

บทที่ ๕

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาด้วยณะสัณฐานวิทยาภายนอกของแมลงบัวทั้งหมด 16 กลุ่มประชากร แบ่งเป็น 2 กลุ่มประชากรที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือนกรรมวิชาการเกษตร คือ จังหวัดเชียงราย และจังหวัดตาก และอีก 14 กลุ่มประชากรที่เก็บได้จากสภาพธรรมชาติ ได้แก่ อำเภอเชียงดาว อำเภอแม่แจ่ม อำเภอแม่วงศ์ อำเภอเมือง อำเภอแม่ริม และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย จังหวัดลำพูน จังหวัดลำปาง จังหวัดแม่ฮ่องสอน จังหวัดน่าน จังหวัดแพร่ จังหวัดพะเยา และจังหวัดตาก พบร่วมแมลงบัวตัวเดิมวัยนิลักษณะภายนอกไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Behura *et al.* (2001) และ Ehtesham *et al.* (1995) มีความแตกต่างกันเฉพาะในส่วนของขนาดลำตัว และพบว่าแมลงบัวเพศเมียมักมีลำตัวสีส้มสดกว่า และลำตัวขนาดใหญ่กว่า แมลงบัวเพศผู้ ที่มีลักษณะสีของลำตัวซีดกว่า และมีขนาดลำตัวเล็กกว่า เช่นเดียวกับการศึกษาของ Hidaka *et al.* (1974)

การศึกษาอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างปีกของแมลงบัวที่เก็บรวมจากธรรมชาติ พบร่วมกับความหลากหลายทั้งภายในและระหว่างประชากรแมลงบัวในลักษณะขนาดความกว้างและความยาวปีกของแมลงบัวเพศเมีย โดยกลุ่มประชากรที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือน พบร่วมมีค่าเฉลี่ยสัคส่วนความยาวต่อความกว้างปีกระหว่าง 2.6-2.7 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ระหว่าง 1.24-2.36% ประชากรที่เก็บจากสภาพธรรมชาติ พบร่วมมีค่าเฉลี่ยสัคส่วนความยาวต่อความกว้างปีกระหว่าง 2.50-2.97 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ระหว่าง 1.2-6.4 เปอร์เซ็นต์โดยประชากรที่เก็บจากจังหวัดตาก มีความหลากหลายภายในประชากรสูงสุด สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 6.41 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่อัตราส่วนความยาวต่อความกว้างปีกของแมลงบัวเพศผู้ พบร่วมกับเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.4 -3.1 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ระหว่าง 0-2.1 โดยประชากรจากอำเภอแม่วงศ์ จังหวัดเชียงใหม่ มีความหลากหลายภายในประชากรสูงสุด ค่าเฉลี่ยของประชากรแต่ละค่าทำให้ทราบถึงความหลากหลายภายในประชากร ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนทำให้ทราบความหลากหลายระหว่างกลุ่มประชากร ซึ่งค่าที่มากแสดงถึงความหลากหลายของประชากรที่สูง ในการเก็บตัวอย่างแมลงบัวจำนวนแมลงบัวที่ได้ระหว่างเพศเมียและเพศผู้ พบร่วมพบเพศเมียมากกว่าเพศผู้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการผสมพันธุ์ของแมลงบัวเป็นลักษณะ monogamy หรือการให้ลูกเพศใดเพศหนึ่งเท่านั้น และอัตราการวางไข่ของแมลงบัวเพศเมียตัวที่ได้รับการผสมพันธุ์จะให้

ปริมาณไจเมากกว่าแมลงบัวที่ไม่ได้รับการพัฒนาซึ่งจากแมลงบัวเพศผู้ถึง 3 เท่า จึงเป็นไปได้ว่าการฟักไข่ของแมลงบัวส่วนใหญ่ออกมาเป็นแมลงบัวเพศเมีย (Sain and Kalode, 1988)

การศึกษาการกระจายตัวของแมลงบัวในแต่ละพื้นที่ ได้นำข้อมูลของความยาว ความกว้าง ปีก และอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างปีกแมลงบัวมาศึกษาความสัมพันธ์ ระหว่างปัจจัยสภาพแวดล้อม ได้แก่ จำนวนสายพันธุ์ข้าวที่พบริเวณรัศมี 3 กิโลเมตร และความสูงจากระดับน้ำทะเลplain พบว่า 1) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความกว้างปีกสามารถให้รูปแบบการกระจายตัวของแมลงบัวจากแหล่งต่างๆ ออกเป็นหนึ่งกลุ่ม คือ ช่วงความยาวปีกอยู่ระหว่าง 3.5-3.9 และช่วงความกว้างปีกอยู่ระหว่าง 1.3-15 2) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างปีกกับจำนวนสายพันธุ์ของข้าวที่พบริเวณรัศมี 3 กิโลเมตร สามารถให้รูปแบบการกระจายตัวของแมลงบัวจากแหล่งต่างๆ เป็น 3 กลุ่ม ตามจำนวนของสายพันธุ์ข้าวที่พบริเวณที่ 1 พบ สายพันธุ์ข้าวจำนวน 1 ชนิด กลุ่มที่ 2 พบสายพันธุ์ข้าวจำนวน 2 ชนิด และกลุ่มที่ 3 พบสายพันธุ์ข้าวจำนวน 3 ชนิด ซึ่งข้าวที่พบ 1 ชนิดอาจเป็นชนิดใดก็ได้ในข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์ที่พบจากการสำรวจ ดังนี้ คือ เหมยนอง (เนื่องจากเป็นเหมยนองของแต่ห้องถิน จึงไม่สามารถบอกได้ว่าเป็นเหมยนอง 62 เอื้อมของทางราชการ) สันป่าตอง 1 กษ. 6 และ กษ. 4 และ 3) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างปีกกับความสูงจากระดับน้ำทะเลplain สามารถให้รูปแบบการกระจายตัวของแมลงบัวจากแหล่งต่างๆ ออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 คือ ความสูงจากระดับน้ำทะเล 620 เมตร คือ อำเภอเชียงดาว และอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มความสูงจากระดับน้ำทะเล 162-500 เมตร และกลุ่มที่ 3 คือ ความสูงจากระดับน้ำทะเลplain 1 เมตร คือแมลงบัวที่เลี้ยงในโรงเรือนกรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร จากการศึกษาการกระจายตัวโดยดูความสัมพันธ์ดังกล่าวพบว่า แมลงบัวสามารถกระจายตัวได้หลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับพืชอาหารและสภาพภูมิประเทศที่แตกต่างกันไป

เทคนิค AFLP เป็นเทคนิคที่ทำได้เร็วและใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นจำนวนน้อย โดยอาศัยการเพิ่มปริมาณโดยวิธีพิซีอาร์จีมีประสิทธิภาพสูง และในการทำปฏิกิริยาครั้งหนึ่งๆ สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง (multi locus)พร้อมกัน คือมี multiple ration สูง ในปฏิกิริยาหนึ่งจะให้ผลลัพธ์ที่มากกว่า RAPD ประมาณ 4 เท่า ข้อด้อยของเทคนิคนี้คือย่างเช่น ปฏิกิริยาหนึ่งๆ เกิดเดบดีเอ็นเอจำนวนมาก และมีขนาดใกล้เคียงกัน บางครั้งแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดเท่ากันอาจมาจากการซึ่งกันและกัน ทำให้การวิเคราะห์ผลผิดพลาดได้ (สุรินทร์ 2545) มีการนำเทคนิคนี้มาศึกษาความหลากหลายของแมลง Garcia et al. (2002) ได้ศึกษาโครงสร้างประชากรและความหลากหลายของกลุ่มประชากรปลวก Nasutitermes takasagoensis อันดับ Isoptera วงศ์ Termitidae จาก 7 เกาะ ในประเทศไทย ด้วยเทคนิค AFLP โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 3 คู่ ได้จำนวนแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 155 แถบ และมีเปอร์เซ็นต์ Polymorphic band เท่ากัน 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถ

นำมาศึกษาค่าระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) และค่าความหลากหลายระหว่างกลุ่มประชากร (Gst) ได้พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสูงและค่าความหลากหลายระหว่างกลุ่มประชากรต่ำ จึงได้สันนิษฐานว่าอาจเป็นไปได้ 2 ประการ คือ 1) ปัลวากสามารถบินได้ไกลหลายกิโลเมตร และ 2) ต้นกำเนิดของปัลวากอาจเป็นพื้นที่เดียวกันและต่อมาแผ่นดิน ได้แยกออกเป็นพื้นที่ๆ กัน จึงทำให้กลุ่มประชากรของปัลวากยังคงมีความใกล้ชิดกัน Takami *et al.* (2004) ได้ศึกษาความหลากหลายและโครงสร้างของกลุ่มประชากรผึ้งสีอ่อน *Pieris* sp. ที่อยู่ในแหล่งชุมชน โดยอาศัยเทคนิค AFLP พบว่าความหลากหลายของแมลงได้ลดลง แต่ยังคงมีการกระจายตัวทางพันธุกรรมที่แตกต่างกันในแต่ละประชากร ความแตกต่างนี้ซึ่งให้เห็นถึงความสามารถในการปรับตัวและการกระจายตัวของแมลงดังกล่าวครอบสนอง ซึ่งสันนิษฐานว่าการกระจายตัวของแมลงเกี่ยวข้องกับลักษณะทางภูมิประเทศ และข้อจำกัดด้านพฤติกรรมที่แมลงซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบของสารพันธุกรรม Cervera *et al.* (2000) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างใบโอลิฟของ *Bemisia tabaci* อันดับ Hemiptera วงศ์ Aleyrodidae ด้วยเทคนิค AFLP จาก 13 ตัวอย่าง และสามารถจัดกลุ่มได้เป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะของพื้นที่และตัวอย่างของพืช ได้แก่ กลุ่มที่ 1 แมลงที่ร่วงจากประเทศทางตะวันออกและอินเดีย กลุ่มที่ 2 คือแมลงที่ร่วงจากประเทศไทยในจีเรีย จากพืชอาศัยคือ ถั่วแดง กลุ่มที่ 3 แมลงที่ร่วงจากประเทศในอเมริกา และกลุ่มที่ 4 คือแมลงที่ร่วงจากประเทศในจีเรียจากพืชอาศัยคือ มันสำปะหลัง

จึงได้นำเทคนิคดังกล่าวมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมลงบัวโดยใช้ไซเพรเมอร์ 14 คู่ พบร่วมกับไซเพรเมอร์ *PsfI/MseI* 6 คู่ ที่สามารถให้แบบดีเอ็นเอที่ชัดเจนมีขนาดตั้งแต่ 124- 620 คู่เบส โดยคู่ไซเพรเมอร์ P-GGT/M-CGT ให้ผล polymorphic fragments สูงสุดประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่คู่ไซเพรเมอร์ P-GGT/M-CCA ให้ผล polymorphic fragments ต่ำสุดประมาณ 29.2 เปอร์เซ็นต์ และสามารถให้ได้เอ็นเอจำเพาะต่อมแมลงบัวแหล่งต่างๆ ได้ เมื่อนำแบบดีเอ็นเอที่ได้มามาวิเคราะห์ค่าระยะห่างระหว่างพันธุกรรม (genetic distances) ของแมลงบัวจากแหล่งต่างๆ อยู่ในช่วง 0.09-0.48 และค่าสัมประสิทธิ์ความคล้ายกัน (similarity coefficients) อยู่ในช่วง 0.77-0.99 เมื่อนำมาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบร่วมกับความสามารถจัดกลุ่มประชากรแมลงบัวได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดเชียงราย และจังหวัดอุบลราชธานี ที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือน กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดตาก ที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือน และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย แมลงบัวจากจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย จังหวัดลำปาง จังหวัดลำพูน จังหวัดแม่ฮ่องสอน จังหวัดน่าน จังหวัดแพร่ จังหวัดพะเยา และจังหวัดตากที่เก็บจากสภาพธรรมชาติ

เทคนิค RAPD เป็นเทคนิคที่ทำได้ง่าย ได้ผลอย่างรวดเร็ว ตลอดจนไม่จำเป็นต้องทราบการเรียงลำดับเบสดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่จะนำมาศึกษา และไม่จำเป็นต้องตัดด้วย酵んไซม์ตัดจำเพาะ แต่

ข้อจำกัดของวิธีนี้คือความไวในการตรวจหา และสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาและการแยก electrophoresis ซึ่งอาจจะไม่นอน แปรผันตามการทดลองแต่ละครั้ง หรือห้องปฏิบัติการ ทำให้เปลี่ยนผลได้ยาก แต่ก็ขึ้นอยู่กับการปรับ reaction ของการทดลองนั้นๆ (สูรสักดิ์, 2540) จึงได้มีการนำเทคนิคนี้มาศึกษาความสัมพันธ์ของแมลง Thongphak *et al.* (1997) ใช้เทคนิค RAPD-PCR มาศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมลงบัว และสามารถแบ่งแมลงบัวออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดน่าน จังหวัดแพร่ จังหวัดพะ夷า จังหวัดลำปาง จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดกำแพงเพชร และจังหวัดพิจิตร กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดนครพนม จังหวัดอุบลราชธานี และจังหวัดพัทลุง และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดอุดรธานี และจังหวัดหนองคาย Thongphak (1997) ใช้เทคนิค RAPD ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมลงบัว และสามารถแบ่งแมลงบัวออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดน่าน จังหวัดแพร่ และจังหวัดเชียงราย กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดลำปาง จังหวัดพะ夷า จังหวัดอุดรธานี จังหวัดหนองคาย จังหวัดอุบลราชธานี และจังหวัดกำแพงเพชร กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดนครพนม และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดเชียงใหม่

จึงได้นำเทคนิคดังกล่าวมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของแมลงบัว โดยใช้ไฟรเมอร์ 10 ไฟรเมอร์ พบร่วม 6 ไฟรเมอร์ที่สามารถให้แบบดีเอ็นเอที่ชัดเจน พบร่วม ไฟรเมอร์ OPA-02 สามารถให้แบบดีเอ็นเอจำเพาะต่อแมลงบัวจากจังหวัดแพร่ น้ำหนักโนมเลกุลประมาณ 200 คู่เบส ไฟรเมอร์ OPD-11 สามารถให้แบบดีเอ็นเอจำเพาะเจาะจงต่อแมลงบัวจากอําเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ น้ำหนักโนมเลกุลประมาณ 700 คู่เบส และ OPT-17 สามารถให้แบบดีเอ็นเอจำเพาะเจาะจงต่อแมลงบัวจากอําเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ เมื่อนำมาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA พบร่วม สามารถจัดกลุ่มแมลงบัวออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดเชียงราย ที่ได้จากการเดี่ยงในโรงเรือน อําเภอเมือง และอําเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดตาก และจังหวัดอุบลราชธานีที่ได้จากการเดี่ยงในโรงเรือน จังหวัดลำปาง จังหวัดเชียงราย อําเภอเมือง อําเภอแม่ริม อําเภอสันป่าตอง อําเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดตาก จังหวัดพะ夷า จังหวัดน่าน จังหวัดลำพูน จังหวัดแม่ฮ่องสอน และ จังหวัดแพร่ ที่เก็บได้จากสภาพธรรมชาติ จะเห็นได้ว่าเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมทั้ง 2 เทคนิค สามารถนำไปใช้วิเคราะห์ความหลากหลายและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของแมลงได้ ซึ่งแต่ละวิธีก็ มีทั้งข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกันไป จึงขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการทดลองนั้นๆ ว่าจะเลือกใช้วิธีการหรือเทคนิคใดในการตรวจสอบ

ในการศึกษาความหลากหลายของแมลงบัว โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างแมลงบัวและปัจจัยสภาพแวดล้อมอื่นๆ ช่วยในการศึกษาการกระจายตัวของแมลงได้แก่ 1) ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวกับความกว้างปีก 2) อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างปีกกับจำนวนชนิดของพืชอาหาร และ 3) อัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างปีกกับความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง ทำให้ได้การกระจายตัวที่หลากหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับปัจจัยที่นำมาศึกษาความสัมพันธ์เมื่อนำเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมาช่วยในการวิเคราะห์ คือเทคนิค AFLP และ RAPD พบว่าเทคนิค AFLP สามารถให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการกระจายตัวของแมลงบัวที่สัมพันธ์กับสภาพทางภูมิประเทศคือ ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลางและพืชอาหาร และสามารถแบ่งกลุ่มแมลงออกเป็น 6 กลุ่ม ที่โดยวิธี UPGMA คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยแมลงบัวจากอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยแมลงบัวจากอำเภอแม่วาง จังหวัดเชียงใหม่ กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยแมลงบัวจากจังหวัดตาก กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยแมลงบัวจากอำเภอเมือง อ่าเภอแม่ริม และอำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ จังหวัดเชียงราย จังหวัดลำปาง จังหวัดลำพูน จังหวัดแม่ฮ่องสอน จังหวัดแพร่ และจังหวัดพะเยา กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วยแมลงบัวจากอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดน่าน และกลุ่มที่ 6 ประกอบด้วยแมลงบัวที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือน ค่า Genetic distance ที่ได้อยู่ในช่วง 0.09-0.48 และสามารถแยกประชากรแมลงบัวที่เลี้ยงในโรงเรือนออกจากแมลงบัวที่ได้เก็บได้จากสภาพธรรมชาติ ทั้งๆ ที่มาจากจังหวัดเดียวกัน และสามารถให้แบบตีอีนเอที่จำเพาะเจาะจงต่อแมลงบัว ที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือนออกจากแมลงบัวที่เก็บจากสภาพธรรมชาติ คือค่าไพรเมอร์ P-GGT/MCGA ที่นำหนักโมเลกุล 265 คู่เบส ทั้งนี้อาจเนื่องมากจากกลไกทางสภาพภูมิประเทศที่ก่อให้เกิดการกำจัดบางอัลลีตออกไป ทำให้แมลงบัวที่ได้จากการเลี้ยงในโรงเรือน และแมลงบัวที่เก็บจากสภาพธรรมชาติมีลักษณะแตกต่างกันทางพันธุกรรม รวมถึงปัจจัยภายนอก ได้แก่ สภาพแวดล้อม สภาพภูมิอากาศ รวมทั้งพืชอาศัย คือ พันธุ์ข้าว ซึ่งน่าจะเป็นปัจจัยสำคัญที่ก่อให้เกิดการระบาดรุนแรงต่างกันในแต่ละพื้นที่ จากรายงานของ Supamongkol *et al.* (2005) รายงานว่า ข้าวสายพันธุ์เหมยนองที่มีการปลูกในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ในแต่ละพื้นที่มีความหลากหลายค่อนข้างมาก ทั้งทางลักษณะสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมอีกทั้งจากรายงานของ Oupkeaw *et al.* (2005) ทดสอบการทำลายของแมลงบัวกับสายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกัน ปลูกในพื้นที่เดียวกัน แต่ค่านละปี พบรการเข้าทำลายของแมลงบัวรุนแรงไม่เท่ากันในแต่ละปี ซึ่งเห็นได้ชัดว่า ปัจจัยอื่น ได้แก่ สายพันธุ์ข้าว และสภาพภูมิอากาศในแต่ละปี รวมทั้งการจัดการของเกษตรกรในเรื่องของการใช้สารเคมีก่อให้เกิดการระบาดของแมลงบัวที่แตกต่างกัน