กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย (cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)

Insecticide Resistance Mechanisms in Cotton Thrips (*Thrips palmi* Karny)

สุภราดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
พวงผกา อ่างมณี วนาพร วงษ์นิคง
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆในเพลี้ยไฟที่ระบาดในสวนกล้วยไม้มีความจำเป็นในการช่วยตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลงเพื่อใช้ในแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกันอย่างถูกหลักการบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้บ่อยๆในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในสวนกล้วยไม้ โดยวิธีใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆคือ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟแล้วจึงให้เพลี้ยไฟได้รับสารฆ่าแมลง การทดลองในปี 2554 ได้ทำการหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆลงบนตัวเพลี้ยไฟประมาณ 1-2 ชั่วโมงก่อนให้เพลี้ยไฟดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ผ่านการชุบด้วยสารฆ่าแมลง ผลการทดลองพบว่าการใช้สาร PBO เข้มข้น 5,000 ppm, TPP เข้มข้น 1,000 ppm และ DEM เข้มข้น 2,000 ppm หยดลงบนตัวไม่ทำให้เพลี้ยไฟที่เก็บจากสวนกล้วยไม้ในจังหวัดนครปฐม ตายเกิน 10% ส่วนการทดลองในปี 2555 ได้ใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพผสมสารฆ่าแมลงแล้วชุบกลีบดอกกล้วยไม้ให้เพลี้ยไฟดูดกิน พบว่าควรใช้สาร PBO ที่ความเข้มข้น 50 ppm, ใช้สาร TPP ที่ความเข้มข้น 100 ppm และใช้สาร DEM ที่ความเข้มข้น 100 ppm ไม่ทำให้เพลี้ยไฟที่เก็บจากสวนกล้วยไม้ในจังหวัดนนทบุรีตายเกิน 10%

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-02-01-04-54

คำนำ

ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ระบาดในสวนกล้วยไม้เป็นปัญหาสำคัญที่เกษตรกรมีความกังวลมาก เนื่องจากเกษตรกรมักใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลักในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ เพราะสารเคมีฆ่าแมลงให้ผลในการป้องกันกำจัดที่รวดเร็วและประหยัดแรงงานในการดูแลดอกกล้วยไม้ให้ปราศจากการทำลายของเพลี้ยไฟ แต่การใช้สารฆ่าแมลงอย่างไม่ถูกหลักการบริหารความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงทำให้เกิดปัญหาเพลี้ยไฟมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิด ทำให้การใช้สารฆ่าแมลงได้ผลน้อยลงในการป้องกันกำจัด ดังนั้นการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนตามหลักการบริหารความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงเพื่อลดปัญหาความต้านทานในอนาคตจึงมีความสำคัญอย่างมาก

ในการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนนั้นจำเป็นที่จะต้องทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ระบาดทำลายกล้วยไม้ เพราะการทราบกลไกความต้านทานจะช่วยในการตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลงหรือกลุ่มสารฆ่าแมลงที่มีกลไกความต้านทานแตกต่างกันเพื่อนำมาใช้ในแผนการใช้แบบหมุนเวียน โดยที่จะไม่ใช้สารฆ่าแมลงที่มีกลไกความต้านทานแบบเดียวกันติดต่อกันเพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดการพัฒนาความต้านทานแบบข้าม (cross resistance) ซึ่งจะทำให้สถานการณ์ความต้านทานรุนแรงขึ้น และยังทำให้การลดความรุนแรงของความต้านทานโดยการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนไม่ได้ผล การเข้าใจกลไกความต้านทานทำให้สามารถคาดคะเนการเกิดความต้านทานแบบข้ามของสารฆ่าแมลงได้ (Roush, 1989) ดังนั้นการทราบกลไกความต้านทานจึงช่วยให้แผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในปัจจุบันยังขาดข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ระบาดทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดในเพลี้ยไฟฝ้ายในสวนกล้วยไม้ ข้อมูลที่ได้จะช่วยให้แผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนมีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของความต้านทานในเพลี้ยไฟที่ทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเพลี้ยไฟ

ทำการเก็บเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) จากสวนกล้วยไม้ต่างๆในจังหวัดนครปฐม และจังหวัดนนทบุรี โดยใช้ที่ดูด (aspirator) ให้ได้ปริมาณมาก นำเพลี้ยไฟที่เก็บได้มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกโดยให้กลีบดอกกล้วยไม้ เกสรดอกกกธูปฤาษี น้ำผึ้ง 10% และน้ำที่ชุบกับสำลีเป็นอาหาร เลี้ยงเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง :

มีด) ในวันรุ่งขึ้นทำการคัดแยกเอาเพลี้ยไฟที่เป็นตัวเต็มวัยและมีความแข็งแรงโดยดูจากการมีความสามารถว่องไวในการไต่ขึ้นภายในหลอดทดลอง (test tube) มาเพื่อใช้ในการทดลอง

สารเคมีที่ใช้

สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ใช้เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษของสารฆ่าแมลงคือ 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

การเตรียมสารเพิ่มประสิทธิภาพทำโดยละลายสารเพิ่มประสิทธิภาพดังกล่าวใน absolute ethanol เพื่อเป็น stock solution ที่มีสารเพิ่มประสิทธิภาพเข้มข้น 10,000 ppm ก่อนแล้วจึงนำมาละลายในน้ำ (Ninsin and Tanaka, 2005) เพื่อให้ได้สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นตามต้องการ

ส่วนสารฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดลองนั้นใช้สารฆ่าแมลงที่มีการแนะนำเพื่อใช้ในป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในกล้วยไม้คือ imidacloprid (Provado 70% WG), clothianidin (Dantosu 16% SG), spinosad (Success 12%SC), emamectin benzoate (Proclaim 1.92% EC), spiromesifen (Oberon 24% SC), fipronil (Ascend 5% SC) และใช้สารจับใบ (Tension T-7)

การทดลองเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเพิ่มประสิทธิภาพ

ทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดเพื่อที่จะนำมาใช้ในการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ทำการทดลองโดยใช้วิธีหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพ (topical application) แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนตัวเพลี้ยไฟที่บริเวณหลัง (dorsal) เพื่อให้เพลี้ยไฟเปียก (Kramer and Nauen, 2011) แล้วจึงนำเพลี้ยไฟใส่ในหลอดทดลองโดยให้กลีบดอกกล้วยไม้เป็นอาหาร ทำการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว บันทึกผลการตายที่ 48 ชั่วโมง แล้วเลือกความเข้มข้นของสาร PBO, TPP และ DEM ที่ไม่ทำให้เพลี้ยไฟตายเกิน 10% มาใช้ในการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

ส่วนการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดเพื่อที่จะนำมาใช้ในการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงโดยวิธีผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพลงไปในสารฆ่าแมลงแล้วนำกลีบดอกกล้วยไม้มาชุบ (petal dipping method) ต่อจากนั้นจึงนำกลีบดอกกล้วยไม้ไปให้เพลี้ยไฟดูดกิน ทำการทดลองเบื้องต้นโดยผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดที่

ความเข้มข้นต่างๆ แล้วจึงนำกลีบดอกกล้วยไม้มาชุบสารก่อนนำไปให้เพลี้ยไฟดูดกิน ทำการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว บันทึกผลการตายที่ 48 ชั่วโมง แล้วเลือกความเข้มข้นของสาร PBO, TPP และ DEM ที่ไม่ทำให้เพลี้ยไฟตายเกิน 10% มาใช้ในการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

การทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

การตรวจสอบกลไกความต้านทานใช้วิธี petal-dipping method (Fahmy *et al*., 1991; Ninsin *et al*., 2000) โดยเจือจางสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นที่ทำให้เพลี้ยไฟตายประมาณ 40-60% ด้วยน้ำที่ผ่านขบวนการ reversed osmosis จนได้สารฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นดังกล่าวที่ผสมสารจับใบ (Tension T-7) อัตรา 5 มล./น้ำ 20 ลิตร นำกลีบดอกกล้วยไม้มาจุ่มในสารฆ่าแมลงความเข้มข้นดังกล่าวนาน 10 วินาที ส่วน control จะใช้กลีบดอกกล้วยไม้ที่จุ่มในน้ำที่ผสมกับสารจับใบเพียงอย่างเดียว นำกลีบดอกกล้วยไม้ที่จุ่มสารที่ทดลองไปผึ่งให้แห้ง 1-2 ชั่วโมงแล้วนำแต่ละกลีบมาใส่ในหลอดทดลอง ทำการปล่อยเพลี้ยไฟที่ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆก่อนการทดสอบความต้านทานเป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Zhao *et al*., 1994) จำนวน 5 ตัวลงในแต่ละหลอดทดลอง แล้วปิดปากหลอดด้วย parafilm แล้วเจาะรูเล็กๆเพื่อให้อากาศถ่ายเทได้ ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว บันทึกผลการตายที่ 48 ชั่วโมง ส่วน control จะทำเหมือนกันแต่จะใช้เพลี้ยไฟที่ไม่ได้ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพ นำเพลี้ยไฟที่ทดลองไปไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 26 $\pm$ 2°C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ปล่อยให้เพลี้ยไฟดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ชุบสารฆ่าแมลง ทำการบันทึกการตายของเพลี้ยไฟที่ 48 ชั่วโมง เพลี้ยไฟที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย ถ้าเพลี้ยไฟใน control มีการตายเกิน 10% จะทำการทดลองใหม่

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงปี พ.ศ. 2554-2555 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนา การอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆเช่น PBO, TPP และ DEM ในความเข้มข้นที่พอเหมาะในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยให้ทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายในสวนกล้วยไม้

การหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆที่ความเข้มข้นพอเหมาะจะให้ผลในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 monooxygenases, esterases และ glutathione s-transferase ได้ จากการหยดสารดังกล่าวลงบนตัวเพลี้ยไฟประมาณ 1-2 ชั่วโมงก่อนให้เพลี้ยไฟดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ผ่านการชุบด้วยสารฆ่าแมลงนั้น พบว่าสาร PBO เข้มข้น 5,000 ppm, TPP เข้มข้น 1,000 ppm และ DEM เข้มข้น 2,000 ppm ไม่ทำให้เพลี้ยไฟที่เก็บจากสวนกล้วยไม้ในจังหวัดนครปฐม ตายเกิน 10% (ตารางที่ 1) ดังนั้นจึงควรใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดในความเข้มข้นดังกล่าวหยดลงบนตัวเพลี้ยไฟในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟ

ส่วนการหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้ายโดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพผสมสารฆ่าแมลงแล้วชุบกลีบกล้วยไม้ให้เพลี้ยไฟดูดกิน พบว่าควรใช้สาร PBO ที่ความเข้มข้น 50 ppm, ใช้สาร TPP ที่ความเข้มข้น 100 ppm และใช้สาร DEM ที่ความเข้มข้น 100 ppm ชุบกลีบดอกกล้วยไม้ให้เพลี้ยไฟดูดกินเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟ ไม่ทำให้เพลี้ยไฟที่เก็บจากสวนกล้วยไม้ในจังหวัดนนทบุรีตายเกิน 10% (ตารางที่ 2)

Table 1 Effect of topical application of three synergists on mortality of *Thrips palmi* collected from orchid farms in Nakhon Pathom province, Thailand in year 2011

Synergist	Conc. (ppm)	Mortality (%)
PBO	2,000	10
	3,000	0
	4,000	0
	5,000	10
TPP	1,000	10
	2,000	20
	4,000	0
DEM	1,000	0
	2,000	0
	4,000	40

Table 2 Effect of petal dipping of three synergists on mortality of *Thrips palmi* collected from orchid farms in Nonthaburi province, Thailand in year 2012

Synergist	Conc. (ppm)	Mortality (%)
PBO	10	13.3
	20	10.0
	50	5.0
	100	22.0
	200	23.3
	500	36.7
TPP	10	0.0
	20	0.0
	50	5.0
	100	6.0
	200	3.3
	500	13.3
DEM	10	3.3
	20	5.0
	50	15.0
	100	4.0
	200	10.0
	500	13.3

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้ายโดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพหยดลงบนตัวเพลี้ยไฟควรใช้สาร PBO ที่ความเข้มข้น 5,000 ppm, ใช้สาร TPP ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และใช้สาร DEM ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ส่วนการหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้ายโดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพผสมสารฆ่าแมลงแล้วชุบกลีบกล้วยไม้ให้เพลี้ยไฟดูดกินควรใช้สาร PBO ที่ความเข้มข้น 50 ppm, ใช้สาร TPP ที่ความเข้มข้น 100 ppm และใช้สาร DEM ที่ความเข้มข้น 100 ppm

เอกสารอ้างอิง

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.

Kramer, T. and R. Nauen. 2011. Monitoring of spirodiclofen 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.

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.

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.