

**POPULATION GENETIC STUDY OF THE MELON FLY  
PARASITOID, *PSYTTALIA FLETCHERI* SILVESTRI  
(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) USING MICROSATELLITE  
MARKERS**

**SOMJIT TINKRATHOK**

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

**2007**

Copyright by Mahidol University

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

POPULATION GENETIC STUDY OF THE MELON FLY PARASITOID, *PSYTTALIA FLETCHERI* SILVESTRI (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) USING MICROSATELLITE MARKERS

SOMJIT TINKRATHOK 4436039 SCBI/D

Ph. D. (BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: SANGVORN KITTHAWEE, Ph.D., SUKSIRI VICHASRI GRAMS, Dr. rer nat, MATHUROSE PONGLIKITMONGKOL, Ph.D., JEERAPUN WORAPONG, Ph.D.

ABSTRACT

*Psytalia fletcheri* is an important endoparasitic wasp of the melon fly. It has been used as a biological control agent against the melon fly for nearly a century but biodiversity and population genetic information on this species is still not well understood. In this study, fourteen microsatellite loci were isolated using 5' anchored PCR and enrichment methods. Two loci failed to amplify and five out of the remaining twelve amplifiable loci were found to be polymorphic among investigated samples in Thailand from Kanchanaburi, Chanthaburi, Nonthaburi, Nakhon Ratchasima, Chumphon, Phitsanulok, Uttaradit-A and Uttaradit-B. The mean number of alleles per locus ranged from 3.8 to 8.6 alleles. The mean observed heterozygosities across all loci for each population ranged from 0.224 to 0.412. Heterozygote deficiencies were observed in all populations, especially in Uttaradit-A, Nakhon Ratchasima, and Uttaradit-B populations where  $F_{IS}$  estimates were 0.352, 0.358 and 0.490, respectively. These values indicated a high level of inbreeding within those populations. Interestingly, both estimates,  $F_{ST}$  and  $R_{ST}$ , showed the significant genetic differentiation among populations,  $\theta = 0.125$  and  $\rho = 0.208$ , respectively. This result is related to the estimates of pairwise  $F_{ST}$  between populations that were significantly greater than zero. Only two pairwise  $F_{ST}$  values between Uttaradit-A and B populations ( $F_{ST} = 0.091$ ) and between Kanchanaburi and Phitsanulok ( $F_{ST} = 0.024$ ) showed non significant population differentiation. The relationships between pairwise  $F_{ST}$  values and geographical distance among investigated populations were not significant. Nei's genetic distances and identities among populations were then calculated. These values indicated high levels of genetic identities among populations ranging from 88% to 98%, not including Uttaradit-A and B populations which were collected from different hosts. The genetic relationships among investigated populations were analyzed by constructing a UPGMA cladogram on the basis of Nei's genetic distances. The cladogram illustrated two distinctive clades: the Uttaradit-A population was separated into one clade by itself whereas the others were together within another clade. However, it was found that populations of Uttaradit-B seem to separate from the others in the latter clade. The genetic diversity in Uttaradit populations may be explained by geographical distribution and host-plant or host fly preferences or both. Results of this study can provide some information about genetic differentiation in the investigated populations of *P. fletcheri*. Further studies on genetic differentiation within this species over a larger geographical area may provide a clearer conclusion.

KEY WORDS: MELON FLY PARASITOID, *PSYTTALIA*, MICROSATELLITES,  
POPULATION GENETICS

141 pp.

การศึกษาพันธุศาสตร์ประชากรของแตนเบียนของแมลงวันแดงชนิด *PSYTTALIA FLETCHERI* SILVESTRI

(HYMENOPTERA: BRACONIDAE) โดยใช้ไมโครแซทเทลไลท์มาร์คเกอร์

(POPULATION GENETIC STUDY OF THE MELON FLY PARASITOID, *PSYTTALIA FLETCHERI* SILVESTRI (HYMENOPTERA: BRACONIDAE) USING MICROSATELLITE MARKERS)

สมจิตต์ ทินกระโทก 4436039 SCBI/D

ปร.ด. (ชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สัจวรรษ กิจทวี, Ph.D., สุขศิริ วิชาศรี กรามส์, Dr. rer nat, มรุรส พงษ์ลิขิตมงคล, Ph.D., จีรพันธ์ วรรณพงษ์, Ph.D.

### บทคัดย่อ

*Psytalia fletcheri* เป็นแตนเบียนชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการควบคุมประชากรของแมลงวันแดงโดยชีววิธี ได้มีการนำแตนเบียนชนิดนี้ไปทดลองใช้ในการควบคุมประชากรของแมลงวันแดงเป็นระยะเวลาอันยาวนาน แต่ความรู้พื้นฐานในด้านความหลากหลายทางชีววิทยาและพันธุศาสตร์ประชากรของแตนเบียนชนิดนี้ยังไม่เป็นที่ทราบที่แน่ชัด ในการศึกษานี้ได้มีการพัฒนาไมโครแซทเทลไลท์มาร์คเกอร์จำนวน 14 ตำแหน่ง (loci) โดยใช้วิธี 5' anchored PCR and enrichment พบว่ามีจำนวน 2 ตำแหน่ง ที่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีพีซีอาร์ และจำนวน 5 ตำแหน่งที่มีความหลากหลายในการทดสอบกับประชากรของแตนเบียนที่นำมาศึกษาจากพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศไทย ดังต่อไปนี้ กาญจนบุรี จันทบุรี นนทบุรี นครราชสีมา ชุมพร พิชณุโลก อุดรดิตต์-A และ อุดรดิตต์-B ค่าเฉลี่ยของจำนวนอัลลีลต่อตำแหน่งที่พบในแต่ละประชากรอยู่ระหว่าง 3.8 ถึง 8.6 อัลลีล ในขณะที่ค่าเฉลี่ยของ observed heterozygosity ในแต่ละประชากรอยู่ระหว่าง 0.224 ถึง 0.412 นอกจากนี้ค่า  $F_{IS}$  (inbreeding coefficient) ของทุกประชากรที่นำมาศึกษาแสดงให้เห็นถึงภาวะขาดแคลน heterozygotes ซึ่งชี้ให้เห็นถึงระดับ inbreeding ในประชากรมีค่อนข้างสูง โดยเฉพาะในประชากรจาก อุดรดิตต์-A นครราชสีมา และ อุดรดิตต์-B ซึ่งมีค่า  $F_{IS} = 0.352, 0.358$  และ  $0.490$  ตามลำดับ จากการประมาณค่าเฉลี่ย  $F_{ST}$  ( $\theta = 0.125$ ) และ  $R_{ST}$  ( $p = 0.208$ ) พบว่ามีความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรที่นำมาศึกษาอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับค่า pairwise  $F_{ST}$  เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรแต่ละคู่ มีจำนวนสองคู่เท่านั้นที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญคือ ระหว่างอุดรดิตต์-A และ อุดรดิตต์-B ( $F_{ST} = 0.091$ ) และ ระหว่างกาญจนบุรี และ พิชณุโลก ( $F_{ST} = 0.024$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างประชากรไม่ขึ้นอยู่กับระยะทาง (กิโลเมตร) ของแต่ละตัวอย่างประชากรที่นำมาศึกษาจากการคำนวณค่า Nei's genetic identities ระหว่างประชากร พบว่าประชากรที่นำมาศึกษามีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมสูง คือมีค่าระหว่าง 88% ถึง 98% โดยไม่รวมประชากรจาก อุดรดิตต์-A และ อุดรดิตต์-B เมื่อสร้าง UPGMA cladogram จากค่า genetic distances พบว่า ประชากรจากอุดรดิตต์-A ถูกแยกออกไป จากประชากรอื่นอย่างชัดเจน ส่วนประชากรที่เหลือทั้งหมดถูกรวมอยู่ในกลุ่มเดียวกัน โดยที่ประชากรจากอุดรดิตต์-B มีแนวโน้มที่จะแยกห่างจากประชากรอื่น ๆ ในกลุ่มเดียวกัน อธิบายได้ว่าประชากรของ *P. fletcheri* จาก อุดรดิตต์ ถูกแยกออกมาจากประชากรอื่น ๆ อาจเนื่องมาจากสภาพทางภูมิศาสตร์ และความจำเพาะต่อชนิดของพืชหรือแมลงอาศัย (host-plant or host fly) หรือทั้งสอง ผลการศึกษานี้สามารถอธิบายถึงโครงสร้างและความแตกต่างทางพันธุกรรมของประชากร *P. fletcheri* ที่นำมาศึกษา อย่างไรก็ตามการขยายพื้นที่ในการศึกษาประชากรของแตนเบียนชนิดนี้ให้ครอบคลุมมากขึ้นในอนาคตอาจช่วยให้อธิบายและสรุปผลในด้านความแตกต่างทางพันธุกรรมในประชากรได้ชัดเจนมากขึ้น