การใช้ดีเอ็นเอบาร์โค้ดเพื่อจำแนกชนิดแมงมุมแม่ม่ายสกุล *Latrodectus* ในประเทศไทย

DNA Barcoding to Identify Spider Genus *Latrodectus* in Thailand

วิมลวรรณ โชติวงศ์[1/] คมสัน หงภัทรคีรี[2/] พิเชฐ เชาวน์วัฒนวงศ์[3/]

[1/] กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

[2/]ศูนย์ศึกษาเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลนสิรินาถราชินี

[3/]รักษาการผู้เชี่ยวชาญ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมในสกุล *Latrodectus* ของประเทศไทยบนพื้นที่ 12 จังหวัด เริ่มต้นเดือน ตุลาคม 2559 สิ้นสุด กันยายน 2562 จากนั้นนำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอนุกรมวิธานและจำแนกชนิดในห้องปฏิบัติการ โดยการใช้ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญในการจำแนกชนิด เช่น การจัดเรียงตัวของตา ลักษณะของส่วนหัวและอก ลักษณะรูปร่าง และลวดลายบนส่วนหลัง ความยาวของขาและลักษณะปล้องสุดท้ายของขาคู่ที่ 4 ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ผลจากการศึกษาพบแมงมุมแม่ม่ายสกุล *Latrodectus* 2 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มแมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาล *Latrodectus geometricus* C. L. Koch, 1841 และกลุ่มแมงมุมแม่ม่ายหลังเพลิง *L. elegans* Thorell, 1898

คำหลัก : ดีเอ็นเอบาร์โค้ด จำแนกชนิด แมงมุมแม่ม่ายสกุล *Latrodectus*

คำนำ

จ. ปราจีนบุรี พบแมงมุมสกุลแม่ม่ายที่บริเวณท่อนพันธุ์มันสำปะหลังโดยที่เกษตรกรไม่ทราบว่าเป็นแมงมุมที่เป็นอันตราย แมงมุมสกุล *Latrodectus* หรือแมงมุมแม่ม่าย (widow spider) จัดอยู่ในวงศ์ Theridiidae นับว่าเป็นแมงมุมที่มีความสำคัญทางด้านสาธารณสุขเนื่องจากเป็นกลุ่มแมงมุมที่มีพิษ พิษของแมงมุมแม่ม่ายมีชื่อเรียกเฉพาะว่า Latrotoxin มีผลหลักต่อระบบประสาท (neurotoxin) ของสัตว์มีกระดูกสันหลัง โดยพิษจะทำให้เกิดช่องว่างบริเวณปลายเซลล์ประสาท ส่งผลให้แคลเซียมไอออน (Ca2+) ไหลเข้าสู่ปลายเซลล์ประสาทซึ่งเป็นกลไกให้เกิดการปล่อยสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ตลอดเวลา ทำให้เกิดการส่งกระแสประสาทอย่างต่อเนื่องและมากกว่าปกติ ทำให้กล้ามเนื้อเกร็งจนเป็นอัมพาต ซึ่งสาเหตุการเสียชีวิตเกิดจากกล้ามเนื้อกระบังลมและกล้ามเนื้อหัวใจหยุดทำงาน (Christopher *et.al.*, 2004; Shukla and Broome, 2007) แมงมุมแม่ม่ายเป็นกลุ่มแมงมุมที่มีการแพร่กระจายกว้างขวางทั่วโลก พบได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั้ง

รหัสการทดลอง 03-30-60-01-03-00-07-60

บริเวณที่เป็นแผ่นดินใหญ่ และเกาะในมหาสมุทร (Shukla & Broome, 2007) หลายชนิดแพร่กระจายจากการติดไปกับการขนส่งสินค้าของมนุษย์ และส่วนใหญ่มักพบอาศัยอยู่ในแหล่งชุมชน ปัจจุบันทั่วโลกพบทั้งสิ้น 31 ชนิด (Platnick, 2014) โดยในทวีปเอเชียมีรายงานการพบ 4 ชนิด คือ *L. geometricus, L. erythromelas, L. hasselti* และ *L. elegans* (Schmidt & Klaas, 1991; Knoflach & van Harten, 2002; Yoshida, 2003) จากการสืบค้นเอกสารทางวิชาการ มีงานที่เกี่ยวข้องกับแมงมุมแม่ม่ายในประเทศไทย 2 เรื่อง เรื่องแรกเป็นงานวิจัยที่กล่าวถึงการพบแมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาล *L. geometricus* ในประเทศไทยตั้งแต่ปี ค.ศ. 1987 (พ.ศ. 2530) หรือเมื่อ 26 ปีที่แล้วที่ระดับความสูง 1,500 เมตร บนดอยสุเทพที่จังหวัดเชียงใหม่ (Knoflach & van Harten, 2002) และเรื่องที่สองคือบทความวิชาการในวารสารสารศิริราชปีที่ 32 ฉบับที่ 11 ซึ่งตีพิมพ์ในปี พ.ศ. 2523 รายงานว่ามีผู้ป่วยถูกแมงมุมกัดที่จังหวัดขอนแก่น และคาดว่าเป็นชนิด *L. curacaviensis* (Sucharit, 1980) แต่การวินิจฉัยและจำแนกชนิดของแมงมุมไม่มีความถูกต้องตามหลักอนุกรมวิธานแมงมุม เนื่องจากในบทความดังกล่าวกล่าวถึงแมงมุมที่มีลักษณะตัวสีน้ำตาลและมีขนบนลำตัวจำนวนมาก อาศัยอยู่บนพื้นดินและใช้เพียงความยาวของเขี้ยว (chericera) ในการจำแนกชนิดแมงมุม แต่ลักษณะดังกล่าวแตกต่างจากลักษณะของแมงมุมแม่ม่ายอย่างสิ้นเชิงโดยแมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาลไม่มีขนบนลำตัวจำนวนมากและไม่ได้อาศัยอยู่บนพื้น และที่สำคัญความยาวของเขี้ยว (chericera) ไม่สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของแมงมุมได้ อย่างไรก็ตามเอกสารเหล่านี้ไม่ได้รายงานการพบแมงมุมแม่ม่ายอย่างเป็นทางการในประเทศไทย รวมถึงไม่มีตัวอย่างแมงมุมที่ใช้เป็นหลักฐานในการตรวจสอบเพื่อยืนยันชนิด ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวจึงไม่สามารถนำมาอ้างอิงหรือใช้ประโยชน์ได้

แมงมุมแม่ม่ายสกุล *Latrodectus* ได้แยกสายวิวัฒนาการมาจากบรรพบุรุษร่วมกัน (monophyletic group) เพียงไม่กี่กลุ่ม โดยแบ่งเป็นสายวิวัฒนาการสองกลุ่มหลักๆ คือ กลุ่มสายวิวัฒนาการของแมงมุมแม่ม่ายดำ (*Latrodectus mactans* clade) และกลุ่มสายวิวัฒนาการของแมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาล (*Latrodectus geometricus* clade) นอกจากนี้ยังมีอีกหลายชนิดที่ยังหาข้อสรุปไม่ได้ โดยในแต่ละกลุ่มสายวิวัฒนาการจะมีลักษณะโครงสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ตลอดจนสีสันบนลำตัวที่คล้ายกันหรือเหมือนกัน และหลายชนิดในกลุ่มเดียวกันยังสามารถผสมพันธุ์ข้ามชนิดกันและให้ลูกที่ไม่เป็นหมันได้ ทำให้เกิดปัญหาในการจำแนกทางอนุกรมวิธานของแมงมุมกลุ่มนี้เนื่องจากเป็นกลุ่มที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกัน (complex species) (Garb *et al.*, 2004)

การจำแนกชนิดแมงมุมโดยใช้วิธีสัณฐานวิทยานั้นจะศึกษาแมงมุมระยะที่เป็นตัวเต็มวัยเท่านั้น ซึ่งวงจรชีวิตจากระยะตัวอ่อนเป็นตัวเต็มวัยใช้ระยะเวลานานประมาณ 1-2 ปี และส่วนมากแมงมุมที่พบมักจะอยู่ในระยะตัวอ่อนทำให้มีปัญหาในการจำแนกเนื่องจากอวัยวะเพศยังพัฒนาการไม่สมบูรณ์ ทำให้วินิจฉัยชนิดผิด และแมงมุมบางกลุ่มจะมีลักษณะที่ตัวผู้และตัวเมียมีขนาดรูปร่างที่แตกต่างกันทำให้ขาดข้อมูลในการวินิจฉัยชนิด ซึ่ง Platnick (2009) รายงานว่า ตัวอย่างแมงมุมที่ได้จากการจัดจำแนก 46% พบเพียงแค่เพศเดียวเท่านั้น และอีก 1.5% เป็นแมงมุมที่อยู่ในระยะตัวอ่อนโดยอาจจะ

เป็นแมงมุมที่เป็นชนิดใหม่ (new species) แต่การจำแนกโดยใช้ DNA barcoding สามารถการจำแนกชนิดแมงมุมในระยะตัวอ่อนได้ด้วย

ดังนั้นการใช้ DNA Barcoding จึงเป็นงานวิจัยพื้นฐานที่สำคัญ ทำให้ทราบถึงชนิดและเขตการแพร่กระจายของแมงมุมที่เป็นข้อมูลล่าสุดที่มีความถูกต้องและทันสมัย อีกทั้งยังเป็นข้อมูลที่ต่างประเทศยอมรับกันทั่วโลกนอกจากนี้ยังเป็นการรวบรวมและเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมของกรมวิชาการเกษตร เพื่อใช้เป็นแหล่งอ้างอิง สืบค้น ตามหลักมาตรฐานสากล

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่าง ได้แก่ สวิงจับแมลง หลอดแก้วทดลอง ขวดดองตัวอย่างแมงมุมขนาดต่างๆ กัน กล่องพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน กระดาษทิชชู่ ปากคีบ พู่กัน ถุงพลาสติกใสขนาดต่างๆ กัน สารเคมี ได้แก่ alcohol 95% ethyl acetate

2. อุปกรณ์ในการจำแนกชนิด ได้แก่ กรดแล็กติก จานแก้ว petridish ทรายละเอียด กล้องจุลทรรศน์ (stereomicroscope) tube ขนาดเล็ก ดินสอ ปากกา rotring เบอร์ 1, 2, 3 เอกสารด้านอนุกรมวิธานแมงมุมที่เกี่ยวข้อง

3. สารเคมีและอุปกรณ์ในการศึกษาดีเอ็นเอ ได้แก่ ชุดสกัดสารดีเอ็นเอ (DNA extraction kit: Isolate Genomic DNA Kit), GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas), Agarose gel (SeaKem) และ TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), NaCl, NaOH, EDTA, Proteinase K, dNTP mixture, 10X PCR buffer, สารเคมีและ primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ, Automatic pipette, บีกเกอร์, หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์, DNA Thermal Cycle, เครื่อง Electrophoresis, Gel Documentary, Gene Amp PCR

4. อุปกรณ์ในการเขียนผลงานวิจัยและเผยแพร่ ได้แก่ อุปกรณ์ในการถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์ ติดตั้งด้วยกล้องถ่ายภาพ อุปกรณ์คอมพิวเตอร์ วัสดุสำนักงาน

วิธีการ

1. การเก็บตัวอย่างแมงมุม

การศึกษาครั้งนี้มีแผนการปฏิบัติการเก็บตัวอย่างแมงมุมสกุล *Latrodectus* จากพื้นที่การเกษตร พื้นที่โกดังเก็บสินค้าและพื้นที่ป่าธรรมชาติ โดยจะเก็บรวบรวมตัวอย่างจากพื้นที่ต่างๆ ทั่วทุกภาคของประเทศไทย บันทึกพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) จับแมงมุมโดยใช้มือหรือหลอดทดลองช่วยในการจับ เก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 90% (เพื่อใช้นำไปศึกษาดีเอ็นเอบาร์โค้ด) บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับตัวอย่างแมงมุม เช่น ชื่อแมงมุม วันที่จับ สถานที่จับ ชื่อผู้จำแนกชนิด ลงในป้ายกระดาษขาวแผ่นเล็กๆ แล้วใส่ลงในหลอดแก้วที่ดองแมงมุมและนำไปเก็บที่ตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อรักษาคุณภาพของดีเอ็นเอและนำไปใช้ในการศึกษาดีเอ็นเอบาร์โคด ส่วนถุงไข่ที่เก็บได้นำมาใส่ไว้ในกล่องพลาสติกในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งตัวอ่อนฟักออกมา จากนั้น

นำไปแยกเลี้ยงเดี่ยวโดยตัวอ่อน 1 ตัวต่อกล่องพลาสติก 1 กล่องและให้แมลงหวี่เป็นอาหารจนกระทั่งตัวอ่อนเจริญเป็นตัวเต็มวัยจึงนำมาเก็บรักษาตัวอย่างแมงมุมในขวดที่บรรจุแอลกอฮอล์ 75% เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์

2. การศึกษาอนุกรมวิธาน

แมงมุมที่เก็บรักษาไว้ นำมาจำแนกเป็นวงศ์ สกุล ชนิด การจำแนกศึกษาจากตำราต่างๆ จากเอกสารเกี่ยวกับการศึกษาอนุกรมวิธานแมงมุม ถ่ายรูปและบรรยายลักษณะทางอนุกรมวิธาน ทำ key เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจำแนก เก็บและรักษาตัวอย่างแมงมุมไว้ในพิพิธภัณฑ์กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาอารักขาพืช

3. การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอ สามารถใช้ตัวอย่างสดที่เก็บได้จากแปลงโดยเก็บรักษาตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% หรือในกรณีที่ตัวอย่างสดไม่สามารถสกัดได้เราสามารถใช้ตัวอย่างแมงมุมในพิพิธภัณฑ์ที่เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 75% ได้ แต่ทั้งนี้การสกัดจะสำเร็จหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่เก็บรักษาในพิพิธภัณฑ์ด้วยการสกัดดีเอ็นเอใช้ Qiagen DNeasy Tissue Kits โดยในกรณีที่ตัวอย่างที่เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 95% สามารถใช้ขาแมงมุม 1-2 ขา แต่ถ้าเป็นตัวอย่างที่เก็บรักษาในแอลกอฮอล์ 75% ต้องใช้ขา 4 ขารวมทั้งแผ่นแข็งส่วนอกด้านบน ใส่ในหลอดเซนตริฟิวจ์ จากนั้นเติมสารทำละลายบัฟเฟอร์ ATL 180 µl และ เอ็นไซม์ย่อยสลายโปรตีน (proteinase K) 20 µl จากนั้นนำไป incubated ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส เข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ทิ้งไว้ 1 คืน เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AL 200 µl เข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วใส่ เอทานอล 99% 200 ไมโครลิตร ดูดสารละลายส่วนที่ใส 2 µl ไปที่ DNeasy Mini spin column จากนั้นนำไปเข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 8,000 รอบ/นาที 1 นาที ทำการล้าง ดีเอ็นเอ โดยการดูดสารละลายส่วนที่ใส 2 µl ไปที่ DNeasy Mini spin column เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AW1 500 µl จากนั้นนำไปเข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 8,000 รอบ/นาที 1 นาที จากนั้นล้าง ดีเอ็นเอ ครั้งที่ 2 โดยดูดสารละลายส่วนที่ใส 2 µl ไปที่ DNeasy Mini spin column เติมสารละลายบัฟเฟอร์ AW2 500 µl จากนั้นนำไปเข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 14,000 รอบ/นาที 3 นาที ทำการย้าย ดีเอ็นเอจาก silica membrane ลงในtube อันใหม่โดยดูดสารละลายส่วนที่ใส 2 ไมโครลิตรไปที่หลอดไมโครเซนตริฟิวจ์และเติมสารละลายบัฟเฟอร์ AE 200 µl จากนั้นนำไปเข้าเครื่องปั่นแรงเหวี่ยง (centrifuge) ที่ 8,000 รอบ/นาที 1 นาที ทิ้งไว้ 1 คืน

4. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ด้วยวิธี PCR เพื่อตรวจวินิจฉัยชนิดแมงมุมสกุล *Latrodectus* ไพร์เมอร์ที่ใช้สำหรับทดลองได้แก่ C1-J-1751 และ C1-N-2191 (Simon *et al.*, 1994) อ้างอิงจากการทดลองเรื่อง From a comb to a tree: phylogenetic relationships of the comb-footed spiders (Araneae, Theridiidae) inferred from nuclear and mitochondrial genes ของ Arnedo *et al.*, 2004

C1-J-1751: (5'GGAGCTCCTGACATAGCATTCCC3')

C1-N-2191: (5'CCCGGTAAAATTAAAATATAAACTTC 3')

ดำเนินการโดยใช้ชุดเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอ สำเร็จรูป Qiagen DNeasy Tissue Kits โดยใช้ ดีเอ็นเอ ตั้งต้น 1 µl (10-20 ng), ไพรเมอร์แต่ละชนิดใช้ 0.48 µM, dNTPs 0.2 mM, 0.6U Perkin–Elmer AmpliTaq DNA polymerase ซึ่งรวมสารละลายตั้งต้นปฏิกิริยาที่ใช้ทั้งสิ้น 50 µl ดำเนินปฏิกิริยา PCR อุณหภูมิรอบ (PCR thermocycler step: Initial denaturation, Denaturation, Annealing and Extention) ตามขั้นตอนดังนี้ 94^{0}C นาน 2 นาที, 94^{0}C นาน 15 วินาที, 47^{0}C นาน 20 วินาที และ 72^{0}C นาน 30 วินาที ใช้ระยะเวลา 40 รอบ หลังจากขั้นตอน PCR นำสารที่ได้ 4 ไมโครลิตร ทดสอบใน 1% w/v agarose gel และวิเคราะห์ลำดับเบสโดยนำไปเทียบเคียงกับ Database แมงมุม

เวลาสถานที่

ทำการศึกษาระหว่างเดือน ตุลาคม 2559-กันยายน 2562 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างบนพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ ราชบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ นครราชสีมา สระบุรี ขอนแก่น อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ชลบุรี ระยอง จันทบุรี ตราด

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างแมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาลบนพื้นที่ 12 จังหวัดและนำมาศึกษาอนุกรมวิธานพบว่าเป็นแมงมุมกลุ่มแม่ม่ายสีน้ำตาล *Latrodectus geometricus* จำนวน 20 ตัวอย่าง แมงมุมกลุ่มแม่ม่ายหลังเพลิง *Latrodectus elegans* จำนวน 5 ตัวอย่าง

ลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกชนิดได้แก่

1. มีตาทั้งหมด 8 ตา เรียงเป็นแถวสองแถว คือตาแถวหน้า (anterior row) และตาแถวหลัง (posterior row) แถวละ 4 ตา โดยตาข้างของตาแถวหลัง (posterior lateral eyes) แยกออกห่างจากตาคู่กลางแถวหลัง (posterior median eyes) อย่างเด่นชัด

2. แมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาล: กึ่งกลางด้านบนของส่วนท้องมีจุดรูปวงกลมหรือสามเหลี่ยมสีส้มแดง หรือสีน้ำตาลเข้ม ล้อมรอบด้วยขอบสีขาว เรียงต่อกันเป็นแถว 3 จุด เชื่อมต่อด้วยแถบสีเดียวกันพาดไปทางด้านท้ายลำตัว สองข้างของแนวกลางตัวด้านบนส่วนท้อง มีจุดสีดำ เรียงต่อกันข้างละ 4 จุด เห็นชัดในแมงมุมขนาดเล็ก ส่วนแมงมุมที่มีอายุมากจะเห็นชัดเพียงข้างละ 3 จุด แต่ละจุดมีแถบสีอ่อนเชื่อมต่อพาดไปด้านข้างของส่วนท้องเกิดเป็นลวดลายสีอ่อนสลับเข้มตัดกับสีพื้นของส่วนท้อง (ภาพที่ 4)

แม่ม่ายหลังเพลิง: ส่วนหัวรวมอก (cephalothorax) สีดำเข้ม สีพื้นของส่วนท้อง (abdomen) มีสีดำสนิท ด้านบนของส่วนท้องมีแถบสีแดงหรือสีส้มสดพาดขวางจากข้างลำตัวด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่งจำนวน 4 แถบ โดยแถบสีที่สองถึงสี่ด้านท้ายตัวเชื่อมต่อกัน แถบสีดังกล่าวมีรูปร่างคล้ายเปลวเพลิง ส่วนขามีสีดำเข้ม (Figure 2 A)

3. ด้านล่างของส่วนท้องมีแถบสีส้มหรือสีแดงรูปร่างคล้ายนาฬิกาทรายเป็นลักษณะเด่น (Figure 1 C) แต่ไม่พบลักษณะนี้ในแม่ม่ายหลังเพลิง

4. ขาปล้องสุดท้าย (tarsus) ของขาคู่ที่ 4 มีขนแข็งที่มีลักษณะโค้งงอเป็นฟันเลื่อยเรียงต่อกันเป็นแถวเห็นชัดเจนคล้ายซี่หวี (Figure 1 A)

5. ขาคู่ที่ 1 และ 4 ของแมงมุมแม่ม่ายมีความยาวมากกว่าขาคู่ที่ 2 และ 3 อย่างชัดเจน โดยขาคู่ที่ 1 มีความยาวมากกว่าขาคู่ที่ 4

6. แมงมุมแม่ม่ายสีน้ำตาล: โครงสร้างอวัยวะสืบพันธุ์มีส่วนของ spermatheca รูปร่างคล้ายดัมเบล 1 คู่ วางชิดขนานกัน (parallel spermatheca) โดย spermatheca แต่ละอัน มีกระเปาะส่วนหน้า (anterior lobes) และกระเปาะส่วนท้าย (posterior lobes) ที่มีขนาดเท่ากัน ส่วน spermatheca เชื่อมต่อกับท่อ copulatory ducts ที่ขดซ้อนกันจำนวนข้างละ 4 วง

แมงมุมแม่ม่ายหลังเพลิง: spermatheca รูปร่างคล้ายดัมเบล 1 คู่ วางตัวในลักษณะที่กระเปาะส่วนหน้า (anterior lobes) อยู่ห่างกัน และกระเปาะส่วนท้าย (posterior lobes) อยู่ชิดกัน มองดูคล้ายตัววี (V-shaped spermatheca) ส่วน spermatheca เชื่อมต่อกับท่อ copulatory ducts ที่ขดซ้อนกันจำนวนข้างละ 3 วง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานวิจัยไรและแมงมุมที่ทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

Arnedo, M.A., Jonathan C., Ingi A. and Rosemary G. G. From a comb to a tree: phylogenetic Relationships of the comb-footed spiders (Araneae, Theridiidae) inferred from nuclear and mitochondrial genes. Molecular Phylogenetics and Evolution 31 (2004) 225–245.

Cristopher J. M., Tomlinson S. R., Perestenko P. V., Pomeral D. D., Duce I.R., Usherwood N. R. and Bell D. R. 2004. Latrophilin is required for toxicity of black widow spider venom in caenorhabditis elegans. Biochem. J. (2004) 378, 185 -191.

Garb, J. E., Gonzalez, A. and Gillespie, R. G., 2004. The black widow spider genus *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae): phylogeny, biogeography and invasion history. Mol. Phylogenet. Evol. 31: 1127-1142.

Knoflach B. and van Harten A. 2002. The genus *Latrodectus* (Araneae: Theridiidae) from mainland Yemen, the Socotra Arcipelago and adjacent countries. Fauna of Arabia 19: 321-361.

Platnick, N.I. 2009. The world spider catalog, version 10.0. American Museum of Natural History, online at http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html

Platnick, N. I., 2014. The world spider catalog, version 15. American Museum of Natural History, online at http://research.amnh.org/entomology/spiders/catalog/index.html.

Schmidt, G. and P. Klaas. 1991. Eine neue *Latrodectus*-Spezies aus Sri Lanka (Araneida: Theridiidae). *Arachnol. Anz.* 14**:** 6-9.

Shukla, S. and Broome V. G., 2007. First report of the brown widow spider, *Latrodectus geometricus* C. L. Koch (Araneae: Theridiidae) from India. Curr. Sci. 93(6): 775-777.

Sucharit, S., 1980. A poisonous spider bite by *Latrodectus* sp. from Northeast Thailand. Siriraj. Hosp. Gaz. 32(11): 675-676.

Yoshida, H., 2003. The spider family Theridiidae (Arachnida: Araneae) from Japan. The arachnological Society of Japan. 224p.

Figure 1 *Latrodectus geometricus* group **A.** Distinct comb on the fourth tarsus **B**. Mature females and egg sacs **C.** hourglass pattern **D.** Natural habitat

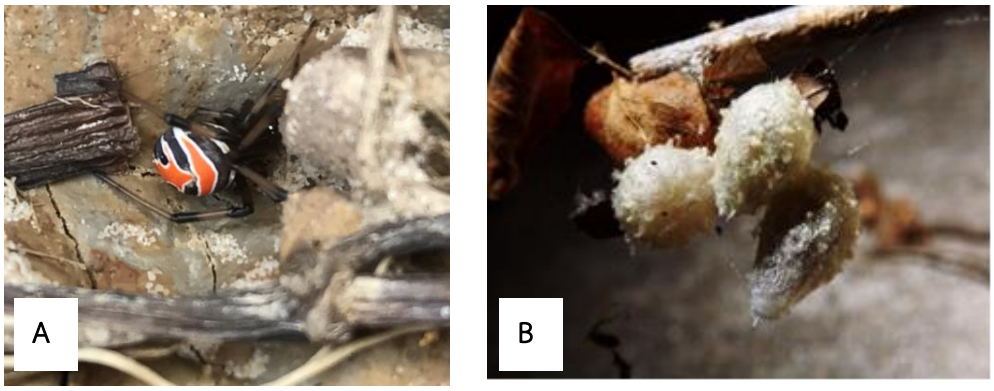

Figure 2 *Latrodectus* sp. "flame back" group **A.** Mature females **B.** Dropped-shape egg sacs