ชื่อวิทยานิพนธ์ การคัดเลือกยุง *Anopheles minimus* ที่มีความต้านทานต่อสารไพรีทรอยด์และการสอบวิเคราะห์เอนไซม์

ผู้เขียน นางสาวปิยนุช จันทร์มพร

สาขาวิชา กีฏวิทยา

ปีการศึกษา 2546

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบความไวของยุงก้นปล่องมินิมัส เอ (*Anopheles minimus* species A)ที่มีต่อสารเดลตามิทริน ตามวิธีขององค์การอนามัยโลก (WHO) โดยทำการทดสอบกับยุงทั้งหมด 19 รุ่นด้วยกัน ซึ่งในแต่ละรุ่นนั้นทำการหาค่า LD_{50} และ LD_{90} (F_0-F_{10}) หรือ LT_{50} และ LT_{90} (F_{14}-F_{19}) ด้วยวิธีการวิเคราะห์แบบโพรบิท และทดสอบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ไค-สแควร์ จากนั้นนำค่า LD_{50} หรือ LT_{50} ที่ได้ไปใช้ในการคัดเลือกยุงที่มีความต้านทานในแต่ละรุ่น พบว่าใน ประชากรของยุงรุ่นที่ 10 (F_{10}) มีค่า LD_{50} เพิ่มขึ้น 26 เท่า และค่า LD_{90} เพิ่มขึ้น 23 เท่า เมื่อเทียบกับรุ่นพ่อแม่ (F_0) ส่วนในประชากรรุ่นที่ 19 (F_{19}) นั้นพบว่าค่า LT_{50} และ LT_{90} เพิ่มขึ้น 3 เท่า เมื่อเทียบกับประชากรรุ่นที่ 14 (F_{14})

นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษากลไกการต้านทานทางชีวเคมีของยุงที่ผ่านการทดสอบต่อสารเดลตามิทริน โดยทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับเอนไซม์ 3 ชนิดคือ เอสเทอเรส (esterase) โมโนออกซิจีเนส (monooxygenases) และกลูทาไธโอน เอส-ทรานเฟอเรส (glutathione S-tranferases) ในยุงทั้งหมด 4 รุ่นด้วยกัน คือ รุ่นที่ 8, 12, 18 และรุ่นพ่อแม่ (F_8, F_{12}, F_{18} และ F_0) โดยที่ยุงรุ่น F_0 นั้นมีความไวต่อสารเดลตามิทริน ในขณะที่ยุงรุ่นอื่น ๆ นั้นมีความทนทานและ/หรือความต้านทานต่อสารเดลตามิทรินในระดับที่ต่างกันไปในแต่ละรุ่น ซึ่งจากการทดสอบพบว่ายุงแต่ละรุ่นจะมีปริมาณของเอนไซม์โมโนออกซิจีเนสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับยุงรุ่นพ่อแม่ และมีปริมาณเพิ่มขึ้น 5 เท่าในรุ่นที่ 18 และพบการเพิ่มขึ้นของเอลฟ่าและเบต้าเอสเทอเรส (alpha and betaa esterases)อย่างไม่เป็นอันดับในยุงแต่ละรุ่นเมื่อเทียบกับรุ่นพ่อแม่ ส่วนในกลูทาไธโอน เอส-ทรานเฟอเรสนั้นไม่เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการพัฒนาความต้านทานทางสรีรวิทยา (physiological resistance) ของยุงก้นปล่องมินิมัส เอ ต่อสารเดลต้ามิทรินขึ้นอยู่กับการเพิ่มปริมาณของเอนไซม์โมโนออกซิจีเนส

Thesis Title	Selection and Enzyme Assays of Pyrethroid Resistance in *Anopheles minimus* Colony
Author	Miss Piyanoot Juntarumporn
Major Program	Entomology
Academic Year	2003

Abstract

This study was conducted to test susceptibilities of *Anopheles minimus* species A mosquitoes following exposures to deltamethrin, during each of 19 generations. The LD_{50} and LD_{90} (or LT_{50} and LT_{90}) values were determined for populations from each subsequent generation by probit analysis and significant increases occuring from one generation to the next. They were analyzed by chi-square test ($P<0.01$). Selection for resistance via the World Health Organization test protocol (was by exposing), sequential generations of *An. minimus* females to LD_{50} and LT_{50} values of deltamethrin. There was approximately a 26-fold increase in the LD_{50} and a 23-fold increase in LD_{90} when the F_{10} generation was compared to the parent colony (F_1). Similarly, the LT_{50} and LT_{90} values were also increased during selection experiments from generations 14-19. There was roughly a 3-fold increase in LT50 and LT90 values of F19 females compared to F_{14} females.

In addition, enzyme-based mechanisms of insecticide resistance were performed on susceptible and resistant colonies of *An. minimus* to deltamethrin using biochemical assay. Three enzyme assays, esterase, monooxygenases and glutatione S-transferases, were performed on 4 test populations (F_0, F_8, F_{12} and F_{18}). F_0 was found completely susceptible to deltamethrin, whereas F_8, F_{12} and F_{18} demonstrated levels of tolerance/resistance to deltamethrin. Monooxygenases (MFOs) activity was continuously elevated in resistant test populations (F_8, F_{12} and F_{18}) than those from the parent colony (F_0). There was a 5-fold increase in specific activity of MFOs in F_{18} compared to the control colony (F_0). Specific activities of alpha and beta-esterases as measured by the

hydrolysis of alpha and beta-naphthyl propionate to naphthol showed it was unclear whether it is responsible for pyrethroid resistance. Glutathione S-transferases (GSTs) were not elevated in the 4 resistant test populations. Based on our results, it is more likely that the development of physiological resistance to deltamethrin may be related to elevated MFOs activity.