กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในหนอนใยผัก (diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.))

Insecticide Resistance Mechanisms in Diamondback Moth (*Plutella xylostella* (L.))

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

รายงานความก้าวหน้า

การทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดจะช่วยในการตัดสินใจเลือกชนิดสารฆ่าแมลงเพื่อใช้ในแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนกันอย่างถูกหลักการบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่ใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก โดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ คือ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวหนอนใยผัก โดยวิธีหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพลงบนตัวหนอนประมาณ 1-2 ชั่วโมงก่อนให้หนอนกินใบผักที่ชุบสารฆ่าแมลง และโดยวิธีผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพในสารฆ่าแมลงแล้วเอาใบกะหล่ำปลีชุบให้หนอนกิน ผลการทดลองพบว่า กลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง ต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ทั้งนี้เพราะว่าสาร PBO สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ได้ กลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วงต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่งเช่นกัน ส่วนกลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อยต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ esterases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ทั้งนี้เพราะว่าสาร TPP สามารถเพิ่มความเป็นพิษได้

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-02-01-02-54

คำนำ

หนอนใยผัก *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) เป็นแมลงศัตรูผักตระกูลกะหล่ำที่สำคัญที่สุดเพราะป้องกันกำจัดได้ยาก แมลงชนิดนี้สามารถกัดกินทำลายผักเสียหายอย่างมากตั้งแต่ระยะต้นอ่อนขึ้นไป เกษตรกรเสียค่าใช้จ่ายสูงในการป้องกันกำจัดแมลงชนิดนี้เนื่องจากสามารถต้านทานต่อสารฆ่าแมลงได้หลายชนิด (วินัย,2535 ; พรรณเพ็ญและคณะ, 2542; Rushtapakornchai *et al*., 1995; Zhao *et al*., 2006; APRD, 2009; Zhou *et al*., 2010)

การแก้ไขปัญหาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในปัจจุบันจะใช้หลักการบริหารจัดการความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงโดยวิธีการหมุนเวียนการใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่อยู่ต่างกลุ่มกันในแต่ละรุ่นของแมลง (Deuter, 1989; Roush, 1989; Roush and Daly, 1990) ในแผนการหมุนเวียนการใช้สารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ จำเป็นที่จะต้องทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในแผนนี้

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

ในปัจจุบันยังขาดข้อมูลกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดที่ใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผักในประเทศไทย ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆที่เกษตรกรใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก ข้อมูลที่ได้จะช่วยในการวางแผนการใช้สารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนที่มีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในประเทศไทย

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมหนอนใยผัก

เก็บหนอนจากแปลงปลูกผักตระกูลกะหล่ำของเกษตรกรในท้องที่ อำเภอบางบัวทอง อำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี และอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงปี 2554-2555 โดยเก็บหนอนจากแต่ละท้องที่มากกว่าตัวขึ้นไป นำหนอนมาเลี้ยง 300 โดยใช้ใบกะหล่ำปลี (*Brassica oleraceae* var. *capitata* L.) ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 26 $\pm$2 $^{\circ}$C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70%ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง สว่าง) : มืดจน (เข้าดักแด้ เก็บรวบรวมดักแด้ใส่กรงเพื่อให้ออกเป็นผีเสื้อ เลี้ยงผีเสื้อด้วยน้ำผึ้ง 10% ที่ชุบกับสำลี ให้ผีเสื้อวางไข่บนแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ นำไข่มาฟักในกล่องที่มีต้นกล้าผักกะหล่ำปลีเป็นอาหาร เลี้ยงหนอนด้วยใบผักกะหล่ำปลีจนกระทั่งหนอนเข้าวัย 3ช่วงต้น จึงนำหนอนรุ่นที่ มาใช้ในการทดลอง 1

สารเคมีที่ใช้

ใช้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole (Prevathon 5% SC; DuPont (Thailand) Company Ltd, Bangkok, Thailand และสารจับใบ (Tension T-7, Sotus International Company, Ltd., Nonthaburi, Thailand) ส่วนสารเพิ่มประสิทธิภาพที่ใช้เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษของสารฆ่าแมลงคือ 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) จากผลการทดลองเบื้องต้นในปี 2554 โดยวิธีหยดสาร (topical application) ลงบนตัวที่บริเวณหลัง (dorsal) เพื่อให้หนอนเปียก (Kramer and Nauen, 2011) พบว่าการใช้ PBO เข้มข้น 150 ppm, TPP เข้มข้น 150 ppm, DEM เข้มข้น 300 ppm ตามลำดับไม่ทำให้หนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองตายเกิน 10% จึงใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นดังกล่าวในการตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงโดยขบวนการย่อยทำลายพิษ ส่วนวิธีผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพในสารฆ่าแมลงแล้วเอาใบกะหล่ำปลีชุบให้หนอนกิน ผลการทดลองในปี 2555-2556 พบว่าวิธีผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพในสารฆ่าแมลงต้องใช้ PBO เข้มข้น 100 ppm, TPP เข้มข้น 100 ppm, DEM เข้มข้น 100 ppm ตามลำดับไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์ต้านทานจากอำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรีตายเกิน 10% ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์อ่อนแอจากอำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ และจากอำเภอทับเบิก จังหวัดเพชรบูรณ์ ต้องใช้ PBO เข้มข้น 50 ppm, TPP เข้มข้น 50 ppm, DEM เข้มข้น 50 ppm จึงไม่ทำให้หนอนใยผักตายเกิน 10% จึงใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นดังกล่าวในการตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงโดยขบวนการย่อยทำลายพิษ

การตรวจสอบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ในหนอนใยผัก

การตรวจสอบกลไกความต้านทานใช้วิธี leaf-dipping method (Fahmy *et al*., 1991; Ninsin *et al*., 2000) โดยเจือจางสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดด้วยน้ำที่ผ่านขบวนการ reversed osmosis จนได้สารฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ผสมสารจับใบ (Tension T-7) อัตรา 5 มล./น้ำ ลิตร 20 นำใบกะหล่ำปลี (*Brassica oleraceae* L.) ที่ถูกตัดให้มีขนาด 5x5 ซมมาจุ่มในสารฆ่าแมลงความ . วินาที ส่วน 10 เข้มข้นต่างๆที่เตรียมไว้นานcontrol จะใช้ใบกะหล่ำปลีที่จุ่มในน้ำที่ผสมกับสารจับใบเพียงอย่างเดียว นำใบที่จุ่มแล้วไปผึ่งให้แห้ง ชั่วโมงแล้วนำแต่ละใบมา 1-2ใส่ในถ้วยพลาสติกขนาดได้ และรองพื้นด้วยกระดาษกรองเพื่อดูดซับความชื้นที่มีฝาปิดที่เจาะรูเล็กๆให้อากาศถ่ายเท.มล 100 ทำการปล่อยหนอนใยผักรุ่นที่ 1 วัย ช่วงต้น 3ที่ผ่านการหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆก่อนการทดสอบความต้านทานเป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Zhao *et al*., 1994) จำนวน ตัวลงในแต่ละถ้วย 10 ซ้ำขึ้นไป 4 ทำอย่างน้อยส่วน control จะทำเหมือนกันแต่จะใช้หนอนที่ไม่ได้ผ่านการหยดด้วยสาร

เพิ่มประสิทธิภาพ ส่วนในปี 2555-2556 ทำการทดลองเพื่อทราบกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่ใช้ในการป้องกันกำจัดหนอนใยผัก โดยการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆ คือ piperonyl butoxide (PBO), triphenyl phosphate (TPP) และ diethyl maleate (DEM) ในความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษในตัวหนอนใยผัก โดยให้หนอนได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพและสารฆ่าแมลงพร้อมกันโดยการใช้ใบกะหล่ำปลีชุบสารแล้วให้หนอนกิน

นำหนอนที่ทดลองไปไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิ 26 $\pm$2 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 60-70%ช่วงแสง 12 : 12 ชั่วโมง สว่าง) : มืด (ปล่อยให้หนอนกินใบผักที่ชุบสารฆ่าแมลงแล้วทำการบันทึกการตายของหนอนที่ ชั่วโมง 72 หนอนที่ไม่ตอบสนองต่อการเขี่ยของปลายพู่กันจะถูกพิจารณาว่าตาย ถ้าหนอนใน control มีการตายเกิน 10%จะทำการทดลองใหม่

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาค่าการตายของหนอนที่ 50% (LC_{50}), slopes และค่า 95% confidence intervals (95% CI) โดยวิธี probit regression analysis (Finney, 1971) โดยใช้โปรแกรม POLO-plus (LeOra Software, 1997) การทดลองที่ control มีการตายจะต้องปรับค่าการตายโดยใช้ Abbot's formula (Abbott, 1925) ก่อนการวิเคราะห์ ค่า synergism ratios (SRs) คำนวณจากค่า LC_{50} ของหนอนใยผักไม่ถูกหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพก่อนให้กินใบที่ชุบด้วยสารฆ่าแมลงหารด้วยค่า LC_{50} ของหนอนใยผักที่ถูกหยดด้วยสารเพิ่มประสิทธิภาพก่อนให้กินใบกะหล่ำที่ชุบด้วยสารฆ่าแมลง

เวลาและสถานที่

ทำการทดลองในช่วงปี พ .ศ.2554-2556 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพชนิดต่างๆคือ PBO, TPP และ DEM ในความเข้มข้นที่พอเหมาะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทำลายพิษชนิด cytochrome P450 monooxygenases, esterases และ glutathione s-transferase ในตัวหนอนใยผัก ซึ่งจะช่วยในการศึกษากลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆได้

ในการทดลองกับสารเพิ่มประสิทธิภาพนั้น ในปี 2554 ให้หนอนใยผักได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพโดยการหยดสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดลงบนตัวหนอนที่บริเวณหลัง (dorsal) เพื่อให้สารแทรกซึมเข้าสู่ลำตัว พบว่าการใช้ PBO เข้มข้น 150 ppm, TPP เข้มข้น 150 ppm, DEM เข้มข้น 300 ppm ตามลำดับ ไม่ทำให้หนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองตายเกิน 10% จึงใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นดังกล่าวในการตรวจกลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole โดยขบวนการย่อยทำลายพิษในหนอนใยผัก

ส่วนในปี 2555-2556 ให้หนอนใยผักได้รับสารเพิ่มประสิทธิภาพโดยการใช้ใบกะหล่ำปลีชุบสารเพิ่มประสิทธิภาพแต่ละชนิดแล้วนำมาให้หนอนกิน พบว่าต้องใช้ PBO เข้มข้น 100 ppm, TPP เข้มข้น 100 ppm, DEM เข้มข้น 100 ppm ตามลำดับ ไม่ทำให้หนอนใยผักสายพันธุ์ต้านทานจากอำเภอไทรน้อย จังหวัดนนทบุรีตายเกิน 10% ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์อ่อนแอจากอำเภอแม่ริม

จังหวัดเชียงใหม่ และจากอำเภอทับเบิก จังหวัดเพชรบูรณ์ ต้องใช้ PBO เข้มข้น 50 ppm, TPP เข้มข้น 50 ppm, DEM เข้มข้น 50 ppm จึงไม่ทำให้หนอนใยผักตายเกิน 10%

ผลการทดลองในปี 2554พบว่าสาร PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองและจากอำเภอท่าม่วงได้อย่างเด่นชัด ค่า synergism ratio สูงขึ้นในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองและท่าม่วงเท่ากับ 2.08 และ 7.42 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) สาร PBO สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ได้มากกว่าสารอื่นๆทำให้ ค่าLC_{50} ลดลงจาก 162 เป็น 77.9 mg/liter ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี และลดลงจาก 58.3 เป็น 7.86 mg/liter ในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ส่วนสาร DEM สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ได้เช่นกันแต่ในระดับที่น้อยกว่า ซึ่งทำให้ค่า LC_{50} ลดลงจาก 162 เป็น 94.6 mg/liter ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง (ตารางที่ 1)

ผลการทดลองในปี 2555 สาร PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ chlorfenapyr และ emamectin benzoate ในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วงได้อย่างเด่นชัด ค่า synergism ratio สูงขึ้น เท่ากับ 4.37 และ 4.85 ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ผลการทดลองในปี 2556 สาร PBO สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อยได้เล็กน้อย (ตารางที่ 3) แต่สาร TPP สามารถเพิ่มประสิทธิภาพ indoxacarb ในหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อยได้มากกว่า ค่า synergism ratio สูงขึ้นเท่ากับ 3.88 (ตารางที่ 3)

กลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง ต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ทั้งนี้เพราะว่าสาร PBO สามารถเพิ่มความเป็นพิษต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ได้ (ตารางที่ 1)

กลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วงต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole, chlorfenapyr และ emamectin benzoate น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ทั้งนี้เพราะว่าสาร PBO สามารถเพิ่มความเป็นพิษได้ (ตารางที่ 1-2)

กลไกความต้านทานของหนอนใยผักจากอำเภอไทรน้อยต่อสารฆ่าแมลง indoxacarb น่าจะมีการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ esterases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ทั้งนี้เพราะว่าสาร TPP สามารถเพิ่มความเป็นพิษได้ (ตารางที่ 3)

การที่กลไกความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทองและจากอำเภอท่าม่วงเกิดจากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ทำลายพิษ ดังนั้นจึงอาจมีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความต้านทานข้ามกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มเดียวกันและในกลุ่มอื่นๆได้ (Roush, 1989) เนื่องจากเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases สามารถย่อยสารเคมีได้หลากหลายชนิด จึงทำให้สารฆ่าแมลง chlorantraniliprole ไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการหมุนเวียนสารฆ่าแมลงเพื่อลดความรุนแรงของความต้านทานในหนอนใยผักในท้องที่ดังกล่าว

Table 1 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to F1 generation of *P. xylostella* collected from Bang Bua Thong district, Nonthaburi and Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2011

Strain (Generation tested)	Insecticide	n [1]	Slope ± SE	LC_{50} (95%CI) [2] [mg/liter]	SR [3]
Bang Bua Thong (F1)	chlorantraniliprole	360	0.755 ± 0.105	162.3 (51.6 – 832.3)	-
	+PBO 150 ppm	200	0.998 ± 0.306	77.9 (35.4 – 125.1)	2.08
	+TPP 150 ppm	240	1.417 ± 0.255	137.6 (41.6 – 238.9)	1.17
	+DEM 300 ppm	280	1.414 ± 0.226	94.6 (13.0 – 205.2)	1.71
	chlorfenapyr	240	1.732 ± 0.252	149.9 (61.7 – 287.9)	-
	+PBO 150 ppm	240	0.735 ± 0.227	489.1 (235.6 – 5,543.0)	0.31
	+TPP 150 ppm	200	1.602 ± 0.339	89.9 (64.3 – 132.3)	1.67
	+DEM 300 ppm	240	1.406 ± 0.262	88.6 (24.9 – 193.5)	1.69
	emamectin benzoate	320	1.235 ± 0.150	7.21 (1.69 – 20.7)	-
	+PBO 150 ppm	240	2.440 ± 0.309	7.14 (3.90 – 11.4)	1.01
	+TPP 150 ppm	240	1.330 ± 0.186	5.67 (2.69 – 11.79)	1.27
	+DEM 300 ppm	280	1.519 ± 0.192	11.9 (6.06 – 34.1)	0.61
	tolfenpyrad	240	1.082 ± 0.135	866.5 (531.7 – 1,431.3)	-
	+PBO 150 ppm	240	1.222 ± 0.187	713.6 (475.7 – 1,071.2)	1.21
	+TPP 150 ppm	280	0.876 ± 0.173	1,824.7 (1,144.9 – 3,922.2)	0.47
	+DEM 300 ppm	280	1.053 ± 0.179	1,599.7 (1,087.0 – 2,791.5)	0.54
Tha Muang (F1)	chlorantraniliprole	360	0.855 ± 0.179	58.3 (35.7 - 121)	-
	+PBO150 ppm	300	0.917 ± 0.267	7.86 (3.93 - 13.2)	7.42*

[1] Number of larvae used in bioassay, including control.

[2] LC50 (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

[3] SR (synergism ratio) = LC_{50} of a strain treated with insecticide alone / LC_{50} of the same strain treated with synergist and insecticide.

Table 2 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to F1 generation of *P. xylostella* collected from Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2012

Strain (Generation tested)	Insecticide	n [1]	Slope ± SE	LC_{50} (95%CI) [2] [mg/liter]	SR [3]
Tha Muang (F1)	chlorfenapyr	360	1.526 ± 0.225	59.0 (44.8 – 84.9)	-
	+PBO 150 ppm	420	1.081 ± 0.153	13.5 (8.3 – 19.2)	4.37*
	emamectin benzoate	480	1.601 ± 0.138	1.75 (1.13 – 2.60)	-
	+PBO 150 ppm	540	0.793 ± 0.090	0.361 (0.051 – 0.951)	4.85*
	indoxacarb	420	1.256 ± 0.141	149.4 (76.4 – 269.9)	-
	+PBO 150 ppm	540	1.153 ± 0.107	95.7 (54.6 – 115.2)	1.56

[1] Number of larvae used in bioassay, including control.

[2] LC50 (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

[3] SR (synergism ratio) = LC_{50} of a strain treated with insecticide alone / LC_{50} of the same strain treated with synergist and insecticide.

* indicates that the 95% CI of LC_{50} was not overlap with that of insecticide alone.

Table 3 Synergistic effect of PBO, TPP and DEM on the toxicity of insecticides to *P. xylostella* collected from Sai Noi district, Nonthaburi and Tha Muang district, Kanchanaburi; Thailand in year 2013

Strain (Generation tested)	Insecticide	n [1]	Slope ± SE	LC_{50} (95%CI) [2] [mg/liter]	SR [3]
Sai Noi (F1) location1	chlorantraniliprole	220	2.417 ± 0.412	127.9 (98.8 – 164.5)	-
	+PBO 100 ppm	300	1.804 ± 0.281	71.8 (50.7 – 96.4)	1.78*
	+TPP 100 ppm	260	2.607 ± 0.497	112.0 (82.0 – 142.1)	1.14
	+DEM 100 ppm	220	2.105 ± 0.336	84.5 (58.8 – 114.7)	1.51
	tolfenpyrad	270	1.291 ± 0.201	257.6 (164.5 – 384.3)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.496 ± 0.237	241.3 (158.4 – 342.4)	1.07
	+TPP 100 ppm	270	1.361 ± 0.229	215.4 (76.3 – 416.4)	1.20
	+DEM 100 ppm	270	1.432 ± 0.205	311.9 (156.9 – 600.5)	0.83
Sai Noi (F3) location2	indoxacarb	240	1.032 ± 0.203	134.5 (66.9 – 211.1)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.051 ± 0.207	71.9 (19.5 – 138.7)	1.87
	+TPP 100 ppm	300	0.753 ± 0.143	34.7 (9.9 – 69.1)	3.88
	+DEM 100 ppm	270	1.037 ± 0.167	117.8 (70.6 – 177.1)	1.14
	tolfenpyrad	240	2.054 ± 0.257	656.1 (509.1 – 845.6)	-
	+PBO 100 ppm	240	1.968 ± 0.254	514.3 (391.9 – 665.0)	1.28
	+TPP 100 ppm	240	2.373 ± 0.291	446.2 (355.5 – 566.2)	1.47
	+DEM 100 ppm	240	2.227 ± 0.275	549.0 (429.3 – 695.6)	1.20
Tha Muang (F2)	indoxacarb	270	1.405 ± 0.179	125.4 (91.0 – 174.1)	-
	+PBO 100 ppm	270	1.154 ± 0.169	142.8 (98.3 – 213.6)	0.88
	+TPP 100 ppm	270	0.910 ± 0.160	165.4 (104.8 – 283.4)	0.76
	+DEM 100 ppm	270	1.355 ± 0.180	203.6 (146.7 – 298.1)	0.62
	tolfenpyrad	270	1.454 ± 0.185	175.2 (113.5 – 288.6)	-
	+PBO 100 ppm	270	1.686 ± 0.198	119.5 (75.7 – 191.5)	1.47
	+TPP 100 ppm	270	1.494 ± 0.197	269.4 (197.6 – 391.2)	0.65
	+DEM 100 ppm	240	2.118 ± 0.266	221.0 (173.1 – 285.9)	0.79

[1] Number of larvae used in bioassay, including control.

[2] LC50 (95% confidence intervals) at 48 hr. except for chlorantraniliprole at 72 hr.

[3] SR (synergism ratio) = LC_{50} of a strain treated with insecticide alone / LC_{50} of the same strain treated with synergist and insecticide.

* indicates that the 95% CI of LC_{50} was not overlap with that of insecticide alone.

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

กลไกความต้านทานในหนอนใยผักจากอำเภอบางบัวทอง จังหวัดนนทบุรี ต่อสารฆ่าแมลง chlorantraniliprole น่าจะเกิดจากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยอย่างหนึ่ง ส่วนกลไกความต้านทานในหนอนใยผักจากอำเภอท่าม่วง จังหวัดกาญจนบุรี ต่อสารฆ่าแมลง chlorfenapyr และ emamectin benzoate น่าจะเกิดจากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่ง การที่ cytochrome P450 monooxygenases เป็นปัจจัยในการเกิดความต้านทานทำให้มีความเสี่ยงสูงต่อการเกิดความต้านทานข้ามกับสารฆ่าแมลงในกลุ่มเดียวกันและในกลุ่มอื่นๆได้ ดังนั้น สารฆ่าแมลงดังกล่าวอาจไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในการพ่นสารฆ่าแมลงแบบหมุนเวียนในแต่ละท้องที่ดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

พรรณเพ็ญและคณะ, 2542; พรรณเพ็ญ ชโยภาส, ปิยรัตน์ เขียนมีสุข, ทวีศักดิ์ ชโยภาส, กรรณิการ์ เพ็งคุ้ม และ สัญญาณี ศรีคชาการตรวจความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงของหนอนใย .2542 . ผักในแหล่งปลูกผักภาคต่างๆ, น .1-15 .ใน เอกสารวิชาการ รายงานผลการค้นคว้าและวิจัยประจำปี .2542กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูพืชสวนอุตสาหกรรมกองกีฏและสัตววิทยา กรม . วิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ

วินัย, 2535; วินัย รัชตปกรณ์ชัย .142-157 .น .แมลงศัตรูกะหล่ำและแนวทางการบริหาร .2535 .ใน แมลงและ สัตว์ศัตรูที่สำคัญของพืชเศรษฐกิจและการบริหาร.กรุงเทพฯ .กรมวิชาการเกษตร .

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 256-267.

[APRD] Arthropod Pesticide Resistance Database. 2009. Arthropod pesticide resistance database. (http://www.pesticideresistance.org/).

Deuter, P.L. 1989. The development of an insecticide resistance strategy for the Lockyer Valley. *Acta Horticulturae* 247: 55-62.

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.

Finney, D.J. 1971. Probit Analysis, third ed. Cambridge University Press, London.

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.

LeOra Software. 1997. POLO-PC: probit and Logit Analysis. LeOra Software, Berkeley, CA.

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.

Roush, R.T. and J.C. Daly. 1990. The role of population genetics research in resistance research and management, in *Pesticide Resistance in Arthropods*, ed. by Roush RT and Tabashnik BE. Chapman and Hall, New York, NY, pp. 97–152.

Rushtapakornchai W., P. Keinmesuk, A. Vattanatankum, T. Miyata and T. Saito. 1995. Field experiment for candidate insecticides to the diamondback moth, pp. 77-95. *In* Management of Brown Planthopper and Resistance of Diamondback Moth. Nagoya University Cooperation Press. Nagoya. Japan.

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.

Zhao, J.-Z., H.L. Collins, Y.-X. Li, R.F.L. Mau, G.D. Thompson, M. Hertlein, J.T. Andaloro, R. Boykin, and A.M. Shelton. 2006. Monitoring of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. *J. Econ. Entomol.* 99 (1): 176-181.

Zhou L., J. Huang, H. Xu. 2010. Monitoring resistance of field populations of diamondback moth *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae) to five insecticides in South China: A ten-year case study. *Crop Protection* 30 (3): 272-278.