



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2557

ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex  
กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย

Ecological and genetic diversity of fruit flies, *Bactrocera tau* complex and their associated  
parasitoids in Thailand

ผศ. ดร.ดวงตา จุลศิริกุล  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กุมภาพันธ์ 2558

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex  
กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย

Ecological and genetic diversity of fruit flies, *Bactrocera tau* complex and their associated  
parasitoids in Thailand

ผศ. ดร.ดวงตา จุลศิริกุล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัย  
แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา ขอขอบคุณ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

## บทคัดย่อ

แมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera tau* เป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายเป็นอย่างมากต่อผลผลิตของ พืชตระกูลแตงหลายชนิด เช่น บวบ แตงกวา มะระ พักทอง พักขำว ตำลึง จากการศึกษาค้นพบว่า *B. tau* เป็นแมลงวันผลไม้สายพันธุ์ซับซ้อน (complex species) มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และต้องการการตรวจสอบในรายละเอียดเพิ่มเติมทั้งในด้านนิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ และความหลากหลาย เพื่อนำข้อมูลไปใช้ในการวางแผนการควบคุมกำจัด งานวิจัยนี้ใช้เทคนิค PCR-SSCP โดยใช้ยีน mtCOI ร่วมกับข้อมูลทางภูมิศาสตร์ เพื่อศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรมของประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* สายพันธุ์ C จาก 8 กลุ่มประชากร ในประเทศไทย ผลการศึกษาในขั้นต้นพบว่า เทคนิค PCR-SSCP สามารถใช้เพื่อตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. tau* C ได้เป็นอย่างดี โดยตรวจสอบพบรูปแบบ SSCP haplotype ทั้งหมด 17 รูปแบบ โดยมี 3 รูปแบบ (E S และ T) พบเฉพาะประชากรในเขตภาคใต้ของประเทศไทย เมื่อนำผลการศึกษาที่ได้ไปวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมโดยใช้การวิเคราะห์ AMOVA พบว่า โครงสร้างทางพันธุกรรมของแมลงวันผลไม้ชนิด *B. tau* C จาก 8 ประชากรในประเทศไทยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.000$ ) แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ ระหว่างภาคใต้ กับภาคอื่น ๆ ในประเทศไทย อาจเป็นปัจจัยกีดกันการถ่ายเทเคลื่อนย้ายยีน ซึ่งอาจนำไปสู่การแยกเป็นสายพันธุ์ใหม่ได้

## Abstract

The fruit fly, *Bactrocera tau*, is the important pest of the Cucurbitaceae plants. Several studies showed that *B. tau* potential to be a species complex consisted of several species. The ecology, genetics and diversity of this pest species need to be investigated in more detail as information for biological control program. In this study, the population genetic structure of 8 populations of *B. tau* C in Thailand was analyzed by PCR-SSCP of mtCOI gene. The initial results showed that SSCP technique can be used as a molecular tool to investigate genetic variation in *B. tau* C populations. A total 17 SSCP haplotype patterns are found in this study, with haplotype E, S and T are specifically found in Satun population in southern part of Thailand. The AMOVA showed that genetic structures of 8 *B. tau* C populations in Thailand are significantly different ( $P = 0.000$ ). The results provide genetic divergence of *B. tau* C and support the hypothesis that long geographical distance between southern part of Thailand and other regions may be a factor that interrupts their gene flow lead to a new species evolved under *B. tau* complex.

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	i
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ii
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	5
ผลการวิจัย 7	
อภิปรายผลการวิจัย	13
สรุปและข้อเสนอแนะ 14	
ผลผลิต 15	
รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2557	16
บรรณานุกรม 17	
ประวัติหัวหน้าโครงการ 21	
ประวัติผู้ร่วมโครงการ 23	

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 รายละเอียดการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และ การทำ SSCP ยีน mtCOI	6
ตารางที่ 2 จำนวน และรายละเอียดแมลงวันผลไม้ <i>Bactrocera tau</i> ที่เก็บจาก 8 จังหวัดในประเทศไทย	7
ตารางที่ 3 ความถี่ของ COI haplotypes, haplotype diversity ( $h$ ) and nucleotide diversity ( $\pi$ ) ของประชากร <i>Bactrocera tau</i> ในประเทศไทย	11
ตารางที่ 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) ของประชากร <i>Bactrocera tau</i> 8 ประชากรในประเทศไทย	10

## สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 ชิ้นส่วนของยีน mtCOI ขนาด 650 คู่เบส ที่เพิ่มจำนวนด้วย universal primer	7
รูปที่ 2 ชิ้นส่วนของยีน mtCOI ขนาด 327 คู่เบส ที่เพิ่มจำนวนด้วย primer COI_FB 5'TGGAGACGACCAAATCTA3' และ COI_RB 5'GAGGAAATACCAGCTAAATG3'	8
รูปที่ 3 รูปแบบ COI SSCP haplotype ของ <i>B. tau</i> complex จาก 8 กลุ่มประชากรในประเทศไทย	9
รูปที่ 4 สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบ Maximum likelihood ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ ของยีน COI	9
รูปที่ 5 Mantel test ระดับความสัมพันธ์ระหว่างค่า $F_{ST}$ และ ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ระหว่างกลุ่ม ประชากร <i>Bactrocera tau</i> complex ในประเทศไทย	12



## คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อที่ใช้ในการวิจัย

PCR	Polymerase chain reaction
SSCP	Single strand conformation polymorphism
mt	mitochondria
GPS	Global Positioning System
COI	Cytochrome c oxidase subunit I
AMOVA	Analysis of molecular variance

## บทนำ

### 1. การทบทวนวรรณกรรม

แมลงวันผลไม้ (fruit flies) สกุล *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) กำลังเป็นปัญหาสามารถทำลายไม้ผล ทำความเสียหายรุนแรง และพบระบาดอยู่ทั่วไป (White and Elson-Harris, 1992; Aluja et al., 1996; Armstrong and Jang, 1997) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตเอเชียและออสเตรเลีย แมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* นี้ทำความเสียหายทางการเกษตรอย่างรุนแรง (Fletcher, 1987; Han et al., 1994; White, 1996; Kinneer et al., 1998; Kim et al., 1999) ส่วนประเทศไทยและประเทศในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รู้จักแมลงวันผลไม้สกุล *Bactrocera* เป็นอย่างดีเพราะเป็นแมลงศัตรูสำคัญทำลายพืชผักและผลไม้เขตร้อน พืชผักส่วนใหญ่ เช่น บวบ พักทอง ตำลึง พืชผักตระกูลแตงต่าง ๆ และอื่น ๆ (Hardy, 1973; White and Elson-Harris, 1992) แมลงวันผลไม้ที่รู้จักกันดีเช่น *Bactrocera dorsalis* หรือแมลงวันทองทำลายไม้ผลหลายชนิด เช่น มะม่วง ชมพู่ กล้วย ฝรั่ง ฯลฯ (Drew, 1989; Baimai et al., 2000b) *Bactrocera cucurbitae* หรือ แมลงวันแตงทำลายพืชผักชนิดผลได้หลายชนิด ส่วน *Bactrocera tau* หรือแมลงวันพักทองเข้าทำลายพืชผักชนิดผลเหมือน *B. cucurbitae* แต่สามารถทำลายพืชผักและพืชผลได้กว้างขวางกว่าและกำลังเป็นสายพันธุ์ที่ทำลายรุนแรงในจีน ไต้หวันและประเทศไทย (Yang et al., 1994; Chen, 2001)

ในประเทศไทยพบว่าได้มีการสำรวจแมลงวันผลไม้ชนิด *B. tau* และแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ชนิดนี้ การศึกษาเซลล์พันธุศาสตร์ของแมลงวันผลไม้ (Baimai et al., 1995; 1999; 2000b) พบว่า *B. tau* ประกอบด้วยสายพันธุ์ใกล้เคียงซับซ้อน (Saelee et al., 1999; Baimai et al., 2000a) ประกอบด้วยสายพันธุ์ A, C, D, E, F, G และ I โดยที่สายพันธุ์ A เป็น *B. tau* ส่วนสายพันธุ์อื่น ๆ ยังต้องการการตรวจสอบในรายละเอียดเพิ่มเติมและตั้งชื่อต่อไป การศึกษาประชากรของทั้งแมลงวันผลไม้กลุ่มสายพันธุ์ใกล้เคียงซับซ้อน (*B. tau* complex) และแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ พบข้อมูลที่น่าสนใจมากมาย รวมทั้งข้อมูลที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน ซึ่งควรจะต้องทำการศึกษาต่อ โดยเฉพาะ การศึกษานิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ และความหลากหลายของทั้งแมลงวันผลไม้ และแมลงเบียนที่สัมพันธ์กัน ข้อมูลที่ได้จะมีความสำคัญในการวางแผนการควบคุมกำจัด ดังนั้นทางโครงการนี้จะใช้เทคนิค SSCP-PCR (Orita et al., 1989; Hiss et al., 1994; Gasser et al., 2006) กับข้อมูลทางภูมิศาสตร์มาร่วมศึกษาวิเคราะห์

เทคนิค SSCP-PCR เป็นที่ยอมรับของนักวิจัยในการศึกษาชีววิทยาเชิงประชากร (population biology) (Antolin et al., 1996; Burt et al., 1996; Friesen et al., 1997; Gasser et al., 2006) เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพและแม่นยำ การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของยีนบริเวณ 28S D2 และ ITS2 จาก nuclear ribosomal DNA ยีนบริเวณ COI, 16S จาก mitochondrial DNA ในแมลงเบียนวงศ์ Braconidae (Belshaw and Quicke, 1997; Mardulyn and Whitfield, 1999; Kitthawee, 2013) ซึ่งเป็นที่ยอมรับของนักวิจัย ดังนั้นการศึกษานี้จะใช้เทคนิค SSCP โดยเลือกศึกษาลำดับเบสของยีนจาก nuclear DNA บริเวณ ITS และ mitochondrial DNA บริเวณ COI มาใช้ในการศึกษาความผันแปรทาง

พันธุกรรม ความแตกต่างทางพันธุกรรม และความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแมลงวันผลไม้และแมลงเบียน ที่สำรวจและเก็บจากท้องที่ต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยวิเคราะห์ร่วมกับข้อมูลทางภูมิศาสตร์ ผลการวิจัยนี้จะสามารถนำไปใช้ในการวางแผนควบคุมแมลงวันผลไม้ได้อย่างถูกต้อง และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น นอกจากนี้ผลการวิจัยนี้จะใช้เป็นตัวอย่าง ทั้งในเชิงวิชาการและการนำไปวางแผนประยุกต์ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชอื่น ๆ ในประเทศไทย

## 2. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แมลงวันผลไม้ (fruit flies) เป็นศัตรูไม้ผล ที่เป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย (แสน ตีแก้วพัฒนา นนท์, 2529) การระบาดของแมลงวันผลไม้ นำมาซึ่งความเสียหาย ทำให้ผลผลิตลดลงและขาดคุณภาพ มีผลต่อการตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ ส่งผลให้เกิดความเสียหายอย่างยิ่งในทางเศรษฐกิจ แมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera tau* เข้าทำลายผลไม้ และพืชผักชนิดผลหลายชนิด อาทิ บวบ มะระ พักทอง พักข่าว ตำลึง แตงกวา และ พืชผักตระกูลแตงต่าง ๆ จากการศึกษากิจการจำแนกแมลงวันผลไม้ชนิดต่างๆ พบว่า *B. tau* เป็นกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน (complex species) (Baimai et al., 2000) นอกจากนี้ แมลงเบียน (parasitoids) ของแมลงวันผลไม้ดังกล่าวก็พบเป็นกลุ่ม สปีชีส์ซับซ้อนด้วยเช่นกัน

แมลงเบียน (parasitoids) เป็นแมลงที่เป็นประโยชน์ สามารถใช้ควบคุม หรือลดการระบาดของประชากรแมลงวันผลไม้ (fruit flies) ได้ เป็นวิธีที่ปลอดภัยต่อเกษตรกร ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม การใช้แมลงเบียนในการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้จึงจัดเป็นการควบคุมโดยชีววิธี (biological control) แนวคิดนี้มีการดำเนินการศึกษาค้นคว้า และพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลามากกว่า 100 ปี (Clausen et al., 1965; 1978) โดยเฉพาะมีการสำรวจสายพันธุ์แมลงเบียนซึ่งพบทั้งชนิดที่มีอยู่เดิมแล้วและยังสามารถพบชนิดใหม่ได้เสมอ ทั้งนี้เนื่องจากมีแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ๆ เกิดขึ้นและยังพบการระบาดได้โดยทั่วไป สมาชิกของแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนทั้งที่มีอยู่ก่อนและที่พบใหม่ เป็นผลของการเปลี่ยนแปลงปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยซึ่งกันและกัน ในขบวนการวิวัฒนาการร่วม (co-evolution)

การเปลี่ยนแปลงวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ของประชากรสิ่งมีชีวิต ภายใต้แรงกดดันจากปัจจัยตามธรรมชาติต่างๆ เช่นการคัดเลือกตามธรรมชาติ ทำให้โครงสร้างทางพันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไป (genetic structure) ซึ่งอาจมีผลต่อลักษณะต่างๆ ที่เกิดความแตกต่างและแปรผันไปด้วย ปัจจุบันโลกของเรากำลังมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพดิน ฟ้า อากาศอย่างรวดเร็วและรุนแรง สิ่งมีชีวิตในประชากรต่างๆ จึงจำเป็นต้องปรับตัว ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมที่แปรเปลี่ยนไป ความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากร จะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลด โอกาสการอยู่รอด ซึ่งส่งผลให้เกิดสายพันธุ์ใหม่ๆ หรือเกิดการสูญพันธุ์ไป หากมีการสูญพันธุ์ของแมลงสายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์ดังเช่น แมลงเบียน อาจจะทำให้สูญเสียความสมดุลตามธรรมชาติไปด้วย และอาจจะก่อให้เกิดการระบาดของแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ขณะเดียวกันหากมีการเพิ่มสายพันธุ์ใหม่ๆ ที่ไม่พึงประสงค์ดังเช่น แมลงศัตรูก็จะทำให้เสียหายทางเศรษฐกิจและเสียสมดุลทางธรรมชาติไปด้วยเช่นกัน

การพบสปีชีส์ซับซ้อนทั้งในแมลงวันผลไม้ชนิด *B. tau* และแมลงเบียนของแมลงวันผลไม้ ทำให้เกิดคำถามตามมาว่า “หากปล่อยให้สปีชีส์ต่าง ๆ อยู่ร่วมกันโดยไม่ทราบสปีชีส์ที่ชัดเจน จะส่งผลดี หรือผลเสียต่อการควบคุมแมลงวันผลไม้หรือไม่?” การศึกษานิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ และความหลากหลาย จึงเข้ามามีบทบาทในการตอบคำถามนี้ เนื่องจากการศึกษา ความเข้าใจในระบบนิเวศ และความหลากหลายทางพันธุกรรม จะช่วยไขปัญหาสปีชีส์ซับซ้อน ซึ่งเป็นประโยชน์ในการประยุกต์บริหารจัดการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการระบุชนิดแมลงเบียนสปีชีส์ซับซ้อนที่พบสัมพันธ์กัน จะสามารถนำไปค้นหาแมลงเบียนที่มีประสิทธิภาพในการนำไปใช้ควบคุมทางชีววิธี (biological control) ผลการตรวจสอบนิเวศวิทยา พันธุศาสตร์ และความหลากหลายทางพันธุกรรมหรือความผันแปรทางพันธุกรรมของทั้งแมลงวันผลไม้และแมลงเบียน จะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญในการวางแผนการอนุรักษ์แมลงที่เป็นประโยชน์และช่วยในการวางแผนในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ดังเช่นแมลงวันผลไม้

### 3. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

- 3.1 เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรม การจัดจำแนก รวมทั้งหาความสัมพันธ์ภายในกลุ่ม (intra-populations) และระหว่างกลุ่ม (inter-populations) ของทั้งแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex และ แมลงเบียนที่ควบคุมแมลงวันผลไม้ ด้วยเทคนิค SSCP (single-strand conformation polymorphism)
- 3.2 หารายความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (molecular phylogeny) ของทั้งแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex และ แมลงเบียนที่ควบคุมแมลงวันผลไม้ จากข้อมูลทั้ง nuclear DNA และ mitochondrial DNA
- 3.3 ตรวจสอบสปีชีส์ในแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* complex และในกลุ่ม แมลงเบียนซับซ้อน (complex species) โดยเทคนิคต่าง ๆ เช่น taxonomy, การศึกษาเปรียบเทียบการแบ่งแยกทางนิเวศวิทยา, การผสมข้ามสายพันธุ์
- 3.4 การศึกษาวิวัฒนาการร่วมกัน (co-evolution) ระหว่างแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* และในกลุ่ม แมลงเบียนสายพันธุ์ซับซ้อน จากการนำข้อมูลทุกด้านต่าง ๆ มาประมวลร่วมกัน

### 4. ขอบเขตของโครงการวิจัย

- 4.1 สืบค้นและเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ กลุ่ม *B. tau* complex และแมลงเบียนจากท้องที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศไทย เพื่อตรวจสอบการแพร่กระจายในระบบนิเวศ และเก็บข้อมูลความสัมพันธ์ของแมลงวันผลไม้ กลุ่ม *B. tau* complex กับแมลงเบียน
- 4.2 ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) หรือ ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) ซึ่งศึกษาได้หลายวิธี แต่สำหรับโครงการนี้จะใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular biology) โดยวิธี SSCP
- 4.3 โครงการนี้ใช้เทคนิค SSCP โดยเลือกศึกษาลำดับเบสของยีนจาก nuclear DNA และ mitochondrial DNA ศึกษาแมลงวันผลไม้ กลุ่ม *B. tau* complex และแมลงเบียนที่

ควบคุมแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* complex ที่สำรวจและเก็บจากท้องที่ต่างๆ ในประเทศไทย

- 4.4 วิเคราะห์และอธิบายโครงสร้างทางพันธุกรรม (genetic structure) ของทั้งแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* complex และแมลงเบียน
- 4.5 สร้างสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (molecular phylogeny) ของทั้งแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex และ แมลงเบียน
- 4.6 ตรวจสอบความสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อม และความสัมพันธ์ทางภูมิศาสตร์ (phylogeography) หรือ ความสัมพันธ์กับถิ่นอาศัย ของทั้งแมลงวันผลไม้ และแมลงเบียน
- 4.7 นำข้อมูลทุกด้านมาประมวลและหาข้อสรุปความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการร่วม (co-evolution) ระหว่างแมลงวันผลไม้กับแมลงเบียน ซึ่งจะเป็นข้อมูลที่สำคัญสำหรับใช้พัฒนาการวางแผนควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้โดยชีววิธีต่อไป

## 5. ทฤษฎี และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การสำรวจ/การตรวจแมลงวันผลไม้ และ แมลงเบียน จะพบทั้งชนิดที่มีอยู่แล้วและชนิดใหม่ๆ เสมอ ทั้งนี้เนื่องจากมีแมลงวันผลไม้ชนิดใหม่ๆ เกิดขึ้นและมีการระบาดอยู่ทั่วไป สมาชิกของแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนทั้งที่มีอยู่ก่อนและที่พบใหม่เป็นผลของการเปลี่ยนแปลงปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตที่อาศัยซึ่งกันและกัน ในขบวนการ วิวัฒนาการร่วม (co-evolution) ดังนั้น การศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม (genetic differences) การแพร่กระจาย (distribution) และความหลากหลายในระบบนิเวศ ร่วมกับการศึกษาสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแมลงวันผลไม้กับแมลงเบียนจะเป็นพื้นฐานที่สำคัญสามารถประยุกต์บริหารจัดการการควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้และการอนุรักษ์แมลงเบียนเพื่อการควบคุมแมลงวันผลไม้โดยชีววิธีอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

## 6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

6.1 ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

6.2 ผลการวิจัยช่วยส่งเสริมการวางมาตรฐานการควบคุมศัตรูพืช โดยเฉพาะแมลงวันผลไม้ โดยข้อมูลจากการวิจัยสามารถใช้เป็นแนวทางให้หน่วยงานทางการเกษตร จะช่วยให้เกษตรกรนำไปปรับใช้ในการลดการระบาดของแมลงวันผลไม้ รวมทั้งให้รู้จักอนุรักษ์แมลงเบียนซึ่งเป็นแมลงที่เป็นประโยชน์สามารถใช้ควบคุมกำจัดแมลงวันผลไม้แทนการใช้สารเคมี

6.4 ผลการวิจัยช่วยส่งเสริมการอนุรักษ์แมลงที่เป็นประโยชน์มีผลต่อการลดการใช้สารเคมี

6.4 การพบแมลงสายพันธุ์ใหม่ๆ (new species) จะเป็นประโยชน์ต่อการวางแผนควบคุมได้ดียิ่งขึ้น

6.5 สามารถประยุกต์ใช้การศึกษานี้กับแมลงศัตรูพืชและแมลงเบียนชนิดอื่นๆ

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. วิธีวิจัยในภาคสนาม

- 1.1 เก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* complex และแมลงเบียนจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย โครงการนี้จะต้องเก็บข้อมูลทั้งชนิดของไม้ผล แมลงวันผลไม้ *B. tau* complex และแมลงเบียนในประชากรธรรมชาติ โดยวิธีการสำรวจและเก็บผลไม้ และ/หรือพืชผักชนิดผลต่างๆ ที่มีร่องรอยการทำลายของแมลงวันผลไม้ ซึ่งคาดว่าจะได้ตัวอย่างของทั้งแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex และแมลงเบียน โดยเฉพาะการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ที่ปลอดภัยและมี
- 1.2 มีการเก็บข้อมูลทางภูมิศาสตร์ ด้วย GPS (Global Positioning System)

### 2. วิธีวิจัยในห้องปฏิบัติการ

- 2.1 แมลงวันผลไม้ (fruit flies) เลี้ยงแมลงวันผลไม้ *B. tau* ชนิดต่างๆ เพื่อเป็นแมลงต้นแบบสำหรับเปรียบเทียบต่อไป การเลี้ยงแมลงวันผลไม้มีความจำเป็นเพราะจะเป็นอาหารและที่อยู่อาศัยของแมลงเบียนที่ต้องเพาะเลี้ยง
- 2.2 แมลงเบียน (parasitoids) เพาะเลี้ยงแมลงเบียนสายพันธุ์ต่างๆ ที่สำรวจได้ รวมทั้งสายพันธุ์ต้นแบบที่ใช้สำหรับเปรียบเทียบเช่น สายพันธุ์ *Diachasmimorpha longicaudata*, *Fopius arisanus*, *Fopius vandenboschi*, *Psytalia fletcheri* และอื่นๆ
- 2.3 จำแนกชนิด/สปีชีส์ของแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนโดยวิธีสัณฐานวิทยา (morphology) เบื้องต้นตามอนุกรมวิธานของ White and Elson – Harris (1992) เพื่อจำแนกแมลงวันผลไม้ และใช้อนุกรมวิธานของ Wharton and Gilstrap (1983) เพื่อจำแนกแมลงเบียน
- 2.4 ศึกษาความแตกต่าง/ผันแปรทางพันธุกรรม (genetic diversity/ genetic variation) ของประชากรแมลงวันผลไม้และแมลงเบียน โดยเทคนิค SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) จาก nuclear และจาก mitochondrial DNA ตามขั้นตอนดังนี้
  - a) สกัด DNA ของแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Cockburn and Fritz (1996)
  - b) เพิ่มจำนวนยีน บริเวณที่ต้องการศึกษา ได้แก่ Cytochrome c oxidase subunit I (COI) จาก mitochondrial DNA ด้วย ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ขั้นตอนตามตารางที่ 1
  - c) ทำ SSCP analysis ขั้นตอนตามตารางที่ 1
  - d) ย้อมสีด้วย DNA silver staining
  - e) ตรวจวิเคราะห์ SSCP haplotype
  - f) วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในแต่ละ haplotype จาก (e) โดยนำ ผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ของแต่ละ SSCP haplotype ไปหาลำดับการเรียงตัวของเบส

- g) วิเคราะห์ความผันแปรทางพันธุกรรม (genetic variation) โดยทำ alignment ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนศึกษาใน (f) ตรวจสอบความแตกต่างด้วย program Clustal W version 1.4 (Thompson et al., 1994)
- h) วิเคราะห์สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ phylogenetic tree โดยใช้ program MEGA version 5.0 (Tamura et al., 2011)

## 2.5 การศึกษาโครงสร้างทางพันธุกรรม และสายสัมพันธ์ทางภูมิศาสตร์ phylogeography

วิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมและค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ในประเทศไทย โดยวิธี Analysis of Molecular Variance (AMOVA) และวิเคราะห์สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของทั้งแมลงวันผลไม้ร่วมกับข้อมูลความผันแปรทางสภาพภูมิศาสตร์ โดยการวิเคราะห์ Mantel analysis (Smouse et al., 1986) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง genetic distances กับ geographical distances ด้วย software Arlequin version 3.1 (Excoffier et al., 2005) เพื่ออธิบายการกระจาย การเกิดวิวัฒนาการร่วมระหว่างพืชให้อาศัย แมลงวันผลไม้และแมลงเบียน

ตารางที่ 1 รายละเอียดการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และ การทำ SSCP ยีน mtCOI

Primer	PCR condition	SSCP condition
5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3' 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA3'	Pre-denature 94 °C for 3 min 30 cycles of Denature 94 °C for 1 min Annealing 50 °C for 1 min Extension 72 °C for 1 min Final extension 72 °C for 10 min	-
5'TGGAGACGACCAATCTA3' 5'GAGGAAATACCAGCTAAATG3'	Pre-denature 95 °C for 3 min 25 cycles of Denature 94 °C for 1 min Annealing 50 °C for 1 min Extension 72 °C for 1 min Final extension 72 °C for 10 min	Acrylamide:Bis = 49:1 (7%) Constant voltage at 160 V for 2 h 15 min, load DNA ladder and running at 160 V for 1 h 30 min

## ผลการวิจัย

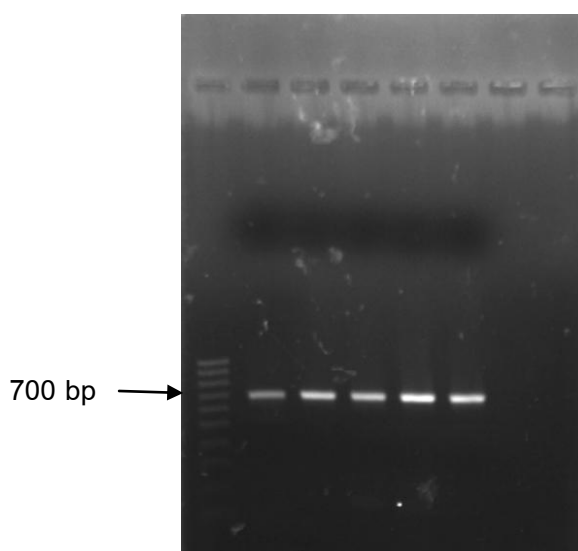
### แมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex

เก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* จากผลพื้กข้าว (*Momordica cochinchinensis*) จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทยได้ 8 กลุ่มประชากร รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวน แมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* ที่เก็บจาก 8 จังหวัดในประเทศไทย และพิกัดทางภูมิศาสตร์ของสถานที่เก็บตัวอย่าง

Location	Code	N			Latitude (N)	Longitude (E)
		Total	M	F		
Chiang Mai	CM(MC)	49	22	27	18 40 38.88	099 02 53.16
Mae Hong Son	MS(MC)	30	15	15	19 18 22.85	097 58 03.07
Nan	NA(MC)	42	23	19	18 46 32.19	100 46 23.05
Tak	TK(MC)	36	18	18	16 53 02.20	099 07 33.26
Khon Kaen	KK(MC)	26	19	6	16 38 10.90	101 54 58.22
Kanchanaburi	KN(MC)	26	16	10	14 02 06.22	099 29 42.20
Petchaburi	PH(MC)	30	15	15	12 47 57.75	099 27 15.35
Satun	SL(MC)	30	15	15	06 51 34.60	100 09 01.40

จากการจำแนกตัวเต็มวัยของแมลงวันผลไม้ *B. tau* ด้วยอนุกรมวิธาน (Samrandee et al., 2011) พบว่า เป็น *B. tau* สายพันธุ์ C



รูปที่ 1 ชิ้นส่วนของยีน mtCOI ขนาดประมาณ 650 คู่เบส ที่เพิ่มจำนวนด้วย universal primer LCO 5'GGTCAACAAATCATA AAGATATTGG3' และ HCO 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAA ATCA3' (Folmer et al. 1994)



### ความแปรผันทางพันธุกรรมของประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex

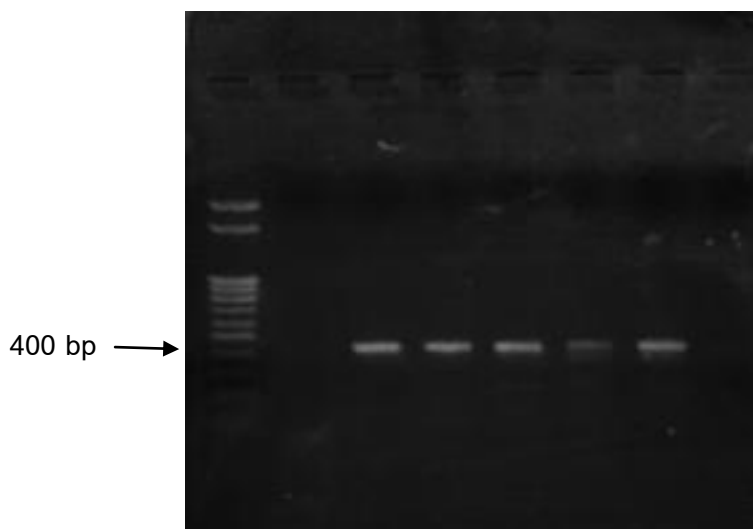
จากการเพิ่มจำนวนยีน Cytochrome c oxidase subunit I (COI) จาก mitochondrial DNA ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสโดยใช้ universal primer LCO 5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3' และ HCO 5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA3' (Folmer *et al.*, 1994) ได้ชิ้นส่วน DNA ที่มีความยาวประมาณ 650 คู่เบส ดังรูปที่ 1

เมื่ออ้างอิงตามหลักการของเทคนิค SSCP พบว่า ชิ้นส่วนของ DNA ขนาด 650 คู่เบส ยาวเกินไปสำหรับการวิเคราะห์ความแปรผันทางพันธุกรรมในระดับประชากร (Orita *et al.*, 1989; Hiss *et al.*, 1994; Gasser *et al.*, 2006) ดังนั้นจึงนำผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสด้วย universal primer ไปหาลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์เพื่อออกแบบ primer คู่ใหม่ที่จะใช้ในการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนของยีน COI ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ให้มีความยาวที่มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ความแตกต่าง/ผันแปรทางพันธุกรรม ของประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ด้วยเทคนิค SSCP ต่อไป โดย primer คู่ใหม่ที่ออกแบบในการศึกษารั้งนี้ คือ

COI\_FB 5'TGGAGACGACCAAATCTA3'

COI\_RB 5'GAGGAAATACCAGCTAAATG3'

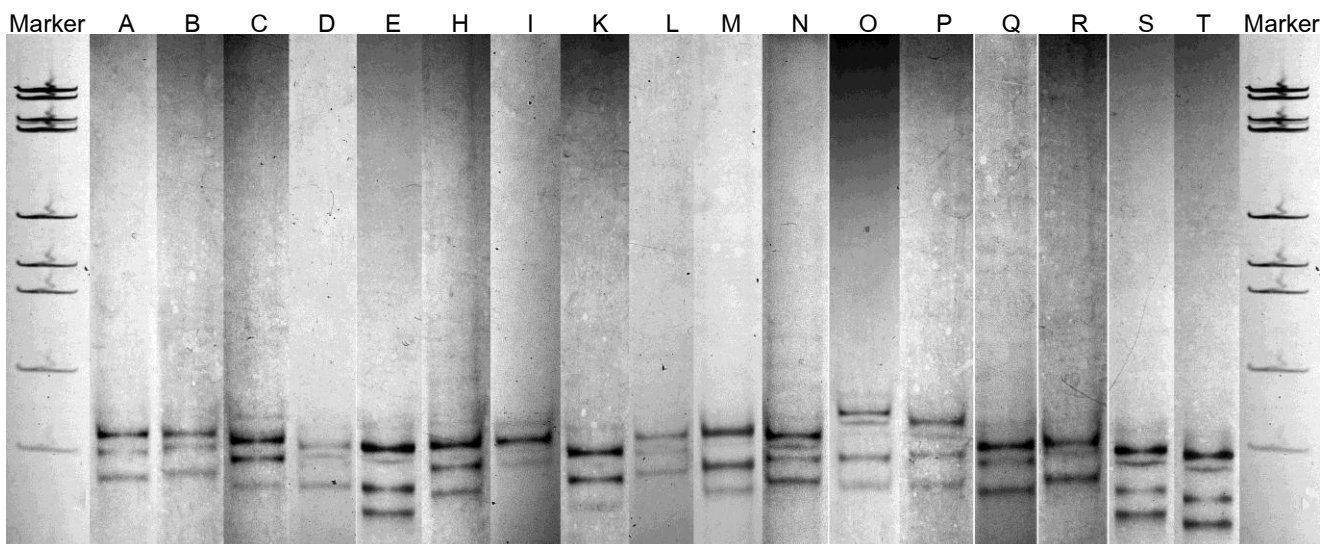
ซึ่ง primer คู่ใหม่นี้ ให้ผลผลิตปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ของชิ้นส่วนยีน COI ของแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ขนาด 327 คู่เบส ดังรูปที่ 2



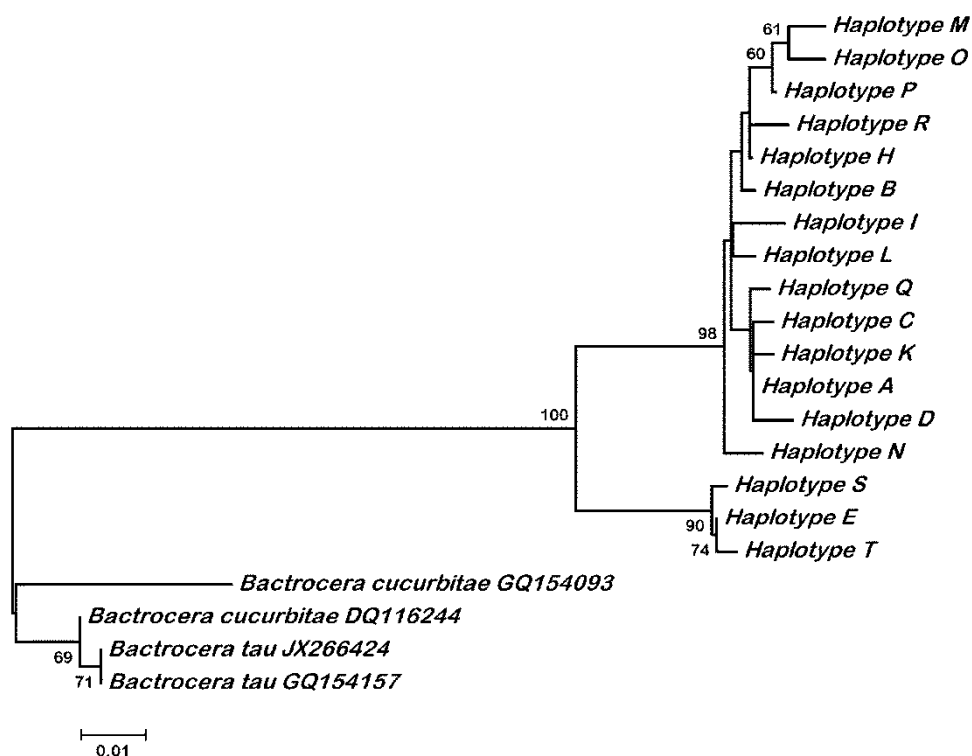
รูปที่ 2 ชิ้นส่วนของยีน mtCOI ขนาด 327 คู่เบส ที่เพิ่มจำนวนด้วย primer COI\_FB

5'TGGAGACGACCAAATCTA3' และ COI\_RB 5'GAGGAAATACCAGCTAAATG3'

เมื่อนำชิ้นส่วนของยีน COI ของแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex จาก 8 กลุ่มประชากรในประเทศไทย ที่เพิ่มขยายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ขนาด 327 คู่เบส มาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค SSCP ได้ผลคือ ยีน COI ของแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ในการศึกษารั้งนี้ แสดง 17 SSCP haplotype ได้แก่ Haplotype A, B, C, D, E, H, I, K, L, M, N, O, P, Q, R, S และ T (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 รูปแบบ COI SSCP haplotype ของ *Bactrocera tau* complex จาก 8 กลุ่มประชากรในประเทศไทย



รูปที่ 4 สายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการแบบ Maximum Likelihood ที่สร้างจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน COI ตัวเลขที่แต่ละกิ่งของแผนผังแสดงค่าความเชื่อมั่น Bootstrap โดยวิธี Tamura-3-parameter distance แถบมาตราส่วนแสดง 0.01 substitutions per site

เมื่อนำผลผลิตที่ได้จากปฏิบัติการลูกโซ่โพลีเมอเรสของแต่ละ COI SSCP haplotype ไปหาลำดับการเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ และนำมาวิเคราะห์ โดยสร้างเป็นสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) แบบ Maximun Likelihood โดยใช้ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera cucurbitae* เป็นสิ่งมีชีวิตเปรียบเทียบ (outgroup) พบว่า ได้ แผนผังแสดงสายสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการที่แบ่งออกเป็น 2 เครือบรรพบุรุษ (clade) โดย Haplotype A, B, C, D, H, I, K, L, M, N, O, P, Q, R อยู่รวมกันเป็น 1 กลุ่ม แยกออกจากกลุ่มของ Haplotype E, S, T (รูปที่ 4) นอกจากนั้น ยังพบว่า *B. tau* complex ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นคนละกลุ่มกับ *B. tau* ที่พบในฐานข้อมูล GenBank (GQ154157 และ JX266424) และน่าจะเป็นสายพันธุ์ที่ยังไม่มีการกำหนดชื่อมาก่อน

### โครงสร้างทางพันธุกรรม และ Phylogeography ของประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ในประเทศไทย

จากการกระจายตัวของ COI SSCP haplotype (ตารางที่ 3) พบว่า Haplotype B เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด (46.10%) ในขณะที่ Haplotype E, S และ T เป็นรูปแบบที่พบเฉพาะประชากร *B. tau* complex จากจังหวัดสตูล ประชากร *B. tau* complex จากจังหวัดเชียงใหม่ แสดงค่า haplotype diversity ( $h$ ) สูงที่สุด (0.8571) ในขณะที่ประชากร *B. tau* complex จากจังหวัดตากแสดงค่า nucleotide diversity ( $\pi$ ) สูงที่สุด (0.008548) ใกล้เคียงกับประชากร *B. tau* complex จากจังหวัดเชียงใหม่ (0.008529) โดยรวม ประชากร *B. tau* complex ในประเทศไทยจากการศึกษาครั้งนี้ มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ( $h = 0.7543$ ,  $\pi = 0.014554$ )

การวิเคราะห์โครงสร้างทางพันธุกรรมและค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ในประเทศไทย (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่า แต่ละกลุ่มประชากรของ *B. tau* complex ในประเทศไทย ทั้ง 8 ประชากร มีโครงสร้างทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P = 0.00000$ ) โดยมีค่าความแปรผันทางพันธุกรรมระหว่างประชากรสูงถึง 72.64 %

ตารางที่ 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) ของประชากร *Bactrocera tau* 8 ประชากรในประเทศไทย

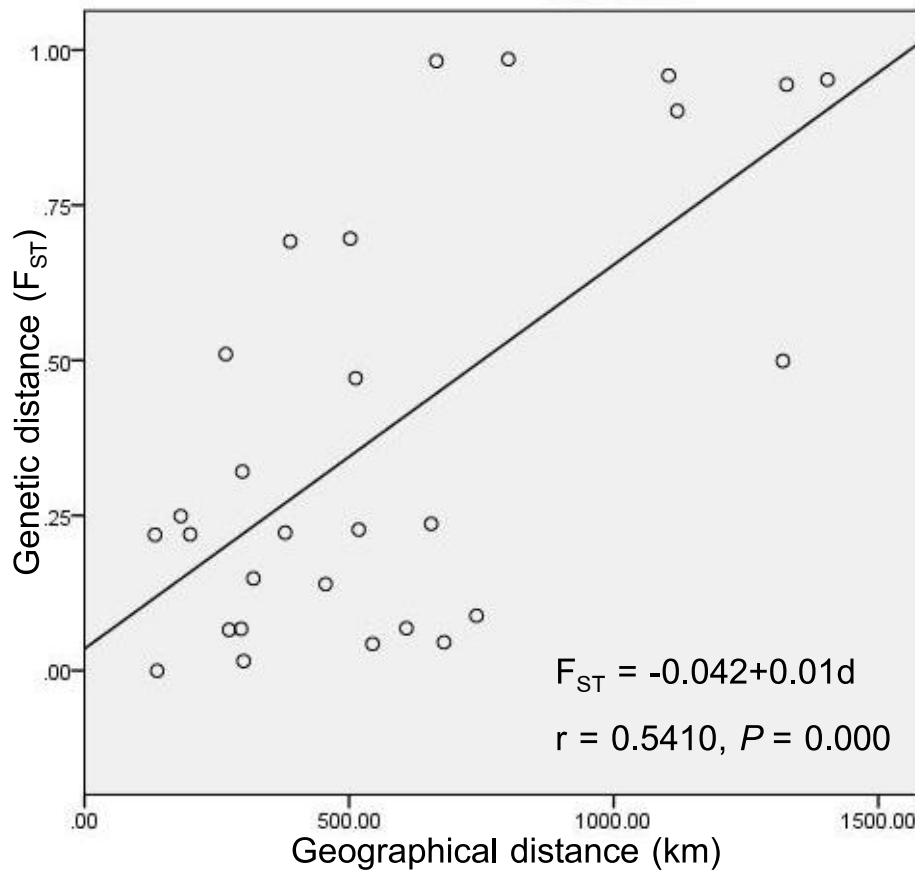
Source of variation	% variation	$\Phi$ -statistics*	P-value
Among populations	72.64	$\Phi_{ST}=0.72635$	0.00000
Within populations	27.36		

\*  $\Phi_{ST}$  is the correlation among haplotypes within populations relative to the correlation of haplotypes drawn from a whole sample

ตารางที่ 3 ความถี่ของ COI haplotypes, haplotype diversity ( $h$ ) and nucleotide diversity ( $\pi$ ) ของประชากร *Bactrocera tau* ในประเทศไทย

Location*	N	COI haplotype frequency																	$h$	$\pi$
		A	B	C	D	E	H	I	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T		
<b>Central</b>																				
KN	26	.08	.92																.1477	.000452
PH	30		.90				.07		.03										.1908	.000801
<b>North</b>																				
NA	42		.76	.14						.10									.3995	.004234
TK	36		.31	.05	.17		.25	.03	.05	.14									.8127	.008548
MS	30	.20	.63							.07					.10				.5632	.003867
CM	49	.08	.23	.12	.19					.20	.02	.02	.04	.04		.06			.8571	.008529
<b>North-East</b>																				
KK	26	.42		.04	.54														.5508	.003397
<b>South</b>																				
SL	30					.80											.13	.07	.3494	.001012
<b>Total</b>	<b>269</b>	<b>.086</b>	<b>.461</b>	<b>.056</b>	<b>.108</b>	<b>.089</b>	<b>.041</b>	<b>.004</b>	<b>.011</b>	<b>.037</b>	<b>.045</b>	<b>.004</b>	<b>.007</b>	<b>.007</b>	<b>.011</b>	<b>.011</b>	<b>.015</b>	<b>.007</b>	<b>.7543</b>	<b>.014554</b>

นอกจากนี้ การวิเคราะห์ Mantel เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง genetic distances ( $F_{ST}$ ) กับ ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ระหว่างกลุ่มประชากร *B. tau* complex ในประเทศไทย (รูปที่ 5) แสดงว่า ประชากร *B. tau* complex ในประเทศไทย เกิดการแบ่งแยกทางพันธุกรรมโดยมีระยะห่างทางภูมิศาสตร์ เป็นปัจจัยกีดกันการถ่ายเทเคลื่อนย้ายยีน (Isolation by distance) ( $F_{ST} = -0.042+0.01d$  (km.),  $r = 0.5410$ ,  $P = 0.000$ )



รูปที่ 5 Mantel test ระดับความสัมพันธ์ระหว่างค่า  $F_{ST}$  และ ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ระหว่างกลุ่ม ประชากร *Bactrocera tau* complex ในประเทศไทย (ทดสอบนัยสำคัญที่ 1000 permutations)

## อภิปรายผลการวิจัย

จากเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ *B. tau* ในประเทศไทยในการศึกษารั้งนี้ สามารถเก็บตัวอย่างจากผลฟักข้าว ได้ 8 ประชากร ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดแม่ฮ่องสอน จังหวัดน่าน จังหวัดตาก จังหวัดขอนแก่น จังหวัดกาฬจนบุรี จังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดสตูล โดยเมื่อทำการจำแนกชนิดด้วยอนุกรมวิธาน (Samrandee et al., 2011) แล้ว พบว่า เป็น *B. tau* สายพันธุ์ C ซึ่งเป็นไปตามผลการศึกษาของ Jamnongluk et al., 2003 และ Kitthawee and Rungsri, 2011 ที่แสดงว่า *B. tau* สายพันธุ์ C มีความจำเพาะเจาะจงกับฟักข้าวซึ่งเป็นพืชอาศัย

ในส่วนของการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของ ประชากรแมลงวันผลไม้ *B. tau* ในประเทศไทย โดยใช้เทคนิค SSCP พบว่า แมลงวันผลไม้ *B. tau* เป็นสายพันธุ์ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จากการศึกษาในขั้นต้นโดยใช้ยีน mtCOI 1 ยีน ยังพบรูปแบบของ SSCP haplotype จำนวนมากถึง 17 รูปแบบ และเมื่อนำรูปแบบเหล่านั้นมาวิเคราะห์การเรียงลำดับนิวคลีโอไทป์ ก็พบว่าเทคนิค SSCP เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพ สามารถตรวจสอบความแตกต่างของนิวคลีโอไทป์ได้ในระดับ 1 คู่เบส และเมื่อเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทป์ ในฐานข้อมูล GenBank พบว่า *B. tau* จากการศึกษาไม่เหมือนกับ *B. tau* ใด ๆ ในฐานข้อมูล ซึ่งอาจมีความเป็นไปได้ ถึงการเป็นสายพันธุ์ใหม่ นอกจากนี้ ผลการวิเคราะห์ AMOVA แสดงให้เห็นว่า ประชากร *B. tau* complex จาก 8 จังหวัดในประเทศไทยมีโครงสร้างทางพันธุกรรมที่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการกระจายของ SSCP haplotype ที่พบเฉพาะ Haplotype E, S และ T ที่จังหวัดสตูลเท่านั้น และเมื่อยืนยันผลด้วยการวิเคราะห์ Mantel เพื่อดูความสัมพันธ์ระหว่าง genetic distances ( $F_{ST}$ ) กับ ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ระหว่างกลุ่มประชากร *B. tau* complex ในประเทศไทย พบว่า มีการเกิดการแบ่งแยกทางพันธุกรรมโดยมีระยะห่างทางภูมิศาสตร์เป็นปัจจัยกีดกันการถ่ายเทเคลื่อนย้ายยีนขึ้นระหว่าง 8 ประชากร *B. tau* complex ในประเทศไทย แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มที่ระยะห่างทางภูมิศาสตร์ ระหว่างภาคใต้ กับภาคอื่น ๆ ในประเทศไทย อาจเป็นปัจจัยกีดกันการถ่ายเทเคลื่อนย้ายยีน ซึ่งอาจนำไปสู่การแยกเป็นสายพันธุ์ใหม่ได้

## สรุป และข้อเสนอแนะ

จากงานวิจัย ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย มีข้อเสนอแนะในการทำวิจัยขั้นต่อไปดังนี้

1. ควรทำการศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมของ *B. tau* complex ในประเทศไทย ด้วยยีนอื่น เพื่อเป็นการยืนยันผลให้มีความหนักแน่น น่าเชื่อถือ
2. ควรเก็บตัวอย่างแมลงวันผลไม้ *B. tau* complex ให้ได้จำนวนประชากรมากขึ้น เพื่อสามารถนำผลการศึกษาวิเคราะห์ได้หลากหลายแนวทางมากกว่านี้
3. ด้วยงบประมาณ และระยะเวลาที่มีอยู่อย่างจำกัด ทำให้การศึกษาในปีงบประมาณ 2557 ยังไม่สามารถเก็บตัวอย่างแมลงเบียนได้ ในการศึกษาต่อไปจึงควรเก็บพืชอาศัยให้หลากหลายมากยิ่งขึ้น เพื่อให้ได้แมลงเบียน เพื่อนำมาศึกษาในด้านวิวัฒนาการร่วมระหว่างแมลงวันผลไม้กลุ่ม *B. tau* และแมลงเบียนต่อไป

### ผลผลิต

งานวิจัย ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย ได้ผลผลิตดังนี้

1. Kitthawee, S. and **Julsirikul, D.** 2014. Allopatric speciation in fruit flies of Gac fruit: Genetic and geographical divergence of *Bactrocera tau* C in Thailand. In *The 40<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand* December 2-4, 2014, Hotel Pullman Khon Kaen Raja Orchid, Khon Kaen, Thailand. (pp.191).



รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2557

เลขที่ 2557A1082012

โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ

สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา

โครงการความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex  
กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน / ผู้วิจัย ผศ. ดร.ดวงตา จุลศิริกุล

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2558

ระยะเวลาดำเนินการ 1 ปี 4 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2558

รายจ่าย

หมวด	งบประมาณ รวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	15,000	15,000	-
2. ค่าจ้าง	120,000	120,000	-
3. ค่าวัสดุ	31,500	31,500	-
4. ค่าใช้สอย	58,500	58,500	-
5. ค่าใช้จ่ายอื่นๆ			
ค่าสาธารณูปโภค	25,000	25,000	-
<b>รวม</b>	<b>250,000</b>	<b>250,000</b>	<b>-</b>

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1 ร้อยละ 50 125,000 บาท เมื่อ กรกฎาคม 2557

งวดที่ 2 ร้อยละ 40 100,000 บาท เมื่อ กันยายน 2557

งวดที่ 3 ร้อยละ 10 25,000 บาท เมื่อ กุมภาพันธ์ 2558

**รวม 250,000 บาท**

.....  
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

.....  
เจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

### บรรณานุกรม

- แสน ตีแก้วฉานนท์ . 2529. พืชอาหารของแมลงวันทองชนิดต่างๆ ในประเทศไทย . ว.เกษตรพระจอมเกล้า 4, 1-15.
- Aluja, M., Hurtado, C., Liedo, P., Cabrera, M., Castillo, F., Guillen, J., Rios, E., 1996. Seasonal population fluctuations and ecological implications for management of *Anastrepha* fruit flies (Diptera, Tephritidae) in commercial mango orchards in Southern Mexico. J. Econ. Entomol. 89(3), 654-67.
- Antolin, M.F., Bosio, C.F., Cotton, J., Sweeney, W., Strand, M.R., Black, W.C., 1996. Intensive linkage mapping in a wasp (*Bracon hebetor*) and a mosquito (*Aedes aegypti*) with single-strand conformation polymorphism analysis of random amplified polymorphic DNA markers. Genetics 143, 1727-38.
- Armstrong, J.W., Jang, E.B., 1997. An overview of present and future fruit fly research in Hawaii and U.S. mainland. In A.J. Allwood and R.A.I. Drew (Eds.). Management of Fruit Flies in the Pacific. Canberra: Australian Center for International Agricultural Research (ACIAR) Proceedings 76, 30-42.
- Baimai, V., Phinchongsakuldit, J., Sumrandee, C., 2000a. Cytological evidence for a complex of species within the taxon *Bactrocera tau* (Diptera: Tephritidae) in Thailand. Biol. J. Linn. Soc. 69, 399-409.
- Baimai, V., Phinchongsakuldit, J., Trinachartvanit W., 1999. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand (III): Six members of the *Bactrocera dorsalis* complex. Zool. Stud. 38, 110-18.
- Baimai, V., Sumrandee, C., Tigvattananont, S., Trinachartvanit, W., 2000b. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. IV. Cytotaxonomy of ten additional new species of the *Bactrocera dorsalis* complex. Cytologia 65, 409-17.
- Baimai, V., Trinachartvanit, W., Tigvattananont, S., Grote, P.J., Poramarcom, R., Kijchalao, U., 1995. Metaphase karyotypes of fruit flies of Thailand. I. Five sibling species of the *Bactrocera dorsalis* complex. Genome 38(5), 1015-22.
- Belshaw, R., Quicke, D.L.J., 1997. A molecular phylogeny of the Aphidiinae (Hymenoptera: Braconidae). Mol. Phylogenet. Evol. 7, 281-93.
- Burt, A., Carter, D.A., Koenig, G.L., White, T.J., Taylor, J.W., 1996. Molecular markers reveal cryptic sex in the human pathogen *Coccidioides immitis*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 93, 770-3.

- Chen, S., 2001. The development and reproduction of pumpkin fly (*Bactrocera tau* (Walker)) (Diptera: Tryphritidae) and field occurrence investigation. Plant Protect. Bull. (Taichung) 43, 137-51.
- Clausen, C.P., 1978. Tephritidae (Trypetidae, Trupaneidae). In C.P. Clausen (Ed), Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pests and Weeds: A World Review. USDA-ARS, Agric. Handb. 480, 320-25.
- Clausen, C.P., Clancy, D.W., Chock, Q.C., 1965. Biological control of the Oriental fruit fly (*Dacus dorsalis* Hendel) and other fruit flies in Hawaii. USDA Tech. Bull. 1322, 1-102.
- Cockburn, A.F., Fritz, G.A., 1996. Isolation and purification of insect DNA. In: Clapp, J.P. (Ed), Methods in Molecular Biology Vol 50 Species Diagnostics Protocols PCR and Other Nucleic Acid Methods. Hamana Press, Totowa, New Jersey, pp 15–23.
- Drew, R.A.I., 1989. The tropical fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae) of the Australasian and Oceanian regions. Mem. Queensl. Mus. 26, 1-521.
- Excoffier, L., Laval, G., Schneider, S., 2005. Arlequin ver 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol. Bioinform. Online 1, 47-50.
- Fletcher, B., 1987. The biology of dacine fruit flies. Ann. Rev. Entomol. 32, 115-44.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3(5), 294-9.
- Friesen, V.L., Congdon, B.C., Walsh, H.E., Birt, T.P., 1997. Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. Mol. Ecol. 6, 1047-58.
- Gasser, R.B., Hu, M., Chilton, N.B., Campbell, B.E., Jex, A.J., Otranto, D., Cafarchia, C., Beveridge, I., Zhu, X., 2006 Single-strand conformation polymorphism (SSCP) for the analysis of genetic variation. Nat. Protoc. 1 (6), 3121-8.
- Han, M.J., Lee, S.H., Ahn, S.B., Choi, J.Y., Choi, C.M., 1994. Distribution, damage and host plant of pumpkin fruit fly, *Paradacus depressa* (Shiraki). RDA (Rural Development Administration). J. Agric. Sci. 36, 346-50.
- Hardy, D., 1973. The fruit flies (Tephritidae–Diptera) of Thailand and bordering countries. Pacific Insects Monograph 31, 1-353.
- Hiss, R.H., Norris, D.E., Dietrich, C.H., Whitcomb, R.F., West, D.F., Bosio, C.F., Kambhampati, S., Piesman, J., Antolin, M.F. and Black, W.C. IV., 1994. Molecular taxonomy using single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis of mitochondrial ribosomal DNA genes. Insect Mol. Biol. 3(3), 171-82.

- Jamnongluk, W., Baimai, V., Kittayapong, P., 2003. Molecular evolution of tephritid fruit flies in the genus *Bactrocera* based on the cytochrome oxidase I gene. *Genetica* 119(1), 19-25.
- Kim, T.H., Kim, J.S., Mun, J.H., 1999. Distribution and bionomics of *Bactrocera depressa* (Shriaki) in Chonbuck province. *Korean J. Soil Zool.* 4, 26-32.
- Kinnear, M., Bariana, H., Sved, J., Frommer, M., 1998. Polymorphic microsatellite marker for population analysis of a Tephritid pest species, *Bactrocera tryoni*. *Mol. Ecol.* 7, 1489-95.
- Kitthawee, S., 2013. ITS2 sequence variations among members of *Diachasmimorpha longicaudata* complex (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. *J. Asian-Pacific Entomol.* 16, 173-9.
- Kitthawee, S., Rungsri, N., 2011. Differentiation in wing shape in the *Bactrocera tau* (Walker) complex on a single fruit species of Thailand. *ScienceAsia* 37(4), 308-13.
- Mardulyn, P., Whitfield, J.B., 1999. Phylogenetic signal in the COI, 16S, and 28S genes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera; Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids. *Mol. Phylogenet. Evol.* 12, 282-94.
- Orita, M., Suzuki, Y., Sekiya, T., Hayashi, K., 1989. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. *Genomics* 5, 874-9.
- Saelee, A., Tigvattananont, S., Baimai, V., 2006. Allozyme electrophoretic evidence for a complex of species within the *Bactrocera tau* group (Diptera Tephritidae) in Thailand. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 28(2), 249-57.
- Samrandee, C., Milne, J.R., Baimai, V., 2011. Ovipositor morphology and host relations of the *Bactrocera tau* complex (Diptera: Tephritidae) in Thailand. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 33(3), 247-54.
- Smouse, P.E., Long, J.C., Sokal, R.R., 1986. Multiple regression and correlation extensions of the Mantel test of matrix correspondence. *Syst. Zool.* 35, 627-32.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., Kumar, S., 2011. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 28(10), 2731-9.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22(22), 4673-80.

- Wharton, R.A., Gilstrap, F.E., 1983. Key to and status of opiine braconid (Hymenoptera) parasitoids used in biological control of *Ceratitis* and *Dacus s.l.* (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 76, 721-42.
- White, I., 1996. Fruit fly taxonomy: recent advances and new approaches. In McPheron, B.A. and Steck, G.J. (Eds.), *Fruit Fly Pests. A World Assessment of Their Biology and Management*. St Lucie Press, Delray Beach, FL, pp 253-8.
- White, I., Elson-Harris, M., 1992. *Fruit Flies of Economic Significance; Their Identification and Bionomics*. CAB International, Wallingford, UK.
- Yang, P., Carey, J., Dowell, R., 1994. Tephritid fruit flies in China: Historical background and current status. *Pan-Pacific Entomol.* 70, 159-67.

## ประวัติหัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว ดวงตา จุลศิริกุล  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Duangta Julsirikul
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3759900345221
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา  
169 ถ.ลงหาดบางแสน ต.แสนสุข อ.เมือง  
จ.ชลบุรี 20131  
โทรศัพท์ 0-3810-3087  
e-mail: duangta@buu.ac.th
5. ประวัติการศึกษา  
ปริญญาเอก (2556) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล  
ปริญญาโท (2540) สาขาชีววิทยาสภาวะแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล  
ปริญญาตรี (2537) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหิดล
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ  
พันธุศาสตร์เชิงประชากร (Population genetics)  
การควบคุมโดยชีววิธี (Biological control)  
นิเวศวิทยา (Ecology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
  - 7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : -
  - 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :
    - 7.2.1 การใช้สารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมแมลงวันผลไม้ชนิด *Bactrocera dorsalis*
  - 7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน  
Kitthawee, S. and **Julsirikul, D.** 2014. Allopatric speciation in fruit flies of Gac fruit: Genetic and geographical divergence of *Bactrocera tau* C in Thailand. In *The 40<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand* December 2-4, 2014, Hotel Pullman Khon Kaen Raja Orchid, Khon Kaen, Thailand. pp.245. (แหล่งทุน: สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ)

- Julsirikul, D.**, Worapong, J. and Kitthawee, S., 2014. Analysis of mitochondrial COI sequences of the *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) species complex in Thailand. *Entomol. Sci.* 17, 231-239. (แหล่งทุน: โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย, มหาวิทยาลัยมหิดล)
- Julsirikul, D.** and Kitthawee, S., 2013. Evidence from geometric morphometrics and SSCP haplotype patterns in the “dark form” of fruit fly parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata*. In *The 39<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand* October 21-23, 2013, Bangkok Internatinal Trade & Exhibition Centre, Bangkok, Thailand. (pp.191). (แหล่งทุน: เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ม.มหิดล)
- Julsirikul, D.** and Janprasert, K., 2008. Study of some plant crude extracts in control of *Bactrocera dorsalis* larvae. *Burapha Science Journal* 13(2), 41-6. (แหล่งทุน: เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา)
- Julsirikul, D.**, Naphalai, T., Mongkhonchat, U. 2007. The use of some plant crude extracts for reduction of emergence rate of *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Burapha Science Journal* 12(2), 35-41. (แหล่งทุน: เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา)
- Julsirikul, D.**, Mongkhonchat, U., 2007. Rotenone : Alternative insecticide and its toxicity to human. *Burapha Science Journal* 12(1), 91-5. (แหล่งทุน: เงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา)
- Kitthawee, S., **Julsirikul, D.**, Sharpe, R.G., Baimai, V. 1999. Protein polymorphism in natural populations of *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. *Genetica* 105, 125-31. (แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- 7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ความหลากหลายทางนิเวศวิทยาและพันธุศาสตร์ ของแมลงวันผลไม้ *Bactrocera tau* complex กับแมลงเบียนที่สัมพันธ์ด้วยในประเทศไทย (สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ)

## ประวัติผู้ร่วมโครงการ

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว สัจจวรรณ กิจทวี  
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sangvorn Kitthawee
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 7306 00532 68 1
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และไปรษณีย์  
อิเล็กทรอนิกส์ (e-mail)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ 10400  
โทรศัพท์ 0-2201-5276 โทรสาร 0-2354-7161  
โทรศัพท์มือถือ 085-833-4945  
e-mail: sangvorn.kit@mahidol.ac.th
5. ประวัติการศึกษา  
ปริญญาเอก (2532) สาขาภูมิวิทยา U. of Massachusetts, USA  
ปริญญาโท (2523) สาขาชีววิทยาสภาวะแวดล้อม มหาวิทยาลัยมหิดล  
ปริญญาตรี (2520) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยรามคำแหง
6. สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ  
ชีวสถิติ ( Biostatistics)  
พันธุศาสตร์เชิงประชากร (Population genetics)  
นิเวศวิทยาของแมลง (Insect ecology)
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย
  - 7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : -
  - 7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :
    - 7.2.1 โครงสร้างทางพันธุกรรมและสัณฐานวิทยาของประชากรแมลงวันผลไม้และแมลงเบียน
    - 7.2.2 การใช้เทคนิค geometric morphometrics ในการจัดจำแนกแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนในประเทศไทย
    - 7.2.3 นิเวศวิทยาพันธุศาสตร์และกลไกการแยกสปีชีส์ ของแมลงเบียน (ศัตรูแมลงวันผลไม้) *Diachasmimorpha longicaudata* complex ในประเทศไทย
  - 7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน  
**Kitthawee, S.** and D. Julsirikul. 2014. Allopatric speciation in fruit flies of Gac fruit: Genetic and geographical divergence of *Bactrocera tau* C in Thailand. In *The 40<sup>th</sup> Congress on Science and Technology of Thailand* December 2-4, 2014,



- Hotel Pullman Khon Kaen Raja Orchid, Khon Kaen, Thailand. pp.245. (แหล่ง  
ทุน: สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัย  
แห่งชาติ)
- Sumrandee, C., S. Hirunkanokpun, K. Doornbos, **S. Kitthawee**, V. Baimai, L. Grubhoffer,  
W. Trinachartvanit and A. Ahantarig. 2014. Molecular detection of *Rickettsia*  
species in *Amblyomma* ticks collected from snakes in Thailand. Ticks and Tick-  
borne Diseases. (inpress) (แหล่งทุน: มหาวิทยาลัยมหิดล)
- Harrington, L.C., A. Fleishe, D. Ruiz-Moreno, F. Vermeulen, C.V. Wa, R.L. Poulson, J.D.  
Edman, J.M. Clark, J.W. Jones, **S. Kitthawee**, and T.W. Scott. 2014.  
Heterogeneous feeding patterns of the dengue vector, *Aedes aegypti*, on  
individual human hosts in rural Thailand. PLOS Neglected Tropical Diseases  
8(8): e3048. (แหล่งทุน: NIH Grant)
- Wikraiphat, C., M. Pudla, P. Baral, **S. Kitthawee** and P. Utaisincharoen. 2014. Activation  
of NADPH oxidase is essential, but not sufficient, in controlling intracellular  
multiplication of *Burkholderia pseudomallei* in primary human monocytes.  
Pathogens and Disease 71(1): 69-72. (แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย,  
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยมหิดล)
- Julsirikul, D., J. Worapong and **S. Kitthawee**. 2014. Analysis of mitochondrial *COI*  
sequences of the *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae)  
species complex in Thailand. Entomol. Science 17: 231-239. (แหล่งทุน: โครงการ  
พัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย,  
มหาวิทยาลัยมหิดล)
- Kitthawee, S.** 2013. ITS2 sequence variations among members of *Diachasmimorpha*  
*longicaudata* complex (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. J Asian-Pacific  
Entomol. 16: 173-179. (แหล่งทุน: โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบาย  
จัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย)
- Dujardin J.P. and **S. Kitthawee**. 2013. Phenetic structure of two *Bactrocera tau* cryptic  
species (Diptera: Tephritidae) infesting *Momordica cochinchinensis*  
(Cucurbitaceae) in Thailand and Laos. Zoology 116: 129-138. (แหล่งทุน:  
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- Kitthawee S.** and N. Rungsri. 2011. Differentiation in wing shape in the *Bactrocera tau*  
(Walker) complex on a single fruit species of Thailand. ScienceAsia 37(4): 308-  
313. (แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุน  
สนับสนุนการวิจัย)

- Kitthawee, S.** and J.P. Dujardin. 2010. The geometric approach to explore the *Bactrocera tau* complex (Diptera: Tephritidae) in Thailand. *Zoology* 113: 243-249. (แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- Kitthawee, S.** and J.P. Dujardin. 2009. The *Diachasmimorpha longicaudata* complex: reproductive isolation and geometric patterns of the wing. *Biological Control* 51: 191-197. (แหล่งทุน: สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- Kitthawee, S.** 2008. Forced-contact mating: A technique for crossing experiments with the fruit fly parasitoid, *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control* 44: 73-78. (แหล่งทุน: โครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย)
- Harrington L.C., F. Vermeulen, J.W. Jones, **S. Kitthawee**, R. Sithiprasasna, J.D. Edman and T.W. Scott. 2008. Age-dependent survival of the dengue vector, *Aedes aegypti*, demonstrated by simultaneous release-recapture of different age cohorts. *J. Med. Entomol.* 45(2): 307-313. (แหล่งทุน: NIH Grant)
- Slotman, M.A., N.B. Kelly, L.C. Harrington, **S. Kitthawee**, J.W. Jones, T.W. Scott, A. Caccone and J.R. Powell. 2007. Polymorphic microsatellite markers for studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae), the vector of dengue and yellow fever. *Mol. Ecol. Notes* 7: 168-171. (แหล่งทุน: NIH Grant)
- Harrington, L.C., T.W. Scott, K. Lerdthusnee, R.E. Coleman, A. Costero, G.G. Clark, J.W. Jones, **S. Kitthawee**, P. Kittayapong, R. Sithiprasasna and J.D. Edman. 2005. Dispersal of the dengue vector *Aedes aegypti* within and between rural communities. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72(2): 209-220. (แหล่งทุน: NIH Grant)
- Kitthawee, S.**, K. Sriplang, W.Y. Brockelman and V. Baimai. 2004. Laboratory evaluation of density relationships of the parasitoid, *Spalangia endius* (Hymenoptera: Pteromalidae) with two species of tephritid fruit fly pupal host in Thailand. *ScienceAsia* 30: 391-397. (แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- Gerade, B.B., S.H. Lee, T.W. Scott, J.D. Edman, L.C. Harrington, **S. Kitthawee**, J.W. Jones and J.M. Clark. 2004. Field validation of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) age estimation by analysis of cuticular hydrocarbons. *J. Med. Entomol.* 41(2): 231-238. (แหล่งทุน: NIH Grant)

- Kitthawee, S.**, S. Singhapong and V. Baimai. 2004. Karyotypes of five species of tephritid fruit fly parasitoid (Hymenoptera: Braconidae) from Thailand. *Caryologia* 57: 133-137. (แหล่งทุน: โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย)
- Kitthawee, S.** and L. Vasinpiyamongkol. 2002. Mitotic karyotype of *Spalangia endius* Walker (Hymenoptera: Pteromalidae), a pupal parasitoid of tephritid flies (Diptera: Tephritidae) in Thailand. *Cytologia* 67: 435-438. . (แหล่งทุน: โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย)
- Kitthawee, S.** 2000. Seasonal occurrence of *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of *Bactrocera correcta* (Bezzi) (Diptera: Tephritidae) in a guava orchard in central Thailand. *ScienceAsia* 26: 87-92. (แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- Dharmkrong-at Chusattayanond, A., K. Roongruangchai, C. Suangkiatikul and **S. Kitthawee**. 2000. Detection of mosquito larval antigens in a natural predator by using a simple immunological technique. *ScienceAsia* 26: 131-135.
- Kitthawee, S.**, D. Julsilikul, R.G. Sharpe and V. Baimai. 1999. Protein polymorphism in natural populations of *Diachasmorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) in Thailand. *Genetica* 105: 125-131. (แหล่งทุน: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย)
- 7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ : ชุดโครงการแมลงวันผลไม้และแมลงเบียนในประเทศไทย(สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ)