-5 FEB 2002

MOLECULAR EVOLUTION OF TEPHRITID FRUIT FLIES IN THE GENUS *BACTROCERA* AND THEIR *WOLBACHIA* ENDOSYMBIONTS

WANWISA JAMNONGLUK

ธภินันทนาการ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)

FACULTY OF GRADUATE STUDIES

MAHIDOL UNIVERSITY

2001

ISBN 974-04-1022-7

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

Copyright by Mahidol University

TH
W251m
2001
c.2

4137931 SCBI/D : MAJOR : BIOLOGY: Ph.D. (BIOLOGY)
KEY WORDS : *BACTROCERA* SPP./ SPECIES COMPLEXES/ MITOCHONDRIA/ *WOLBACHIA*/ PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS

WANWISA JAMNONGLUK: MOLECULAR EVOLUTION OF TEPHRITID FRUIT FLIES IN THE GENUS *BACTROCERA* AND THEIR *WOLBACHIA* ENDOSYMBIONTS. THESIS ADVISORS: PATTAMAPORN KITTAYAPONG, Ph.D., VISUT BAIMAI, Ph.D., JOHN MILNE, Ph.D., SCOTT O'NEILL, Ph.D. 230 P. ISBN 974-04-1022-7

Tephritid fruit flies of the genus *Bactrocera* are widely distributed in subtropical and tropical areas of Southeast Asia, Australia and the Pacific region. *Bactrocera* is considered as one of the most important genera of agricultural pests in Thailand. Based on the 638 bp mitochondrial gene encoding subunit of cytochrome oxidase, the evolutionary relationships among *Bactrocera* fruit flies in two species complexes, *B. dorsalis* and *B. tau*, as well as among four *Bactrocera* subgenera, *Asiadacus*, *Bactrocera*, *Hemigymnodacus* and *Zeugodacus*, were investigated. High nucleotide sequence divergence among members in both the *B. dorsalis* and *B. tau* complexes was found which suggests a fast evolutionary rate for the mtDNA genome within *Bactrocera* species complexes. These findings suggest that tephritid fruit flies in both species complexes might be undergoing speciation. Based on phylogenetic tree topology, the fruit flies of the *B. dorsalis* complex grouped according to their host preferences. Fruit flies in the *B. tau* complex could be classified into four groups according to their phylogenetic relationships, which corresponds to previous reports based on cytological and allozyme data. The phylogenetic relationships among the four subgenera agree with their morphological taxonomy.

The phylogenetic relationships of the reproduction-modifying bacteria, *Wolbachia*, in tephritid fruit flies were also studied. Five distinct strains of *Wolbachia* in *B. ascita* sp. B were found. Four of the five *Wolbachia* strains found in this species were in the same groups as those found in other tephritid fruit flies suggesting possible horizontal transmission of *Wolbachia* from other fruit flies into *B. ascita* sp. B. Moreover, these findings suggest that *Wolbachia* might have been involved in the speciation process of two sibling species of the *B. dorsalis* complex as well as for other closely related species, namely *B. correcta* sp. A and *B. correcta* sp. B; and *B. ascita* sp. A and *B. ascita* sp. B. PCR based typing of *Wolbachia* strains was compared with typing by sequencing and found to be unreliable. Therefore, final determination of group affiliation needs to be verified with *wsp* sequence data.

4137931 SCBI/D : สาขาวิชา: ชีววิทยา; ปร.ด. (ชีววิทยา)

วันวิสาข์ จำนงค์ลักษณ์ : การศึกษาวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลของแมลงวันผลไม้จีนัส *Bactrocera* และจุลินทรีย์ร่วมอาศัย *Wolbachia* (MOLECULAR EVOLUTION OF TEPHRITID FRUIT FLIES IN THE GENUS *BACTROCERA* AND THEIR *WOLBACHIA* ENDOSYMBIONTS). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : ปัทมาภรณ์ กฤตยพงษ์, Ph.D., วิสุทธิ์ ใบไม้, Ph.D., John Milne, Ph.D., Scott O'Neill, Ph.D., รัตนา ปรมาคม, Ph.D. 230 หน้า. ISBN 974-04-1022-7

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างแมลงวันผลไม้กลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *B. dorsalis* และ *B. tau* และแมลงวันผลไม้สปีชีส์อื่นๆจาก 4 ซับจีนัส ได้แก่ *Asiadacus*, *Bactrocera*, *Hemigymnodacus* และ *Zeugodacus* โดยใช้ยีน Cytochrome Oxidase I ของไมโตคอนเดรีย พบว่าแมลงวันผลไม้ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างของลำดับเบสเป็นจำนวนมาก จึงอาจกล่าวได้ว่าแมลงวันผลไม้ จีนัส *Bactrocera* มีอัตราการเกิดวิวัฒนาการสูง และกระบวนการเกิดสปีชีส์ใหม่ อาจจะยังคงเกิดขึ้นในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อนของแมลงวันผลไม้จีนัสนี้ ต้นไม้วิวัฒนาการแสดงให้เห็นว่าแมลงวันผลไม้ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *B. dorsalis* สามารถแบ่งกลุ่มตามพฤติกรรมการเลือกพืชอาศัย ส่วนแมลงวันผลไม้ในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *B. tau* สามารถแบ่งเป็น 4 กลุ่ม ซึ่งตรงกับหลักฐานทางโครโมโซมและอัลโลไซม์ นอกจากนี้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการระหว่างแมลงวันผลไม้จาก 4 ซับจีนัส สนับสนุนการจำแนกแมลงวันผลไม้ด้วยวิธีการทางสันฐาน-วิทยา

จากการศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของจุลินทรีย์ *Wolbachia* ที่ร่วนอาศัยอยู่ในแมลงวันผลไม้ พบว่า *B. ascita* sp. B มีการติดเชื้อ *Wolbachia* 5 สายพันธุ์ โดย 4 สายพันธุ์ที่พบนั้นอยู่ในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์ที่พบในแมลงวันผลไม้สปีชีส์อื่นๆ จึงสันนิษฐานได้ว่าอาจมีการถ่ายทอดสายพันธุ์ *Wolbachia* จากแมลงวันผลไม้ชนิดอื่นเข้าสู่ *B. ascita* sp. B นอกจากนี้ *Wolbachia* อาจเกี่ยวข้องกับการเกิดสปีชีส์ใหม่ระหว่างแมลงวันผลไม้ 2 ชนิดในกลุ่มสปีชีส์ซับซ้อน *B. dorsalis* และในกลุ่มแมลงวันผลไม้ที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันอีก 2 กลุ่มได้แก่ *B. correcta* spp. และ *B. ascita* spp. จากการเปรียบเทียบวิธีการจำแนกกลุ่มของสายพันธุ์ *Wolbachia* ด้วยวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์เฉพาะกลุ่ม และวิธีการหาลำดับเบส พบว่าวิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอไม่สามารถเชื่อถือได้ ดังนั้นการจำแนกกลุ่มของสายพันธุ์ *Wolbachia* ควรใช้วิธีการหาลำดับเบส