รายงานวิจัย

ทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดินปี 2561

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
สนองพระราชดำริโดยจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เรื่อง

“การหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของหนอนผีเสื้อให้อาศัยและแมลงเบียนในพื้นที่โครงการอพ.สธ.”

“DNA barcoding of lepidopteran hosts and their parasitoids at RSPG areas”

คณะผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ ดร.บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่แล้วเสร็จ

พุทธศักราช 2562

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2561 ผู้วิจัยขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ศูนย์เครือข่ายการเรียนรู้เพื่อภูมิภาค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยในพื้นที่ ขอขอบคุณนายพรเทพ เกื้อกิจ และนายวรพงศ์ อัศวศิระมณี ที่ได้ช่วยเก็บตัวอย่างแตนเบียนในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ Integrative Ecology Lab และ Animal Systematics Research Unit ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้าน

บทคัดย่อ

ดีเอ็นเอบาร์โค้ด เป็นเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์นำมาประยุกต์ใช้ในการวินิจฉัยชนิดของแมลงได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ดังนั้นงานวิจัยนี้ได้นำประโยชน์ของดีเอ็นเอบาร์โค้ดมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของหนอนผีเสื้อให้อาศัย และแมลงเบียน โดยไม่ต้องมีการนำหนอนผีเสื้อมาเลี้ยงจนกลายเป็นตัวเต็มวัย หรือกลายเป็นแมลงเบียน (ในกรณีที่ถูกเบียน) ซึ่งสามารถแก้ปัญหาต่างๆ ในการเลี้ยงหนอนผีเสื้อ เช่น ไม่มีพืชอาหาร หนอนผีเสื้อติดเชื้อรา และโรคอื่นๆ ตาย ปัญหาจากการวินิจฉัยชนิดหนอนผีเสื้อให้ถูกต้อง ซึ่งค่อนข้างยาก ทำการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อจากพื้นที่โครงการอพ.สธ. อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี มาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของหนอนผีเสื้อให้อาศัยและชนิดของแมลงเบียนด้วยเทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสร้างสายใยอาหารระดับโมเลกุล ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลือกแมลงศัตรูธรรมชาติเพื่อใช้ในการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี และเข้าใจความสัมพันธ์ทางนิเวศระหว่างหนอนผีเสื้อและแมลงเบียน ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการอนุรักษ์และการจัดการทรัพยากรธรรมชาติอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: ดีเอ็นเอบาร์โค้ด ความสัมพันธ์ระหว่างแมลงให้อาศัยและแมลงเบียน หนอนผีเสื้อ

Abstract

DNA barcoding is one of molecular techniques which can be applied for accurate and fast insect identification. Therefore, this research using advantages of DNA barcoding to study the relationships between caterpillar hosts and their parasitoids, without having to rear caterpillars till they develop to butterflies/ moths or adult parasitoids (in case of caterpillars were parasitised by parasitoids). This method solves many problems occurred duing insect rearing, such as lack of food plants, caterpillart were infected by fungi or other microorganisms, lead to death. Moreover, morphological identification of the insects' immature stages is rather difficult. Caterpillars were collected from RSPG area, Kaeng Khoi district, Saraburi Province, to study caterpillar host-parasitoid relationships. Molecular food web was constructed according to the data discovered from this study. Results from the study aid in selection of natural enemies to control insect pests' populations in biological control programme and understanding ecological relationship between caterpillars and their parasitoid. This preliminary data can be used for sustainable conservation and management of natural resouces.

Key words: DNA barcoding, host-parasitoid relationship, caterpillar

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อภาษาไทย	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	4
สารบัญเรื่อง	5
สารบัญภาพ	6
บทนำและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
วิธีดำเนินงานวิจัย	11
ผลการศึกษา	18
วิจารณ์ผลการทดลอง	30
สรุปและข้อเสนอแนะ	31
เอกสารอ้างอิง	33
ประวัตินักวิจัย	35

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แผนที่แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี 11

ภาพที่ 2 แสดงการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อในพื้นที่ศึกษา โดยใช้ปากคีบและมือในการจับตัวอย่างแมลง ดองตัวอย่างหนอนผีเสื้อในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95 12

ภาพที่ 3 แสดงการใช้ beating sheet ในการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ 13

ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่เก็บได้จากภาคสนาม ใส่ในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95 14

ภาพที่ 5 แสดงการวัดตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่เก็บได้จากภาคสนาม โดยใช้ Vernier Caliper 15

ภาพที่ 6 แสดงการผ่าตัวอย่างหนอนผีเสื้อใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอซูม 15

ภาพที่ 7 แสดงการขั้นตอนการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด ของ CCDB 17

ภาพที่ 8 ไดอะแกรมแสดงจำนวนหนอนผีเสื้อ (ตัว) ในแต่ละวงศ์ที่เก็บตัวอย่างได้ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560 19

ภาพที่ 9 กราฟแสดงจำนวนหนอนผีเสื้อ (ตัว) ที่เก็บตัวอย่างได้ในแต่ละเดือน ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560 20

ภาพที่ 10 Climograph ที่บันทึกได้จากพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี แสดงอุณหภูมิเฉลี่ย ปริมาณน้ำฝน ความชื้น และความเร็วลม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560 21

ภาพที่ 11 กราฟแสดงอัตราการเบียนของหนอนผีเสื้อ ที่เก็บตัวอย่างได้ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560 22

ภาพที่ 12 ภาพถ่ายแสดงหนอนผีเสื้อชนิด *Chiasmia* sp. 1 27

ภาพที่ 13 ภาพถ่ายแสดงตัวอ่อนแตนเบียนชนิด *Phanerotoma* sp. 1 27

ภาพที่ 14 ภาพถ่ายแสดง A, หนอนผีเสื้อ *Orcasca subnotata* และ B, ตัวอ่อนแตนเบียนชนิด *Cotesia* sp. 1 28

ภาพที่ 15 สายใยอาหารระดับโมเลกุลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ และผ่าดูการเบียน จากนั้นส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ดีเอ็นเอบาร์โค้ด 30

“การหาดีเอ็นเอบาร์โค้ดของหนอนผีเสื้อให้อาศัยและแมลงเบียนในพื้นที่โครงการอพ.สธ.”

“DNA barcoding of lepidopteran hosts and their parasitoids at RSPG areas”

รองศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเชอร์
Associate Professor Dr. Buntika Areekul Butcher

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนพญาไท แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Phayathai Road, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำ

หนอนผีเสื้อ

หนอนผีเสื้อ (caterpillar) เป็นตัวอ่อนของแมลงในอันดับ Lepidoptera จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญอย่างยิ่งต่อการเกษตรทั่วโลก มีความหลากชนิดสูงมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเขตร้อน รวมถึงประเทศไทย เนื่องจากรายได้หลักส่วนหนึ่งของประเทศมาจากการเกษตร ก่อให้เกิดผลกระทบรุนแรงต่อเศรษฐกิจ ในประเทศไทยมีรายงานชนิดของแมลงในอันดับนี้อย่างน้อย 4,087 ชนิด โดยเป็นผีเสื้อกลางวัน 1,291 ชนิด ใน 10 วงศ์ และผีเสื้อกลางคืน 2,796 ชนิด ใน 64 วงศ์ (Dokchan, 2013) ผีเสื้อมีการเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่างแบบสมบูรณ์ (complete metamorphosis หรือ holometabolous) วงจรชีวิตประกอบด้วย ไข่ ตัวอ่อน (หนอนผีเสื้อ) ดักแด้ และตัวเต็มวัย (Gullan and Cranston, 2010) โดยระยะตัวอ่อนจัดเป็นระยะที่เป็นศัตรูที่สำคัญทางการเกษตร เนื่องจากจะบริโภคใบไม้เป็นจำนวนมาก การกินอาหารของหนอนผีเสื้อในแต่ละช่วงเวลาจะแตกต่างกัน หนอนผีเสื้อส่วนใหญ่จะบริโภคใบไม้เป็นจำนวนมากในเวลากลางคืน ตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่จัดเป็นแมลงศัตรูพืชอันดับหนึ่งของโลก และพบแพร่ระบาดมากในประเทศไทย คือหนอนใยผัก หรือ diamond back moth (*Plutella xylostella* L., Lepidoptera: Plutellidae) โดยจะเข้ากินพืชตระกูล *Brassica*

ประเทศไทยมีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากเป็นอันดับ 5 ของโลก รัฐบาลต้องใช้งบประมาณมากกว่า 30,000 ล้านบาทต่อปี ในการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืช การใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืชมากเกินไปก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมา เช่น ปัญหาสุขภาพ เกษตรกรมากกว่า 39% มีปัญหาสุขภาพจากการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้สารเคมีเหล่านี้ยังปนเปื้อนอยู่ในสิ่งแวดล้อมอีกเป็นเวลานาน และก่อให้เกิดผลกระทบกับสิ่งมีชีวิตอื่นในระบบนิเวศ ทำให้มีการเจริญเติบโตผิดปกติ เป็นต้น (Payackso, 2017) จากปัญหาต่างๆ ที่กล่าวมา นำไปสู่การควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชโดยวิธีอื่น เช่น ชีววิธี (biological control) เขตกรรม

(cultural control) เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษาและวิจัยเกี่ยวกับการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชด้วยชีววิธี โดยใช้แมลงเบียน หรือตัวห้ำมากขึ้น เป็นการสนองนโยบาย smart farmer, Thailand 4.0 เพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Bale, van Lenteren & Bigler, 2008) มากกว่า 80% ของการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชด้วยชีววิธีที่ประสบความสำเร็จ ใช้แตนเบียนเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติ Bompard et al (2013) รายงานว่าแตนเบียนที่มีความสามารถในการหาแมลงให้อาศัยสูง มักจะเป็นแมลงศัตรูธรรมชาติที่ดีเหมาะในการนำมาใช้ควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชด้วยชีววิธี

แมลงเบียน

แมลงเบียนมีดำรงชีวิตเป็นตัวเบียน ตัวเมียจะวางไข่ไว้ภายในหรือนอกลำตัวของแมลงให้อาศัย เมื่อไข่ของแตนเบียนฟัก ตัวอ่อนจะเจริญกัดกินเนื้อเยื่อของแมลงให้อาศัย เจริญเติบโต เมื่อพร้อมที่จะเจริญเปลี่ยนแปลงรูปร่างเป็นตัวเต็มวัย จะฆ่าแมลงให้อาศัยตาย มีทั้งชนิดที่เข้าดักแด้ภายใน หรือภายนอกลำตัวของแมลงให้อาศัย สามารถพบแมลงที่ดำรงชีวิตแบบนี้ใน 2 อันดับหลัก คือ Hymenoptera (แตนเบียน หรือ parasitic wasp) อยู่ในอันดับเดียวกับผึ้ง มด ต่อและแตนชนิดอื่น มีทั้งชนิดที่เป็นแตนเบียนเดี่ยว (solitary parasitoid: แมลงให้อาศัย 1 ตัว ต่อแตนเบียน 1 ตัว) และแบบกลุ่ม (gregarious parasitoid: แมลงให้อาศัย 1 ตัว ต่อแตนเบียนตั้งแต่มากกว่า 1 -1,000 ตัว) และ Diptera ในวงศ์ Tachinidae หรือแมลงวันก้นขน (Quicke, 2015)

แมลงเบียนมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะระบบนิเวศบก เนื่องจากแมลงเบียนควบคุมประชากรของแมลงชนิดอื่น และสามารถพบได้ในทุกระบบนิเวศบก (Quicke, 2015) สามารถแบ่งได้ออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ตามลักษณะการเจริญ ได้แก่ koinobionts และ idiobionts โดย koinobionts มักจะเป็นแมลงเบียนภายใน ตัวอ่อนเจริญอยู่ในลำตัวของแมลงให้อาศัย มีระยะของการเจริญนาน และมีความจำเพาะสูงระหว่างชนิดของแมลงเบียนและแมลงให้อาศัย (specialist) แมลงให้อาศัยสามารถเคลื่อนที่ และกินอาหารได้ จะถูกฆ่าตายต่อเมื่อแตนเบียนเจริญเป็นตัวเต็มวัย ในขณะที่ idiobionts มักเป็นแตนเบียนภายนอก ไม่มีความจำเพาะกับชนิดของแมลงให้อาศัย การเจริญของตัวอ่อนแตนเบียนเร็ว แมลงให้อาศัยไม่สามารถเคลื่อนที่และกินอาหารได้

ความสัมพันธ์ระหว่างหนอนผีเสื้อให้อาศัยกับแมลงเบียน

การทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแมลงให้อาศัยและชนิดของแมลงเบียน เป็นข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปศึกษาต่อเกี่ยวกับการนำแมลงเบียนมาใช้เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติ เพื่อควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี อย่างไรก็ดีข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแมลงศัตรูธรรมชาติ และชนิดของแตนเบียนยังมีอยู่น้อยมากทั่วโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศเขตร้อน รวมถึงประเทศไทย ซึ่งการระบุชนิดของแมลงศัตรูพืช และแมลงศัตรูธรรมชาติ จัดว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญและยากที่สุดในการควบคุมประชากรแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี วิธีที่ใช้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์นี้ คือการเลี้ยงแมลง โดยนำแมลงให้อาศัยที่เก็บได้จากธรรมชาติ มาเลี้ยงจนกว่าจะได้แมลงให้อาศัยตัวเต็มวัย หรือหากแมลงนั้นถูกเบียน จะได้แมลงเบียนตัวเต็มวัย

ออกมา อย่างไรก็ดี การเลี้ยงแมลงมีปัญหาเกิดขึ้นมากมาย เช่น แมลงให้อาศัยมักจะตายก่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยเนื่องจากขาดพืชอาหาร ขึ้นรา เนื่องจากภาชนะที่ใช้เลี้ยงชื้นเกินไป และไม่สะอาด มีการติดโรค เป็นต้น ทำให้ไม่สามารถตอบได้ว่าแมลงให้อาศัยนั้นถูกเบียนหรือไม่ และถูกเบียนโดยแมลงชนิดใด นอกจากนี้การระบุชนิดแมลงให้อาศัยในระยะตัวอ่อน ทำได้ยากมาก เนื่องจากไม่มีรูปวิธาน ทำให้เกิดความผิดพลาดได้ง่าย (Greenstone, 2006)

ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

ปัจจุบันมีการนำเทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์เข้ามาช่วยในการแก้ปัญหาที่เกิดจากการเลี้ยงแมลง โดยการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด วิธีนี้จะช่วยในการระบุชนิดได้จากดีเอ็นเอ มีประสิทธิภาพสูงในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแมลงให้อาศัยและชนิดของแมลงเบียน (Traugott et al., 2013) จากการศึกษาของ Hebert et al. (2004) ลำดับเบสของยีนไมโตคอนเดรียไซโตโครม ซี ออกซิเดส (COI) ประมาณ 650 bp สามารถใช้เป็นในการระบุชนิดของสัตว์ได้ และจากการศึกษาวิจัยจากหลายๆ ตัวอย่างยืนยันว่ายีนนี้สามารถใช้ระบุชนิดสัตว์ได้จริง นอกจากนี้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดยังช่วยให้ระบุชนิดของสัตว์ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำ สามารถระบุชนิดได้จากตัวอย่างทั้งเพศผู้ เพศเมีย และทุกในทุกระยะของการเจริญ ในสัตว์ที่มีปัญหาจากการใช้ลักษณะทางสัณฐานภายนอกแล้วไม่สามารถระบุชนิดได้ เช่น ในกลุ่มที่มี mimicry, sibling species และ inter-/intra-specific variation (Hrcek, 2011; Quicke and Butcher et al., 2012; Smith et al., 2006, 2007, 2008)

ในงานวิจัยนี้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแมลงให้อาศัย (หนอนผีเสื้อ) และชนิดของแมลงเบียนในพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี เพื่อจัดทำฐานข้อมูลความสัมพันธ์ของแมลงสองกลุ่มนี้

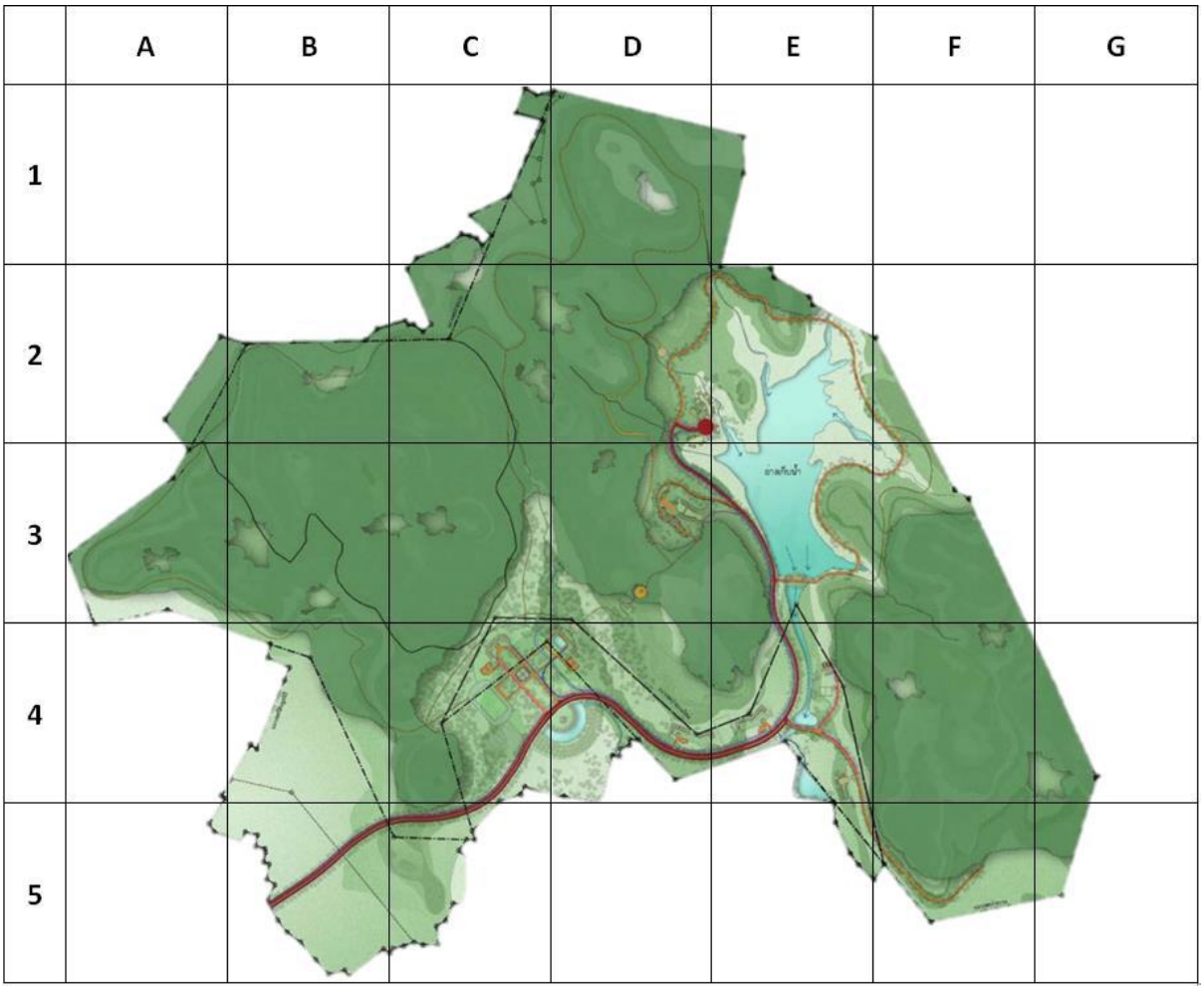
วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของแมลงให้อาศัย (หนอนผีเสื้อ) และชนิดของแมลงเบียนในพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี เพื่อจัดทำฐานข้อมูลความสัมพันธ์ของแมลงสองกลุ่มนี้ ต่อเนื่องเป็นปีที่ 2

วิธีดำเนินงานวิจัย

<u>การศึกษาภาคสนาม</u>

เก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อให้อาศัยจากพื้นที่ป่าทุติยภูมิ ในบริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี (ภาพที่ 1) แสดงการแบ่งพื้นที่ เพื่อเข้าสำรวจเก็บตัวอย่างให้ครบทุกพื้นที่มากที่สุด



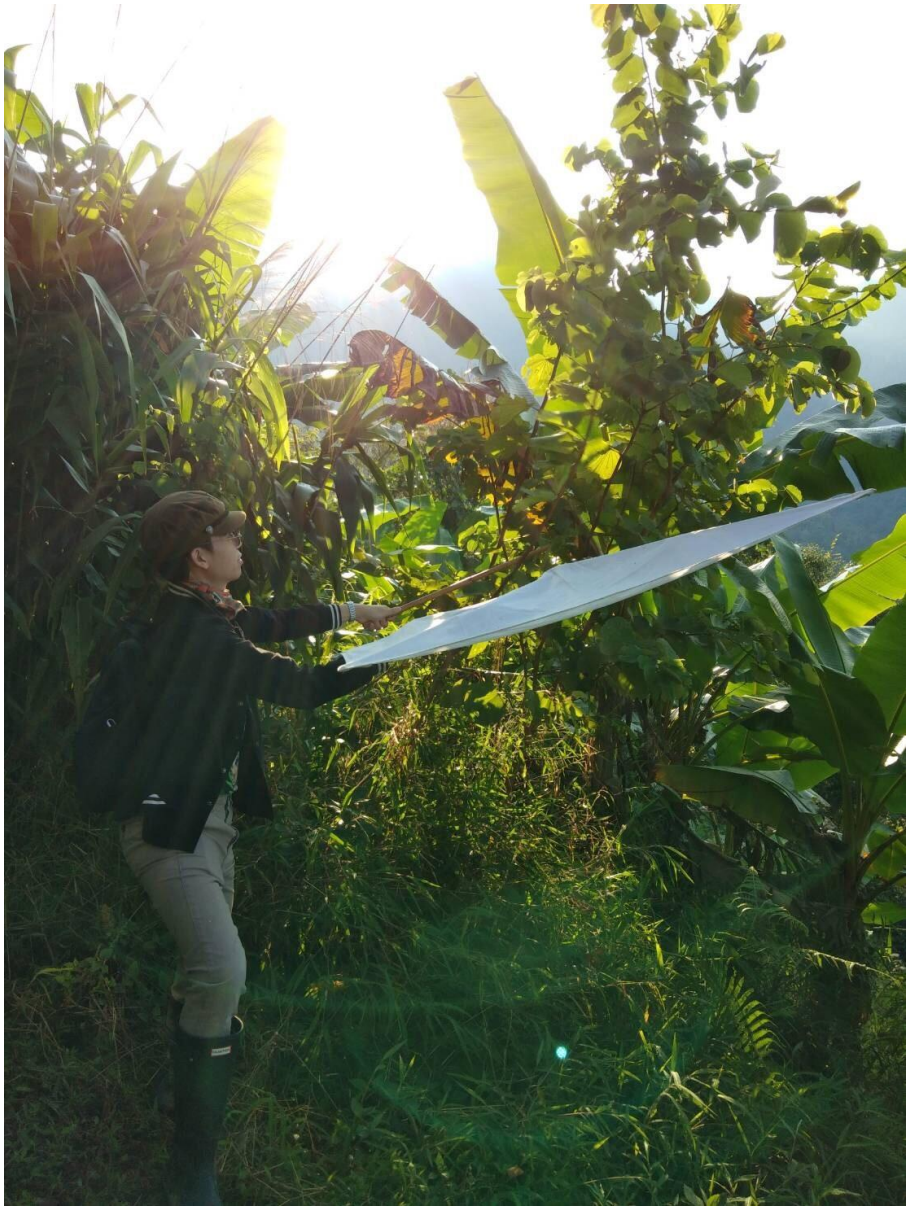
ภาพที่ 1 แผนที่แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี

เก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ 2 วิธีดังนี้

1) ใช้มือ พู่กัน และปากคีบในการเก็บตัวอย่าง เมื่อพบหนอนผีเสื้อ เก็บตัวอย่างในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95% (ภาพที่ 2) โดยสังเกตจากใบไม้ที่ถูกทำลายจากการกินของหนอนผีเสื้อ และร่องรอยมูลของหนอนผีเสื้อ

ภาพที่ 2 แสดงการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อในพื้นที่ศึกษา โดยใช้ปากคีบและมือในการจับตัวอย่างแมลง ดองตัวอย่างหนอนผีเสื้อในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95

2) ใช้อุปกรณ์ beating sheet เป็นผ้าสีขาวขนาด 125 x 80 เซนติเมตร ขึงอยู่บนท่อนไม้ที่นำมาต่อกันเป็นรูป X เหมาะสำหรับจับหนอนผีเสื้อที่อยู่บนต้นไม้สูง หรืออยู่ในพุ่มไม้ที่ตามองไม่เห็นหรือไม่สามารถเอื้อมไปหยิบได้ เอา beating sheet รองไว้ใต้กิ่งไม้ จากนั้นใช้ท่อนไม้ตีไปที่กิ่งไม้ หนอนผีเสื้อและสัตว์อื่นๆ (เช่นแมลงชนิดอื่นและแมงมุม) จะตกลงมาบนผ้าขาวนี้ จากนั้นเลือกเก็บตัวอย่างเฉพาะหนอนผีเสื้อ ใส่ลงในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95% (ภาพที่ 3) เขียนเลเบล ผู้เก็บตัวอย่าง วัน เวลา พิกัดที่เก็บตัวอย่างใส่ลงในขวดเก็บตัวอย่างด้วย



ภาพที่ 3 แสดงการใช้ beating sheet ในการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ

เก็บตัวอย่าง 2 ช่วงเวลาในแต่ละวัน โดยช่วงเช้าเก็บตัวอย่างเวลา 6.00 - 9.00 น. และช่วงเย็นเวลา 16.00 - 19.00 น. เก็บตัวอย่างทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 13 เดือน ตัวอย่างหนอนจะถูกเก็บในหลอดพลาสติก และมีการเลเบลข้อมูล วัน เวลา และสถานที่เก็บตัวอย่าง (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 แสดงตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่เก็บได้จากภาคสนาม ใส่ในหลอดพลาสติกที่บรรจุเอทานอลร้อยละ 95

<u>การศึกษาในห้องปฏิบัติการนิเวศวิทยาเชิงผสมผสาน</u>

นำตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่ได้มาวัดขนาดโดยใช้ vernier Caliper (ภาพที่ 5) ให้เลขประจำตัวกับตัวอย่างหนอนผีเสื้อทุกตัว และถ่ายรูปหนอนผีเสื้อโดยใช้กล้อง Olympus Stylus รุ่น TG-2 Tough ทำการระบุชนิดของหนอนผีเสื้อในระดับวงศ์ โดยใช้รูปวิธานจากหนังสือ "Lepidopterous adults and larvae" (Lewvanich, 2001) และ "Plant diseases and insect pests of economic importance" (Ek-Amnuay, 2010)

หนอนผีเสื้อทุกตัวจะถูกนำมาผ่าใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอซูม (ภาพที่ 6) เพื่อตรวจสอบว่าหนอนผีเสื้อนั้นถูกเบียนโดยแมลงเบียนหรือไม่ หนอนผีเสื้อจะถูกถ่ายจาดเอทานอล และนำมาแช่ในน้ำกลั่นเพื่อให้เนื้อเยื่อมีความอ่อนนุ่ม ทำให้สะดวกในการผ่า ก่อนทำการผ่าหนอน สังเกตไข่หรือหนอนของแตนเบียนรอบตัวหนอนผีเสื้อ (ในกรณีที่เป็นแตนเบียนภายนอก) หากไม่พบ ผ่าดูไข่หรือหนอนของแตนเบียนภายในตัวของหนอนผีเสื้อ (ในกรณีที่เป็นแตนเบียนภายใน) หากพบไข่หรือหนอนของแตนเบียน เก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อของทั้งหนอนผีเสื้อและแตนเบียน ใส่ใน 96-well plate ที่บรรจุเอทานอล 100% เพื่อส่งไปศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ Candadian Centre for DNA Barcoding (CCDB), University of Guelph ประเทศแคนาดา

ภาพที่ 5 แสดงการวัดตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่เก็บได้จากภาคสนาม โดยใช้ Vernier Caliper

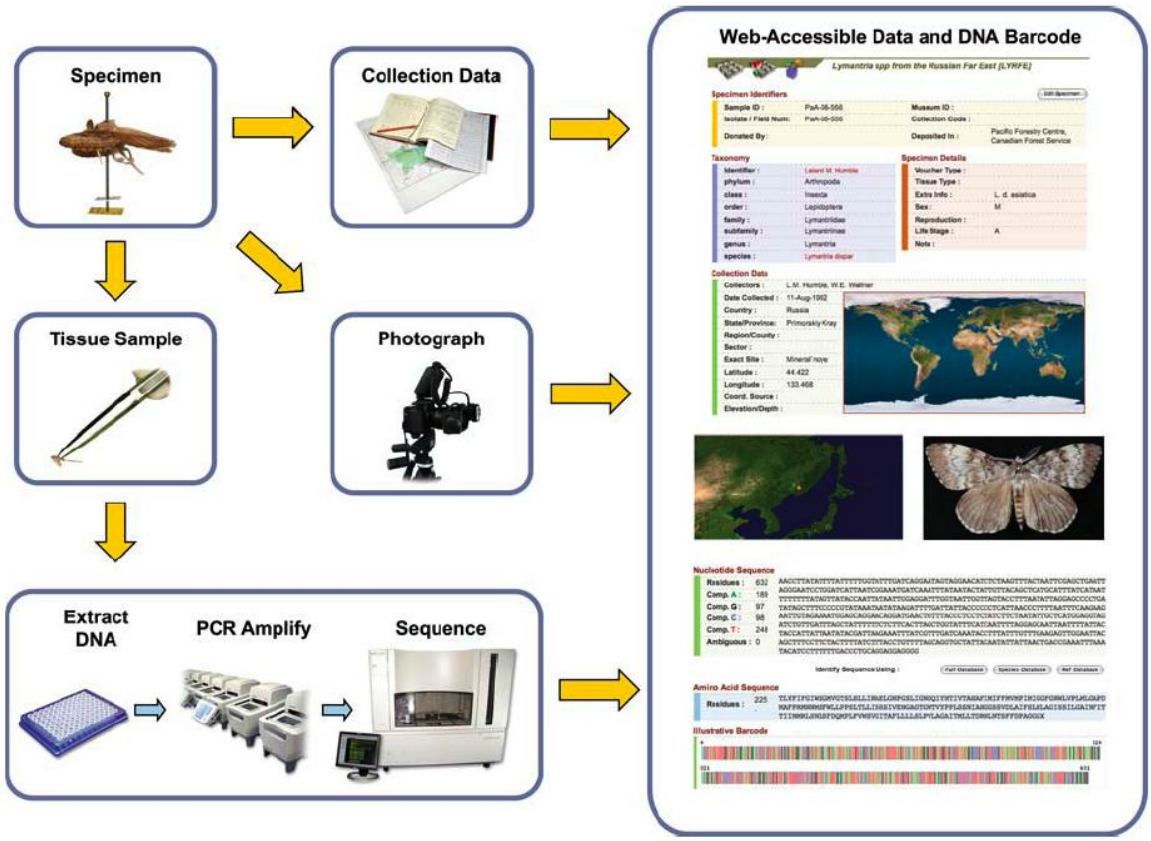
ภาพที่ 6 แสดงการผ่าตัวอย่างหนอนผีเสื้อใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอซูม

ขั้นตอนทางอณูพันธุศาสตร์

ใช้วิธีมาตราฐานในการทำดีเอ็นเอบาร์โค้ด โดยเริ่มจากการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Chelex extraction ย่อยโดยใช้เอนไซม์ proteinase K เก็บดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิ 4 C ใช้ไพร์เมอร์มาตรฐานสำหรับแมลง คือ LepF1/LepR1: LepF1:5'--ATTCAACCAATCATAAAGATATTG G--3';LepR1:5'--TAAACTTCTGGAT GTCCAAAAAATCA--3' (Hebert et al., 2004) จากนั้นทำ PCR โดยใช้วัฏจักรความร้อนดังนี้ 1 นาที อุณหภูมิ 94 °C, 5 รอบ ของ 40 s อุณหภูมิ 94 °C, 40 s อุณหภูมิ 45 °C และ 1 นาที อุณหภูมิ 72 °C ตามด้วย 35 รอบ ของ 40 s อุณหภูมิ 94 °C, 40 s อุณหภูมิ 51 °C และ 1 นาที ที่อุณหภูมิ 72 °C และขั้นตอนสุดท้าย 5 นาที ที่อุณหภูมิ 72°C

PCR ที่ได้นำมา run ที่ 2% agarose E-gel® 96-well system (Invitrogen) และ bidirectionally sequenced โดยใช้ BigDye v3.1 และวิเคราะห์โดยใช้ ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems). Contigs were assembled using Sequencher v 4.0.5 (Gene Codes) จากนั้น aligned by eye in Bioedit (Hall, 1999) เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มี gaps และ stop codon

DNA sequences ที่ได้ จะถูกเก็บไว้ในฐานข้อมูลของ Genbank และ BOLD (ภาพที่ 7) ดีเอ็นเอบาร์โค้ดที่ได้ ช่วยให้ระบุชนิดได้อย่างน้อยในระดับวงศ์ COI sequence ประมาณ 559 bp ใช้ในการตัดสิน provisional species



ภาพที่ 7 แผนภาพแสดงขั้นตอนดีเอ็นเอบาร์โค้ดของ Canadian Centre for DNA Barcoding, Centre for Biodiversity Genomics, University of Guelph, Canada

การคำนวณค่าอัตราการถูกเบียน (parasitism rate)

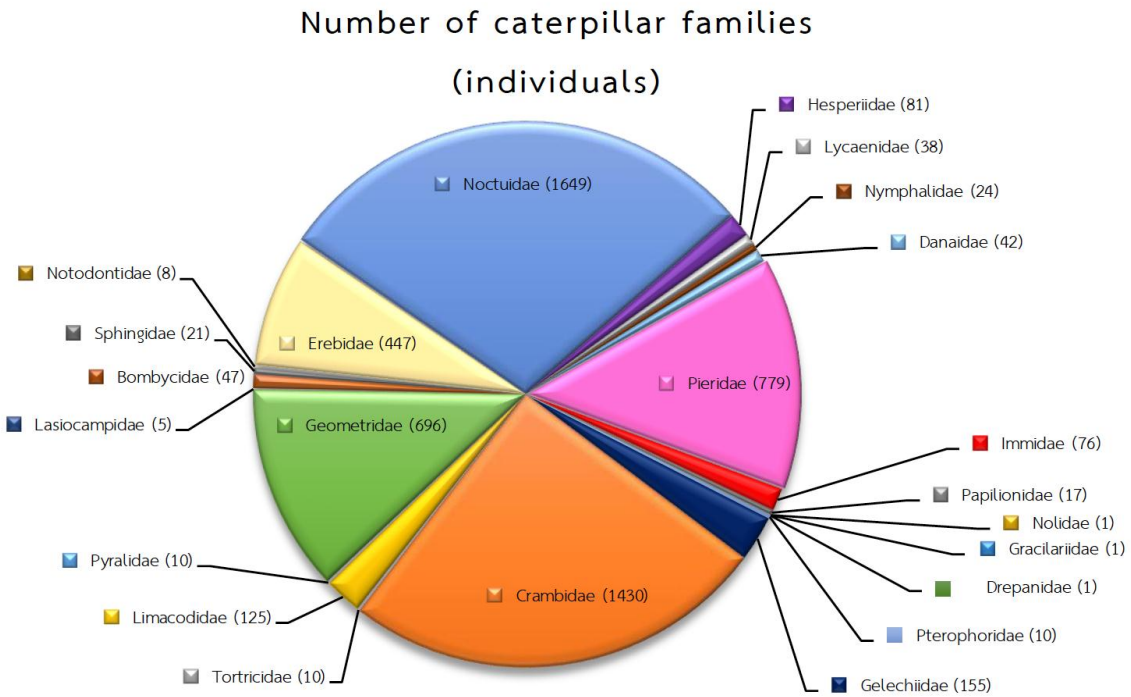
โดยใช้สมการตาม Gómez-Marco et al. (2014)

อัตราการเบียน = จำนวนหนอนผีเสื้อที่ถูกเบียน (ตัว) / จำนวนหนอนผีเสื้อทั้งหมดที่จับได้ (ตัว)

หากหนอนผีเสื้อถูกเบียนโดยแมลงเบียนมากกว่า 1 ตัว ให้นับเป็น 1

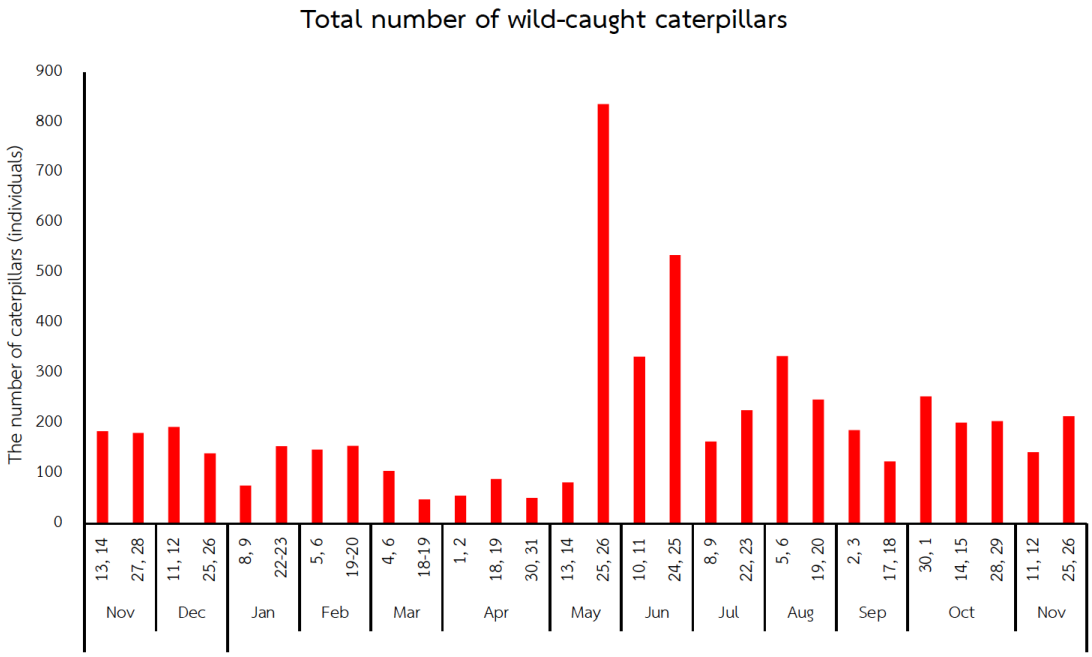
ผลการศึกษา

เนื่องจากงานวิจัยนี้ ทำการศึกษาต่อเนื่องจากงานวิจัยในงบประมาณ 2560 ทำการเก็บตัวอย่างหนอนทุก 2 สัปดาห์ระหว่างเดือน กันยายน 2559 - กันยายน 2560 และได้วิเคราะห์ผลไปบางส่วนแล้ว แต่ยังไม่เสร็จสมบูรณ์ เนื่องจากเวลาในการวิเคราะห์ผลมีไม่เพียงพอ ในปีงบประมาณนี้ จึงได้ทำการวิเคราะห์ผลเพิ่มเติมอย่างละเอียด และยังเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ เพื่อรวบรวมข้อมูลให้ได้มากขึ้น แต่จะขอรายงานผลการศึกษาอย่างละเอียดจากการเก็บตัวอย่างในปีงบประมาณ 2560 จากการเก็บตัวอย่างทั้งหมด 28 ครั้ง ได้หนอนผีเสื้อทั้งหมด 5,637 ตัว เมื่อนำหนอนมาจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานภายนอก โดยใช้รูปวิธานของ Lewvanich (2001) และ Ek-Amnuay (2010) สามารถจำแนกหนอนผีเสื้อได้ 23 วงศ์ ดังนี้ Bombycidae (n = 47); Crambidae (n = 1,430); Drepanidae (n = 1); Danaidae (n = 42); Erebidae (n = 447); Gelechiidae (n = 155); Geometridae (n = 696); Gracilariidae (n = 1); Hesperiidae (n = 81); Immidae (n = 76); Lasiocampidae (n = 5); Limacodidae (n = 125); Lycaenidae (n = 38); Noctuidae (n = 1,649); Nolidae (n = 1); Notodontidae (n = 8); Nymphalidae (n = 24); Papilionidae (n = 17); Pieridae (n = 779); Pterophoridae (n = 10); Pyralidae (n = 10); Sphingidae (n = 21) and Tortricidae (n = 10) (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 ไดอะแกรมแสดงจำนวนหนอนผีเสื้อ (ตัว) ในแต่ละวงศ์ที่เก็บตัวอย่างได้ในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560

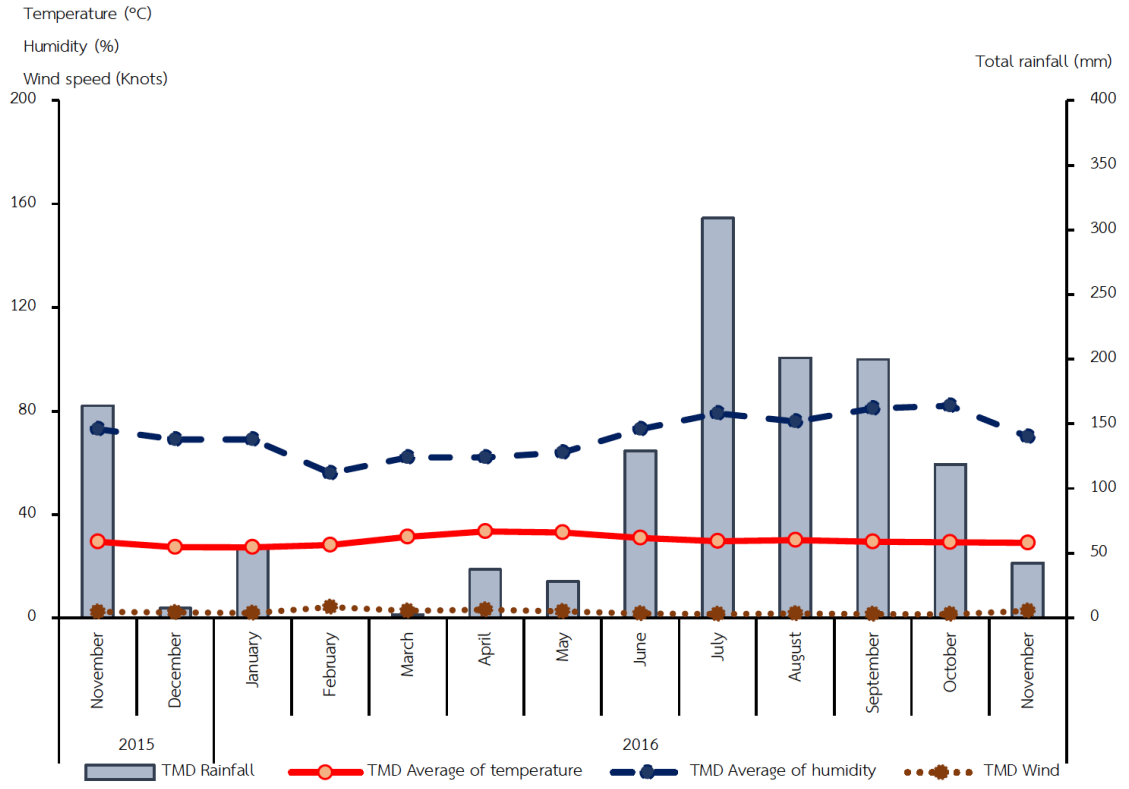
โดยความชุกชุมของหนอนผีเสื้อในแต่ละวงศ์ มีความแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาที่เก็บตัวอย่าง ภาพที่ 9



ภาพที่ 9 กราฟแสดงจำนวนหนอนผีเสื้อ (ตัว) ที่เก็บตัวอย่างได้ในแต่ละเดือน ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560

ข้อมูลทางกายภาพ

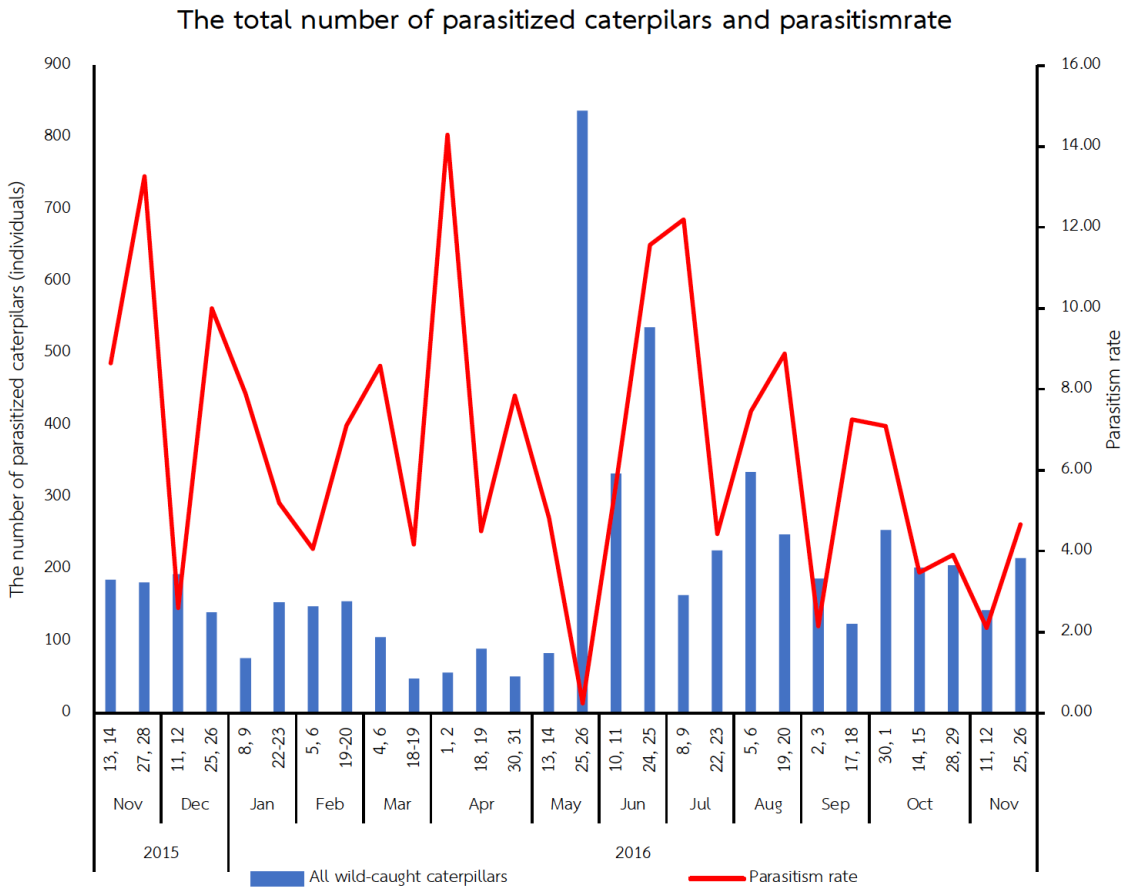
ข้อมูลอุณหภูมิ ความชื้น ปริมาณน้ำฝน และความเร็วลม ได้มาจากกรมอุตุนิยมวิทยา จังหวัดลพบุรี โดยระหว่างช่วงเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560 มีอุณหภูมิระหว่าง 27.3 - 33.45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดในเดือนเมษยน 2560 ที่ 33.45 องศาเซลเซียส และต่ำสุดในเดือนมกราคม 2560 ที่ 27.3 องศาเซลเซียส ความชื้นสูงสุดที่ 82% ในเดือนตุลาคม 2560 และความชื้นต่ำสุด 56% ในเดือนกุมภาพันธ์ 2560 (ภาพที่ 10)



ภาพที่ 10 Climograph ที่บันทึกได้จากพื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อำเภอแก่งคอย จังหวัดสระบุรี แสดงอุณหภูมิเฉลี่ย ปริมาณน้ำฝน ความชื้น และความเร็วลม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560

อัตราการเบียน

จากตัวอย่างหนอนผีเสื้อทั้งหมด 5637 ตัวอย่าง พบว่า 340 ถูกเบียนโดยแมลงเบียน โดยอัตราการเบียนหนอนผีเสื้อที่พบในแต่ละเดือน แสดงโดยกราฟตามภาพที่ 11 พบว่าเดือนมิถุนายน 2560 มีจำนวนหนอนผีเสื้อถูกเบียนสูงที่สุด และในสัปดาห์ท้ายของเดือนมีนาคมและพฤษภาคม 2560 มีจำนวนหนอนผีเสื้อถูกเบียนต่ำที่สุด สำหรับอัตราการเบียนหนอนผีเสื้อ พบว่าสูงที่สุดในช่วงสัปดาห์แรกของเดือนมีนาคม 2560 (14%) และต่ำที่สุดในสัปดาห์ท้ายของเดือนพฤษภาคม 2560 (0.2%)



ภาพที่ 11 กราฟแสดงอัตราการเบียนของหนอนผีเสื้อ ที่เก็บตัวอย่างได้ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2559 - พฤศจิกายน 2560

ผลดีเอ็นเอบาร์โค้ดและการวินิจฉัยชนิดโดยใช้อณูพันธุศาสตร์

ตัวอย่างเนื้อเยื่อหนอนผีเสื้อ (483) และแมลงเบียน (400) รวม 883 ตัวอย่าง ถูกส่งไปที่ CCDB เพื่อวิเคราะห์ชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ด (COI) พบว่าเนื้อเยื่อ 85% (749 ตัวอย่าง) สามารถทำบาร์โค้ดได้สำเร็จ โดยจัดเป็น 95% (458 ตัวอย่าง) ของแมลงเบียน และ 73% (291 ตัวอย่าง) ของหนอนผีเสื้อ มีความยาว sequence ประมาณ 559 bp จากการวิเคราะห์ดีเอ็นเอบาร์โค้ดโดยใช้ฐานข้อมูลจาก GenBank และ BOLD พบว่ามีหนอนผีเสื้อที่ถูกเบียนทั้งหมด 124 provisional species จัดอยู่ใน 99 สกุล 24 วงศ์ (ตารางที่ 1) และแมลงเบียน 113 provisional species จัดอยู่ใน 40 สกุล 7 วงศ์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 การจำแนกชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของหนอนผีเสื้อที่ถูกเบียน จากฐานข้อมูล GenBank และ BOLD

Family	Species	Family	Species
Crambidae		Erebidae	
Pyraustinae	*Haritalodes derogata* (36)	Lymantriinae	*Olene mendosa* (3)
	Hyalobathra brevialis (6)		*Orgyia postica* (4)
	Notarcha sp.1 (2)		*Orvasca subnotata* (14)
	Notarcha aurolinealis (4)		*Pantana* sp.1 (1)
	Notarcha obrinusalis (1)	Scoliopteryginae	*Dinumma* sp.1 (16)
	Orthospila sp.1 (3)	Euteliidae	Euteliidae sp.1 (1)
	Paliga damastesalis (1)		Euteliidae sp.2 (2)
	Parotis marinata (2)	Gelechiidae	
	Parotis sp.1 (3)		Gelechiidae sp.1 (1)
	Pyrausta panopealis (1)		Gelechiidae sp.2 (1)
	Desmia sp.1 (1)	Chelariinae	*Anarsia* sp.1 (1)
Spilomelinae	*Herpetogramma* sp.1 (3)	Gelechiinae	*Ardozyga* sp.1 (10)
	Herpetogramma platycapna (5)	Geometridae	
	Herpetogramma stultalis (4)	Ennominae	*Ascotis selenaria* (1)
	Orthospila orissusalis (2)		*Biston suppressaria* (2)
	Orthospila sp.1 (1)		*Casbia* sp.1 (1)
	Protonoceras leucocosma (1)		*Chiasmia nora* (5)
	Pycnarmon sp.1 (1)		*Chiasmia* sp.1 (24)
	Synclera sp.1 (2)		*Chiasmia* sp.2 (3)
	Spilomelinae sp.1 (1)		*Chiasmia* sp.3 (5)
Elachistidae			*Cleora repulsaria* (1)
Stenomatinae	*Antaeotricha* sp.1 (2)		*Hyperythra lutea* (1)
Erebidae			*Hyposidra talaca* (5)
Aganainae	*Asota caricae* (4)		*Macaria abydata* (2)
	Asota sp.1 (2)		*Petelia medardaria* (1)
Arctiinae	*Eilema* sp.1 (1)		*Petelia paroobathra* (1)
	Ormetica sp.1 (1)		*Synegia* sp.1 (1)
Boletobiinae	*Condate* sp.1 (1)	Geometrinae	*Chlorocoma* sp.1 (1)
Calpinae	*Plecoptera reflexa* (2)		*Hemithea* sp.1 (1)
Catocalinae	*Rhesala* sp.1 (10)		*Spaniocentra* sp.1 (2)
Erebinae	*Arctia virginalis* (1)	Larentiinae	*Chloroclystis ablechra* (1)
	Episparina tortuosalis (2)		*Eois* sp.1 (2)
	Rhesalides curvata (27)	Sterrhinae	*Scopula floslactata* (2)
	Avitta ophiusalis (2)	Gracilariidae	Gracillariidae sp.1 (1)
	Spirama helicina (22)	Hesperiidae	
Herminiinae	*Palthis* sp.1 (1)	Coeliadinae	*Hasora chromus* (1)
	Progonia sp.1 (1)	Hyblaeidae	*Hyblaea puera* (2)

ตารางที่ 1 (ต่อ) การจำแนกชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของหนอนผีเสื้อที่ถูกเบียน จากฐานข้อมูล GenBank และ BOLD

Family	Species	Family	Species
Immidae	*Imma* sp.1 (26)	Noctuidae	
Limacodidae		Plusiinae	*Plusiopalpa adrasta* (1)
Limacodinae	*Darna sybilla* (1)		*Chrysodeixis eriosoma* (3)
	Thosea sp.1 (1)	Nolidae	
	Parasa media (1)	Chloephorinae	*Selepa* sp.1 (6)
Lycaenidae		Nymphalidae	
Polyommatinae	*Castalius rosimon* (3)	Danainae	*Danaus chrysippus* (4)
Theclinae	*Arhopala pseudocentaurus* (1)	Oecophoridae	
Noctuidae		Oecophorinae	*Compsotropha* sp.1 (1)
Acontiinae	*Acontia* sp.1 (3)	Stathmopodinae	*Vanicela* sp.1 (1)
	Hyperstrotia sp.1 (13)	Papilionidae	
	Hyperstrotia sp.2 (1)	Papilioninae	*Papilio clytia* (1)
Amphipyrinae	*Callyna* sp.1 (1)		*Papilio polytes* (1)
	Chasmina sp.1 (2)	Pieridae	
	Chasmina tenuilinea (5)	Coliadinae	*Eurema hecabe* (5)
	Condica sp.1 (1)	Pterophoridae	
Bagisarinae	*Amyna axis* (2)	Pterophorinae	*Sphenarches anisodactylus* (1)
	Xanthodes sp.1 (1)	Pyralidae	
Catocalinae	*Achaea* sp.1 (2)	Phycitinae	*Assara* sp.1 (1)
	Arsacia rectalis (6)		*Phycita* sp.1 (3)
	Bastilla amygdalis (1)		*Ptyobathra atrisquamella* (1)
	Hulodes caranea (1)		*Sciota virgatella* (1)
	Hypospila bolinoides (1)		*Thylacoptila* sp.1 (6)
	Marcipa sp.1 (1)		*Tylochares* sp.1 (1)
	Mocis trifasciata (1)		Phycitinae sp.1 (24)
	Plecoptera quaesita (2)		Pyralidae sp.1 (3)
	Plecoptera reflexa (1)	Saturniidae	
	Spirama helicina (1)	Saturniinae	*Attacus atlas* (1)
	Tamba sp.1 (2)	Sphingidae	
	Zale exhausta (6)	Macroglossinae	*Macroglossum belis* (1)
Condicinae	*Condica illecta* (3)	Thyrididae	
Erebinae	*Pericyma mendax* (12)	Siculodinae	Picrostomastis subrosealis (1)
Euteliinae	*Penicillaria jocosatrix* (1)	Striglininae	*Striglina* sp.1 (1)
Noctuinae	*Sasunaga longiplaga* (1)	Tortricidae	
	Spodoptera litura (5)	Tortricinae	*Archips machlopis* (2)

ตารางที่ 2 การจำแนกชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงเบียน จากฐานข้อมูล GenBank และ BOLD

Family	Species	Family	Species
Hymenoptera		Braconidae	
Bethylidae			*Dolichogenidea* sp.3 (1)
Bethylinae	Bethylinae sp.1 (1)		*Dolichogenidea* sp.4 (1)
Braconidae			*Dolichogenidea* sp.5 (3)
	Braconidae sp.1 (2)		*Dolichogenidea* sp.6 (5)
	Braconidae sp.2 (6)		*Dolichogenidea* sp.7 (1)
Agathidinae	*Zosteragathis contrasta* (8)		*Dolichogenidea* sp.8 (1)
Cheloninae	*Chelonus* sp.1 (1)		*Dolichogenidea* sp.9 (2)
	Chelonus sp.2 (1)		*Dolichogenidea* sp.10 (4)
	Chelonus sp.3 (1)		*Dolichogenidea* sp.11 (4)
	Chelonus sp.4 (1)		*Dolichogenidea* sp.12 (2)
	Chelonus sp.5 (5)		*Dolichogenidea* sp.13 (1)
	Phanerotoma sp.1 (5)		*Dolichogenidea* sp.14 (1)
	Phanerotoma sp.2 (1)		*Dolichogenidea* sp.15 (1)
	Phanerotoma sp.3 (12)		*Dolichogenidea* sp.16 (3)
	Cheloninae sp.1 (3)		*Dolichogenidea* sp.17 (3)
Meteorinae	*Meteorus* sp.1 (1)		*Dolichogenidea* sp.18 (1)
Microgastrinae	Microgastrinae sp.1 (1)		*Dolichogenidea* sp.19 (1)
	Microgastrinae sp.2 (2)		*Glyptapanteles* sp.1 (2)
	Microgastrinae sp.3 (1)		*Glyptapanteles* sp.2 (1)
	Microgastrinae sp.4 (2)		*Glyptapanteles* sp.3 (3)
	Apanteles sp.1 (1)		*Glyptapanteles* sp.4 (2)
	Apanteles sp.2 (1)		*Glyptapanteles* sp.5 (5)
	Apanteles sp.3 (1)		*Glyptapanteles* sp.6 (1)
	Apanteles sp.4 (8)		*Glyptapanteles* sp.7 (1)
	Apanteles sp.5 (2)		*Glyptapanteles* sp.8 (4)
	Apanteles sp.6 (11)		*Glyptapanteles* sp.9 (2)
	Apanteles sp.7 (1)		*Glyptapanteles* sp.10 (1)
	Apanteles sp.8 (1)		*Iconella* sp.1 (1)
	Cotesia ruficrus (5)		*Microplitis* sp.1 (1)
	Cotesia sp.1 (13)		*Parapanteles athamasae* (1)
	Cotesia sp.2 (6)		*Snellenius* sp.1 (1)
	Cotesia sp.3 (1)		*Wilkinsonellus* sp.1 (3)
	Diolcogaster sp.1 (4)	Orgilinae	*Orgilus* sp.1 (1)
	Diolcogaster sp.2 (2)	Rogadinae	*Aleiodes contemptus* (1)
	Diolcogaster sp.3 (1)		*Aleiodes* sp.1 (1)
	Diolcogaster sp.4 (3)	Chalcididae	
	Dolichogenidea cerialis (5)	Chalcidinae	Brachymeria sp.1 (1)
	Dolichogenidea sp.1 (2)	Eulophidae	
	Dolichogenidea sp.2 (1)		Eulophidae sp.1 (1)

ตารางที่ 2 (ต่อ) การจำแนกชนิดโดยใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดของแมลงเบียน จากฐานข้อมูล GenBank และ BOLD

Family	Species	Family	Species
Hymenoptera		**Diptera**	
Eulophidae	Eulophidae sp.2 (1)	Muscidea	*Potamia* sp.1 (3)
	Eulophidae sp.3 (1)	Tachinidae	
	Eulophidae sp.4 (11)		Tachinidae sp.1 (1)
	Eulophidae sp.5 (2)		Tachinidae sp.2 (1)
Eulophinae	*Elachertus* sp.1 (1)		Tachinidae sp.3 (1)
	Elachertus sp.2 (3)		Tachinidae sp.4 (4)
	Elachertus sp.3 (11)		Tachinidae sp.5 (1)
	Euplectrus sp.1 (2)	Exoristinae	*Belvosia* sp.1 (1)
	Euplectrus sp.2 (2)		*Belvosia* sp.2 (1)
	Euplectrus sp.3 (2)		*Blepharella* sp.1 (1)
	Hemiptarsenus sp.1 (1)		*Chaetoglossa* sp.1 (1)
	Hyssopus sp.1 (1)		*Chrysoexorista* sp.1 (1)
Ichneumonidae			*Cyzenis* sp.1 (1)
Campopleginae	*Casinaria* sp.1 (1)		*Drino inconspicua* (4)
	Diadegma sp.1 (1)		*Eumea* sp.1 (1)
	Venturia sp.1 (4)		*Exorista xanthaspis* (1)
Ichneumoninae	*Holcojoppa* sp1 (1)		*Houghia* sp.1 (1)
Ophioninae	*Enicospilus* sp.1 (2)		*Lespesia* sp.1 (1)
			Pseudoperichaeta nigrolineata (4)
			Senometopia sp.1 (1)
			Sturmia sp.1 (1)
		Tachininae	*Peribaea* sp.1 (20)
			Siphona sp.1 (1)

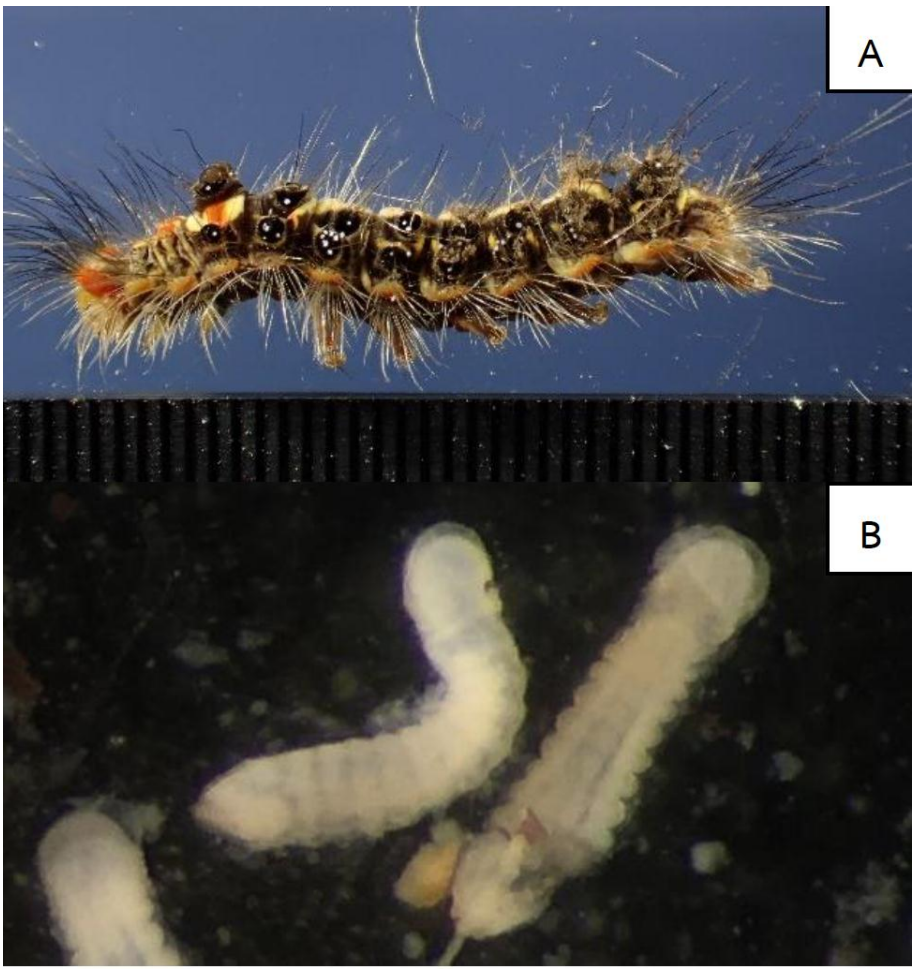
ความสัมพันธ์ระหว่างหนอนผีเสื้อให้อาศัยกับแมลงเบียน

หนอนผีเสื้อที่ถูกเบียนทั้งหมด 340 ตัว แสดงความสัมพันธ์กับชนิดของแมลงเบียนแตกต่างกันไป หนอนผีเสื้อบางชนิด สามารถถูกเบียนโดยแมลงเบียนถึง 7 ชนิด โดยหนอนผีเสื้อ *Chiasmia* sp. 1 (ภาพที่ 12) ถูกเบียนโดยแตนเบียน 7 ชนิด และแตนเบียนชนิด *Phanerotoma* sp. 1 (ภาพที่ 13) สามารถเบียนหนอนผีเสื้อได้ถึง 6 ชนิด

ภาพที่ 12 ภาพถ่ายแสดงหนอนผีเสื้อชนิด *Chiasmia* sp. 1

ภาพที่ 13 ภาพถ่ายแสดงตัวอ่อนแตนเบียนชนิด *Phanerotoma* sp. 1

ความสัมพันธ์ระหว่างหนอนผีเสื้อ *Orcasca subnotata* (ภาพที่ 14A) และ แตนเบียน *Cotesia* sp. 1 (ภาพที่ 14B) พบบ่อยที่สุดในการศึกษาครั้งนี้

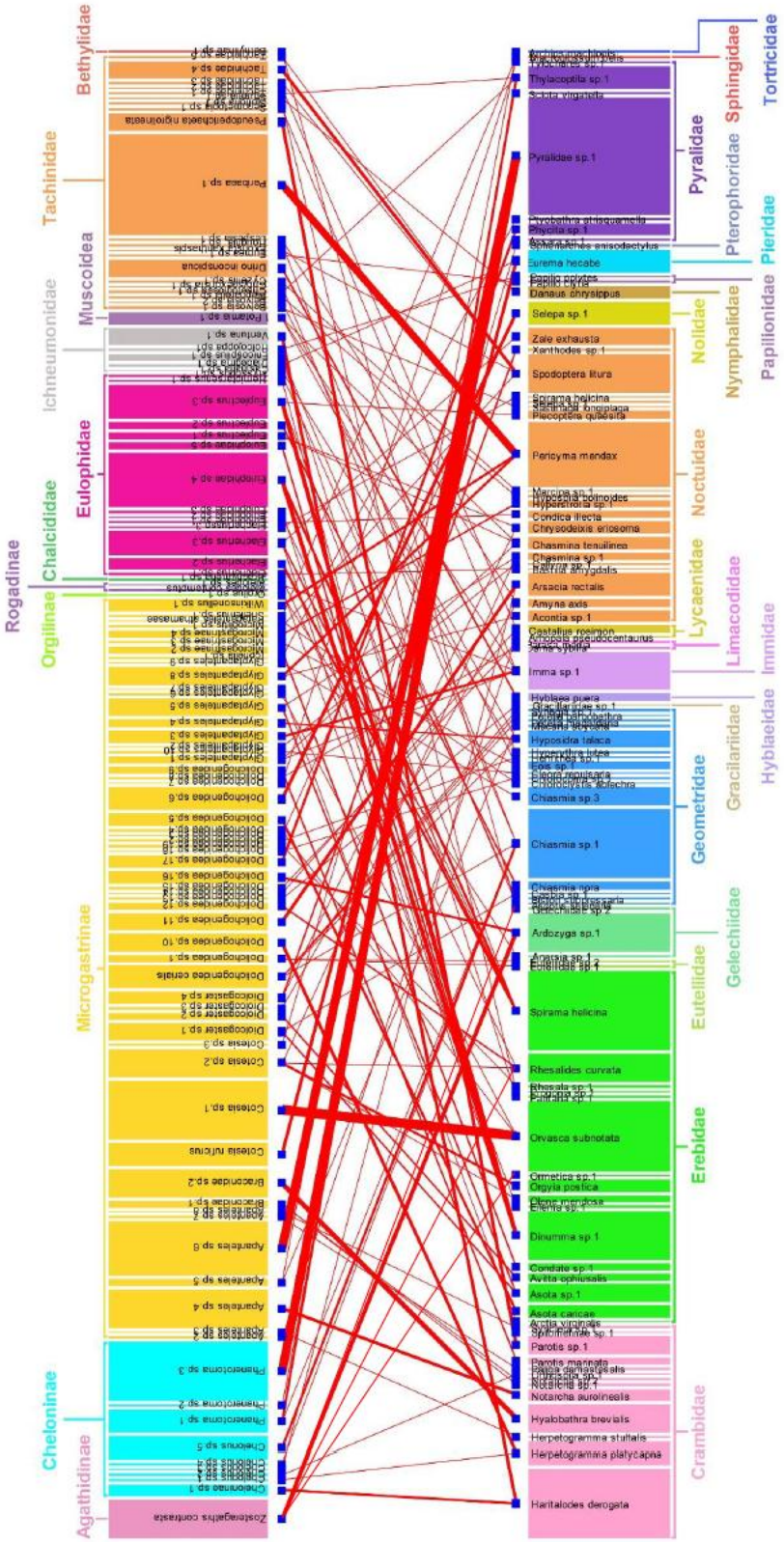


ภาพที่ 14 ภาพถ่ายแสดง A, หนอนผีเสื้อ *Orcasca subnotata* และ B, ตัวอ่อนแตนเบียนชนิด *Cotesia* sp. 1

เมื่อได้ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดแสดงชนิดของหนอนผีเสื้อและแมลงเบียนที่ได้จากการผ่าตัวอย่างหนอนผีเสื้อ มาจัดทำสายใยอาหารระดับโมเลกุล (ภาพที่ 15) พบว่ามีแมลงเบียนที่มีวิถีการดำรงชีวิตแบบ specialist 88 ชนิด และ generalist 22 ชนิด (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงชนิดของแมลงเบียนที่มีวิถีการดำเนินชีวิตแบบ generalist และ specialist โดยศึกษาข้อมูลจากสายใยอาหารระดับโมเลกุล

Specialist species			
Aleiodes contemptus	*Chrysoexorista* sp.1	*Dolichogenidea* sp.7	*Hyssopus* sp.1
Aleiodes sp.1	*Cotesia* sp.1	*Dolichogenidea* sp.8	*Iconella* sp.1
Apanteles sp.2	*Cotesia* sp.3	*Dolichogenidea* sp.9	*Lespesia* sp.1
Apanteles sp.3	*Cyzenis* sp.1	*Elachertus* sp.1	Microgastrinae sp.2
Apanteles sp.5	*Diadegma* sp.1	*Elachertus* sp.2	Microgastrinae sp.3
Apanteles sp.6	*Diolcogaster* sp.2	Eulophidae sp.1	Microgastrinae sp.4
Apanteles sp.7	*Diolcogaster* sp.3	Eulophidae sp.2	*Microplitis* sp.1
Apanteles sp.8	*Dolichogenidea* sp.10	Eulophidae sp.3	*Orgilus* sp.1
Belvosia sp.1	*Dolichogenidea* sp.11	Eulophidae sp.5	*Parapanteles athamasae*
Belvosia sp.2	*Dolichogenidea* sp.12	*Eumea* sp.1	*Phanerotoma* sp.2
Bethylinae sp.1	*Dolichogenidea* sp.13	*Euplectrus* sp.2	*Pseudoperichaeta nigrolineata*
Blepharella sp.1	*Dolichogenidea* sp.14	*Exorista xanthaspis*	*Senometopia* sp.1
Brachymeria sp.1	*Dolichogenidea* sp.15	*Glyptapanteles* sp.10	*Siphona* sp.1
Braconidae sp.1	*Dolichogenidea* sp.16	*Glyptapanteles* sp.2	*Snellenius* sp.1
Braconidae sp.2	*Dolichogenidea* sp.17	*Glyptapanteles* sp.3	*Sturmia* sp.1
Casinaria sp.1	*Dolichogenidea* sp.18	*Glyptapanteles* sp.4	Tachinidae sp.1
Chaetoglossa sp.1	*Dolichogenidea* sp.19	*Glyptapanteles* sp.6	Tachinidae sp.2
Cheloninae sp.1	*Dolichogenidea* sp.2	*Glyptapanteles* sp.7	Tachinidae sp.3
Chelonus sp.1	*Dolichogenidea* sp.3	*Glyptapanteles* sp.9	Tachinidae sp.4
Chelonus sp.2	*Dolichogenidea* sp.4	*Hemiptarsenus* sp.1	Tachinidae sp.5
Chelonus sp.3	*Dolichogenidea* sp.5	*Holcojoppa* sp1	*Venturia* sp.1
Chelonus sp.4	*Dolichogenidea* sp.6	*Houghia* sp.1	*Wilkinsonellus* sp.1
Generalist species			
Apanteles sp.4	*Dolichogenidea cerialis*	*Euplectrus* sp.1	*Phanerotoma* sp.1
Chelonus sp.5	*Dolichogenidea* sp.1	*Euplectrus* sp.3	*Phanerotoma* sp.3
Cotesia ruficrus	*Drino inconspicua*	*Glyptapanteles* sp.1	*Potamia* sp.1
Cotesia sp.2	*Elachertus* sp.3	*Glyptapanteles* sp.5	*Zosteragathis contrasta*
Diolcogaster sp.1	*Enicospilus* sp.1	*Glyptapanteles* sp.8	
Diolcogaster sp.4	Eulophidae sp.4	*Peribaea* sp.1	



ภาพที่ 15 สายใยอาหารระดับโมเลกุลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อ และผ่าดูการเบียน จากนั้นส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ดีเอ็นเอบาร์โค้ด

วิจารณ์ผลการศึกษา

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เทคนิคดีเอ็นเอบาร์โค้ด สามารถช่วยในการวินิจฉัยชนิดโดยใช้อณูพันธุศาสตร์ได้ และจากการเก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อจากธรรมชาติ มาทำการผ่าเพื่อดูการเบียน หากหนอนผีเสื้อถูกเบียน จะเก็บตัวอย่างทั้งหนอนผีเสื้อที่ถูกเบียน และตัวอ่อนแมลงเบียนไปศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด ทำให้ทราบถึงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของหนอนผีเสื้อและแมลงเบียน สามารถนำข้อมูลมาจัดทำสายใยอาหารระดับโมเลกุลได้ โดยข้อมูลนี้สามารถบอกได้ว่าแมลงเบียนนั้นๆ ดำรงชีวิตแบบ generalist หรือ specialist ซึ่งจะช่วยในการตอบคำถามทางนิเวศได้ และเป็นข้อมูลในการตัดวินใจเลือกแมลงเบียนมาศึกษาต่อไป เพื่อใช้เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติ ในการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืช (ในกรณีนี้คือหนอนผีเสื้อ) โดยชีววิธีต่อไป ซึ่งจัดเป็นการลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงศัตรูพืช ไม่ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพต่อเกษตรกรและผู้บริโภค หมดปัญหาสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มมูลค่าผลผลิตให้กับเกษตรกรอีกด้วย ซึ่งเป็นการตอบสนองนโยบาย smart farmer, Thailand 4.0

สรุปและเสนอแนะเกี่ยวกับการวิจัยในขั้นต่อไป

- ควรเก็บตัวอย่างเพิ่มจากถิ่นที่อยู่อาศัยอื่นๆ เช่น ป่าธรรมชาติ
- เก็บหนอนผีเสื้อในช่วงเวลากลางคืนเพิ่ม จะได้ข้อมูลของหนอนผีเสื้อที่ออกหากินเวลากลางคืน ทำให้ได้ข้อมูลที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น
- เก็บตัวอย่างหนอนผีเสื้อที่มีพฤติกรรมชอนใบ
- เลือกแมลงเบียนที่มีการดำรงชีวิตแบบ speicialist มาศึกษาต่อ เพื่อใช้เป็นแมลงศัตรูธรรมชาติในการควบคุมประชากรของแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี

เอกสารอ้างอิง

Butcher, B.A., Smith, M.A., Sharkey, M.J. and Quicke, D.L.J. 2012. A turbo-taxonomic study of Thai Aleiodes (Aleiodes) and Aleiodes (Arcaleiodes) (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) based largely on COI bar-coded specimens, with rapid descriptions of 179 new species. Zootaxa 3457: 1-232.

Davis, D. R. 1994. Neotropical Microlepidoptera XXV. New leaf-mining moths from Chile, with remarks on the history and composition of Phyllocnistinae (Lepidoptera: Gracillariidae), Tropical Lepidoptera 5 (1): 65-75.

Dokchan, P., Pinkaew, N. and Klorvuttimontara, S. 2013. Diversity of caterpillars (Order Lepidoptera) in community forest development project of village Ang-Ed (The Chaipattana Foundation) Khlung district, Chanthaburi province. Thai Journal of Forestry 32: 31-41.

Ek-Amnuay, P. 2010. Plant Diseases and Insect Pests of Economic Importance. Chiangmai: Siam Insect-Zoo & Museum.

Gómez-Marco, F., Urbaneja, A., Jacas, J.A., Rugman-Jones, P.F., Stouthamer, R. and Tena, A. 2014. Untangling the aphid-parasitoid food web in citrus: Can hyperparasitoids disrupt biological control?. Biological Control 81: 111–121.

Greenstone, M.H. 2006. A review of molecular methods for assessing insect parasitism. Bulletin of Entomological Research 96: 1–13.

Heppner, J.B. 1991. Faunal regions and the diversity of Lepidoptera, Tropical Lepidoptera 2 (1): 1-85.

Hrcek, J. A. N., Miller, S. E., Quicke, D. L., & Smith, M. 2011. Molecular detection of trophic links in a complex insect host–parasitoid food web. Molecular Ecology Resources, 11(5), 786-794.

Ito, Y., & Hattori**,** I. 1983. Relationship between Nola innocua Butler (Lepidoptera: Nolidae), a kleptoparasite, and aphids which cause galls on *Distylium racemosum* trees. Applied entomology and zoology, 18(3), 361-370.

Lewvanich, A. 2001. Lepidopterous Adults and Larvae. Bangkok: Department of Agriculture.

Quicke, D.L.J. 2015. The Braconid and Ichneumonid Parasitoid Wasps: Biology, Systematics, Evolution and Ecology. England: Wiley-Blackwell.

Smith, M.A., Woodley, N.E., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D.N. 2006. DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). Proceedings of the National Academy of

Sciences of the United States of America 103: 3657-3662.
Smith, M.A., Wood, D.M., Janzen, D.H., Hallwachs, W. and Hebert, P.D.N. 2007. DNA barcodes affirm that 16 species of apparently generalist tropical parasitoid flies (Diptera, Tachinidae) are not all generalists. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104: 4967–4972.
Smith, M.A., Rodriguez, J.J., Whitfield, J.B., Deans, A.R., Janzen, D.H., Hallwachs, W., et al. 2008. Extreme diversity of tropical parasitoid wasps exposed by iterative integration of natural history, DNA barcoding, morphology, and collections. Proceedings of the National Academy of Sciences 105: 12359-12364.

รองศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเชอร์

BUNTIKA AREEKUL BUTCHER

Currently work as an Associate Professor at Chulalongkorn University since May 2005

Address: Department of Biology, Faculty of Science, Chulalongkorn University,

Phayathai Road, Pathumwan, BKK 10330

Telephone: 02-2187535

Fax: 02-2187533

E-mail address: buntika.a@chula.ac.th

Place of Birth: BKK, Thailand (28 June 1977)

Education

1993-1997	B.Sc. (Biology) Mahidol University
1997-2000	M.Sc. (Environmental Biology) Mahidol University
2000-2004	Ph.D. (Taxonomy) Imperial College London

Research / Research interests

1. Taxonomy
2. Phylogenetic reconstruction
3. Evolutionary Biology
4. Ecology
5. Entomology

PhD thesis: Systematics of the parasitic wasps genus *Yelicones* Cameron (Braconidae: Rogadinae) and the use of colour characters in phylogenetic reconstruction

M.Sc thesis: Insect succession and diversity on carrion in different habitats at Khao Yai National Park

Research support/Grant funded

2005-2006: Grant for Development of New Faculty Staff, Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund.

2006-2008: Grant for New Researcher, Thailand Research Fund

2007: ASEM and ASEA-UNINET short term research grant for young researcher, University of Trento, Italy. Developed the interactive key for the parasitic wasps genus *Yelicones* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae).

2009-2010: Grant for New Researcher, NSTDA

2009: ทุนแลกเปลี่ยนอาจารย์/นักวิจัย ตามโครงการในแผนพัฒนาจุฬาฯ 100 ปี-วิชาการ ปีงบประมาณ 2552 เชิญ Professor Dr Donald Quicke จาก Imperial College London มาร่วมวิจัย (กรกฎาคม 2552)

2009-2010: BRT ความหลากหลายของแตนเบียน Superfamily Ichneumonoidea ในเขตจังหวัดภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย

2010: ทุนแลกเปลี่ยนอาจารย์/นักวิจัย ตามโครงการในแผนพัฒนาจุฬาฯ 100 ปี-วิชาการ ปีงบประมาณ 2553 เชิญ Professor Dr Donald Quicke จาก Imperial College London มาร่วมวิจัย (เมษายน และ สิงหาคม 2553)

2011: ทุนแลกเปลี่ยนอาจารย์/นักวิจัย ตามโครงการในแผนพัฒนาจุฬาฯ 100 ปี-วิชาการ ปีงบประมาณ 2554 เชิญ Professor Dr Donald Quicke จาก Imperial College London มาร่วมวิจัย (มีนาคม 2554)

2011- present: RSPG (130,000 บาทต่อปี)

2014-2015: กลุ่ม**วิจัย**ภายใต้โครงการพัฒนามหาวิทยาลัยแห่งชาติ (National Research Universities ; NRU) Cluster Food and Water (800,000 Baht)

2016: Royal Golden Jubilee for Ph.D. student year 18 for Mr. Worrapong Assavasirimanee ทุนวิจัยโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก รุ่นที่ 18 ให้นายวรพงศ์ อัศวศิระมณี

2016: ทุนวิจัยกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช ประจำปีงบประมาณ 2559 ระยะเวลา 1 ปี (500,000 Baht)

2016: Professional Development Programme for Mid-Career Researchers, Newton Fund ประจำปี 2559

2016-2018 ทุนพัฒนานักวิจัย สกว.

2016-2018 ทุน CE Biodiversity

Presentation at professional meetings

"Systematics of the parasitic wasp genus *Yelicones* Cameron (Braconidae: Rogadinae)" Poster presentation, 4th biennial meeting, The systematics Association, 18-23 August 2003, Trinity College, Dublin, Ireland.

Invited speaker at 18th Biological Sciences Graduation Congress at University of Malaya, KL, Malaysia. “How diverse are Thai parasitic wasps?: A turbo taxonomic study of Thai *Aleiodes* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae).

Professional training

“Taxonomy and Biology of Parasitic Hymenoptera Course”, Imperial College London, Silwood Park Campus, April 2001

“The role of terrestrial and aquatic insects in crime scene investigation workshop”, Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, January 2009

Awards

รางวัลนักวิจัยรุ่นใหม่ดีเด่น สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ รางวัลจุลมงกุฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2554

รางวัลนักวิจัยรุ่นกลางดีเด่น สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ รางวัลจุลมงกุฎ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประจำปี 2559

Publications

บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์. 2550. มหัศจรรย์ชีวิตแตนเบียน. จากยอดเขาถึงทะเลใต้ 2. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี. บริษัทเวิร์ค สแควร์ จำกัด. กรุงเทพ. หน้า 150-153.

บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์. 2554. นิติวิทยาศาสตร์ : ก้าวใหม่ของการไขปริศนาคดีด้วยแมลง. วารสารวิทยาศาสตร์ ฉบับที่ 3 หน้า 74-78.

เอสรา มงคลชัยชนะ มารุต เฟื่องอาวรณ์ **บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์** และ จริยา เล็กประยูร. 2556. มวนจิงโจ้น้ำ: ชีววิทยาและอนุกรมวิธาน. พิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยาแห่ง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. บริษัท สิรบุตรการพิมพ์ จำกัด กรุงเทพฯ 152 หน้า.

บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์. 2559. แตนเบียน: ความหลากหลายและงานทางอนุกรมวิธานในประเทศไทย. วารสารสิ่งแวดล้อม. ปีที่ 20 ฉบับที่ 4: 23-30.

บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์. 2560. ความหลากหลายของแตนเบียนในประเทศไทย: ดีเอ็นเอบาร์โค้ดและอนุกรมวิธาน. ปีที่ 4 ฉบับที่ 1: 17-22.

Areekul, B. and Quicke, D.L.J. 2002. A new species of *Yelicones* Cameron (Hymenoptera: Braconidae) from Thailand. *Pan-Pacific Entomologist* **78**: 17-22.

Areekul, B. and Quicke, D.L.J. 2004. A new species of *Yelicones* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Afromontane forest in Western Uganda. *Entomologist's Monthly Magazine* **140**: 285-290.

Areekul, B. and Quicke, D.L.J. 2004. Two new species of *Pseudoyelicones* (Braconidae: Rogadinae) from Costa Rica. *Journal of Hymenoptera Research* **13**: 1-7. **Areekul, B.** and Quicke, D.L.J. 2004. Three new species of *Yelicones* Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Madagascar with a revised key to African species. *African Entomology* **12**: 243-252.

Areekul, B. and Quicke, D.L.J. 2006. Systematics of the parasitic wasp genus *Yelicones* Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) and revision of the genus from North, Central and South America. *Systematic and Biodiversity* **4**: 255-376.

Areekul, B. and Quicke, D.L.J. 2006. The use of colour characters in phylogenetic reconstruction. *Biological Journal of the Linnean Society* **88**: 193-202. (IF 2010 = 2.166)

Areekul, B., Mori, M., Zaldivar-Riverón, A. and Quicke, D.L.J. 2005. Molecular and morphological phylogeny of the parasitic wasp genus *Yelicones* Cameron (Braconidae: Rogadinae). *European Journal of Entomology* **102**: 617-624.

Areekul, B., Zaldivar-Riverón, A. and Quicke, D.L.J. 2004. Venom gland and reservoir morphology of the genus *Pseudoyelicones* van-Achterberg, Penteado-Dias and Quicke (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) and implications for relationships. *Zoologische Mededeelingen, Leiden* **78**: 119-122.

Basset, Y. et al., 2018. A cross-continental comparison of assemblages of seed- and fruit-feeding insects in tropical rain forests: Faunal composition and rates of attack. Journal of Biogeography: 1-13. (http://doi10.1111/jbi.13211)

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2010. Revision of the Indo-Australian braconine wasp genus *Ischnobracon* Baltazar (Hymenoptera: Braconidae) with description of six new species from Thailand, Laos and Sri Lanka. *Journal of Natural History* **44**: 2187-2212.

Butcher, B.A. 2014. A new species of *Yelicones* Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Thailand. *Zootaxa* **3764**(2): 192-196.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2011. Revision of *Aleiodes* (*Hemigyroneuron*) parasitic wasps (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) with reappraisal of subgeneric limits, descriptions of new species and phylogenetic analysis. *Journal of Natural history* **45**: 1403-1476.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2011. Corrigendum to revision of the genus *Ischnobracon* Baltazar (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) by Butcher & Quicke (2010). *Journal of Natural History* **45**: 2525-2526.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2014. Three new species of *Kerevata* (Braconidae: Rogadinae) from mainland Papua New Guinea. *Zootaxa* **3811**: 338-346.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2015. A remarkable new genus and species of Rogadinae (Hymenoptera: Bracodinae) of uncertain tribal placement, from Papua New Guinea, resembling Betylobraconini stat. nov. *Journal of Natural History* **49**: 2045-2054 (http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2015.1009405).

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2015. *Preembobracon* gen. nov. (Hymenoptera: Braconidae: Doryctinae: Ypsistocerini: Embobraconina) from Brazil. *Zootaxa* **4000**: 275-280.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2015. A new species of the genus *Serrundabracon* van Achterberg (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) from Namibia. *Zootaxa* **4000**: 141-146.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2015. Description of a new Betylobraconini-like parasitoid wasp genus and species (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Chile. *Zootaxa* **4021**: 459-466.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2015. First record of *Aleiodes* (*Hemigyroneuron*) (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from the Arabian Peninsula: description of new

species with remarkable wing venation convergence to *Gyroneuron* and *Gyroneuronella*. *Zootaxa* **4033**: 275-279.

Butcher, B.A. and Quicke, D.L.J. 2016. First Australia record of *Aleiodes* (*Hemigyroneuron*) (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) with a description of a new species from Tasmania. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **19**: 977-980.

Butcher, B.A., Smith, M.A. and Quicke, D.L.J. 2011. A new derived species group of *Aleiodes* parasitoid wasps (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Asia with description of three new species. *Journal of Hymenoptera Research* 23: 35-42.

Butcher, B.A., Smith, M.A., Sharkey, M.J. and Quicke, D.L.J. 2012. A turbo-taxonomic study of Thai *Aleiodes* (*Aleiodes*) and *Aleiodes* (*Arcaleiodes*) (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) based largely on COI bar-coded specimens, with rapid descriptions of 179 new species. *Zootaxa* **3457**: 1-232.

Butcher, B.A., Quicke, D.L.J., Shreevihar, S. and Ranjith, A.P. 2016. Major range extensions for two genera of the parasitoid subtribe Facitorina, with a new generic synonymy (Braconidae, Rogadinae, Yeliconini). *ZooKeys* **504**: 109-120. (doi:10.3897/zookeys.584.7815)

Butcher, B.A., Zaldivar-Riveron, A., van de Kamp, T., Rolo, T.D.S, Baumbach, T. and Quicke, D.L.J. 2014. Extension of historical range of Betylobraconinae (Hymenoptera: Braconidae) into Palaearctic region based on a Baltic amber fossil and description of a new species of *Mesocentrus* Szepligeti from Papua New Guinea. *Zootaxa* **3860**: 449-463.

Fuangarworn, M. and **Butcher, B.A.** 2015. *Neocaeculus orientalis* sp. nov. (Acari, Trombidiformes, Caeculidae) from Thailand. *Zootaxa* **3048**: 251-268. (dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4048.3.6).

Fuangarworn, M. and **Butcher, B.A.** 2016. Two new species of tarsocheylid mites (Acari: Heterostigmata, Tarsocheylidae) from coastal grassland soil in Thailand. *Systematic and Applied Acarology* **21**: 255-266. (dx.doi.org/10.11158/saa.21.2.9).

Fuangarworn, M., Lekprayoon, C. and **Butcher, B.A.** 2016. Chulacaridae, a new family of Prostigmatio mites (Acari, Trombidiformes) from Thailand. *Zootaxa* **4061**: 527-552. (dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4061.5.4).

Jeratthitikul, E., Lewvanich, A., **Butcher, B.A.** and Lekprayoon, L. 2009. A Taxonomic Study of the Genus *Eurema* Hübner, [1819] (Lepidoptera: Pieridae) in Thailand. *The Natural History Journal of Chulalongkorn University* **9**: 1-20.

Poolprasert, P., Sitthicharoenchai, D., **Butcher, B.A.** and Lekprayoon, C. 2011. *Aposthonia* Krauss, 1011 (Embioptera: Oligotomidae) from Thailand, with description of a new species. *Zootaxa* **2937**: 37-48.

Poolprasert, P., Sitthicharoenchai, D., Lekprayoon, C. and **Butcher, B.A.** 2011. Two remarkable new species of webspinners in the genus *Eosembia* Ross, 2007 (Embioptera: Oligotomidae) from Thailand. *Zootaxa* **2967**: 1-11.

Quicke, D.L.J., **Areekul, B.** and Le Coutourier, S. 2005. Discovery of the parasitic wasp genus *Cosmophorus* Ratzeburg (Hymenoptera: Braconidae: Euphorinae) in Madagascar with description of a new species. *African Entomology* **13**: 372-375.

Quicke, D.L.J and **Butcher, B.A.** 2011. Two new genera of Rogadinae (Insecta: Hymenoptera: Braconidae) from Thailand. *Journal of Hymenoptera Research* **23**: 23-34.

Quicke, D.L.J. and **Butcher B.A.** 2016 — A new species of Canalirogas van Achterberg & Chen, 1996 (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from Papua
New Guinea, in ROBILLARD T., LEGENDRE F., VILLEMANT C. & LEPONCE M. (eds), Insects of Mount Wilhelm, Papua New Guinea. Muséum national
d'Histoire naturelle, Paris : 265-274 (Mémoires du Muséum national d'Histoire naturelle ; 209). ISBN : 978-2-85653-784-8.

Quicke, D.L.J. and **Butcher, B.A.** 2018. Description of *Aleiodes* (*Hemigyroneuron*) *dangerlingi* n. sp. (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) from New South Wales, Australia, and first description of female of *A.* (*H.*) *glandularis* Butcher & Quicke from South Africa. *Israel Journal of Entomology* **48**: 23-31. (http://doi.org/10.5281/zenodo.1204907)

Quicke, D.L.J., Broad, G.R. and **Butcher, B.A.** 2012. First host record for the Palaeotropical braconine wasps genus *Cassidibracon* Quicke (Hymenoptera. Braconidae) with the description of a new species from India. *Journal of Hymenoptera Research* **28**: 135-141.

Quicke, D.L.J. ,Belokobylskij ,S.A., Raweearamwong, M. and**Butcher , B. .A**2017 .A new species of Wilkinson *Cedria*(Hymenoptera: Braconidae: Lysiterminae) from Thailand. *Zootaxa* :**4365**395-400 .

Quicke, D.L.J., Shaw, M.R., Achterbern, van C., Bland, K.P., **Butcher, B.A.**, Lyszkowski, R. and Zhang, Y.M. 2014. A new Australian genus and five new species of Rogadinae (Hymenoptera: Braconidae), one reared as a gregarious endoparasitoid of an unidentified limacodid (Lepidoptera). *Zootaxa* **3881**: 237-257.

Quicke, D.L.J., Smith, M.A., Miller, S.E., Hrcek, J. and **Butcher, B.A.** 2012. *Colastomion* Baker (Braconidae, Rogadinae): nine new species from Papua New Guinea reared from Crambidae. *Journal of Hymenoptera Research* **28**: 85-121.

Quicke, D.L.J., Smith, M.A., Hrcek, J. and **Butcher, B.A.** 2013. *Cystomastacoides* van Achterberg (Braconidae, Rogadinae): first host record and descriptons of three new species from Thailand and Papua New Guinea. *Journal of Hymenoptera research* **31**: 65-78.

Quicke, D.L.J., Travis, J.G., van Noort, S., Broad, G.R., **Butcher, B.A.** 2017. New species of *Bacuma* Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) from Kenya and West Darfur with a key to species. Zootaxa **4263**: 43-71. (https://doi.org/10.11646/zootaxa.4263.1.2)

Quicke, D.L.J., Belokobylskij, S.A., Smith, M.A., Rota, J., Hrcek, J and **Butcher, B.A.** 2016. A New Genus of Rhysipoline Wasp (Hymenoptera: Braconidae) with Modified Wing Venation from Africa and Papua New Guinea, Parasitoid on Choreutidae (Lepidoptera). *Annales Zoologici* **66**: 173-192.

Quicke, D.L.J., **Butcher, B.A.**, Ranjith, A.P., Belokobylskij, S.A. 2017. Revision of the non-Afrotropical species of *Trigastrotheca* Cameron (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) with descriptions of four new species. Zootaxa **4242**: 95-110. (https://doi.org/10.11646/zootaxa.4242.1.5)

Quicke, D.L.J., **Č**tvrte**Č**ka, R., **Butcher, B.A.** 2018. A remarkable new genus of Braconini (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) from Papua New Guinea, reared from fallen fruit. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **21**: 527-530. (https://doi.org/10.1016/**j**.aspen.2018.03.001)

Donald L. J. Quicke, Frank Koch, Gavin R. Broad, Andrew M. R. Bennett, Simon van Noort, Paul D. N. Hebert and **Butcher, B.A.** 2018. A new species of *Rhytimorpha* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae: Braconinae) from Israel. *Zoology in the Middle East* **64**: 253-261. (http://dx.doi.org/10.1080/09397140.2018.1470301)

Quicke, D.L.J., Hogan, J.E., Bennett, A.M.R., Broad, G.R. and **Butcher, B.A.** 2017. Partial revision of the Indo-Australian braconine wasp genus *Gammabracon* Quicke (Hymenoptera: Braconidae) with descriptions of new species from Indonesia (Mollucas), Malaysia, Philippines and Thailand. *Journal of Natural History* **51**: 1249-1294. (http://dx.doi.org/10.1080/00222933.2017.1324055)

Quicke, D.L.J., Hebert, P.D.N. and Butcher, B.A. 2018. DNA barcoding reveals the Palaearctic species *Histeromerus mystacinus* (Hymenoptera: Braconidae: Rhyssalinae) in eastern North America. *Canadian Entomologist* 150: 495-498.

Quicke, D.L.J., Kuslitzky, W.S. and **Butcher, B.A.** 2018. First host record for Old World *Yelicones* (Hymenoptera: Braconidae: Rogadinae) adds to evidence that they are strictly parasitoids of Pyralidae (Lepidoptera). *Israel Journal of Entomology* **48**: 33-40.

Quicke, D.L.J., Skowron Volponi, M.A., Kitching, I.J., **Butcher, B.A.** 2018. Scientific Note: First record of the remarkable clearwing moth, *Akaisphecia melanopuncta* O. Gorbunov & Arita, 1995 (Sesiidae: Sesiinae: Osminiini), from Thailand, with comments on likely Batesian mimicry. *Journal of Asia-Pacific Entomology* **21**: 490-492. (https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.02.002)

Ranjith, A.P., Quicke, D.L.J., Saleem, U.K.A., **Butcher, B.A.**, Zaldivar-Riverón, A., Nasser, M. 2016. Entomophytophagy ("sequential predatory, then phytophagous behaviour") in an Indian braconid "parasitoid" wasp (Hymenoptera): specialized larval morphology, biology and description of a new species. *PLoS ONE* **11**: 1-16. DOI:10.1371/journal.pone.0156997

Ranjith, A.P., Belokobylskij, S.A., Quicke, D.L.J., Kittel, R.N., **Butcher, B.A.** and Nasser, M. 2017. An enigmatic new genus of Hormiinae (Hymenoptera: Braconidae) from South India. *Zootaxa* 4272: 371-385.

Sukchit, M., Deowanish, S., **Butcher, B.A.** 2015. Decomposition stages and carrion insect succession on dressed hanging pig carcasses in Nan province, Northern Thailand. *Tropical Natural History* **15**(2): 137-153.

Zaldivar-Riverón, A., **Areekul, B.**, Shaw, M.R. and Quicke, D.L.J. 2004. Comparative morphology of the venom apparatus in the braconid wasp subfamily Rogadinae (Insecta, Hymenoptera, Braconidae) and related taxa. *Zoologica Scripta* **33**: 223-238.

งานแปล

Natalie Rompella เขียน

ดร. บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์ แปล

Don’t squash that bug! The curious kid’s guide to insects. 2007. Lobster Press. 34 pp.

Catherine D. Hughes เขียน

ผศ.ดร. บัณฑิกา อารีย์กุล บุทเซอร์ แปล

National Geographic Kids First Big Book of Animals ชวนเรียนรู้ชีวิตสัตว์. นานมีบุ๊คส์ จำกัด

125 pp.