ความหลากชนิดและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหนูหริ่ง สกุล *Mus* (Rodentia: Muridae: Murinae) ที่พบในประเทศไทย
Diversity and Genetic Relationships of Mice Group in the Genus *Mus* (Rodentia: Muridae: Murinae) in Thailand

วิชาญ วรรธนะไกวัล ปราสาททอง พรหมเกิด สมเกียรติ กล้าแข็ง ทรงทัพ แก้วตา
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การศึกษาความหลากชนิดและความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหนูหริ่ง สกุล *Mus* (Rodentia: Muridae: Murinae) ที่พบในประเทศไทย ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 - กันยายน 2561 ได้ตัวอย่างหนูหริ่งศัตรูพืช จากการใช้กรงดักชนิดจับเป็นจำนวน 96 ตัวอย่าง จาก 8 จังหวัด ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย พบว่า หนูหริ่งนาหางสั้น (*Mus cervicolor*) มีน้ำหนักและขนาดลำตัวโดยเฉลี่ยใหญ่กว่าหนูหริ่งนาหางยาว (*Mus caroli*) แต่มีความยาวของหางที่สั้นกว่า ในขณะที่การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 2 คู่ ได้แก่บริเวณไซโตโครม บี และบริเวณไซโตโครม ซี ออกซิเดส ในไมโตคอนเดรียล ดีเอ็นเอ ได้ลำดับเบสและทราบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของตัวอย่างหนูหริ่งที่ดักได้จากธรรมชาติ จำนวน 49 ตัวอย่าง

การศึกษาครั้งนี้ยังไม่เสร็จสิ้น ยังต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติม และนำมาวิเคราะห์ทางสถิติศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของกะโหลก และลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

คำหลัก : หนูหริ่งนาหางสั้น หนูหริ่งนาหางยาว สัณฐานวิทยา ไมโตคอนเดรียล ดีเอ็นเอ

รหัสการทดลอง 03-30-60-01-01-01-08-60

คำนำ

หนูเป็นศัตรูสำคัญในกระบวนการผลิตพืช-สัตว์และทางการแพทย์ในประเทศไทย หนูสร้างความเสียหายให้กับพืชเศรษฐกิจหลายชนิด ตั้งแต่ระยะปลูก ตลอดจนหลังการเก็บเกี่ยวแล้ว เช่น ข้าว ข้าวโพด อ้อย ถั่วเหลือง โกโก้ ปาล์มน้ำมัน เป็นต้น ความเสียหายที่เกิดขึ้นคิดเป็นมูลค่า หลายพันล้านบาทต่อปี นอกจากการทำลายพืชทางการเกษตรแล้ว หนูยังเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญ ที่ถ่ายทอดสู่มนุษย์ และสัตว์เลี้ยง เช่น กาฬโรค โรคเลปโตสไปโรซีสหรือโรคไข้ฉี่หนู เป็นต้น ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาเกี่ยวกับชีววิทยา นิเวศวิทยาและอนุกรมวิธานของหนูเพื่อศึกษาเรียนรู้พฤติกรรมของมันเพื่อนำไปสู่การป้องกันและกำจัด

โดยทั่วไปสัตว์ในวงศ์ Muridae จะมีรูปร่างแบบหนู คือ รูปร่างทรงกระบอกและด้านหัวมีทรงแหลม มีสี่ขา หางยาว สูตรของฟันโดยทั่วไป คือ 1/1, 0/0, 0/0, 3/3 = 16 สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในวงศ์นี้ มีจำนวนชนิดที่มากที่สุดในโลกคิดเป็นร้อยละ 65 ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมในอันดับสัตว์ ฟันแทะทั้งหมด สำหรับในประเทศไทยหนูในวงศ์ Muridae จัดแบ่งตาม J.T. Marshall, Jr (Lekagul and McNeely, 1997)

ลักษณะที่ใช้จำแนกชนิดของหนูที่ใช้กันทั่ว ๆ ไป คือ ลักษณะภายนอก (external characters) เช่น ขนาด น้ำหนัก ลักษณะของขน สี จำนวนเต้านม (เพศเมีย) และอื่น ๆ ซึ่งลักษณะเหล่านี้ต้องดูจากหนูที่โตเต็มวัยแล้ว เมื่อนำเอาลักษณะต่าง ๆ มาประกอบกันทำให้สามารถจำแนกจำแนกหนูได้ถึงระดับสกุล (genus) หรือชนิด (species) ส่วนการจำแนกชนิดของหนูที่มีลักษณะใกล้เคียงกันในสกุลเดียวกัน สามารถทำได้ยาก เช่น หนูในสกุล *Rattus* ต้องอาศัยลักษณะอื่น ๆ ประกอบ เช่น สัณฐานวิทยาของกะโหลกศีรษะ ลักษณะและขนาดของฟันแทะและฟันกราม เป็นต้น (ยุวลักษณ์ และคณะ, 2544)

หนูหริ่งสกุล *Mus* เป็นหนูที่มีขนาดเล็กที่สุด น้ำหนักตัวอยู่ระหว่าง 8-20 กรัม ลักษณะเด่นที่สุดของหนูสกุลนี้คือ ความยาวฟันกรามซี่แรกด้านบน M1 ยาวมากกว่าครึ่งหนึ่งของฟันกรามทั้งแถว (molar row) ในประเทศไทยพบเป็นศัตรูสำคัญของข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ถั่วเขียว ถั่วเหลืองและข้าวโพด เป็นศัตรูสำคัญของการผลิตธัญพืชต่าง ๆ หนูสกุลนี้ขนลำตัวด้านหลังสีเทา ด้านท้องสีขาว หางมี 2 สี ขุดรูอาศัยตามคันนาหรือในแปลงปลูกพืชที่แห้งและมีหญ้ารก ในหน้าแล้งจะอาศัยอยู่ตามรอยแยกแตกระแหงของดิน เพศเมียมีเต้านม 3 คู่ที่อก และ 2 คู่ที่ท้อง ในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ

1. **หนูหริ่งนาหางยาว (Ryukyu mouse : *Mus caroli* Bonhote, 1902)** พบในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออก ฟันแทะคู่บนจะตั้งฉากกับ palate สีผิวด้านหน้าของฟันแทะคู่บนมีสีแทนหรือน้ำตาลเข้มมากกว่าหนูหริ่งชนิดอื่น ๆ ส่วนฟันแทะคู่ล่างมีสีขาว จมูกสั้น จึงทำให้ส่วนหน้าทู่ หางยาวกว่าความยาวหัวและลำตัวรวมกันและมี 2 สีชัดเจน คือด้านบนของหางมี สีดำ ด้านล่างมีสีขาว ตีนหลังใหญ่และมีสีเทา ปีนป่ายดีกว่าหนูหริ่งนาหางสั้น

2. **หนูหริ่งนาหางสั้น (Fawn-colored mouse : *Mus cervicolor* Hodgson, 1845)** เขตแพร่กระจาย ลักษณะต่าง ๆ คล้ายกับหนูหริ่งนาหางยาว ตัวมีขนาดใหญ่กว่าเล็กน้อย ฟันแทะคู่บนจะโค้งงอเข้าด้านในและไม่ตั้งฉากกับ palate สีผิวด้านหน้าของฟันแทะคล้ายหนูหริ่งนาหางยาวแต่สีอ่อนกว่ามาก จมูกยาวกว่าทำให้ส่วนหน้าดูแหลม ตีนหลังขาว หางมี 2 สี แต่อ่อนกว่าของหนูหริ่งนาหางยาวและหางสั้นกว่าความยาวหัวและลำตัวรวมกัน

เนื่องจากมียังมีความเข้าใจที่ไม่ตรงกันว่า ในประเทศไทยนั้นพบหนูหริ่งบ้าน (*M. musculas*) หรือไม่ ซึ่งบางแหล่งข้อมูลรายงานว่าพบในประเทศไทย แต่บางแหล่งข้อมูลรวมถึงทางกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรฯ ไม่เคยพบว่ามีในประเทศไทย อีกทั้งในปัจจุบันสภาพแหล่งทีอยู่อาศัยของหนูหริ่งศัตรูพืชตามธรรมชาติหรือในแหล่งทำการเกษตร อาทิเช่น ไร่ข้าวโพด, แปลงถั่วเหลืองและโรงเก็บธัญพืช นั้นมีการเปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้เกิดการเคลื่อนย้ายของกลุ่มประชากรไม่ว่าจะเป็นการเคลื่อนย้ายแหล่งที่อยู่ของหนูหริ่งเองตามธรรมชาติ หรือเคลื่อนย้ายโดยติดไปกับผลิตผลทางการเกษตร อาทิเช่น เรือบรรทุกสินค้าหรือรถบรรทุกสินค้าเป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้เป็นปัจจัยที่ทำให้หนูหริ่งสามารถเคลื่อนย้ายไปยังแหล่งที่อยู่อาศัยใหม่ ทำให้ข้อมูลเกี่ยวกับแหล่งที่พบหนูหริ่งศัตรูพืช ตามธรรมชาตินั้นต้องเปลี่ยนแปลงตามสภาพในปัจจุบันด้วยเพื่อนำไปสู่การป้องกันและกำจัดที่เหมาะสมต่อไป

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาการแพร่กระจายของหนูหริ่งศัตรูพืชในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย โดยอาศัยลักษณะทางพันธุกรรม (molecular characteristic) ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล (molecular technique) ควบคู่ไปกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology characteristic) เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาความหลากชนิด ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหนูหริ่งที่พบในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย ทำให้ทราบถึงชนิดของหนูหริ่งศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย ว่าในปัจจุบันพบหนูหริ่ง สายพันธุ์ใดบ้าง และแต่ละสายพันธุ์ที่พบนั้นมีแหล่งหากินในภูมิภาคใด เพื่อเป็นแหล่งข้อมูลพื้นฐานด้านอนุกรมวิธานของหนูหริ่งศัตรูพืช รวมถึงการประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดหนูหริ่งที่สร้างความเสียหายให้แก่ผลิตภัณฑ์ธัญพืชต่าง ๆ รวมถึงนาข้าวและพืชผลทางการเกษตรอื่น ๆ อีกทั้งเพื่อเป็นการพัฒนาฐานข้อมูลด้านอนุกรมวิธานโดยอาศัยวิธีทางชีวโมเลกุลและมีประโยชน์สำหรับงานวิจัยต่อยอดในด้านอื่น ๆต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

- สารเคมี; ethyl alcohol, ether, ชุด kit สกัดดีเอ็นเอ, hot start taq DNA polymerase, ชุด kit purification gel electrophoresis, TAE/TBE buffer, agarose gel, สีย้อม nucleic acid (gel star)
- สัตว์ทดลอง; หนูหริ่งศัตรูพืชจากธรรมชาติ
- วัสดุและอุปกรณ์; เวอร์เนีย คาลิปเปอร์ (vernier caliper), slides + coverglass, เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge), หลอดปั่นขนาด 1.5, 15 และ 50 มิลลิลิตร, ตู้เย็น, กรรไกรและชุดเครื่องมือผ่าตัด, เครื่องชั่งสาร, beaker, pipette, sterile tips, eppendorf tube (1.5 ml) อุปกรณ์ run gel electrophoresis, ชุดถ่ายรูป gel document, กรงดักหนู และกรงเลี้ยงหนู

วิธีการ

การเก็บตัวอย่าง (Sampling)

ดักจับหนูหริ่งในธรรมชาติ ด้วยการใช้กรงดักชนิดจับเป็น จากภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศไทยอย่างน้อย 100 ตัวอย่าง เพื่อเป็นตัวแทนของหนูหริ่งศัตรูพืชที่พบในประเทศไทย

การวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Morphological characteristic)

นำตัวอย่างหนูหริ่งที่ดักได้จากธรรมชาติ มาวัดลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนี้

1. การวัดขนาด รูปร่างภายนอก

ทำการบันทึกลักษณะของขน สีขน ชั่งน้ำหนักและวัดลักษณะภายนอกของตัวอย่างหนูหริ่งที่ดักได้ หน่วยเป็นมิลลิเมตร (millimeter) ดังนี้

1.1 ความยาวของหัวและลำตัว (head and body; HB) โดยทำการวัดจากปลายจมูกถึงรูทวาร

1.2 ความยาวของหาง (tail length; T) โดยทำการวัดจากรูทวารถึงปลายหาง

1.3 ความยาวของตีนหลัง (hind foot length; HF) โดยทำการวัดจากปลายนิ้วที่ยาวที่สุดจนถึงส้นของตีนหลัง

1.4 ความยาวของหู (ear length; E) โดยทำการวัด จากโคนหูจนถึงปลายของใบหู

ในกรณีเป็นเพศเมีย นับจำนวนเต้านมและบันทึกลักษณะการเรียงตัวของเต้านมและบันทึกลักษณะต่าง ๆ เพิ่มเติมในทุกตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อาทิเช่น สีและลักษณะของขน เป็นต้น

2. การวัดลักษณะกะโหลก

ตัดส่วนหัวของหนูหริ่ง ลอกส่วนหนังและเนื้อออก หลังจากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดจนได้ชิ้นกะโหลกที่ไม่มีส่วนของเนื้อติดอยู่ หลังจากนั้นทำการวัดลักษณะของกะโหลก 15 ลักษณะ โดยใช้เวอร์เนีย คาลิปเปอร์ (vernier caliper) ตามวิธีการของ Yoshida, 1983; Lin *et al*., 1992 และ Oh *et al*., 2003 โดยมีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร ดังนี้

2.1 greatest length (GL), 2.2 condylobasal length (CL), 2.3 basilar length (BL), 2.4 palatilar length (PL), 2.5 length of incisive foramen (LIF), 2.6 length of upper diastema (LUD), 2.7 length of upper molar series (LUM), 2.8 nasal length (NL), 2.9 breadth of rostrum (BR), 2.10 interorbital breadth (IB), 2.11 zygomatic breadth (ZB), 2.12 breadth of occipital foramen (BOF), 2.13 length of mandible (LM), 2.14 length of lower molar series (LLM) และ 2.15 height of mandible (HM)

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างชิ้นเนื้อหรืออวัยวะต่าง ๆ เช่น หัวใจ ปอด ไต และตับ เป็นต้น โดยใช้ชุดสกัดดีเอ็นเอ QIAamp DNA mini kit (QIAGEN, Germany) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ละลายดีเอ็นเอด้วย TE buffer 30 ไมโครลิตร (ul) หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้มาทำปฏิกริยาพีซีอาร์

การทำปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction, PCR)

ไพรเมอร์ (primers) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทั้งหมด 2 คู่ บริเวณยีนไซโตโครมบี (cytochrome *b* gene) ใช้ไพรเมอร์จำนวน 1 คู่ Mus cytb F; 5’- TTA ATG ACA AAC ATC CGA AAA ACA CA-3’ กับ Mus cytb R; 5’- GGT TGG CCT CCG ATT CAG GTT A-3’ บริเวณไซโตโครม ซี ออกซิเดส (cytochrome c oxidase) ใช้ไพรเมอร์ 1 คู่ Mus CoIF2; 5’- AGT ATT TTA ATT CGA GCA GAA TTA GG-3’ กับ Mus CoIR2; 5’- CTG TTA GCA GTA TAG TGA TTC CTG C-3’ เพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอโดยใช้ปริมาตรรวม 20 ul ประกอบด้วยดีเอ็นเอหนูหริ่ง 2 ul ผสมกับ 10x PCR buffer, 10mM dNTPs, เอนไซม์ hot start

taq DNA polymerase 1 ยูนิต และไพรเมอร์ชนิดละ 10 mM แล้วเติม น้ำกลั่น จนครบปริมาตร 20 ul ผสมสารให้เข้ากัน ทำปฏิกิริยา PCR ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) ภายใต้อุณหภูมิ pre denature 98 °C เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเข้าสู่รอบของการเพิ่มชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ denature 98 °C เป็นเวลา 30 วินาที, annealing 60 °C เป็นเวลา 30 วินาที และ extension 72 °C เป็นเวลา 45 วินาที จำนวน 40 รอบ จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอน final extension 72 °C เป็นเวลา 5 นาที ตรวจสอบผลการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วย 1.5 % อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟริซีส (agarose gel electrophoresis)

การหาลำดับเบส (DNA sequencing)

ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอที่ได้โดยใช้ 1.5% อะกาโรสเจล อิเล็กโตรโฟริซีส และตัดแถบดีเอ็นเอที่ต้องการ ที่มีขนาดของแถบดีเอ็นเอขนาดตรงกับที่คำนวณไว้ หลังจากนั้นทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ gel elution kit (GeneMark, Taiwan) ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต และส่งดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์ไปวิเคราะห์หาลำดับเบสที่ First BASE laboratories ประเทศมาเลเซีย

การวิเคราะห์ผล (Data analysis)

ตรวจสอบความถูกต้อง และตัดลำดับเบสที่ไม่ชัดเจนหรือมีสัญญาณรบกวนออก จากนั้นนำไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสในฐานข้อมูล GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) ใช้โปรแกรม BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov) จัดเรียง วิเคราะห์ และตรวจสอบความถูกต้องของลำดับเบสโดยใช้โปรแกรม BioEdit version 7.0 (Hall, 1999) รวบรวมแต่ละ contig เป็นสายเดียว หลังจากนั้นวิเคราะห์ความหลากหลายและสัมพันธ์ทางพันธุกรรม ด้วยการสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม 3 วิธี ได้แก่ neighbor-joining (NJ), maximum parsimony (MP) และ maximum likelihood (ML) โดยใช้หนูพุกสกุล *Bandicota* เป็นสัตว์นอกกลุ่ม (outgroup) การสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม โดยวิธี neighbor-joining (NJ; Saitou and Nei, 1987) นั้นถูกสร้างจากการวิเคราะห์ข้อมูลคำนวณระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่างลำดับเบสของหนูแต่ละคู่ ด้วยแบบจำลอง kimura 2-parameter distance models (Kimura, 1980) โดยใช้โปรแกรม MEGA 6 software (Tamura *et al*., 2013) ส่วนวิธี Maximum parsimony (MP; Fitch, 1971) ดำเนินการโดยใช้โปรแกรม PAUP v. 4.0b8 (Swofford, 2001) สร้าง provisional MP tree ด้วยวิธี stepwise addition algorithm ลำดับการใช้ข้อมูลเป็นไปโดยสุ่ม การทำ brance swapping โดยใช้ subtree-pruning-regrafting (SPR) method (Hein *et al*, 1996) ในขณะที่วิธี Maximum likelihood (ML; Felsenstein, 1981) วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม MEGA 6 software (Tamura *et al*., 2013) การทำ branch swapping ใช้ nearest neighbor interchanges (NNI) branch swapping methods (Felsenstein, 2004) ผลการคำนวณใช้แบบจำลอง general time reversible model (GTR) ซึ่งทั้ง 3 แผนภูมิดังกล่าวนั้น ทำการวิเคราะห์หาค่าทางสถิติ (bootstrap) จำนวน 1,000 รอบ โดยค่าทางสถิตที่ได้จะถูกนำมาแสดงเพื่อเพิ่มระดับความเชื่อมั่นของแผนภูมิ

เวลาและสถานที่

ทดลองและเก็บรวบรวมข้อมูลระหว่างเดือนตุลาคม 2559 - กันยายน 2560 ภายในกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร และพื้นที่ปลูกข้าว ข้าวโพด ตะไคร้ ถั่วลิสง และถั่วเหลือง ของเกษตรกรที่จังหวัด ปราจีนบุรี นครสวรรค์ เพชรบุรี นครนายก และกาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองวัดขนาดสัณฐานวิทยาของหนูหริ่งศัตรูพืชที่ดักได้จากพื้นที่ทำการเกษตรของเกษตรกรในภาคกลางของประเทศไทย (ตารางที่ 1) พบว่า

ที่นาข้าว ต. บ้านสร้าง อ. บ้านสร้าง จ. ปราจีนบุรี ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 2 ตัว ต้องดำเนินเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมโดยเปลี่ยนสถานที่เก็บตัวอย่าง เนื่องจากในพื้นที่นาข้าวที่เก็บตัวอย่างนั้นโดยมากพบหนูพุกใหญ่ (*Bandicota indica*) และหนูนาใหญ่ (*Rattus argentiventer*) เป็นส่วนใหญ่

ที่แปลงปลูกถั่วเหลือง ต. บ้านแตน อ. บรรพตพิสัย จ. นครสวรรค์ ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 27 ตัว เป็นหนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) จำนวน 12 ตัว น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 12.35 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 75 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 84 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 17 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 13 มิลลิเมตร และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) จำนวน 15 ตัว น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 14.89 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 74 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 60 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 14 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 13 มิลลิเมตร

ที่แปลงปลูกถั่วลิสง ต. โรงเข้ อ. บ้านลาด จ. เพชรบุรี ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 8 ตัว เป็นหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) ทั้งหมด น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 16.91 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย83 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 62 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 15 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 13 มิลลิเมตร

ที่นาข้าว ต.ท่าทราย อ.เมือง จ.นครนายก ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 6 ตัว เป็น หนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) ทั้งหมด น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 10.38 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 68 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 79 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 17 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 12 มิลลิเมตร

ที่แปลงปลูกตะไคร้ ต.แก่งเสี้ยว อ.เมือง จ.กาญจนบุรี ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 17 ตัว เป็นหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) ทั้งหมด น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 17.97 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 83 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 63 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 16 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 14 มิลลิเมตร

ที่แปลงปลูกมะคาเดเมีย ณ สถานีทดลองเกษตรที่สูงแม่จอนหลวง อ.แม่แจ่ม จ. เชียงใหม่ ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 5 ตัว เป็นหนูหริ่งป่าขนเสี้ยน (*M. pahari*) ทั้งหมด น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 27.02 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 94 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 98.5 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 20.8 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 16.8 มิลลิเมตร

ที่แปลงปลูกข้าวโพด ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร อ.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 16 ตัว เป็นหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) จำนวน 4 ตัว น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 16.60 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 76 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 68 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 15.5 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 12.75 มิลลิเมตร เป็นหนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) จำนวน 12 ตัว น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 12.44 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 66.08 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 74.08 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 15.25 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 11.66 มิลลิเมตร

ที่นาข้าว อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์ ดักหนูหริ่งศัตรูพืชได้จำนวน 11 ตัว เป็นหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) จำนวน 10 ตัว น้ำหนัก มีค่าเฉลี่ย 16 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 78.7 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 68.9 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 14 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 12.75 มิลลิเมตร เป็นหนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) จำนวน 1 ตัว น้ำหนัก 9.7 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) 78 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) 83 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) 18 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) 10 มิลลิเมตร

ผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของหนูหริ่งศัตรูพืช ด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ จำนวน 2 คู่ คู่แรกบริเวณยีนไซโตโครม บี; Mus cytbF/Mus cytbR หนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) จะให้แถบดีเอ็นเอขนาด 1 kb และ 1.2 kb ตามลำดับ ในขณะที่ ไพรเมอร์คู่ที่สอง; บริเวณยีนไซโตโครม ซี ออกซิเดส Mus CoI F2/Mus CoI R2 หนูหริ่งนาหางยาว (*M. caroli*) และหนูหริ่งนาหางสั้น (*M. cervicolor*) จะให้แถบดีเอ็นเอขนาด 800 bp และ 700 bp ตามลำดับ

ซึ่งการทดลองของงานวิจัยนี้ยังไม่สิ้นสุด ยังต้องทำการเก็บตัวอย่างเพิ่ม และนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ ศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลก และลักษณะทางพันธุกรรมต่อไป

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถานีทดลองเกษตรที่สูงแม่จอนหลวง อำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ และศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร อำเภอสีคิ้ว จังหวัดนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์เข้าไปดักตัวอย่าง หนูหริ่งศัตรูพืช

ขอขอบคุณ คุณสิทธิศักดิ์ แสไพศาล คุณกาญจนา วาระวิชนี และคุณแสนชัย คำหล้า กลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่อง thermal cycler ในการทดลองทางชีวโมเลกุล

ขอขอบคุณ คุณณัฐกานต์ ถาแก้ว ที่ให้ความช่วยเหลือในการสกัดดีเอ็นเอ และเตรียมตัวอย่างในการศึกษาทางชีวโมเลกุล

ขอขอบคุณ คุณบรรจง บุญครอบ คุณวิชา สีแจ่ม คุณธนากรณ์ ภักดีสุข คุณเจริญศักดิ์ กันต่าย และคุณกุลธิดา เจนสิริโสภณ ที่ให้ความช่วยเหลือในการดักหนูและเลี้ยงหนูทดลอง

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตรที่เกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ยุวลักษณ์ ขอประเสริฐ เสริมศักดิ์ หงส์นาค กรแก้วเสือสะอาด เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ ปิยาณี หนูกาฬ และพวงทอง บุญทรง. 2544. หนูและการป้องกันกำจัด. กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตร แห่งประเทศไทย 136 หน้า.

Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences. A maximum likelihood approach. Journal of Molecular Evolution. 17: 368-376.

Felsenstein, J. 2004. Inferring phylogenies sinauer associates, Sunderland, Mass. 663p.

Fitch, W.M. 1971. Towards defining the course of evolution: minimum change for a specific tree topology. Systematic Zoology. 20: 406-416.

Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic acids Symposium Series. 41: 95-98.

Hein, J., T. Jiang, L. Wang and K. Zhang. 1996. On the complexity of comparing evolutionary trees. Discrete Applied Mathematics. 71: 153-169.

Kimura, M. 1980. A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution. 16: 111–120.

Lekagul, B. and A.M. Jeffery. 1977. Mammal of Thailand. Printed at Kurusapha Ladprao Press by Nai kamthon Sathirakul, Bangkok. 758 p.

Lin, L.K. and S. Shiraishi. 1992. Skull growth and variation in the forosan wood mouse, *Apodemus semotus.* Journal of the Faculty of Agriculture. 37: 51-69.

Oh, H.S., Y. Yoshinaka, T. Kaneko, H. Iida and T. Mori. 2003. Taxonomic re-examination of the *Apodemus agrarius chejuensis*, comparing external and cranial morphological characters among four Asian *Apodemus* species. Journal of the Faculty of Agriculture. 47: 373-386.

Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Molecular Biology and Evolution. 4: 406-425.

Swofford, D.L. 2001. PAUP*. Phylogenetic analysis using pasimony (and other method). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Tamura, K., D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 6. Molecular Biology and Evolution. 24: 1596-1599.

Yoshida, H. 1983. A note on the morphology of *Apodemus speciosus* collected in the mountain districts in Kyushu. Biologia Fukuokana. 23: 19-24.

Table 1 Measurements of morphological characteristics in *Mus* species in agricultural areas of Thailand in this study

sample no.	voucher no.	sex	weight (g)	HB (mm)	T (mm)	HF (mm)	E (mm)
ต. บ้านแตน อ.บรรพตพิสัย จ.นครสวรรค์							
29	Mus NKW30	male	18	81	75	15	14
ต. โรงเข้ อ. บ้านลาด จ.เพชรบุรี							
30	Mus Phet01	male	20.3	84	61	16	13
31	Mus Phet03	male	18.9	90	67	15	12
32	Mus Phet04	female	15.8	80	69	14	15
33	Mus Phet05	female	17.3	84	58	15	13
34	Mus Phet07	male	13.9	76	60	15	14
35	Mus Phet08	male	20	85	64	16	14
36	Mus Phet09	male	20.3	88	64	15	14
37	Mus Phet10	male	8.8	76	55	16	12
ต. ท่าทราย อ. เมือง จ. นครนายก							
38	*Mus* NKNY 02	male	10.1	65	74	17	12
39	*Mus* NKNY 03	female	7.9	71	72	16	12
40	*Mus* NKNY 04	female	8.3	68	81	16	10
41	*Mus* NKNY 06	female	9.3	65	84	19	13
42	*Mus* NKNY 09	female	11.5	78	84	18	12
43	*Mus* NKNY 10	male	15.2	63	81	18	13
ต. แก่งเสี้ยว อ. เมือง จ. กาญจนบุรี							
44	*Mus* Khan 01	male	16.9	73	61	15	13
45	*Mus* Khan 02	male	17.5	84	59	15	13
46	*Mus* Khan 03	male	20.9	88	64	15	15
47	*Mus* Khan 04	male	20.3	89	66	18	14
48	*Mus* Khan 05	female	13.3	78	64	16	13
49	*Mus* Khan 06	female	16.8	81	64	14	14
50	*Mus* Khan 07	male	20.5	86	หางขาด	15	15
51	*Mus* Khan 10	male	20.1	90	61	15	14
52	*Mus* Khan 11	male	20.1	87	65	17	14
53	*Mus* Khan 14	female	16.6	84	60	17	13
54	*Mus* Khan 15	male	20.3	81	59	15	13
55	*Mus* Khan 18	male	19.6	82	63	18	14
56	*Mus* Khan 19	male	15.3	80	65	15	14
57	*Mus* Khan 20	male	14.8	78	62	14	12
58	*Mus* Khan 22	male	19.5	84	70	15	14
59	*Mus* Khan 23	female	15.2	81	55	18	13
60	*Mus* Khan 25	male	17.8	82	68	16	12
สถานีทดลองเกษตรที่สูงแม่จอนหลวง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่							
61	*Mus* MaeJon 1	male	26.5	100	หางขาด	20	16
62	*Mus* MaeJon 2	female	31.5	130	หางขาด	23	18
63	*Mus* MaeJon 3	male	23.8	95	99	20	16
64	*Mus* MaeJon 4	male	31.3	150	หางขาด	21	18
65	*Mus* MaeJon 6	female	22	93	98	20	16

Table 1 Measurements of morphological characteristics in *Mus* species in agricultural areas of Thailand in this study (continue)

sample no.	voucher no.	sex	weight (g)	HB (mm)	T (mm)	HF (mm)	E (mm)
ต. บ้านแตน อ.บรรพตพิสัย จ.นครสวรรค์							
29	Mus NKW30	male	18	81	75	15	14
ต. โรงเข้ อ. บ้านลาด จ.เพชรบุรี							
30	Mus Phet01	male	20.3	84	61	16	13
31	Mus Phet03	male	18.9	90	67	15	12
32	Mus Phet04	female	15.8	80	69	14	15
33	Mus Phet05	female	17.3	84	58	15	13
34	Mus Phet07	male	13.9	76	60	15	14
35	Mus Phet08	male	20	85	64	16	14
36	Mus Phet09	male	20.3	88	64	15	14
37	Mus Phet10	male	8.8	76	55	16	12
ต. ท่าทราย อ. เมือง จ. นครนายก							
38	*Mus* NKNY 02	male	10.1	65	74	17	12
39	*Mus* NKNY 03	female	7.9	71	72	16	12
40	*Mus* NKNY 04	female	8.3	68	81	16	10
41	*Mus* NKNY 06	female	9.3	65	84	19	13
42	*Mus* NKNY 09	female	11.5	78	84	18	12
43	*Mus* NKNY 10	male	15.2	63	81	18	13
ต. แก่งเสี้ยว อ. เมือง จ. กาญจนบุรี							
44	*Mus* Khan 01	male	16.9	73	61	15	13
45	*Mus* Khan 02	male	17.5	84	59	15	13
46	*Mus* Khan 03	male	20.9	88	64	15	15
47	*Mus* Khan 04	male	20.3	89	66	18	14
48	*Mus* Khan 05	female	13.3	78	64	16	13
49	*Mus* Khan 06	female	16.8	81	64	14	14
50	*Mus* Khan 07	male	20.5	86	หางขาด	15	15
51	*Mus* Khan 10	male	20.1	90	61	15	14
52	*Mus* Khan 11	male	20.1	87	65	17	14
53	*Mus* Khan 14	female	16.6	84	60	17	13
54	*Mus* Khan 15	male	20.3	81	59	15	13
55	*Mus* Khan 18	male	19.6	82	63	18	14
56	*Mus* Khan 19	male	15.3	80	65	15	14
57	*Mus* Khan 20	male	14.8	78	62	14	12
58	*Mus* Khan 22	male	19.5	84	70	15	14
59	*Mus* Khan 23	female	15.2	81	55	18	13
60	*Mus* Khan 25	male	17.8	82	68	16	12
สถานีทดลองเกษตรที่สูงแม่จอนหลวง อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่							
61	*Mus* MaeJon 1	male	26.5	100	หางขาด	20	16
62	*Mus* MaeJon 2	female	31.5	130	หางขาด	23	18
63	*Mus* MaeJon 3	male	23.8	95	99	20	16
64	*Mus* MaeJon 4	male	31.3	150	หางขาด	21	18
65	*Mus* MaeJon 6	female	22	93	98	20	16

Table 1 Measurements of morphological characteristics in *Mus* species in agricultural areas of Thailand in this study (continue)

sample no.	voucher no.	sex	weight (g)	HB (mm)	T (mm)	HF (mm)	E (mm)
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการการเกษตร อ.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา							
66	*Mus* SiKhiu A	male	16.9	83	80	16	13
67	*Mus* SiKhiu Jan15	female	12.2	65	57	14	14
68	*Mus* SiKhiu no.15	female	12.2	64	69	16	11
69	*Mus* SiKhiu no.21	female	9.5	65	69	11	11
70	*Mus* SiKhiu no.22	male	8.3	58	65	16	12
71	*Mus* SiKhiu no.23	female	19.4	78	83	17	14
72	*Mus* SiKhiu no.24	female	16.6	73	75	11	12
73	*Mus* SiKhiu no.25	female	16.2	76	75	17	12
74	*Mus* SiKhiu no.26	female	9.3	58	70	17	10
75	*Mus* SiKhiu no.27	female	19	70	83	15	14
76	*Mus* SiKhiu no.28	male	11.1	69	80	16	10
77	*Mus* SiKhiu no.29	male	21.1	80	60	15	12
78	*Mus* SiKhiu no.30	female	9.8	65	73	16	11
79	*Mus* SiKhiu no.31	male	14.4	72	80	17	12
80	*Mus* SiKhiu no.32	male	8.4	58	65	16	12
81	*Mus* SiKhiu no.33	male	11.3	63	77	15	11
ต. นาเกาะ อ.หล่มเก่า จ.เพชรบูรณ์							
82	Mus PhB no.01	female	13.5	73	63	19	12
83	Mus PhB no.02	female	20.2	90	51	15	10
84	Mus PhB no.03	female	18.8	88	86	18	11
85	Mus PhB no.04	female	18.4	90	66	15	11
86	Mus PhB no.05	female	9.7	78	83	18	13
87	Mus PhB no.06	male	18.2	95	76	16	10
88	Mus PhB no.07	male	13.3	75	61	14	12
89	Mus PhB no.10	female	12.5	82	82	16	10
90	Mus PhB no.14	male	22.4	94	64	14	11
91	Mus PhB no.15	male	22.7	100	70	13	13
92	Mus PhB no.17	male	20.4	95	36	15	11
93	Mus PhB no.20	male	14	82	79	16	10
94	Mus PhB no.A	male	22.22	96	71	17	11
95	Mus PhB no.B	male	31	105	35	17	12
96	Mus PhB no.C	female	12.9	79	82	16	11
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์							
97	Mus KK1	male	12.1	74	75	12	12
98	Mus KK2	male	13	76	74	11	11
99	Mus KK3	female	11.5	73	74	17	13
100	Mus KK4	male	12.4	72	74	17	14
101	Mus KK5	male	12.6	62	75	18	13
102	Mus KK6	male	11.7	75	72	18	12

Table 1 Measurements of morphological characteristics in *Mus* species in agricultural areas of Thailand in this study (continue)

sample no.	voucher no.	sex	weight (g)	HB (mm)	T (mm)	HF (mm)	E (mm)
ต. เวียง อ.เทิง จ.เชียงราย							
103	Mus Tueang 1	male	12.3	73	70	16	11
104	Mus Tueang 2	female	13.4	70	85	16	15
105	Mus Tueang 3	female	18.7	79	81	16	15
106	Mus Tueang 4	female	10.1	69	80	16	13
ต. บ่อเกลือใต้ อ.บ่อเกลือ จ.น่าน							
107	Mus BK 1	male	31.5	95	84	20	16
108	Mus BK 2	male	28.6	86	78	18	15
109	Mus BK 3	male	30.1	100	66	18	15

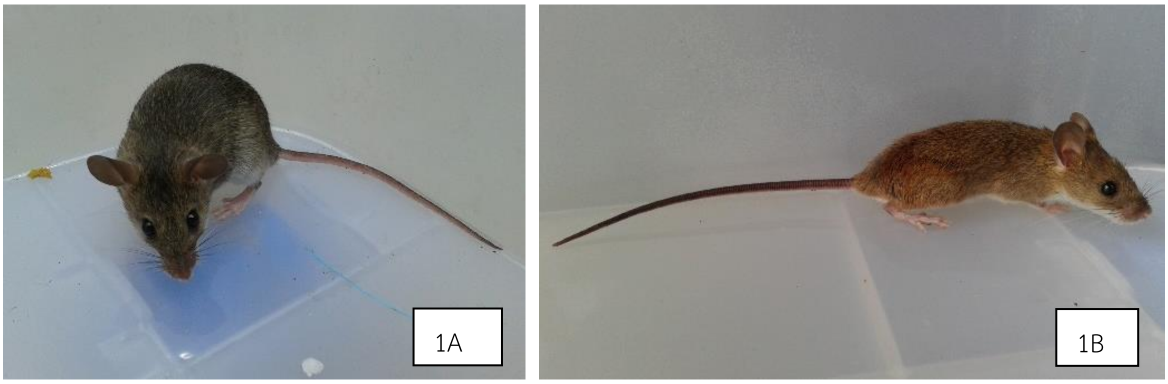

Figure 1 1A; Fawn-colored mouse: *M. cervicolor* Hodgson, 1845
1B; Ryukyu mouse : *Mus caroli* Bonhote, 1902

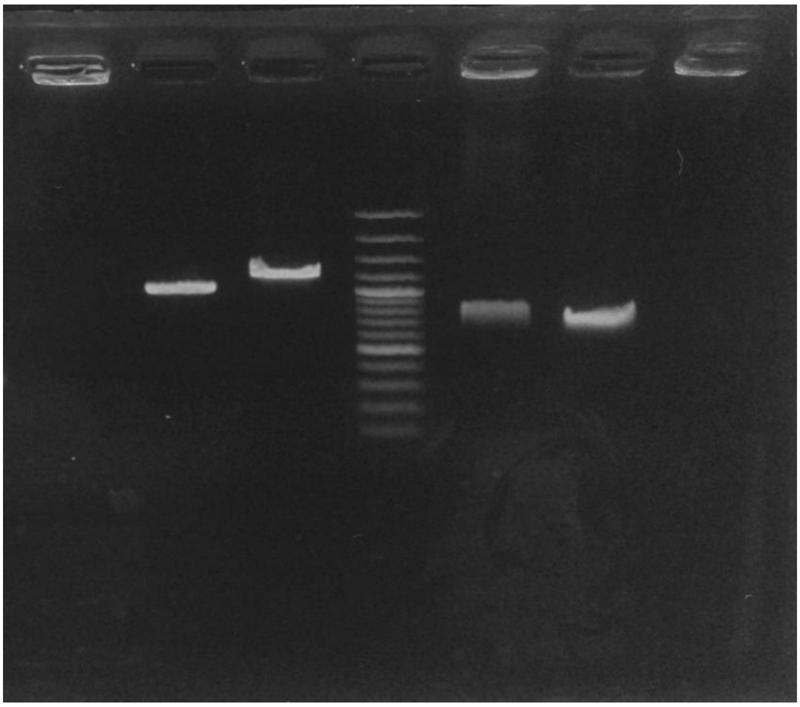

Figure 2 PCR products with the use of primer Mus cytbF/ Mus cytbR (lane 1-3) and primer Mus coI F2/ Mus coI R2 (lane 5-7), left to right lane 1,7 are negative controls, lane 2,5 are *M. caroli*, lane 3,6 are *M. cervicolor* and lane 4 is marker 100 bp.