การจำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* Cockerell, 1892 (Hemiptera: Diaspididae) ด้วยสัณฐานวิทยาและเทคนิคทางชีวโมเลกุล

Identification of armored scale genus *Pinnaspis* Cockerell, 1892 (Hemiptera: Diaspididae) based on morphological character and molecular technique

ชมัยพร บัวมาศ ยุวรินทร์ บุญทบ จารุวัตถ์ แต้กุล สุนัดดา เชาวลิต
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

Abstract

Identification of armored scale based on morphological character and molecular technique was conducted from October 2021 and September 2022 to identify species, host plants and distribution. Survey and specimen collecting were carried out from various agricultural crops in central, northeast and north of Thailand. Two species of *Pinnaspis* were identified by using morphological character and molecular technique (cox1): 1.*Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) and 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899).

Keyword: armored scale *Pinnaspis* Morphology DNA

บทคัดย่อ

การจำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* Cockerell 1982 ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2564 ถึงเดือนกันยายน 2565 เพื่อทราบชนิด พืชอาศัย เขตการแพร่กระจายในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ด จากแหล่งปลูกพืชต่างๆ นำตัวอย่างที่รวบรวมได้จำแนกชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำสไลด์ถาวรและใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล จากยีน *cox1* สามารถจำแนกได้จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. เพลี้ยหอยเกล็ดเฟิร์น *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) และ 2. เพลี้ยหอยเกล็ดขาวฝ้าย *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

คำสำคัญ: เพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* สันฐานวิทยา ดีเอ็นเอ

คำนำ

เพลี้ยหอยเกล็ด (armored scale) จัดอยู่ในวงศ์ Diaspididae ทั่วโลกมีรายงานจำนวนชนิดมากถึง 2,413 ชนิด คิดเป็น 1 ใน 3 ของจำนวนชนิดแมลงในวงศ์ใหญ่ Coccoidea (Ben-Dov *et.al*, 2014) ซึ่งแมลงกลุ่มนี้จัดเป็นแมลงปากดูดที่สามารถสร้างความเสียหายให้กับพืชได้หลายชนิด ทั้งพืชสวน และพืชไร่ โดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ทำให้บริเวณที่ถูกทำลายมีลักษณะผิดปกติ เช่น ใบเหลือง หงิกงอ ลำต้นคดงอ สำหรับเพลี้ยหอยในสกุล *Pinnaspis* Cockerell 1982 เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลาย และมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันค่อนข้างสูง มีรายงานว่าพบมากถึง 44 ชนิดทั่วโลก พบลงทำลายในพืชต่างๆ ได้หลากหลาย เช่น พืชผัก ไม้ดอก ไม้ผล และพืชไร่ (García *et al.,* 2016) และมีรายงานพบเพลี้ยหอยชนิด *P. strachani* (Cooley) ในมันสำปะหลัง (William and Watson, 1988) ในประเทศไทยได้รายงานการสำรวจเพลี้ยหอยสีขาวส้ม (*Pinnaspis* sp.) พบในสวนส้มโอ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (Duangthip *et al.,*2002) แต่ไม่ได้ระบุชนิดที่ชัดเจน ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อการเจรจาทางการค้าในการส่งออกส้มโอของประเทศไทยได้ในอนาคต และอาจสร้างความเสียหายให้แก่พืชเศรษฐกิจอื่นๆ ดังนั้นการศึกษาการจำแนกชนิดทั้งการใช้ข้อมูลสัณฐานวิทยาร่วมกับข้อมูลด้านชีวโมเลกุลย่อมทำให้สามารถจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือเป็นที่ยอมรับ ทำให้สามารถนำกระบวนการที่ได้เหล่านี้นำไปประยุกต์ใช้กับการพัฒนาในด้านต่างๆ เช่น การพัฒนาชุดตรวจสอบแมลงศัตรูพืชในกลุ่มเพลี้ยหอยเกล็ด และข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้อ้างอิงและจัดทำฐานข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ดขอแมลงศัตรูพืชในประเทศไทยต่อไปได้

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ขวดดอง ปากคีบ พู่กัน กล่องพลาสติก ถุงพลาสติก ซองกระดาษใส่ตัวอย่างแมลง และถังรักษาความเย็น

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำสไลด์ถาวรเพลี้ยแป้ง ได้แก่ สารเคมีต่างๆ เช่น น้ำกลั่น แอลกอฮอล์ (alcohol) 50-100% โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 10%, กรดแกลเซียลอะซิติก (glacial acetic acid) แอซิดฟุชซิน (acid fuchsin)
โคล์ฟออย (clove oil) และ แคนาดาบัลซัม (Canada balsam) เข็มเขี่ย แผ่นสไลด์แก้ว แผ่นแก้วปิดสไลด์ กล่องใส่สไลด์ถาวร ตู้อบสไลด์ถาวร

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ได้แก่ เตาไฟฟ้า ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath shaker) เครื่องชั่งละเอียด 2 และ 4 ตำแหน่ง เครื่อง Thermal cycler เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูงควบคุมอุณหภูมิ เครื่อง Gel electrophoresis เครื่อง Gel Documentation UV-trans illuminator

4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope, compound microscope กล้องถ่ายภาพและเครื่องระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

5. สารเคมีและอุปกรณ์ในการศึกษาดีเอ็นเอเช่น ชุดสกัดสารดีเอ็นเอ 100 bp DNA Ladder Agarose gel และ TE Buffer, MyTag HS Red DNA Polymerase primer ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ และหลอดพลาสติกขนาด 2, 1.5 และ 0.5 ไมโครลิตร

วิธีการ

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis*

1.1 เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เมื่อพบตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดตัดชิ้นส่วนของพืชที่มีเพลี้ยหอยอาศัยอยู่ ใส่ในถุงกระดาษหรือห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์แล้วใส่ในถุงพลาสติก บันทึกสถานที่ พิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS) วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่างชนิดและส่วนของพืชที่ถูกทำลาย รวมทั้งชื่อผู้เก็บ สำหรับการเก็บตัวอย่างในแต่ละจุด จะเก็บให้ได้ตัวอย่างมากที่สุด เพื่อนำมาศึกษาต่อในห้องปฏิบัติการและจัดทำสไลด์ถาวรในการจำแนกชนิดต่อไป

1.2 นำตัวอย่างที่เก็บรวบรวมได้ มาตรวจดูลักษณะภายนอกด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope ถ่ายภาพ บันทึกรายละเอียด ทำการดองตัวอย่างในแอลกอฮอล์ 95% และเก็บตัวอย่างที่ได้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสนำไปศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม ส่วนไคติน (chitin) ที่เหลือนำมาทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเก็บรักษาเป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen)

2. จำแนกชนิดพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

2.1 นำตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ดองในแอลกอฮอล์ 95% ที่ไว้ในตู้เก็บรักษาอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำการสกัดสารพันธุกรรม (DNA Extraction) ด้วยชุดสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Isolate II Genomic DNA Kit MBL-BIO-52066 ซึ่งเป็นชุดสกัดสารพันธุกรรมที่ใช้สำหรับเนื้อเยื่อของมนุษย์และสัตว์ โดยนำตัวอย่างใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 ml ซึ่งไคตินเพลี้ยหอยเกล็ดที่เหลือนำไปดองในแอลกอฮอล์ 70% นำไปทำสไลด์ถาวรเพื่อใช้ในการศึกษาสัณฐานวิทยาและเก็บไว้เป็นตัวอย่างในพิพิธภัณฑ์ (Voucher specimen) โดยนำของเหลวที่ได้มาสลายผนังเซลล์ (Lysis) ด้วยการเติม Lysis Buffer GL ปริมาณ 180 ไมโครลิตรและProtinase K Solution ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ปิดหลอดให้สนิทพร้อมทั้งพันด้วย พาราฟีน (Paraffin) เพื่อป้องกันการปนเปื้อน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 - 24 ชั่วโมง เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม ATL Buffer ปริมาณ 180 ไมโครลิตร และบ่มที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และเขย่าให้สม่ำเสมอ หลังจากนั้นทำการจับสารพันธุกรรมด้วยการเขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 100%) ปริมาณ 210 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอเขย่าอย่างเร็วประมาณ 15 วินาทีเติมสารละลายบัฟเฟร์ AL ปริมาณ

200 ไมโครลิตร เขย่าอย่างรวดเร็ว และเติม แอลกอฮอล์บริสุทธิ์ (ethanol 95%) ปริมาณ 200 ไมโครลิตร และเขย่าให้สม่ำเสมอ ดูดสารละลายทั้งหมดใส่ใน tube และตกตะกอน ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) หลังจากนั้นล้างตะกอน (Wash silica membrane) โดยการเติม Wash Buffer AW1 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วย เครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที (ทิ้งของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอน) จากนั้นเติม Wash Buffer AW2 ปริมาณ 500 ไมโครลิตร และตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นทิ้งของเหลวที่เหลือแล้วทำการตกตะกอนสารพันธุกรรมให้แห้ง (Dry silica membrane) ด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 20,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นย้ายหลอดมาใส่ในหลอดทดลองขนาดเล็ก 1.5 ไมโครลิตร ละลายสารพันธุกรรม (Elute DNA) โดยการเติม Elution Buffer AE ปริมาณ 200 ไมโครลิตร จากนั้น ทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 นาที ตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 11,000x g เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำ DNA ที่ได้เก็บในอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

2.2 ทำการเพิ่มปริมาณยีน mtCOI ด้วยวิธีการ Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ C1 J2195- 5′ TTGATTTTTTGGTCATCCAGAAGT 3′ และ TL2N3014 - 5′ TCCAATGCACTAATCTGCCATATTA 3′ ในการเพิ่มปริมาณ DNA (Chris *et al*., 1994) สังเคราะห์ยีน mtCOI ของเพลี้ยแป้งจากดีเอ็นเอที่เตรียมได้ โดยใช้ส่วนผสมของ MyTaq HS Red DNA Polymerase (Bioline, Cat No. BIO-21114) ทำปฏิกิริยาในหลอดพีซีอาร์ขนาด 200 ไมโครลิตร ประกอบไปด้วย Nuclease free water จำนวน 10.5 ไมโครลิตร 5x MyTaq Red Reaction Buffer จำนวน 4 ไมโครลิตร 10 μM CP-F จำนวน 1 ไมโครลิตร 10 μM CP-R จำนวน 1 ไมโครลิตร MyTaq HS DNA Polymerase จำนวน 0.5 ไมโครลิตร DNA template จำนวน 3 ไมโครลิตร รวมทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร ผสมส่วนผสมให้เข้ากันดี แล้วนำไปเข้าเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (thermal cycler) ทำปฏิกิริยาในการสังเคราะห์โดย Predenaturation 94° C 5 นาที Threestep-cycling 35 cycles Denaturation 94° C 30 วินาที Annealing 50° C 30 วินาที Extension 72° C 45วินาที และ Final extension 72° C 10 นาที และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปตรวจสอบขนาดของชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ต้องการ โดยการให้ประจุของสารที่มีประจุแยกออกจากกัน ด้วยวิธีการทำอิเล็กโทรโฟรีซีส (Electrophoresis) โดยหยด PCR product ลงในอะกาโรสเจลที่มีความเข้มข้น 1 % (1% agarose gel) และให้ PCR product เคลื่อนที่ผ่านสารละลาย TBE (Tris-borate, EDTA) โดยใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์, 400 mp (Voltage) เป็นเวลา 30 นาที

2.3 ส่ง PCR product เพื่อตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ มาทำการวิเคราะห์ โดยทำการเปรียบเทียบลำดับเบสเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ที่นำมาศึกษาทั้งหมด (Sequence assembly) เพื่อให้ได้ DNA barcoding ที่มีความถูกต้อง โดยโปรแกรมที่สามารถวิเคราะห์ข้อมูลและจัดทำรหัสดีเอ็นเอ (assemble) เช่น Bioedit Sequence Alignment Editor Version 7.2.5 (Hall, 1999) และบันทึกข้อมูลในรูปแบบ FASTA ไฟล์ ในการศึกษาจะถูกเก็บบันทึก

และรายงานเพื่อใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการจัดทำบัญชีรายชื่อแมลงศัตรูพืช และดีเอ็นเอที่สกัดได้จะจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยสัณฐานวิทยา

3.1 นำไคตินที่เหลือจากการศึกษาในขั้นตอนที่ 2 ไปทำสไลด์ถาวรโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Williams and Watson (1988) นำตัวอย่างสไลด์ที่ทำเสร็จเรียบร้อยไปอบให้แห้ง ในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ใช้เวลาอย่างน้อย 3 เดือน

3.2 ตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดบนแผ่นสไลด์ถาวร ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope ที่มีกำลังขยายสูง โดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Williams and Watson (1988) Rosen (1990) Gill (1997) และ Miller and Devidson (2005) รวมทั้งเปรียบเทียบกับตัวอย่างสไลด์เพลี้ยหอยที่เก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง ของสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตรและวาดรูปแสดงลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนกเพลี้ยหอยแต่ละชนิด และจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* ซึ่งจะนำตัวอย่างสไลด์ที่นำไคตินที่เหลือจากการศึกษาพันธุกรรมมาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาต่างๆ ได้แก่ ขนาดความยาวของลำตัว ลักษณะของส่วนหัวและอก ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกของ prosoma เรียบและแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอนอย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 - 2 เห็นได้ชัดเจน คู่ที่ 1 มักมีขนาดใหญ่กว่า คู่ที่ 2 ส่วนคู่ที่ 3 มีขนาดค่อนข้างเล็ก หรืออาจจะไม่ปรากฏลอนแข็งคู่ที่ 2 - 4 ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่มีต่อมหนาม ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนแข็งคู่ที่ 1 และอยู่ใกล้เกือบกึ่งกลางของ pygidium ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวแต่ละด้านโดยเฉพาะบริเวณขอบของผนังลำตัว มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่มเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างในแต่ละชนิด หลังจากนั้นจึงนำข้อมูลต่างๆที่ได้รวบรวมจัดทำแนวทางวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยหอยเกล็ดในสกุลนี้

3.3 จัดเก็บตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดในกล่องใส่สไลด์ถาวรและนำเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์แมลง โดยแบ่งเป็นหมวดหมู่ตามหลักสากล และจัดทำหมายเลขของตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดแต่ละสไลด์เพื่อเป็นฐานข้อมูลในการอ้างอิงทางวิทยาศาสตร์ต่อไป

การบันทึกข้อมูล

1) พืชอาศัย พิกัดภูมิศาสตร์ สถานที่ วัน/เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่างพร้อมรายละเอียดของเพลี้ยหอยเกล็ด เช่น ขนาด รูปร่างลักษณะและสีของตัวอย่างก่อนทำการดองตัวอย่างพร้อมทั้งถ่ายภาพประกอบ

2) ข้อมูลดีเอ็นเอบาร์โค้ด ในรูปแบบของ FASTA ไฟล์

3) ชื่อวิทยาศาสตร์ของเพลี้ยหอยเกล็ด

เวลาสถานที่

เวลา เดือนตุลาคม 2564 **ถึง** เดือนกันยายน 2565

สถานที่ 1. แหล่งปลูกพืชจังหวัดต่างๆ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. เก็บรวบรวมตัวอย่างเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis*

โดยสำรวจแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง เช่น จังหวัดสระบุรี ชัยนาท กำแพงเพชร อุทัยธานีและกรุงเทพมหานคร ภาคเหนือ เช่น จังหวัดลำปาง แพร่ น่าน และพิษณุโลก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น จังหวัดนครราชสีมา มหาสารคาม มุกดาหาร หนองคาย และอุบลราชธานี และเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง

2. จำแนกชนิดพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล

สามารถจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล โดยการสกัดดีเอ็นเอ และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ C1J2195/TL2N3014 จากยีน *cox1* สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอได้ขนาด 650 - 700 คู่เบส เมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบพบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนที่ 99 - 100 % ในฐานข้อมูล GenBank พบเพลี้ยหอยเกล็ด สกุล *Pinnaspis* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

3. การจำแนกชนิดเพลี้ยหอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ด้วยสัณฐานวิทยา

สามารถจำแนกชนิดด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาจากไคตินที่นำมาทำสไลด์ถาวร จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899) รายละเอียดดังนี้

3.1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

ชื่อพ้อง : *Chionaspis aspidistrae* Signoret, 1869; *Chionaspis brasiliensis* Signoret, 1869 ;*Chionaspis latus* Cockerell, 1896 ; *Pinnaspis ophiopogonis* Takahashi, 1952; *Pinnaspis caricis* Ferris, 1957; *Pinnaspis aspidistrae yunnanensis* Chen, 1983

ชื่อสามัญ : เพลี้ยหอยเกล็ดเฟิร์น (fern scale)

ลักษณะในธรรมชาติที่สำคัญ : <u>เพศเมีย</u> แผ่นปกคลุมลำตัวของตัวเต็มวัยค่อนข้างกลม สีน้ำตาล คราบของตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 อยู่ขอบด้านบนของแผ่นปกคลุมลำตัวมีสีเข้มกว่าเล็กน้อย

ลักษณะทางอนุกรมวิธานที่สำคัญ : ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างยาวรี ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกเรียบมีขนาดแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอนอย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 มักสั้นกว่าคู่ที่ 2 แต่มักมีขนาดใกล้เคียงกัน ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ส่วนคู่ที่ 2 มีลอนขนาดเล็กจำนวน 2 อัน มีต่อมหนามขนาดค่อนข้างยาวระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนแข็งคู่ที่ 1 และอยู่ใกล้เกือบกึ่งกลางของ pygidium ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวตั้งแต่ส่วนบนถึงท้องปล้องที่ 1 ปรากฏเส้นแข็งบริเวณผนังลำตัวด้านหลัง (dorsal preanal scleroses) มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่ม

3.2 *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

ชื่อพ้อง : *Hemichionaspis minor strachani* Cooley, 1899; *Hemichionaspis Marchali* Cockerell, 1902; *Hemichionaspis townsendi* Cockerell, 1905; *Chionaspis (Hemichionaspis) aspidistrae gossypii* Newstead, 1906; *Chionaspis (Hemichionaspis) aspidistrae gossypii* Newstead, 1908; *Hemichionaspis proxima* Leonardi, 1914; *Pinnaspis temporaria* Ferris, 1942

ชื่อสามัญ : เพลี้ยหอยเกล็ดขาวฝ้าย (cotton white scale)

ลักษณะในธรรมชาติ : <u>เพศเมีย</u> แผ่นปกคลุมลำตัวของตัวเต็มวัยค่อนข้างกลม สีขาว คราบของตัวอ่อนวัยที่ 1 และ 2 อยู่ขอบด้านบนของแผ่นปกคลุมลำตัวสีน้ำตาลหรือสีดำ

ลักษณะทางอนุกรมวิธาน : ตัวเต็มวัยเพศเมียรูปร่างยาวรี ความกว้างของ prosoma และ pygidium ใกล้เคียงกัน ผนังลำตัวด้านนอกของ prosoma เรียบและแคบกว่าส่วนท้อง หนวดเป็นติ่งมีขนค่อนข้างยาว มีรูเปิดรอบรูหายใจคู่ที่ 1 จำนวนมาก โดยส่วนท้องแต่ละปล้องมักมีลักษณะเป็นลอนอย่างชัดเจน มีต่อมหนามขนาดใหญ่และจำนวนมากบริเวณลอนของปล้องท้องแต่ละปล้อง ส่วน pygidium ประกอบด้วย macroducts แบบ 2 แถบ ลอนแข็งคู่ที่ 1 - 2 เห็นได้ชัดเจน คู่ที่ 1 มีขนาดใหญ่กว่าเป็นสองเท่าของคู่ที่ 2 ส่วนคู่ที่ 3 มีขนาดค่อนข้างเล็กมาก ระหว่างฐานคู่ที่ 1 มีติ่งยื่นเข้าไปค่อนข้างยาวทำให้ลอนแข็งคู่ที่ 1 ทั้ง 2 อันชิดกัน ระหว่างลอนแข็งแต่ละคู่มีต่อมหนามค่อนข้างยาว ผนังลำตัวด้านหลังปรากฏ macroducts ขนาดใหญ่เรียงตัวตั้งแต่ส่วนบนถึงท้องปล้องที่ 1 ไม่ปรากฏเส้นแข็งบริเวณผนังลำตัวด้านหลัง (dorsal preanal scleroses) ช่องเปิดส่วนท้ายของระบบทางเดินอาหารมีขนาดเล็กกว่าลอนคู่ที่ 1 และอยู่เกือบกึ่งกลางของ pygidium มีรูเปิดรอบช่องเปิดของระบบสืบพันธุ์ จำนวน 5 กลุ่ม

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างจากแหล่งปลูกพืชที่สำคัญในเขตพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 60 ตัวอย่าง สามารถจำแนกชนิดของแพลี้หอยเกล็ดสกุล *Pinnaspis* ได้ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลด้วยใช้ไพรเมอร์ C1J2195/TL2N3014 จากยีน *cox1* ได้จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ 1. *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869) และ 2. *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899) อย่างไรก็ตามเมื่อมีข้อมูลเพิ่มเติมในส่วนของภูมิภาคอื่นๆ เพิ่มมากขึ้นจะทำให้ข้อมูลมีความสมบรูณ์และพัฒนาต่อไปได้ในอนาคต

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ นำไปรวบรวมเพื่อจัดทำฐานข้อมูลแมลงศัตรูพืช ซึ่งยังมีข้อมูลอยู่น้อยและไม่เป็นปัจจุบันเพื่อให้ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ความเสี่ยงศัตรูและข้อมูลเพื่อดำเนินการด้านมาตรการสุขอนามัยในการส่งออกและนำเข้าผลผลิตทางการเกษตรยังประเทศคู่ค้าต่างๆ รวมถึงการหาแนวทางป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเหมาะสมแก่เกษตรกรในอนาคตต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ข้าราชการ และลูกจ้างกลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลงทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการเก็บและเตรียมตัวอย่างทั้งในภาคสนามและห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

Ben-Dov, Y., Miller, D.R. and Gibson, G.A.P. 2014. ScaleNet: a database of the scale insects (Hemiptera; Coccoidea) *of the world.* http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/htm accessed May 2014.

Duangthip Kantha, Kosol Charernsom, Wiwat Suasa-ard and Oraphan Kern-asa. (2002). Annual symposium of The National Biological Control Research Center 2002. Survey and biology of mango scale, *Pseudaulacaspis cockerelli* (Homoptera: diaspididae) and of white armoured scale, *Pinnaspis* sp. (Homoptera: Diaspididae) and natural enemies. (pp. 94). Ubon Ratchathani (Thailand): Ubon Rajathanee University, Ubon Ratchathani (Thailand).

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. Database. doi: 10.1093/database/bav118. http://scalenet.info. Accessed: February 12, 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.

Miller, D.R. and Davidson, J.A. 2005. Armored Insect Pests of Trees and Shrubs (Hemiptera: Diaspididae). Cornell University Press, New York. 442 pp.

Park, D.-S. Suh, S.-J., Oh, H.-W. and Hebert, P.D.N. 2010. Recovery of the mitochondrial COI barcode region in diverse Hexapoda through tRNA-based primers. BMC Genomics 11, 423.

Williams, D.J. and G.W. Watson. 1988. *The Scale Insects of the Tropical South Pacific Region Part I, the armored scale (Diaspididae).* CAB International Institute of Entomology, Wallingford. 290 pp.

Figure 1 Field view of *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

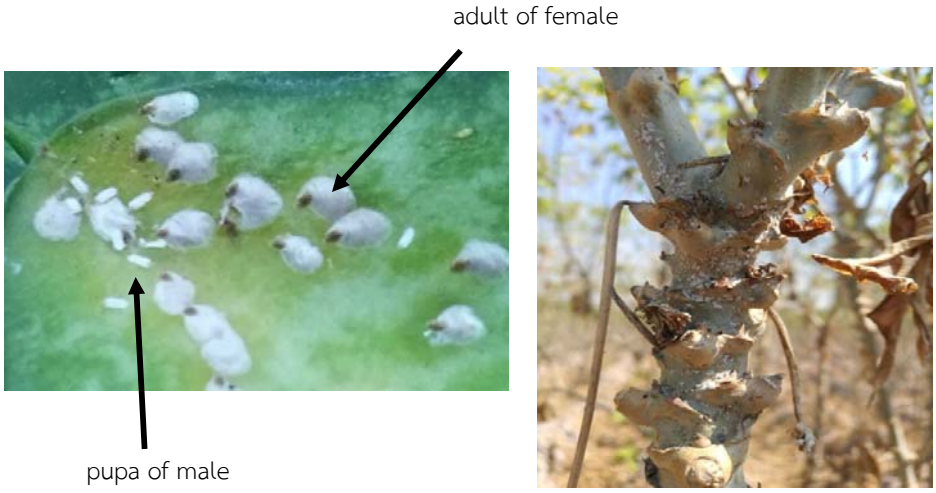

Figure 2 Field view of *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)

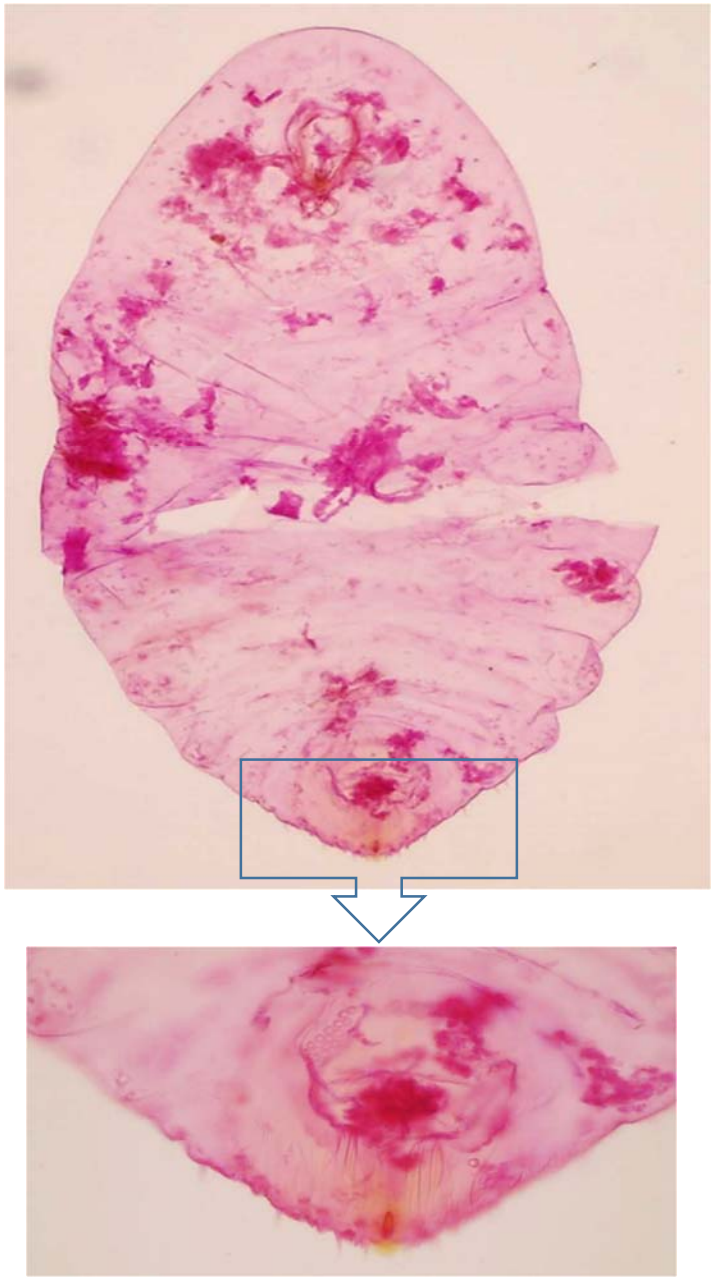

Figure 3 Microscope view of *Pinnaspis aspidiatrae* (Signoret, 1869)

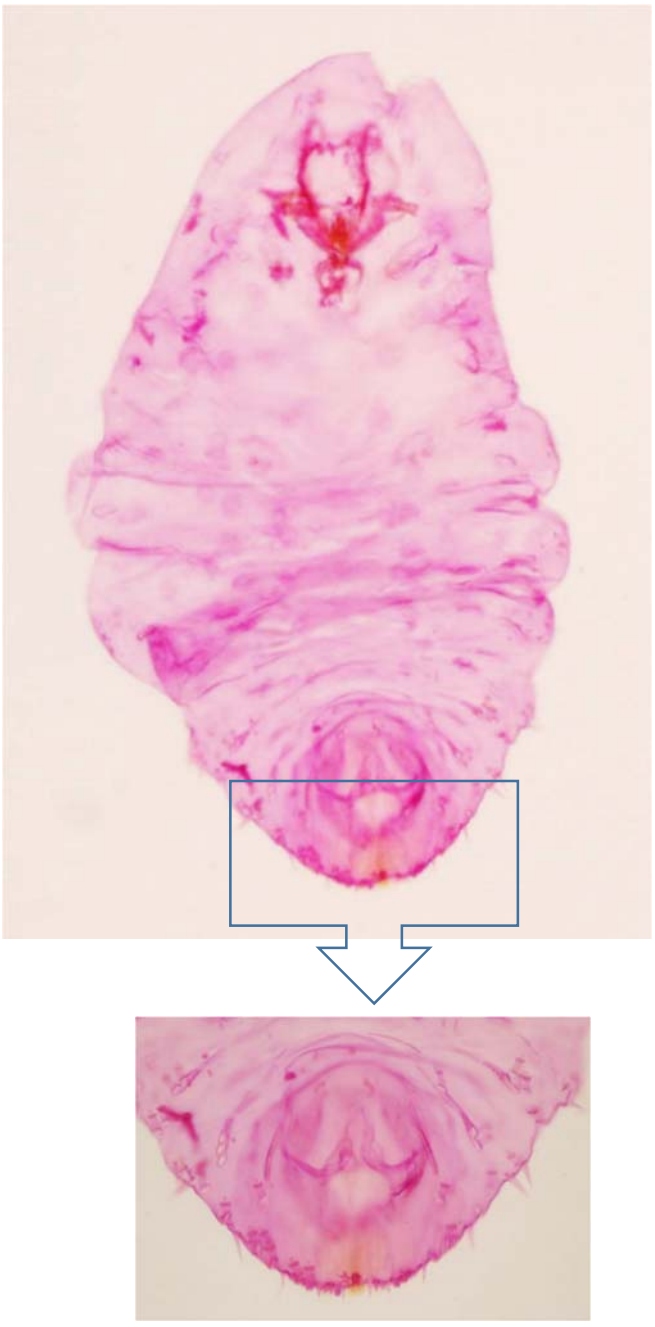

Figure 4 Microscope view of *Pinnaspis strachani* (Cooley, 1899)