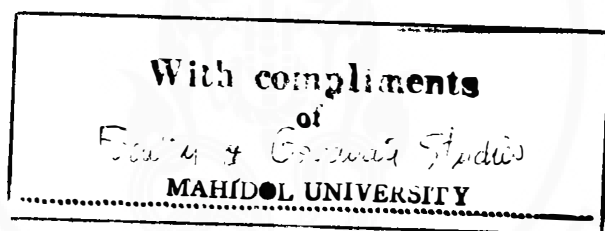




**CHARACTERIZATION OF *WOLBACHIA* AND CYTOPLASMIC  
INCOMPATIBILITY IN *ARMIGERES SUBALBATUS***

**WANWISA JAMNONGLUK**



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

1998

ISBN 974-661-010-4

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

74  
112510  
1078

Copyright by Mahidol University

3936838 SCEB/M : MAJOR : ENVIRONMENTAL BIOLOGY ; M.Sc.  
(ENVIRONMENTAL BIOLOGY)

KEY WORD : CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY / *WOLBACHIA* /  
*ARMIGERES SUBALBATUS*

WANWISA JAMNONGLUK : CHARACTERIZATION OF *WOLBACHIA* AND  
CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY IN *ARMIGERES SUBALBATUS*. THESIS  
ADVISOR : PATTAMAPORN KITTAYAPONG PhD., VISUT BAIMAI PhD. 107 p.  
ISBN 974-661-010-4

Cytoplasmic incompatibility is the sterility phenomenon which is widely found in several insect species and known to be correlated with *Wolbachia*, the rickettsia-like bacterial endosymbionts. By using PCR technology, *Armigeres subalbatus* was found to be infected with this bacteria. In previous studies, *Wolbachia* infection was found in only gonad tissue. But in this research, it was also distributed in somatic tissues such as Malpighian tubules and midgut. From phylogenetic analysis we found that *Wolbachia* strain in *Armigeres subalbatus* is in the same clade as *Aedes albopictus* strain. This data suggests that one *Wolbachia* strain can infect many insect hosts which is one of the desirable attributes for a genetic control system.

*Armigeres subalbatus* expresses partial cytoplasmic incompatibility phenotype when crossed *Wolbachia*-infected males with uninfected females, 57 % egg mortality ( $n = 10$ ), while in the control cross, there is 9.53% egg mortality ( $n = 10$ ; Mann-Whitney U test,  $P < 0.0025$ ). The loss of cytoplasmic incompatibility of this insect has been found as in other insect species, when crossed aged-infected males with uninfected females (25% egg mortality; Mann-Whitney U test;  $P < 0.03$ ). The percent egg mortality of the field caught infected and uninfected mother were determined and found that there is no significantly different percent egg mortality. From this result, we doubted that field male *Armigeres subalbatus* might mate when they are old. In order to check for the age of the flies in the swarm, the fluorescence pigment in mosquito's head capsule was determined. And from the spectrofluorometric results, we found that males *Armigeres subalbatus* in the field population mate when they are older than 11 days old. These data might be useful to explain the mechanism of spreading of *Wolbachia* and the co-existence of the uninfected and infected-*Wolbachia* in the host in nature.

3936838 SCEB/M : สาขาวิชา : ชีววิทยาสภาวะแวดล้อม ; วท.ม. (ชีววิทยา)

วันวิสาข จ้างนงคัลักษณ์ : การศึกษาคุณลักษณะของ *Wolbachia* และ การเข้ากันไม่ได้ของไซโตพลาสซึมในยุงแม่ไก่ (*Armigeres subalbatus*) (CHARACTERIZATION OF *WOLBACHIA* AND CYTOPLASMIC INCOMPATIBILITY IN *ARMIGERES SUBALBATUS*) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ปีพ.ศ. ๒๕๕๖ กฤตยพงษ์ PhD., วิสุทธิ์ โบไม้ PhD. 107 หน้า. 974-661-010-4

การเข้ากันไม่ได้ของไซโตพลาสซึมเป็นปรากฏการณ์ที่ทำให้สิ่งมีชีวิตเป็นหมันซึ่งพบได้ทั่วไปในแมลงหลายชนิดและพบว่ามี ความเกี่ยวข้องกับ *Wolbachia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดหนึ่งในกลุ่ม *Rickettsia* จากการ ใช้เทคนิคทาง PCR พบ *Wolbachia* ใน *Armigeres subalbatus* เป็นครั้งแรกจากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาได้พบ *Wolbachia* เฉพาะ ในเนื้อเยื่อที่มาจากเซลล์สืบพันธุ์ แต่จากการศึกษาครั้งนี้พบ *Wolbachia* ในเนื้อเยื่อจากอวัยวะส่วนอื่นด้วย ในการศึกษา phylogenetic analysis พบว่าสายพันธุ์ของ *Wolbachia* ใน *Armigeres subalbatus* อยู่ในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์ของ *Wolbachia* ใน *Aedes albopictus* จากข้อมูลนี้แสดงว่า *Wolbachia* น่าจะสามารถอาศัยอยู่ในแมลงเจ้าบ้านได้หลายชนิด ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในการควบคุมโดยใช้วิธีการทางพันธุศาสตร์

จากการศึกษานี้พบว่า การเข้ากันไม่ได้ของไซโตพลาสซึมใน *Armigeres subalbatus* แสดงออกเพียงบางส่วนเมื่อผสมพันธุ์ยุงตัวผู้ที่มี *Wolbachia* กับตัวเมียที่ไม่มี *Wolbachia* โดยมีจำนวนไข่ที่ไม่ฟัก 57% ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีจำนวนไข่ที่ไม่ฟัก 9.53% และพบว่าจำนวนไข่ที่ไม่ฟักจะลดลงถ้าผสมพันธุ์ยุงตัวผู้อายุมากที่มี *Wolbachia* กับตัวเมียที่ไม่มี *Wolbachia* ในธรรมชาติไม่พบความแตกต่างของจำนวนไข่ที่ไม่ฟักในตัวเมียที่มี *Wolbachia* กับตัวเมียที่ไม่มี *Wolbachia* จึงอาจเป็นไปได้ที่ในธรรมชาติตัวผู้จะผสมพันธุ์เมื่อมีอายุมาก จากการทดลองเพื่อทำนายอายุของยุงตัวผู้ที่ผสมพันธุ์โดยวิธี Spectrofluorometry ซึ่งพบว่า *Armigeres subalbatus* ตัวผู้ที่เข้าผสมพันธุ์กับตัวเมียในธรรมชาติมีอายุมาก ผลที่ได้จากการศึกษานี้สามารถนำไปอธิบายกลไกการแพร่กระจายของ *Wolbachia* และการอยู่ร่วมกันของแมลงเจ้าบ้านที่มีและไม่มี *Wolbachia* ในธรรมชาติ