การตรวจสอบความต้านทานของมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) ต่อสารรมฟอสฟีน

Phosphine resistance detection of red flour beetle (*Tribolium castaneum*)

ใจทิพย์ อุไรชื่น[1] และกรรณิการ์ เพ็งคุ้ม

Jaitip Uraichuen and Kannikar Pengkum

กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร

.....

Abstract

The extent of the resistance to phosphine in stored grain insects is a serious concern among major grain storage countries around the world including Thailand. Phosphine is only one fumigant which is widely applied in stored product apart from methyl bromide limited for quarantine and preshipment. In order to certify the status of insect resistance to phosphine especially the rust red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst), the detection and measurement of phosphine resistance were conducted during 2013 to 2015. Insect samples were taken from 125 rice mills in 45 provinces. After mass rearing, the progeny (F1) was tested with various concentrations of phosphine at Post-harvest Technology Research and Development Group, Post-harvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture. The discriminating dose was 0.04 mg/l at 20-hour exposure time, following FAO Recommendation (Method No.16). The results have been shown that LC_{50} of *T. castaneum* from 121 rice mills was 4.93-34.96 µg/l and that from 4 rice mills were high, 335.76, 255.58, 286.84 and 724.68 µg/l in Phetchabun (2 mills), Lopburi and Kanchanaburi, respectively. When the comparison to LC_{50} of susceptible strains from both Thailand and Australia was calculated, the resistance ratios were 20.55-62.63 and 20.41-78.68. Although number of rice mills where resistance of *T. castaneum* found was small, but the level resistance to phosphine was 20-79 times of susceptible strains. If improper fumigation with phosphine continues, it will be recently caused a serious problem of phosphine resistance. It is necessary to make continuously surveillance the status of resistance of this insect pest, as well as other species of stored grain insect pest, including transferring proper fumigation practice for sustainable use of phosphine.

Keywords: detection, phosphine resistance, rust red flour beetle, *Tribolium castaneum*

บทคัดย่อ

[1]E-mail.: j_uraichuen@hotmail.com

การเกิดความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนของแมลงศัตรูผลิตผลเกษตร มีมากขึ้นในปัจจุบันนี้ในประเทศต่าง ๆ ทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย ซึ่งเป็นปัญหาที่รุนแรงสำหรับการควบคุมและกำจัดแมลงศัตรูในโรงเก็บ เนื่องจากฟอสฟีนเป็นสารรมชนิดเดียวที่มีการใช้อย่างกว้างขวาง นอกจากเมทิลโบรไมด์ที่ถูกจำกัดการใช้เพื่อกำจัดศัตรูพืชก่อนการส่งออกและการใช้เพื่องานกักกันพืชเท่านั้น การต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนเป็นที่กล่าวถึงมาก เพื่อให้ทราบสถานการณ์ที่แท้จริงของการสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนของแมลง โดยเฉพาะมอดแป้ง (*Tribolium castaneum* (Herbst)) จึงได้ดำเนินการตรวจสอบความต้านทานของมอดแป้งต่อสารรมฟอสฟีนในประเทศไทย ระหว่างปี 2556-2558 โดยเก็บตัวอย่างมอดแป้งจากโรงสี 125 โรงสี จาก 45 จังหวัด เลี้ยงขยายพันธุ์รุ่นลูก (F_1) และนำไปทดสอบกับสารรมฟอสฟีนที่อัตราความเข้มข้นต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยใช้ discriminating dose ที่อัตรา 0.04 mg/l ระยะเวลาการรม 20 ชั่วโมง ตามที่กำหนดในคำแนะนำของ FAO (Method No.16) พบว่า มอดแป้งจากโรงสี 121 โรงสี มีค่า LC_{50} ระหว่าง 4.93-34.96 µg/l และมี 4 โรงสีที่พบว่า มอดแป้งมีค่า LC_{50} สูง คือ โรงสีในจังหวัดเพชรบูรณ์ 2 โรงสี จังหวัดลพบุรี 1 โรงสี และโรงสีในจังหวัดกาญจนบุรี 1 โรงสี โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 335.76, 255.58, 286.84 และ 724.68 µg/l ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่า LC_{50} ของมอดแป้งจาก 4 โรงสี เปรียบเทียบกับค่า LC_{50} ของมอดแป้งสายพันธุ์อ่อนแอทั้งสายพันธุ์ของประเทศไทย และสายพันธุ์ของประเทศออสเตรเลีย โดยคำนวณค่า resistance ratio พบว่า มีค่าระหว่าง 20.55-62.63 เมื่อเปรียบเทียบกับมอดแป้งสายพันธุ์อ่อนแอของไทย และมีค่าระหว่าง 20.41-78.68 เมื่อเปรียบเทียบกับมอดแป้งสายพันธุ์ของออสเตรเลีย ถึงแม้ว่าจำนวนโรงสีที่พบว่ามอดแป้งมีความสามารถสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนได้ จะมีจำนวนน้อย แต่ระดับความต้านทานมีค่าประมาณ 20-79 เท่าของสายพันธุ์อ่อนแอ การใช้สารรมฟอสฟีนติดต่อกันเป็นเวลานาน และการใช้ไม่ถูกวิธีอย่างในปัจจุบัน อาจทำให้มอดแป้งสร้างความต้านทานมากยิ่งขึ้น ดังนั้นควรมีการติดตามและเฝ้าระวังสถานการณ์การสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนของมอดแป้งอย่างต่อเนื่องต่อไป รวมถึงการถ่ายทอดข้อมูล ให้คำแนะนำการรมผลิตผลเกษตรด้วยสารรมฟอสฟีนอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้ฟอสฟีนเป็นสารรมที่มีประสิทธิภาพดีต่อไป

คำสำคัญ: การตรวจสอบ, ความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน, มอดแป้ง

คำนำ

แมลงศัตรูผลิตผลเกษตร เป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียคุณภาพและปริมาณของผลิตผลเกษตร และเป็นปัญหาหลักของการควบคุมคุณภาพ และการรักษาความสะอาดสำหรับอุตสาหกรรมอาหาร แมลงศัตรูก่อให้เกิดความสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวที่รุนแรง โดยประมาณ 9-20% (Pimentel, 1991) วิธีการควบคุมโดยใช้สารเคมี ซึ่งรวมถึงการใช้สารเคมีแบบสัมผัสตัวตายและการใช้สารรม เป็นวิธีที่พร้อมใช้และประหยัดสำหรับ

การป้องกันผลิตผลเกษตรในปัจจุบัน แต่ในระยะหลายปีมานี้ พบว่าเกิดความต้านทานต่อสารเคมีเหล่านี้ของประชากรแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างไรก็ตาม กฎระเบียบด้านการกักกัน แมลงที่มีความต้านทานสามารถแพร่กระจายจากประเทศหนึ่งไปอีกประเทศหนึ่งผ่านช่องทางการค้าขาย และมีการบันทึกการเกิดสายพันธุ์ที่ต้านทานแม้แต่ในประเทศที่ไม่มีการใช้สารฆ่าแมลงนั้นเลย ในหลายประเทศเมล็ดพืชที่ใช้เป็นอาหารไม่มีความทนทานต่อการเข้าทำลายของแมลงเลย ในมุมของการเพิ่มการเฝ้าระวังเพื่อคุณภาพของสินค้าเกษตร จึงต้องขยายไปสู่ประเทศอื่น ๆ ด้วยเพื่อทำให้ปัญหาความต้านทานหมดไป การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชจึงมีความถี่และอัตราการใช้เพิ่มขึ้น ซึ่งก่อให้เกิดการปนเปื้อนปริมาณสูงในอาหารและสิ่งแวดล้อม (Roush and Mckenzie, 1987)

ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ทั้งสารรมและสารเคมีแบบสัมผัสตัวตาย เป็นปัญหาที่เพิ่มขึ้นในการควบคุมแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรทั่วโลก (Champ and Dyte, 1976) ดังนั้นผู้ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บรักษาสินค้าเกษตร ต้องให้ความสำคัญกับเรื่องความต้านทานต่อสารเคมีทั้งสองแบบของแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรด้วย จึงมีความจำเป็นต้องมีแผนการปฏิบัติ เพื่อยืดเวลาหรือทำให้ความเป็นไปได้ของการวิวัฒนาการความต้านทานเกิดต่ำที่สุด จำนวนสายพันธุ์แมลง (strains) และจำนวนประเทศที่พบว่าต้านทานต่อฟอสฟีน ที่ได้มีการเก็บข้อมูลไว้ มีเกือบเป็นสองเท่าของเมทิลโบรไมด์ ทั้งที่ความจริงแล้วระยะเวลาที่มีการใช้ฟอสฟีนเป็นสารสำหรับรมเมล็ดพืชนั้นสั้นกว่าการใช้เมทิลโบรไมด์มาก ซึ่งชี้ให้เห็นว่าศักยภาพของแมลงในการสร้างความต้านทานต่อฟอสฟีนมีมากกว่าเมทิลโบรไมด์ ความต้านทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชเป็นความสามารถของแมลงแต่ละสายพันธุ์ (strains) ที่จะทนต่ออัตราสารพิษที่ได้มีการพิสูจน์แล้วว่าทำให้ประชากรปกติของแมลงชนิดนั้นตาย (Collins, 1994) ความต้านทานเกิดขึ้นเมื่อจำนวนแมลงที่ต้านทานเพิ่มขึ้นเป็นครั้งคราวในประชากรหนึ่ง ๆ และมีชีวิตรอดจากการใช้สารเคมี ต่อมาแมลงที่รอดชีวิตเหล่านี้สืบพันธุ์ ทำให้รุ่นลูกหลานมีความต้านทานด้วย ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงถือเป็นปรากฏการณ์ที่ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ปัจจัยทางชีวเคมี สรีรวิทยา พันธุกรรม และปัจจัยทางนิเวศวิทยา ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ยังแตกต่างกันออกไปในแต่ละชนิด (species) ของแมลง ประชากรของแมลงชนิดนั้น ๆ และสภาพทางภูมิศาสตร์

ความต้านทานต่อสารเคมีของแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรได้เพิ่มขึ้นจาก 3 ชนิดในปี ค.ศ. 1960 เป็น 17 ชนิดโดยประมาณ ในอันดับ Coleoptera (กลุ่มด้วงปีกแข็งและมอด) และ Lepidoptera (กลุ่มผีเสื้อ) ในปี ค.ศ. 1979 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นความต้านทานต่อสารรมในพื้นที่ เนื่องจากมีการรมอย่างกว้างขวางทั้งเป็นการรมเป็นประจำเพื่อกำจัดแมลงศัตรู และการรมเพื่อต่อสู้กับแมลงที่ต้านทานต่อสารกำจัดแมลง ระหว่างปี ค.ศ. 1972-73 FAO สำรวจสถานการณ์ความทนทานของแมลงศัตรูสำคัญ ๆ ของเมล็ดพืชทั่วโลก พบความต้านทานต่อเมทิลโบรไมด์ใน 23 ประเทศ และพบความต้านทานต่อฟอสฟีนใน 35 ประเทศ ซึ่งเป็นประเทศที่มีปัจจัยความต้านทานต่ำ (Mason *et al*., 1997) และจากการสำรวจครั้งนี้ของ FAO โดย Champ และ Dyte (1976) ชี้ให้เห็นว่าแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรสำคัญหลายชนิดมีความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน และมีศักยภาพในการพัฒนาความต้านทานต่อไปอีก

ฟอสฟีนเป็นสารรมที่มีประสิทธิภาพดี มีคุณสมบัติเป็นก๊าซที่ไม่มีสี มีกลิ่นคล้ายกระเทียม สูตรเคมี PH_3 มีน้ำหนักโมเลกุล 34.1 หนักกว่าอากาศ 1.18 เท่า ละลายน้ำได้ประมาณ 26 เปอร์เซ็นต์ จุดเดือด -87.4

องศาเซลเซียส ก๊าซฟอสฟีนมีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นสูงมากแต่ไม่มีพิษตกค้าง ถ้ามีความเข้มข้นมากสามารถระเบิดลุกเป็นไฟได้ และสามารถทำปฏิกิริยากับโลหะ เช่น ทองแดง และเงิน (Bonds, 1984) การรมที่ได้รับการยืนยันเป็นครั้งแรกว่าล้มเหลว เนื่องจากความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนเกิดขึ้นที่ประเทศบังคลาเทศในปี ค.ศ. 1981 ซึ่งอาจเกี่ยวกับการปฏิบัติการรมที่ไม่ดีเป็นเวลาหลายปี เกิดการรั่วไหลของก๊าซระหว่างการรม ทำให้อัตราความเข้มข้นไม่เพียงพอ พบระดับความต้านทานสูงในแมลง 3 ชนิดคือ มอดข้าวเปลือก (*Rhyzopertha dominica*) มอดหนวดยาว (*Cryptolestes ferrugineus*) และมอดแป้ง (*Tribolium castaneum*) (Pretheep-Kumar *et al.*, 2010)

สำหรับในประเทศไทย บุษราและคณะ (2537 และ 2541) รายงานว่า พบความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนในมอดข้าวเปลือก โดยไม่พบความต้านทานของมอดแป้งและด้วงงวงข้าวโพด แต่ในระยะต่อมาเริ่มพบความต้านทานในแมลงชนิดอื่น คือ มอดแป้ง มอดฟันเลื่อย และมอดหนวดยาว ซึ่งยังไม่มีการสำรวจและตรวจสอบอย่างจริงจัง จากความร่วมมือของหลายฝ่ายจึงได้มีโครงการลดและเลิกใช้สารเมทิลโบรไมด์ในประเทศไทย ซึ่งมีการสนับสนุนและส่งเสริมให้ใช้สารรมฟอสฟีนแทนสารรมเมทิลโบรไมด์ จึงได้มีการตรวจติดตามความต้านทานของแมลงต่อสารรมฟอสฟีนในประเทศไทย โดยแมลงเป้าหมายชนิดหนึ่งได้แก่ มอดแป้ง

มอดแป้ง (*Tribolium. castaneum* (Herbst)) เป็นแมลงศัตรูที่สำคัญมากที่สุดชนิดหนึ่งของผลิตผลเกษตรจำพวกเมล็ดพืช หรือผลิตภัณฑ์จากเมล็ด พบกระจายอยู่ทั่วไปทั้งในเขตร้อน และกึ่งร้อน (Bell, 2000) ลักษณะการทำลายของมอดแป้งมักเข้าทำลายหลังจากที่แมลงอื่นทำลายเมล็ดพืชเป็นรูหรือรอยแตกแล้ว ถ้าเข้าทำลายในแป้งทำให้แป้งเปลี่ยนสีและมีกลิ่นเหม็นซึ่งเกิดจากการปล่อยฮอร์โมน benzoquinones ที่ผลิตจากต่อมตรงส่วนท้อง กลิ่นนี้จะติดทนนานในแป้งแม้จะเอาแป้งไปทำอาหารแล้วก็ยังมีกลิ่นติดอยู่ (พรทิพย์และคณะ, 2551) ในปัจจุบันการรมด้วยสารรมฟอสฟีนเป็นวิธีการหลักสำหรับการควบคุมมอดแป้งทั่วโลก ซึ่งคาดหวังว่าจะคงความเชื่อมั่นในสารรมฟอสฟีนได้ต่อไปในอนาคต เนื่องจากการยอมรับในกฎระเบียบระหว่างประเทศและการยอมรับสารชนิดนี้ของตลาด และการที่ยังไม่มีทางเลือกอื่นทดแทน ผลที่ตามมาจากการใช้ฟอสฟีนมาก ทำให้เกิดการพัฒนาความต้านทานในแมลงศัตรูหลายชนิด รวมถึงมอดแป้ง (*T. castaneum*) ในหลายภูมิภาคของโลก (Ansell *et al.*, 1990; Rajendran, 2000; Benhalima *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006) จากการสำรวจทั่วโลกระหว่างปี ค.ศ. 1972-73 พบมอดแป้งที่ต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน 5.6% (Champ and Dyte, 1976) ปี ค.ศ. 1983-85 พบมอดแป้งต้านทานในประเทศที่กำลังพัฒนา 48.1% (Taylor and Halliday, 1986) และในปี ค.ศ. 1986-88 ในรัฐ Sao Paulo ประเทศบราซิล พบมอดแป้งต้านทานต่อฟอสฟีน 90 เปอร์เซ็นต์ (Mills, 2001)

ในขณะที่ยังไม่มีสารรมใดสามารถทดแทนสารเมทิลโบรไมด์ ฟอสฟีนเป็นสารรมชนิดเดียวที่มีประสิทธิภาพดี แต่จากการใช้ในอัตราที่สูงขึ้น หรือการรมด้วยฟอสฟีนมากขึ้นสำหรับควบคุมแมลงต้านทานเพื่อเป็นการทดแทนสารเมทิลโบรไมด์ ยิ่งทำให้เกิดปัญหาความต้านทานเพิ่มมากขึ้น ถึงแม้ว่าในประเทศไทยไม่มีรายงานความต้านทานของมอดแป้ง แต่ในระยะหลังนี้ได้มีการสังเกตพบว่า ในการรมผลิตผลเกษตรด้วยฟอสฟีนเริ่มพบมอดแป้งรอดชีวิตจากการรม ทั้งนี้ไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดว่า เกิดจากการรมที่ไม่ถูกต้อง หรือเกิดจากการที่มอดแป้งสร้างความต้านทานต่อฟอสฟีน ดังนั้นจึงต้องทำการตรวจสอบความต้านทานของมอดแป้งต่อสารฟอสฟีน

เพื่อให้ทราบสถานการณ์ที่แท้จริงของความต้านทานของมอดแป้งต่อสารรมฟอสฟีนในประเทศไทย และสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการจัดการการใช้สารรมฟอสฟีนอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ข้าวสาร รำข้าว ยีสต์
2. ขวดแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.5 เซนติเมตร สูง 18 เซนติเมตร
3. ตะแกรงร่อน ถาด พู่กัน ไฟฉาย ทัพพี ปากคีบ กล่องพลาสติก กาว
4. กระดาษกรอง กระดาษซับ ผ้าขาวบาง
5. กระบอกตวง กรวยแก้ว หลอดแก้วปลายเปิด เส้นผ่านศูนย์กลาง 5.2 เซนติเมตร ยาว 26 เซนติเมตร แท่งแก้ว บีกเกอร์ขนาด 250 และ 5,000 มิลลิลิตร
6. ถ้วยพลาสติกพร้อมฝา เส้นผ่านศูนย์กลาง 3.8 เซนติเมตร สูง 2.5 เซนติเมตร เจาะฝาถ้วยเพื่อให้ก๊าซสามารถผ่านเข้าด้านในได้
7. โหลแก้วสุญญากาศ (desiccator) ขนาด 22 ลิตร พร้อมจานพลาสติก ด้านบนของฝาปิดมีช่องเปิดสำหรับปิดฝาที่มี silicone septum รองไว้ สำหรับใส่ก๊าซเข้าไปภายในโหล
8. กรดซัลฟุริค (H_2SO_4) อะซีโตน
9. กระบอกฉีดยา (micro syringe) ชนิด gas-tight ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 μL
10. สารรมฟอสฟีน (aluminium phosphide) ชนิดเม็ด (tablet)

วิธีการ

การสุ่มเก็บตัวอย่างแมลงในโรงเก็บและการเลี้ยงขยายพันธุ์

เก็บตัวอย่างมอดแป้งจากโรงสี โรงเก็บผลิตผลเกษตรที่มีการใช้สารรมฟอสฟีน ในแต่ละภูมิภาค โดยสุ่มตักและร่อนใส่กล่องพลาสติก เติมรำใหม่ลงไปเพื่อเป็นอาหารของมอดแป้ง ปิดฝากล่องและปิดขอบด้วยกระดาษกาว บันทึกสถานที่และวันที่เก็บตัวอย่าง สุ่ม 1 ตัวอย่างต่อ 1 โรงเก็บ

นำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณที่เพียงพอในห้องปฏิบัติการ ที่อุณหภูมิ 30$\pm$2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65$\pm$5 เปอร์เซ็นต์ โดยแยกเป็นแต่ละแหล่ง ปล่อยตัวเต็มวัยมอดแป้งที่แข็งแรงจำนวน 300 ตัวลงในรำข้าว ซึ่งบรรจุในขวดแก้ว ปิดฝาขวดด้วยกระดาษซับ บันทึกสถานที่และวันที่ที่ทำการเลี้ยง รวมถึงจำนวนมอดแป้งที่ใส่ต่อขวด นำแมลงที่เหลือทั้งหมดไปทำลายโดยแช่ในช่องแช่แข็ง เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 7 วัน ก่อนนำไปทิ้ง ปล่อยให้ตัวเต็มวัยวางไข่นาน 1 สัปดาห์ จากนั้นร่อนและนำตัวเต็มวัยออกจากอาหาร จะได้อาหารที่มีไข่ของมอดแป้ง และมอดแป้งที่เกิดขึ้นมาใหม่รุ่นลูก (F1) จะมีความสม่ำเสมอกัน จึงนำไปทดสอบความต้านทาน ทำการเลี้ยงขยายพันธุ์เช่นนี้ 3 ซ้ำต่อโรงเก็บหนึ่งแห่ง

การเตรียมก๊าซฟอสฟีน

เติมน้ำเปล่าจำนวน 3,800 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์ขนาดใหญ่ ที่มีกรวยแก้ววางคว่ำอยู่ ค่อย ๆ เติมกรดซัลฟุริค 200 มิลลิลิตร ลงในน้ำที่เตรียมไว้ จากนั้นเติมน้ำจนครบ 4,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดซัลฟุริคที่มีความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นำหลอดแก้วปลายเปิดมาจุ่มลงในสารละลายกรด ดันหลอดแก้วให้จมลงจนถึงคอขวด ปล่อยให้กรดเข้ามาแทนที่อากาศจนเต็ม ใช้คีมหนีบไว้กับขาตั้ง จากนั้นปิดฝาจุกหลอดแก้วโดยที่ฝาหลอดแก้วจะมีจุกยาง (septum) ปิดอยู่ด้านใน ซึ่งจะต้องเปลี่ยนจุกยางนี้ใหม่ทุกครั้งที่เตรียมก๊าซฟอสฟีน นำเม็ดฟอสฟีน 1 tablet วางบนกระดาษกรอง ห่อเม็ดฟอสฟีนและหุ้มด้วยผ้าขาวบางหรือผ้ามุ้งอีกชั้นหนึ่ง พันปลายผ้าด้วยเทปใสจนแน่น ค่อย ๆ ใส่เม็ดฟอสฟีนลงในสารละลายกรด ใช้แท่งแก้วดึงกรวยแก้วขึ้นมาให้ครอบลงบนเม็ดฟอสฟีนที่จมไป ขยับหลอดแก้วปลายเปิดให้ครอบลงไปบนปลายกรวยแก้วที่คว่ำอยู่บนเม็ดฟอสฟีน โดยมิให้สารละลายกรดไหลออกไปหรือไหลออกน้อยที่สุด หนีบจุกหลอดแก้วให้แน่น วางไว้ 24 ชั่วโมง จะได้ก๊าซฟอสฟีนที่ลอยขึ้นไปแทนที่สารละลายกรดในหลอดแก้ว

การทดสอบความต้านทาน (FAO Method No.16) (Anon., 1975)

หลังจากที่มอดแป้งรุ่นลูก (F1) เป็นตัวเต็มวัยแล้ว 1-2 สัปดาห์ นับมอดแป้งใส่ในถ้วยพลาสติกมีฝาปิดที่เจาะรูฝาด้วยเข็มเพื่อให้อากาศสามารถผ่านเข้าออกได้ ถ้วยละ 50 ตัว/ซ้ำ ทำ 2 ซ้ำต่อหนึ่งอัตราความเข้มข้นของก๊าซฟอสฟีน นำมอดแป้งรุ่นลูก (F1) ไปรมด้วยก๊าซฟอสฟีนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในโหลแก้วสุญญากาศ และทำการดูดก๊าซฟอสฟีนที่ได้เตรียมไว้ด้วย micro syringe โดยใช้ปริมาตรของก๊าซตามที่คำนวณได้

การคำนวณความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ

โดยใช้สูตร $d_1 = x_1 * v_1 * 836.81$

d_1 = ความเข้มข้นที่ใช้จริง (หน่วยเป็นไมโครลิตร: µl)

x_1 = ความเข้มข้น (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร: mg/l)

v_1 = ปริมาตรของ desiccator (หน่วยเป็นลิตร: l)

ระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดสอบ ต้องรวมถึง discriminating dose ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สามารถทำให้สายพันธุ์อ่อนแอตายหมดได้ และแมลงสายพันธุ์ที่ต้านทานจะสามารถรอดชีวิตที่ความเข้มข้นนี้ สำหรับมอดแป้งใช้ discriminating dose เท่ากับ 0.04 mg/l และระยะเวลาการรมคือ 20 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาเปิดฝาโหลสุญญากาศ และปล่อยให้มีการระบายอากาศ ย้ายกระปุกที่ใส่แมลงออกมา และใส่รำข้าวลงไปเล็กน้อย นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 65±5 เปอร์เซ็นต์ ตรวจนับอัตราการตายหลังเสร็จสิ้นการรม 14 วัน เปรียบเทียบกับแมลงมาตรฐานที่อ่อนแอที่เลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลานาน

<u>สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล</u>

ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชไร่ กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร โรงสี โรงเก็บผลิตผลเกษตร

ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างมอดแป้ง ระหว่างปี 2556-2558 จากโรงสีในจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย 45 จังหวัด จำนวน 125 โรงสี แบ่งเป็นภาคเหนือ 10 จังหวัดจำนวน 16 โรงสี ภาคกลางและภาคตะวันตก 15 จังหวัดจำนวน 45 โรงสี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 17 จังหวัดจำนวน 50 โรงสี และภาคใต้ 3 จังหวัดจำนวน 14 โรงสี (ตารางที่ 1) โดยในปี 2556 ได้สำรวจและเก็บตัวอย่างมอดแป้งจำนวน 45 โรงสี (ตารางที่ 2) ปี 2557 จำนวน 42 โรงสี (ตารางที่ 3) และปี 2558 จำนวน 38 โรงสี (ตารางที่ 4) หลังจากทดสอบกับสารรมฟอสฟีนที่อัตราความเข้มข้นต่าง ๆ โดยใช้ discriminating dose ที่อัตรา 0.04 mg/l (40 µg/l) ตามที่กำหนดในคำแนะนำของ FAO (Method No.16) และนำข้อมูลจำนวนมอดแป้งที่ตายในแต่ละความเข้มข้น มาคำนวณหาค่า LC_{50} ของมอดแป้งที่ได้จากแต่ละโรงสี (Lethal Concentration 50 หมายถึงความเข้มข้นของสารเคมีที่ทำให้มอดแป้งตายไปครึ่งหนึ่งของจำนวนที่ใช้ทดสอบ) พบว่า มอดแป้งจากโรงสี 121 โรงสี มีค่า LC_{50} ระหว่าง 4.93-34.96 µg/l โดยมอดแป้งที่มีค่า LC_{50} ต่ำสุดที่ 4.93 µg/l คือ มอดแป้งจากโรงสีในจังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ได้มีการเก็บตัวอย่างในปี 2557 (ตารางที่ 3) และมอดแป้งที่มีค่า LC_{50} สูงสุดที่ 34.96 µg/l คือ มอดแป้งจากโรงสีในจังหวัดปราจีนบุรี ที่เก็บตัวอย่างในปี 2556 (ตารางที่ 2) และมี 4 โรงสีที่พบว่า มอดแป้งมีค่า LC_{50} สูง คือ โรงสีในจังหวัดเพชรบูรณ์ 2 โรงสี จังหวัดลพบุรี 1 โรงสี และโรงสีในจังหวัดกาญจนบุรี 1 โรงสี โดยมีค่า LC_{50} เท่ากับ 335.76, 255.58, 286.84 และ 724.68 µg/l ตามลำดับ

ซึ่งเมื่อนำค่า LC_{50} ของมอดแป้งจาก 121 โรงสี เปรียบเทียบกับค่า LC_{50} ของมอดแป้งสายพันธุ์อ่อนแอ (susceptible strain) ทั้งสายพันธุ์ของประเทศไทย และสายพันธุ์ของประเทศออสเตรเลีย โดยคำนวณค่า resistance ratio (อัตราส่วนระหว่าง LC_{50} ของตัวอย่างต่อ LC_{50} ของสายพันธุ์เปรียบเทียบ) พบว่ามอดแป้งที่มีค่า resistance ratio มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 2.8 คือ มอดแป้งจาก โรงสีในจังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 2) ในขณะที่มอดแป้งจาก 4 โรงสีที่มีค่า LC_{50} สูง เมื่อคำนวณ resistance ratio แล้ว

สรุปผลการทดลอง

จากการสุ่มตัวอย่างมอดแป้ง ซึ่งเป็นแมลงศัตรูผลิตผลเกษตรที่สำคัญในโรงสี จำนวน 125 โรงสี พบว่า มอดแป้งจาก 121 โรงสี คิดเป็น 96.8 เปอร์เซ็นต์ ไม่พบการสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน และมอดแป้งจาก 4 โรงสี มีค่า resistance ratio สูง ซึ่งหมายถึง มีความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีน โดยคิดเป็น 3.20 เปอร์เซ็นต์ของโรงสีที่เก็บตัวอย่างมาทั้งหมด ถึงแม้ว่าจำนวนโรงสีที่พบว่ามอดแป้งมีความสามารถสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนได้ จะมีจำนวนน้อย แต่ระดับความต้านทานมีค่าระหว่าง 23.55-62.63 เท่าของสายพันธุ์อ่อนแอของไทย ถ้ามีการใช้สารรมฟอสฟีนติดต่อกันเป็นเวลานาน ใช้บ่อยครั้ง และอัตราการใช้ไม่ถูกต้อง อย่างเช่นในปัจจุบัน อาจทำให้มอดแป้งสร้างความต้านทานมากขึ้นได้ ดังนั้นควรมีการติดตามและเฝ้าระวังด้วยการเก็บตัวอย่างมอดแป้งมาทดสอบความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนอย่างต่อเนื่องต่อไป เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มากขึ้น ครอบคลุมโรงสีทั่วทุกภาค รวมถึงการถ่ายทอดข้อมูล และให้คำแนะนำการรมผลิตผลเกษตรด้วยสารรมฟอสฟีนอย่างถูกต้องและเหมาะสม เพื่อให้การรมฟอสฟีนยังคงมีประสิทธิภาพดีต่อไป สามารถใช้สารรมฟอสฟีนได้อย่างยั่งยืน และเป็นการป้องกันหรือชะลอการสร้างความต้านทานต่อสารรมฟอสฟีนของมอดแป้งที่อาจเกิดขึ้นได้

เอกสารอ้างอิง

บุษรา พรหมสถิต ชูวิทย์ ศุขปราการ และพรทิพย์ วิสารทานนท์. 2537. ความต้านทานของมอดข้าวเปลือก *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) แมลงศัตรูผลิตผลเกษตรต่อสารรมฟอสฟีน. *ว. กีฏ. สัตว.* 16 (3): 165-173.

บุษรา พรหมสถิต ชูวิทย์ ศุขปราการ และพรทิพย์ วิสารทานนท์. 2541. การศึกษาความต้านทานของ แมลงศัตรูผลิตผลเกษตรต่อสารรมฟอสฟีน. *ว. กีฏ. สัตว.* 20 (3): 176-183.

พรทิพย์ วิสารทานนท์ พรรณเพ็ญ ชโยภาส ใจทิพย์ อุไรชื่น รังสิมา เก่งการพานิช กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม จิราภรณ์ ทองพันธ์ ดวงสมร สุทธิสุทธิ์ ลักขณา ร่มเย็น ภาวินี หนูชนะภัย และอัจฉรา เพชรโชติ. 2551. แมลงที่พบในผลิตผลเกษตรและการป้องกันกำจัด. กลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร. 170 หน้า

Anonymous, 1975. Recommended methods for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides. Tentative method for adults of some major pest species of stored cereals, with methyl bromide and phosphine. FAO Method No. 16, FAO Plant Prot. Bull., 23: 12-25.

Ansell, M.R., Dyte, C.E. and Smith, R.H. 1990. The inheritance of phosphine resistance in *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium castaneum. In*: Fleurat-Lessard Fa, Ducom P.

(Eds) *Proceedings of the 5th International Working Conference on Stored Product Protection*; 9-14 September 1990, France. pp. 961-969.

Bell, C.H. 2000. Fumigation in the 21st century. *Crop Protection,* 19: 563-569.

Benhalima H., Chaudhry, M.Q. Mills, K.A. and Price, N.R. 2004. Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *J. of Stored Products Research,* 40: 241-249.

Bonds, E. J. 1984. Manual of fumigation for insect control. FAO Plant Production and Protection Paper No. 54, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 432 p.

Champ, B.R. and Dyte, C.E. 1976. Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. *FAO Plant Production and Protection Series,* No. 5, 297 pp.

Collins, P.J. 1994. Resistance considerations for choosing protectants. *In*: Highley E., E.J. Wright and B.R. Champ (Eds) *Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored Product Protection,* Canberra, Australia. pp. 755-761.

Mason, P.L., R.J. Brown and R.A. Nicholas. 1997. Population structure and insectidal control of the saw-toothed grain beetle under simulated field conditions. *J. Econ. Entomol*., 90: 30-37.

Mills, K.A. 2001. Phosphine resistance: where to now? *In*: Donahaye, E.J., Navarro, S. and Leesch, J.G. (Eds) *Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products,* Fresno, CA. 29 Oct,-3 Nov. 2000, Executive Printing Services, Clovis, CA, U.S.A. pp. 583-591.

Pimentel, D. 1991. World resources and food losses to pests. *Ecology and Management of Food Industry Pests.* Arlington, VA: Assoc. Off. Anal. Chemists. pp. 5-11.

Pretheep-Kumar, P., Mohan, S. and Balasubramanian, P. 2010. Insecticide Resistance-Stored-Product Insects: Mechanism and Management Strategies. Lap LAMBERT Academic Publishing. 55p.

Rajendran, S. 2000. Inhibition of hatching of *Tribolium castaneum* by phosphine. *J. of Stored Products Research,*36: 101-106.

Roush, R.T. and Mckenzie, J.A. 1987. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Ann. Rev. Entomol.*, 32: 361-380.

Taylor, R.W.D. and Halliday, D. 1986. The geographical spread of resistance to phonphine by coleopterous pests of stored products. *Proc. British Crop Protection Conference, Pests and Diseases,* Brighton, UK. pp. 607-613.

Wang, D.X., Collins, P.J. and Gao, X.W. 2006. Optimising indoor phosphine fumigation of paddy rice bag-stacks under sheeting for control of resistane insects. *J. of Stored Products Research,*42: 207-217.

Tabl 1 List of provinces in where the samples were taken.

ภาค	จังหวัด	จำนวนโรงสี
เหนือ	เชียงราย สุโขทัย พิษณุโลก พะเยา ตาก เชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง กำแพงเพชร แพร่	16
กลางและตะวันตก	ฉะเชิงเทรา สุพรรณบุรี สระบุรี กาญจนบุรี ราชบุรี ชัยนาท เพชรบูรณ์ เพชรบุรี นครสวรรค์ นครปฐม ลพบุรี สระแก้ว ปราจีนบุรี อ่างทอง นครนายก	45
ตะวันออกเฉียงเหนือ	อุดรธานี ชัยภูมิ นครราชสีมา สุรินทร์ บุรีรัมย์ ยโสธร ศรีสะเกษ เลย ขอนแก่น มุกดาหาร อำนาจเจริญ สกลนคร หนองบัวลำภู หนองคาย อุบลราชธานี กาฬสินธุ์ มหาสารคาม	50
ใต้	สงขลา นครศรีธรรมราช พัทลุง	14

Table 2 Resistance test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2013

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
1	56-23	เพชรบูรณ์	5.76	335.76	23.58	20.41	283.93-405.55
2	56-28	เพชรบูรณ์	11.18	255.58	23.55	24.42	195.08-351.67
3	56-24	ลพบุรี	15.98	286.84	34.26	22.27	177.72-504.40
4	56-29	พิษณุโลก	59.33	30.43	2.80	2.91	20.07-41.08
5	56-82	พิษณุโลก	85.96	16.68	1.35	1.36	8.80-23.31
6	56-50	นครสวรรค์	62.93	26.86	2.25	2.43	20.83-34.20
7	56-68	กำแพงเพชร	68.31	25.57	2.02	2.08	20.56-31.71
8	56-78	ราชบุรี	85.77	13.86	1.12	1.13	9.76-18.30
9	56-91	นครปฐม	83.07	15.73	1.25	1.15	10.02-22.48
10	56-54	ตาก	71.48	20.08	1.75	1.73	9.47-31.45
11	56-55	ตาก	74.25	20.88	1.82	1.79	10.87-30.54
12	56-22	ฉะเชิงเทรา	96.05	13.56	0.95	0.82	0.12-21.63
13	56-95	ฉะเชิงเทรา	92.50	13.87	0.99	1.06	3.23-21.25
14	56-94	ปราจีนบุรี	54.06	34.96	2.50	2.66	17.65-53.68
15	56-96	ปราจีนบุรี	99.98	12.18	0.87	0.93	9.80-14.01
16	56-97	สระแก้ว	99.97	10.09	0.72	0.77	8.82-11.27
17	56-38	นครศรีธรรมราช	70.88	20.12	1.78	1.71	3.19-39.73
18	56-41	พัทลุง	99.47	11.32	1.09	1.00	8.24-13.72
19	56-46	ลำปาง	100.00	9.77	0.81	0.86	9.00-10.44
20	56-71	ลำปาง	96.32	13.61	1.07	1.11	10.06-17.49
21	56-47	เชียงใหม่	99.99	10.10	0.84	0.89	5.30-13.06
22	56-70	เชียงใหม่	100.00	11.76	0.93	0.96	9.62-13.65
23	56-51	ลำพูน	75.30	20.00	1.75	1.72	12.13-30.24
24	56-69	ลำพูน	99.20	11.39	0.90	0.93	8.15-14.53

Table 2 Resistance Test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2013 (cont'd)

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
25	56-01	สุรินทร์	100.00	11.99	0.89	0.91	11.45-12.50
26	56-07	สุรินทร์	100.00	11.89	0.88	0.91	11.38-12.39
27	56-02	ชัยภูมิ	99.94	12.06	0.90	0.92	9.78-14.15
28	56-15	ชัยภูมิ	85.28	20.59	1.13	1.22	16.03-26.59
29	56-03	อุบลราชธานี	99.85	14.03	0.94	0.94	12.26-15.84
30	56-13	อุบลราชธานี	99.98	11.79	0.99	0.94	10.38-13.01
31	56-25	อุบลราชธานี	94.99	12.67	1.51	0.98	9.48-16.04
32	56-04	ศรีสะเกษ	99.97	13.62	0.92	0.91	12.89-14.31
33	56-14	ศรีสะเกษ	94.51	15.80	0.87	0.94	13.53-18.42
34	56-12	บุรีรัมย์	98.52	15.90	0.88	0.94	13.40-18.95
35	56-30	ยโสธร	99.97	9.82	0.90	0.94	7.49-11.74
36	56-31	อำนาจเจริญ	99.91	10.64	0.98	1.02	8.01-13.05
37	56-34	นครราชสีมา	87.31	10.15	0.98	0.90	0.12-26.37
38	56-37	นครราชสีมา	100.00	10.59	0.94	0.90	10.06-11.10
39	56-62	มุกดาหาร	99.43	9.03	0.70	0.72	5.34-11.99
40	56-64	มุกดาหาร	100.00	11.97	0.93	0.95	11.10-12.62
41	56-81	มุกดาหาร	100.00	10.31	0.83	0.84	9.62-10.93
42	56-85	มุกดาหาร	100.00	11.38	0.92	0.93	10.69-12.22
43	56-63	กาฬสินธุ์	79.12	17.54	1.38	1.43	13.16-22.52
44	56-65	กาฬสินธุ์	100.00	10.16	0.79	0.81	9.68-10.63
45	56-88	สกลนคร	99.75	12.21	1.09	1.03	9.66-14.68

Table 3 Resistance Test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2014

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
1	57-30	สุพรรณบุรี	99.96	6.07	0.60	0.68	3.53-8.12
2	57-71	สุพรรณบุรี	98.19	8.15	1.12	1.21	5.07-10.94
3	57-78	สุพรรณบุรี	97.73	9.15	1.04	1.12	2.02-14.10
4	57-83	สุพรรณบุรี	75.35	19.22	1.40	1.35	15.46-23.49
5	57-62	สุโขทัย	98.38	12.25	1.50	1.32	9.16-14.61
6	57-70	นครปฐม	98.73	7.05	0.97	1.04	4.15-9.52
7	57-73	นครปฐม	82.46	9.14	1.26	1.35	3.60-15.31
8	57-76	นครปฐม	99.05	8.73	0.99	1.07	6.67-10.62
9	57-72	ชัยนาท	83.45	15.40	1.26	1.25	4.16-25.67
10	57-77	ชัยนาท	99.11	8.81	1.00	1.07	6.33-10.95
11	57-04	กาญจนบุรี	99.99	11.74	0.89	0.86	11.14-12.32
12	57-66	กาญจนบุรี	99.17	8.30	0.78	0.65	5.89-10.49
13	57-35	ฉะเชิงเทรา	99.81	4.93	0.57	0.51	0.11-9.22
14	57-63	พัทลุง	99.90	10.02	1.23	1.08	5.98-13.04
15	57-87	นครศรีธรรมราช	96.21	12.47	0.91	0.88	9.60-15.39
16	57-90	นครศรีธรรมราช	99.88	8.95	0.87	0.81	4.74-12.60
17	57-92	นครศรีธรรมราช	97.19	9.78	0.96	0.89	0.05-16.47
18	57-91	สงขลา	99.79	7.43	0.73	0.68	3.33-10.81
19	57-86	สงขลา	90.82	16.13	1.18	1.13	13.53-19.03
20	57-03	กาฬสินธุ์	99.01	14.44	1.09	1.05	11.31-17.79
21	57-09	กาฬสินธุ์	98.97	13.09	1.03	0.90	10.06-16.20
22	57-10	สกลนคร	99.80	10.64	1.00	1.15	8.00-13.09
23	57-11	สกลนคร	99.99	11.57	1.09	1.25	8.96-14.04
24	57-12	สกลนคร	94.41	13.68	1.08	0.94	9.61-18.20

Table 3 Resistance Test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2014 (cont'd)

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
25	57-15	หนองคาย	100.00	12.17	1.15	1.31	11.66-12.68
26	57-22	หนองคาย	99.98	9.71	1.13	1.01	7.55-11.31
27	57-54	หนองคาย	100.00	10.50	0.98	0.92	7.91-12.42
28	57-55	หนองคาย	97.79	11.23	1.05	0.99	8.34-14.11
29	57-67	หนองคาย	100.00	11.38	1.07	0.89	10.50-12.11
30	57-16	เลย	96.45	9.25	1.08	0.96	3.50-13.94
31	57-27	มหาสารคาม	83.80	12.83	1.69	1.46	8.15-17.96
32	57-02	มหาสารคาม	100.00	14.15	1.07	1.03	12.45-15.74
33	57-38	ศรีสะเกษ	100.00	9.78	0.89	0.76	7.78-11.25
34	57-39	ศรีสะเกษ	90.20	10.84	0.99	0.84	6.71-15.11
35	57-58	ศรีสะเกษ	100.00	9.37	1.15	1.01	8.54-10.07
36	57-40	สุรินทร์	100.00	10.62	1.29	0.89	10.01-11.18
37	57-46	สุรินทร์	100.00	9.30	0.85	0.72	8.34-10.10
38	57-48	สุรินทร์	99.98	7.30	0.90	0.98	3.27-9.66
39	57-41	อุบลราชธานี	99.96	8.83	1.07	0.74	7.13-10.10
40	57-47	อุบลราชธานี	100.00	10.35	0.94	0.80	9.66-10.97
41	57-51	อุบลราชธานี	99.65	7.27	0.90	0.98	4.65-9.39
42	57-59	หนองบัวลำภู	100.00	8.19	1.00	0.88	7.69-8.61

Table 4 Resistance Test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2015

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
1	58-13	นครปฐม	99.26	8.31	0.97	0.84	6.61-9.92
2	58-14	นครปฐม	99.42	11.03	1.28	1.11	5.42-14.34
3	58-20	ราชบุรี	95.75	12.25	1.31	1.14	8.46-15.25
4	58-21	ราชบุรี	99.37	11.82	1.27	1.10	9.40-13.73
5	58-23	ราชบุรี	97.73	7.97	1.04	0.90	4.29-11.20
6	58-36	อ่างทอง	100.00	12.23	0.82	0.83	10.92-13.45
7	58-37	อ่างทอง	98.10	12.16	1.09	1.03	3.02-17.07
8	48-40	ลพบุรี	89.82	15.16	1.36	1.28	2.18-23.74
9	58-41	ลพบุรี	80.03	19.30	1.73	1.63	14.85-24.77
10	58-42	ลพบุรี	100.00	11.00	0.99	0.93	6.43-14.63
11	58-45	สระบุรี	100.00	7.76	1.15	1.13	2.43-10.13
12	58-46	สระบุรี	99.62	7.64	1.13	1.11	1.00-11.93
13	58-22	กาญจนบุรี	95.82	11.70	1.25	1.09	4.57-17.20
14	58-49	กาญจนบุรี	64.45	26.08	1.48	1.40	19.16-34.83
15	58-51	กาญจนบุรี	9.00	724.68	62.63	78.68	533.98-
16	58-52	กาญจนบุรี	77.11	20.98	1.81	2.28	16.72-26.11
17	58-66	เพชรบุรี	98.00	14.93	1.07	0.97	10.26-19.29
18	58-68	เพชรบุรี	75.23	21.97	1.58	1.42	15.96-29.85
19	58-28	ฉะเชิงเทรา	93.55	12.45	1.03	1.08	9.17-15.91
20	58-29	สระแก้ว	100.00	10.36	0.86	0.90	9.65-10.99
21	58-30	นครนายก	94.01	11.90	0.99	1.03	2.44-18.64
22	58-31	ปราจีนบุรี	100.00	10.60	0.88	0.92	7.90-12.34
23	58-01	สงขลา	91.42	14.14	0.98	0.79	10.30-18.50
24	58-03	สงขลา	95.97	14.32	1.48	1.09	13.04-15.52

Table 4 Resistance Test of *Tribolium castaneum* to phosphine in year 2015 (cont'd)

No.	Ref.	Province	% mortality (discriminating dose: 40 µg/l)	LC_{50} (µg/l)	Resistance Ratio (Thai)	Resistance Ratio (Aust.)	95% Confidence Limits (µg/l)
25	58-02	นครศรีธรรมราช	91.15	13.60	0.94	0.76	8.06-18.00
26	58-04	นครศรีธรรมราช	84.19	15.81	1.63	1.20	6.90-23.57
27	58-08	นครศรีธรรมราช	99.62	13.82	0.96	0.77	11.44-16.27
28	58-50	นครศรีธรรมราช	92.79	17.60	1.00	0.94	13.78-22.28
29	58-57	พะเยา	93.24	15.48	1.44	1.43	12.07-18.47
30	58-58	แพร่	81.06	17.07	1.59	1.58	12.85-21.97
31	58-60	แพร่	72.20	22.27	1.91	2.19	16.57-29.66
32	58-59	เชียงราย	100.00	9.70	0.90	0.90	7.78-11.10
33	58-05	อุดรธานี	63.89	27.63	1.91	1.54	21.40-35.37
34	58-76	อุดรธานี	64.32	23.05	1.75	2.07	12.53-37.58
35	58-15	สุรินทร์	99.98	10.48	0.94	0.98	9.72-11.16
36	58-65	ชัยภูมิ	84.25	19.21	1.38	1.24	14.56-23.67
37	58-70	ชัยภูมิ	95.31	13.34	0.96	0.86	9.59-17.42
38	58-75	ขอนแก่น	100.00	10.91	0.83	0.98	9.63-12.04