

**WOLBACHIA BACTERIA OF ARTHROPODS: PHYLOGENETIC
RELATIONSHIP, RELATIVE DENSITY AND HOST EFFECTS**

SUPAT WIWATANARATANABUTR

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2006**

ISBN 974-04-6901-9

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

แบคทีเรีย *Wolbachia* ของกลุ่มสัตว์ขาปล้อง: ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ ปริมาณ ความหนาแน่นสัมพัทธ์ และผลกระทบต่อสัตว์ให้อาศัย (*WOLBACHIA* BACTERIA OF ARTHROPODS: PHYLOGENETIC RELATIONSHIP, RELATIVE DENSITY AND HOST EFFECTS)

สุพรรณ วิวัฒนรัตนบุตร 4337431 SCBI/D

ปร.ด. (ชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์, Ph.D., วิสุทธิ์ ใบไม้, Ph.D., JOHN R. MILNE, Ph.D., DIDIER BOUCHON, Ph.D.

บทคัดย่อ

Wolbachia เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม alpha Proteobacteria อาศัยอยู่ในเซลล์ของสัตว์ให้อาศัย โดยเฉพาะกลุ่ม สัตว์ขาปล้อง (Arthropods) และสามารถถ่ายทอดสู่รุ่นต่อไปโดยผ่านทางแม่ไปสู่ลูก แบคทีเรียเหล่านี้สามารถชัก นำให้เกิดความผิดปกติทางการสืบพันธุ์ในสัตว์ให้อาศัยได้หลายรูปแบบ รวมทั้งปรากฏการณ์การไม่เข้ากันของไซ โทพลาสซึม (Cytoplasmic incompatibility) และการทำให้เกิดการแปลงเพศ (Feminization) ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ นำเสนอวิธีการหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ *Wolbachia* ในสัตว์ให้อาศัยโดยใช้ลำดับเบสของยีน *groE* ซึ่ง แบคทีเรีย *Wolbachia* ในสัตว์ให้อาศัยจำพวกแมลงเขตร้อน รวมถึงยุงและตัวกะปิ (Isopods) สามารถแบ่งเป็นกลุ่ม (supergroups) โดยยีน *groE* ได้เป็นครั้งแรก จากการศึกษาความหลากหลายของการติดเชื้อแบคทีเรียในตัวกะปิที่ พบในประเทศไทย พบว่ามีสองชนิดที่ติดเชื้อ *Wolbachia* การหาปริมาณความหนาแน่นของ *Wolbachia* ในยุงลาย สวน *Ae. albopictus* และไรน้ำ *M. thermocyclopoidea* ในแง่ของอุณหภูมิและความหนาแน่นของสัตว์ให้อาศัย แสดงให้เห็นว่าถ้าอุณหภูมิสูงและไรน้ำระยะอนุเพลียสอยู่กันอย่างหนาแน่นและอยู่ในที่มีอุณหภูมิสูง (37°C) จะมี ปริมาณแบคทีเรียน้อยลง การศึกษาผลของสารเคมีฆ่าแมลง (Temephos) ต่อยุงลายสวน โดยตรวจสอบอัตราการ อยู่รอด เวลาที่ใช้ในการเจริญเป็นตัวเต็มวัย และขนาดของปีกยุง พบว่าสารเคมีฆ่าแมลงมีผลต่อการเจริญเติบโต ของลูกน้ำยุงลายสวนทั้งที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย แต่ไม่มีผลต่อไรน้ำกลุ่ม *M. aspericornis* ซึ่งกินลูกน้ำ สารเคมีฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้นสูงจะส่งผลในการลดอัตราการอยู่รอดและขนาดของปีกยุง แต่ไม่มีผลต่อเวลาที่ ใช้ในการเจริญและปริมาณความหนาแน่นของแบคทีเรียที่มีในยุงทั้งสองเพศ การศึกษาพฤติกรรมการผสมพันธุ์ การวางไข่และการหาโฮสต์ของยุงลายสวน ทั้งชนิดที่ติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ *Wolbachia* แสดงให้เห็นความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญในการผสมพันธุ์ โดยยุงตัวผู้ติดเชื้อจะประสบความสำเร็จในการผสมพันธุ์มากกว่ายุงตัวผู้ที่ไม่ติด เชื้อ แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนในพฤติกรรมการวางไข่ของยุงลายสวนทั้งสองชนิด แต่ยุงตัวเมียที่ ไม่ติดเชื้อแบคทีเรีย มีพฤติกรรมหาโฮสต์ที่แตกต่างกับยุงตัวเมียที่ติดเชื้อแบคทีเรียอย่างเด่นชัด การศึกษา ข้างต้นนี้ นับเป็นก้าวสำคัญในการประยุกต์ใช้แบคทีเรีย *Wolbachia* เพื่อการควบคุมประชากรของยุงพาหะนำโรค ในธรรมชาติ

WOLBACHIA BACTERIA OF ARTHROPODS: PHYLOGENETIC RELATIONSHIP, RELATIVE DENSITY AND HOST EFFECTS

SUPAT WIWATANARATANABUTR 4337431 SCBI/D

Ph.D. (BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: PATTAMAPORN KITTAYAPONG, Ph.D., VISUT BAIMAI, Ph.D., JOHN R. MILNE, Ph.D., DIDIER BOUCHON, Ph.D.

ABSTRACT

Wolbachia are a group of maternally-inherited, intracellular, alpha Proteobacteria that are widespread among arthropod hosts. They are capable of inducing a range of reproductive abnormalities in their hosts including cytoplasmic incompatibility (CI) and feminization. An approach to defining the phylogenetic relationships among these endosymbionts in arthropods using *groE* gene sequences was reported. *Wolbachia* strains from tropical insects and isopod crustaceans were first classified into supergroups using *groE* sequences. The distribution and diversity of *Wolbachia* infection in isopods in Thailand were first surveyed in this study. Two Thai isopod species were infected by *Wolbachia*. The relative densities of *Wolbachia* among each life cycle stage both in mosquito, *Aedes albopictus* and in copepod, *Mesocyclops thermocyclopoidea* in terms of temperature and crowding effects were compared using real-time quantitative PCR assay. These two species are known to be superinfected with both A- and B- supergroup *Wolbachia*. Higher numbers of mosquito larvae and copepod nauplii in rearing condition caused lower densities of both *Wolbachia* strains. The effect of temperature on *Wolbachia* also revealed a significant decrease in density following exposure to elevated temperature (37°C) in both sexes of these two species. The effects of insecticide (temephos) exposure during larval development were examined in *Wolbachia*-infected and uninfected strains of *Ae. albopictus*. The same methods were also used in the copepod, *M. aspericornis*, which is the predator of mosquito larvae. Stress was measured in terms of survival, development time and wing size. Temephos did not have any effects on copepods. A high concentration of temephos was associated with a reduction in survival rate and wing length but did not affect development time and *Wolbachia* density in both sexes of mosquitoes. Mating, oviposition and host-seeking behavior of *Wolbachia*-infected and uninfected *Ae. albopictus* were compared. Mating success of infected males was significantly higher than mating success of uninfected males when mated with both infected and uninfected females. So, *Wolbachia* infection may influence the reproductive behavior of mosquito. There were no clear differences in oviposition responses between mosquito strains with all strains ovipositing significantly more on hay infusion and larval rearing water than on water controls and less on 4-methylphenol. *Aedes albopictus* differed in host-seeking responses to an arm, acetone, CO₂ and dichloromethane with significant difference between strains.

KEY WORDS: WOLBACHIA / PHYLOGENY / MOSQUITO / CRUSTACEAN / GROE / DENSITY / INSECTICIDE / BEHAVIOR

289 p. ISBN 974-04-6901-9