

1. ชุดโครงการวิจัย: วิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช
2. โครงการวิจัย: วิจัยการศึกษาและพัฒนาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช
 กิจกรรม: การศึกษาความต้านทานของศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
 กิจกรรมย่อย: การศึกษาความต้านทานของแมลงและไรศัตรูพืชต่อสารป้องกันกำจัด
3. ชื่อการทดลอง: กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนใยผัก (diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.))
 ชื่อการทดลอง: Insecticide Resistance Mechanisms in Diamondback Moth
 (*Plutella xylostella* (L.))
4. คณะผู้ดำเนินงาน:
 หัวหน้าการทดลอง: สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง ^{1/}
 ผู้ร่วมงาน: สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น ^{1/} พวงผกา อ่างมณี ^{1/} วนาพร วงษ์นิค ^{1/}

บทคัดย่อ

ข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ช่วยให้การตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลง เพื่อใช้ในการบริหารจัดการความต้านทานโดยการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนประสบความสำเร็จ ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆในหนอนใยผักสายพันธุ์ที่ต้านทาน โดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวหนอนใยผัก ผลการทดลองพบว่า กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองน่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation) กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภท่าม่วง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง idoxacarb และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภท่าม่วง น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation) กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด esterases ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, tolfenpyrad, fipronil, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation) ดังนั้น ในการหมุนเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในท้องที่อำเภอบางบัวทอง จึงไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ส่วนในท้องที่อำเภท่าม่วง ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate และในท้องที่อำเภอไทรน้อย ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง indoxacarb

คำนำ

หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) เป็นแมลงศัตรูผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญที่สุดเพราะป้องกันกำจัดได้ยาก แมลงชนิดนี้สามารถกัดกินทำลายผักเสียหายอย่างมากตั้งแต่ระยะต้นอ่อนขึ้นไป เกษตรกรมักเสียค่าใช้จ่ายสูงในการพ่นสารฆ่าแมลงเพื่อป้องกันกำจัด เนื่องจากแมลงชนิดนี้มีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิด (วินัย, 2535; พรรณเพ็ญและคณะ, 2542; Rushtapakornchai *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 2006; APRD, 2009; Zhou *et al.*, 2010)

ปัจจุบันนี้การแก้ปัญหาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในประเทศที่พัฒนาแล้ว จะใช้การบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงโดยวิธีหมุนเวียนการใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ที่อยู่ต่างกลุ่มกันในแต่ละช่วงเวลา หรือในแต่ละรุ่นของแมลง (Deuter, 1989; Roush, 1989; Roush and Daly, 1990) ซึ่งการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ แบบหมุนเวียนอย่างมีประสิทธิภาพ จำเป็นที่จะต้องทราบข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่จะใช้ในแผน

การทราบข้อมูลกลไกความต้านทานจะช่วยในการตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลง หรือกลุ่มสารฆ่าแมลงที่มีกลไกความต้านทานแตกต่างกัน เพื่อนำมาใช้ในแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียน โดยที่จะไม่ใช้สารฆ่าแมลงที่มีกลไกความต้านทานแบบเดียวกันติดต่อกัน เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดการพัฒนาความต้านทานแบบข้าม (cross resistance) ซึ่งจะทำให้สถานการณ์ความต้านทานรุนแรงขึ้น การทราบกลไกความต้านทานยังช่วยให้สามารถคาดคะเนการเกิดความต้านทานแบบข้ามของสารฆ่าแมลงได้ (Roush, 1989)

ในปัจจุบันยังขาดข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในประเทศไทย ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ข้อมูลที่ได้จะช่วยในการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหนอนใยผัก

เก็บหนอนจากแปลงปลูกผักตระกูลกะหล่ำของเกษตรกรในท้องที่ อำเภอบางบัวทอง อำเภไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี และอำเภท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงปี 2554-2557 โดยเก็บหนอนจากแต่ละท้องที่มากกว่า 300 ตัวขึ้นไป นำหนอนมาเลี้ยงโดยใช้ใบกะหล่ำปลี (*Brassica oleraceae* var. *capitata* L.) ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26 ± 2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) จนหนอนเข้าดักแด้ เก็บรวบรวมดักแด้ใส่กรงเพื่อให้ออกเป็นผีเสื้อ เลี้ยงผีเสื้อด้วยน้ำผึ้ง 10% ที่ซุกับสำลี ให้ผีเสื้อวางไข่

บนแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไข่มาปักในกล่องที่มีต้นกล้าผักกะหล่ำปลีเป็นอาหาร เลี้ยงหนอนด้วยใบผักกะหล่ำปลี จนกระทั่งหนอนเข้าวัย 3 ช่วงต้น จึงนำหนอนรุ่นที่ 1 มาใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้

ใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole (Prevathon 5% SC), chlorfenapyr (Rampage 10% SC), emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC), tolfenpyrad (Hachi Hachi 16% EC), indoxacarb (Ammate 15% SC), fipronil (Ascend 5% SC) และ สารจับใบ (Tension T-7, Blend of non-ionic alkyl aryl polyethoxylate and sodium alkylsulfonated alkylate 60%)

ส่วนสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ใช้เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษของสารฆ่าแมลงคือ piperonyl butoxide (PBO, 90% technical; Fluka, Steinheim, Germany), triphenyl phosphate (TPP, 98% technical; Fluka, Steinheim, Germany) และ diethyl maleate (DEM, 97% technical; Aldrich, Steinheim, Germany)

สารเพิ่มประสิทธิภาพ piperonyl butoxide (PBO) เป็นตัวยับยั้ง (inhibitor) เอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases และ esterases, triphenyl phosphate (TPP) เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ esterase และ diethyl maleate (DEM) เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ glutathione s-transferase

การเตรียมสารเพิ่มประสิทธิภาพเพื่อตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง โดยขบวนการย่อยทำลายพิษ ทำโดยละลายสารเพิ่มประสิทธิภาพดังกล่าวใน absolute ethanol เพื่อเป็น stock solution ที่มีสารเพิ่มประสิทธิภาพเข้มข้น 10,000 ppm ก่อน แล้วจึงนำมาละลายในน้ำ (Ninsin and Tanaka, 2005)

การตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในปี 2554-2555 ใช้วิธีหยดสาร (topical application) เพิ่มประสิทธิภาพ ลงบนตัวหนอนที่บริเวณหลัง (dorsal) (Kramer and Nauen, 2011) พบว่าการใช้ PBO เข้มข้น 150 ppm, TPP เข้มข้น 150 ppm และ DEM เข้มข้น 300 ppm ตามลำดับ หยดลงบนตัวหนอนที่บริเวณหลัง ไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์ต้านทานจากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ตายเกิน 10%

การตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในปี 2556-2557 ใช้วิธีผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพในสารฆ่าแมลงแล้วเอาใบกะหล่ำปลีชุบให้หนอนกิน (leaf-feeding method) ผลการทดลองในปี 2556-2557 พบว่าการชุบใบกะหล่ำปลีด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพแล้วให้หนอนกิน โดยใช้ PBO เข้มข้น 100 ppm, TPP เข้มข้น 100 ppm และ DEM เข้มข้น 100 ppm ตามลำดับ ไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์ต้านทานจากอำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี ตายเกิน 10%

การตรวจสอบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ในหนอนใยผัก

การตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในปี 2554-2555 ใช้วิธีหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ คือ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ลงบนตัวหนอนที่บริเวณหลัง (dorsal) (Kramer and Nauen, 2011) ทำการหยดสารในความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อมูลที่ได้จากการทำ pretest เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวหนอนใยผักรุ่นที่ 1 วัย 3 ช่วงต้น ทิ้งไว้

ประมาณ 2 ชั่วโมง (Zhao *et al.*, 1994) จนกระทั่งสารแห้ง แล้วทำการปล่อยหนอนใยผักที่ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ จำนวน 10 ตัว ลงในถ้วยพลาสติกขนาด 100 มล. ที่มีฝาปิดที่เจาะรูเล็กๆ ให้อากาศถ่ายเทได้ และรองพื้นด้วยกระดาษกรองเพื่อดูดซับความชื้น ทำการใส่ใบกะหล่ำปลีที่ซึบสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดให้หนอนกิน

การเตรียมใบกะหล่ำปลีที่ซึบสารฆ่าแมลงทำโดย นำใบกะหล่ำปลี (*Brassica oleraceae* L.) ที่ถูกตัดให้มีขนาด 5x5 ซม. มาจุ่มในสารฆ่าแมลงที่ละลายในน้ำที่ผ่านขบวนการ reversed osmosis จนได้สารฆ่าแมลงที่มีความเข้มข้นต่างๆ ที่ผสมสารจับใบ (Tension T-7) อัตรา 5 มล./น้ำ 20ลิตร ทำการจุ่มสารฆ่าแมลงนาน 10 วินาที ส่วน control จะใช้ใบกะหล่ำปลีที่จุ่มในน้ำที่ผสมกับสารจับใบเพียงอย่างเดียว นำใบที่จุ่มแล้วไปผึ่งให้แห้ง 1-2 ชั่วโมง ทำอย่างน้อย 4 ซ้ำ ส่วน control จะทำเหมือนกันแต่จะใช้หนอนที่ไม่ได้ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพ

ส่วนในปี 2556-2557 ทำการทดลองโดยใช้วิธี leaf-dipping method (Fahmy *et al.*, 1991; Ninsin *et al.*, 2000) เพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง โดยนำสารเพิ่มประสิทธิภาพ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษจากข้อมูลที่ได้จากการทำ pretest มาละลายในสารฆ่าแมลงความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำใบกะหล่ำปลีมาซึบสารแล้วให้หนอนกิน วิธีนี้หนอนจะได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพและสารฆ่าแมลงพร้อมกัน

นำหนอนที่ทดลองไปไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 26 ± 2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง:มืด) ปล่อยให้หนอนกินใบผักที่ซึบสารฆ่าแมลง ทำการบันทึกการตายของหนอนที่ 72 ชั่วโมง หนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเหยื่อของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย ถ้าหนอนใน control มีการตายเกิน 10% จะทำการทดลองใหม่

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาค่าการตายของหนอนที่ 50%, (LC_{50}), slopes และค่า 95% confidence intervals (95% CI) โดยวิธี probit regression analysis (Finney, 1971) โดยใช้โปรแกรม POLO-plus (LeOra Software, 1997) การทดลองที่ control มีการตายจะต้องปรับค่าการตายโดยใช้ Abbot's formula (Abbott, 1925) ก่อนการวิเคราะห์ ค่า synergism ratios (SRs) คำนวณจากค่า LC_{50} ของหนอนใยผักไม่ได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพหารด้วยค่า LC_{50} ของหนอนใยผักที่ได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพ

- เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงปี พ.ศ. 2554-2557 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ คือ PBO, TPP และ DEM ในความเข้มข้นที่พอเหมาะ ช่วยในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 monooxygenases, esterases และ glutathione s-transferase ตามลำดับ ทำให้สามารถศึกษาผลกระทบด้านพิษต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ได้

การทดลอง pretest ในปี 2554 โดยให้หนอนใยผักได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพโดยการหยดลงบนตัวหนอนที่บริเวณหลัง (dorsal) เพื่อให้สารแทรกซึมเข้าสู่ลำตัว พบว่าการใช้ PBO เข้มข้น 150 ppm, TPP เข้มข้น 150 ppm, DEM เข้มข้น 300 ppm ตามลำดับ ไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์จากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ตายเกิน 10% ดังนั้นจึงใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นดังกล่าวหยดลงบนตัวหนอนเพื่อตรวจผลกระทบด้านพิษต่อสารฆ่าแมลงโดยขบวนการย่อยทำลายพิษในหนอนใยผัก

ส่วนการทดลอง pretest ในปี 2556 โดยให้หนอนใยผักได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพโดยการใช้ใบกะหล่ำปลีชุบสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดแล้วนำมาให้หนอนกิน พบว่าต้องใช้ PBO เข้มข้น 100 ppm, TPP เข้มข้น 100 ppm, DEM เข้มข้น 100 ppm ตามลำดับ ไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์ด้านพิษจากอำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี ตายเกิน 10% แต่ถ้าเป็นหนอนใยผักสายพันธุ์อ่อนแอจากอำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ และจากอำเภอทับเบิก จังหวัดเพชรบูรณ์ ต้องใช้ PBO เข้มข้น 50 ppm, TPP เข้มข้น 50 ppm, DEM เข้มข้น 50 ppm จึงไม่ทำให้หนอนใยผักตายเกิน 10%

ผลการทดลองในปี 2554 ชี้ว่าการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 monooxygenases น่าจะเป็นกลไกหนึ่งในความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง และจากอำเภอดำรง เนื่องจากสาร PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง และจากอำเภอดำรงได้อย่างเด่นชัด ค่า synergism ratio สูงขึ้นในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง และดำรง เท่ากับ 2.08 และ 7.42 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ค่า LC_{50} ลดลงจาก 162.3 เป็น 77.9 mg/liter และในหนอนใยผักจากอำเภอดำรง จังหวัดกาญจนบุรี ค่า LC_{50} ลดลงจาก 58.3 เป็น 7.86 mg/liter (ตารางที่ 1)

ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ ไม่สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ได้อย่างเด่นชัด (ตารางที่ 1) แสดงให้เห็นว่ากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าว ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง ไม่น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษ

ผลการทดลองในปี 2555 ชี้ว่า การย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 monooxygenases น่าจะเป็นกลไกหนึ่งในความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอดำรง เนื่องจากสาร PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอดำรงได้อย่างเด่นชัด สาร PBO ทำให้ค่า LC_{50} ลดลง และให้ค่า synergism ratio สูงเท่ากับ 4.37 และ 4.85 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ส่วนในสารฆ่าแมลง indoxacarb สารเพิ่มประสิทธิภาพ PBO ไม่สามารถเพิ่มความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงในหนอนใยผักจากอำเภอดำรงได้อย่างชัดเจน (ตารางที่ 2)

ผลการทดลองในปี 2556 ชี้ว่า การย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด esterases น่าจะเป็นกลไกหนึ่งในความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย เนื่องจากสาร TPP สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ indoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย ได้อย่างเด่นชัด สาร TPP ทำให้ค่า LC₅₀ ลดลงจาก 134.5 เป็น 34.7 mg/liter และให้ค่า synergism ratio สูงเท่ากับ 3.88 (ตารางที่ 3)

ในปี 2556 ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ ไม่สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole และ tolfenpyrad ได้อย่างเด่นชัด (ตารางที่ 3) ส่วนในหนอนใยผักจากอำเภอดำม่วง สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ ไม่สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb และ tolfenpyrad ได้อย่างเด่นชัด (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่ากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าว ไม่น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษ

ผลการทดลองในปี 2557 ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ ไม่สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง fipronil, chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ได้อย่างเด่นชัด (ตารางที่ 4) แสดงให้เห็นว่ากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าว ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย ไม่น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษ

ผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองน่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

การใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนในการบริหารจัดการความต้านทาน ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole และสารฆ่าแมลงชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เพราะอาจมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความต้านทานข้ามกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มเดียวกัน และในกลุ่มอื่นๆ ได้ (Roush, 1989) เนื่องจากเอนไซม์ cytochrome P450 สามารถย่อยสารเคมีได้หลากหลายชนิด ดังนั้นจึงทำให้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมุนเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผัก ในท้องที่อำเภอบางบัวทอง ส่วนการใช้สารฆ่าแมลง chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองแบบหมุนเวียนอาจกระทำได้ ถ้าสารฆ่าแมลงดังกล่าวมีความต้านทานไม่สูงมากนัก เนื่องจากกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอดำม่วง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอดำม่วง น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

การใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนในการบริหารจัดการความต้านทาน ในหนอนใยผักจากอำเภอดำม่วง ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate และสารฆ่าแมลงชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เพราะอาจมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความต้านทานข้ามกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มเดียวกัน

และในกลุ่มอื่นๆ ได้ (Roush, 1989) เนื่องจากเอนไซม์ cytochrome P450 สามารถย่อยสารเคมีได้หลากหลายชนิด ดังนั้นจึงทำให้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมุนเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผัก ในท้องที่อำเภอท่าม่วง ส่วนการใช้สารฆ่าแมลง idoxacarb และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วงแบบหมุนเวียนอาจกระทำได้ ถ้าสารฆ่าแมลงดังกล่าวมีความต้านทานไม่สูงมากนัก เนื่องจากกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง idoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด esterases ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, tolfenpyrad, fipronil, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

การใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนในการบริหารจัดการความต้านทาน ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง idoxacarb และสารฆ่าแมลงชนิดอื่นๆ ที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เพราะอาจมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความต้านทานข้ามกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มเดียวกัน และในกลุ่มอื่นๆ ได้ (Roush, 1989) เนื่องจากเอนไซม์ esterases สามารถย่อยสารฆ่าแมลงที่มี ester bond ได้ ดังนั้นจึงทำให้สารฆ่าแมลง idoxacarb ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมุนเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผัก ในท้องที่อำเภอไทรน้อย ส่วนการใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, tolfenpyrad, fipronil, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อยแบบหมุนเวียนอาจกระทำได้ ถ้าสารฆ่าแมลงดังกล่าวมีความต้านทานไม่สูงมากนัก เนื่องจากกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงดังกล่าวเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr, emamectin benzoate และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองน่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วง น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง idoxacarb และ tolfenpyrad ในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วง น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง idoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการย่อยของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด esterases ส่วนกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, tolfenpyrad, fipronil, chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อย น่าจะเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของจุดจับ (target-site mutation)

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ในการหมื่นเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในท้องที่อำเภอบางบัวทอง ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ส่วนการหมื่นเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในท้องที่อำเภอดำรงวิทยารมย์ ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate และการหมื่นเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในท้องที่อำเภอไทรน้อย ไม่ควรใช้สารฆ่าแมลง indoxacarb

เอกสารอ้างอิง

- พรรณเพ็ญ ชโยภาส, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, ทวีศักดิ์ ชโยภาส, กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม และ สัญญาณี ศรีรักษา .2542 . การตรวจความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของหนอนใยผักในแหล่งปลูกผักภาคต่างๆ, น .1-15 .ใน เอกสารวิชาการ รายงานผลการค้นคว้าและวิจัย ประจำปี .2542กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูพืชสวนอุตสาหกรรม . กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ
- วินัย รัชตปกรณชัย .2535 .แมลงศัตรูกะหล่ำและแนวทางการบริหาร .น .142-157 .ใน แมลงและ สัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร .กรมวิชาการเกษตร .กรุงเทพฯ.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 256-267.
- [APRD] Arthropod Pesticide Resistance Database. 2009. Arthropod pesticide resistance database. (<http://www.pesticideresistance.org/>).
- Deuter, P.L. 1989. The development of an insecticide resistance strategy for the Lockyer Valley. *Acta Horticulturae* 247: 55-62.
- Fahmy, A.R., N. Sinchaisri, and T. Miyata. 1991. Development of chlorfluazuron resistance and pattern of cross-resistance in the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *J. Pestic. Sci.* 16: 665-672.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis, third ed. Cambridge University Press, London.
- Kramer, T. and R. Nauen. 2011. Monitoring of spiroticlofen susceptibility in field populations of European redmites, *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae), and the cross-resistance pattern of a laboratory-selected strain. *Pest Manag. Sci.* 67: 1285–1293.
- LeOra Software. 1997. POLO-PC: probit and Logit Analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.
- Ninsin, K.D., J. Mo, T. Miyata. 2000. Decreased susceptibilities of four field populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae), to acetamiprid. *Appl. Entomol. Zool.* 35: 591–595.

- Ninsin, K.D. and T. Tanaka. 2005. Synergism and stability of acetamiprid resistance in a laboratory colony of *Plutella xylostella*. *Pest Manag. Sci.* 61: 723-727.
- Roush, R.T. 1989. Designing resistance management programs: How can you choose? *Pestic. Sci.* 26: 423-441.
- Roush, R.T. and J.C. Daly. 1990. The role of population genetics research in resistance research and management, in *Pesticide Resistance in Arthropods*, ed. by Roush RT and Tabashnik BE. Chapman and Hall, New York, NY, pp. 97-152.
- Rushtapakornchai W., P. Keinmesuk, A. Vattanatankum, T. Miyata and T. Saito. 1995. Field experiment for candidate insecticides to the diamondback moth, pp. 77-95. *In* Management of Brown Planthopper and Resistance of Diamondback Moth. Nagoya University Cooperation Press. Nagoya. Japan.
- Zhao, J.-Z., X. Fan, and Y. Zhao. 1994. Comparison of two bioassay techniques for resistance monitoring in *Heliothis armigera* and *Plutella xylostella*. *Resistant Pest Manage.* 6: 14-15.
- Zhao, J.-Z., H.L. Collins, Y.-X. Li, R.F.L. Mau, G.D. Thompson, M. Hertlein, J.T. Andaloro, R. Boykin, and A.M. Shelton. 2006. Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. *J. Econ. Entomol.* 99 (1): 176-181.
- Zhou L., J. Huang, H. Xu. 2010. Monitoring resistance of field populations of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to five insecticides in South China: A ten-year case study. *Crop Protection* 30 (3): 272-278.

Table 1 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to F1 generation of *P. xylostella* collected from Bang Bua Thong district, Nonthaburi and Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2011.

Strain (Generation tested)	Insecticide	n ¹	Slope ± SE	LC ₅₀ (95%CI) ² [mg/liter]	SR ³
Bang Bua Thong (F1)	chlorantraniliprole	360	0.755 ± 0.105	162.3 (51.6 – 832.3)	-
	+PBO 150 ppm	200	0.998 ± 0.306	77.9 (35.4 – 125.1)	2.08
	+TPP 150 ppm	240	1.417 ± 0.255	137.6 (41.6 – 238.9)	1.17
	+DEM 300 ppm	280	1.414 ± 0.226	94.6 (13.0 – 205.2)	1.71
	chlorfenapyr	240	1.732 ± 0.252	149.9 (61.7 – 287.9)	-
	+PBO 150 ppm	240	0.735 ± 0.227	489.1 (235.6 – 5,543.0)	0.31
	+TPP 150 ppm	200	1.602 ± 0.339	89.9 (64.3 – 132.3)	1.67
	+DEM 300 ppm	240	1.406 ± 0.262	88.6 (24.9 – 193.5)	1.69
	emamectin benzoate	320	1.235 ± 0.150	7.21 (1.69 – 20.7)	-
	+PBO 150 ppm	240	2.440 ± 0.309	7.14 (3.90 – 11.4)	1.01
	+TPP 150 ppm	240	1.330 ± 0.186	5.67 (2.69 – 11.79)	1.27
	+DEM 300 ppm	280	1.519 ± 0.192	11.9 (6.06 – 34.1)	0.61
Tolfenpyrad	tolfenpyrad	240	1.082 ± 0.135	866.5 (531.7 – 1,431.3)	-
	+PBO 150 ppm	240	1.222 ± 0.187	713.6 (475.7 – 1,071.2)	1.21
	+TPP 150 ppm	280	0.876 ± 0.173	1,824.7 (1,144.9 – 3,922.2)	0.47
	+DEM 300 ppm	280	1.053 ± 0.179	1,599.7 (1,087.0 – 2,791.5)	0.54
Tha Muang (F1)	chlorantraniliprole	360	0.855 ± 0.179	58.3 (35.7 – 121)	-
	+PBO150 ppm	300	0.917 ± 0.267	7.86 (3.93 – 13.2)	7.42*

¹ Number of larvae used in bioassay, including control.

² LC₅₀ (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

³ SR (synergism ratio) = LC₅₀ of a strain treated with insecticide alone / LC₅₀ of the same strain treated with synergist and insecticide.

Table 2 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to F1 generation of *P. xylostella* collected from Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2012.

Strain (Generation tested)	Insecticide	n ¹	Slope ± SE	LC ₅₀ (95%CI) ² [mg/liter]	SR ³
Tha Muang (F1)	chlorfenapyr	360	1.526 ± 0.225	59.0 (44.8 – 84.9)	-
	+PBO 150 ppm	420	1.081 ± 0.153	13.5 (8.3 – 19.2)	4.37*
	emamectin benzoate	480	1.601 ± 0.138	1.75 (1.13 – 2.60)	-
	+PBO 150 ppm	540	0.793 ± 0.090	0.361 (0.051 – 0.951)	4.85*
	indoxacarb	420	1.256 ± 0.141	149.4 (76.4 – 269.9)	-
	+PBO 150 ppm	540	1.153 ± 0.107	95.7 (54.6 – 115.2)	1.56

¹ Number of larvae used in bioassay, including control.

² LC₅₀ (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

³ SR (synergism ratio) = LC₅₀ of a strain treated with insecticide alone / LC₅₀ of the same strain treated with synergist and insecticide.

* indicates that the 95% CI of LC₅₀ was not overlap with that of insecticide alone.

Table 3 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to *P. xylostella* collected from Sai Noi district, Nonthaburi and Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2013.

Strain (Generation tested)	Insecticide	n ¹	Slope ± SE	LC ₅₀ (95%CI) ² [mg/liter]	SR ³
Sai Noi (F1) location1	chlorantraniliprole	220	2.417 ± 0.412	127.9 (98.8 – 164.5)	-
	+PBO 100 ppm	300	1.804 ± 0.281	71.8 (50.7 – 96.4)	1.78*
	+TPP 100 ppm	260	2.607 ± 0.497	112.0 (82.0 – 142.1)	1.14
	+DEM 100 ppm	220	2.105 ± 0.336	84.5 (58.8 – 114.7)	1.51
	tolfenpyrad	270	1.291 ± 0.201	257.6 (164.5 – 384.3)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.496 ± 0.237	241.3 (158.4 – 342.4)	1.07
	+TPP 100 ppm	270	1.361 ± 0.229	215.4 (76.3 – 416.4)	1.20
	+DEM 100 ppm	270	1.432 ± 0.205	311.9 (156.9 – 600.5)	0.83
Sai Noi (F3) location2	indoxacarb	240	1.032 ± 0.203	134.5 (66.9 – 211.1)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.051 ± 0.207	71.9 (19.5 – 138.7)	1.87
	+TPP 100 ppm	300	0.753 ± 0.143	34.7 (9.9 – 69.1)	3.88
	+DEM 100 ppm	270	1.037 ± 0.167	117.8 (70.6 – 177.1)	1.14
	tolfenpyrad	240	2.054 ± 0.257	656.1 (509.1 – 845.6)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.968 ± 0.254	514.3 (391.9 – 665.0)	1.28
	+TPP 100 ppm	240	2.373 ± 0.291	446.2 (355.5 – 566.2)	1.47
	+DEM 100 ppm	240	2.227 ± 0.275	549.0 (429.3 – 695.6)	1.20
Tha Muang (F2)	indoxacarb	270	1.405 ± 0.179	125.4 (91.0 – 174.1)	-
	+PBO 100 ppm	270	1.154 ± 0.169	142.8 (98.3 – 213.6)	0.88
	+TPP 100 ppm	270	0.910 ± 0.160	165.4 (104.8 – 283.4)	0.76
	+DEM 100 ppm	270	1.355 ± 0.180	203.6 (146.7 – 298.1)	0.62
	tolfenpyrad	270	1.454 ± 0.185	175.2 (113.5 – 288.6)	-
	+PBO 100 ppm	270	1.686 ± 0.198	119.5 (75.7 – 191.5)	1.47
	+TPP 100 ppm	270	1.494 ± 0.197	269.4 (197.6 – 391.2)	0.65
	+DEM 100 ppm	240	2.118 ± 0.266	221.0 (173.1 – 285.9)	0.79

¹ Number of larvae used in bioassay, including control.

² LC₅₀ (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

³ SR (synergism ratio) = LC₅₀ of a strain treated with insecticide alone / LC₅₀ of the same strain treated with synergist and insecticide.

* indicates that the 95% CI of LC₅₀ was not overlap with that of insecticide alone.

Table 4 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to *P. xylostella* collected from Sai Noi district, Nonthaburi; Thailand in year 2014.

Strain (Generation tested)	Insecticide	n ¹	Slope ± SE	LC ₅₀ (95%CI) ² [mg/liter]	SR ³
Sai Noi (F1) location1	fipronil	180	1.348 ± 0.399	89.6 (44.9 – 144.7)	-
	+PBO 100 ppm	210	1.574 ± 0.313	88.9 (52.1 – 128.6)	1.01
	+TPP 100 ppm	210	2.283 ± 0.430	141.4 (95.1 – 189.8)	0.63
	+DEM 100 ppm	210	1.666 ± 0.411	88.6 (53.0 – 129.8)	1.01
	chlorfenapyr	260	1.994 ± 0.268	311.1 (247.1 – 406.2)	-
	+PBO 100 ppm	260	0.653 ± 0.221	999.0 (448.2 – 24,096.3)	0.31
	+TPP 100 ppm	260	1.706 ± 0.256	377.5 (288.8 – 534.3)	0.82
	+DEM 100 ppm	260	1.583 ± 0.251	437.8 (240.1 – 1,843.9)	0.71
	emamectin benzoate	260	1.655 ± 0.219	4.74 (3.38 – 6.28)	-
	+PBO 100 ppm	260	0.822 ± 0.183	2.94 (1.10 – 5.07)	1.61
	+TPP 100 ppm	260	1.559 ± 0.223	12.8 (6.49 – 31.4)	0.37
	+DEM 100 ppm	260	1.881 ± 0.235	4.07 (1.31 – 7.82)	1.16
	tolfenpyrad	260	1.314 ± 0.235	408.6 (277.2 – 575.1)	-
	+PBO 100 ppm	260	1.933 ± 0.270	509.0 (280.3 – 885.3)	0.80
	+TPP 100 ppm	260	1.917 ± 0.276	583.0 (359.6 – 964.0)	0.70
	+DEM 100 ppm	260	2.194 ± 0.282	394.4 (309.6 – 492.2)	1.04

¹ Number of larvae used in bioassay, including control.

² LC₅₀ (95% confidence intervals) at 48 hr.

³ SR (synergism ratio) = LC₅₀ of a strain treated with insecticide alone / LC₅₀ of the same strain treated with synergist and insecticide.