

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์  
ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

**Ecology and Biodiversity Studies of Ticks and their Microorganisms at  
Songkhla and Satun Provinces of Thailand**

นางสาวสุธินี ห่มยิ

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

นางสาววันวิภา หนูมา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

ผศ.วัชรีพร ฤทธิ์ชาติวนิชย์

มหาวิทยาลัยมหิดล



สำนักวิทยบริการและเทคโนโลยีสารสนเทศ  
มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

พฤษจิกายน 2559

2558A15662005

ก

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2558

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์  
ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย

**Ecology and Biodiversity Studies of Ticks and their Microorganisms at  
Songkhla and Satun Provinces of Thailand**



นางสาวสุธินี ทีมยิ

นางสาววันวิภา หนูมา

ผศ.วัชรีพร ตฤณชาติวนิชย์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา

มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดย สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัย  
ในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ  
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี 2558



เลข Bib#.....	114 006.2
วันที่.....	27 ม.ค. 2560
ลงชื่อ.....	นายวิจัยกาฬนันท์
	๕๙๕.๔ ส.๘๘๗

## บทคัดย่อ

การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลทรรศ์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทยเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลทรรศ์ในเห็บโดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) และหาลำดับเบส พบว่าพื้นที่ชุมชนต่างๆ ของจังหวัดสงขลา และสตูล มีเห็บจาก 3 สกุล จำนวน 6 ชนิด ดังนี้ *Hemahysalis wellingtoni*, *H. lagrangei*, *H. hystricis*, *Rhipicepharus sanguineus*, *R. microplus* และ *Amblyomma varanense* เมื่อศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บพบจุลชีพในกลุ่ม Babesia คือ *Babesia canis* จากเห็บสปีชีส์ *H. lagrangei* ที่เก็บได้จากโไอส์ต์คือสมเร็จซึ่งเป็นเชื้อนำโรค babesiosis สามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บ

**คำสำคัญ :** เห็บ ความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บ จุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะ ประเทศไทย

## Abstract

The ecology and biodiversity of ticks and the microorganisms found in ticks located in Songkhla and Satun, Thailand were investigated to study the relations between the ticks and the microbiota. The investigations were performed via Polymerase Chain Reaction (PCR) and DNA sequencing techniques. The results showed that there were three genus and six species of ticks including *Hemahysalis wellingtoni*, *Hemahysalis lagrangei*, *H. hystricis*, *Rhipicepharus sanguineus*, *R. microplus* and *Amblyomma varanense* found in the communities of Songkhla and Satun. In addition, one of the microflora found in *H. lagrangei* was *Babesia canis* belonging to Babesia group that isolated from the tapir hosts. *Babesia canis* was the pathogenic bacteria causing babesiosis and it can be transmitted to human. Thus, it is particularly important to study the ecology and biodiversity of ticks and their microbiota.

**keywords :** Tick, Ecology of tick, Biodiversity of tick, Tick-microorganisms, Thailand

## สารบัญเรื่อง

	หน้า
<b>กิตติกรรมประกาศ</b>	<b>๙</b>
<b>บทคัดย่อ</b>	<b>๑</b>
<b>สารบัญเรื่อง</b>	<b>๙</b>
<b>สารบัญตาราง</b>	<b>๙</b>
<b>สารบัญภาพ</b>	<b>๙</b>
<b>บทที่ ๑ บทนำ</b>	<b>๑</b>
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	๑
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	๑
ขอบเขตของโครงการวิจัย	๒
ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	๒
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	๒
<b>บทที่ ๒ เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง</b>	<b>๓</b>
การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศที่เกี่ยวข้อง	๓

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้า
<b>บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย</b>	<b>5</b>
การเก็บตัวอย่างเห็บ	5
การจำแนกชนิดของเห็บ	5
การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ	6
การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิถีของการ	8
<b>บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล</b>	<b>8</b>
นิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสงขลาและสุราษฎร์ธานี	8
เห็บและจุลินทรีย์ในเห็บ	18
<b>บทที่ 5 สรุปผล</b>	<b>22</b>
สรุปผล	22
ผลผลิต	23
รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2558	24
<b>บรรณานุกรม</b>	<b>25</b>

๙

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก

29

ประวัตินักวิจัย

31



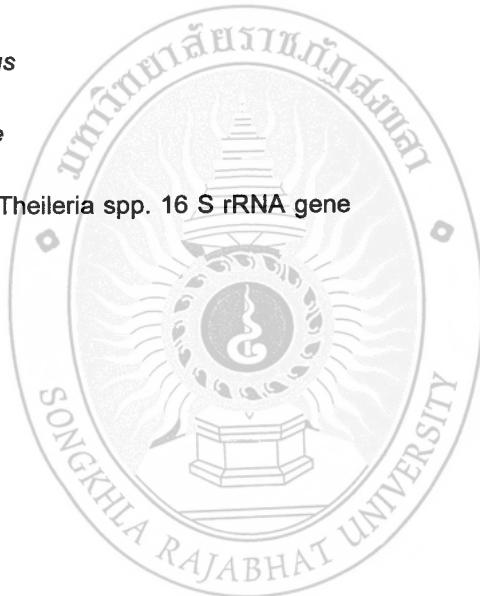
## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ระยะของเห็บและชนิดเห็บตามสัณฐานวิทยาจากโไฮสต์ชนิดต่าง ๆ ในจังหวัดสตูลและสงขลา	13
2 เห็บชนิดต่าง ๆ ที่จำแนกจากโไฮสต์ในจังหวัดสตูลและสงขลา	16
3 ร้อยละชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสงขลา	19
4 ร้อยละชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสตูล	20



## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 <i>Hemahysalis wellingtoni</i>	10
2 <i>Hemahysalis lagrangei</i>	10
3 <i>Rhipicepharus sanguineus</i>	10
4 <i>Rhipicepharus microplus</i>	10
5 <i>Amblyomma varanense</i>	11
6 Phylogenetic tree ของ <i>Theileria</i> spp. 16 S rRNA gene	21



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความสำคัญและที่มาของปัญหา

จังหวัดสงขลาและสตูลเป็นเขตจังหวัดชายทะเลในภาคใต้ของประเทศไทยมีเขตแดนติดต่อกับจังหวัดชายแดนภาคใต้ และเป็นพื้นที่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจกล่าวคือ เป็นแหล่งเศรษฐกิจ การท่องเที่ยวและมีชุมชนขนาดใหญ่อ่าศัยอยู่ในห้องถินนี้ เช่น อำเภอหาดใหญ่ เป็นต้น โดยลักษณะพื้นที่ที่มีทั้งป่าเข้าชายฝั่งทะเลและชุมชนบ้านเมืองของมนุษย์ เป็นแหล่งอาศัยของพากหะนำโรคที่กล่าวถึงในที่นี้คือเห็บและจุลชีพในเห็บได้เป็นอย่างดี เช่น เห็บจากปศุสัตว์เป็นพาหนะนำเชื้อโรคหลายชนิดทั้งในกลุ่มแบคทีเรียและปรอตอซัว ซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียคุณค่าทางเศรษฐกิจมากมายในแต่ละปี เห็บจากสัตว์เลี้ยง เช่น หมาแมว และเห็บป่า ซึ่งอาศัยอยู่ในสัตว์ป่าตามระบบนิเวศของผึ้นป่าซึ่งเป็นแหล่งท่องเที่ยวของมนุษย์ โดยโรคในสัตว์ที่เกิดขึ้นจากพาหนะชนิดนี้ มีหลายชนิด เช่น anaplasmosis, babesiosis, ehrlichiosis และ rickettsiosis สามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยา และความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บในท้องที่นี้ เพราะมีการศึกษาในเรื่องเหล่านี้น้อยมาก จนทำให้การเรียนรู้ การควบคุมเห็บพาหนะนำโรคและโรคที่เกิดจากเห็บในท้องที่ไม่สามารถทำได้หรือ ไม่เคยเป็นที่รู้จักเลยถึงจะมีโรคต่าง ๆ ดังกล่าวแฝงตัวและเกิดขึ้นแล้วในชุมชนก็ตาม ซึ่งเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขและสุขภาพทำให้สูญเสียทรัพยากรมนุษย์ และบุประมาณแผ่นดินเป็นอย่างมาก ที่อาจได้ข้อมูลที่สำคัญในการป้องกันต้านต่อของโรคและการแก้ไขปัญหาอย่างมีประสิทธิภาพ

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1) เพื่อศึกษาระบบนิเวศและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย
- 2) เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลา และสตูลของประเทศไทย
- 3) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลินทรีย์ในเห็บและข้อมูลพื้นฐานของ การกระจายเชื้อก่อโรคในท้องถินดังกล่าว

4) เพื่อศึกษาวิัฒนาการของเห็บและเชื้อในเห็บในท้องถิ่นดังกล่าว

#### ขอบเขตของโครงการวิจัย

ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บ และจุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะในชุมชน จังหวัด สангขลาและสตูลของประเทศไทย และพิจารณาถึงกลไกพื้นฐานของการเกิดโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งการ ถ่ายทอดของจุลชีพก่อโรคที่มีเห็บเป็นพาหะซึ่งอาจมีผลกระทบมาจากชนิดของเห็บและระบบนิเวศจำเพาะ ซึ่งเป็นแหล่งอาศัยของมนุษย์ รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ทางวิัฒนาการของเห็บและจุลชีพก่อโรค ที่มีเห็บเป็น พาหะโดย Phylogenetic analysis

#### ทฤษฎี สมมติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

ในชุมชนจังหวัดสangขลาและสตูลของประเทศไทย มีความหลากหลายของเห็บและจุลชีพก่อโรคที่มี เห็บเป็นพาหะชนิดใหม่ๆ ที่ยังไม่ได้มีการค้นพบหรือถูกรายงานหลายชนิด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ เช่น การเผยแพร่ในวารสาร จดสิทธิบัตร ฯลฯ และหน่วยงานที่นำผลการวิจัย ไปใช้ประโยชน์

#### ด้านวิชาการ: เผยแพร่ผลงานวิจัย

**ด้านสังคมและชุมชน:** รู้จักเห็บชนิดต่าง ๆ และเชื้อที่มีเห็บเป็นพาหะเพื่อความเข้าใจที่ ถูกต้อง การตระหนักรู้ถึงปัญหาที่อาจเกิดขึ้น การป้องกัน และแก้ไขปัญหาในท้องถิ่น

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

เห็บเป็นพาหะที่มีความสำคัญทางการแพทย์เป็นอย่างมาก ซึ่งอยู่ในกลุ่มสัตว์ขาปล้อง (Arthropoda) อยู่ในคลาส Arachnida มีบทบาทเป็นปรสิตภายนอกร่างกายของสัตว์มีกระดูกสันหลังหลายชนิด และมีบทบาทในการระบาดวิทยาเนื่องจากเป็นที่อยู่อาศัยของจุลชีพก่อโรคหลายกลุ่ม ทั้งแบคทีเรีย ปรอโตซัวและไวรัส ในระหว่างที่เห็บดูดกินเลือดสัตว์ชนิดต่าง ๆ จุลชีพจะสามารถถ่ายทอดไปสู่สัตว์ตัวอื่น ๆ ได้ ทำให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อโรคและมีโอกาสถ่ายทอดมาสู่คนได้เช่นกัน

สำหรับโรคที่มีเห็บเป็นพาหะในประเทศไทยมีหลายชนิด บางชนิดเกิดการแพร่กระจายอยู่ในป่า เนื่องจากอาศัยสัตว์ป่าเป็นรังโรค และมีบางชนิดพบว่าแพร่ระบาดในสัตว์เลี้ยงที่อยู่ใกล้ตัวเรา สำหรับโรคที่มีเห็บเป็นพาหะ ที่พบได้ในป่า ตามพื้นที่อุทยานแห่งชาติหรือเขตราชอาณาจักรสัตว์ป่า ได้แก่ โรคไทฟัส (typhus) ซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียกลุ่มริกเกตเซีย (Rickettsia) เป็นสาเหตุจากการศึกษาด้าน seroepidemiology ในประเทศไทย พบว่า ประมาณ 3-30% ของผู้ป่วยที่เป็นไข้ไม่ทราบสาเหตุ เกิดจากการติดเชื้อริกเกตเซีย และจากรายงานของสุภาษณ์ และคณนะเมื่อปี 2548 พบว่ามีเห็บแข็งชนิด *Haemaphysalis ornithophila* ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเข้าใหญ่และเขตราชอาณาจักรสัตว์ป่าเข้าอ่างฤาไน และเห็บแข็งชนิด *Amblyomma testudinarium* ในพื้นที่อุทยานแห่งชาติเข้าใหญ่ มีเชื้อกลุ่มริกเกตเซียนี้ด้วยด้วยเช่นกัน นอกจากจุลชีพก่อโรคที่มีอยู่ในพื้นที่แล้ว โอกาสที่จะแพร่มาสู่คนนั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอีกหลายประการ หนึ่ง ในนั้นก็คือ ชนิดของเห็บที่มีอยู่ในพื้นที่ การที่มีเห็บหลากหลายชนิดและชุกชุมย่องเพิ่มโอกาสในการแพร่กระจายของโรคได้มากขึ้น จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความชุกชุมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมกับความหลากหลายชนิดและการกระจายตัวของเห็บแข็งในอุทยานแห่งชาติเข้าใหญ่ โดยภาวนี อริยะกุลวงศ์ และคณะ (2549) พบว่ามีเห็บแข็งจำนวน 8 ชนิด จาก 3 ศักดิ์ และชนิดที่พบมากที่สุดคือ *Haemaphysalis lagrangei* สำหรับโรคติดต่อที่มีเห็บเป็นพาหะ ที่พบในสัตว์เลี้ยงไม่ว่าจะเป็น สุนัขหรือแมวนั้นมีรายงานในอัตราไม่สูงมากนัก ยกตัวอย่างเช่น จากผลงานการวิจัยของอนุชัย นิเวศน์ ปฐมวัฒน์ และคณะเมื่อปี 2549 ได้รายงานว่าพบโรค ehrlichiosis และ babesiosis ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรียที่มีเห็บเป็นพาหะในตัวอย่างเลือดสุนัขจากพื้นที่กรุงเทพมหานคร ในอัตรา้อยละ 4.8 และ 0.8 ตามลำดับ นอกจากนี้แล้วยังมีรายงานการพบ จุลชีพในกลุ่มบาร์บีเซีย (*Babesia*) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค babesiosis ในแมวเขตพื้นที่

กรุงเทพมหานคร และในโคอนเมเนตจังหวัดราชบุรี รายงานโดยสถาพร จิตตปาลพงศ์ และคณะ สำหรับเชื้อในกลุ่มน้ำบีชียมีรายงานพบบ่อยในเห็บวัว (*Rhipicephalus microplus*)

โรคที่มีเห็บเป็นพาหะในประเทศไทยนั้น ถือว่ายังมีการศึกษาวิจัยไม่แพร่หลายนัก แต่นับว่ามีความสำคัญต่อสุขภาพ การแพทย์ ไปจนถึงการปศุสัตว์และอุตสาหกรรมซึ่งมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เห็บจึงถือเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีบทบาทสำคัญในระบบอนามัยของเราและมีความเกี่ยวข้องในด้านระบบวิทยาเป็นอย่างยิ่ง



## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### การเก็บตัวอย่างเห็บ

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยเก็บตัวอย่างเห็บจากพื้นที่ชุมชนต่าง ๆ ในจังหวัดสงขลา และ สตูล ของประเทศไทย ตัวอย่างเห็บจะถูกเก็บแบบสุ่มและถูกบันทึกรายละเอียดต่าง ๆ เช่น พิกัดของสถานที่ ระบบนิเวศ และสภาพอากาศ แล้วจึงเก็บตัวอย่างในหลอดพลาสติกที่มีช่องเปิดให้อากาศผ่านได้ จากนั้นนำเห็บมาแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C เพื่อบังกันการเสื่อมสภาพของสารพันธุกรรม (ตีเร็นเอและอาร์เอ็นเอ)

#### การจำแนกชนิดของเห็บ

ตัวอย่างเห็บทั้งหมดจะถูกจำแนกและแบ่งกลุ่มเบื้องต้นในภาคสนาม โดยขณะเดียวกันจะถูกแยกเป็นรายต่าง ๆ โดยรายตัวอ่อนเห็บจะมีขาเพียงสามคู่ ซึ่งแตกต่างจากตัวกลางวัยและตัวเต็มวัยมีขาสี่คู่ เห็บในรายตัวกลางวัย ไม่มีช่องเปิดอวัยวะสืบพันธุ์ (genital opening) ทางด้านท้องของลำตัว ซึ่งช่องเปิดนี้จะปรากฏในตัวเต็มวัยเห็บนั้น จากนั้นระบุเพศของเห็บแต่ละตัวโดยพิจารณาจากลักษณะของ scutum ซึ่งเป็นโครงสร้างแข็งที่ปักคลุมร่างกายด้านหลังของเห็บ ในเห็บเพศเมีย scutum จะปักคลุมเฉพาะด้านบนของลำตัวทางด้านหน้าในขณะเดียวกับเห็บเพศผู้ scutum จะปักคลุมด้านบนของลำตัวทั้งหมด

การจำแนกชนิดของเห็บแต่ละตัวจะทำในห้องปฏิบัติการตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยอ้างอิงตามเอกสารทางวิชาการดังนี้

1. Tanskul, P and Inlao, I (1989). Key to The Haemaphysalis Koch, 1844, in Thailand with Note on Changes in Taxonomy (Acari: Ixodoidea: Ixodidae). J. Med. Entomol. 26(6): 573-601
2. Cornet, JP (2002). Laboratory and Field Documents Volume 1 Ticks of Thailand: A Field Key.

การจำแนกชนิดของเห็บในระดับโมเลกุลจะถูกเลือกใช้ตามความเหมาะสม เช่น ในการกลุ่มเห็บชนิดที่มีความซับซ้อนและยากแก่การจำแนกด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลต่าง ๆ เช่น PCR, DNA extraction, Gel electrophoresis, DNA sequencing

## การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ

การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ในร่างกายเห็บทำได้โดยการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR) ของจุลชีพที่สนใจ ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยจะศึกษาจุลชีพในกลุ่มที่เป็นจุลชีพก่อโรคที่เคยมีรายงานว่าอาศัยอยู่กับเห็บ ซึ่งเป็นแบคทีเรียในกลุ่มริกเกตเซีย *Rickettsia* spp. ที่ก่อให้เกิดโรค rickettsial diseases มีความสำคัญต่อสุขภาพและการแพทย์เป็นอย่างมาก มีรายงานว่าพบการกระจายตัวของเชื้อริกเกตเซียในหลายพื้นที่ทั่วโลก (Tsui et al., 2007) ทำให้มีความน่าสนใจที่จะศึกษาเชื้อชนิดนี้ในประเทศไทย จุลชีพกลุ่มต่อมาก็มีความน่าสนใจ ได้แก่ *Wolbachia* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ร่วมกับสัตว์ข้าปล้องและแมลงหลายชนิด (Kittayapong et al., 2008) ทำให้มีความน่าสนใจที่จะศึกษาจุลชีพกลุ่มนี้ในเห็บ ซึ่งจะเป็นข้อมูลใหม่ที่มีประโยชน์และเป็นความรู้ในทางวิัฒนาการร่วมของจุลชีพกับสัตว์ข้าปล้องและแมลงต่าง ๆ การศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บนั้น นอกเหนือจากนี้ จะมีการตรวจเพิ่มแบคทีเรียและปรอโทฟ้ำชนิดอื่นๆเพิ่มด้วย ประกอบด้วยขั้นตอนย่อย ๆ ดังนี้

3.1 สกัดดีเอ็นเอเห็บ เนื่องจากงานวิจัยนี้มีความสนใจศึกษาจุลชีพที่อยู่ภายในเห็บจึงต้องกำจัดสิ่งเปื้อนภายนอกตัวเห็บ โดยล้างด้วย 70% เอทานอล 3 ครั้ง แล้วล้างในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ 3 ครั้ง แล้วล้างผ่านน้ำกลันอีก 3 ครั้ง จากนั้น ผ่าเห็บออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ และลุบด้วยสารละลาย STE (Sodium Chloride-Tris-EDTA) ปริมาณ 100 μl 1 นาทีแล้วตั้งที่อุณหภูมิ 95°C นาน 5 นาที บีบแห้งที่อัตรา 12,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที แล้ววางไว้บนน้ำแข็ง นาน 2 นาที จากนั้นเก็บไว้ที่ความเย็น -20°C

3.2 ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยวิธี PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 16s+1 ซึ่งมีลำดับเบสดังนี้ 5'CTGCTCAATGATTTTAAATTGCTGTGG3' และ 5'CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT3'

โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งเป็นปฏิกิริยา ในปริมาตรรวม 20 μl ดังนี้

- 1) ddH<sub>2</sub>O 11.2 μl
- 2) 10Xbuffer (Fermentas) 2 μl
- 3) 25 mM MgCl<sub>2</sub> 2 μl
- 4) 10 mM dNTP 0.5 μl
- 5) 10 mM forward primer 1 μl
- 6) 10 mM reverse primer 1 μl
- 7) DNA template 2 μl
- 8) Taq polymerase 0.3 μl

### สำหรับการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมใช้อุณหภูมิ ต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

Pre-heating	94 °C เป็นเวลา 2 นาที	1 รอบ
Denaturation	94 °C เป็นเวลา 45 วินาที	
Annealing	55 °C เป็นเวลา 45 วินาที	
Extension	72 °C เป็นเวลา 45 วินาที	
Final extension	72 °C เป็นเวลา 7 นาที	1 รอบ (V. Roux and D. Raoult, 2000)

จากนั้นแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจลオリอิเล็กโทรฟอร์ซิส โดยใช้อุ่นไกโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอ็อดทิเดียมโบรมายด์ ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาทีโดย แบนด์ที่สนใจมีขนาด 460 bp.

3.3 นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตรวจสอบแล้วพบว่ามีดีเอ็นเอของเห็บมากพอ มาใช้เป็นเทมเพลตในการ เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอกลุ่ม *Rickettsia* spp. และ *Wolbachia* spp.

- กลุ่ม *Rickettsia* spp. (ทั้งกลุ่ม Spotted fever และ typhus) ใช้ไพรเมอร์ Rr 17 ซึ่งมีลำดับเบสตั้งนี้ 5' GCTCTTGCAACTTCTATGTT 3' และ 5' CATTGTTCAGGTTGGCG 3' โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยา ในปริมาตรรวม 20 μl ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ในข้อ 3.2 แต่เปลี่ยน อุณหภูมิต่าง ๆ ดังนี้

Pre-heating	94 °C เป็นเวลา 30 วินาที	1 รอบ
Denaturation	94 °C เป็นเวลา 30 วินาที	
Annealing	52 °C เป็นเวลา 30 วินาที	
Extension	72 °C เป็นเวลา 2 นาที	
Final extension	72 °C เป็นเวลา 5 นาที	1 รอบ (Noda et al., 1997)

แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจล อิเล็กโทรฟอร์ซิส โดยใช้อุ่นไกโรสเจล 1% ย้อมสีด้วยแอ็อดทิเดียมโบรมายด์ ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาที โดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 434 bp. จากนั้น นำตัวอย่างดีเอ็นเอที่ตรวจสอบแล้วพบว่ามี ดีเอ็นเอของริกเกตเซียช่วงอาจเป็นกลุ่ม Spotted fever หรือ typhus มาใช้เป็นเทมเพลตในการเพิ่มปริมาณดี เอ็นเอริกเกตเซียกลุ่ม Spotted fever ต่อไปโดยใช้ไพรเมอร์ RCSF ซึ่งมีลำดับเบสตั้งนี้ 5' TTTGTAGCTCTCATCCTATGGC 3' และ 5' CCCAAGTTCCCTTAATACTTCTTGC 3' โดยมี

ส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยาในปริมาตรรวม 20 μl ที่ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ในข้อ 3.2 แต่ใช้อุณหภูมิต่างๆ ดังนี้

Denaturation: 94 °C เป็นเวลา	1 นาที 35 รอบ
Annealing: 50 °C เป็นเวลา	1 นาที 1 รอบ
Extension: 72 °C เป็นเวลา	1 นาที 1 รอบ (สุภาณี และคณะ, 2003)

แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีเจล อิเล็กโทรฟอร์เซส โดยใช้อ่องกาโรสเจล 1% ย้อมสีตัวย้ายแอดทิเดียมบอร์มายด์ ใช้ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 30 นาที โดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 617 bp.

- กลุ่ม *Wolbachia* spp. ใช้ไพรเมอร์ ftsZ 5' GTATGCCGATTGGAGAGCTTG 3' และ 5' GCCATGAGTAATGACTTGGCT 3' โดยมีส่วนประกอบต่อหนึ่งปฏิกิริยา ในปริมาตรรวม 20 μl และ อุณหภูมิต่าง ๆ ที่ใช้เหมือนกับไพรเมอร์ Rr17 แล้วแยกขนาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสาร พันธุกรรมด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรฟอร์เซส โดยใช้อ่องกาโรสเจล 1% ย้อมสีตัวย้ายแอดทิเดียมบอร์มายด์ ใช้ความ ต่างศักย์ 100 โวลต์นาน 30 นาที โดยแบนด์ที่สนใจมีขนาด 769 bp.

3.4 หาลำดับเบสของดีเอ็นเอ ซึ่งจำเพาะกับไพรเมอร์ต่าง ๆ จาก PCR product ที่ purify ด้วยชุด Nucleospin Extract II จากนั้นเปรียบเทียบลำดับเบสที่ได้โดยใช้ Blast search เปรียบเทียบกับฐานข้อมูล ของ NCBI : <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>

#### การศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ

การสร้าง Phylogenetic tree เพื่อศึกษาวิวัฒนาการเริ่มต้นด้วยการใช้สายนิวคลีโอไทด์ของยีน เป้าหมายเพื่อสืบหาสายนิวคลีโอไทด์ที่มีความคล้ายกันของลำดับเบส ในฐานข้อมูล nr/nt ในฐานข้อมูล NCBI โดยนำสายนิวคลีโอไทด์ 50 ลำดับแรกที่มีความเหมือนกันมากที่สุดมาคัดกรอง เส้นที่มีค่า Percent Identity Matrix (ที่คำนวณจากโปรแกรม ClustalW) น้อยกว่า 92% ออก จากนั้นนำสายนิวคลีโอไทด์ที่เหลือ 26 เส้นและสายดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายไปทำ multiple sequence alignment โดยใช้โปรแกรม ClustalW ผ่านโปรแกรม MEGA 7 แล้วจึงนำผลการทำ alignment ไปสร้าง Phylogenetic tree โดยวิธีการ Neighbor-joining และวิเคราะห์ความน่าเชื่อถือของกิ่งต่างๆ ใน Tree โดยวิธีการ Bootstrap ผ่านการทำซ้ำ 1000 รอบ โดยใช้ MEGA 7

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

นิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บในจังหวัดสระบุรีและสตูล

#### 1. ชนิดของเห็บ

จากการสำรวจในพื้นที่ชุมชนต่าง ๆ ของจังหวัดสระบุรีและสตูลพบเห็บที่รวมรวมจากโขสต์ได้จำนวน 620 ตัว จำแนกได้ 3 สกุล จำนวน 6 ชนิด ดังนี้ *Hemahysalis wellingtoni* พบบนลำตัวไก่, *H. lagrangei* พบบนลำตัวสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ, *H. hystricis* พบบนลำตัวสุนัข, *Rhipicepharus sanguineus* พบบนลำตัวสุนัข, *R. microplus* พบบนลำตัววัวและสุนัข และ *Amblyomma varanense* พบบนลำตัวตะ瓜ด (ตารางที่ 2) มีรายละเอียดของรูปร่างลักษณะภายนอกของเห็บแต่ละชนิด ดังนี้

- 1) *Hemahysalis wellingtoni* พบในไก่ พัลป์สันและกว้าง ตรงฐานของปล้องที่ 2 มีสันยื่นออกมามี basis capitulum รูปสี่เหลี่ยมหนามของ palpi ปล้องที่ 3 ส่วนล่างของลำตัว (Posteroventral spur) มีลักษณะปลายแหลมซึ่งนิ่งเข้าด้านในติดกับส่วนของ Hypostome (ภาพที่ 1)
- 2) *H. lagrangei* พบในสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ เพศเมียจะมีแผ่น scutum ปักคู่ลุमส่วนหน้า มีรูปร่างกลมๆ คล้ายรูปไข่ ลำตัวมีสีน้ำตาลแดง จะมี basis capitulum เป็นรูปสี่เหลี่ยม เป็นเห็บปากสัน เห็บในสกุลนี้จะเป็นเห็บที่ไม่มีตาทั้งเพศผู้ และเพศเมีย และมี anal groove หนามของ palpi ปล้องที่ 3 ส่วนล่างของลำตัว (Posteroventral spur) มีลักษณะยาวปลายแหลมยื่นออกมายังทันทีของ palpi ปล้องที่สอง (ภาพที่ 2)
- 3) *R. sanguineus* พบในสุนัขเห็บสกุลนี้มีลักษณะคล้ายเห็บในสกุล *Boophilus* แต่มี festoons สำหรับมีสีน้ำตาลแดงเป็นเห็บปากสันมี basis capitulum รูปร่างเป็นรูปหกเหลี่ยมเพศเมียจะมีแผ่น scutum ปักคู่ลุมส่วนหน้า มีลักษณะเป็นรูปกลมรี มีเส้นขนรอบตัว มี genital groove ส่วน adanal plate มีลักษณะคล้ายสามเหลี่ยม หรือคล้ายเม็ดถั่วเขียว (ภาพที่ 3)
- 4) *R. microplus* พบในวัวและสุนัข มีสีน้ำตาลแดง รูปร่างคล้ายถั่วแดง เป็นเห็บปากสัน basis capitulum รูปหกเหลี่ยม pedipalp จะอัดแน่นขึ้นกัน ส่วนของ cheliserae จะยาวกว่า pedipalp และมีเส้นขนอยู่ส่วนปลาย มีแผ่น scutum ปักคู่ลุมทั้งลำตัวส่วนเห็บตัวเมียจะปักคู่ลุมเฉพาะส่วนหน้าระหว่างตัวกลางวัยมี genital groove เจริญไม่เต็มที่ ส่วนระยะตัวเดิมวัย genital groove เจริญเต็มที่ไม่มี festoons ด้านหลังมี median groove อยู่ตรงกลางคันระหว่าง marginal groove ทั้ง 2 ข้างพับ anal groove ล้อมรอบทวารหนัก มี adanal plate 1 คู่ อยู่บริเวณทวารหนักทางตอนท้ายด้านหลัง และด้านท้องมีขนเล็ก ๆ ตามลำตัว เพศผู้มีทางเล็ก (caudal process) 1 ทาง อยู่ท้ายลำตัว (ภาพที่ 4)

5) *Amblyomma varanense* พบรูปในตะกรุด มีขนาดใหญ่ที่สุด มีสีสันลดลายบนลำตัว ขยายรวมແນบพາດ ดັວຜູ້ໄມ້ມີ ventral plate ປາກຈະຍາວ ພັລັບປັບລັອງທີ່ 2 ຍາວກວ່າປັບລັອງທີ່ 3 ມີຕາມແຂອນ scutum (ກາພທີ່ 5)



ກາພທີ່ 1 *Hemahysalis wellingtoni* (A, female B, male)



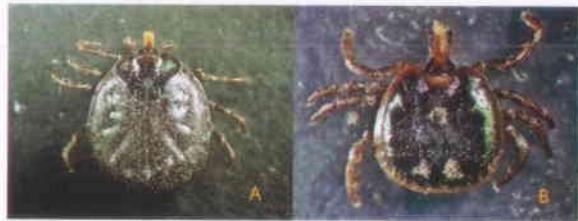
ກາພທີ່ 2 *Hemahysalis lagrangei* (A, female B, male)



ກາພທີ່ 3 *Rhipicepharus sanguineus* (A, female B, male)



ກາພທີ່ 4 *Rhipicepharus microplus* (A, female B, male)



ภาพที่ 5 *Amblyomma varanense* (A, female B, male)

## 2. นิเวศวิทยา ระยะและจำนวนของเห็บที่ศึกษาในพื้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานีและสตูล

ตัวอย่างเห็บที่ศึกษาจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีและสตูลมีจำนวนทั้งหมด 620 ตัว โดยพบ 3 ระยะ ได้แก่ ระยะตัวอ่อน ตัวกลางวัย และตัวเต็มวัย ซึ่งเก็บได้จากไฮสต์ 7 ชนิด คือ ไก่ วัว สุนัข แพะ กวาง ตะ瓜ด และสมเสร็จ และจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่ใช่สัตว์โดยการเดินป่า แบ่งเป็น ตัวเต็มวัย 546 ตัว (ร้อยละ 88.06) ระยะตัวกลางวัย 64 ตัว (ร้อยละ 10.32) และ ระยะตัวอ่อน 10 ตัว (ร้อยละ 1.61) (ตารางที่ 1) จังหวัดสุราษฎร์ธานีและสตูลมีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิตและการเจริญเติบโตของเห็บ 6 ชนิดเป็นอย่างดี จากการสังเกตุจะน้ำที่สำรวจน้ำในชุมชนที่สำรวจประกอบอาชีพ เลี้ยงวัว เลี้ยงไก่ รวมทั้งเลี้ยงสุนัขเป็นสัตว์เลี้ยง ทั้งแบบกักขัง สัตว์ภายในครัว และปล่อยอิสระ และมีทุ่งหญ้าสำหรับที่หากินของสัตว์เลี้ยง โดยการพบรเห็บในไฮสต์แต่ละชนิดมีความจำเพาะโดยจากการศึกษาพบ *Hemahysalis wellingtoni* ได้ในกลุ่มสัตว์ปีก คือไก่ ส่วน *R. microplus* เป็นเห็บที่มีความจำเพาะต่อวัว ควาย พื้นที่ที่สำรวจมีการเลี้ยงวัวเป็นส่วนใหญ่ แต่จากการศึกษา น้ำที่สำรวจน้ำในสุนัขด้วยซึ่งเคยมีรายงานพบเห็บชนิดนี้ในสุนัข (Nithikathkul et al., 2002) อาจเนื่องจากเห็บชนิดนี้ แพร่กระจายจากวัวสุนัขเนื่องจากไฮสต์ทั้ง 2 ชนิดมีความใกล้ชิดในบริเวณพื้นที่เดียวกัน ส่วน *R. sanguineus* มีสุนัขเป็นไฮสต์หลัก ไข่และตัวอ่อนสามารถทนอุณหภูมิต่ำที่ -8 องศาเซลเซียสได้ถึง 60 วัน (Dantas-Torres et al., 2010) และสามารถมีชีวิตที่อุณหภูมิสูงได้ (Adejinmi & Akinboade, 2011) จึงมีชีวิต รอดในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย และกระจายอยู่ทั่วไปอีกทั้งพื้นที่ที่สำรวจมีสภาพพื้นที่เป็นเมืองมีที่อยู่อาศัยของประชาชนค่อนข้างมากสุนัขที่เลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบกักขังภายในเขตวิภาณเห็บก็จะวางไข่ภายใน บริเวณบ้าน ดังนั้นการติดเห็บของสุนัขจึงมีโอกาสสูงเห็บที่ฟักออกมากจากไข่ที่อยู่ในบริเวณบ้านเก่าๆ ดูดเลือด นอกจากนี้เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะสามารถเกาะกับผิวนังของคนได้ดียิ่งขึ้น (Parola et al., 2008) จากความสามารถในการเป็นพาหะที่สำคัญของเชื้อโรคต่าง ๆ และสามารถเกาะผิวนังของคนได้ดี ประกอบกับ จังหวัดสุราษฎร์ธานีและสตูลเป็นพื้นที่ที่มีอุณหภูมิสูงตลอดทั้งปีจึงมีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อต่าง ๆ เช่น *A. marginale*, *B. canis* และ *Coxiella burnetii* ซึ่งมี *R. sanguineus* เป็นพาหะ (Dantas-Torres et al., 2010) หากน้ำที่สำรวจน้ำในสุนัขเป็นเห็บแข็งที่มีถิ่นอยู่อาศัยในป่าสามารถเปลี่ยนไฮสต์อาศัยได้หลาย

ชนิดประกอบกับสภาพพื้นที่ที่เป็นทุ่งหญ้าและป่าจึงเหมาะสมกับการเจริญของเห็บ (ภาวนี อริยะกุลวงศ์, 2549; Hoogstraal et al., 1973) ซึ่งจากการสำรวจ *H. lagrangei* บนลำตัว แพะ กวาง และสมเสร็จ โดยสภาพพื้นที่ที่ออกสำรวจเป็นทุ่งหญ้าซึ่งติดกับพื้นที่ป่า ส่วนที่พบในสุนัขเนื่องจากสุนัขอาจเป็นโภสต์ที่ถูกเห็บชนิดนี้อาศัยโดยบังเอิญ เพราะในชุมชนมีทั้งที่เลี้ยงสุนัขภายในบ้านและปล่อยอิสระ และ *A. varanense* พบรอบน้ำตัวตะ瓜ด ซึ่งเห็บสกุล *Amblyomma* มีรายงานพบในกลุ่มสัตว์เลี้ยงคลานบางชนิด และพบว่ามีเชื้อก่อโรคในกลุ่ม spotted fever rickettsiae (Sumrandee et al., 2014)



ตารางที่ 1 ระดับของเห็บและชานิดเห็บตามสัณฐานวิทยาจากโอลเดอร์ชnidต่าง ๆ ในจังหวัดสตูลและสงขลา

Location	Host	Stage				Total	Species		
		Larva	Nymph	Adult					
				Male	Female				
สตูล	อ.ละงู	ไก่ 3 ตัว		37	8	45	<i>H. wellingtoni</i>		
		สุนัข 7 ตัว	14	48	37	99	<i>Haemaphysalis</i> sp. <i>R. sanguineus</i> <i>Rhipicephalus</i> sp.		
		แมว 2 ตัว	8			8	<i>Haemaphysalis</i> sp.		
		แพะ 1 ตัว	1		1	2	<i>H. lagrangei</i> <i>Haemaphysalis</i> sp.		
		วัว 1 ตัว			1	1	<i>R. microplus</i>		
		ตะ瓜ด 2 ตัว	1	11	8	20	<i>A. varanense</i> <i>Amblyomma</i> sp.		

ตารางที่ 1 ระยะของเห็บและชนิดเห็บตามสังกัดจากโภสัตช์ชนิดต่าง ๆ ในจังหวัดสตูลและสงขลา (ต่อ)

Location	Host	Stage		Total	Species
		Larva	Nymph		
				Male	Female
อ.ทุ่งหว้า	สุนัข 6 ตัว	19	46	44	109 <i>H. hystricis</i> <i>R. sanguineus</i> <i>Rhipicephalus sp.</i>
	วัว 2 ตัว			6	6 <i>R. microplus</i>
อ . ค ว น	สุนัข 1 ตัว			1	1 <i>R. sanguineus</i>
กาหลง					
สงขลา	อ.ระโนด	สุนัข 4 ตัว	6	10	12 28 <i>R. sanguineus</i> <i>Rhipicephalus sp.</i>
		วัว 3 ตัว		2	9 11 <i>R. microplus</i>
อ.หาดใหญ่	กวาง 1 ตัว			2	10 12 <i>H. lagrangei</i>
		สุนัข 1 ตัว		8	4 12 <i>R. sanguineus</i>
		วัว 1 ตัว		2	2 <i>R. microplus</i>

ตารางที่ 1 รายชื่อของเห็บและชníดเห็บตามสัณฐานวิทยาจากโอล์ฟันนิดต่าง ๆ ในจังหวัดสตูลและสงขลา (ต่อ)

Location	Host	Stage				Total	Species		
		Larva	Nymph	Adult					
				Male	Female				
	เดินป่า	10				10	<i>Haemaphysalis</i> sp.		
อ.เมือง	สมเสร็จ 1			10	6	16	<i>H. lagrangei</i>		
	ตัว								
	สุนัข 30 ตัว		10	54	58	122	<i>R. sanguineus</i>		
							<i>Rhipicephalus</i> sp.		
							<i>R. microplus</i>		
	วัว 21 ตัว			12	73	85	<i>R. microplus</i>		
	ไก่ 9 ตัว			11	6	17	<i>H. wellingtoni</i>		
อ.จะนะ	แมว 1 ตัว	2				2	<i>Haemaphysalis</i> sp.		
อ.สิงหนคร	สุนัข 4 ตัว			4	5	9	<i>R. sanguineus</i>		
	แมว 1 ตัว		3			3	<i>Haemaphysalis</i> sp.		
<b>Total</b>		<b>10</b>	<b>64</b>	<b>255</b>	<b>291</b>	<b>620</b>			
		(1.61%)	(10.32%)	(41.13%)	(46.94%)				

ตารางที่ 2 เห็บชนิดต่าง ๆ ที่จำแนกจากโฮสต์ในจังหวัดสตูลและสงขลา

Location	Host	<i>H. wellingtoni</i>	<i>H. lagrangei</i>	<i>H. hystricis</i>	<i>Haemaphysalis</i> sp.	<i>R. microplus</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>Rhipicephalus</i> sp.	<i>A. varanense</i>	<i>Amblyomma</i> sp.
จ.สตูล อ.ละงู	ไก่	45								
	สุนัข				1		84	14		
	แมว					8				
	แพะ		1			1				
	วัว						1			
	ตะกรاد								19	1
อ.ทุ่งหว้า	สุนัข			3			87	19		
	วัว					6				
อ.คาน	สุนัข						1			
กาหลง										
จ. สงขลา อ.ระโนด	สุนัข						22	6		
	วัว					11				
อ.	กว้าง		12							
หาดใหญ่										
	สุนัข						12			
	วัว					2				
	เดินป่า				10					

ตารางที่ 2 เห็บชนิดต่าง ๆ ที่จำแนกจากไฮสต์ในจังหวัดสตูลและสงขลา (ต่อ)

Location	Host	<i>H. wellingtoni</i>	<i>H. lagrangei</i>	<i>H. hystricis</i>	<i>Haemaphysalis</i> sp.	<i>R. microplus</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>Rhipicephalus</i> sp.	<i>A. varanense</i>	<i>Amblyomma</i> sp.
อ.เมือง	สมเสร็จ	16				10	102	10		
	สุนัข									
	วัว					85				
	ไก่	17								
อ.จะนะ	แมว				2					
อ.สิง	สุนัข						9			
หนองค์										
	แมว				3					
<b>Total</b>		<b>62</b>	<b>29</b>	<b>3</b>	<b>25</b>	<b>115</b>	<b>317</b>	<b>49</b>	<b>19</b>	<b>1</b>
		(10.00%)	(4.68%)	(0.48%)	(4.03%)	(18.55%)	(51.13%)	(7.90%)	(3.06%)	(0.16%)

## เห็บและจุลทรรศน์ในเห็บ

### 1. ความสัมพันธ์ระหว่างเห็บและจุลทรรศน์ในเห็บ

เมื่อศึกษาชนิดของจุลทรรศน์ที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสงขลา อำเภอเมือง โดย *R. sanguineus* เป็นเห็บที่พบจากสุนัข ซึ่งเมื่อทดสอบจุลทรรศน์ไม่พบ *Rickettsia* spp., *Babesia canis* และ *Francisella* spp. แต่พบ *Coxiella* sp. ร้อยละ 90.91 และเมื่อทดสอบจุลทรรศน์ในเห็บจากสุนัข อำเภอระโนด (*R. sanguineus*) ไม่พบเชื้อใด ส่วน *H. lagrangei* เป็นเห็บที่พบจากสมเสร็จ ไม่พบ เชื้อ *Rickettsia* spp., *Babesia* spp., Family Anaplasmataceae, *Francisella* spp., *Wolbachia pipentis*, *Anaplasma* spp. และ *Hepatozoon* spp. แต่มีเชื้อ *Babesia canis* ร้อยละ 8.33 ซึ่งเป็น เชื้อนำโรค babesiosis จะส่งผลต่อสุขภาพโดยตรง โดยทำให้เกิดสภาพโลหิตจาง สัตว์อายุน้อยจะ ทำให้เจริญเติบโตช้า แคระแกร์น รวมทั้งติดต่อสู่คนได้ สำหรับ *H. lagrangei* เป็นเห็บแข็งมีถินอาศัย ในป้าสามารถเปลี่ยนโภสต์อาศัยได้หลายชนิดประกอบกับสภาพพื้นที่ที่เป็นทุ่งหญ้าและป่าจึงเหมาะสม กับการเจริญของเห็บ (ภาวนี อริยะกุลวงศ์, 2549; Hoogstraal et al., 1973) ซึ่งจากการสำรวจพบ *H. lagrangei* ได้บันถั夔 แพะ กวาง และสมเสร็จ ความจำเพาะของเห็บกับโภสต์เกิดจากการ วิวัฒนาการร่วมกัน ในระหว่างดูดเลือดโภสต์ เห็บจะปล่อยน้ำลายออกมາ ซึ่งในน้ำลายของเห็บมีสาร บางชนิดที่มีคุณสมบัติลดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในบริเวณที่ดูดเลือดและมีสารขยาย หลอดเลือดทำให้เห็บสามารถดูดเลือดโดยไม่ทำให้โภสต์มีอาการเจ็บปวดหรือการตอบสนองที่ รุนแรง (Mans & Neitz, 2004) จากการตรวจเชื้อเบื้องต้นพบ *Babesia canis* อาศัยร่วมกับเห็บอาจ ส่งผลต่อสุขภาพสัตว์ และ *R. microplus* มีโภสต์คือวัว เมื่อทดสอบจุลทรรศน์ไม่พบ *Rickettsia* spp., *Babesia canis*, *Francisella* spp. แต่พบ *Coxiella* sp. ร้อยละ 28.57 (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3 ร้อยละชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสงขลา**

		อ.เมือง		อ.ระโนด	
		สุนัข	สมเสร็จ	สุนัข	วัว
		Ticks species		Ticks species	
		<i>R. sanguineus</i>	<i>H. lagrangei</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>R. microplus</i>
Microbial pathogens	Total	11	12	5	7
<i>Rickettsia</i> spp.	-	100	100	100	100
	+	0	0	0	0
<i>Babesia</i> spp.	-	no	100	no	no
	+	no	0	no	no
<i>Babesia canis</i>	-	100	91.67	100	100
	+	0	8.33	0	0
Family	-	no	100	no	no
Anaplasmataceae	+	no	0	no	no
<i>Francisella</i> spp.	-	100	100	100	100
	+	0	0	0	0
<i>Coxiella</i> sp.	-	9.09	no	100	71.43
	+	90.91	no	0	28.57
<i>Wolbachia</i>	-	no	100	no	no
<i>pipientis</i>	+	no	0	no	no
<i>Anaplasma</i> spp.	-	no	100	no	no
	+	no	0	no	no
<i>Hepatozoon</i> spp.	-	no	100	no	no
	+	no	0	no	no
- คือ ไม่พบเชื้อ		+ คือพบเชื้อ		no คือ ไม่ทดสอบเชื้อ	

สำหรับการทดสอบจุลินทรีที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสตูลจากตารางที่ 4 พบว่า ในอำเภอความหลากหลาย เห็บจากสุนัข คือ *R. sanguineus* เมื่อทดสอบจุลินทรีไม่พบ *Rickettsia* spp., *Babesia canis*, *Francisella* spp. แต่พบ *Coxiella* sp. ร้อยละ 100 และ ร้อยละ 79.17 ตามลำดับ ส่วน *R. microplus* เป็นเห็บที่มีโอด์สต์คือวัว ทดสอบจุลินทรีไม่พบ *Rickettsia* spp., *Babesia canis*, *Francisella* spp. และ *Coxiella* sp. สำหรับแบคทีเรียกลุ่ม *Coxiella* เป็นสาเหตุ ก่อให้เกิดโรคไข้คิว (Q fever) เป็นโรคติดต่อจากสัตว์สุกัน ส่วนใหญ่สัตว์ที่ติดเชื้อจะไม่แสดงอาการป่วย ยกเว้นในสัตว์เคี้ยวเอื้อง ที่อาจพบอาการแท้งได้ และสามารถแพร่เชื้อสู่สิ่งแวดล้อมได้ เชื้อมีความทนทานในสิ่งแวดล้อมได้นาน หากคนติดเชื้อมักไม่แสดงอาการ หรือแสดงอาการแบบไม่รุนแรง โดยโอด์สต์ที่ได้รับเชื้อจากเห็บมักไม่แสดงอาการป่วยแต่คนจะได้รับเชื้อจากการสัมผัสสารคัดหลังจากสัตว์นั้น ๆ (Tanskul et al., 1983)

ตารางที่ 4 ร้อยละชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บในจังหวัดสตูล

Microbial pathogens		อ.ความหลากหลาย		อ.ลักษณะ
		Ticks species		
		<i>R. sanguineus</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>R. microplus</i>
Total		1	24	1
<i>Rickettsia</i> spp.	-	100	100	100
	+	0	0	0
<i>Babesia canis</i>	-	100	100	100
	+	0	0	0
<i>Francisella</i> spp.	-	100	100	100
	+	0	0	0
<i>Coxiella</i> sp.	-	0	20.83	100
	+	100	79.17	0

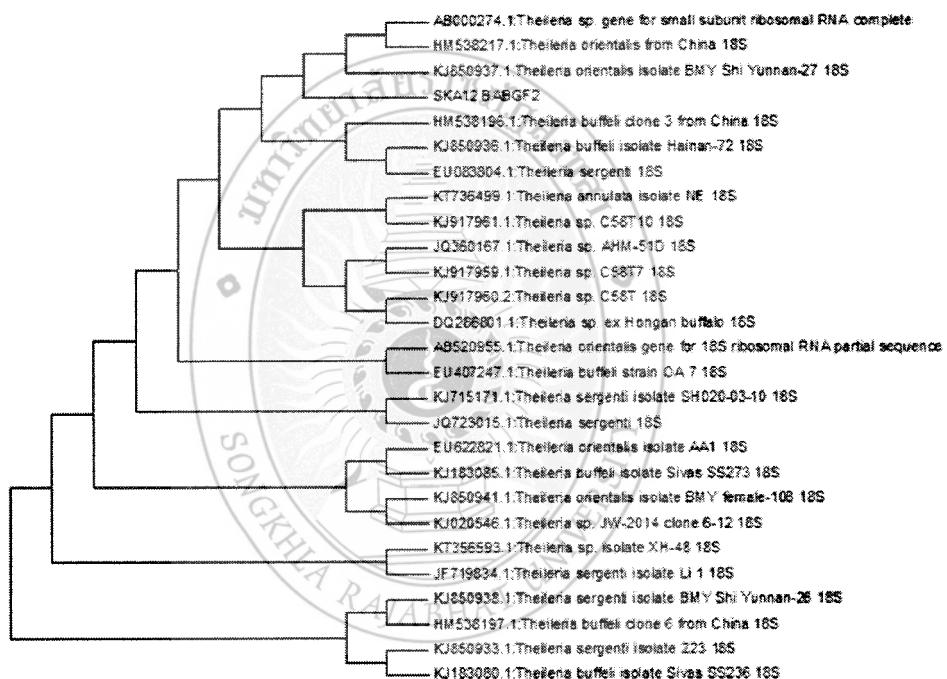
- คือ ไม่พบเชื้อ

+ คือพบเชื้อ

ก/o คือ ไม่ทดสอบเชื้อ

## 2. การศึกษาวิัฒนาการของเชื้อในเห็บสมเสร็จ

การวิเคราะห์ Phylogenetic tree ของเชื้อที่พบในเห็บจากสมเสร็จแสดงดังภาพที่ 6 ผลการวิเคราะห์บ่งชี้ว่าเชื้อจุลชีพหนึ่งที่ตรวจพบในเห็บชนิด *H.lagrangei* จากโไฮส์ต์สมเสร็จ (SKA12BABGF2) มีวิัฒนาการใกล้เคียงที่สุดกับ *Theileria orientalis* (KJ850937.1: isolate BMY Shi Yunnan-27 18S), *Theileria orientalis* (HM538217.1: from China 18S), และ *Theileria sp.* (AB000274.1: gene for small subunit ribosomal RNA complete) ตามลำดับ



ภาพที่ 6 Phylogenetic tree ของ *Theileria* spp. 16 S rRNA gene

## บทที่ 5

### สรุปผล

#### สรุปผล

การเก็บตัวอย่างเห็บจากไฮสต์ในพื้นที่ชุมชนต่างๆ จังหวัดสงขลา และสตูล ของประเทศไทยพบเห็บ 3 สกุล จำนวน 5 ชนิด ดังนี้ *H. wellingtoni* พบนลำตัวไก่, *H. lagrangei* พบนลำตัวสุนัข แพะ กวาง และสมเสร็จ, *R. sanguineus* พบนลำตัวสุนัข, *R. microplus* พบนลำตัววัวและสุนัข และ *A. varanense* พบนลำตัวตะ瓜ด ชนิดของเห็บที่พบแตกต่างกันในแต่ละไฮสต์ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการยึดเกาะกับไฮสต์และวงจรชีวิตของเห็บ ซึ่งจากการสำรวจพบว่าทั้ง 2 จังหวัดนี้มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีวิต และการเจริญเติบโตของเห็บ 5 ชนิดเป็นอย่างดี เนื่องจาก มีสัตว์ที่หลักแหล่งทั้งที่เลี้ยงเพื่อประกอบอาชีพทั้งแบบกักขังภายในครอกและปล่อยอิสระ เลี้ยงเพื่อเป็นสัตว์เลี้ยง และสัตว์ป่า รวมทั้งมีทุ่งหญ้าที่เหมาะสมกับการดำรงชีวิตของสัตว์

เมื่อศึกษาชนิดของจุลชีพที่อาศัยอยู่ร่วมกับเห็บ พบจุลชีพต่างๆ ทั้งที่เป็นผู้ร่วมอาศัยและเชื้อจุลทรรศน์ก่อโรคที่นำเสนออย่างยิ่งที่สรุปได้ในที่นี้คือพบร้อกอร์โตรค *B. canis* จากเห็บสปีชีส์ *H. lagrangei* ที่เก็บได้จากไฮสต์คือสมเสร็จซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาและค้นพบเชื้อในเห็บจากสมเสร็จ โดยจุลชีพในกลุ่ม *Babesia* เป็นเชื้อนำโรค *babesiosis* ซึ่งสามารถติดต่อถ่ายทอดสู่คนได้ จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการศึกษานิเวศวิทยา และความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลชีพของเห็บในท้องที่นี้เพิ่มเติมรวมทั้งของบประมาณสนับสนุนการวิจัยจาก สำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี 2558 เพื่อให้งานวิจัยมีความสมบูรณ์มากขึ้น

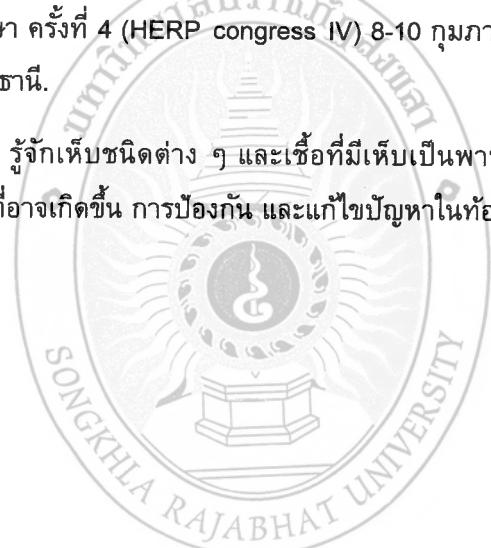
## ผลผลิต

### **ด้านวิชาการ: นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ**

ภาควิชารักษ์ทอง, วนวิภา หนูมา, วัชรีพร ตฤณชาติวนิชย์ และอรุณี อหันทริก. (2015). ความหลากหลายทางชีวภาพและการกระจายตัวของเห็บในภาคใต้ของประเทศไทย. *Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci.* 16(2), 310-319.

วนวิภา หนูมา. 2558. การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของเห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย. การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 4 (HERP congress IV) 8-10 กุมภาพันธ์ 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี.

**ด้านสังคมและชุมชน:** รู้จักเห็บชนิดต่าง ๆ และเชื่อที่มีเห็บเป็นพาหะเพื่อความเข้าใจที่ถูกต้อง การตระหนักรู้ถึงปัญหาที่อาจเกิดขึ้น การป้องกัน และแก้ไขปัญหาในท้องถิ่น



**รายงานสรุปการเงิน ประจำปีงบประมาณ 2558**

รหัสโครงการ 2558A15662005

**โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ  
สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา**

**ชื่อมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา**

**ชื่อโครงการ การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและฉลินทรีย์ ของเห็บใน  
จังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย (ต่อเนื่องปีที่2)**

**ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย อ.สุธินี ทีมยิ**

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 4 เดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2559 ถึงวันที่ 4 เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2559

ระยะเวลาดำเนินการ จำนวน 1 ปี 6 เดือน

**รายจ่าย**

หมวด	งบประมาณรวมทั้ง โครงการ (บาท)	ค่าใช้จ่ายគัดปัจจุบัน (บาท)	คงเหลือ (หรือเกิน) (บาท)
1.ค่าตอบแทน	40,000	20,210	19,790
2.ค่าวัสดุ	88,200	89,932.50	-1,732.50
3.ค่าใช้สอย	268,800	231,076	37,724
4.ค่าใช้จ่ายอื่นๆ -ค่าสาธารณูปโภค	3,000	-	-
<b>รวม</b>	<b>400,000</b>	<b>341,218.50</b>	<b>58,781.50</b>

**จำนวนงบประมาณที่ได้รับ**

- งวดที่ 1 จำนวน 240,000 บาท เมื่อ .....

- งวดที่ 2 จำนวน 80,000 บาท เมื่อ .....

**รวม 320,000 บาท**

.....  
ลงนามหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน  
วันที่.....

.....  
ลงนามเจ้าหน้าที่การเงินโครงการ  
วันที่.....



สำนักวิชาชีวการและแพทย์ในสัตว์ศาสตร์

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

25

### บรรณานุกรม

- Ahantarig, A., Malaisri, P., Hirunkanokpun, S., Sumrandee, C., Trinachartvanit, W. and Baimai V. 2011. Detection of *Rickettsia* and a novel *Haemaphysalis shimoga* symbiont bacterium in ticks in Thailand. *Curr Microbiol.* 62:1496-1502.
- Ahantarig, A., Trinachartvanit, W. and Milne, J.R. 2008. Tick-borne pathogens and diseases of animals and humans in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 39:1015-32. (Review)
- Anderson, B.E., Dawson, J.E., Jones, D.C. and Wilson KH. 1991. *Ehrlichia chaffeensis*, a new species associated with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol* 29: 2838–2842.
- Chen, SM., Dumler, J.S., Bakken, J.S and Walker, D.H. 1994. Identification of a granulocytotropic *Ehrlichia* species as the etiologic agent of human disease. *J Clin Microbiol* 32: 589–595.
- Cleaveland, S., Laurenson, M.K. and Taylor, L.H. 2001. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 356:991-999.
- Dantrakool, A., Somboon, P., Hashimoto, T. and Saito-Ito1A. 2004. Identification of a New Type of *Babesia* Species in Wild Rats (*Bandicota indica*) in Chiang Mai Province, Thailand. *J of Clin Micro.* 42: 850-854.
- Dawson, J. E., K. L. Biggie, C. K. Warner, K. Cookson, S. Jenkins, J. F. Levine, and J. G. Olson. 1996. Polymerase chain reaction evidence of *Ehrlichia chaffeensis*, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. *Am. J. Vet. Res.* 57:1175–1179.
- Dawson, J.E., Anderson, B.E., Fishbein, D.B., Sanchez, J.L., Goldsmith, C.S., Wilson, K.H. and Duntley, C.W. 1991. Isolation and characterization of an *Ehrlichia* sp. from a patient diagnosed with human ehrlichiosis. *J Clin Microbiol.* 29: 2741–2745.

7  
595.4  
ก.147  
๘.๒

- Dennis, D.T. and Piesman, J.F. 2005. Overview of tick-borne infections of humans. In: Goodman, J.L., Dennis, D.T., Sonenshine, D.E, eds. Tick-borne diseases of Humans. Washington, DC: American Society for Microbiology Press 3-11.
- Donatein, A., and F. Lestogard. 1935. Existance in Algerie dune *Rickettsia* du chein. Bull. Soc. Pathol. Exot. 28:418–419.
- Doornbos, K., Sumrandee, C., Ruang-Areerate, T., Baimai, V., Trinachartvanit, W. and Ahantarig A. *Rickettsia* sp. closely related to *Rickettsia raoultii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in an *Amblyomma helvolum* (Acarina: Ixodidae) tick from a *Varanus salvator* (Squamata: Varanidae) in thailand. J Med Entomol 2013; 50(1):217-220.
- Ewing, S. A., W. R. Robertson, R. G. Buckner, and C. S. Hayat. 1971. A new strain of *Ehrlichia canis*. J. Am. Vet. Med. Assoc. 159:1771–1774.
- Fujita, O., Tatsumi, M., Tanabayashi, K. and Yamada, A. 2006. Development of A Real-time PCR Assay for Detection and Quantitation of *Francisella tularensis*. Jpn. J. Infect. Dis. 59: 46-51.
- Gorenflo, A., K. Moubri, E. Precigout, B. Carcy, and T. P. Schetters. 1998. Human babesiosis. Ann. Trop. Med. Parasitol. 92:489–501.
- Harvey, J. W., C. F. Simpson, and J. M. Gaskin. 1978. Cyclic thrombocytopenia induced by a rickettsia-like agent in dogs. J. Infect. Dis. 137:182–188.
- Hirunkanokpun, S., Kittayapong, P., Cornet, JP. and Gonzalez, JP. Molecular evidence for novel tick-associated spotted fever group *Rickettsiae* from Thailand. J Med Entomol 2003; 40: 230-237.
- Homer, M. J., D. I. Aguilar, S. R. I. Telford, P. J. Krause, and D. H. Persing. 2000. Babesiosis. Clin. Microbiol. Rev. 13:451–469. Hoogstraal, H. 1985. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. Adv. Parasitol. 24: 135-238.

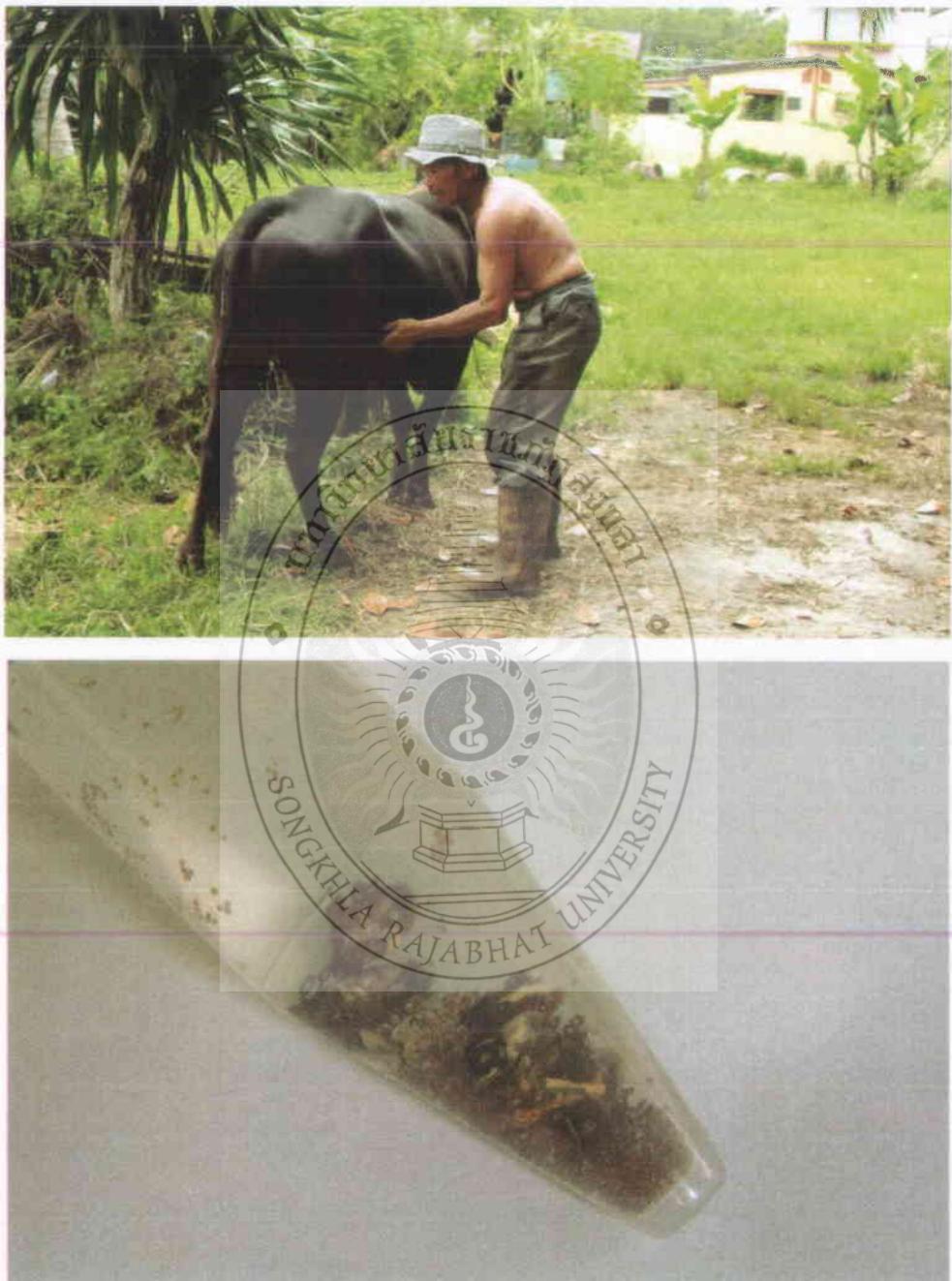
- Hoogstraal, H. 1985. Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv. Parasitol* 24: 135-238.
- Jones-Engel, L., Engel, G., Heidrich, J., Chalise, M., Poudel, N., Viscidi, R., Barry, PA., Allan, JS., Grant, R. and Kyes R. 2006. Temple monkeys and health implications of commensalisms, Kathmandu, Nepal. *Emerg Infect Dis* 12:900-906.
- Kakoma, I., R. D. Hansen, B. E. Anderson, T. A. Hanley, K. G. Sims, L. Liu, C. Bellamy, M. T. Long, and B. Baek. 1994. Cultural, molecular, and immunological characterization of the etiologic agent for atypical canine *ehrlichiosis*. *J. Clin. Microbiol.* 32:170–175.
- Kollar, T.M., Tippayachai, B., and Bodhdatta, D. 2001. Short report: Thai tick typhus, *Rickettsia honei* and a unique *Rickettsia* detected in *Ixodes granulatus* (Ixodidae: Acari) from Thailand. *Am J of Trop Med and Hyg.* 65: 535-537.
- Kularatne, S.A.M., Edirisingha, J.S., Gawarammana, I.B., Urakami, H., Chenchittkul, M. and Kaiho, I.. 2003. Emerging rickettsial infections in Sri Lanka: the pattern in the hilly Central Province. *Trop Med and Inter Health.* 8: 803-811.
- Maeda K, Markowitz N, Hawley RC, Ristic M, Cox D. 1987. Human infection with *Ehrlichia canis*, a leukocytic rickettsia. *N Engl J Med* 316: 853– 856.
- Mans, B.J. and Neitz, A.W.H. 2004. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment evolution from a functional perspective. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34, 1-17.
- Pichon B, Egan D, Rogers M, Gray J. 2003. Detection and identification of pathogens and host DNA in unfed host-seeking *Ixodes ricinus* L. (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 40(5):723-731.
- Randolph, SE. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*. 129: S37-S65.

- Sonenshine, D.E. 1994. Biology of ticks. Vol 2. 1<sup>st</sup> ed. Oxford University Press, New York.
- Sparagano, O. and Jongejan, F. 1999. Molecular characterization of ticks and tick-borne pathogens. *Parassitologia*. Sep;41 Suppl 1:101-5. Review.
- Suksawas, J., Pitulle, C., Arraga-alvado, C. 2001. Coinfection with Three *Ehrlichia* Species in Dogs from Thailand and Venezuela with Emphasis on consideration of 16S Ribosomal DNA Secondary Structure. *J of Clin Micro*. 39: 90-93.
- Sumrandee, C., Hirunkanokpun, S., Doornbos, K., Kitthawee, S., Baimai, V., Grubhoffer, L., Trinachartvanit, W. and Aphantarig, A. (2014). Molecular detection of Rickettsia species in Amblyomma ticks collected from snakes in Thailand. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 5(6): 632–640.
- Tanskul, P., Stark, H. and Inlao, I. (1983). A checklist of ticks of thailand (Acari: Metastigmata: Ixodoidea). *Journal of Medical Entomology*. 20(3). 330-341.

## ภาคผนวก

ภาพแสดงการออกพื้นที่เก็บตัวอย่างเห็บจากไฮส์ต์ชนิดต่าง ๆ





## ประวัติคณาจารย์

### หัวหน้าโครงการ

**ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)** นางสาวสุนี ทิมยิ

**ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)** Miss Sutineeh Himyi

**ตำแหน่งปัจจุบัน** อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์คณะ  
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ถ.กาญจนวนิช ต.เขาวูปช้าง อ.เมือง  
จ.สงขลา โทรศัพท์ 080-0376704 โทรสาร 074-336950

e-mail : sutineeh@gmail.com

### ประวัติการศึกษา

ว.ท.บ. (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยเรศวร (2546)

ว.ท.ม. (วาริชศาสตร์) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (2552)

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ การจำแนกพรรณสัตว์หน้าดิน Class Polychaeta, การ  
จำแนกสัตว์หน้าดินกลุ่มครัสตาเซียน โดยเฉพาะอสตราโคด (Ostracoda) ท่าในดาเชีย  
(Tanaidacea) และแอมฟิพอด (Amphipoda), การจำแนกแพลงก์ตอนพืชและแพลงก์ตอนสัตว์

**ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

**ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย**

ผู้ร่วมโครงการวิจัย :

2552-2555 : การเชื่อมโยงระหว่างการศึกษาพัฒนาสัตว์พื้นได้น้ำในทะเลสาบสงขลาและการ  
ถ่ายทอดความรู้สู่ชุมชนท้องถิ่น

ทุนสนับสนุนภายใต้สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

2548-2550 : โครงการพื้นฟูทรัพยากรชายฝั่งทะเลอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จ.ปัตตานี และ  
จ. นราธิวาส (กิจกรรมประเมินผลสำเร็จ)

ทุนสนับสนุนภายใต้สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจาก  
พระราชดำริ (สำนักงาน กปร.)

**งานวิจัยที่กำลังเร่งแล้ว :**

สาวภา อังสุภาณิช และสุนี ทิมยิ. 2555. สัตว์พื้นได้น้ำกลุ่มหนองบลัง: โพลีชีตในทะเลสาบ  
สงขลา. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. 270 หน้า.

**สุธินี ทิมยิ**, เสาวภา อังสุกานิช และจารัสศรี อ่างตันญา. 2552. "ໄສເດືອນທະເລໜ້າດິນໃນເຂດນ້ຳທ່ວມບໍລິເວນແກະລືດີເລົກ ຈັງຫວັດສຕູລ. ວາරສາກາປະປະມາດ. 62: 341 – 350.

**ເສາວภา อັງສຸການີ້ ຈົກສັນຍາ ພຣະສັນຕິ ສັນພັນທະບູນ ພັຊ** ແກ້ວປະກາກ ສຸທິນີ ທີມຍີ ຮັ້ນນີ້ ພຸຖປະຈຸບັນ ແລະ ຕັນດີພິງໝໍ ເພີ່ມໄຊຢາ. 2551. ອົກທີ່ພລຂອງປະກາຮັງເຫີມຕ່ອສັດວໜ້າດິນໃນບໍລິເວນຝ່າງ ຈ. ປັດຕານີ ແລະ ຈ. ນາຮັກວາສ. ໂຄງຮາກພື້ນຝູກຮພາກຮາຍຝ່າງທະເລ ອັນເນື່ອມາຈັກພຣະຣາຊດຳວິ ຈັງຫວັດປັດຕານີ ແລະ ຈັງຫວັດນາຮັກວາສ (ກິຈການປະເມີນຝລສໍາເຮົາ) ມາວິທາຍາລັບສົງລານຄຣິນກຣ: 3-26 – 3-66.

**ຄນຶ່ງນີຈ ແກ້ວທອງ ອູດີພຣ ທີ່ຮົງກຽນດົກ** ແລະ **ສຸທິນີ ທີມຍີ**. 2557. ຄວາມໜາກທາຍແລະ ຄວາມຊຸກຊຸມຂອງສັດວໜ້າດິນຂາດກລາງບໍລິເວນທາດສະກອມເກົ່າເສັ້ນຄົງແຫ່ມສນອ່ອນ ຈັງຫວັດສົງລາ. ໃນການປະໜຸມວິຊາກາຮັງດັບໜາຕີ "ວລັຍລັກຂົນວິຈີຍ" ຄຽ້ງທີ່ 6 ຮະຫວັງວັນທີ 3-4 ກຣກກາມ 2557 ດນ ມາວິທາຍາລັບສົງລັກຂົນ ຈັງຫວັດນຄຣີຮຣມຣາຊ. (ນໍາເສັນໂປສເຕອຣ)

**ວາງິກ ເສັ້ນນາສູງ ອັດເດືອນ ແລະ ສຸທິນີ ທີມຍີ**. 2557. ຄວາມໜາກທາຍຂອງສັດວໜ້າດິນຂາດກລາງບໍລິເວນທາດສະກອມ ຈັງຫວັດສົງລາ. ໃນການປະໜຸມວິຊາກາຮັງດັບໜາຕີ "ວລັຍລັກຂົນວິຈີຍ" ຄຽ້ງທີ່ 4 ຮະຫວັງວັນທີ 23 -25 ພຖ້ມກາມ 2557 ດນ ມາວິທາຍາລັບສົງລັກຂົນ ນະເຮດວຽ ຈັງຫວັດພິ່ນຸໂລກ. (ນໍາເສັນໂປສເຕອຣ)

**ໜາມມື້ມ ມະນຸ ອາວີ້ຫີ່ຫົ່ວ່າ ມົງ ແລະ ສຸທິນີ ທີມຍີ**. 2556. ແພລົງກໍຕອນພື້ນທີ່ອາຈັກໂທໃຫ້ເກີດວັນທີບໍລິເວນ ຄວາມພະວັງ ຕຳບັນດາ ອຳເກົດເມືອງ ຈັງຫວັດສົງລາ. ໃນການປະໜຸມວິຊາກາຮັງດັບໜາຕີ "ວລັຍລັກຂົນວິຈີຍ" ຄຽ້ງທີ່ 5 ຮະຫວັງວັນທີ 1 -2 ສິງຫາມ 2556 ດນ ມາວິທາຍາລັບສົງລັກຂົນ ຈັງຫວັດນຄຣີຮຣມຣາຊ. (ນໍາເສັນໂປສເຕອຣ)

**ສຸໄຫວຍີ່ ແດສາ ຕີຣິການ ໂສະໜໍລີ ແລະ ສຸທິນີ ທີມຍີ**. 2556. ການໃຊ້ແພລົງກໍຕອນພື້ນທີ່ ເຕັມເກີດວັນທີບໍລິເວນ ອຸນກາພັນໜ້າບໍລິເວນຄວາມພະວັງ ອຳເກົດເມືອງ ຈັງຫວັດສົງລາ. ໃນການປະໜຸມວິຊາກາຮັງດັບໜາຕີ "ວລັຍລັກຂົນວິຈີຍ" ຄຽ້ງທີ່ 5 ຮະຫວັງວັນທີ 1 -2 ສິງຫາມ 2556 ດນ ມາວິທາຍາລັບສົງລັກຂົນ ຈັງຫວັດນຄຣີຮຣມຣາຊ. (ນໍາເສັນໂປສເຕອຣ)

**ປະຈຸບັນ ຮະຫວານ ນາງສາວພັຊ ເຖິງສຸກົມບູຮົນ ແລະ ສຸທິນີ ທີມຍີ**. 2556. ຄວາມໜາກທາຍແລະ ຄວາມທານແນ່ນຂອງແພລົງກໍຕອນພື້ນທີ່ ບໍລິເວນອ່າງເກົ່ານໍາສີຣິກິດີ ເຂົ້າຮັກໝາພັນຮູ້ສັດວໜ້າໂຕນາງໜ້າ ຈັງຫວັດສົງລາ ໃນການປະໜຸມວິຊາກາຮັງດັບໜາຕີ "ວລັຍລັກຂົນວິຈີຍ" ຄຽ້ງທີ່ 5 ຮະຫວັງວັນທີ 1 -2 ສິງຫາມ 2556 ດນ ມາວິທາຍາລັບສົງລັກຂົນ ຈັງຫວັດນຄຣີຮຣມຣາຊ. (ນໍາເສັນໂປສເຕອຣ)

**ສຸທິນີ ທີມຍີ ສຸໄຫວຍີ່ ແດສາ ແລະ ຕີຣິການ ໂສະໜໍລີ**. 2556. ຊົດແລະ ການແພວ່ມການຂອງແພລົງກໍຕອນພື້ນທີ່ ໃນຄວາມພະວັງ ອຳເກົດເມືອງ ຈັງຫວັດສົງລາ. ໃນການປະໜຸມວິຊາກາສາຫວ່າຍແລະ ແພລົງກໍຕອນແຫ່ງໜາຕີ ຄຽ້ງທີ່ 6 ສາຫວ່າຍແລະ ແພລົງກໍຕອນ: ຈາກຮາກຫຼາກສູງການໃຊ້ປະໂຍບນີ້ອ່າງຍິ່ງຍືນ

วันที่ 28-30 มีนาคม 2556 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัด เชียงใหม่. (นำเสนอโปสเตอร์)

พงศธร จันทรัตน์ สุธินี หิมยิ และสัลวา ตอบปี. (2556). การศึกษาประชาคมแพลงก์ตอนสัตว์เบื้องต้น ในทะเลสาบสงขลาตอนกลาง. ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติครั้งที่ 6 สาหร่ายและแพลงก์ตอน: จากรากฐานสู่การใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน วันที่ 28-30 มีนาคม 2556 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพรส โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่. (นำเสนอ โปสเตอร์)

Angsupanich, S., Ruensirikul, J. and Himyi, S. 2010. Redescription of *Ctenapseudes sapensis* (Chilton, 1926) from the Upper Songkhla Lagoon, Thailand. (Crustacea: Tanaidacea). Songklanakarin Journal of Science and Technology 32 (4): 349 – 355.

#### งานวิจัยที่กำลังทำ :

2558 - ปัจจุบัน : ความหลากหลายและความหนาแน่นของแพลงก์ตอนบริเวณหาดแก้วลากูน จังหวัด สงขลา. ทุนสนับสนุนภายใต้งบประมาณ กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ประจำปี การศึกษา 2558

#### ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)

นางสาว Wanwipa Nooma

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)

Miss Wanwipa Nooma

#### ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์

หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก โปรแกรมวิชาชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ถ.กาญจนวนิช ต.เข้ารูปช้าง อ.เมือง จ.สงขลา โทรศัพท์ 080-0376704 โทรสาร 074-336950

E-mail wanwipa.no@gmail.com

#### ประวัติการศึกษา

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา (พ.ศ. 2551-2554)

วิทยาศาสตรบัณฑิต (ชีววิทยา) มหาวิทยาลัยทักษิณ จังหวัดสงขลา (พ.ศ. 2547-2551)

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ ชีววิทยาและชีววิทยาประยุกต์, เนื้อเยื่อวิทยา

**ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ  
งานวิจัยที่สำเร็จแล้ว**

**ชื่อโครงการวิจัย :** ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต, อัตราแลกเนื้อ, ประสิทธิภาพอาหาร, การอดตาย, องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา, องค์ประกอบเลือดและการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อยื่นของปลาดุกจำพัน (*Clarias nieuhofii*)

**แหล่งทุน :** สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

**สถานภาพ :** หัวหน้าโครงการวิจัย/โครงการสำเร็จแล้ว (28 ตุลาคม 2553 – 28 เมษายน 2554)

**ผลงานวิชาการใน Conference proceedings/Abstract books/Presentation**

Nooma, W., Malee, F. and Kiriratnikom, S. (2009). "Study on histology of the integument and respiratory system of Nieuhofii's catfish (*Clarias nieuhofii*)," in The 35th congress on science and technology of thailand (STT 35) "Science and technology for a better future," (pp. 240). October 15-17, 2009 The Tide Resort, Chonburi, Thailand. Chonburi : Burapha University.

วันวิกา หนูมา และสุกภา คีรรัตน์นิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อการเจริญเติบโต, อัตราแลกเนื้อ, การอดตาย, องค์ประกอบทางเคมีของตัวปลา และ การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อยื่นของปลาดุกจำพัน (*Clarias nieuhofii*)," ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ "มหาวิทยาลัยบูรพา 2554". (ศีรีรวม). วันที่ 6-7 กุมภาพันธ์ 2554 ณ อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา.

วันวิกา หนูมา และสุกภา คีรรัตน์นิคม. (2554). "ผลของวิตามินซีและอีต่อองค์ประกอบเลือดของปลาดุกจำพัน" ใน การประชุมวิชาการประมง ครั้งที่ 6 "เพื่อความมั่นคงด้านการประมงและทรัพยากรทางน้ำ". (หน้า 102 - 103). วันที่ 1-3 ธันวาคม 2554 ณ คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่. เชียงใหม่ : คณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สุกภา คีรรัตน์นิคม アナุช คีรรัตน์นิคม และวันวิกา หนูมา. "ความต้องการไขมันในอาหารของปลาดุกจำพัน (*Clarias nieuhofii*) ระยะปานานิเวศ". ในงานประชุม โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1 รหัสโครงการ HERP (1)-54(1) สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาแห่งชาติ (สกอ.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

ศิรินุช ทองข้าว มุติตา หล่อศรี และวันวิภา หนูมา. ผลของสารอินทรีย์เสริม 3 ชนิดในอาหารสูตร VW และอาหารสูตร ½ MS ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของป์โรตอคอร์มว่านหางจังในสภาพปลอดเชื้อ งานประชุมวิชาการระดับชาติ วิถีลักษณ์วิจัย ครั้งที่ 6 วันที่ 3-4 กรกฎาคม 2557 ณ มหาวิทยาลัยลักษณ์.

นูรารานี สามเม, นูรีย์ห์ สามะ, มิติ เจียรพันธุ์ และวันวิภา หนูมา. 2558. ความหลากหลายของเห็บใน ตำบลเขารูปช้าง ตำบลเกาะแต้ว และตำบลทุ่งหวัง จังหวัดสงขลา. การประชุมวิชาการ ระดับชาติ “ลุ่มน้ำทะเลสาบสงขลา ครั้งที่ 3” 28-29 พฤษภาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏ ภูเก็ต.

**วันวิภา หนูมา.** 2558. การศึกษานิเวศวิทยาและความหลากหลายทางชีวภาพของเห็บและจุลินทรีย์ของ เห็บในจังหวัดสงขลาและสตูลของประเทศไทย. การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยใน อุดมศึกษา ครั้งที่ 3 (HERP congress III) 9-11 มีนาคม 2558 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏ นครศรีธรรมราช.

ภาควดี รักษthon, วันวิภา หนูมา, วัชรีพร ตฤณชาติวนิชย์ และอรุณี อหันทริก. 2015. ความหลากหลาย ทางชีวภาพและการกระจายตัวของเห็บในภาคใต้ของประเทศไทย. Rajabhat J. Sci. Humanit. Soc. Sci. 16(2): 310-319.

**งานวิจัยที่กำลังทำ :** ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัย ลุล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. พัฒนาการของคัพทะเลดุก lame-pain (*Clarias nieuhofii*) โดยใช้เทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา ทุน มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ทำไปแล้ว 50%

## ผู้ร่วมวิจัย

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย)	นางสาว วัชรีพร ตฤณชาติวนิชย์
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)	Miss Wachareeporn Trinachartvanit
ตำแหน่งปัจจุบัน	ผู้ช่วยศาสตราจารย์
หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก	สังกัดภาควิชา/หน่วยงานชีววิทยาคณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โทรศัพท์ 02-201-5380 โทรสาร 02-354-7161
E-mail	wachareeporn.tri@mahidol.ac.th

## ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก Ecology Ethology and Evolution สถาบัน University of Illinois at Urbana-Champaign  
มลรัฐ Illinois ประเทศ USA

ปริญญาโท สาขาวิทยาสภาวะแวดล้อม สถาบัน มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย

ปริญญาตรี สาขาวิทยา สถาบัน มหาวิทยาลัยมหิดล ประเทศไทย

สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ(แตกต่างจากภารกิจการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

พันธุศาสตร์และนิเวศวิทยาของเห็บ แมลงพาหะ และพาหะนำโรค

ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศไทย โดยระบุ  
สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัยหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยใน  
แต่ละผลงานวิจัย

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย: ชื่อแผนงานวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

การศึกษาเชือแบคทีเรียและปรอโตซัวในเห็บสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ในประเทศไทย

ผู้ร่วมโครงการวิจัย: ชื่อโครงการวิจัย

เห็บและจุลชีพชนิดใหม่ที่อยู่ร่วมกับเห็บ (หรืออาจก่อโรคในโขสต์ ในประเทศไทย)

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว: ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน (อาจมากกว่า 1 เรื่อง)

- 1) Ahantarig A\*, **Trinachartvanit W**, Baimai V, Grubhoffer, L. Hard ticks and their bacterial endosymbionts (or would be pathogens). *Folia Microbiol.* In press.  
2013:DOI10.1007/s12223-013-0222-1 ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล
- 2) Doornbos K, Sumrandee C, Ruang-Areerate T, Baimai V, **Trinachartvanit W**, Ahantarig A\*. Rickettsia sp. closely related to rickettsia raoultii (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in an amblyommahelvolum (Acarina: Ixodidae) tick from a

*varanussalvator* (Squamata: Varanidae) in thailand. J Med Entomol 2013; 50(1):217-220. IF= 1.762 ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล

- 3) Ahantarig A, Malaisri P, Hirunkanokpun S, Sumrandee C, **Trinachartvanit W\***, Baimai V. Detection of Rickettsia and a novel Haemaphysalisshimogasymbiont bacterium in ticks in Thailand. CurrMicrobiol 2011; 62(5):1496-1502. IF = 1.51.ทุนมหาวิทยาลัยมหิดลและทุน BRT
- 4) Ahantarig A\*, **Trinachartvanit W**, Milne JR. Tick-borne pathogens and diseases of animals and humans in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health Dec 2008;39(6):1015-32. (Review) Indexed in : SCOPUS, SciFinder.
- 5) Ahantarig A\*, **Trinachartvanit W**, Chauvatcharin N, Kittayapong P, Baimai V. Wolbachia and Bacteriophage WO-B Density of Wolbachia A-Infected Aedesalbopictus mosquito. Folia Microbiol 2008;53(6):547-550. IF = 0.989
- 6) Ahantarig A\*, **Trinachartvanit W**, Kittayapong P. Relative Wolbachia density of field-collected Aedesalbopictus mosquitoes in Thailand. J Vector Ecol Jun 2008;33(1):173-177. IF = 0.814

งานวิจัยที่กำลังทำ: ชื่อข้อเสนอการวิจัย แหล่งทุน และสถานภาพในการทำวิจัยว่าได้ทำการวิจัย คุ้ล่วงแล้วประมาณร้อยละเท่าใด

1. เท็บและจุลทรรศน์ใหม่ที่อยู่ร่วมกับเห็บ (หรืออาจก่อโรคในโ予สต์ในประเทศไทย ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล ทำไปแล้ว 65%)
2. การศึกษาเชื้อแบคทีเรีย และปรอตอซัวในเห็บสัตว์เลี้ยงและปศุสัตว์ในประเทศไทย ทุนมหาวิทยาลัยมหิดล ทำไปแล้ว 65%