

**REPRODUCTIVE EFFECTS OF *WOLBACHIA* ON THE FRUIT  
FLY PARASITOID *DIACHASMIMORPHA LONGICAUDATA*  
(HYMENOPTERA : BRACONIDAE)**

**TONGDEE DULPINITTRAKUL**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2004**

**ISBN 947-04-5549-2  
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ผลกระทบของ *WOLBACHIA* ต่อระบบสืบพันธุ์ของแตนเบียนแมลงวันผลไม้  
*DIACHASMIMORPHA LONGICAUDATA* (HYMENOPTERA : BRACONIDAE)

ทองดี ดุลพินิจตระกูล 4237535 SCEB/M

วท.ม. (ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: จอห์น มิลล์ Ph.D., สัจวรรณ กิจทวี Ph.D.,  
 ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์ Ph.D., วิสุทธิ์ ไบไม้ Ph.D.

บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Wolbachia* เกี่ยวข้องกับความผิดปกติด้านการสืบพันธุ์ในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่เป็นโฮสต์หลายรูปแบบ ที่พบในแตนเบียนกลุ่ม Hymenoptera ได้แก่ การชักนำให้เกิดลูกตัวเมียโดยไม่ได้รับการผสมพันธุ์ (Parthenogenesis inducing PI) การเข้ากันไม่ได้ของไซโตพลาสซึม (cytoplasmic incompatibility CI) *Diachasmimorpha longicaudata* เป็นแตนเบียนแมลงวันผลไม้ ความเข้าใจถึงผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ของ *Wolbachia* จึงจำเป็นต่อการจะนำแตนเบียนชนิดนี้ไปใช้ในการควบคุมแบบชีววิธี ในการศึกษาผลกระทบของ *Wolbachia* ต่อ PI และ CI แตนเบียนถูกเก็บมาจาก 5 ประชากร พบปรากฏการณ์ PI ในประชากรที่ติดเชื้อ *Wolbachia* 83.33% และประชากรที่ไม่ติดเชื้ออีก 3 กลุ่ม แต่พบจำนวนน้อยมาก แต่ไม่พบปรากฏการณ์นี้ในประชากรที่ติดเชื้อ 25% แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อ *Wolbachia* ไม่เกี่ยวข้องกับการปรากฏการณ์ PI เพื่อให้ได้ประชากรที่มีพันธุกรรมใกล้เคียงกัน ประชากรติดเชื้อ *Wolbachia* ถูกรักษาด้วยการให้กินยาปฏิชีวนะ Tetracycline เข้มข้น 1 มก./มล. และใช้เป็นสายพันธุ์ปลอดเชื้อ ในการทดลอง ถ้าปรากฏการณ์ CI เกิดขึ้น คู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวผู้ติดเชื้อมีกับตัวเมียปลอดเชื้อควรให้อัตราส่วนเพศของลูกเพศผู้สูง ผลการทดลองพบว่าอัตราส่วนเพศของรุ่นลูกรวมตลอดชีวิตในแต่ละคู่ผสมพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการจับคู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวเมียติดเชื้อมีกับตัวผู้ไม่ติดเชื้อและติดเชื้อ (ค่าเฉลี่ย±ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน คือ  $19.5 \pm 3.5$  และ  $19.4 \pm 2.4$  วินาที) โดยใช้เวลานานกว่าคู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวเมียไม่ติดเชื้อมีกับตัวผู้ติดเชื้อมี (  $11.6 \pm 1.0$  วินาที) นอกจากนี้ ยังพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของอายุแม่ที่ให้ลูกตัวเมียและตัวผู้จำนวนสูงสุดครั้งแรก เรียงตามลำดับ คือ คู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวเมียติดเชื้อมีกับตัวผู้ไม่ติดเชื้อมีและติดเชื้อ (อายุแม่ที่ให้ลูกตัวเมียสูงสุดคือ  $11.0 \pm 1.3$  และ  $8.4 \pm 0.7$  วัน, อายุแม่ที่ให้ลูกตัวผู้สูงสุดคือ  $10.3 \pm 1.0$  และ  $7.8 \pm 0.7$  วัน) มากกว่าคู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวเมียไม่ติดเชื้อมีกับตัวผู้ไม่ติดเชื้อมี (อายุแม่ที่ให้ลูกตัวเมียสูงสุดคือ  $6.7 \pm 0.6$  วัน) และคู่ผสมพันธุ์ระหว่างตัวเมียไม่ติดเชื้อมีกับตัวผู้ติดเชื้อมี (อายุแม่ที่ให้ลูกตัวผู้สูงสุดคือ  $6.1 \pm 0.3$  วัน) กล่าวได้ว่าการติดเชื้อ *Wolbachia* ส่งผลให้แตนเบียนชนิดนี้เพิ่มระยะเวลาการจับคู่ผสมพันธุ์ยาวนานขึ้น และมีการผลิตลูกช้าลง

**REPRODUCTIVE EFFECTS OF *WOLBACHIA* ON THE FRUIT FLY PARASITOID  
*DIACHASMIMORPHA LONGICAUDATA* (HYMENOPTERA : BRACONIDAE)**

TONGDEE DULPINITTRAKUL 4237535 SCEB/M

M.Sc. (ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: JOHN R. MILNE Ph.D., SANGVORN KITTHAWEE Ph.D.,  
PATTAMAPORN KITTAYAPONG Ph.D., VISUT BAIMAI Ph.D.**ABSTRACT**

The endoparasitic bacterium *Wolbachia* has been implicated in many reproductive abnormalities in its invertebrate hosts. For Hymenopteran parasitoids, reported reproductive effects include parthenogenesis induction (PI) and cytoplasmic incompatibility (CI). *Diachasmimorpha longicaudata* is a parasitoid of tephritid fruit fly species that causes serious damage to the fruit industry in Thailand. Understanding the effects of *Wolbachia* on reproduction of this parasitoid is therefore essential for its use in biological control. For my research, I investigated PI and CI effects of *Wolbachia* on *D. longicaudata*. Parasitoids were field-collected from five populations. Thelytokous parthenogenesis was found to occur in virgin females of *D. longicaudata* from a population with an 83.33% *Wolbachia* infection rate and in three populations in which *Wolbachia* was not detected, but it was extremely rare. Thelytokous parthenogenesis was not found in a population with a 25% *Wolbachia* infection rate. These results indicated that the rare thelytokous parthenogenesis found in *D. longicaudata* was not associated with *Wolbachia* infection. To ensure the same genetic background for CI testing, parasitoids from a *Wolbachia*-infected culture were “cured” by feeding them the antibiotic, Tetracycline, (1 mg/ml), and an uninfected culture was established. For CI to occur in this haplodiploid parasitoid, crosses between *Wolbachia*-infected males and uninfected females should have resulted in an extremely male-biased offspring sex ratio whereas other crosses would have had the same sex ratio. However, from my results, there were no differences in sex ratio for lifetime offspring production among any crosses. However, copulation duration was found to be significantly longer in crosses of infected females with uninfected and infected males (mean±SE, 19.5±3.5 and 19.4±2.4 s) than in crosses of uninfected females with infected males (11.6±1.0 s). Furthermore, the ages of females at which female and male offspring production first peaked were found to be significantly greater in crosses of infected females with uninfected and infected males (female peak 11.0±1.3 and 8.4±0.7 d; male peak 10.3±1.0 and 7.8±0.7 d) than in crosses of uninfected females with uninfected males (female 6.7±0.6 d) and crosses of uninfected females with infected males (male 6.1±0.3 d), respectively. This suggests that *Wolbachia* infection increases copulation time and delays offspring production in this parasitoid species.

**KEY WORDS: *WOLBACHIA* / *DIACHASMIMORPHA LONGICAUDATA* /  
PARTHENOGENESIS / CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY**

101 pp. ISBN 974-04-5549-2