

การจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* Ferris, 1950 (Hemiptera: Pseudococcidae)

ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Species Identification of Mealybug Genus *Planococcus* Ferris, 1950 based on
Morphological Character and Molecular Techniques

ชัมัยพร บัวมาศ^{1/} ยูวรินทร์ บุญทบ^{1/} จารุวัตร แท้กุล^{1/} สุนัดดา เชาวลิต^{1/}

Chamaiporn Buamas^{1/} Yuvarin Boontop^{1/} Charuwat Taekul^{1/} Sunadda Chaovalit^{1/}

ABSTRACT

Mealybugs in the genus *Planococcus* Ferris, 1950, belonging to the family Pseudococcidae, are sucking insects capable of causing significant damage to a wide range of host plants. These insects are small in size, and many species exhibit similar morphological characteristics, making accurate species identification difficult. This study, conducted between 2022 and 2023, aimed to identify *Planococcus* species and their host plants in the Central, Northern, Northeastern, Eastern, Western, and Southern regions of Thailand using both morphological and molecular approaches. Specimens were collected from various agricultural crops and prepared as permanent slides for morphological identification. DNA was also extracted and amplified using primers targeting the cytochrome c oxidase subunit I (Cox1) gene. The obtained nucleotide sequences were compared with reference sequences from the GenBank database to confirm species identity. As a result, three *Planococcus* species were identified: *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905), *Planococcus minor* (Maskell, 1897), and *Planococcus citri* (Risso, 1813). This study provides useful reference data and contributes to the development of clearer, more accurate, and standardized methods for the identification of *Planococcus* species in Thailand.

Keywords: mealybug, DNA barcoding, *Planococcus*

^{1/} กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ถนนพหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Phahonyothin Rd., Lat Yao, Chatuchak, Bangkok 19000. Thailand

* Corresponding author: c.buamas@gmail.com

บทคัดย่อ

เพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* Ferris, 1950 ในวงศ์ Pseudococcidae เป็นแมลงปากดูดที่สามารถสร้างความเสียหายให้กับพืชได้หลากหลายชนิด มีขนาดลำตัวเล็กและบางชนิดมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกัน ทำให้การจำแนกชนิดที่ถูกต้องทำได้ยาก การจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* Ferris, 1950 ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล ดำเนินการระหว่าง ปี พ.ศ. 2565 - 2566 เพื่อทราบชนิดและพืชอาศัย ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทย ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้ง จากแหล่งปลูกพืชต่าง ๆ นำมาทำสไลด์ถาวรเพื่อใช้จำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณจากส่วนของยีน cytochrome c oxidase subunit 1 (*Cox1*) มาใช้ในการยืนยันชนิดของเพลี้ยแป้ง เมื่อนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์มาตรฐานในฐานข้อมูล GenBank สามารถจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* ได้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905) *Planococcus minor* (Maskell, 1897) และ *Planococcus citri* (Risso, 1813) ซึ่งทำให้การศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางและข้อมูลสนับสนุนในการจำแนกชนิดของเพลี้ยแป้งให้มีความชัดเจน มีความถูกต้องแม่นยำและเป็นมาตรฐานมากขึ้น

คำสำคัญ: เพลี้ยแป้ง ดีเอ็นเอบาร์โค้ด *Planococcus*

บทนำ

เพลี้ยแป้ง (mealybug) สกุล *Planococcus* Ferris, 1950 วงศ์ Pseudococcidae พบเข้าทำลายพืชต่าง ๆ ได้หลากหลาย เช่น พืชผัก ไม้ดอก ไม้ผล และพืชไร่ทั่วโลกพบรายงานแล้ว 48 ชนิด สำหรับในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีรายงานแล้ว 15 ชนิด (García et al., 2016) ส่วนในประเทศไทยนั้น พบเพลี้ยแป้ง สกุลนี้จำนวน 2 ชนิด คือ *Planococcus lilacinus* (Cockerell)

พบลงทำลายใน เงาะ ทุเรียน น้อยหน่า และสละ เป็นต้น และ *Planococcus minor* (Maskell) พบลงทำลายใน ทุเรียน กล้วยน้ำว่า น้อยหน่า เงาะ ลางสาด งอนไก่ มันฝรั่ง และมะม่วงหิมพานต์ (บุปผาและชลิดา, 2543) นอกจากนี้ Williams (2004) ได้รายงานว่า ประเทศไทยพบเพลี้ยแป้งชนิด *Planococcus citri* (Risso) ซึ่งเพลี้ยแป้งในสกุลนี้มีความคล้ายคลึงด้านสัณฐานวิทยาเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะชนิด *P. minor* และ *P. citri* เนื่องจากพืชอาศัยที่พบเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ความถูกต้องแม่นยำในการจำแนกชนิดจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง โดยเฉพาะสำหรับผู้ที่ไม่มีความเชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานของเพลี้ยแป้ง ถือเป็นสิ่งที่ยาก และหากตัวอย่างที่ไม่สมบูรณ์ก็ทำให้การจำแนกชนิดนั้นเป็นไปได้ยาก ซึ่งในปัจจุบันมีเทคนิคด้านชีวโมเลกุลที่ถือเป็นเครื่องมือสำคัญ หากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดให้มีความถูกต้องแม่นยำ ยอมรับในระดับสากล และยังสามารถพัฒนาต่อยอดสู่การวิจัยเพื่อพัฒนาการตรวจสอบให้รวดเร็ว ทันต่อสถานการณ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบศัตรูพืชในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรของไทย รวมทั้งการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมในอนาคตต่อไปได้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus*

เก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญตามภูมิภาคต่าง ๆ ทั่วประเทศ เมื่อพบเพลี้ยแป้ง ให้ตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยแป้งอาศัยอยู่ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติกบันทึกข้อมูลรายละเอียด นำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo microscope) ในห้องปฏิบัติการ บันทึกภาพถ่ายรายละเอียดที่เกี่ยวข้อง คัดเลือกตัวเต็มวัยเพศเมียหรือระยะอ่อนวัยที่ 3 ซึ่งมีอวัยวะต่าง ๆ สมบูรณ์ ทำการดองตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% และเก็บในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20°C. เพื่อดำเนินการในขั้นตอนต่อไป

2. การจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

นำตัวอย่างเพลี้ยแป้งไปสกัดดีเอ็นเอโดยใช้เพลี้ยแป้งที่ตอกลงในแอลกอฮอล์ 95% จากข้อ 1 นำเพลี้ยแป้งทั้งตัวใส่ในหลอดขนาด 1.5 mL แล้วดำเนินการสกัดด้วยชุดน้ำยาสกัด ISOLATE II Genomic DNA Kit (Bioline, Australia) เติม Lysis buffer GL 180 μ L และ Proteinase K 25 μ L เขย่าให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิ 62°C นาน 20 - 24 ชม. จากนั้นเติม Lysis buffer G3 ปริมาตร 200 μ L เขย่าให้เข้ากัน และบ่มต่อที่ 70°C นาน 10 นาที นำไคติน (chitin) ของเพลี้ยแป้งออกมาตอกลงในแอลกอฮอล์ 70% เพื่อนำไปทำสไลด์ถาวร และนำของเหลวในหลอดเติม absolute ethanol ปริมาตร 210 μ L เขย่าให้เข้ากัน และนำไปใส่ในคอลัมน์กรองก่อนปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 g นาน 1 นาที ล้างคอลัมน์ด้วย Wash buffer GW1 ปริมาตร 500 μ L และปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 g นาน 1 นาที เทส่วนที่กรองได้ทิ้ง และล้างคอลัมน์ซ้ำด้วย Wash buffer GW2 ปริมาตร 600 μ L ปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 g นาน 1 นาที และปั่นซ้ำอีกครั้งโดยไม่เติมสารละลาย เพื่อกำจัด ethanol ที่ตกค้าง ต่อมาย้ายคอลัมน์ไปใส่ในหลอดใหม่ และชะล้างดีเอ็นเอด้วยการเติม Elution buffer G ที่อุณหภูมิ 70°C ปริมาตร 50 μ L บ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 g นาน 10 นาที ทำการเพิ่มปริมาณยีน mtCOI ด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์สากลของเพลี้ยแป้ง mealybug universal primer) PcoF1-5' CCTTCACTAATCATAAAAATATYAG 3' และ LepR1 5' TAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA 3' (Park et al., 2010; Park et al., 2011) ในการเพิ่มปริมาณ DNA สังเคราะห์ยีน mtCOI ของเพลี้ยแป้งจากดีเอ็นเอที่เตรียมได้ โดยใช้ส่วนผสมของ MyTaq HS Red DNA Polymerase (Bioline, Cat No. BIO-21114) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 μ L ประกอบไปด้วย Nuclease free water จำนวน 10.5 μ L 5x MyTaq Red Reaction Buffer จำนวน 4 μ L 10 μ M CP-F จำนวน 1 μ L 10 μ M CP-R จำนวน 1 μ L MyTaq HS DNA Polymerase จำนวน 0.5 μ L

DNA template จำนวน 3 μ L รวมทั้งสิ้น 20 μ L ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) ทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์ โดย Predenaturation 95°C. 5 นาที Denaturation 95°C. 1 นาที Annealing 50°C. 1 นาที Extension 72°C. 2 นาที และ Final extension 72°C. 10 นาที และนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่ได้ไปตรวจสอบด้วยวิธีการอิเล็กโตรโฟรีซิส บนอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1.5% และให้ PCR product เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์เป็นเวลา 30 นาที ส่ง PCR product เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์มาทำการวิเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์เพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* ที่นำมาศึกษาทั้งหมด (sequence assembly) เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง โดยโปรแกรมที่ Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) และบันทึกข้อมูลในรูปแบบ FASTA ไฟล์ ในการศึกษาจะถูกเก็บบันทึก และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช และดีเอ็นเอที่สกัดได้จัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C. ณ พิพิธภัณฑ์แมลงกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

3. การจำแนกชนิดเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* ด้วยสัณฐานวิทยา

นำไคตินที่ได้จากขั้นตอนการสกัดดีเอ็นเอจากข้อ 2 ไปทำสไลด์ถาวรโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Williams and Watson (1988) นำตัวอย่างสไลด์ที่ทำเสร็จเรียบร้อยแล้วไปอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 50°C. ใช้เวลาอย่างน้อย 2 เดือน ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยแป้งบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound microscope) ที่มีกำลังขยายสูง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Cox (1989) Williams and Watson (1988) Williams and Granara de Willink (1992) และ Williams (2004) รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างสไลด์เพลี้ยแป้งที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลงของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร โดยเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่าง ๆ

ได้แก่ จำนวนปล้องหนวด (antennae) รูปร่างขน (setae) เช่น ขนรูปกรวย (conical setae) ขนอ่อนขนาดเล็ก (auxiliary setae) ขนแข็งยาว (flagellate setae) รูปแบบของรู (pores) เช่น รูกลมแบบหลายช่อง (multilocular dis pores) รูสามเหลี่ยม (trilocular pores) รูโปร่งแสง (translucent pores) รูกลม (discoidal pores) รูปแบบของท่อ (tubular ducts) เช่น ท่อแผ่นแข็ง (oral collar tubular duct) ท่อขอบแข็ง (oral rim tubular duct) จำนวนกลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแบ่งด้านข้างลำตัว (cerarii) รูปร่างของช่องเปิด (ostioles) ลักษณะวงแหวนปลายส่วนท้อง (anal ring) แถบปลายส่วนท้อง (anal bar) ลักษณะของลอนปลายส่วนท้อง (anal lobes) จากนั้นจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* และจัดเก็บสไลด์ในกล่องใส่สไลด์ นำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล และจัดทำ

หมายเลขของตัวอย่างแต่ละสไลด์เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยแป้งสกุล *Planococcus* จากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญ (Figure 1) ในเขตพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดสระบุรี ชัยนาท อุทัยธานี และกรุงเทพมหานคร ภาคเหนือ เช่น จังหวัดเชียงใหม่ และลำปาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา หนองคาย และมหาสารคาม ภาคตะวันออก เช่น ชลบุรี และจันทบุรี ภาคตะวันตก เช่น ตาก และเพชรบุรี ภาคใต้ เช่น ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร และสุราษฎร์ธานี เก็บรวบรวมตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง ดองในแอลกอฮอล์ 95% เก็บตัวอย่างที่ได้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20°C.

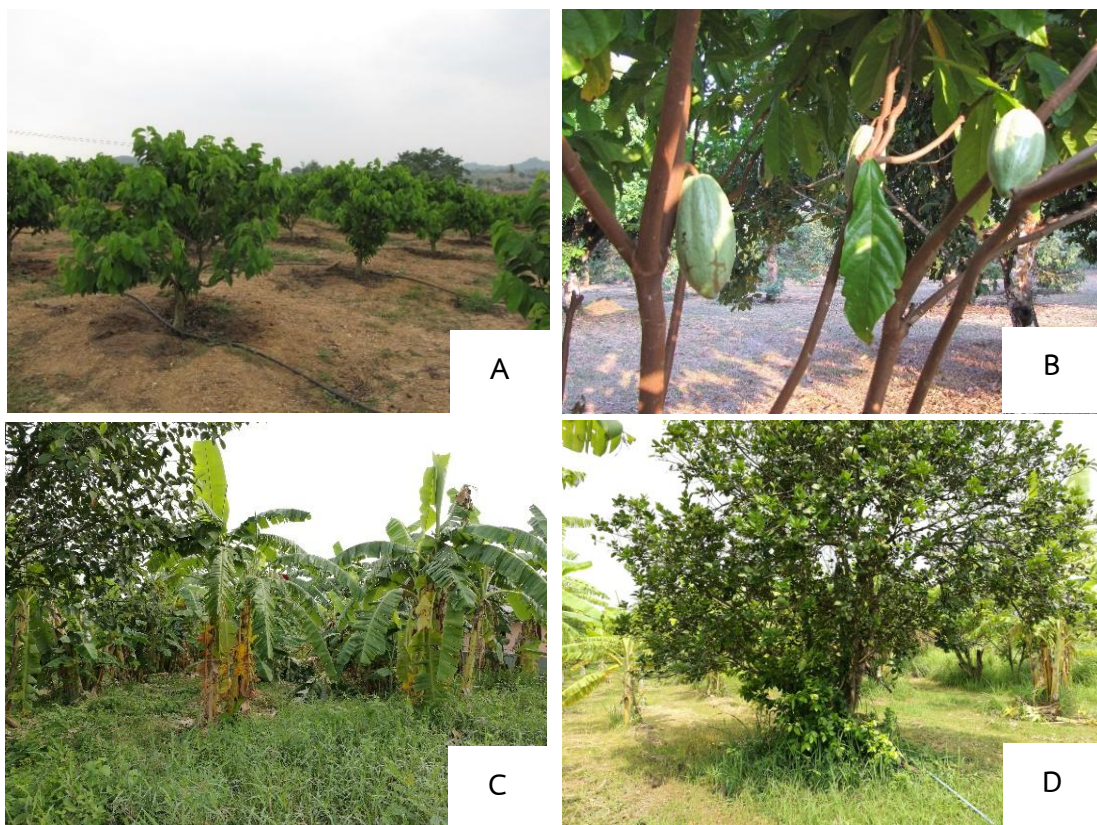


Figure 1 Field survey of mealybug in various agricultural areas in Thailand.

- A. Sugar apple orchard
- B. Cacao orchard
- C. Banana orchard
- D. Integrated Farming

จำแนกชนิดเพลี้ยแป้งใน สกุล *Planococcus* ด้วยสัณฐานวิทยา

นำไคตินของเพลี้ยแป้งที่ผ่านขั้นตอนการสกัด ดีเอ็นเอมาทำสไลด์ถาวรเพื่อใช้จำแนกชนิด โดยลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญของเพลี้ยแป้ง สกุล *Planococcus* (Figure 2) มีรายละเอียดดังนี้

ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างกลมหรือรูปไข่ ส่วนใหญ่มีขนาด 8 ปล้อง ขาเจริญเติบโตดีมักพบ รูโปร่งแสง (translucent pores) บนปล้องโคนขา (coxa) หรือ หน้าแข้ง (tibia) ของขาคู่หลัง (hind leg) ผิวหน้าเล็บเรียบ (claw) อวัยวะผลิตเส้นแป้งด้านข้าง

ลำตัว (cerarii) จำนวน 18 คู่ หรือ 36 อัน แต่ละอัน ประกอบด้วยขนรูปกรวย (conical setae) จำนวน 2 อัน รูสามเหลี่ยม (trilocular pores) กระจายบนผนังลำตัว อย่างสม่ำเสมอ ท่อแผ่นแข็ง (oral collar tubular duct) มักพบบนผนังลำตัวด้านล่าง (venter) โดยเฉพาะ บริเวณส่วนท้อง อาจพบบ้างบริเวณส่วนหัวและส่วนนอก รูกลมแบบหลายช่อง (multilocular dis pores) มีแถบ ปลายส่วนท้อง (anal bar) มักพบ บริเวณส่วนท้อง ของผนังลำตัวด้านล่าง (venter) แต่พบได้น้อยบน ผนังลำตัวด้านบน (dorsum)



Figure 2 Slide - mounted adult female of the genus *Planococcus*, showing key morphological characters used for species identification.

จากสไลด์ถาวรสามารถจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 3 ชนิด ดังนี้ 1. *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905) 2. *Planococcus minor* (Maskell, 1897) และ 3. *Planococcus citri* (Risso, 1813) ซึ่งจากรายงานของ บุปผาและชลิดา (2543) มีเพียง

2 ชนิดเท่านั้น แต่จากการศึกษาครั้งนี้ พบเพลี้ยแบ่งเพิ่ม 1 ชนิด ได้แก่ *P. citri* อย่างไรก็ตามการพบเพลี้ยแบ่ง *P. citri* สอดคล้องกับ Williams (2004) ที่รายงานไว้ ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้ เพลี้ยแบ่ง *P. citri* ค่อนข้างพบได้น้อย มีพืชอาหารเพียง 2 ชนิดเท่านั้น

Key to species of genus *Planococcus*

1. Multilocular disc pore present on venter in medial area of abdomen, usually in single to double rows across abdominal segment IV and posterior segment.
.....*P. lilacinus* (Cockerell)
- Multilocular disc pore present on venter in row across abdominal segment IV and posterior segment or around vulva.....2
2. Venter of head with 6 oral collar tubular ducts or more than between antennae
.....*P. citri* (Risso)
- Venter of head with less than 5 oral collar tubular ducts or more than between antennae *P. minor* (Maskell)

รายละเอียดและลักษณะที่สำคัญของเพลี้ยแบ่งแต่ละชนิด

1. *Planococcus citri* (Risso, 1813)

เพลี้ยแบ่งส้ม (citrus mealybug)

ลักษณะในธรรมชาติ (Figure 3)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 3.0 - 3.3 มม. กว้าง 2.1 - 2.3 มม. หนวด 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลอมชมพูหรือสีส้ม ปกคลุมด้วยไขแบ่งสีขาว ยกเว้นบริเวณกึ่งกลางตามยาวของลำตัว จึงสามารถมองเห็นเป็นแถบสีน้ำตาลแคบ ๆ รอบลำตัว มีเส้นแบ่ง จำนวน 36 เส้น หรือ 18 คู่ เส้นแบ่งที่อยู่ด้านท้ายลำตัวมีความยาวมากกว่าเส้นแบ่งที่อยู่ด้านข้างเล็กน้อย มีขา 3 คู่

ระยะตัวอ่อน รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 1.1 - 2.8 มม. หนวดมี 6 - 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลอมชมพูหรือสีส้ม ปกคลุมด้วยไขแบ่งสีขาว เส้นแบ่งรอบลำตัวมีขนาดค่อนข้างสั้นและไม่ชัดเจน แต่ปรากฏ

เส้นแบ่งด้านท้ายลำตัวชัดเจน มีขา 3 คู่ ตัวอ่อนวัยที่ 1 เคลื่อนตัวได้รวดเร็วกว่าตัวอ่อนวัยอื่น ๆ

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Figure 4)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 3.0 - 3.3 มม. กว้าง 2.2 - 2.5 มม. หนวด 8 ปล้อง ขาเจริญเติบโตดี มีรูปกลมแบบหลายช่องบนผนังลำตัว ด้านล่าง โดยปกติมักพบบริเวณท้องปล้องที่ 4 มีท่อแผ่นแข็งมากกว่า 5 ท่ออยู่ระหว่างหนวด 2 ข้าง ปล้องโคนขาคู่กลางมีท่อแผ่นแข็งจำนวน 6 ท่อหรือมากกว่า มีรูโปร่งแสงบริเวณโคนขาและหน้าแข้งมีท่อลักษณะคล้ายท่อขอบแข็ง จำนวน 1 รู หรือมากกว่า กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแบ่งด้านข้างลำตัว 18 คู่ หรือ 36 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีเส้นขนรูปกรวย จำนวน 2 เส้น หรือมากกว่าโดยเฉพาะบริเวณส่วนหัว และมีแถบปลายส่วนท้อง

พืชอาหาร โกโก้ และพจนมสวรรค์



Figure 3 Field observation of *Planococcus citri* (Risso, 1813), showing adults, immature stages, and ovisacs on *Clerodendrum* sp.

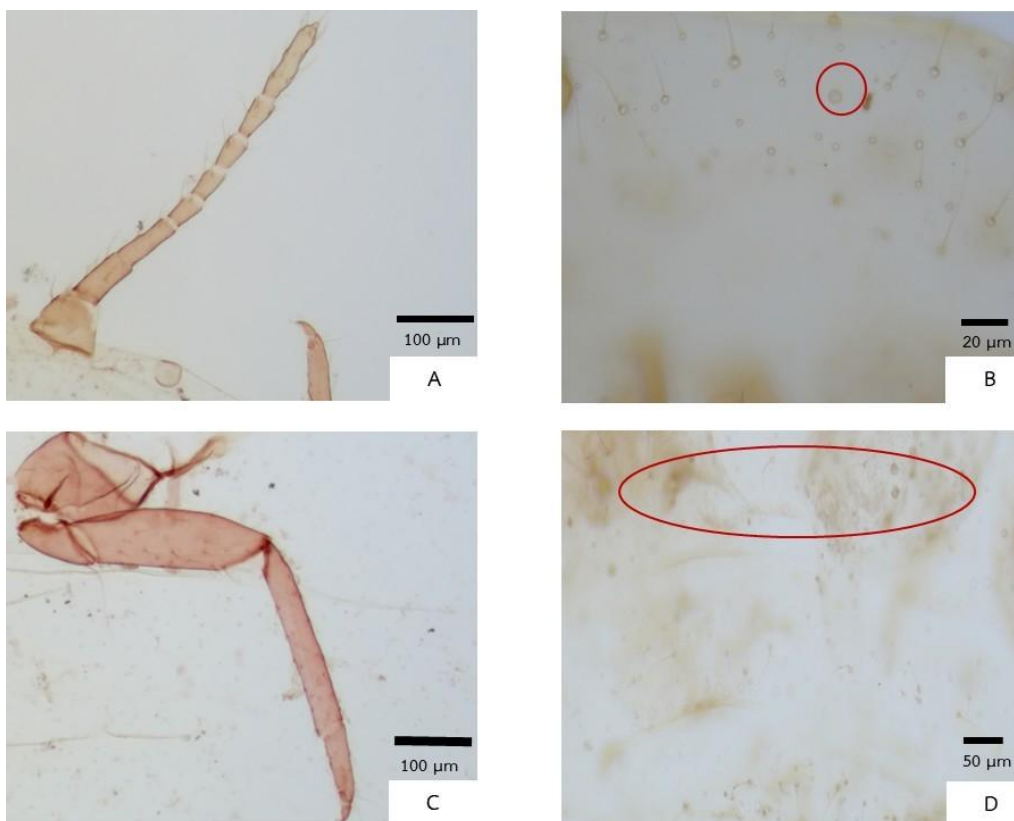


Figure 4 Microscopic view of *Planococcus citri* (Risso, 1813), showing key morphological characters.

- A. Antenna.
- B. Oral rim tubular ducts located between the antennae.
- C. Translucent pores on the coxa and tibia of the hind leg.
- D. Multilocular disc pores on abdominal segment VI.

2. *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905)

เพลี้ยแป้งกาแฟ (coffee mealybug)

ลักษณะในธรรมชาติ (Figure 5)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่หรือค่อนข้างกลม ลำตัวยาวประมาณ 2.6 - 3.1 มม. กว้าง 2.1 - 2.5 มม. หนวดมี 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว ยกเว้นบริเวณกึ่งกลางตามยาวของลำตัว จึงสามารถมองเห็นเป็นแถบสีน้ำตาลค่อนข้างกว้าง และชัดเจน รอบลำตัวมีเส้นแบ่งสัน ๆ จำนวน 36 เส้น หรือ 18 คู่ เส้นแบ่งที่อยู่ด้านท้ายลำตัวมีความยาวมากกว่าเส้นแบ่งที่อยู่ด้านข้างเล็กน้อย มีขา 3 คู่

ระยะตัวอ่อน รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 1.0 - 2.5 มม. หนวดมี 6 - 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลอ่อนหรือสีส้ม ปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว เส้นแบ่งรอบลำตัวมีขนาดค่อนข้างสั้นและไม่ชัดเจน แต่ปรากฏเส้นแบ่งด้านท้ายลำตัวชัดเจน มีขา 3 คู่ ตัวอ่อนวัยที่ 1 เคลื่อนตัวได้รวดเร็วกว่าตัวอ่อนวัยอื่น ๆ

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Figure 6)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 2.6 - 3.1 มม. กว้าง 2.2 - 2.6 มม. หนวด 8 ปล้อง มีขนแข็งค่อนข้างยาวบนผนังลำตัวด้านบน ขาแข็งแรง ส่วนท้องของขาหลังมีความยาวมากกว่าความกว้าง ประมาณ 2.1 - 2.8 เท่า มีรูโปร่งแสงบริเวณโคนขา และหน้าแข้ง มีรูปกลมแบบหลายช่องบนด้านล่างของลำตัวบริเวณส่วนกลางของท้อง โดยปกติมักมี 1 แถวหรือ 2 แถว บริเวณท้องปล้องที่ 4 พบขนแข็ง ยาวบริเวณผนังลำตัวด้านบน มีท่อแผ่นแข็งระหว่าง หนวด 2 ข้าง ปล้องโคนขาคู่กลางมีท่อแผ่นแข็ง มีท่อลักษณะคล้ายท่อขอบแข็ง กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแบ่ง ด้านข้างลำตัว 18 คู่ หรือ 36 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีเส้นขน รูปกรวยจำนวน 2 เส้น โดยเฉพาะบริเวณส่วนหัว อาจเป็นขนแข็งยาว และแถบปลายส่วนท้อง

พืชอาหาร ลำไย มังคุด น้อยหน่า ทุเรียน กล้วย ลองกอง และไทรประดับ



Figure 5 Field observation of *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905).

A. Adults and immature stages of *P. lilacinus* on *Ficus* sp. (twig).

B. Adults and immature stages of *P. lilacinus* on sugar apple (*Annona squamosa*) (twig).

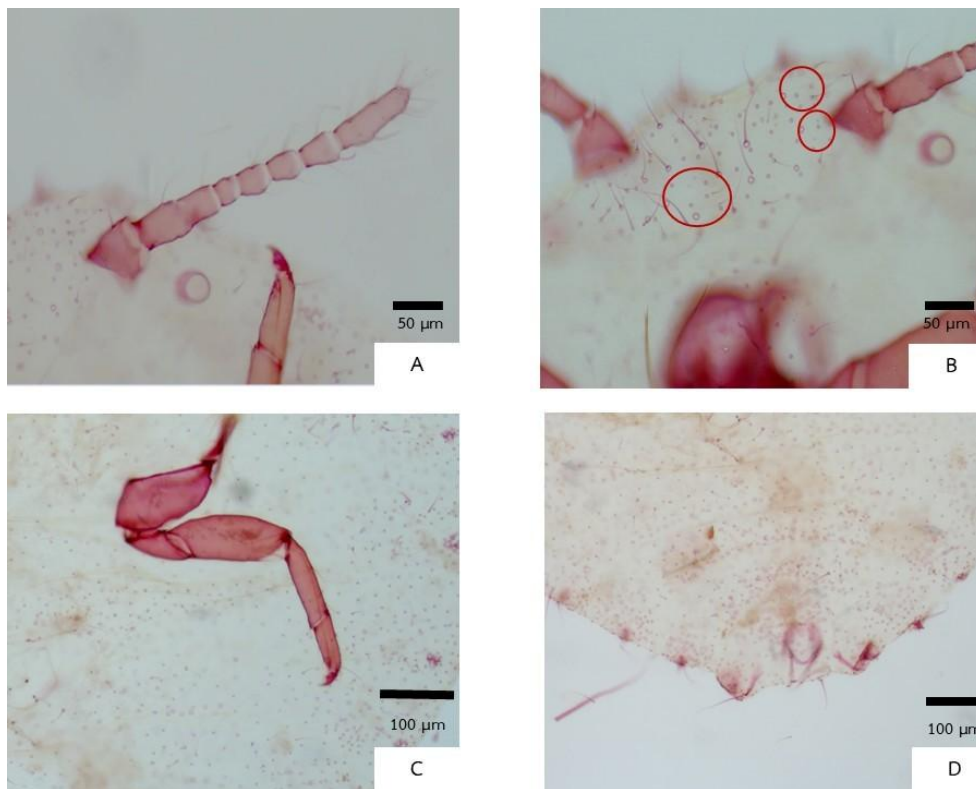


Figure 6 Microscopic view of *Planococcus lilacinus* (Cockerell, 1905), showing diagnostic morphological characters.

A. Antenna.

B. Oral rim tubular ducts located between the antennae.

C. Translucent pores on the coxa and tibia of the hind leg.

D. Multilocular disc pores on the ventral medial area of the abdomen.

3. *Planococcus minor* (Maskell, 1981)

เพลี้ยแป้งแปซิฟิก/เพลี้ยแป้งเสาวรส (Pacific mealybug/passion fruit mealybug)

ลักษณะในธรรมชาติ (Figure 7)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 3.0 - 3.3 มม. กว้าง 2.1 - 2.3 มม. หนวดมี 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลอ่อนหรือสีส้ม ปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว ยกเว้นบริเวณกึ่งกลางตามยาวของลำตัวจึงสามารถมองเห็นเป็นแถบสีน้ำตาลแคบ ๆ รอบลำตัวมีเส้นแบ่ง จำนวน 36 เส้น หรือ 18 คู่ เส้นแบ่งที่อยู่ด้านท้ายลำตัวมีความยาวมากกว่าเส้นแบ่งที่อยู่ด้านข้างเล็กน้อย มีขา 3 คู่

ระยะตัวอ่อน รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 1.1 - 2.8 มม. หนวดมี 6 - 8 ปล้อง ผนังลำตัวสีน้ำตาลอ่อนหรือสีส้ม ปกคลุมด้วยไขแป้งสีขาว เส้นแบ่งรอบลำตัว

มีขนาดค่อนข้างสั้นและไม่ชัดเจน แต่ปรากฏเส้นแบ่งด้านท้ายลำตัวชัดเจน มีขา 3 คู่ ตัวอ่อนวัยที่ 1 เคลื่อนตัวได้รวดเร็วกว่าตัวอ่อนวัยอื่น ๆ

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน (Figure 8)

ตัวเต็มวัยเพศเมีย รูปไข่ ลำตัวยาวประมาณ 3.0 - 3.3 มม. กว้าง 2.2 - 2.5 มม. หนวด 8 ปล้อง ขาเจริญเติบโตดี มีรูปกลมแบบหลายช่องบนผนังลำตัวด้านล่าง โดยปกติมักพบบริเวณรอบอวัยวะสืบพันธุ์ ท่อแผ่นแข็งน้อยกว่า 5 ท่ออยู่ระหว่างหนวด 2 ข้าง ปล้องโคนขาคู่กลางมีท่อแผ่นแข็งน้อยกว่า 6 ท่อ มีรูโปร่งแสงบริเวณโคนขาและหน้าแข้ง มีท่อลักษณะคล้ายท่อขอบแข็ง จำนวน 1 รู หรือมากกว่า กลุ่มอวัยวะผลิตเส้นแบ่งด้านข้างลำตัว 18 คู่ หรือ 36 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมี เส้นขนรูปกรวยจำนวน 2 เส้นหรือมากกว่า โดยเฉพาะบริเวณส่วนหัว และมีแถบปลายส่วนท้อง

พืชอาหาร น้อยหน่า ทุเรียน กล้วย สลิววดี และโกโก้

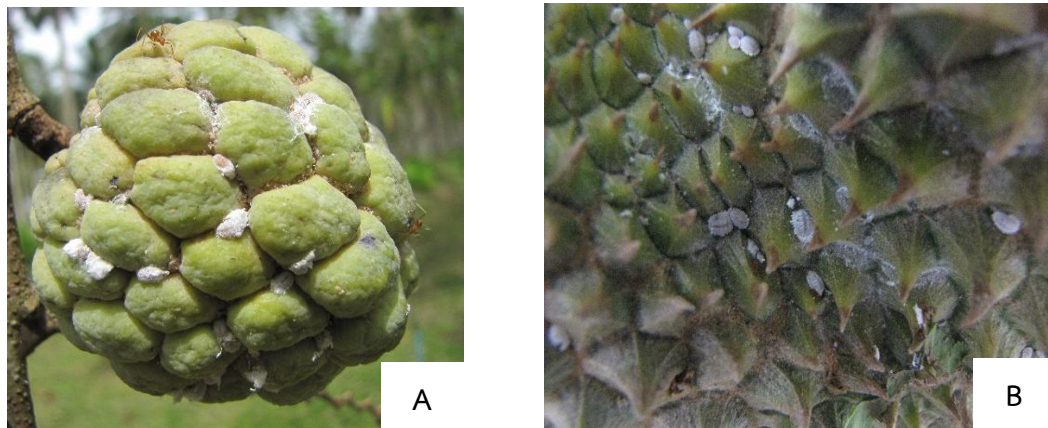


Figure 7 Field observation of *Planococcus minor* (Maskell, 1981)

A. Adults and immature stages of *P. minor* on sugar apple.

B. Adults and immature stages of *P. minor* on durian.

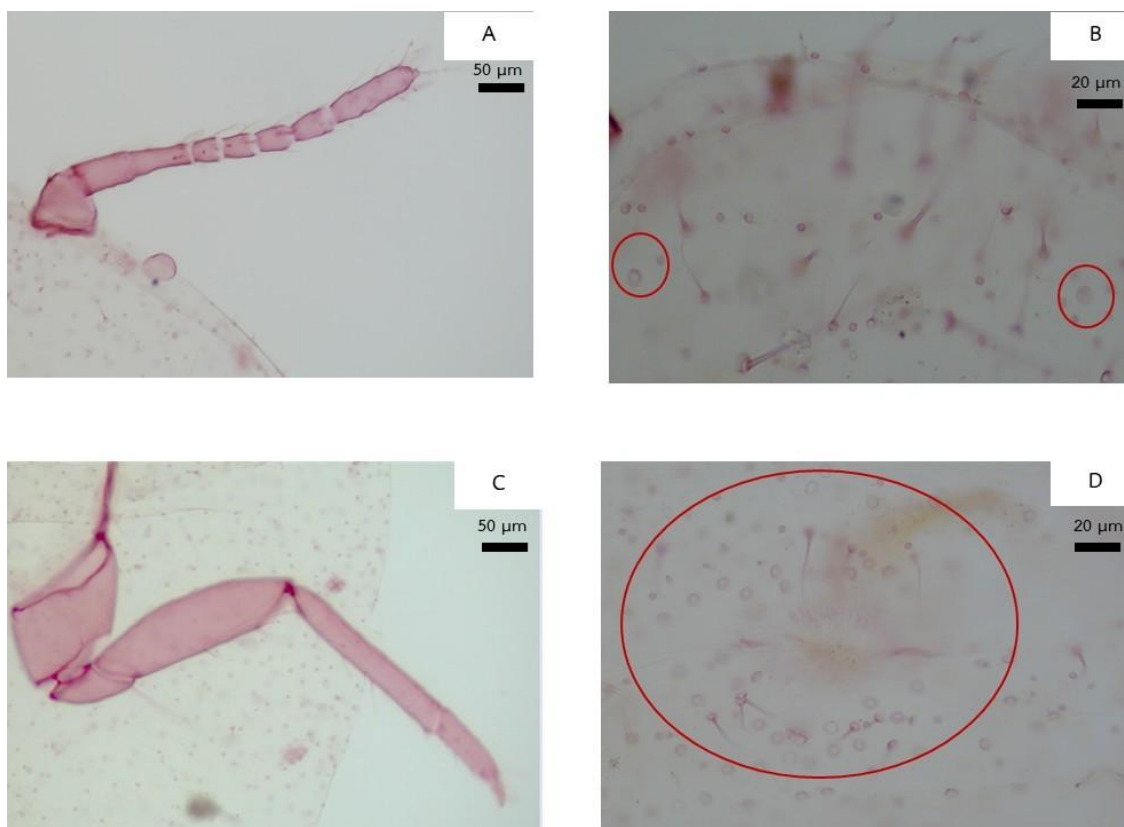


Figure 8 Microscope view of *Planococcus minor* (Maskell, 1981); morphological characters.

A. Antennae.

B. Oral rim tubular ducts between antennae.

C. Translucent pores on coxa and tibia of hind leg.

D. Multilocular disc pore around vulva.

อย่างไรก็ตามเนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *P. citri* กับ *P. minor* มีความคล้ายคลึงทางสัณฐานวิทยามาก และลักษณะที่ใช้ในการจำแนก คือจำนวนท่อแผ่นแข็ง ที่อยู่ระหว่างปล้องหนด 2 ข้าง โดยหากมี 6 ท่อหรือมากกว่า เป็นเชื้อแบคทีเรีย *P. citri* และหากมีน้อยกว่า 5 เป็นลักษณะของ *P. minor* ซึ่งต้องอาศัยความชำนาญ และประสบการณ์ของนักอนุกรมวิธานในการตรวจสอบ Cox (1989) จึงได้มีการประยุกต์ตารางการให้คะแนนตามลักษณะที่สำคัญ 6 อย่าง (Appendix 1) สำหรับการจำแนกความแตกต่างของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด หากนำคะแนนจากทั้ง 6 ลักษณะมารวมกัน โดยคะแนนที่ได้อยู่ระหว่าง 0 - 35 คะแนน เป็นเชื้อแบคทีเรีย *P. minor* และคะแนนรวมได้ 36 - 120 คะแนน เป็นเชื้อแบคทีเรีย *P. citri* ซึ่งการให้คะแนนตาม Appendix 1 นั้น เมื่อนำมาทดสอบกับสไลด์เชื้อแบคทีเรีย พบว่าจำเป็นต้องอาศัยสไลด์ที่มีความชัดเจน และประสบการณ์ในการทำสไลด์ รวมทั้งความเชี่ยวชาญของนักอนุกรมวิธานในการดูลักษณะด้วยเช่นเดียวกัน

การจำแนกชนิดเชื้อแบคทีเรียใน สกุล *Planococcus* ด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล

จากการนำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่รวบรวมได้จำนวน 60 ตัวอย่าง มาสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ PcoF1/ LepR1 จากยีน *Cox1* ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอจากปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส (Figure 9) เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ (Table 1) เปรียบเทียบในฐานข้อมูล GenBank สามารถจำแนกเชื้อแบคทีเรียสกุล *Planococcus* ได้จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ 1) *P. lilacinus* 2) *P. minor* และ 3) *P. citri* โดยมีความเหมือนที่ 98 - 100% ซึ่งแสดงว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากยีน *Cox1* นั้น มีความเหมือนกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *Cox1* ของ

เชื้อแบคทีเรียสกุล *Planococcus* ในแหล่งอื่น ๆ ที่มีการศึกษาและบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank ซึ่งเห็นได้ว่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์เชื้อแบคทีเรียสกุล *Planococcus* ของตัวอย่างที่พบในประเทศไทยเทียบกับแหล่งอื่นในฐานข้อมูล GenBank แสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีการสกัดดีเอ็นเอมีความเหมาะสมและสามารถนำไปใช้สกัดดีเอ็นเอในตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมถึงสามารถใช้วิธีการสกัดดังกล่าวมาศึกษาดีเอ็นเอบาร์โคดของเชื้อแบคทีเรียได้

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาดังนี้เป็นการนำเทคนิคด้านชีวโมเลกุลเพื่อศึกษาดีเอ็นเอบาร์โคดร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพื่อจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียสกุล *Planococcus* ซึ่งสามารถจำแนกได้ 3 ชนิด คือ *P. lilacinus* *P. minor* และ *P. citri* ผลที่ได้มีความสอดคล้องทั้งการใช้ดีเอ็นเอบาร์โคดและลักษณะทางสัณฐานวิทยา ผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางและข้อมูลสนับสนุนในการจำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียให้มีความชัดเจนมากขึ้น โดยเฉพาะนักวิจัยที่ไม่มีความเชี่ยวชาญด้านอนุกรมวิธานและหากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการจัดจำแนกชนิดให้มีความถูกต้องแม่นยำ ยอมรับในระดับสากล และยังสามารถพัฒนาต่อยอดสู่การวิจัยเพื่อพัฒนาการตรวจสอบให้รวดเร็ว ทันต่อสถานการณ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการตรวจสอบศัตรูพืชในการนำเข้าสินค้าเกษตรของไทย และการวางแผนในการป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมในอนาคตต่อไปได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บและเตรียมตัวอย่างทั้งในภาคสนามและห้องปฏิบัติการ

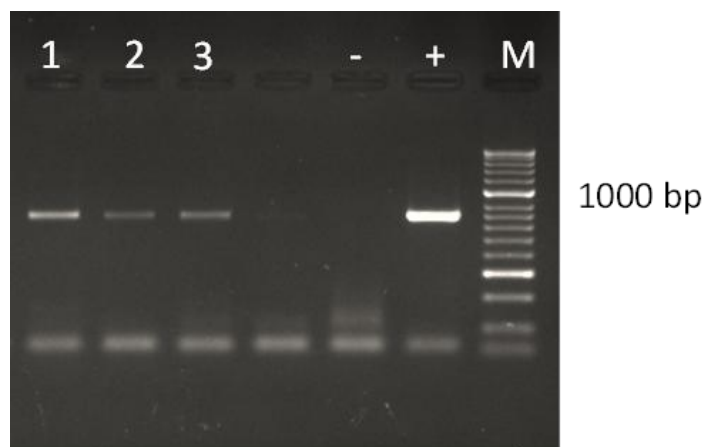


Figure 9 PCR amplification of *Planococcus* with PCoF/LepR1 (mealybug universal primer). M = 1 kb ladder, Lane 1 = *Planococcus lilacinus*, Lane 2 = *Planococcus citri*, Lane 3 = *Planococcus minor*, Negative control (-) was ddH₂O and Positive control (+) was *Dysmicoccus neobrevipes*.

Table 1 Nucleotide sequence analysis of *Planococcus* samples amplified using the mitochondrial *Cox1* gene with primer pair PcoF1/LepR1.

No.	Code	Scientific name	Nucleotide sequence
1	PM1	<i>Planococcus minor</i>	ATCATTAAATGAATATATTCAACTAATCATAAAAATATTAGATTAATATACCTATTATTGGATTTTGATC TGGATTAATAGGTTTATCAATAAGATTATTATTGCAATTGAACTAATAAAATTTAAATAAATTTTAATA ATAATATAATTTATTATATAATAATTACTATTGCTTTTATTATAATTTTATAACTATACCTATC ATTATTGGAAGATTAAAGAAATGACTCTTACCATTAAATTAATATCATCAGATTTAATTTTCCCTCGAT TAAATAATTTTAGATTTTGATTATTAATCCATCACTTATTTTAATAATAATAATATAATATTATCTAAT AATATTAATACGGTTGAACACTTTATCCCTCTTAATTAATCAAAATTTTATTACATTAATTTTATTAT TTTTCTTTACATTTAAATGGGATTTCTCTATTTTAGATCAATTAATTTTATTTCATCAATTTTATTAT TTAATAATAAATACTTTTAAATAATATTACTTTATATATTGATCATTATTATTACAATTTTATA TTAATTATTCTATTCCAATTTATCAAGAGCAATTACTATAATTATTAGATAAATAATCTTAATATAAA TTTTAAATCCATTAGGAAATGGTAATCCAATTTATATCAACATTTATC
2	PC1	<i>Planococcus citri</i>	ATCATTAAATGAATATATTCAACTAATCATAAAAATATTAGATTAATATACCTTTTATTGGATTTTGATC TGGATTAATAGGTTTATCAATAAGATTATTATTGCAATTGAACTAATAAAATTTAAATAAATTTTAATA ACAATATAATTTATTATATAATAATTACTATTGCTTTTATTATAATTTCTTTATAACTATACCTATC ATTATTGGAAGATTAAAGAAATGACTTTTACCATTAAATTAATATCATCAGATTTAATTTTCCCTCGAT TAAATAATTTTAGATTTTGATTATTAATCCATCACTTATTTTAATAATAATAATATAATATTATCTAAT AATATTAATACAGGTTGAACACTTTACCTCTCTTAATTAATCAAAATTTTATTACATTAATTTTATTAT TTTTCTTTACATTTAAATGGGATTTCTCTATTTTAGATCAATTAATTTTATTTCATCAATTTTATTAT TCAATAATAAATAATTTTAAATAATATTACTTTATATATTGATCATTATTATTACAATTTTATA TTAATTATTCTATTCCAATTTATCAAGAGCAATTACTATAATTATTAGATAAATAATCTTAATATAAA TTTTAAATCCATTAGGAAATGGTAATCCAATTTATATCAACATTTATTATTA
3	PL1	<i>Planococcus lilacinus</i>	ATTATTAATGATTATATTCAACTAATCATAAAAATATCAGTTTAATATATTACTTTTGGATTTTGATC CGGTTTAATAGGATTATCAATGAGATTATTATTGCAATTGAATTAATAAAATTTAAATAAATCTTAAT AATAATATAATTTATTATATAATAATTACTATTGCTTTTATTATAATTTTATAACTATACCAAT TATTATTGGAAGAAATAAGAAATGATTATTACCATTAAATTAATATCTTCAGATTTAATTTTCCCTCGAT TAAATAATTTTAGATTTTGATTATTAATCCCTCATTAAATTTTAATAATATAATTTTAATAAAT AATATTAATACGGTTGAACCTTTATACCTCCATTAAATTAATCAAAATTTTATTACATTAATTTTATTAT TTTTCTTTACATTTAAATGGGATTTCTCTATTTTAGATCAATCAATTTTATTTCATCAATTTTATTAT TTAATAATAAATAATTTTAAATAATATTCTTTATATATTGATCAATTAATTATTACTACAATTTTA TTAATTATTCTATTCTATTTATCAAGAGCAATTACTATAATCATTTAGATAAATAATTTAAATATAAA TTTTAAATCCCTTAGGAAATGGTAATCCTATTCTCTATCAACATTTAAAT

เอกสารอ้างอิง

- บุปผา เหล่าสินชัย และชลิตา อุณหวุฒิ. 2543. เพลี้ยแป้งและเพลี้ยหอยศัตรูพืชที่สำคัญ. โรงพิมพ์คุรุสภาลาดพร้าว กรุงเทพฯ. 70 หน้า.
- Cox, J.M. 1989. The mealybug genus *Planococcus* (Homoptera: Pseudococcidae). Bulletin British Museum (Natural History) Entomology 58(1): 1 - 78.
- García, M. M. , B. D. Denno, D. R. Miller, G. L. Miller, Y. Ben-Dov and N.B. Hardy. 2016. ScaleNet: A literature-based model of scale insect biology and systematics. Available at: <https://academic.oup.com/database/article/doi/10.1093/database/bav118/2630093>. Accessed 20 March 2022.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series, 41, 95 - 98.
- Park, D.S., S.J. Suh, H.W. Oh and P.D.N. Hebert. 2010. Recovery of the mitochondrial COI barcode region in diverse Hexapoda through tRNA-based primers. BMC Genomics 11, 423.
- Park, D.S., S.J. Suh, P.D.N. Hebert, H.W. Oh and K.J. Hong. 2011. DNA barcodes for two scale insect families, mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) and armored scales (Hemiptera: Diaspididae) Bull. Entomol. Res., 101 (4): 429-434.
- Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region. Pt. 2: The Mealybugs (Pseudococcidae). CAB International Wallingford, U.K. 260 p.
- Williams, D.J. and M.C. Granara de Willink. 1992. Mealybugs of Central and South America. CAB International London. 635 p.
- Williams, D.J. 2004. Mealybug of Southern Asia. The Natural History Museum, Southdene SDN BHD Kuala Lumpur. 896 p.

Appendix 1 Diagnostic morphological characters separating *Planococcus citri* and *Planococcus minor*, based on six characters described by Cox (1989).

Character	Value	Score
1.Number of ventral oral - collar tubular ducts on head	0 - 3	0
	4 - 13	10
	14 - 35	40
2.Number of ventral oral - collar tubular ducts adjacent to 8 th pair of cerarii	0 - 2	0
	3 - 7	10
	8 - 30	40
3.Tubular ducts present between 2 nd and 3 rd cerarii on head on at least one side of the body	absent	0
	present	10
4.Number multilocular pores behind front coxae	0 - 6	5
	7 - 12	0
5.Ratio length hind = tibia + tarsus to length of trochanter + femur	1.00 - 1.07	0
	1.08 - 1.17	5
	1.18 - 1.30	10
6.Width of row of ventral multilocular disc pores on posterior margin segment of VI	Single row	15
	Intermediate	5
	Double row	0

Note: Character descriptions follow Cox (1989).

Value = number/ratio/absent/present and width of each character.

Score = rating at each level and character.