbert D.A., Lehman N., O'Brien S.J., and Wayne R.K. 1990. Genetic fingerprinting reflects population differentiation in the California Channel Island fox. Nature 344: 764-767.
- Godfray H.C.J. 1994. Parasitoids: Behavioral and evolutionary ecology. Princeton University Press, Princeton, N.J.
- Green C.A., Reto F.G., Leonard E.M., and Baimai V. 1990. Population genetic evidence for two species in *Anopheles minimus* in Thailand. Medical and Veterinary Entomology 4: 25-34.
- Meksongsee M., Liewvanich A., and Jirasuratana M. 1991. Fruit Flies in Thailand. In: 1st International Symposium on Fruit Flies in the Tropics (eds. S. Vijaysegaran and Ibrahim A.G.) pp. 83-98. Malaysian Agricultural Research and Development Institute (MRDI), Serdang, Selangor.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics 89: 583-590.
- Satayalai O. 1995. Electrophoretic studies of natural populations of the *Bactrocera dorsalis* complex (Tephritidae) in Thailand. Ph.D. Thesis in Environmental Biology. Faculty of Graduate Studies, Mahidol University. 1-136.
- Southern E.M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. J. Mol. Bio. 98: 503-517.
- Steiner W.W.M., and Joslyn D.L. 1979. Electrophoretic techniques for the genetic study of mosquitoes. Mosquito News 39(1): 35-54.
- Takaoka H., and Saito K. 1996. A new species and new records of black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Jpn. J. Trop. Med. Hyg., 24(3): 163-169.
- Takaoka H., and Suzuki H. 1984. The black flies (Diptera: Simuliidae) from Thailand. Jpn. J. Sanit. Zool. 36: 7-45.
- Tigvattananont S. 1986. Host plants of the fruit flies in Thailand. [in Thai.] Kaset Prajomklao, 4: 1-15.
- Williams J.G.K., Kubellik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., and Tingey S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 18: 6531-6535.

- White I.M., and Elson-Harris M.M. 1992. Fruit flies of economic significance: Their identification and binomics. Center for Agriculture and Biosciences International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Yu D.S., Kokko E.G., Barron J.R., Schaalje G.B. and Gowen B.E. 1992. Identification of ichneumonid wasps using image analysis of wings. *Syst. Entomol.* 17: 389-395.

ภาคผนวก

สรุปผลงานการวิจัยและกิจกรรมทางวิชาการของผู้ร่วมงาน
ในกลุ่มวิจัยในโครงการ “การศึกษาชีววิทยาเชิงประชากรของแมลงวันผลไม้และยุงก้นปล่อง”
ทุนที่ได้รับจาก สกว. รหัส RTA 3880008
หัวหน้าโครงการ ศาสตราจารย์ ดร. วิสุทธิ์ ใบไม้

A. Publication ในวารสารวิชาการ

(ก.) ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่

1. Baimai, V. 1998. Heterochromatin accumulation and karyotypic evolution in some dipteran insects. Zool. Stud. 37: 75-88.
2. Adsavakulchai, S., V. Baimai, W. Prachyaprued, P. J. Grote and S. Lertlum. 1998. Morphometric study using wing image analysis for identification of the *Bactrocera dorsalis* complex. WWW J. Biol. 3: 1-8.
3. Kuvangkadilok, C., S. Phayahasena and V. Baimai. 1999. Population cytogenetic studies on *Simulium feuerborni* Edwards (Diptera: Simuliidae) from northern Thailand. Genome. (in press).
4. Kitthawee, S., S. Singhapong and V. Baimai, 1999. Metaphase chromosomes of parasitic wasp, *Diachasmimorpha longicaudata*. (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. Cytologica 64:
5. Baimai, V., J. Phinchongsakuldit and W. Trinachartvanit. 1999. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. III. Six members of the *Bactrocera dorsalis* complex. Zool. Stud. 38 (in press).
6. Kitthawee, S., D. Julsilikul, R. G. Sharpe and V. Baimai. 1999. Biochemical systematics of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in natural populations in Thailand. Genetica (in press).

(ข.) ผลงานวิจัยที่ส่งพิจารณาเพื่อตีพิมพ์ (submitted 1998)

1. Baimai V., S. Tigvattananont, J. Phinchongsakuldit and C. Sumrandee. Cytological evidence for a complex of species within the *Bactrocera tau* (Diptera: Tephritidae) group in Thailand.

2. Imwong, M., P. Kittayapong, V. Baimai and S. L. O'Neill. Distribution and evolution of the transposable elements *mariner* in anopheline mosquitoes.
3. Kittayapong, P., K.J. Baisley, V. Baimai and S.L. O'Neill. The distribution and diversity of *Wolbachia* infections in tropical mosquitoes.
4. Baimai V., J. Phinchongsakuldit and S. Tigvattananont. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. IV. Six new species of the *Bactrocera dorsalis* complex.
5. Adsavakulchai, S., V. Baimai, W. Prachyaprued, P. J. Grote and S. Lertlum. Identification of the *Bactrocera dorsalis* complex in allopatric distributions using morphometric study of wing image analysis.
6. Saelee, A., S. Tigvattananont and V. Baimai. Allozyme electrophoretic evidence for a complex of species within the *Bactrocera tau* group (Diptera: Tephritidae) in Thailand.

(ค.) ผลงานวิจัยที่กำลังเตรียมต้นฉบับ (in manuscript)

1. Thanaphum, S., S. Tigvattananont and V. Baimai. Multi-approaches toward identification and characterization of Tephritidae: The *Bactrocera tau* group.
2. Thanaphum, S., S. Tigvattananont, C. Sanguansilp, P. Rongnoparut and V. Baimai. Molecular characterization of *hopper* transposable elements in the *Bactrocera tau* group and anopheline mosquitoes.
3. Thanaphum, S., S. Tigvattananont, U. Thaenkham and V. Baimai. Molecular evolution of heat shock genes in the *Bactrocera tau* group.
4. Kittayapong, P., K.J. Baisley, R.G. Sharpe, V. Baimai and S.L. O'Neill. Superinfection of *Wolbachia* in natural populations of *Aedes albopictus* from Thailand.
5. Kittayapong, P., S. Tigvattananont, V. Baimai and S.L. O'Neill. Distribution of *Wolbachia* infections in tropical fruit flies in relation to their host plants.
6. Baimai, V., S. Tigvattananont, J. Phinchongsakuldit and C. Sumrandee. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. V. Seven new species of the *Bactrocera dorsalis* complex.

B. ผู้ร่วมงานในกลุ่มนักวิจัย

(ก.) อาจารย์ที่ร่วมอยู่ในกลุ่มนักวิจัยในโครงการนี้

1. อาจารย์ในภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
 - 1.1 ศ. ดร. วิสุทธิ์ ไบไม้ หัวหน้าโครงการ
 - 1.2 รศ. ดร. ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์
 - 1.3 รศ. ดร. สังวรณ์ กิจทวี
 - 1.4 รศ. ดร. เฉลียว กว้างคะดิลก
 - 1.5 ดร. สุจินดา ธนะภูมิ
2. อาจารย์จากสถาบันอื่น
 - 2.1 รศ. แสณ ตีพัฒน์นันทน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10900
 - 2.2 Dr. Paul J. Grote ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ถ. มหาวิทยาลัย ต. สุรนารี อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000
 - 2.3 ผศ. ดร. อรรพรรณ สัตยาลัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ข.) นักศึกษาที่มีส่วนร่วมในโครงการวิจัย

1. ปริญญาโท
 - 1.1 สำเร็จการศึกษาแล้ว
 - นางสาวมัลลิกา อิมวงศ์
 - นางสาวสุวรรณี พยุหเสนา
 - นางสาวดวงตา จุลศิริกุล
 - นางสาวจรัส พินจงสกุลดิษฐ์
 - 1.2 กำลังเขียนวิทยานิพนธ์และจะสำเร็จภายใน 5 เดือน
 - นางสาวอัญชลี แซ่หลี่
 - นายชัชวาลย์ สงวนศิลป์
 - 1.3 กำลังทำงานวิจัย
 - นายเฉลา สำราญดี
 - นายศิริพงศ์ สิงห์พงษ์
 - นายมารุต พรหมเชื้อ

2. ปริญญาดุษฎีบัณฑิต

2.1 สำเร็จการศึกษาแล้ว

นางสาวสุวรรณี อัครกุลชัย

2.2 กำลังเริ่มทำงานวิจัย (สนับสนุนโดยทุนอื่น)

นายถาวร สุภาพรม

นายปรีชา ประเทพา

C. ความร่วมมือกับนักวิชาการในสถาบันวิจัยต่างประเทศ

- 1 Dr. David S. Haymer, Department of Genetics, University of Hawaii, U.S.A.
- 2 Dr. Scott B. O'Neill, Department of Epidemiology and Public Health, Yale University, U.S.A.
- 3 Dr. Catherine Walton, Department of Genetics, University of Leeds, U.K.
- 4 Dr. Robert A. Wharton, Department of Entomology, Texas A&M University, College Station, Texas, U.S.A.
- 5 Dr. R.E. Harbach, British Museum of Natural History, London, U.K.
- 6 Dr. Sylvie Manguin, ORSTOM, Montpellier Cedex, France
- 7 Dr. M. Coosemans, Institute of Tropical Medicine Prince Leopold, Belgium
- 8 Dr. Russell H. Messing, College of Tropical Agriculture and Human Resources, Kauai Agricultural Research Center, Kuamoo Rd., Kapaa, Kauai, Hawaii, U.S.A.

D. การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการบรรยายวิชาการและการอบรมดูงานต่างประเทศ

1. ศาสตราจารย์ ดร. วิสุทธิ์ ไบไม้ ได้รับเชิญให้ไปบรรยายในการประชุมวิชาการนานาชาติ International Symposium on Genetics 1997 ระหว่างวันที่ 24-25 เมษายน 2540 Academia Sinica, Taipei, Taiwan
2. รองศาสตราจารย์ ดร. สวรรณี กิจทวี ได้รับทุนจากทบวงมหาวิทยาลัยไปศึกษางานวิจัยในต่างประเทศ เรื่อง ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของแมลงเบียน ระหว่างวันที่ 16 มิถุนายน 2540 ถึง 15 กันยายน 2540 ณ University of Massachusetts, Amherst USA. และระหว่างวันที่ 16 กันยายน ถึง 17 ตุลาคม 2540 ณ University of Hawaii Kauai, USA.
3. ดร. สุนิดา ธนะภูมิ เข้าร่วมฝึกอบรม (workshop) เรื่อง "A Master Class in New Technologies for the Measurement of Biodiversity" ณ The University of Putra Malaysia (UPM) ประเทศมาเลเซีย จัดขึ้นโดย Crawford Fund for International Agriculture Research ระหว่างวันที่ 27 เมษายนถึงวันที่ 17 พฤษภาคม 2540 โดยได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย

4. รองศาสตราจารย์ ดร. ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์ ได้รับเชิญให้เข้าร่วมประชุมและเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง "Preliminary Survey of *Wolbachia* in Natural Populations of Culicine Mosquitoes in Thailand" ในการประชุมประจำปีโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทยครั้งที่ 1 ระหว่างวันที่ 17-19 ตุลาคม 2540 ที่จังหวัดเชียงใหม่
5. ศาสตราจารย์ ดร. วิสุทธิ์ ใบไม้ ได้รับเชิญให้ไปบรรยายพิเศษ Plenary Lecture ในหัวข้อเรื่อง "Biodiversity Research and Training in Thailand" ในการประชุมนานาชาติ "The International Conference on Biodiversity and Bioresources-Conservation and Utilization" ระหว่างวันที่ 23-27 พฤศจิกายน 2540 ที่ จังหวัดภูเก็ต จัดโดย IUPAC
6. ศาสตราจารย์ ดร. วิสุทธิ์ ใบไม้ ได้รับเชิญให้ไปบรรยายและให้คำปรึกษาโครงการวิจัยยุงก้นปล่องพาหะที่ Institute of Malariaology, Parasitology and Entomology (IMPE) ณ กรุงฮานอย ประเทศเวียดนาม ระหว่างวันที่ 2-6 มีนาคม 2541 โดยเงินทุนวิจัยของ EU/IMPE.
7. รองศาสตราจารย์ ดร. ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์ ได้รับเชิญบรรยายกลุ่มย่อยในหัวข้อเรื่อง *Wolbachia* Infection in Natural Populations of Some Medically and Economically Important Insects ในการประชุมนานาชาติ The International Symposium on *Wolbachia* ระหว่างวันที่ 28-30 มกราคม 2541 ณ กรุงโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น โดยได้รับค่าเดินทางจาก The International Scientific Research Program of the Japanese Ministry of Education, Science, Sports and Culture (Mombusho)
8. ดร. สุนิดา ธนะภูมิ ได้รับเชิญให้เข้าร่วมประชุมและเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง hopper-like transposable elements in tephritid fruit flies and anopheline mosquitoes in Thailand. ในการประชุมนานาชาติ Keystone Symposium on Molecular and Cellular Biology Toward the Genetic Manipulation of Insects. ณ เมือง Taos, New Mexico, U.S.A. ระหว่างวันที่ 9-15 มกราคม 2541
9. ดร. สุนิดา ธนะภูมิ ได้เข้าร่วมการประชุมและเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง Multi-approaches toward identification and characterization of Tephritidae: *Bactrocera tau* species complex. ในการประชุมนานาชาติ "International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance" ณ เมืองปีนัง ประเทศมาเลเซีย ระหว่างวันที่ 1-5 มิถุนายน 2541
10. นางสาวมัลลิกา อิมวงศ์ ได้ไปเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ในหัวข้อเรื่อง Biodiversity of the Mariner Transposable Elements in Natural Populations of the Malaria Mosquito vectors from Thailand ในที่ประชุมนานาชาติ The International Conference on Biodiversity and Bioresources-Conservation and Utilizations ระหว่างวันที่ 23-27 พฤศจิกายน 2540 ที่จังหวัดภูเก็ต จัดโดย IUPAC

E. วิทยานิพนธ์ที่ได้

1. ปริญญาเอก

Suwannee Adsavakulchai, "Morphometric Study Using Wing Image Analysis for Identification of the *Bactrocera dorsalis* Complex (Diptera: Tephritidae)." November 9, 1998.

2. ปริญญาโท

Duangta Janesirikul, "Study on Genetic Variation of Fruit Fly Parasitoids (*Diachasmimorpha* sp.) in Thailand by Electrophoretic Techniques." February 26, 1997.

Mallika Imwong, "Studies of the *Mariner* Transposable Elements in Natural Population of *Anopheles* Vectors." March 19, 1998

Suwannee Phayuhassena, "Biology of Black Flies (*Simulium*) at Doi Inthanon National Park, Northern Thailand." May 19, 1998.

Jaros Phinchongsakuldit, "Mitotic Karyotypes of the *Bactrocera dorsalis* (Diptera : Tephritidae) Complex in Thailand." September 1, 1998.