การประเมินสมรรถนะของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ภายหลังการได้รับเชื้อ *Wolbachia* จากเรือด (*Cimex hemipterus*)

นายวีรยุทธ กิตติชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์
คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4974816030

Evaluation of Fitness Cost of Dengue Mosquito (*Aedes aegypti*) after Transinfected with Bed bug (*Cimex hemipterus*) *Wolbachia*

Mr. Veerayuth Kittichai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science Program in Medical Science

Faculty of Medicine

Chulalongkorn University

Academic Year 2008

Copyright of Chulalongkorn University

512094

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินสมรรถนะของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ภายหลังการได้รับเชื้อ *Wolbachia* จากเรือด (*Cimex hemipterus*)
โดย	นายวีรยุทธ กิตติชัย
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การแพทย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร

คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะแพทยศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ อดิศร ภัทราดูลย์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ดร. วิไล ชินธเนศ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. อุษาวดี ถาวระ)

วีรยุทธ กิตติชัย : การประเมินสมรรถนะของยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) ภายหลังการได้รับเชื้อ *Wolbachia* จากเรือด (*Cimex hemipterus*). (Evaluation of Fitness Cost of Dengue Mosquito (*Aedes aegypti*) after Transinfected with Bed bug (*Cimex hemipterus*) *Wolbachia*) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ. นพ. ดร. เผด็จ สิริยะเสถียร, 134 หน้า.

Wolbachia เป็นแบคทีเรียที่อยู่อาศัยร่วม (endosymbiosis) กับสัตว์ขาปล้องโดยเฉพาะมีความชุกสูงในประชากรแมลงทั่วโลก พบมากบริเวณเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์ (reproductive tissues) ของสัตว์ขาปล้อง การแพร่เชื้อของแบคทีเรีย *Wolbachia* ผ่านระบบสืบพันธุ์ของแมลงจากแม่สู่ลูกจึงก่อให้เกิดผลกระทบต่อขบวนการสืบพันธุ์ของแมลงที่สำคัญคือ ความไม่เข้ากันของไซโตพลาสซึม เมื่อมีการผสมพันธุ์กันระหว่างตัวผู้ที่ติดเชื้อกับตัวเมียที่ปลอดเชื้อ ตัวอ่อนที่เกิดจากการผสมพันธุ์จะมีพัฒนาการที่ผิดปกติ แต่ข้อดีของปรากฏการณ์ดังกล่าวช่วยให้ *Wolbachia* สามารถแพร่เชื้อเพื่อดำรงเผ่าพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาสมรรถนะของยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* ที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* สายพันธุ์ F จากเรือด (bed bug) โดยวิธี direct-microinjection วิธี Fluorescence *in situ* hybridizations (FISH) สามารถแสดงให้เห็นการติดเชื้อที่ รังไข่ ตัวอ่อน ระบบท่อและอัณฑะของยุงที่ติดเชื้อ การตรวจสอบเพื่อยืนยันว่าติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* จากเรือดในยุงลายบ้านโดยวิธี Semi-nested PCR โดยปรากฏแถบขนาด 241 เบส บนวุ้นอะกาโรส นอกจากนี้จำนวนอสุจิของยุงเพศผู้เฉลี่ยระหว่างที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อเท่ากับ 7,572.50 ± 441.88 และ 7,794.67 ± 759.90 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนความยาวเส้นปีกหรือขนาดร่างกายของยุงเพศเมียที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้ออายุ 10 วันเท่ากับ 2.90 ± .01 มิลลิเมตร และ 2.82 ± .04 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในยุงเพศผู้ที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้ออายุ 10 วัน พบว่ามีความยาวเส้นปีกเฉลี่ยเท่ากับ 2.12 ± .02 มิลลิเมตร และ 2.21 ± .02 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*p*-value เท่ากับ 0.000) อีกทั้งผลการเปรียบเทียบร้อยละของอัตราการฟักไข่ของยุงที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อยังมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (*p*-value มากกว่า 0.05) จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า *Wolbachia* ไม่ชักนำให้เกิดความผิดปกติในยุงลาย ซึ่งใช้เป็นพาหนะนำพายืนด้านเชื้อก่อโรคในแมลงแทนที่พลาสมิดได้อย่างมีประสิทธิภาพเนื่องจากสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นต่อไปอย่างมีประสิทธิภาพ

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ ลายมือชื่อนิสิต.....

ปีการศึกษา 2551 ลายมือชื่อ อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

497 48160 30 : MAJOR MEDICAL SCIENCE

KEY WORD: CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY / FITNESS COST / *Aedes aegypti* / *Cimex hemipterus* / *WOLBACHIA*

VEERAYUTH KITTICHAI: EVALUATION OF FITNESS COST OF DENGUE MOSQUITO (*AEDES AEGYPTI*) AFTER TRANSINFECTED WITH BED BUG (*CIMEX HEMIPTERUS*) *WOLBACHIA*. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. PADET SIRIYASATIEN, Ph. D., 134 pp.

Wolbachia is a bacterium that shares the address with an arthropod (endosymbiosis). *Wolbachia* is infected high rate in insect population especially in the reproductive organ. The transmission of *Wolbachia* passes through the maternally reproductive system and induces cytoplasmic incompatibility in the insects. The benefit of this phenomenon, *Wolbachia* can spread through the insect population fastly. This research has investigated the capacity of the dengue virus mosquitoes, *Aedes aegypti* when infected with F-Supergroup of *Wolbachia* from tropical bed bug by direct-microinjection. Fluorescence *in situ* hybridization was used to demonstrate infecting within ovaries, embryo and testes. The infections confirmed by semi-nested PCR technique which show 241 bp on the band of 2% agarose gel. Average sperm counts of the male mosquitoes between infected and uninfected groups were 7,572 ± 441.88 and 7,794.67 ± 759.90 respectively. The wing length of infected and uninfected female mosquitoes were 2.90 ± 0.01 mm and 2.82 ± 0.04 mm respectively, there were no statistically significant difference between these data. But, male mosquitoes age 10 days old have average wing length between infected and uninfected *Wolbachia* were 2.12 ± 0.02 mm and 2.21 ± 0.02 mm respectively, which this was a significantly difference ($p = 0.000$). The last parameter of fitness cost, the egg hatching rate was no significantly difference between infected and uninfected with *Wolbachia* (p-value > 0.05). Our studies indicate that fitness cost of *Aedes aegypti* mosquitoes infected with Bed bug *Wolbachia* compared to uninfected mosquitoes has no statistical significant. Therefore *Wolbachia* could be used as a vehicle to carry antipathogen gene in mosquito.

Field of Study: Medical Science

Academic Year: 2008

Student's Signature Veerayuth Kitticha

Advisor's Signature Padet Siriyasatien

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างยิ่งจากบุคคลหลายฝ่าย ผู้วิจัยจึงใคร่ขอกราบขอบพระคุณ และขอบพระคุณทุกท่านที่มีรายนามดังต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์นายแพทย์ ดร.เผด็จ สิริยะเสถียร ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาอนุเคราะห์เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้งคอยแนะนำ แนวคิด แนวปฏิบัติสำหรับหน้าที่ของนักวิจัยเป็นอย่างดี และช่วยปรับปรุงแก้ไขโดยเพาะวิธีการเขียนวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ตลอดจนคำสั่งสอนที่มีประโยชน์ทรงคุณค่าแก่การระลึกถึงและจดจำเพื่อนำไปเป็นแนวปฏิบัติสำหรับการดำเนินชีวิตประจำวันในอนาคต

เจ้าหน้าที่ พี่ๆน้องๆ ประจำห้องปฏิบัติการหน่วยกีฏวิทยา ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการเรียนการศึกษาเสมอมา

สุดท้ายนี้คุณประโยชน์ทั้งหมดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ไม่ว่าจะมากหรือน้อยเพียงใดก็ตาม ขอมอบให้กับผู้ที่สนใจศึกษาในเนื้อหาเกี่ยวกับการควบคุมแมลงพาหะหรืออื่นๆ นอกเหนือจากนี้ให้ได้รับประโยชน์โดยถ้วนทั่วเทอญ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย).....ง

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ).....จ

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

เนื้อหา.....ช

สารบัญตาราง.....ฌ

สารบัญรูปภาพ.....ฎ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....ฒ

บทที่

1. บทเกริ่นนำ

บทนำและความสำคัญของปัญหา.....1

คำถามสำหรับงานวิจัย.....7

วัตถุประสงค์.....7

สมมติฐาน.....7

กรอบแนวคิดสำหรับงานวิจัย.....8

คำสำคัญ.....9

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย.....9

อุปสรรคที่อาจจะเกิดขึ้นระหว่างการวิจัยและมาตรการในการแก้ไข.....10

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย.....10

2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ยุงลายบ้าน (*Ades aegypti*).....11

การควบคุมแมลงพาหะ (Vector Control).....16

เชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* Spp.....24

การดัดแปลงพันธุกรรมของแมลงด้วยแบคทีเรีย *Wolbachia*.....25

การประเมินสมรรถนะและการแทนที่ประชากรแมลงในธรรมชาติ.....28

3. วิธีการทดลองและวัสดุอุปกรณ์

การเลี้ยงยุงลายบ้าน.....33

หน้า

วัสดุอุปกรณ์ (Materials).....33
สารเคมี (Chemicals (Appendix)).....34
วิธีการ (Methods).....35

4. ผลการทดลอง

การฉีดชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ในยุงลายบ้าน *Aedes aegypti* 60
การศึกษาการติดเชื้อ *Wolbachia* ในยุงลายเพื่อศึกษาการถ่ายทอด
เชื้อแบคทีเรียจากแม่สู่ลูก 62
การตรวจสอบการติดเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Fluorescence *in situ* Hybridization ...70
การวัดขนาดของร่างกายของยุงลายบ้าน (วัดเส้นปีก).....80
การคำนวนปริมาณเชื้ออสุจิของยุงลายบ้าน.....90
การเปรียบเทียบอัตราการฟักไข่.....107

5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย.....109
อภิปรายผลการวิจัย.....109
ข้อเสนอแนะและงานศึกษาวิจัยต่อในอนาคต.....117

รายการอ้างอิง.....119
ภาคผนวก.....126
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....134

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

ตารางที่ 2.1 พัฒนาการของการควบคุมแมลงพาหะที่สำคัญ.....17

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบของสารผสมของ PCR.....43

ตารางที่ 3.2 สภาวะอุณหภูมิและเวลาของ PCR 43

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบของการเชื่อม Insert DNA เข้ากับ pGEM®-T Easy vector.....47

ตารางที่ 3.4 คู่ผสมพันธุ์ยุงในแก้วพลาสติกที่มีกระดาษกรองชุ่มน้ำอยู่ส่วนล่างในแก้ว.....58

ตารางที่ 4.1 ผลการวัดเส้นปีกของยุงลายบ้านเพศเมียระหว่างกลุ่มที่ติดเชื้อและ ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* อายุ 10 วัน.....81

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติของยุงลายบ้านเพศเมีย ด้วยวิธีของ Kolmogorov-Smirnov.....82

ตารางที่ 4.3 ค่าทางสถิติเบื้องต้นของตัวแปรที่นำมาทดสอบ กลุ่มยุงเพศเมียที่ติดเชื้อมี จำนวน 52 ปีกมีค่าเฉลี่ยประมาณ 2.90 ±0.01 mm และไม่ ติดเชื้อมี 15 ปีกมีค่าเฉลี่ย 2.82 ± 0.04 mm.....83

ตารางที่ 4.4 กราฟ boxplots ของข้อมูลความยาวเส้นปีกของยุง ดังนี้ 1; กลุ่มยุงเพศเมียติดเชื้อ และ 2; กลุ่มยุงเพศเมียไม่ติดเชื้อ.....83

ตารางที่ 4.5 แสดงการกระจายและค่าเฉลี่ยของข้อมูล.....84

ตารางที่ 4.6 ผลการวัดเส้นปีกของยุงลายบ้านเพศผู้ระหว่างกลุ่มที่ติดเชื้อและ ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่อายุ 10 วัน.....85

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติของยุงลายบ้านเพศผู้ ด้วยวิธีของ Kolmogorov-Smirnov.....86

ตารางที่ 4.8 ค่าทางสถิติเบื้องต้นของความยาวเส้นปีกของยุงอายุ 10 วัน กลุ่มที่ติดเชื้อมีค่าเฉลี่ยประมาณ 2.12 ± 0.02 mm และไม่ติดเชื้อ มีค่าเฉลี่ย 2.21 ± 0.02 mm.....87

ตารางที่ 4.9 แสดงกราฟ Boxplots ของข้อมูลใน 2 กลุ่มคือ ยุงเพศผู้ติดเชื้อ และไม่ติดเชื้อ.....88

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของข้อมูลความยาวเส้นปีกของกลุ่มติดเชื้อ และไม่ติดเชื้อเพศผู้อายุ 10 วัน.....89

ตารางที่ 4.11 ปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน โดย mated คือ ยุงที่ได้รับการผสมพันธุ์ และ Virgin คือ ยุงที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์.....91

ตาราง หน้า

ตารางที่ 4.12 ค่าสถิติเบื้องต้นเชิงบรรยายของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน โดย mated คือ ยุงที่ได้รับการผสมพันธุ์ และ virgin คือยุงที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์.....91

ตารางที่ 4.13 ผลการทดสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วันด้วยวิธีของ Kolmogorov-Smirnov 92

ตารางที่ 4.14 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน โดย Mated คือ ยุงที่ได้รับการผสมพันธุ์ และ virgin คือ ยุงที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์.....93

ตารางที่ 4.15 ปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน ซึ่ง Infected male (I1-I8) คือ กลุ่มที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* และ Uninfected male (U1-U9) คือกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* 95

ตารางที่ 4.16 ผลการทดสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติด้วยวิธีของ Kolmogorov-Smirnov ของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน ซึ่ง Infected male คือ กลุ่มที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* และUninfected male คือกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia*.....96

ตารางที่ 4.17 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 5 วัน.....97

ตารางที่ 4.18 ปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 10 วัน ซึ่ง Infected male คือ กลุ่มที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* และUninfected male คือ กลุ่มที่ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* 98

ตารางที่ 4.19 ผลการทดสอบการแจกแจงข้อมูลแบบปกติด้วยวิธีของ Kolmogorov-Smirnov ของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 10 วัน ซึ่ง Infected male คือ กลุ่มที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* และ Uninfected male คือกลุ่มที่ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia*.....99

ตารางที่ 4.20 ผลการทดสอบค่าเฉลี่ยของปริมาณอสุจิของยุงลายบ้านเพศผู้อายุ 10 วัน...100

ตารางที่ 4.21 ค่าสถิติเบื้องต้นของปริมาณอสุจิของยุงที่ติดเชื้อเชื้อและไม่ติดเชื้อในแต่ละสไลด์.....102

ตาราง หน้า

ตารางที่ 4.22 ค่าทางสถิติ Kolmogorov-Smirnov และ Shapiro-Wilk ที่กำหนด alpha เท่ากับ 0.05.....104

ตารางที่ 4.23 แสดงกราฟ Boxplots ของข้อมูลยุงติดเชื้อ (T) และไม่ติดเชื้อ *Wolbachia* (U).....105

ตารางที่ 4.24 แสดงค่าสถิติการเปรียบเทียบอัตราการฟักไข่ยุง โดยตาราง 4.24a คือ อัตราการฟักยุงรุ่นที่ 2, ตาราง 4.24b คือ อัตราการฟักยุงรุ่นที่ 4 และ ตาราง 4.24c คือ ค่าทางสถิติเปรียบเทียบร้อยละของการฟักของยุงทั้งสามคู่.....107

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ		หน้า
ภาพที่ 2.1	ยุงลายบ้าน *Aedes aegypti*	11
ภาพที่ 2.2	อวัยวะภายในของแมลง	12
ภาพที่ 2.3	ลักษณะของปากยุงที่ใช้ในการดูดกินเลือด	13
ภาพที่ 2.4	วัฏจักรชีวิตของ *Aedes aegypti* (Complete metamorphosis)	15
ภาพที่ 2.5	ลูกน้ำของยุงยักษ์ที่นำมาใช้ควบคุมลูกน้ำยุง	19
ภาพที่ 2.6	ดอก ไพรีทรัม (pyrethrum)	21
ภาพที่ 3.1	ภาชนะกระป๋องพลาสติกสำหรับผสมพันธุ์ยุงเป็นคู่	37
ภาพที่ 3.2	ไข่ยุงตากแห้งบนกระดาษกรองที่เตรียมนับจำนวนไข่ด้วยกล้องจุลทรรศน์	38
ภาพที่ 3.3	รังไข่หนึ่งข้างของยุงเพศเมียในสารละลาย 1xPBS ที่สกัดบนสไลด์แก้ว	39
ภาพที่ 3.4	รังไข่ 1 คู่ของยุงเพศเมีย สกัดจากบริเวณสองปล้องสุดท้ายจากส่วนท้องของยุงลงในสารละลาย 1xPBS ที่สกัดบนสไลด์แก้วภายใต้กล้องจุลทรรศน์	39
ภาพที่ 3.5	อัณฑะ 1 คู่ของยุงเพศผู้ สกัดจากบริเวณสองปล้องสุดท้ายจากส่วนท้องของยุงลงในสารละลาย 1xPBS ที่สกัดบนสไลด์แก้วภายใต้กล้องจุลทรรศน์	40
ภาพที่ 3.6	รังไข่ (แถวบน) และอัณฑะ (แถวล่าง) บนสไลด์ super-force one plus	40
ภาพที่ 3.7	pGEM®-T Easy vector และ ภาพแสดงบริเวณแทรกดีเอ็นเอเป้าหมาย (cloned insert) ที่ต้องการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์	46
ภาพที่ 3.8	อัณฑะของยุง 2 พู (*ลูกศรชี้*) และ seminal vesicle ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ Olympus รุ่น SZ60	53
ภาพที่ 3.9	สไลด์สำหรับนับอสุจิของยุง	54
ภาพที่ 3.10	การจัดปีกของยุงบนสไลด์	55
ภาพที่ 3.11	ปีกของยุงเพศเมีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 4 เท่า	56
ภาพที่ 3.12	ปีกของยุงเพศผู้ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 4 เท่า	56
ภาพที่ 3.13	เปรียบเทียบขนาดของปีกของยุงเพศผู้ (บน) และเมีย (ล่าง) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า	57
ภาพที่ 3.14	จำนวนไข่ยุงที่ต้องการนับภายใต้กล้องดิจิตอล นับจำนวนไข่ได้ 144 ฟอง	58
ภาพที่ 3.15	จำนวนไข่ยุงที่ต้องการนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 10 เท่า	58
ภาพที่ 4.1	ภาพถ่ายจาก 2% เจล (Agarose gel electrophoresis) จากตัวอย่างยุงลายรุ่นที่ G_0 ที่ติดเชื้อ *Wolbachia*	60

ภาพประกอบ หน้า

ภาพที่ 4.2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ขนาด 241 เบส จากชิ้นส่วนของยีน 16S rRNA ของเชื้อแบคทีเรีย *Wolbachia* จากในเซลล์ของเรือด *Cimex hemipterus* GenBank (DQ399345.1).....62

ภาพที่ 4.3 ภาพถ่ายจาก 2% เจล (Agarose gel electrophoresis) จากดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค Nested PCR จากตัวอย่างยุงลายบ้านทั้งเพศผู้และเพศเมีย.....63

ภาพที่ 4.4 แสดงโคโลนีสีขาวและสีน้ำเงินในเพลท LB ที่มียาปฏิชีวนะแอมพิซิลิน X-Gal และ IPTG (a.) ซึ่งเฉพาะโคโลนีสีขาวเท่านั้นที่ถูกนำมาศึกษาที่ปลายหัวลูกศร (b.).....64

ภาพที่ 4.5 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่ติดเชื้อในยุงลายบ้านเพศผู้...66

ภาพที่ 4.6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่ติดเชื้อในยุงลายบ้านเพศเมียแบบที่หนึ่ง.....66

ภาพที่ 4.7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่ติดเชื้อในยุงลายบ้านเพศเมียแบบที่สอง.....67

ภาพที่ 4.8 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย *Wolbachia* ที่ติดเชื้อในยุงลายบ้านเพศเมียแบบที่สาม.....67

ภาพที่ 4.9 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรีย *Wolbachia* (F-supergroup) ที่ติดเชื้อในไข่เรือด ยุงลายบ้านเพศผู้และเพศเมีย.....68

ภาพที่ 4.10 การเปรียบเทียบกรดอะมิโนของแบคทีเรีย *Wolbachia* (F-supergroup) ระหว่างไข่เรือดกับยุงลายเพศผู้และเพศเมีย.....69

ภาพที่ 4.11 ภาพจากกล้องฟลูออเรสเซนต์ (รังไข่).....70

ภาพที่ 4.12 ภาพจากกล้องคอนโฟคอล (รังไข่).....72

ภาพที่ 4.13 ภาพจากกล้องฟลูออเรสเซนต์ (ตัวอ่อน).....73

ภาพที่ 4.14 ภาพจากกล้องคอนโฟคอล (ตัวอ่อน).....75

ภาพที่ 4.15 ภาพจากกล้องคอนโฟคอล (อัณฑะ).....78

ภาพที่ 4.16 บริเวณที่วัดเส้นปีกด้วย Ocular lens ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 4x.....80

ภาพที่ 4.17 แสดงภาพของอสุจิภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด Dark field (a1 และ a2) และกล้องจุลทรรศน์ชนิด Light microscope (a3 และ a4).....90

ภาพประกอบ หน้า

ภาพที่ 4.18 กราฟ Normal Q-Q แบบจุดของข้อมูลของทั้ง 4 กลุ่ม ในแกนนอน คือ ค่าของความยาวเส้นปีกที่วัดได้จริง ส่วนในแกนตั้ง คือ ค่าของข้อมูลที่ควรจะเป็นภายใต้ข้อสมมติว่าข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ.....106

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

L	=	liter
ml	=	milliliter
µl	=	microlitre
g	=	gram
ng	=	nanogram
µg	=	microgram
mM	=	millimole
M	=	molar
mm	=	millimeter
nm	=	nanometer
%	=	percentile
rmp	=	revolution per minute
bp	=	base pair
wt	=	weight
vol	=	volume
no.	=	number