

กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ้าย
(cotton thrips, *Thrips palmi* Karny)

Insecticide resistance mechanisms in cotton thrips (*Thrips palmi* Karny)

สุภรดา สุคนธาภิรมย์ ณ พัทลุง สมศักดิ์ ศิริพลตั้งมั่น
พวงผกา อ่างมณี วนาพร วงษ์นิคัง
กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

บทคัดย่อ

การทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆในเพลี้ยไฟที่ระบาดในสวนกล้วยไม้มีความจำเป็นในการช่วยตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลงเพื่อใช้ในแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกันอย่างถูกหลักการบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้บ่อยๆในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในสวนกล้วยไม้โดยวิธีใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆคือ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟแล้วจึงให้เพลี้ยไฟได้รับสารฆ่าแมลง การทดลองในปี 2554 ได้ทำการหดยดสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆลงบนตัวเพลี้ยไฟประมาณ 1-2 ชั่วโมงก่อนให้เพลี้ยไฟดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ผ่านการชุบด้วยสารฆ่าแมลง ผลการทดลองพบว่าการใช้สาร PBO เข้มข้น 5,000 ppm, TPP เข้มข้น 1,000 ppm และ DEM เข้มข้น 2,000 ppm หดยดลงบนตัวไม่ทำให้เพลี้ยไฟที่เก็บจากสวนกล้วยไม้ในจังหวัดนครปฐม ตายเกิน 10% ส่วนการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงนั้น ข้อมูลต่างๆที่ได้มีความแปรปรวนสูง สมควรปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงเทคนิคในการให้สารเพิ่มประสิทธิภาพแก่เพลี้ยไฟใหม่เสียก่อน เช่นใช้วิธีชุบกลีบดอกกล้วยไม้ในสารเพิ่มประสิทธิภาพในความเข้มข้นใหม่แล้วให้เพลี้ยไฟดูดกินก่อนให้ดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ชุบสารฆ่าแมลง หรือการใช้กลีบกล้วยไม้ชุบสารฆ่าแมลงที่ผสมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพแล้วให้เพลี้ยไฟดูดกิน

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-02-01-04-54

คำนำ

ความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ระบาดในสวนกล้วยไม้เป็นปัญหาสำคัญที่เกษตรกรมีความกังวลมาก เนื่องจากเกษตรกรมักใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลักในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟ เพราะสารเคมีฆ่าแมลงให้ผลในการป้องกันกำจัดที่รวดเร็วและประหยัดแรงงานในการดูแลดอกกล้วยไม้ให้ปราศจากการทำลายของเพลี้ยไฟ แต่การใช้สารฆ่าแมลงอย่างไม่ถูกหลักการบริหารความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงทำให้เกิดปัญหาเพลี้ยไฟมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงหลายชนิด ทำให้การใช้สารฆ่าแมลงได้ผลน้อยลงในการป้องกันกำจัด ดังนั้นการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนตามหลักการบริหารความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงเพื่อลดปัญหาความต้านทานในอนาคตจึงมีความสำคัญอย่างมาก

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

ในปัจจุบันยังขาดข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟฝ้ายที่ระบาดทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดในเพลี้ยไฟฝ้ายในสวนกล้วยไม้ ข้อมูลที่ได้จะช่วยให้แผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนมีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของความต้านทานในเพลี้ยไฟที่ทำลายกล้วยไม้ในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมเพลี้ยไฟ

ทำการเก็บเพลี้ยไฟฝ้าย (*Thrips palmi*) จากสวนกล้วยไม้ต่างๆในจังหวัดนครปฐมโดยใช้ที่ดูด (aspirator) ให้ได้ปริมาณมาก นำเพลี้ยไฟที่เก็บได้มาเลี้ยงในถ้วยพลาสติกโดยให้กลีบดอกกล้วยไม้ เกสรดอกกฐูปฤณี น้ำผึ้ง 10% และน้ำที่ซุกับสำลีเป็นอาหาร เลี้ยงเพลี้ยไฟในห้องปฏิบัติการที่ อุณหภูมิ $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ในวันรุ่งขึ้นทำ

การคัดแยกเอาเพลี้ยไฟที่เป็นตัวเต็มวัยและมีความแข็งแรงโดยดูจากการมีความสามารถอ่องไวนในการไต่ขึ้นภายในหลอดทดลอง (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

ส่วนสารฆ่าแมลงที่ใช้ในการทดลองนั้นใช้สารฆ่าแมลงที่มีการแนะนำเพื่อใช้ในป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในกล้วยไม้คือ 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

ทำการทดลองเบื้องต้นเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดเพื่อที่จะนำมาใช้ในการทดลองเพื่อหาผลของกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ทำการทดลองโดยใช้วิธีหดยดสารเพิ่มประสิทธิภาพ (topical application) แต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงบนตัวเพลี้ยไฟที่บริเวณหลัง (dorsal) เพื่อให้เพลี้ยไฟเปียก (Kramer and Nauen, 2011) แล้วจึงนำเพลี้ยไฟใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 5 ตัวโดยให้กล้วยไม้เป็นอาหาร ทำการทดลองอย่างน้อย 2 ชั่วโมงต่อชั่วโมง ใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว บันทึกผลการตายที่ 48 ชั่วโมง แล้วเลือกความเข้มข้นของสาร PBO, TPP และ DEM ที่ไม่ทำให้เพลี้ยไฟตายเกิน 10% มาใช้ในการทดลองเพื่อหาผลของกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

การทดลองเพื่อหาผลของกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

การตรวจสอบกลไกความต้านทานใช้วิธี petal-dipping method (Fahmy *et al.*, 1991; Ninsin *et al.*, 2000) โดยเจือจางสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นที่ทำให้เพลี้ยไฟตายประมาณ 40-60% ด้วยน้ำที่ผ่านขบวนการ reversed osmosis จนได้สารฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นดังกล่าวที่ผสม

สารจับใบ (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 ตัวลงในแต่ละหลอดทดลองแล้วปิดปากหลอดด้วย parafilm แล้วเจาะรูเล็กๆเพื่อให้อากาศถ่ายเทได้ ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำแต่ละซ้ำใช้เพลี้ยไฟ 10 ตัว บันทึกผลการตายที่ 48 ชั่วโมง ส่วน control จะทำเหมือนกันแต่จะใช้เพลี้ยไฟที่ไม่ได้ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพ นำเพลี้ยไฟที่ทดลองไปไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70% ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง (สว่าง : มืด) ปล่อยให้เพลี้ยไฟดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ชุบสารฆ่าแมลง ทำการบันทึกการตายของเพลี้ยไฟที่ 48 ชั่วโมง เพลี้ยไฟที่ไม่ตอบสนองต่อการเหยี่ยวของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย ถ้าเพลี้ยไฟใน control มีการตายเกิน 10% จะทำการทดลองใหม่

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงปี พ.ศ. 2554 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆเช่น PBO, TPP และ DEM ในความเข้มข้นที่พอเหมาะในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยให้ทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟในสวนกล้วยไม้

การหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆที่ความเข้มข้นพอเหมาะจะให้ผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด 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) ดังนั้นจึงควรใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดในความเข้มข้นดังกล่าวในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวเพลี้ยไฟ

ส่วนการทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงนั้น ข้อมูลต่างๆที่ได้มีความแปรปรวนสูง สมควรปรับปรุงหรือเปลี่ยนแปลงเทคนิคในการให้สารเพิ่มประสิทธิภาพแก่เพลี้ยไฟใหม่เสียก่อน เช่นใช้วิธีชุบกลีบดอกกล้วยไม้ในสารเพิ่มประสิทธิภาพในความเข้มข้นใหม่แล้วให้เพลี้ยไฟดูด

กินก่อนให้ดูดกินกลีบกล้วยไม้ที่ชุปสารฆ่าแมลง หรือการใช้กลีบกล้วยไม้ชุปสารฆ่าแมลงที่ผสมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพแล้วให้เพลี้ยไฟดูดกิน

Table 1 Effect of three synergists on mortality of *Thrips palmi* collected from orchid plantation areas 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
Control	-	0

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดลองเพื่อหากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในเพลี้ยไฟฝ่ายควรใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพ PBO หยดลงบนตัวเพลี้ยไฟที่ความเข้มข้น 5,000 ppm, ใช้สาร TPP ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และใช้สาร DEM ที่ความเข้มข้น 2,000 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 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.
- 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.