

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

- 1. แผนงานวิจัย**      แผนบูรณาการวิจัยและพัฒนามาตรการสุขอนามัยพืชและการเฝ้าระวังศัตรูพืชเพื่อการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร
- 2. โครงการวิจัย**      โครงการวิจัยอนุกรมวิธาน ชีววิทยา และการจำแนกชนิดโดยดีเอ็นเอบาร์โค้ดของศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติเพื่อการวิจัยด้านอารักขาพืชในประเทศไทย  
**กิจกรรมที่ 3**      การจำแนกศัตรูพืชและศัตรูธรรมชาติโดย ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด
- 3. ชื่อการทดลอง**      การตรวจวินิจฉัยชนิดของแตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae (Platygastridae) ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล  
Species identification of egg parasitoids subfamily Telenominae (Platygastridae) in rice paddies using molecular technique
- 4. คณะผู้ดำเนินงาน**  
**หัวหน้าการทดลอง**      จารุวัฒน์ แต้มกุล      กลุ่มกีฏและสัตววิทยา      สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช  
**ผู้ร่วมงาน**      ยุวรินทร์ บุญทบ      ชมัยพร บัวมาศ      อิทธิพล บรรณาการ      จอมสุรางค์ ดวงธิสาร  
   สิทธิศิโรตม      แก้วสวัสดิ์  
   กลุ่มกีฏและสัตววิทยา      สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช

### 5. บทคัดย่อ

แตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae เป็นกลุ่มที่มีความสำคัญมากที่สุดในกลุ่ม Platygasteridae เนื่องจากมีศักยภาพสูงในการใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี แตนเบียนไข่ Telenominae สามารถเข้าทำลายไข่ของแมลงศัตรูข้าวได้หลายชนิด แต่ยังไม่มีความรู้เกี่ยวกับชีววิทยาและชีววิทยาของแมลงในกลุ่มนี้ในประเทศไทย การใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพมาช่วยในการวินิจฉัยจำแนกชนิด ทำให้ได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วมากขึ้น วัตถุประสงค์ของการทดลองคือเพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของแตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae (Platygastridae) ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าว โดยใช้ ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด ดำเนินการทดลองตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2559 ถึงเดือน กันยายน 2561 โดยดำเนินการเก็บแตนเบียนไข่จากแปลงปลูกข้าวที่สำคัญทางเศรษฐกิจ สกัดและเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น

เอ วิเคราะห์ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ โดยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและนำมาร่วมวิเคราะห์ชนิดของแตนเบียนไข่ร่วมกับ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลจากการเทียบลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ บน GenBank (standard nucleotide BLAST) ผลการทดลองพบว่าได้แตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae ทั้งหมด 16 ชนิดได้แก่ *Gryon largi*, *Gryon saxatilis*, *Psix tunetanus*, *Psix watshami*, *Telenomus busseolae*, *Telenomus californicus*, *Telenomus crassiclava*, *Telenomus dignus*, *Telenomus floridanus*, *Telenomus grenadensis*, *Telenomus nysivorus*, *Telenomus podisi*, *Telenomus tabanivorus*, *Trissolcus basalis*, *Trissolcus ogyges* และ *Trissolcus thyantae* แตนเบียนไข่ *Telenomus* spp. เป็นกลุ่มชนิดที่มีความสำคัญที่สุด ควรนำมาศึกษาพัฒนาเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว หรือหาแนวทางการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวต่อไป

### Abstract

The egg parasitoids subfamily Telenominae is the most important group within the family Platygasteridae in respect to the use as biological control agents. Despite the fact that telenomine wasps are able to attack several rice pest species, the study of species richness in Thailand has not yet been clear. Molecular technique for species identification is carried out for the precision and efficiency. The primary goal of this research is to obtain the taxonomic information of the subfamily telenominae at species level executed from DNA barcode method. The study was implemented from October 2016 to September 2018; collecting survey and study were done on the important rice paddy in Thailand. To obtain wasp species, molecular techniques were implemented including DNA extraction, amplification, sequencing as well as phylogenetic analysis. The species execution included morphological data and standard nucleotide BLAST from GenBank. The results revealed that 16 species of Telenominae were found: *Gryon largi*, *Gryon saxatilis*, *Psix tunetanus*, *Psix watshami*, *Telenomus busseolae*, *Telenomus californicus*, *Telenomus crassiclava*, *Telenomus dignus*, *Telenomus floridanus*, *Telenomus grenadensis*, *Telenomus nysivorus*, *Telenomus podisi*, *Telenomus tabanivorus*, *Trissolcus basalis*, *Trissolcus ogyges*, and *Trissolcus thyantae*. The egg parasitoids, *Telenomus* spp. Is considered most important species group to use as biological control agents. This group will pose significant impacts on the biological control research paradigm as well as natural enemy conservation on paddy fields in Thailand.

**คำสำคัญ** แตนเบียนไข่ แมลงศัตรูข้าว การควบคุมโดยชีววิธี ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด egg parasitoids Telenominae Hymenoptera

**รหัสการทดลอง** 03-30-60-01-03-00-06-60

## 6. คำนำ

แมลงในกลุ่ม ผีเสื้อ ต่อ แตนและมด (Hymenoptera) จัดว่าเป็นแมลงกลุ่มที่มีความสำคัญมากที่สุดในแง่แมลงที่มีประโยชน์ ความหลากหลายชนิดของแมลงในกลุ่มนี้มีมากกว่า 115,000 ชนิด (LaSalle and Gauld, 1993) จากการศึกษาถึงสายวิวัฒนาการ (phylogenetic position) พบว่า Hymenoptera มีความสัมพันธ์มากที่สุด (sister group) ต่อกลุ่มแมลงที่มีการเจริญเติบโตครบวงจรหรือ Holometabola (Sharkey, 2007; Savard *et al.*, 2006) โดยทั่วไปแล้วแมลงในกลุ่มผีเสื้อ ต่อ แตน แบ่งเป็น 2 กลุ่มหลักได้แก่ กลุ่มกินพืช paraphyletic Symphyta (sawflies, woodwasps) และแมลงผสมเกสร มด และ แตน monophyletic Apocrita ซึ่งประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อย monophyletic Aculeata และ polyphyletic Parasitica กลุ่มย่อย Aculeata และ Parasitica เป็นแมลงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในแง่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มแตนเบียน (parasitoids wasps) พบว่าการนำเข้าแตนเบียนเพื่อควบคุมแมลงศัตรูพืช (classical biological control) ประสบความสำเร็จสูงถึง 87% จากการนำเข้าแมลงศัตรูธรรมชาติทั้งหมด (Greathead, 1986; LaSalle and Gauld, 1993)

แมลงในกลุ่มแตนเบียนมีความน่าสนใจมากที่สุดในกลุ่มแมลงศัตรูธรรมชาติในแง่ของชีววิทยา แมลงในกลุ่มนี้สามารถอาศัยบริเวณอาหารทั้งในตัวเหยื่อ (endoparasitoids) และบนตัวเหยื่อ (ectoparasitoids) แตนเบียนแตกต่างจาก ตัวห้ำและตัวเบียนกล่าวคือ ตัวห้ำ (predator) เข้าทำลายและฆ่าเหยื่อโดยทางตรงและครั้งละหลายตัว ตัวเบียน (parasite) สร้างความรำคาญหรือบาดเจ็บให้กับเหยื่อแต่จะไม่ฆ่าเหยื่อ ในทางกลับกันแตนเบียน (parasitoids) เข้าทำลายเหยื่อครั้งละ 1 ตัว ตัวอ่อนกัดกินอวัยวะภายในเหยื่อและทำให้เหยื่อตายในที่สุด จำนวนของแตนเบียนภายในเหยื่ออาจแตกต่างกัน มีเพียงแค่ 1 ตัว (solitary) หรือหลายตัว (gregarious) ความสำคัญของแตนเบียนประกอบไปด้วย 1) ช่วยรักษาสมดุลของระบบนิเวศ แตนเบียนเข้าทำลายเหยื่อจัดเป็นการรักษาระดับการระบาดของแมลง 2) สามารถใช้ในการวัดระดับการแพร่กระจายของแมลง พบว่าหากมีแตนเบียนชนิดใดอยู่เป็นจำนวนมาก อาจมีผลมาจากความอุดมสมบูรณ์ของเหยื่อ 3) การใช้แตนเบียนควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี พบว่าเป็นวิธีการที่ประสบความสำเร็จทั้งแมลงศัตรูทางการเกษตร ป่าไม้ และทางการแพทย์ และยังช่วยลดระดับการใช้สารเคมีควบคุมแมลงศัตรูพืช 4) แมลงศัตรูพืชลดระดับความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง และ 5) ช่วยส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม

แตนเบียนไข่ คือแตนเบียนที่เข้าทำลายไข่ของเหยื่อ พบว่ามีการใช้แตนเบียนไข่ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีถึง 7 วงศ์ และมี 1 ชนิด ผลิตเพื่อเป็นการค้าและประสบความสำเร็จในการควบคุมแมลงศัตรูพืช ได้แก่ *Trichogramma* (Mills, 2010) ทั้งนี้จากแตนเบียนไข่ที่ถูกค้นพบ แต่ยังมีแตนเบียนไข่อีกหลายชนิดที่อยู่ในธรรมชาติที่ยังไม่มีการค้นพบและศึกษา แตนเบียนวงศ์ใหญ่ Platygastroidea จัดเป็นแตนเบียนไข่ที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง มีการจัดจำแนกสายบรรพบุรุษในกลุ่มเดียวกันกับวงศ์ใหญ่ Prototrupoidea และ Cynipoidea สร้างเครือข่ายความสัมพันธ์ชนิด monophyly (Sharkey, 2007) ระดับการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธาน มีการรวบรวมข้อมูลปัจจุบันใน Hymenoptera On-line database โดย Johnson (2014) มีเพียง 1 วงศ์ได้แก่ Platygastriidae ประกอบด้วย 5 วงศ์ย่อยและมีความหลากหลายชนิดดังต่อไปนี้ Platygastriinae (45 genera, 1,745 species), Sceliotrachelinae (28 genera, 142 species), Scelioninae (155 genera, 2,571 species), Teleasinae (13 genera, 509 species), และ

Telenominae (20 genera, 907 species) มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมทั่วโลก การศึกษาแมลงในกลุ่มนี้ เขตร้อนขึ้นเป็นเขตที่ได้มีการศึกษาน้อยที่สุด (Austin *et al.*, 2005)

แตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae นับเป็นวงศ์ที่มีความสำคัญมากที่สุดใน Superfamily Platygastroidea ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี แมลงในวงศ์ย่อยนี้มีเขตการแพร่กระจายทั่วโลกทั้ง โลกเก่า และโลกใหม่ ประกอบไปด้วย 20 สกุลและ 907 ชนิด ทั่วโลก ในประเทศไทยพบรายงานในแปลงปลูกข้าว 3 สกุลแต่ยังไม่มีการศึกษาโดยละเอียดในวงศ์ย่อยนี้ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญที่แยก Telenominae ออกจากวงศ์ย่อยอื่นคือ ปล้องท้องส่วนบน (dorsal metasomatic tergites) จับกันแบบหลวมๆ กับปล้องท้องส่วนล่าง (ventral metasomatic tergites) ดังนั้นจึงไม่สามารถเห็นส่วนของรอยกดด้านข้างลำตัว (impressed submarginal ridge) เหมือนวงศ์ย่อยอื่น ปล้องท้องปล้องที่ 2 (T2) มีขนาดใหญ่และยาวกว่าปล้องท้องอื่นๆ เพศเมียมีปล้องหนวด (antennal segments) 10 – 11 ปล้อง ในขณะที่เพศผู้มี 12 ปล้อง มีน้อยกว่าที่เพศผู้มีปล้องหนวด 11 ปล้อง (Masner, 1976)

แตนเบียนวงศ์ย่อย Telenominae เข้าทำลายไข่ของแมลงศัตรูข้าวหลายชนิด อาทิ ไข่ของมวนเขียวข้าว ผีเสื้อหนอนกอข้าว บั่วข้าว เป็นต้น ทั้งนี้แตนเบียนวงศ์ย่อยนี้มีแนวโน้มที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชในแปลงปลูกข้าวโดยชีววิธีอย่างมีประสิทธิภาพ แต่ทั้งนี้การวินิจฉัยความหลากหลายชนิดของแมลงในกลุ่มนี้ ในส่วนใหญ่สามารถบ่งชี้ได้เพียงแค่ระดับสกุลเนื่องจากแมลงในวงศ์ย่อยนี้มีขนาดเล็กมาก ขนาดลำตัวยาวโดยประมาณ 2-3 มิลลิเมตร และลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความคล้ายคลึงกันมาก ส่งผลให้เกิดปัญหาที่เรียกว่า Cryptic species complex นั่นคือกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันมากจน ไม่สามารถตรวจวินิจฉัยชนิดได้โดยง่าย ตัวอย่างเช่น แมลงในสกุล *Telenomus* (Haliday, 1833) การตรวจวินิจฉัยระดับชนิดจำเป็นต้องผ่าตัดท้องปล้องที่ 5-6 และวาดภาพอวัยวะสืบพันธุ์ (aedeagus) เพื่อเปรียบเทียบชนิด (Johnson, 1984) ซึ่งวิธีการเหล่านี้เป็นวิธีการที่ยุ่งยาก มีความซับซ้อนและเสียเวลา และที่สำคัญต้องอาศัยนักอนุกรมวิธานที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะในแมลงกลุ่มนี้ การใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพมาช่วยยืนยันลักษณะความคลุมเครือทางสัณฐานวิทยาเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อการวินิจฉัยจำแนกชนิดที่ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วมากขึ้น ทั้งนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับงานทางด้านควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีต่อไป

ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด (DNA barcoding) เป็นแนวทางหนึ่งในการจัดจำแนกชนิดของสิ่งมีชีวิต ที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง เป็นการจัดเก็บชิ้นส่วนของจีโนมและสามารถนำมาเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตที่ต้องการวินิจฉัยชนิด เหตุผลหลักของการใช้ข้อมูลทางชีวโมเลกุลเพื่อช่วยในการจัดจำแนกชนิด คือ 1) มีความแม่นยำสูงในการบ่งบอกชนิดที่ถูกต้อง กล่าวคือในทางทฤษฎีแล้วหากใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายนอกที่ใช้ในการตัดสินใจ อย่างมากที่สุด วิเคราะห์ประเมินได้เพียง 100 ลักษณะโดยประมาณ แต่หากใช้ลักษณะความแตกต่างของลำดับเบสหรือ DNA อย่างต่ำประมาณ 500-600 ลักษณะขึ้นอยู่กับชนิดและขนาดของจีโนมที่ใช้ในการเปรียบเทียบ 2) ได้ฐานข้อมูลที่สำคัญ เพื่องานวิจัยทางด้านความสัมพันธ์ด้านวิวัฒนาการ ของแตนเบียนไข่สกุล Telenominae และสกุลใกล้เคียงหรือสกุลที่ต้องการศึกษา 3) ช่วยแก้ปัญหา cryptic species complex ของแตนเบียนไข่สายพันธุ์ในประเทศไทย และ 4) เป็นฐานข้อมูลทางด้านชีวโมเลกุลของแตนเบียนไข่ในประเทศไทย ดี เอ็น เอ บาร์โค้ดเป็นวิธีการ ที่รวดเร็วและแม่นยำ ใช้

เป็นประโยชน์ในหลายด้านเช่น การอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพ, บริษัทควบคุมแมลง, การระบาดของแมลงที่ไม่ใช่แมลงท้องถิ่น (Invasive species), การนำเข้าส่งออกสินค้าทางการเกษตร, และ ความปลอดภัยทางอาหาร (Hepert & Gregory, 2005)

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือ เพื่อทราบชนิดและชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องของแตนเบียนช่วงค้อย Telenominae (Platygastridae) ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวโดยใช้ ดี เอ็น เอ บาร์โค้ด

## 7. วิธีดำเนินการ

### - อุปกรณ์

1. กักตักแมลงประกอบไปด้วย Yellow pan trap, Malaise trap รวมทั้งสวิงจับแมลง
2. ethanol ความเข้มข้น 95% เพื่อใช้ในการจัดเก็บตัวอย่างสดของแมลง
3. กระดาษคุณภาพสูง (acid free) เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่างแห้งในระยะยาว
4. อุปกรณ์บันทึกเขตการแพร่กระจายในระดับละเอียด (GPS)
5. Forceps ขนาดเล็ก
6. ขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับตัวอย่างสด
7. กล้องจุลทรรศน์ stereo microscope กำลังขยายมากกว่า 50 เท่าขึ้นไป
8. สารเคมีในการทำแห้งตัวอย่างแมลง
9. พัดลมดูดอากาศ (Laminar Flow Clean Air Bench)
11. โรงเรือนทดลองกรณีการเลี้ยงแตนเบียน
12. กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอแบบกำลังขยายสูงสำหรับงานทางอนุกรมวิธานแมลง Leica M205 C พร้อม เลนส์ Planapo Objective 1.0x สำหรับการถ่ายภาพเพื่อตีพิมพ์ในเอกสารวิชาการ
13. ชุดสกัด DNA (DNeasy extraction protocol for Hymenoptera) by C.D. Zhu and J.S. Noyes
14. Primer สำหรับ mitochondrial protein-coding gene cytochrome oxidase I (COI)

### - วิธีการ

#### การเก็บและรักษาตัวอย่างแตนเบียนไข่ (Taxonomic sampling and specimen vouchering)

แตนเบียนช่วงค้อย Telenominae (Platygastridae) ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าว จะถูกเก็บด้วย 2 กรรมวิธีประกอบไปด้วย 1) การเก็บตัวอย่างแห้ง ซึ่งจะเก็บในหีองที่มีความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิต่ำ และ 2) การเก็บตัวอย่างสดเพื่องานวิจัยทางชีวโมเลกุล ทั้งนี้ใช้ 4 วิธีพื้นฐานทางกีฏวิทยาในการเก็บตัวอย่างได้แก่ สวิงจับแมลง Yellow Pan Trap (YPT), Malaise trap และ Slam trap. การใช้ YPT จะทำการเก็บแมลงทุกวันโดยทิ้งระยะเวลา 24 ชั่วโมงโดยวางกับดักเวลา 08:00 นาฬิกา และทำการเก็บแมลงในช่วงเช้าวันถัดไประหว่างเวลา 09:00 – 10:00 นาฬิกา และวางกับดัก Malaise trap และ Slam trap สามารถเว้นระยะเวลา 5-10 วัน นำแมลงออกจากกับดักโดยใช้ ตาข่ายความละเอียดพิเศษ (fine-mesh aquarium net) เก็บตัวอย่างใน ethanol ความเข้มข้น 95%หลังจากนั้น

เก็บรักษาตัวอย่างในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รอเพื่อเตรียมตัวอย่างแห้ง และรอไว้เพื่องานวิจัยทางด้านสัคดี เอ็น เอ

#### การจัดจำแนกโดยศึกษาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Specimens identification)

แมลงที่เก็บได้จากแปลงปลูกข้าวทั้งในและนอกฤดูปลูก จะถูกจัดจำแนกในระดับอันดับ (order) โดยใช้การวินิจฉัยของ Goulet & Huber (1993) แมลงในกลุ่มเป้าหมาย Hymenoptera จะถูกแยกกลุ่มในระดับ Superfamily การจัดแบ่งในหมวด วงศ์และสกุล (Family และ genus) ดำเนินการเฉพาะในกลุ่มที่ต้องการศึกษา Platygastroidea (Platygastridae) เอกสารหลักที่ใช้ในการจัดจำแนกได้แก่ “Hymenoptera of the world: an identification guide to families” (Masner 1993) และความร่วมมือจากนักวิจัยจากประเทศแคนาดา (CNCI:Canadian National Collection of Insects) การศึกษาภายใต้กล้อง stereo microscope ใช้โปรแกรมการถ่ายภาพ AutoMontage หรือ Cartograph extended-focus โดยใช้ JVC KY-F75U digital camera, Leica Z16 APOA โดยความร่วมมือกับพิพิธภัณฑสถานสมิธโซเนียน กรุงวอชิงตัน ดี ซี ประเทศสหรัฐอเมริกา

#### การสกัด เพิ่มปริมาณและได้ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ (DNA extractoin, amplification, and sequencing)

ทำการสกัด ดี เอ็น เอ ด้วยวิธี การสกัดเพื่อการเก็บรักษาตัวอย่าง (non-destructive DNA extraction protocol) ข้อดีของวิธีนี้คือหลังจากทำการสกัด ดี เอ็น เอ ยังสามารถเก็บตัวอย่างเพื่อใช้อ้างอิงต่อไป (voucher specimens) วิธีการสกัด ดี เอ็น เอ ชนิดนี้ ดำเนินการตามวิธีการ DNeasy extraction protocol (Qiagen Inc.) as modified for Hymenoptera by C.D. Zhu & J.S. Noyes at the British Museum of Natural (unpublished) ทำการเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น เอ โดยใช้ Primer สำหรับ mitochondrial protein-coding gene cytochrome oxidase I (COI) ได้แก่ FR-COI primer GGA GGA TTT GGA AAT TGR YTW RTT CC (F), ACT GTA AAT ATR TGA TGW GCT CA (R) (Simon *et al.*, 1994) และ HCO/LCO primer TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA (F), GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G (R) (Folmer *et al.*, 1994) อุณหภูมิและสภาพในการเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น เอ (DNA amplification profile) ดำเนินการตาม Taekul *et al.* (2013) การทำให้ผลผลิต PCR บริสุทธิ์โดยการใช้ QIAquick PCR purification kit (Qiagen) protocol ก่อนส่ง sequencing ผลผลิตจากการ sequence นำมาปรับความสม่ำเสมอของลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ (both direction) โดยใช้ Sequencher v4.0.

#### การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic analysis)

ดำเนินการตรวจสอบคุณภาพ ดีเอ็นเอ จากโปรแกรม Sequencer และ DNA-STAR หลังจากนั้นทำการจัดเรียงลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (alignment) ของแต่ละชนิดโดยใช้โปรแกรม MEGA คัดเลือกตัวแทนของลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่มีลักษณะเหมือนกัน (100 % identical) ออกมาชนิดละ 1 เส้น หลังจากนั้นดำเนินการสร้างแผนภูมิรูปภาพความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โดยมีแนวทางการสร้างแผนภูมิ 3 รูปแบบหลัก ได้แก่ 1) การวัดระยะระหว่างลำดับเบส หรือ distance method (neighbor joining) 2) การหาแผนภูมิที่เหมาะสมจาก แนวทางการสรุปค่าที่น่าเชื่อถือที่สุด (optimal criteria) หรือ parsimony .ใช้โปรแกรม TNT และ 3) การหาค่าความสัมพันธ์แผนภูมิจากอัตราการ

เปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการโดยมี (rate of evolution) ของแต่ละลำดับเบสหรือ statistical analysis จากการศึกษาใช้วิธี Maximum likelihood โดยดำเนินการวิเคราะห์จากโปรแกรม MEGA โดยดำเนินการสุ่มจำนวน 1000 ครั้งใช้ค่า Bootstrap เป็นค่าสนับสนุนในแต่ละกลุ่ม วิเคราะห์และคัดเลือกแผนภูมิที่เหมาะสมที่สุด โดยเปรียบเทียบจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ ผลจากการเทียบตัวอย่างลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ บน GenBank (standard nucleotide BLAST) การลงทะเบียนและระบบฐานข้อมูลแตนเบียนไขในประเทศไทย (Biodiversity Informatics)

การค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่จะดำเนินการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek *et al.*, 2005) รวมถึงสถานที่ ที่ค้นพบ รูปแบบการเขียนตีพิมพ์ผลงานวิจัย (taxonomic description) ดำเนินการตามแบบมาตรฐานของ Pyle *et al.* (2008) และ Johnson *et al.* (2008) ตัวอย่างแมลงทั้งหมดรวมถึงตัวอย่างหลังจากการสกัด DNA (voucher specimen) จะถูกเก็บรวบรวม พร้อมทั้ง ลงบันทึกเขตการแพร่กระจาย แหล่งที่เก็บ แมลงอาศัย บันทึกในระบบฐานข้อมูลท้องถิ่น โดยการใส่บาร์โค้ด Number ของแต่ละตัวอย่าง เก็บรวบรวมตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร ส่งเข้าสู่ระบบฐานข้อมูล GenBank ในประเทศสหรัฐอเมริกา หรือฐานข้อมูลอื่น อาทิ DNA Data Bank ของประเทศญี่ปุ่น (ฐานข้อมูล เอเชีย) ฐานข้อมูล GBIF (Global Biodiversity Information Facility) ส่งเข้าสู่ระบบฐานข้อมูล EoL(Encyclopedia of Life) ส่งเข้าสู่ระบบฐานข้อมูล HOL (Hymenoptera online Database) นอกจากนี้ หลังจากตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการแล้ว ส่งลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ เพื่อเก็บลงบนฐานข้อมูล GenBank ต่อไป

#### - เวลาและสถานที่

ดำเนินการศึกษาระหว่างเดือน ตุลาคม 2559 ถึงเดือน กันยายน 2561 โดยเก็บตัวอย่างแตนเบียนไขจากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศได้แก่จังหวัด สุพรรณบุรี อยุธยา นครนายก ชัยนาท นนทบุรี ลพบุรี สิงห์บุรี นครราชสีมา สุรินทร์ บุรีรัมย์ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี เป็นต้น โดยวางกับดักแบบถ้วยสีเหลือง (Yellow Pan Trap) โดยวางกับดักทั้งฤดูที่มีการปลูกข้าวและไม่มีการปลูกข้าว ทั้งนี้ในนอกฤดูจะทำการเก็บตัวอย่างจากพื้นที่ใกล้เคียงแปลงปลูก เพื่อศึกษาถึงพืชอาศัยใกล้เคียงของแมลงศัตรูข้าว (alternative hosts) ของแตนเบียนไข วางกับดักผ้ามุ้ง (Malaise Trap) จำนวน 3 จุดในแต่ละพื้นที่ที่ปลูกข้าวโดยไม่ใช้สารเคมีควบคุมศัตรูพืชดังต่อไปนี้

- แปลงปลูกข้าวอินทรีย์ สวนเฉลิมพระเกียรติ กรมวิชาการเกษตร
- แปลงปลูกข้าวเพื่อพยากรณ์การระบาดของ ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท กรมการข้าว
- แปลงปลูกข้าวอินทรีย์ ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี กรมการข้าว

#### การบันทึกข้อมูล

หลังจากเก็บตัวอย่างทำการบันทึกข้อมูลรายละเอียดแต่ละตัวอย่างที่เก็บตาม ISPM No.6 (FAO, 2006b) ได้แก่ แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ พืชอาศัย วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ชื่อผู้เก็บตัวอย่าง เป็นต้น การลงทะเบียนและระบบฐานข้อมูลแตนเบียนไขในประเทศไทย หากมีการค้นพบชื่อวิทยาศาสตร์ชนิดใหม่ ดำเนินการตีพิมพ์และขึ้นทะเบียนกับ IZCN-Zoobank (Polaszek *et al.* 2005) รวมถึงสถานที่ ที่ค้นพบ รูปแบบการ

เขียนตีพิมพ์ผลงานวิจัย (taxonomic description) ดำเนินการตามแบบมาตรฐานของ Pyle *et al.* (2008) และ Johnson *et al.* (2008) เก็บรักษาตัวอย่างแมลงทั้งตัวอย่างสดและตัวอย่างแห้ง ณ พิพิธภัณฑ์แมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

การบันทึกข้อมูลในระบบ BOLD (Barcode of Life Data System) ดำเนินการส่งข้อมูล (upload) ในฐานข้อมูล BOLDsystem ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)) โดยตัวอย่างแต่ละชนิดมีรายละเอียดประกอบด้วย ภาพถ่ายตัวอย่าง ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ แหล่งที่เก็บตัวอย่าง ผู้เก็บตัวอย่าง พิกัดภูมิศาสตร์ เทคนิคการเก็บตัวอย่าง ไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น เอ เป็นต้น

## 8. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### วงศ์ย่อย Telenominae Thomson, 1860

Telenomini Thomson, 1860: 169. *Original description*, key to genera of Sweden.

**Synonyms:** Telenomeinae, Telenomides Thomson, Telenomini Thomson, Telenominiens Thomson

**การวินิจฉัยทางสัณฐานวิทยา (Diagnosis)** แตกเป็นไขวงศ์ย่อย Telenominae มีความแตกต่างจากวงศ์ย่อยอื่นในวงศ์ Platygastriidae จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญซึ่งใช้สำหรับการตรวจวินิจฉัย คือ ปล้องท้องด้านข้าง (laterotergites) ติดกับปล้องท้องด้านบนแบบหลวมๆ ไม่แน่น บางครั้งสามารถเห็นแผ่นใสของปล้องท้องด้านข้างได้ชัดเจน ไม่มีแกนแข็งด้านข้าง (submarginal ridge) เหมือนกับวงศ์ย่อยอื่นๆ ปล้องท้องปล้องที่ 2 มีขนาดใหญ่ที่สุด เพศเมียมีปล้องหนวดทั้งหมด 11 ปล้อง บางครั้งอาจพบ 10 ปล้องแต่มีโอกาสน้อยมาก ส่วนเพศผู้มีปล้องหนวด 12 ปล้อง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่วงศ์ย่อยนี้มีส่วนร่วมกันได้แก่ ส่วนหัวมีขนาดเล็กกว่าส่วนอก รูปร่างของส่วนหัวเมื่อมองจากด้านบน (dorsal view) มีลักษณะแคบตามแนวขวาง (transverse) มีร่องลึกบนโหนกแก้ม (malar sulcus) เริ่มจากบริเวณด้านหลังของตารวมยกเว้นสกุล *Phanuromyia* ซึ่งร่องลึกนี้เริ่มจากบริเวณใต้ตารวม ในบางสกุลเช่น *Psix* และ *Paratelenomus* มีเส้นนูนพาดผ่านกลางใบหน้า (central keel) ลักษณะผนังลำตัวส่วนหน้าบริเวณใต้ตาเหนือส่วนปาก (frontal sculpture) มีลักษณะเรียบและบางครั้งสะท้อนแสง (smooth throughout) ไม่มีเส้นนูนพาดตามขวาง (frontal transverse carinae) สกulptส่วนใหญ่มีขนในตารวม ส่วนปลายของกราม (mandibles) มี 2 แฉก (bidentate) ผนังลำตัวบริเวณพื้นที่ด้านหลังของหัวกะโหลก (occiput) มีลักษณะเป็นหลุมเล็กๆ (punctate) กระจายตัวสม่ำเสมอ มีเส้นนูนแข็งด้านหลังของหัวกะโหลก (hyperoccipital carina) หัวกะโหลกมีลักษณะโค้งมนเว้าตามแนว mesosoma ตาเดี่ยวด้านข้างทั้ง 2 ข้าง (lateral ocelli) ตั้งอยู่ใกล้หรือเกือบติดกับขอบด้านในของตารวม เพศเมียมีหนวดจำนวน 3 และ 4 ปล้องที่รวมตัวกันแน่นมีรูปร่างเป็นกระบอง (clavomere) การจัดเรียงของต่อมรับรู้กลิ่นหรือฮอโมนที่พืชปลดปล่อยในเพศเมีย (claval formula) ได้แก่ A11-A8/1-2-2-2; A11-A9/1-2-2 เพศผู้มีปล้องหนวด



12 ปล้อง รูปร่างโดยทั่วไปของส่วนอกมีลักษณะนูนทั้งด้านบนและด้านข้าง ขอบด้านหลังของอกปล้องที่ 3 มีลักษณะโค้งมน ไม่มีเส้นขอบด้านข้าง (parapsidal line) บริเวณอกปล้องที่สองด้านบน (dorsal mesoscutum) มีพื้นที่บนส่วนผนังลำตัวรูปร่างคล้ายกระสวยทอผ้า (netrion) บริเวณด้านข้างของอก (lateral mesosoma) บนปีกคู่หน้าไม่มีเส้นปีก basal vein (Rs+M) เส้นปีก M เส้นปีก Rs พบเส้นปีก marginal vein (R) บนปีกคู่หน้าค่อนข้างสั้นเกือบเท่ากับเส้นปีก stigmatalis (r-rs) หรือในบางสกุลสั้นกว่า มีเส้นปีก postmarginal vein (R1) ส่วนบนปีกคู่หลังมีเส้นปีก submarginal vein (R) ท้องมีรูปร่างเรียวยาว ไม่มีลักษณะนูนโหนกคล้ายเขา (horn) บริเวณฐานของท้องปล้องที่ 1 ท้องปล้องที่ 2 ยาวกว่าท้องปล้องที่ 3 อย่างชัดเจน ไม่มีหลุมบริเวณด้านข้างของท้องปล้องที่ 1 ไม่มีแนวร่องลึก (antecostal sulcus) อยู่ด้านบนของท้องปล้องที่ 2 และ 3 ระบบอวัยวะวางไข่ในเพศเมียเป็นแบบ Ceratobaes-type (Austin & Field 1997)

แตนเบียนในวงศ์ย่อย Telenominae มีเขตการแพร่กระจายครอบคลุมทั่วโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งพบความหลากหลายชนิดสูงในเขตร้อนชื้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งทวีปแอฟริกาและภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แแตนเบียนในวงศ์ย่อยนี้จัดเป็นกลุ่มที่มีศักยภาพสูงในการเบียนและสามารถนำมาใช้ในการควบคุมศัตรูพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ แแตนเบียนในหลายชนิดในวงศ์ย่อยนี้มีความสัมพันธ์ในแง่การเข้าทำลายเหยื่อ พบว่าสามารถเบียนไข่ของแมลงได้หลายกลุ่ม ประกอบด้วยอันดับ Lepidoptera, Diptera, Neuroptera และอันดับย่อย Heteroptera และ Auchenorrhyncha ซึ่งอยู่ในอันดับ Hemiptera (Bin & Johnson, 1982; Johnson, 1984) แแตนเบียนไข่ส่วนใหญ่ในวงศ์ย่อย Telenominae มีความสามารถในการตามหาไข่ของแมลงศัตรูจากสารเคมีที่ผลิตจากตัวเต็มวัยของแมลงอาศัยหรือในบางกรณีเป็นสารเคมีที่ผลิตจากพืชที่ตัวเต็มวัยของแมลงอาศัยเข้าทำลายหรือวางไข่บนพืชอาหารนั้นๆ (Colazza *et al.*, 2009; Moraes *et al.*, 2009; Conti *et al.*, 2010; Arakaki *et al.*, 2011; Peñaflores *et al.*, 2011) ทั้งนี้ยังไม่มีรายงานว่า แแตนเบียนชนิดเดียวกันมีความสามารถเข้าทำลายเหยื่อได้ในหลายอันดับ พบแตนเบียนในวงศ์ย่อยนี้ในแปลงปลูกข้าวอินทรีย์ เป็นจำนวนมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งในระยะข้าวแตกกอ ผลการทดลองดังกล่าวบ่งชี้ถึงปริมาณศัตรูข้าวในขณะนั้นว่ามีอยู่หลายชนิด ซึ่งมีแนวโน้มในการใช้แตนเบียนในวงศ์ย่อยนี้ วิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าวโดยชีววิธีต่อไป

การวิจัยชนิดจากแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ดำเนินการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ จากแนวทางการสร้างแผนภูมิสามรูปแบบหลัก ได้แก่ 1) การวัดระยะระหว่างลำดับเบสหรือ distance method ใช้โปรแกรม neighbor joining 2) การหาแผนภูมิที่เหมาะสมจาก แนวทางการสรุปค่าที่น่าเชื่อถือที่สุด (optimal criteria) หรือ parsimony ใช้โปรแกรม MEGA และ 3) การหาค่าความสัมพันธ์แผนภูมิจากอัตราการเปลี่ยนแปลงทางวิวัฒนาการโดยมี (rate of evolution) ของแต่ละลำดับเบสหรือ statistical analysis จากการศึกษาใช้วิธี Maximum likelihood โดยดำเนินการวิเคราะห์จากโปรแกรม MEGA โดยดำเนินการสุ่มจำนวน 1000 ครั้งใช้ค่า Bootstrap เป็นค่าสำหรับวัดค่าความน่าเชื่อถือในแต่ละแขนงของแผนภูมิ ได้แผนภูมิสรุป (consensus trees) ของแต่ละรูปแบบ พบว่ารูปแบบที่ให้ค่าเหมาะสมหลังจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชนิดจากลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ บน GenBank โดยวิธี Standard Nucleotide BLAST ซึ่ง

ได้ผลการทดลองตาม ตารางที่ 1 พบชนิดที่สามารถวิเคราะห์ได้ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและ แผนภูมิทางวิวัฒนาการจำนวนทั้งสิ้น 16 ชนิดได้แก่ *Gryon largi*, *Gryon saxatilis*, *Psix tunetanus*, *Psix watshami*, *Telenomus busseolae*, *Telenomus californicus*, *Telenomus crassiclava*, *Telenomus dignus*, *Telenomus floridanus*, *Telenomus grenadensis*, *Telenomus nysivorus*, *Telenomus podisi*, *Telenomus tabanivorus*, *Trissolcus basalis*, *Trissolcus ogyges* และ *Trissolcus thyantae* (Table 1) จากแผนภูมิรูปภาพความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการพบว่า แตนเบียนไข่สกุล *Gryon* และ *Psix* แยกออกมาจากแตนเบียนไข่ *Telenomus* spp. และ *Trissolcus* spp. อย่างชัดเจนซึ่งมีค่า Bootstrap support สนับสนุนถึง 100 ถึงแม่แตนเบียนกลุ่ม *Psix* อยู่ในวงศ์ย่อย Telenominae แต่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างจากวงศ์ย่อยนี้อย่างชัดเจนคือ ลักษณะของเส้นนูนตรงกลางในหน้า ริมฝีปากบนและแผ่นแข็งด้านบน (clypeus) เชื่อมติดกันเป็นเนื้อเดียว รวมถึงมีแถบลายเส้นด้านข้างแฉกรูปใบพัด (fan-like striae) ติดกับส่วนฐานของกราม ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญที่แยกสกุลนี้ออกจากสกุลอื่นในวงศ์ย่อย Telenominae แตนเบียนไข่สกุล *Psix* มีลักษณะโครงสร้างภายนอกคล้ายคลึงกับแตนเบียนไข่ในสกุล *Paratelenomus* แต่สามารถวินิจฉัยแยกออกมาจากสกุลดังกล่าวโดยลักษณะของ เส้นนูน (central keel) 2 เส้น ล้อมรอบฐานหนวด (antennal insertion) มาบรรจบกันและพาดผ่านกลางใบหน้า และหยุดด้านหน้าตาเดี่ยวที่อยู่ตรงกลาง (medial ocellus) ไม่สร้างเป็นรูปตัว Y เหมือนในสกุล *Paratelenomus* ฐานของขาปล้องที่ 1 และปล้องที่ 2 อยู่ชิดติดกัน มีลวดลายของหลุม (mesosoma sulcus) หนาแน่นบริเวณด้านข้างของผนังลำตัวส่วนนอกปล้องกลาง ส่วนแตนเบียนไข่สกุล *Gryon* แยกออกมาจากกลุ่มต่างๆ ได้จากปล้องท้องด้านข้าง (laterotergites) ติดกับปล้องท้องด้านบนแบบแน่น สามารถเห็นแกนแข็งด้านข้างอย่างชัดเจน (submarginal ridge) ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังกล่าวสอดคล้องกันกับแผนภูมิรูปภาพทางวิวัฒนาการ (Figure 1)

จากผลการทดลองแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของแตนเบียนไข่สกุล *Telenomus* และสกุล *Trissolcus* (in group) แยกตัวออกมาอย่างชัดเจนจาก outgroup ยกเว้นแตนเบียน ไข่สกุล *Psix* ซึ่งมีลักษณะพิเศษพิเศษเฉพาะกลุ่มอยู่แล้ว การแยกตัวออกมาเกิดเป็นกลุ่มที่มีวิวัฒนาการร่วมกัน (monophyletic) ของแตนเบียนไข่ 2 สกุลนี้สอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ปล้องท้องด้านข้าง (laterotergites) ติดกับปล้องท้องด้านบนแบบหลวมๆ ไม่แน่น บางครั้งสามารถเห็นแผ่นใสของปล้องท้องด้านข้างได้ชัดเจน ไม่มีแกนแข็งด้านข้าง (submarginal ridge) นอกจากนี้แล้วแตนเบียนไข่ในสกุล *Telenomus* ยังมีการจัดกลุ่มกันเป็นแบบ monophyletic ถึง 2 กลุ่มใหญ่ โดยมีค่าสนับสนุน (Bootstrap support) ที่ค่อนข้างสูงซึ่งสนับสนุนโดยหลักฐานทางสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะผนังลำตัวส่วนหน้าบริเวณใต้ตาเหนือส่วนปาก (frontal sculpture) มีลักษณะเรียบและบางครั้งสะท้อนแสง (smooth throughout) มีขนในตาารวมส่วนใหญ่อยู่อย่างหนาแน่น เพศเมียมีหนวดจำนวน 3 และ 4 ปล้องที่รวมตัวกันแน่นมีรูปร่างเป็นกระบอง (clavomere)

แตนเบียนไข่สกุล *Telenomus* เป็นกลุ่มที่มีความสำคัญทางการเกษตร และมีแนวโน้มในการนำมาวิจัยพัฒนาเพื่อการควบคุมแมลงศัตรูข้าวโดยชีววิธี แตนเบียนไข่สกุลนี้มีความหลากหลายชนิดสูง จากรายงานในปัจจุบันมี 625 ชนิด (Johnson, 2019) มีเขตการแพร่กระจายทั่วโลกโดยเฉพาะเขตร้อนชื้น *Telenomus* สามารถเบียนไข่ของแมลงศัตรู

ข้าวได้หลายอันดับ ได้แก่ แมลงกลุ่มเพี้ยจักจั่นในอันดับ Hemiptera แมลงในกลุ่มมวนในหลายวงศ์เช่น Pentatomidae, Miridae, Scutelleridae, Reduviidae และแมลงที่อาศัยอยู่ในน้ำทั้งกลุ่มมวนและกลุ่มด้วง สามารถเข้าทำลายไข่ของแมลงในกลุ่มผีเสื้ออันดับ Lepidoptera มีการพบเข้าทำลายไข่ของหนอนกอข้าว อย่างไรก็ตาม มีการจัดแบ่งชนิดของแตนเบียนไข่ในสกุล *Telenomus* ออกเป็นกลุ่มชนิด (species group) คือในแต่ละกลุ่มประกอบด้วยหลายชนิด ทั้งนี้เนื่องจากจำนวนชนิดที่สูง แมลงมีขนาดเล็กยากต่อการวินิจฉัย และลักษณะทางสัณฐานวิทยาส่วนใหญ่แสดงออกไม่ชัดเจน (apomorphic character) จากการทดลองพบแตนเบียนไข่สกุล *Telenomus* จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ *Telenomus busseolae*, *Telenomus californicus*, *Telenomus crassiclava*, *Telenomus dignus*, *Telenomus floridanus*, *Telenomus grenadensis*, *Telenomus nysivorus*, *Telenomus podisi* และ *Telenomus tabanivorus* ซึ่งแตนเบียนเหล่านี้เข้าทำลายไข่ของแมลงศัตรูพืชในกลุ่มผีเสื้อโดยเฉพาะผีเสื้อหนอนกอข้าว ซึ่งกลุ่มแตนเบียนเหล่านี้ควรนำศึกษาถึงความหนาแน่นของประชากรในแต่ละแหล่งปลูกข้าว ประสิทธิภาพและศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช เพื่อการนำมาใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว หรือหาแนวทางการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวต่อไป

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการเก็บแตนเบียนไข่จากแปลงปลูกข้าวที่สำคัญทางเศรษฐกิจ สกัดและเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น เอ วิเคราะห์ลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ โดยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการและนำมาร่วมวิเคราะห์ชนิดของแตนเบียนไข่ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลจากการเทียบลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ บน GenBank (standard nucleotide BLAST) ผลการทดลองพบว่าได้แตนเบียนไข่วงศ์ย่อย Telenominae ทั้งสิ้น 16 ชนิด ได้แก่ *Gryon largi*, *Gryon saxatilis*, *Psix tunetanus*, *Psix watshami*, *Telenomus busseolae*, *Telenomus californicus*, *Telenomus crassiclava*, *Telenomus dignus*, *Telenomus floridanus*, *Telenomus grenadensis*, *Telenomus nysivorus*, *Telenomus podisi*, *Telenomus tabanivorus*, *Trissolcus basalis*, *Trissolcus ogyges* และ *Trissolcus thyantae* ได้เสนอแนะให้ใช้แตนเบียนไข่ *Telenomus* spp. ซึ่งเป็นกลุ่มชนิดที่มีความสำคัญที่สุด ควรนำมาศึกษาพัฒนาเพื่อใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูข้าว หรือหาแนวทางการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวต่อไป

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำเทคนิคและสภาพที่เหมาะสมในการสกัดและเพิ่มปริมาณ ดี เอ็น เอ ของแตนเบียนในวงศ์ย่อย Telenominae รวมถึงเทคนิคในการสกัด ดี เอ็น เอ โดยสามารถเก็บรักษาตัวอย่าง (non-destructive DNA extraction protocol) ไปพัฒนาใช้ร่วมกับแมลงชนิดอื่น สามารถศึกษาเปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาและลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ในแตนเบียนในวงศ์ย่อยเดียวกัน รวมถึงสามารถศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างแตนเบียนวงศ์ย่อย Telenominae กับแมลงชนิดอื่น (phylogenetic study) นอกจากนี้สามารถช่วยแก้ปัญหา

ความเหมือนและความต่างของลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ในแตนเบียนชนิดเดียวกันหรือชนิดที่ใกล้เคียงกัน กรณีการเกิด cryptic species นักวิชาการ เกษตรกร หรือนักวิจัยที่เกี่ยวข้อง สามารถตรวจวินิจฉัยชนิดของแตนเบียนไข่งค์ย่อย Telenominae ได้โดยตรงจากฐานข้อมูลระบบออนไลน์ GenBank หรือ BOLD (Barcode of Life Data Systems) โดยศึกษาเปรียบเทียบตัวอย่างที่ได้ กับภาพโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาและลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ที่สกัดได้ เกิดความสะดวกรวดเร็วทั้งในการประยุกต์พัฒนางานวิจัย เพื่อควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธีหรือการอนุรักษ์ศัตรูธรรมชาติของแมลงศัตรูข้าวในอนาคต

## 11. คำขอบคุณ -

## 12. เอกสารอ้างอิง

- Arakaki, N., H. Yamazawa and S. Wakamura. 2011. The egg parasitoid *Telenomus euproctidis* (Hymenoptera: Scelionidae) uses sex pheromone released by immobile female tussock moth *Orygia postica* (Lepidoptera: Lymantriidae) as kairomone. *Applied Entomology and Zoology*. 46: 195–200.
- Austin, A. D. and S. A. Field. 1997. The ovipositor system of scelionid and platygastriid wasps (Hymenoptera: Platygastroidea): comparative morphology and phylogenetic implications. *Invertebrate Taxonomy*. 11: 1-87.
- Austin, A. D., N. F. Johnson, and M. Dowton. 2005. Systematics, evolution, and biology of scelionid and platygastriid wasp (Hymenoptera). *Annual Review of Entomology*. 50: 553–582.
- Bin, F. and N.F. Johnson. 1982. Potential of Telenominae in biocontrol with egg parasitoids (Hym., Scelionidae). *Les Colloques de l'INRA*. 9: 275–287.
- Colazza, S., M. L. Bue, D. L. Giudice and E. Peri 2009. The response of *Trissolcus basalis* to footprint contact kairomones from *Nezara viridula* females is mediated by leaf epicuticular waxes. *Naturwissenschaften*. 96: 975–981.
- Conti, E., G. Salerno, B. Leombruni, F. Frati and F. Bin 2010. Short- range allelochemicals from a plant-herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid. *Journal of Experimental Biology*. 213: 3911–3919.

- Conti, E., G. Salerno, B. Leombruni, F. Frati and F. Bin 2010. Short- range allelochemicals from a plant-herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid. *Journal of Experimental Biology*. 213: 3911–3919.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*. 3(5): 294 –9.
- Goulet, H. and J.T. Huber. 1993. *Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families*. Ottawa, Agric. Canada. 667 pp.
- Greathead, D.J. 1986. Parasitoids in classical biological control. pp. 289–318. In: Waage, J. and Greathead, D.J., eds. *Insect Parasitoids*. Academic Press, London.
- Haliday. 1833. An essay on the classification of the parasitic Hymenoptera of Britain, which correspond with the Ichneumonones minuti of Linnaeus. *Entomological Magazine*, 1:259-276.
- Hepert, P.D.N. and T.R. Gregory. 2005. The promise of DNA Barcoding for taxonomy. *Systematic Biology*. 54(5):852–859
- Johnson N.F. 2011. A collaborative, integrated and electronic future for taxonomy. *Invertebrate Systematics*, 25:471–475
- Johnson, N. F. 2019. *Hymenoptera* (Online). Available. <http://hol.osu.edu/> (20 Jan. 2019).
- Johnson, N.F. 1984. Systematics of Nearctic Telenomus: classification and revisions of the podisi and phymatae species groups (Hymenoptera: Scelionidae). *Bulletin of the Ohio Biological Survey*. 6: 1–113.
- Johnson, N.F., L. Masner, L. Musetti, L., S. Van Noort, K. Rajmohana, D.C. Darling, A.E. Guidotti and A. Polaszek. 2008. Revision of world species of the genus *Heptascelio* Kieffer (Hymenoptera: Platygastroidea, Platygastriidae). *Zootaxa*. 1776: 1–51.
- LaSalle, J. and I.D. Gauld 1993. Hymenoptera: their diversity, and their impact on the diversity of other organisms. pp. 1–26. In: LaSalle J., Gauld I.D., eds. *Hymenoptera and Biodiversity*. CAB International, Wallingford, UK.
- Masner, L. 1976. Revisionary notes and keys to world genera of Scelionidae (Hymenoptera: Proctotrupeoidea). *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 97: 1–87.
- Masner, L. 1980. Key to genera of Scelionidae of the Holarctic region, with descriptions of new genera and species (Hymenoptera: Proctotrupeoidea). *Memoirs of the Entomological Society of Canada*. 1(13): 1–54.

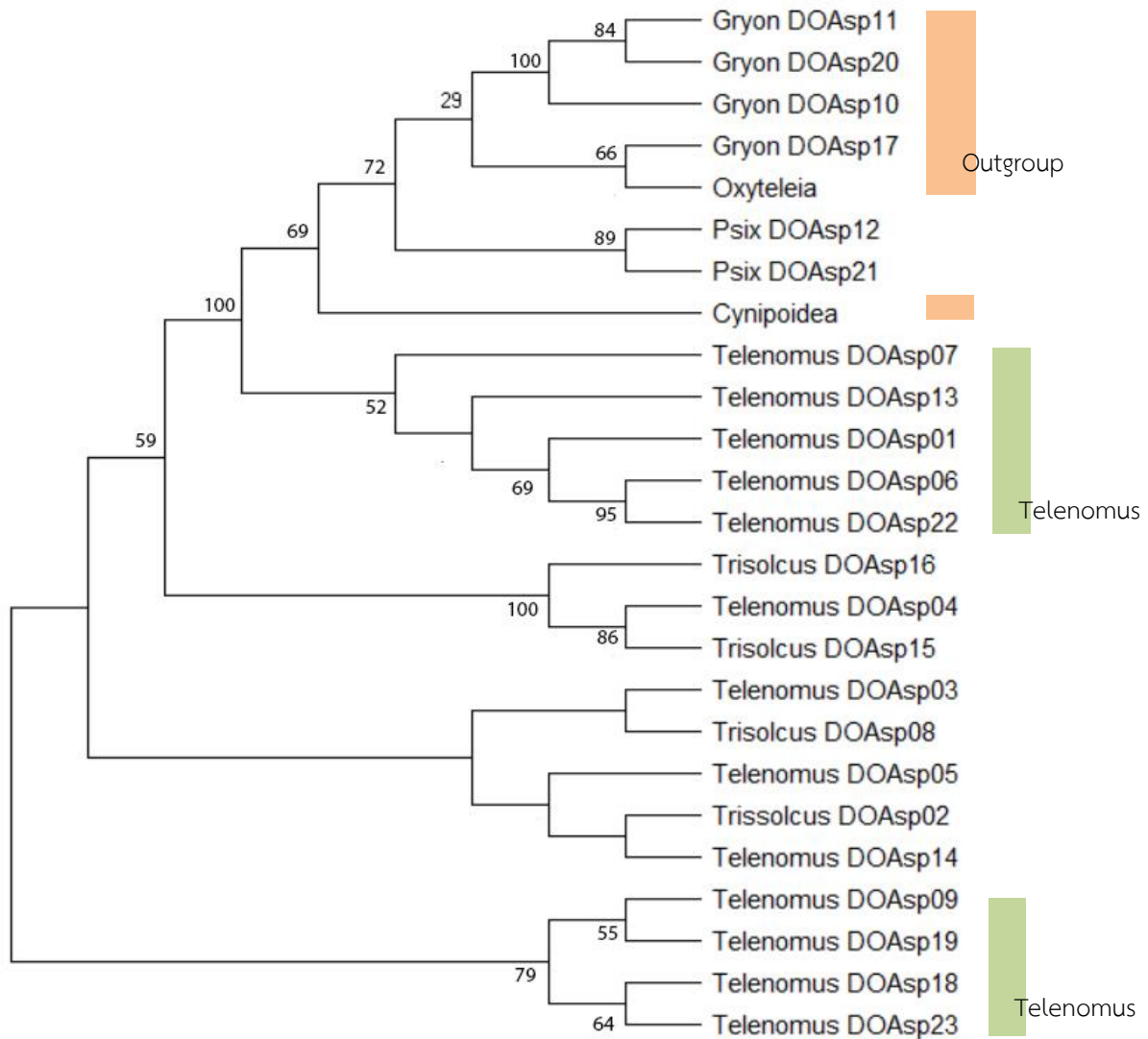
- Mikó, I., L. Vilhelmsen, N.F. Johnson, L. Masner and Z. Péntzes 2007. Skeletomusculature of Scelionidae (Hymenoptera: Platygastroidea): head and mesosoma. *Zootaxa*. 1571: 1–78.
- Mills, N. 2010. Egg parasitoids in biological control and integrated pest management. pp. 389–409. In: Consoli, F.L. et al., eds. *Egg parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*. Springer Science & Business Media B.V. US.
- Orr, D. B. 1988. Scelionid wasps as biological control agents: a review. *The Florida Entomologist*. 71(4): 506-528.
- Peñaflor, M. F. G. V., M. Erb, L. A. Miranda, A. G. Werneburg and J. M. S. Bento 2011. Herbivore-induced plant volatiles can serve as host location cues for a generalist and a specialist egg parasitoid. *Journal of Chemical Ecology*. 37: 1304–1313.
- Polaszek, A.D., D. Agosti, M. Alonso-Zarazaga, G. Beccaloni, P.P. BjØrn, et al. 2005. A universal register for animal names. *Nature*. 437: 477
- Pyle, R.L., J.L. Earle and B.D. Greene. 2008. Five new species of the damselfish genus *Chromis* (Perciform es: Labroidei: Pomacentridae) from deep coral reefs in the tropical western Pacific. *Zootaxa*. 1671: 3–31.
- Savard, J., T. Diethard, S. Richards, G.M. Weinstock, R.A. Gibbs, J.H. Werren, H. Tettelin and M.J. Lercher. 2006. Phylogenetic analysis reveals bees and wasps (Hymenoptera) at the base of the radiation of holometabolous insects. *Genome Research*. 16:1334–1338.
- Sharkey, M.J. 2007. Phylogeny and classification of Hymenoptera. *Zootaxa*. 1668: 521–548.
- Simon, C., F. Frati, A. Beckenbach, B. Crespi, H. Liu and P. Flook. 1994. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*. 87: 651–701.
- Taekul, C., A. A. Valerio, A. D. Austin, H. Klompen and N.F. Johnson. 2013. Molecular phylogeny of telenomine egg parasitoids (Hymenoptera: Platygastriidae s.l.: Telenominae): evolution of host shifts and implications for classification. *Systematic Entomology*. DOI: 10.1111/syen.12032

**Table 1.** List of taxa in relation to reference codes, collected localities, species identifications executed via standard nucleotide BLAST and phylogenetic analysis

Ref. code	Collected locality	Lists of taxa from NCBI (% identities)	Lists of taxa via phylogenetic analysis and morphological study
Telenomus_DOAsp01	14°10'47.13"N 100°17'30.71"E Phra Nakhon Si Ayutthaya	<i>Telenomus crassiclava</i> 100 %	<i>Telenomus crassiclava</i>
Trissolcus_DOAsp02	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Trissolcus ogyges</i> 90%	<i>Trissolcus ogyges</i>
Telenomus_DOAsp03	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Telenomus podisi</i> 87%	<i>Telenomus podisi</i>
Telenomus_DOAsp04	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Telenomus nysivorus</i> 86%	<i>Telenomus nysivorus</i>
Telenomus_DOAsp05	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Telenomus podisi</i> 90%	<i>Telenomus podisi</i>
Telenomus_DOAsp06	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Telenomus</i> sp. 100%	<b><i>Telenomus floridanus</i></b>
Telenomus_DOAsp07	14°10'47.13"N 100°17'30.71"E Phra Nakhon Si Ayutthaya	<i>Telenomus</i> sp. 91%	<b><i>Telenomus floridanus</i></b>
Trissolcus_DOAsp08	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Trissolcus thyantae</i> 100%	<i>Trissolcus thyantae</i>
Telenomus_DOAsp09	13°51'13.80"N100°34'28. 20"E Bangkok	<i>Telenomus busseolae</i> 90%	<i>Telenomus busseolae</i>
Gryon_DOAsp10	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Gryon largi</i> 90%	<i>Gryon largi</i>
Gryon_DOAsp11	13°51'13.80"N100°34'28. 20"E Bangkok	<i>Gryon largi</i> 86%	<b><i>Gryon largi</i></b>
Psix_DOAsp12	13°51'13.80"N100°34'28. 20"E Bangkok	<i>Psix tunetanus</i> 100%	<i>Psix tunetanus</i>
Telenomus_DOAsp13	13°59'43.10"N101°13'18. 3" E Prachin Buri	<i>Telenomus</i> sp. 100%	<b><i>Telenomus crassiclava</i></b>
Telenomus_DOAsp14	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Telenomus grenadensis</i> 99%	<i>Telenomus grenadensis</i>
Trisolcus_DOAsp15	15°11'46.19"N100°08'10. 20''E Chainat	<i>Trissolcus basalis</i> 85%	<b><i>Trissolcus basalis s</i></b>

Trisolcus_DOAsp16	13°59'43.10"N101°13'18. 3" E Prachin Buri	<i>Trisolcus</i> sp. 100%	<i>Trisolcus basalis</i>
Gryon_DOAsp17	14°10'47.13"N 100°17'30.71"E Phra Nakhon Si Ayutthaya	<i>Gryon saxatilis</i> . 85%	<i>Gryon saxatilis</i> .
Telenomus_DOAsp18	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Telenomus dignus</i> 91%	<i>Telenomus dignus</i>
Telenomus_DOAsp19	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Telenomus</i> 100%	<i>Telenomus californicus</i>
Gryon_DOAsp20	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Gryon</i> sp 100%	<i>Gryon largi</i>
Psix_DOAsp21	15°11'46.19"N100°08'10. 20'E Chainat	<i>Psix watshami</i> 87%	<i>Psix watshami</i>
Telenomus_DOAsp22	13°51'13.80"N100°34'28. 20"E Bangkok	<i>Telenomus</i> sp 100%	<i>Telenomus floridanus</i>
Telenomus_DOAsp23	15°11'46.19"N100°08'10. 20'E Chainat	<i>Telenomus</i> sp 89%	<i>Telenomus tabanivorus</i>
Cynipoidea sp. (out group)	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Cynipoidea</i> sp. 100%	<i>Cynipoidea</i> sp.
Oxyteleia sp. (out group)	13°59'43.10"N101°13'18. 3"E Prachin Buri.	<i>Oxyteleia</i> sp. 100%	<i>Cynipoidea</i> sp.





0.2

**Figure 1** Relationships of the selected taxa of the subfamily Telenominae derived from Maximum likelihood analysis of partial cytochrome oxidase subunit 1 (CO1) gene (~ 600 bp), executed on MEGA (1000 standard bootstrap replicates) with Jukes-Cantor model, uniform rates using all codon positions. Bootstrap values above 50% indicated on branches.

### 13. ภาคผนวก

Telenomus\_DOAsp01; *Telenomus crassiclava*

ATAGCCTTTCCACGATTAAATAATATAAGATTTTGGCTTTTAAATCCCTTCAATTATATTACTTTTATATAGAAACATTTTTGGCATAGGAACAGGAACAGG  
ATGAACAATTTATCCTCCCCTTTTCATCTCAAATAAACCCATCTATTGATCTAACAAATTTTTCTTTACACGTAGCAGGAATTCATCAATTTAAGATCAAT  
TAATTTTATTTGTACAATAATTAATATAAGAACATCTATTAATTACTGAACTTTATTTTCATGATCAGTATTTATTACTACCATTCTCCTTTTATTATCCCT  
TCCTGTATTAGCAGGAGGAATTAATAATTTATCAGATCGAAATATAAATACATCATTTTTTAAACCCATCAGGAGGAGGAGATCCTGTCTTTTACCAAC  
ATTTATTTTGATTTTTTGGACATCCAGAAGTTTATATTCTTATTCTTCTGATTTCGGACTAATTTCCCATATAATTTGTTTAGAAAGAGGGAAAAAGAA  
ACATTTGGAGTATTAGGAATAATTTATGCAATAATATCAATTGGATTTTTAGGATTTAT

Trissolcus\_DOAsp02; *Trissolcus ogyges*

ATGGCATTTCACGATTAAATAATATAAGATTTTGAATTATAATCCCGCATTCTTTTTATAATTATAAGAAACATTGTTGGACAAGGATCAGGAACTGG  
ATGAACACTTTTATCCAACACTTTCTACCCAATTAATCCTTCAGTTGATTATACAATTTTCTCTTTACATATTGCTGGGGTATCATCAATTTAAGATCAAT  
TAACTTTTTATGTACAATTTTTATTCTAAGAACTACCCATAAAAAATGAACACTATTTACATGAGCAATTTAATTACAACAGTTTTATTATTATC  
CTTACCAGTTTTAGCAGGAGCTATTACTATAGTTTTTTCAGATCGAAACTTAAATACATCATTTTTTGACCCAGCAGGAGGAGGGATCCAATTTTATATC  
AACATTTATTCTGATTTTTTGGACATCCAGAAGTATATTTTTAATTATTCCAGGATTTGGAATAATTTCTCACATAATTTGTTTAGAAAGAGGGAAAAAG  
GAAACATTTGGAACACTTGAATAATCTATGCTATAATTTCAATTGGATTTTTAGGATTTAT

Telenomus\_DOAsp03 *Telenomus podisi* 87%

ATAGCTTTCCCTCGGCTAAATAATATAAGATTTCTGATTACTAATCCCATCTTTAACATTACTGATTTACAGAAATGTATTTGGATCTGGAACCTGGAACAGG  
ATGAACAGTTTACCCACCACTATCAACTCAATTAACCCATCAATTGATTTAACAAATTTTCTCTTTCATATTGCCGGAATTTCTTCAATTTAAGATCAAT  
TAATTTCTTATGTACAATTATTAACATAAGAAATCTTCAATTAACAACCTGAACTTTATTACTTGATCTGTTTTAATTACTACAGTTCTCTTTTATTATC  
TCTACCCGATTAGCAGGTGCAATTACAATAATTTTATCTGACCGAAATTTAAACACATCTTTCTCAACCCAGCGGGTGGGGGAGATCCAGTTCTTTACC  
AACATTTATTTGATTTCTTTGGACACCCAGAAGTTTATATTCTAATTTCTCCAGGCTTTGGATTAATTTCTCATATAATTTGTTTAGAAAGAGGGAAAAAG  
GAAACATTTGGTATACTAGGAATAGTATATGCAATAGTCTCAATTGGATTTCTTGGATTCAT

Telenomus\_DOAsp04 *Telenomus nysivorus* 86%

AGGATTTGGAAATTTGGTTTGTCCACTTATACTTAATGCTCCTGATATAGCCTTTCCCGCTAAATAATATAAGATTTTGATTACTAATCCCTTCCTTAA  
TTCTATTAATCTATAGAAATGATTTGGATCAGGAACAGGAACAGGATGAACAGTGATCCCCCTTTCAACTCAACTCAATCCTTCAATTGATTTAACA  
ATTTTTCCCTTCATATTGCAGGATTTCTTCAATTTCTAGATCAATTAATTTCTCTGCACTATTATTAACATAAAAAATCATTCTATAAATAATTGAACA  
TTATTTACATGATCAATCCTAATTACAACAATTTTACTACTTCTTTCCCTTCCAGTTCTAGCAGGAGCTATTACCATAATTTTATCAGATCGAAATCTAAAT  
ACCTCATTTTTTAACTCTGCTGGAGGGGGGATCCTGTCTTTACCAACATTTATTCTGATTTTTTGGACATCCTGAAGTTTATTTTTAATTCTCCCTGG  
GTTTGGTTAATCTCACATATGATTTGTTTAGAAAGTGGGAAAAAGAAACATTTGGAATATTAGGAATAATTTATGCCATAGTTTCAATTGGATTCCTAG  
GATTTATTGTTTGGACACATCACATATTTTACAGTA

Telenomus\_DOAsp05; *Telenomus podisi* 90%

AAATTGGTTAGTTCCATTAATACTTAATGCCCCAGATATAGCTTTTCCACGATTAATAATATAAGATTTTGAATTATAATTCATCAATTACTATTAAT  
TTACAGAAATATTTTTGGATCAGGAACAGGAACAGGATGAACTGTTTATCCACCATTATCAACACAATAAACCCATCTATTGACTTAACAATTTTCTCTT  
TACATATTGCAGGAATTTCTTCTATTCTCAGATCTATTAACCTTTATATGTACAATTATTAATAAAAAATAATTCAATAAATAACTGATCTTTATTACAT  
GATCAGTATTAATTACAACAATTTTATTATTACTATCATTACCCGATTAGCAGGAGCAATTACAATAATTTTATCAGACCGAAATTTAAATACTACTTTTT

TTAACCTGCAGGAGGAGATCCAATTTTATACCAACATTTATTCTGATTTTTGGACATCCAGAAGTTTATATTCTAATTCCTCCAGGATTTGGATTA  
ATTTACATATAATTTGTTTAGAGAGAGGGAAAAAGAACTTTTGAATATTAGGAATAATTTATGCAATAATATCAATTGGATTTTTAGGATTTATTGT  
ATGAGCACATC

Telenomus\_DOAsp06; *Telenomus* sp. 100%

TAAAGATATTGGAACACTATACTTCTACTTTGGAATATGAGCTGGAATACTAGGATCCTCAATAAGATCAATAATTCGAATAGAATTAAGAATCCCCGGCA  
TATTAATTGGAATGACCAAATTTATAACTCTATTGTAACCTCCATGCCTTCATTATAATTTTTTTATAGTTATACCAATTATATTAGGAGGGTTGGAA  
ATTGAATTATCCCTTTAATAATTAATGCACCTGACATAGCTTTCCCTCGATTAAATAATATAAGATTTTGACTTCTAATTCATCATTAACTACTAATTT  
ATAGAAATATTTTTGGAATAGGTACAGGAACCGGCTGAACAGTTTATCCCCCTTTCATCCCAAATAAACCTTCTATTGATTTAACTATCTTTCTCTC  
CATCTAGCAGGAATCTCCTCGATTCTTAGATCAATTAACCTTATTTGTACAATTATAAATAAGAAATTCGTTGAAAATTGAACCTTATTCTCCTGATC  
AATTTTTATTACTACTATCTTTTACTATTATCTTCCAGTCTTAGCTGGAGGAATCACTATAATTTTAACTGACCAGAAATCTTAATACATCTTCTTTAA  
CCCTTCTGGTGGAGGGGATCCCGTTCTTTACCAACACTTATTCTGATTTTTT

Telenomus\_DOAsp07; *Telenomus* sp. 91%

GGAAATTGGTTTGTCCATTAATAATTAATGCCCTGATATAGCCTTTCCACGTTTAAACAATTTAAGATTTTGATTACTAATTCATCTTTAATTTTATTA  
ATTTATAGAAACATTTTTGGTATAGGGACTGGAACAGGATGAACAATTTATCCTCCTCTATCCTCTCAACCTAATCCATCAATTGACTTAACAATTTTTTC  
TCTTCATATTGCAGGAATTCATCAATCTTAGATCAATTAATTTTATTTGACTATTATAACATAAGAAATTTTCAATTAGAACTGATCTTTATTCTC  
ATGATCAATTTTTATTACTACTATTCTTCTTCTCTCTCTTCCAGTCTAGCAGGAGGAATCACAATAATTTTATCTGATCGAACTTAAATACTTCTTT  
TTTTAATCCATCAGGAGGGGAGATCCTGTTCTTTATCAACATTTATTCTGATTTTTGGACACCCTGAAGTATATATTCTAATTTTACCAGGATTCGGAT  
TAATCTCTCATATAATTTGTTTAGAAAGAGGAAAAAGAAACATTTGGAGTCTAGGAATAGTATATGCAATAATATCTATTGGATTCCTGGGATTTATT  
GTTTGAGCACATCA

Trissolcus\_DOAsp08; *Trissolcus thyantae* 100%

GAAATTGGTTTGTCCCTTTAATAATTAATGCGCCAGATATAGCTTTTCTCGTTTAAACAATATAAGATTCTGATTATTAATCCCCTCATTAACTACTAA  
TTTATAGAAATATTTTTGGATCAGGAACGGAACTGGATGAACACTATACCCCCATTATCAACTCAATTAATCCATCAATTGATTTAACAATTTTTTCC  
TTACATATTGCTGGAATTTCTCAATTTTAAAGTTCAATTAATTTTATTTGTACAATTATAAATAAATAATTGTTCAATTAATAATTGAACTCTTTTTACA  
TGATCTGTATTAATTACTACAATCTTACTTTTACTATCTTTACCAGTATTAGCAGGAGCAATTACAATAATTTTATCAGATCGAAACCTTAATACATCTTTT  
TTAATCCTGCAGGAGGAGATCCAGTATTATACCAACATCTATTTTGATTTTTGGGCATCCGGAGGTATATTTTTAATTTTACCTGGATTTGGATT  
AATTTCCCATATAATTTGTTTAGAAAGAGGAAAAAGAAACATTTGGGATACTAGGAATAGTATATGCAATAATTTCAATTGGGTTTCTTGGATTTATTG  
TTTGAGCACATC

Telenomus\_DOAsp09; *Telenomus busseolae* 90%

ATAGCTTTTTCCCGATTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATCCCCTCCTTAATTTTATTAATCTATAGAAATGTATTTGGTTCAGGAACAGGAACTGG  
ATGAACAGTTTATCCCCCTTATCAACTCAATTAATCCTTCAATTGATTTAACAATTTTTTCACTACACATTGCAGGAATTTCTCAATCTTAGATCAAT  
TAATTTCTTTGTACAATTATAAATATAGCAAATTCATCAATTAATAACTGATCATTATTTACATGATCAGTTTTAATCACCACAATTTTACTTCTTCTATC  
ATTACCGTACTAGCAGGAGCAATTACAATAATTTTAAACAGACCGAAATTTAAATACAGCATTTTTAACCTGCAGGAGGAGGAGACCCAATTTTATACC  
AACATTTATTTGATTTTTCGACACCCAGAAGTTTATTTTTAATTTTACCAGGATTTGGTTAATTTCCCATATAATCTGTTTAGAAAGAGGAAAAAGAA  
GAACTTTTGGTATATTAGGAATAATTTACGCCATAATCTCAATTGGATTTTTAGGATTTATCGTTTGGAGCACATAA

Gryon\_DOAsp10; *Gryon largi* 90%

ATAAATAATATAAGATTCTGATTATTACCCCATCATTAAATTTTATTAATTTATAGAACATTATTTGGAATAGGATCCGGTACAGGATGAACAGTCTATCC  
CCCATTATCAATCAAATTAATCCCTCAATTGACCTAACAAATTTTTCTCTTCATTTAGCTGGAATTTCTCAATTATAAGATCAATTAATTTTATTTGCAC  
AATTATTAACCTAAAAATTTAAATTAATAAGATTAAGACTATTTTCTTGATCAGTATTAATTACAACAATTTTATTACTATTCACTTCCAGTACTTGC  
AGGAGGTATCACAATATTATTAACAGATCGAACTTTAACACCTCATTTTTAATCCCTCAGGAGGAGGATCCAGTACTTTATCAACATTTATTTTGAT  
TCTTTGGTCATCCAGAAGTATACATTTAATCCTACCAGGATTTGGAATAATTTCCCATATAATTTGTATAGAAAGAGGAAAAAAGAACCATTTGGATCT  
TTAGGAATAATTTATGCAATAGTATCAATTGGATTTTTAGGTTTTATTGTTTTGAGCACATCA

Gryon\_DOAsp11; *Gryon largi* 86%

CACCAGATATAGCATTTCCTCGAATAAATAATATAAGTTTTGACTTTTACCACCATCACTAATTTTATTAATTTATAGATCAATATTTGGTATAGGATCAG  
GAACAGGGTGAACAGTATACCCTCTTTTTCTCTCAAACAATCCATCTATTGATTTAACTATTTTTCTCTTCATCTTGCTGGAATCTCCTCAATTATAA  
GTTCAATTAACTTTATTAGAACAATAAAAATTTAATTTATATAAAAATAAATTTATCCTTATTTTCATGATCAGTATTTATTACAACATTTTATTACT  
TTTATCATTACCTGTACTAGCAGGAGGTATTACAATAATTTAACTGATCGAAATTTAATACATCATTCTTTAACCTTCAGGTGGGGGGGATCCAATTC  
TTTATCAACATCTATTTTGATTTTTGGACATCTGAAGTTTACATTTAATTTTACCAGGATTTGGAATAATTTCTCATATAATTTGTATAGAAAGAGGAA  
AAAAAGAACCATTTGGATCATTAGGAATAATTTATGCAATAATTTCAATTGGATTTCTGGATTTATTGTTTTGAGCACATCACA

Psix\_DOAsp12; *Psix tunetanus* 100%

AATTGGTTAGTCCATTAATACTTAATGCACCTGATATAGCATTCCACGACTTAATAATAAGATTTTGACTTCTCCACCATCATTAACTCTTTAATT  
TATAGAAATTTTTTTGGGAGAGGAACAGGTACAGGATGAACAGTTTATCCTCCATTTCTAGACAACCTAACCCATCAATTGATTTAAACAATTTTTCTCT  
TCATTTAGCAGGAATTCATCAATTTAAGATCAATTAATTTTATTTGTACAATTATTAATTTAAAACTCATAATTTACTATAAAATAATTTCTCTTTT  
TACATGATCAGTGTAATTACAACATTTCTCTTTACTTTCTCTCCAGTTTTAGCTGGTGAATTAACAATCTTTTATCAGATCGAACTTAAATACATC  
ATTTTTTAATCCAGCTGGTGGTGGAGATCCTATTTTATATCAACACTTATTCTGATTTTTTGGCCATCCAGAAGTTTATATTTAATCTTCCAGGATTTG  
GAATAATTTCTCAAATAATTTGTATAGAAAGAGGAAAGAAAGAAACCTTTGGAATATTAGGTATAATTTATGCTATAATTTCAATTGGATTTTTAGGATTT  
ATTGTATGAGCTCA

Telenomus\_DOAsp13; *Telenomus* sp. 100%

CTTATATTTTTTTCTTTGGTGTATGGTCAGGAATACTAGGATCTGCAATAAGATCAATAATCCGGATAGAACTTGCAGTCCCAGGAATACTAATTGGAAATG  
ACCAAATCTACAACCTTATTGTTACTTCCCAGCTTTTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCTATTATACTTGGAGGATTTGGAAATGAATCGTCCCAT  
TAATAATTAATGCACCAGACATAGCATTTCCTCGTTTAAATAATCTTAGATTTTGATTGCTAATTCATCCCTTATATTACTTATATACAGAAATGTATTTG  
GTAGGGGAACAGGGACTGGATGAACTGTATACCCTCTTTATCATCTCAAATTAATCCATCAATTGATCTAACCATCTTTTCACCTCATATCGCAGGAATC  
TCTTCTATCCTTAGATCAATTAATTTTATTTGCACTATTATAAATAAGAAATGCTCAATTAATAATTGATCTTTATTTTCTGATCAATCTATATTACT  
ACAATTTTACTTCTTCTATCTCTTCTGTTCTAGCAGGAGGTATTACAATAATCTATCAGATCGTAACTTAAATACCTCATTTTTCAACCCATCAGGAGG  
AGGAGACCCTGTTTTATACCAACACTTATTTTGATTT

Telenomus\_DOAsp14; *Telenomus grenadensis* 99%

AACATAAGATTTTGATTTCTAATTCATCCATCTCTCTATTAATTTATAGTAATATTTTTGGAGCCGGAACAGGAACTGGATGAACTGTTTACCACCCCT  
ATCTACTCAATTAATCCTTCAATTGATTTAACAATTTTCTCATTACATATTGCAGGAATTTCTTCAATTTTAAAGTTCAATTAATTTTATATGTACCATTTT  
AAATATAAAAAACAGCTCAATAAACAACCTGAACCTTTTTACATGATCAGTACTAATTACTACAATCCTCCTACTCCTATCCCTCCAGTTCTAGCAGGAG  
CCATTACAATAATTTCTATCTGACCGAAACCTAAACACAACATTTTTTAAACCAGCCGGAGGAGGATCCCATCCTTTATCAACATTTATTTCTGATTTCTT  
GGACACCCAGAAGTTTATATTCTAATTTTACCAGGATTTGGATTAATTTCTCATATAATTTGTCTAGAAAGAGGAAAAAAGAACCATTCGGAATACTTGG  
AATAATTTATGCAATAATATCTATTGGCTTTTTAGGATTTATTGTATGAGCACATCAC

Trissolcus\_DOAsp15; *Trissolcus basalis* 85%

TGATATAGCCTTTCCCGCCTAAATAATATAAGATTTTGATTACTAATCCCTTCCTTAATTCTATTAATCTATAGAAATGTATTTGGATCAGGAACAGGAA  
CAGGATGAACAGTGTATCCCCCTTTCAACTCAACTCAATCCCTCAATTGATTTAAACAATTTTTCCCTTCATATTGCAGGGATTTCTCAATTCTTGA  
TCAATTAATTTCTCTGCACTATTATTAACATAAAAAATCATTCTATAAATAAATTGAACATTATTTACATGATCAATCCTAATTACAACAATTTACTACTT  
CTTTCCCTCCAGTTCTAGCAGGAGCTATTACCATAATTTTATCAGATCGAAATCTAAATACCTCATTTTTTAATCCTGCTGGAGGGGGGATCCTGTTCT  
TTACCAACATTTATTCTGATTTTTGGACATCCTGAAGTTTATATTTAATTCTCCCTGGGTTTGGTTAATCTCACATATGATTTGTTTAGAAAGTGGGAA  
AAAAGAAACATTTGGAATATTAGGAATAATTTATGCCATAGTTTCAATTGGATTCTAGGATTTATTGTTTGAGCTCATCACATATTTACAG

Trissolcus\_DOAsp16; *Trissolcus* sp. 100%

TAGGATTTGGAAATTGGTTAGTCCACTTATACTTAATGCTCCTGATATAGCCTTTCCCGCCTAAATAATATAAGATTTTGATTACTAATCCCTTCCTTA  
ATTCTATTAATCTATAGAAATGTATTTGGATCAGGAACAGGAACAGGATGAACAGTGTATCCCCCTTTCAACTCAACTCAATCCCTCAATTGATTTAAC  
AATTTTTCCCTTCATATTGCAGGGATTTCTCAATTCTTAGATCAATTAATTTCTCTGCACTATTATTAACATAAAAAATCATTCTATAAATAATTGAAC  
ATTATTTACATGATCAATCCTAATTACAACAATTTACTACTTCTTTCCCTCCAGTTCTAGCAGGAGCTATTACCATAATTTTATCAGATCGAAATCTAAA  
TACCTCATTTTTAATCCTGCTGGAGGGGGGATCCTGTTCTTTACCAACATTTATTCTGATTTTTGGACATCCTGAAGTTTATATTTAATTCTCCCTG  
GGTTTGGTTAATCTCACATATGATTTGTTTAGAAAGTGGGAAAAAGAAACATTTGGAATATTAGGAATAATTTATGCCATAGTTTCAATTGGATTCTTA  
GGATTTATTGTTTGAGCACATCACA

Gryon\_DOAsp17; *Gryon saxatilis* sp. 85%

AATTGGTTAGTTCATTAATATTAATGCACCAGATATAGCCTTCCTCGACTTAATAATATAAGATTTTGACTTTTACCACCTCAATTTTATTTTAATT  
TATAGAAATATTTTTGGAATAGGAACAGGAAGTGGATGAACGTTTATCCCCCTTATCTTACAATTAATCCATCAATTGACCTAACAAATTTTTCTCT  
TCATTTAGCTGGAATTTCTCAATTATAAGATCAATTAATTTCTTACAATTATAAATAAATTCAGTAAAAATAATTAATTTATCATTATTTACTTG  
ATCTGTTTTATTACAACAATTTTATTACTTTTATCATTACCAGTATTAGCAGGGGGAATTACTATATTATTAACAGATCGAAATTTAAATACTTCATTTTT  
TAATCTGCGAGGAGGGGAGATCCAATTTTATCAACACTTATTTTGATTTTTGGACACCTGAAGTTTATATTTAATTTTACCAGGATTCGGAATAA  
TTTACATTTAATTTGTATAGAAAGTGGTAAAAAGAAACATTTGGTATATTAGGAATAATTTATGCAATATTATCTATTGGATTTTTAGGATTTATTGTAT  
GAGCACATCA

Telenomus\_DOAsp18; *Telenomus dignus* 91%

TAGCTTTCCCTGGATGAAATAATATAAGATTTTGATTACTTATTCCCTCATTAAATTTTATTAATTTATAGAAATATTTTTGGATCAGGAACAGGAACAGGA  
TGAACAATTTACCCCCACTATCTACACAATCAATCCCTCAATTGATTTAACTATTTTTTATTACATATTGCAGGAATTTCTCAATTTTAAAGATCTATT  
AATTTTTTATGCACAATTATTAATATATCAAATCTTCAATTAATAATTGATCATTATTTACTTGATCAGTTTTAATCACCACAGTTTTATTATTATATCA  
TTACCAGTACTAGCAGGAGCTATTACAATAATTTTAACTGATCGAACTTAAATACAGCATTTTTTAACCCAGCAGGAGGAGACCCAATTTTATATCA  
ACATCTATTTTGATTTTTGGACATCCAGAAGTTTATATTTAATTCTACCAGGATTTGGATTAATTTCTCATATAATTTGTTTAGAAAGAGGAAAAAAG  
AACTTTTGGAAACTAGGTATAATTTATGCTATAATTTCAATTGGATTCTTAGGATTCATTGTTTGAGCACATCACATATT

Telenomus\_DOAsp19; *Telenomus* 100%

TGGCTTTCCCGGTTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATCCATCTTAATTTTATTAATCTATAGAAATATTTTTGGATCAGGAACAGGAACAGGA  
TGAACAATTTACCCCCCTCTATCTATTCACTTAATCCATCAATTGATTTAAACAATCTTTTCTCTTCATATTGCAGGAATCTCATCAATTCTTAGATCAATT  
AATTTCTTATGTACTATTATTAATATAAGTAACTTTTCTATTAATAATTGATCATTATTCATTGATCTGTTTTAATTACTACAATTTTATTGCTTCTATCAT  
TACCCGTTTTAGCTGGAGCTATTACAATAATTTTAAACCGACCGAAATTTAAATACCACATTTTTTAACCCAGCTGGGGGGGAGACCCAATTTTATACCAA  
CATTTATTTGGTTTTTTGGGCATCCAGAAGTTTATATTTAATTTTACCAGGATTCGGATTAATTTTACATATAATCTGTTTAGAAAGAGGTAATAAAGA  
AACTTTTGGTATATTAGGAATAATTTATGCAATAATTTCTATTGGATTTTTAGGATTTATTGTTTGAGC

Gryon\_DOAsp20; *Gryon* sp 100%

TTCCATTAATAATTAATGCTCCTGATATAGCTTTTCCCGAATAAATAATATAAGATTTTGATTACTCCCCCATCATTATTTTATTAATTTATAGATCAT  
CTTTTGGAAATAGGATCAGGAACAGGATGAACAATTTACCCCTTTTATCCTCCCAATCTAATCCTTCTATTGATTAACAATTTTTCTCTTCATTTAGCA  
GGAATCTCATCAATTATAAGATCTATTAACCTTTATTACAACAATTATTAACCTAAAAATTTAAACTAATTAATTTAACCTTTATTTACATGGTCAGTATTT  
ATTACAACAATTCTATTACTACTATCATTACCAGTATTAGCCGGTAGAATTACAATAATTTAACTGATCGAAATTTCAATACCTCATTTTTTAATCCCTCC  
GGAGGAGGAGATCCTATTTTATATCAACACTTATTTTGATTTTTGGACATCCAGAAGTATATATTTAATTCTCCAGGATTTGGAATAATCTCACATAT  
AATTTGTATAGAAAGAGGAAAAAAGAACCATTTGGAAGATTAGGTATAATTTATGCTATAATTTCAATTGGATTCTAGGATTTATTGTCTGAGCACATC  
ACAT

Psix\_DOAsp21; *Psix watshami* 87%

GGATTTGGAATTTGGTTTGTCCATTAATATTAATGCCCCAGATATAGCATTCCCTCGATTAATAATGTTAGTTTCTGATTATTAATTCCTTCAATAATT  
TTACTAATCTTTAGAAATTTTTTGGTAGAGGAAGTGAACAGGATGAACAGTTTACCCTCCCTTTCTGCACAAATAAATCCATCAATTGACTTAACAAT  
TTTTTCTTCTTACTTAGCTGGTGTATCCTCTATTCTTAGATCTATAAATTTTATTTCTACAATTTTAAATATAAAAACTAATATATTTACTATAAATAATAT  
TTCATTATTCTCATGATCAGTCCTTATTACAACCTATTTACTTTTTATTATCTCTCCAGTTTTAGCAGGAGCTATCACCATACTTTTAACTGATCGAAATTT  
TAATACCTCATTCTTAATCCATCAGGTGGAGGTGACCCAGTTCTTTATCAACACCTATTTTGATTTTTGGTCACCCAGAAGTATATATTTAATTTTAC  
CTGGATTTGGAATAATTTCCAAATAATTTGTATAGAAAGAGGAAAAAAGAACATTTGGTATACTAGGAATAATTTATGCTATAATTTCTATTGGATTC  
TTAGGATTTATTGTTGAGCTCATCACATATTTTACA

Telenomus\_DOAsp22; *Telenomus* sp. 100%

GATATTGGAACATTATATTTCTATTTTGGATTATGGGCAGGAATACTTGGATCCTCTATAAGATCAATAATCCGGATAGAATAAGAAATCCCGGGATATT  
AATTGGTAATGATCAAATTTATAATCCATTGTTACATCACACGCATTTATTATAATTTCTTTATAGTTATACCAGTTATACTTGGAGGCTTTGGAACTG  
ATTAATTCCTCTTATAATTAATGCCCCAGATATAGCATTTCCTCGTCTAAATAATATAAGATTTTGATTATTAATTCAGCAATTATATTATTATTATAG  
AAACATTTTTGGTATAGGACCGGAACAGGATGAACAGTTTATCCCTCTTTCTTCTCAAATTAATCCTTCTATTGACTTAACCATTTTTTACTCCATG  
TAGCAGGAATTTCTTCTATTCTCAGATCTATTAATTTCAATTTGTACAATAATAAATAAGACTTTTAATTAATTTTGGTCTCTTTTTTCTATGATCAGTAT  
TTATTACAACCTATTCTTTTATTATTATCATTACCTGTCTAGCCGGAGGAATTAATAATTTATCAGACCGAAATCTTAATACCTCATTTTTTAATCCTG  
CTGGAGGAGGAGATCCAATTTCTTTATCAACACTTATTCTGATTTT

Telenomus\_DOAsp23; *Telenomus* sp 89%

TTGAAATTTGGTTAGTTCCATTAATAATCAATGCACCCGATATAGCATTCCCACGATTAATAATATAAGATTTTGATTATTAATCCCTTCATTAATTTTAT  
TAATCTATAGAAATATTTTTGGATCAGGAACAGGAACAGGATGAACAGTTTACCCCTTATCTACACAATTAATCCATCAATTGATTTAACCATTTTT  
TCCCTACATATTGCAGGAATTTATCAATTTTGGATCCATTAATTTCTATGTACAATTATAAATAAACAATTCATCCATTAATAATGATCTTTATTT  
ACATGAGCAGTCTTATTACAACCTTTACTTCTATTATCACTACCAGTTCTAGCTGGAGCAATCACTATAATTTAACTGATCGAAACCTAAATACTAC  
ATTTTTTAACCCAGCAGGAGGAGGACCCCTATTTTATATCAACACTTATTTTGATTTTTTGGACACCCAGAAGTTTATTTTTAATCTTGCCAGGATTTG  
GCCTAATTTCTCATATAATTTGCATAGAAAGAGGAAAAAAGAACTTTTGAATACTAGGAATAGTTTACGCAATAATTTCTATTGGATTCTAGGATTT  
ATTGTATGAGCACATCACAT

Cynipoidea; *Cynipoidea* sp. 98%

AAAGATATTGGAGTAATATATTTTATTTTTGGTATTGTACTGGGATAGTGGGGTCTAGGCTAAGGATAATTATTCTGAATAGAATTGGGGACCCCTATACA  
ATTAATTAATAATGATCAGATTTATAATGCTATTGTAACGGCTCATGCTTTTGTATAATTTTTTTATGGTTATGCCAATTATAGTAGGGGATTTGGGA  
ATTATTTAGTTCCCTTAATGTTGACAGTACCAGATATAGCTTTTCCCTCGTTAAATAATATAAGTTTATGATTGTTATATCTTCTTTAGTTTTAATAGTTT

CAAGAATGTTTATTGATCAAGGGGCTGGGACAGGGTGAACAGTTTACCCTCCTTTATCTTTATCTGTAAGACACCCGGGGTGTCTACTGATTTAGTTAT  
TTTTTCTTTACATTTAAGAGGGGTATCTTCAATTTTAGGGTCTATTAATTTTATTACTACTATTTTAAATATACGATTAATTAACATAATAATAGATAAAAT  
TACTTTATTTATTTGATCAATTTTTTAACTACAATCTTTTATTATTGTCCTTTACCTGTTTTAGCTGGGGGGATTACTATATTATTATTTGATCGTAATTT  
AAATACTTCTTTTTATGATCCTATAGGAGGGGGGATCCTATTTTATATCAACATTTATTTGATTTTTG

Oxyteleia; *Oxyteliea* sp. 100%

GAAATTGGTTAGTTCCTTTAAATATTAACGCTCCTGATATATCTTTCCACGAATAAATAATATAAGATTCTGATTATTACCTCCTTCATTAATATTATTA  
TTTTTAGAAATTTTTATGGAAGAGGAGTAGGAACAGGATGAACAGTATACCCCCATTATCTACACAAATTAATCCATCTATTGACCCAGCAATTTTTCC  
TTACATCTAGCTGGAATATCATCTATTATAGGATCAATTAATTTCTTTCCACAGTTTTAAATATACGAACTTCAAAAATAACAATAATAAATATTTCTTA  
TTTACTTGATCAATTTTTATTACAACCTATTTTATTACTACTATCATTACCAGTATTAGCAGGAGGAGTAACTATATTATTAAGTACCCGAACTTAAATACA  
TCATTTTTTAACCCAGCTGGAGGAGGAGACCCAGTTCTATACCAACATTTATTTTGATTTTTTGGACACCCGAAGTTTATTTTTAATTTTACCCGGGTT  
TGGAATTTTCTCATATAATTTGTATTGAAAGAGGAAAAAAGAAACATTTGGAATATTAGGAATAGTATACGCTATACTTTCAATTGGATTACTAGGAT  
TTATTGTTTGAGCTCATCA