

พัฒนาการของ ejaculatory apodeme และการตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* และ *Zeugodacus cucurbitae*

Ejaculatory Apodeme Development and Pheromone Response of Fruit Flies, *Bactrocera dorsalis* and *Zeugodacus cucurbitae*

คอญีเยะ เถาว์ลัย¹, รูเฟียะห์ มะลี¹ และ นริศ ท้าวจันทร์^{1*}

Kodeeyah Thoawan¹, Rufeah Malee¹ and Narit Thaochan^{1*}

บทคัดย่อ: โครงสร้าง ejaculatory apodeme ในแมลงวันผลไม้เพศผู้ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการสืบพันธุ์ของแมลงวันผลไม้ โดยมีความสัมพันธ์ต่อการแสดงพฤติกรรมตอบสนองต่อสารฟีโรโมนและการจับคู่ผสมพันธุ์ในแมลง การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้นำตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ 2 ชนิด คือ *Bactrocera dorsalis* และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* ที่มีอายุวัยต่าง ๆ มาวัดขนาดของ apodeme และทดสอบการแสดงพฤติกรรมตอบสนองต่อสารฟีโรโมน methyl eugenol และ cue lure พบว่าขนาดของ apodeme ในแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีขนาดเพิ่มขึ้นตามอายุของแมลงที่มากขึ้น และมีขนาดคงที่เมื่อแมลงมีอายุ 5 และ 7 วัน ในแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และ *Z. cucurbitae* ตามลำดับ สำหรับพฤติกรรมตอบสนองต่อการถูกดึงดูดโดยสารฟีโรโมนของแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด พบว่าแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* เริ่มแสดงพฤติกรรมตอบสนองที่อายุ 7 วัน ส่วนแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* เริ่มแสดงพฤติกรรมตอบสนองที่อายุ 5 วัน เมื่อแมลงทั้ง 2 ชนิดมีอายุมากกว่า 10 วันขึ้นไป มีแนวโน้มการแสดงพฤติกรรมตอบสนองต่อสารฟีโรโมนมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวของแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีความสัมพันธ์กับการพัฒนาการของขนาด apodeme ในแมลงวันผลไม้เพศผู้

คำสำคัญ: Apodeme, ฟีโรโมน, *Bactrocera dorsalis*, *Zeugodacus cucurbitae*

ABSTRACT: Ejaculatory apodeme is a structure of reproductive system in male tephritid fruit fly. This structure is related to pheromone response and mating behaviour. The ejaculatory apodeme of two species of adult male fruit flies, *Bactrocera dorsalis* and *Zeugodacus cucurbitae*, with different age and pheromone response to methyl eugenol and cue lure were investigated. The size of ejaculatory apodeme was increased with the insect's age increase and the size was stable when the flies getting at 5 and 7 days old after emerged of *B. dorsalis* and *Z. cucurbitae*, respectively. The *B. dorsalis* and *Z. cucurbitae* started response to pheromone at 7 and 5 days old after emerged. Both species of fruit flies showed percentage response to pheromone more than 60% when the age of both species more than 10 days old after emerged. This behaviour was related to the development of ejaculatory apodeme in male fruit flies.

Keywords: Ejaculatory podeme, pheromone, *Bactrocera dorsalis*, *Zeugodacus cucurbitae*

¹ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, Thailand 90112

* Corresponding author: narit.t@psu.ac.th

บทนำ

การเจริญเติบโต ความสมบูรณ์เพศ การตอบสนองต่อสารฟีโรโมน และพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์ของแมลงวันผลไม้เพศผู้มีความเกี่ยวข้องกับการพัฒนาการของขนาดและรูปร่างของ ejaculatory apodeme ซึ่งเป็นโครงสร้างหนึ่งของระบบสืบพันธุ์ที่พบได้ในแมลงวันผลไม้เพศผู้ (Raghu et al., 2003) เมื่อแมลงวันผลไม้เพศผู้มีความสมบูรณ์ทางเพศและพร้อมผสมพันธุ์ โครงสร้างของ ejaculatory apodeme จะมีขนาดใหญ่และสมบูรณ์ (Raghu et al., 2003, Weldon and Taylor, 2011) นอกจากนี้การพัฒนากาของโครงสร้างดังกล่าวยังเกี่ยวข้องกับการแสดงออกของพฤติกรรมการจับคู่ผสมพันธุ์และตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของแมลงวันผลไม้เพศผู้อีกด้วย การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาพัฒนาการของโครงสร้าง ejaculatory apodeme และการตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้ 2 ชนิด คือ แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* (Hendel) และแมลงวันแตง *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera: Tephritidae) ซึ่งเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญของผลไม้ที่มีผิวเปลือกบางและพืชตระกูลแตงหลายชนิด (White and Elson-Harris, 1992; Allwood et al., 1999; Drew and Romig, 2013) เพื่อใช้เป็นข้อมูลและแนวทางในการพัฒนาวิธีการควบคุมแมลงวันผลไม้โดยใช้สารฟีโรโมนที่มีประสิทธิภาพในอนาคต

วิธีการศึกษา

การเตรียมแมลง

นำผลฝรั่ง และผลแตงกวาใส่ในกรงฟอ-แม่พันธุ์แมลงวันผลไม้ *Bactrocera dorsalis* และ *Zeugodacus cucurbitae* อายุ 20 วัน เพื่อให้แมลงวันเพศเมียวางไข่เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นย้ายผลฝรั่งและแตงกวาไปใส่ในกล่องพลาสติกใสขนาด 15x20x10 เซนติเมตร ร่องก้นกล่องด้วยเวอร์มิคูไลต์หนา 1 เซนติเมตร เพื่อให้ตัวหนอนเข้าดักแด้ เมื่อดักแด้ออกเป็นตัวเต็มวัย ย้ายแมลงไปใส่ในกรงฟ้ามุ้งขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ภายในกรงจัดน้ำตาล ยีสต์ และน้ำเป็นแหล่งอาหารของแมลง แยกตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้แต่ละชนิดเมื่อมีอายุ 1, 3, 5, 7, 10 และ 15 วัน หลังออกจากดักแด้

การผ่าตัด ejaculatory apodeme

นำตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ทั้ง 2 ชนิดที่มีอายุต่าง ๆ กัน จำนวนอย่างละ 10 ตัว นำไปพักไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 3 นาที เพื่อให้แมลงสลบ จากนั้นนำไปแช่ในแอลกอฮอล์ 90% เพื่อรักษาตัวอย่างก่อนนำไปผ่าตัดแยกชิ้นส่วนของ ejaculatory apodeme หลังผ่าตัดทำการวัดขนาดและถ่ายภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope รุ่น S8 APO ยี่ห้อ Leica

การตอบสนองต่อสารฟีโรโมน

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) กรรมวิธี คือ แมลงวันผลไม้แต่ละชนิดที่มีอายุ 1, 3, 5, 7, 10 และ 15 วัน หลังออกจากดักแด้ จำนวนอย่างละ 10 ตัว ใส่ในกรงฟ้ามุ้งขนาด 30x30x30 เซนติเมตร นำล่อเหยื่อสารฟีโรโมน methyl eugenol และ cue lure ปริมาตร 50 ไมโครลิตร วางด้านบนกรงของแมลงแต่ละชนิดเป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกจำนวนตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ถูกดึงดูดด้วยสารฟีโรโมนดำเนินการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ขนาดของ ejaculatory apodeme แมลงวันผลไม้เพศผู้ *B. dorsalis* และ *Z. cucurbitae* ในแต่ละช่วงอายุชายและเปอร์เซ็นต์การตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของแมลงวันผลไม้เพศผู้ทั้ง 2 ชนิด แสดงด้วยกราฟเส้นโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel เวอร์ชัน 2013 วิเคราะห์ค่าวาเรียนซ์และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของขนาด ejaculatory apodeme และเปอร์เซ็นต์การตอบสนองต่อสารฟีโรโมนโดยวิธี Tukey's HSD test ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 17 (SPSS, 2008)

ผลการศึกษา

ขนาดของ ejaculatory apodeme ของแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* มีขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อแมลงมีอายุเพิ่มมากขึ้น และขนาดคงที่เมื่อแมลงมีอายุ 7-15 วัน รูปร่างของ ejaculatory apodeme เมื่อมีขนาดเต็มที่มีความกว้าง 0.74-0.81 มิลลิเมตร ความยาว 1.02-1.14 มิลลิเมตร (Fig. 1A and Fig. 3)

การตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ *B. dorsalis* พบว่าที่อายุ 1-5 วัน

แมลงไม่ตอบสนองต่อสาร methyl eugenol แมลงเริ่มตอบสนองต่อสารเมื่อมีอายุ 7 วัน พบการตอบสนองต่อสาร methyl eugenol เท่ากับ 36.67 ± 12.02 เปอร์เซ็นต์

และที่อายุ 10 และ 15 วัน พบการตอบสนองต่อสาร methyl eugenol เท่ากับ 63.33 ± 3.33 และ 70.00 ± 5.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig. 1B)

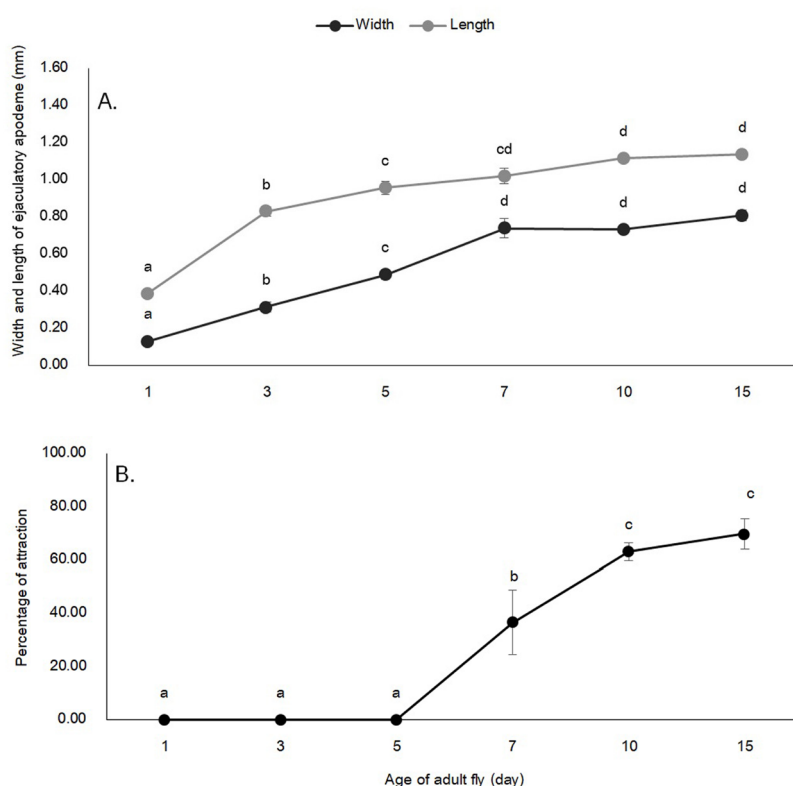


Figure 1 Ejaculatory apodeme size (A) and percentage of attraction (B) to methyl eugenol of different age of adult male fly, *Bactrocera dorsalis*. The different letters in each line graph are significantly different by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

ขนาด ejaculatory apodeme ของแมลงวันแตง *Z. cucurbitae* มีขนาดเพิ่มขึ้นตามอายุเช่นเดียวกับแมลงวันผลไม้ *B. dorsalis* และโครงสร้างดังกล่าวมีขนาดคงที่เมื่อแมลงมีอายุ 7-15 วันรูปร่างของ ejaculatory apodeme เมื่อมีขนาดเต็มที่มีความกว้าง 0.82-0.83 มิลลิเมตร ความยาว 1.37-1.38 มิลลิเมตร (Fig. 2A and Fig. 4)

การตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของตัวเต็มวัยแมลงวันผลไม้เพศผู้ *Z. cucurbitae* พบว่าที่อายุ 1-3 วันแมลงไม่ตอบสนองต่อสาร cue lure แมลงเริ่มตอบสนองต่อสารเมื่อมีอายุ 5 วัน พบการตอบสนองต่อสาร cue lure เท่ากับ 6.67 ± 3.33 เปอร์เซ็นต์ และที่อายุ 7, 10 และ 15 วัน พบการตอบสนองต่อสาร cue lure เท่ากับ 20.00 ± 10.00 , 60.00 ± 5.77 และ 70.00 ± 11.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Fig. 2B)

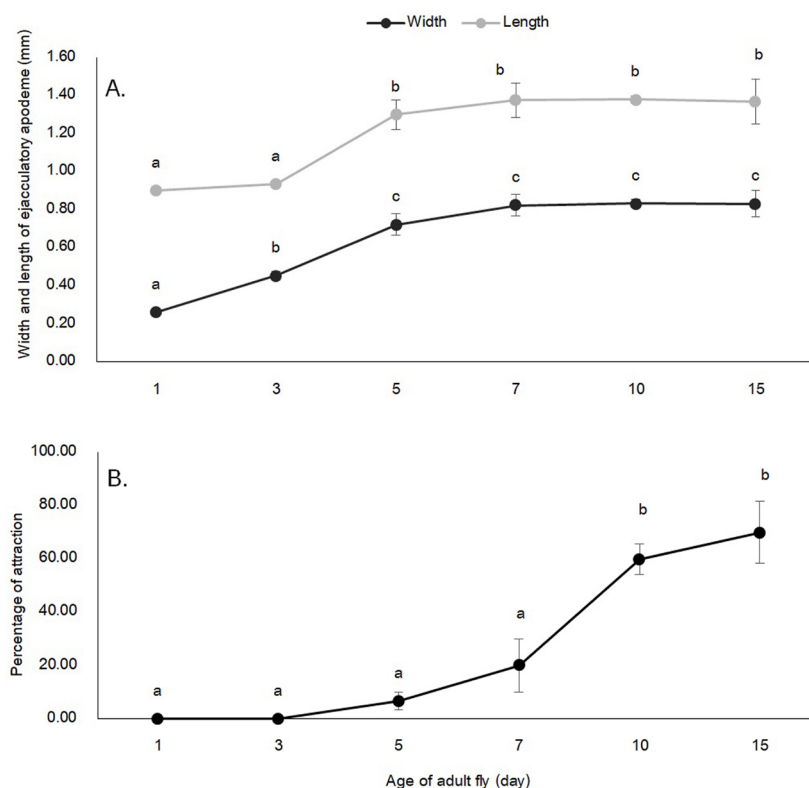


Figure 2 Ejaculatory apodeme size (A) and percentage of attraction (B) to cue lure of different age of adult male fly, *Zeugodacus cucurbitae*. The different letters in each line graph are significantly different by Tukey's HSD test ($P < 0.05$).

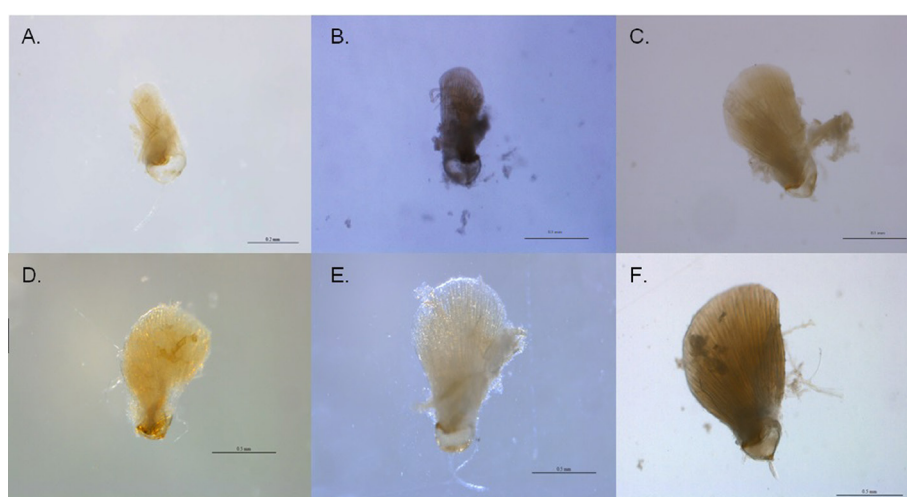


Figure 3 Development of ejaculatory apodeme over time in male *Bactrocera dorsalis*; A = 1 day, B = 3 days, C = 5 days, D = 7 days, E = 10 days and F = 15 days.

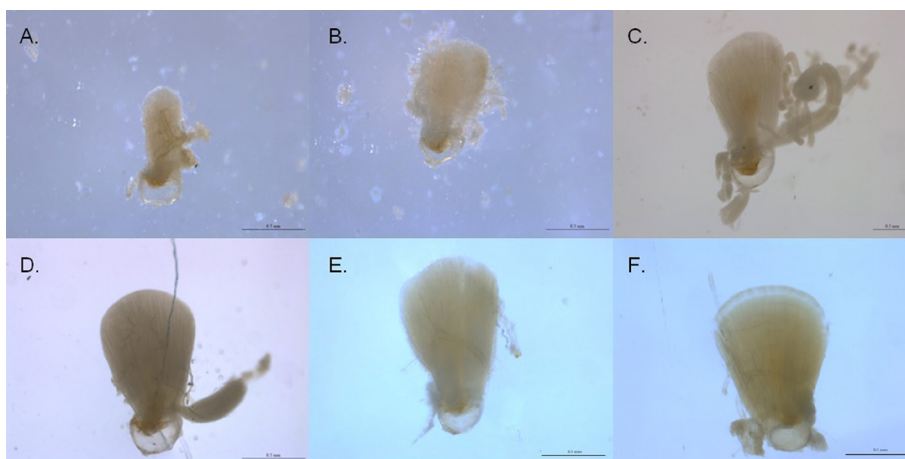


Figure 4 Development of ejaculatory apodeme over time in male *Zeugodacus cucurbitae*; A = 1 day, B = 3 days, C = 5 days, D = 7 days, E = 10 days and F = 15 days.

วิจารณ์

ขนาดและรูปร่างของ ejaculatory apodeme ในแมลงวันผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีขนาดใหญ่ขึ้นตามการเจริญเติบโตและอายุที่เพิ่มขึ้นของแมลงวันผลไม้ (Drew, 1969; Raghu et al., 2003) เมื่อแมลงวันผลไม้เพศผู้มีความสมบูรณ์ทางเพศ ขนาดของ ejaculatory apodeme จะมีขนาดขยายใหญ่ขึ้น ขณะเดียวกันแมลงเริ่มแสดงพฤติกรรมการตอบสนองต่อ สารฟีโรโมนและการจับคู่ผสมพันธุ์กับแมลงวันผลไม้เพศเมีย (Perez-Staples et al., 2007) การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Karunaratne and Karunaratne (2012) พบว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ *B. dorsalis* ตอบสนองต่อสาร methyl eugenol ได้ดีเมื่อแมลงมีอายุ 10 วัน และตอบสนองมากขึ้นเมื่อแมลงมีอายุ 15 วัน และยังพบว่าการตอบสนองต่อสาร methyl eugenol ของแมลงวันผลไม้เพศผู้ *B. dorsalis* พบมากที่สุดในช่วงเวลา 10.00 น. ถึง 82.6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าแมลงวันผลไม้เพศผู้ที่ได้รับอาหารที่สมบูรณ์มีพัฒนาการของขนาดและรูปร่างของ ejaculatory apodeme ที่ดีกว่าแมลงวันผลไม้ที่ได้รับอาหารที่ไม่เหมาะสม (Weldon et al., 2008; Weldon and Taylor, 2011) จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบลักษณะและพัฒนาการของ ejaculatory apodeme รวมทั้งพฤติกรรมการตอบสนองต่อสารฟีโรโมนของแมลงวันผลไม้เพศผู้ทั้ง 2 ชนิด เพื่อใช้เป็นแนวทางในการวางแผนการควบคุมแมลงวันผลไม้ในธรรมชาติด้วยสารฟีโรโมน

สรุป

โครงสร้าง ejaculatory apodeme ในแมลงวันผลไม้เพศผู้ทั้ง 2 ชนิด มีขนาดใหญ่ขึ้นตามอายุของแมลงที่เพิ่มมากขึ้น และมีขนาดคงที่เมื่อแมลงมีอายุมากกว่า 7-15 วัน แมลงวันผลไม้เพศผู้ทั้ง 2 ชนิดที่มีการพัฒนาการของขนาด ejaculatory apodeme ที่สมบูรณ์มีการตอบสนองต่อสารฟีโรโมนมากกว่า 60%

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการจัดการศัตรูพืชและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช, สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนอุปกรณ์ เงินทุน และสถานที่สำหรับการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Allwood, A.J., A. Chinajariyawong, R.A.I. Drew, E.L. Hamacek, D.L. Hancock, C. Hengsawad, J.C. Jipanin, M. Jirasurat, C. Kong Krong, S. Kritsaeneepaiboon, C.T.S. Leong, and S. Vijaysegaran. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South East Asia. Raffles Bull. Zool. 7:1-92.

- Drew, R., and M. Romig. 2013. Tropical fruit flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia: Indomalaya to North-West Australasia. United Kingdom: CABI. 664 pp.
- Drew, R.A.I. 1969. Morphology of the reproductive system of *Strumeta tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) with a method of distinguishing sexually mature adult males. J. Aus. Entomol. 8:21-32.
- Karunaratne, M.M.S.C., and U.K.P.R. Karunaratne. 2012. Factors influencing the responsiveness of male Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, to methyl eugenol (3, 4 dimethoxyallyl benzene). Trop. Agr. Res. Ext. 15:92-97.
- Perez-Staples, D., V. Prabhu, and P.W. Taylor. 2007. Post-teneral protein feeding enhances sexual performance of Queensland fruit flies. Physiol. Entomol. 32:225-232.
- Raghu, S., P. Halcoop, and R.A.I. Drew. 2003. Apodeme and ovarian development as predictors of physiological status in *Bactrocera cacuminata* (Hering) (Diptera: Tephritidae). Aus. J. Entomol. 42:281-286.
- SPSS Inc. Released. 2008. SPSS Statistics for Windows, Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.
- Weldon, C.W., and P.W. Taylor. 2011. Sexual development of wild and mass-reared male Queensland fruit flies in response to natural food sources. Entomol. Exp. Appl. 139:17-24.
- Weldon, C.W., D. Perez-Staples and P.W. Taylor. 2008. Feeding on yeast hydrolysate enhances attraction to cue-lure in Queensland fruit flies, *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae). Entomol. Exp. Appl. 129:200-209.
- White, I.M., and M. Elson-Harris. 1992. Fruit Flies of Economic Significance: their Identification and Bionomics. London: International Institute of Entomology. 601 p.