

# กีฏและสัตววิทยา

ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY GAZETTE

ISSN 0125-3794



ปีที่ 33 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2558

Volume 33 No. 1, January - June 2015

# กีฏและสัตววิทยา

ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY GAZETTE

## เจ้าของ

สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย

## ที่ปรึกษา

นายกสมาคมกีฏและสัตววิทยา

โอชา	ประจวบเหมาะ
ดร.สาทร	สิริสิงห์
ชูวิทย์	ศุขปราการ
อรนุช	ก่องกาญจนะ
อรุณี	วงษ์กอบรัชฎ์
วิรัช	จันทร์ศรี

## บรรณาธิการ

ดร.เกรียงไกร จำเริญมา

## กองบรรณาธิการ

ดร.เดือนจิตต์	สัตยาวิรุทธ์
ศ. ดร.ประภารัจ	หอมจันทร์
รศ.ดร.สุรเชษฐ์	จามรมาน
รศ.ดร.วิบูลย์	จงรัตนเมธิกุล
ผศ.ดร. อัมร	อินทรสังข์
รศ.ดร. นุชรีย์	ศิริ
รศ.ดร.กฤษณา	รุ่งโรจน์วัฒน์
ดร.รุจ	มรกต
ผศ.ดร. โสภณ	อุไรชื่น
ดร.เยาวลักษณ์	จันทร์บาง
ดร.พัชรินทร์	ครุฑเมียด
ชมพูนุท	จรรยาเพชร

## ทะเบียน

กรรณิการ์ เฟื่องคุ่ม

จัดพิมพ์ปีละ 2 ฉบับ

มกราคม - มิถุนายน, กรกฎาคม - ธันวาคม

## วัตถุประสงค์

- เผยแพร่ข่าวสารทางวิชาการ
- เสนอความก้าวหน้าในงานวิจัย
- สนับสนุนให้นักวิชาการมีความตื่นตัวในการปฏิบัติงาน
- เปิดโอกาสให้นักวิชาการแสดงความคิดเห็นในงานค้นคว้าและวิจัย
- เชื่อมความสัมพันธ์ระหว่างนักวิชาการสาขาต่าง ๆ ด้านกีฏและสัตววิทยาทั่วประเทศ

ข้อความหรือบทความในวารสารนี้สามารถนำไปอ้างอิงหรือพิมพ์เผยแพร่ได้ โดยต้องใส่ชื่อผู้เขียนด้วย ผู้ที่ต้องการรายละเอียดเพิ่มเติม โปรดติดต่อโดยตรงกับผู้เขียน

## จัดพิมพ์โดย

สมาคมกีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย

## สำนักงาน

ตึกสมาคมกีฏและสัตววิทยา  
(ตั้งอยู่ภายในบริเวณกรมวิชาการเกษตร)  
ถนนสุวรรณเวนจกกลสิกิจ เกษตรกลาง จตุจักร  
กรุงเทพฯ 10900  
โทร./ โทรสาร 0 2940 5825  
<http://www.ezathai.org>  
E-mail: ezathai@gmail.com

# สารบัญ

หน้า

## บทบรรณาธิการ

### ผลงานวิจัย

- **สัณฐานวิทยาของหนูนาใหญ่: *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916)** 3  
ในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย  
สมเกียรติ กล้าแข็ง เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์ วิชาญ วรธนะโก้วล ปราสาททอง พรหมเกิด  
และ ทรงทัฬห แก้วตา
- **Detection Survey of Mango Seed Weevil; *Sternochetus mangiferae* (Fabricius)** 21  
**Coleoptera: Curculionidae) in Thailand**  
Udorn Unahawutti Oratai Euatrakool Apinya Rujitharanawong Somyot Chukumnerd  
Walaikorn Rattanadechakul Alongkot Phodee Sunadda Chaowalit and Ittipon Bannakan
- **ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย;** 37  
***Aonidiella aurantii* (Maskell) ในส้มเขียวหวาน**  
ศรีจันทร์ศรี ศรีจันทร์รา บุษบง มนัสมันคง วิภาดา พลอดครบุรี อีราทัย บุญญะประภา  
และ ศรุต สุทธิอารมณ
- **การจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny ในประเทศไทย** 50  
**โดยเทคนิค real-time PCR**  
จารุวัตร ด้กกุล อธิพิล บรรณาการ รุ่งนภา ทองเคิ่ง และ ณัฐจิมา ไชษิตเจริญกุล
- **คำแนะนำในการเตรียมเรื่องตีพิมพ์ใน “วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา”** 68

## บทบรรณาธิการ

การรวมตัวเป็นประชาคมอาเซียนของประเทศสมาชิกอาเซียนในปี 2558 มีเป้าหมายให้อาเซียนมีตลาดและฐานการผลิตเดียวกัน มีการเคลื่อนย้ายสินค้า บริการ การลงทุน เงินทุน และแรงงานฝีมืออย่างเสรี โดยจัดทำแผนงานบูรณาการในด้านเศรษฐกิจ เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ 4 ด้าน ซึ่งสำนักงานการเกษตรต่างประเทศ สำนักปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ สรุดังนี้ คือ

1. การเป็นตลาดและฐานการผลิตเดียว มีการเคลื่อนย้ายสินค้า บริการ การลงทุน และแรงงานฝีมืออย่างเสรี และมีการกำหนดเป้าหมายให้ลดภาษีสินค้าเป็น 0 และลดหรือเลิกมาตรการที่มีใช้ภาษีสำหรับประเทศสมาชิก

2. การสร้างขีดความสามารถในการแข่งขันทางเศรษฐกิจของอาเซียน โดยเน้นประเด็นด้านนโยบายที่จะช่วยส่งเสริมการรวมกลุ่มทางเศรษฐกิจ

3. การพัฒนาเศรษฐกิจอย่างเสมอภาค โดยให้มีการพัฒนาวิสาหกิจขนาดกลางและขนาดย่อม

4. การบูรณาการเข้ากับเศรษฐกิจโลก เน้นการปรับนโยบายเศรษฐกิจของอาเซียนกับประเทศภายนอกภูมิภาค เพื่อให้มีท่าทีร่วมกันอย่างชัดเจน

ดังนั้น ทุกภาคส่วน ไม่ว่าจะเป็นภาครัฐ ภาคเอกชน หรือภาคประชาชน จะต้องมีการเตรียมความพร้อม เพื่อนำประเทศไทยเข้าสู่ประชาคมอาเซียน สำหรับความพร้อมในด้านการเกษตร ภายใต้กรอบอาเซียน กรมวิชาการเกษตร มุ่งเน้นการวิจัย และพัฒนาให้ตรงตามมาตรฐานสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช การตรวจวิเคราะห์รับรองคุณภาพ มีความร่วมมือด้านการวิจัย การผลิตโดยใช้ระบบ GAP เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร มีการประสานงานกับประเทศสมาชิกอาเซียนในการจัดทำมาตรฐานสินค้าพืชสวน และมีการจัดตั้งคณะทำงานเพื่อทบทวนกฎหมายเกี่ยวกับการควบคุมการผลิตพืช

สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช เป็นหน่วยงานหนึ่งของกรมวิชาการเกษตร ที่รับผิดชอบในกระบวนการขั้นตอนการผลิตพืชอย่างปลอดภัย ต้องมีการจัดการกับศัตรูพืชอย่างเหมาะสม เพื่อสนับสนุนให้ผลผลิตเกษตรของไทยมีคุณภาพได้มาตรฐานในตลาดอาเซียน นักอารักขาพืชทุกสาขา จะต้องเตรียมข้อมูลให้พร้อม เกี่ยวกับการอารักขาพืชในการผลิตพืชตามระบบ GAP เพื่อให้ได้มาตรฐานสุขอนามัย และสุขอนามัยพืช เช่น

- บัญชีรายชื่อศัตรูพืชของพืชเศรษฐกิจชนิดต่างๆ
- การวิเคราะห์ความเสี่ยงของศัตรูพืชในพืชเศรษฐกิจต่างๆ
- มาตรการการจัดการความเสี่ยงของศัตรูพืชกักกัน

ปัจจุบันประเทศสมาชิกอาเซียนบางประเทศ เช่น อินโดนีเซีย และเวียดนาม ได้ใช้มาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช มาเป็นข้อกำหนดในการค้าแล้ว ถ้าประเทศไทยเรามีข้อมูลพร้อมจะได้ลดปัญหาในด้านการค้า และเป็นผู้นำในตลาดการค้าเสรีอาเซียน

# ผลงานวิจัย

สัณฐานวิทยาของหนูนาใหญ่; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916)  
ในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย

Morphological Studies of Ricefield Rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and  
Kloss, 1916) in Central and Southern Region of Thailand

สมเกียรติ กล้าแข็ง<sup>1/</sup> เกรียงศักดิ์ หามะฤทธิ์<sup>1/</sup> วิชาน วรธนะไกววัล<sup>1/</sup>  
ปราสาททอง พรหมเกิด<sup>1/</sup> และ ทรงทัต แก้วตา<sup>1/</sup>  
Somkiat Klakhang<sup>1/</sup> Greangsak Hamarit<sup>1/</sup> Vichan Watthanakaiwan<sup>1/</sup>  
Prasarthong Promkerd<sup>1/</sup> and Songtap Kaewta<sup>1/</sup>

## Abstract

The morphological studies of ricefield rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) were conducted by collecting mature rats from the central and southern regions of Thailand. Live samples were collected with live traps and round wire traps. Of 24 characters of the appendage bones and skulls of rats compared from the two regions, significant differences were found among the followings : breadth of rostrum (BR), interorbital breadth (IB), breadth of brain case (BBC), breadth of incisive foramina (BIF), breadth of first upper molar (BM1), length of incisive foramina (LIF), length of bony palate (LBP), breadth of mesopterygoid fossa (BMF), crown length of maxillary molar row (CLM1-3), height of brain case (HBC), length of mandible (LM) and length of lower molar series (LLM) ), femur length (FL) and tibia length (TL) of rats in central compared to southern region are significantly difference at  $P \leq 0.05$ . Seven characters of male rats in the central and southern were compared and the results also showed significant differences among the followings namely breadth of rostrum (BR), length of incisive foramina (LIF), breadth of mesopterygoid fossa (BMF), length of mandible (LM) and length of lower molar series (LLM), femur length (FL) and tibia length (TL). As for the females from the two regions, the breadth of brain case (BBC), length of incisive foramina (LIF), length of bony palate (LBP), height of brain case (HBC) and length of mandible (LM), femur length (FL) and tibia length

<sup>1/</sup> กลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>1/</sup> Agricultural Zoology section, Entomology and Zoology group, Plant Protection Research and Development Off ce, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

(TL) were significantly different from one another. However, the characteristics of fur and color of the two regional rats were noticed not to be significantly different and the females had the same mammae of 3 pairs at the thoracic and abdomen.

**Key words:** ricefield rat; *Rattus argentiventer*, morphology

### บทคัดย่อ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของหนูนาใหญ่ ricefield rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) ในพื้นที่ภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย โดยการใช้กรงจับเป็นและบ่วงลวด นำมาศึกษาลักษณะสัณฐานของกระดูกขาคู่และกะโหลก เมื่อเปรียบเทียบหนูนาใหญ่ในภาคกลางกับภาคใต้ที่เป็นหนูเต็มวัยทั้งหมด 24 ลักษณะ พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 14 ลักษณะ ได้แก่ breadth of rostrum (BR), interorbital breadth (IB), breadth of brain case (BBC), breadth of incisive foramina (BIF), breadth of first upper molar (BM1), length of incisive foramina (LIF), length of bony palate (LBP), breadth of mesopterygoid fossa (BMF), crown length of maxillary molar row (CLM1-3), height of brain case (HBC), length of mandible (LM) and length of lower molar series (LLM), femur length (FL) and tibia length (TL) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศผู้ภาคกลางและเพศผู้ภาคใต้ พบมีความแตกต่างทางสถิติของกระดูกขาคู่และกะโหลก 7 ลักษณะ ได้แก่ breadth of rostrum (BR), length of incisive foramina (LIF), breadth of mesopterygoid fossa (BMF), length of mandible (LM) and length of lower molar series (LLM), femur length (FL) and tibia length (TL) และระหว่างเพศเมียภาคกลางและเพศเมียภาคใต้ พบความแตกต่างทางสถิติของกระดูกขาคู่และกะโหลก 7 ลักษณะ ได้แก่ breadth of brain case (BBC), length of incisive foramina (LIF), length of bony palate (LBP), height of brain case (HBC), length of mandible (LM), femur length (FL) and tibia length (TL) ทั้งลักษณะของขนและสีขนของหนูทั้ง 2 ภาค ไม่มีความแตกต่างกัน และเพศเมียตัวเต็มวัยมีนม 3 คู่ ที่หน้าอก และ 3 คู่ ที่หน้าท้องเหมือนกัน

**คำหลัก:** หนูนาใหญ่ *Rattus argentiventer* สัณฐานวิทยา

### คำนำ

หนูนาใหญ่ ricefield rat; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) จัดเป็นหนูศัตรูพืชที่สำคัญในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ข้าว อ้อย ข้าวโพด ปาล์มน้ำมัน

เป็นต้น และมีเขตการแพร่กระจายตั้งแต่เวียดนาม กัมพูชา ไทย ลาว มาเลเซีย หมู่เกาะสุมาตรา ชวา กาลิมันตัน สุลาเวสี อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ตลอดจนถึงนิวกินี (Suyanto *et al.*,

1998) ในประเทศไทยมีรายงานว่า หนูนาใหญ่ พบเฉพาะในแหล่งปลูกพืชในภาคกลางและภาคใต้ และส่วนใหญ่นพบในนาข้าว เช่นจังหวัดสุพรรณบุรี นครปฐม ลพบุรี สิงห์บุรี อ่างทอง ออยุธยา ปทุมธานี ชุมพรนครศรีธรรมราช ปัตตานี ฯลฯ (Lekagul and Mcneelley, 1977) แต่จากรายงานข่าวหนูเข้าทำลายข้าวและธัญพืชอื่นๆ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2552 เป็นต้นมา โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในพื้นที่ที่มีการทำเกษตรกรรมและมีการทำนาปรัง ในจังหวัดแถบลุ่มน้ำชี เช่น จังหวัดร้อยเอ็ด มหาสารคาม และกาฬสินธุ์ (วัชรินทร์, 2553) พบว่า ส่วนใหญ่เป็นหนูนาใหญ่ แต่ลักษณะภายนอกและขนาดของตัวหนูนั้น มีความแตกต่างกัน จึงอาจเป็นไปได้ว่าในแต่ละสภาพแวดล้อม อาจทำให้ลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ โดยหนูนาใหญ่เป็นหนูขนาดกลาง มีความยาวหางสั้นกว่าความยาวหัวรวมกับลำตัว สีสันลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็ง สีขาวแทรก ด้านท้องสีขาวเงินและบางตัวมีสีเทาจนถึงสีน้ำตาลเป็นแถบเล็ก ๆ สั้น ๆ จากใต้คอลงมาถึงท้อง การขยายพันธุ์ค่อนข้างรวดเร็วและมีจำนวนลูกต่อครอกมากกว่าหนูนาชนิดอื่น ๆ ประมาณ 8-13 ตัว/ครอก (เสริมศักดิ์, 2543) และประเทศไทย จัดได้ว่าเป็นประเทศที่มีความหลากหลายทางชีวภาพสูง และเป็นประเทศเกษตรกรรมที่มีการปลูกพืชหลายชนิด เพื่อบริโภคภายในประเทศและเพื่อส่งออกทำรายได้ให้แก่ประเทศ เช่น ข้าว พืชไร่ และไม้ผล เป็นต้น เนื่องจากมีลักษณะทางภูมิประเทศและภูมิอากาศที่หลากหลาย อุดมสมบูรณ์ แต่การศึกษาข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับหนูนาใหญ่น้อย พบว่าข้อมูลทั้งด้านชนิดย่อยอนุกรมวิธาน ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของหนูนา

ใหญ่ในประเทศไทย รวมถึงการศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธาน ขอบเขตการแพร่กระจายยังมีไม่เพียงพอเช่นกัน ทั้งที่หนูชนิดนี้อาศัยอยู่ร่วมกับมนุษย์มายาวนาน และยังทำลายพืชผลเกษตรกรรมทุกครั้ง ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษา เพื่อให้รู้ถึงข้อมูลพื้นฐานด้านนิเวศวิทยา เช่น การแพร่กระจาย พฤติกรรมการดำรงชีวิต ตลอดจนความหลากหลายทางชีวภาพทางด้านอนุกรมวิธานของหนูนาใหญ่ เพื่อประโยชน์ในการเป็นแหล่งสืบค้นข้อมูลด้านนิเวศวิทยา และอนุกรมวิธาน ตลอดจนการป้องกันกำจัดอย่างถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

สำรวจและดักจับหนูนาใหญ่; *Rattus argentiventer* (Robinson and Kloss, 1916) ระหว่างตุลาคม 2554 ถึง กันยายน 2556 ด้วยกรงดักชนิดจับเป็น (live trap) และบ่วงลวดดักหนู จากแปลงนาเกษตรกรในภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดลพบุรี สุพรรณบุรี กาญจนบุรี ออยุธยา ชัยนาท อ่างทอง สิงห์บุรี ออยุธยา ปทุมธานี นครนายก และกรุงเทพมหานคร ในภาคใต้ ได้แก่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา พัทลุง กระบี่ และตรัง บันทึกตำแหน่งที่ได้หนูนาใหญ่ด้วยเครื่อง GPS หนูที่ยังไม่โตเต็มวัย นำมาเลี้ยงไว้ในห้องปฏิบัติการกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ส่วนหนูนาใหญ่ที่โตเต็มวัยแล้ว ทำให้สลบและตายด้วยไดเอธิลอีเทอร์ บันทึกลักษณะภายนอกได้แก่ ลักษณะของขน สีขน ขั้มน้ำหนัก

วัดขนาดความยาวหัวลำตัว (head body length : HB) โดยวัดตั้งแต่ปลายสุดของหัว คือ ตั้งแต่ปลายจมูกถึงช่องอวัยวะขับถ่าย ความยาวหาง (tail length : T) วัดตั้งแต่ช่องเปิดของอวัยวะขับถ่ายจนถึงปลายสุดของหาง ความยาวตีนหลัง (hind foot length : HF) วัดตั้งแต่ปลายสุดของตีนหลังจนถึงเนื้อปลายของนิ้วที่ยาวที่สุดไม่รวมเล็บ ความยาวหู (ear length : E) วัดตั้งแต่ขอบหูล่างถึงปลายสุดของหู หน่วยการวัดเป็นมิลลิเมตร (Figure 1) การเก็บกระดูก (skeleton) โดยนำส่วนลำตัวมาตัดเอากระดูกกรยางค์ คือ กระดูกท่อนบนของขาหน้า (humerus) กระดูกขาหลังท่อนบน (femur) และท่อนล่าง (tibia) ตัดหัวกะโหลกชำแหละเอาเนื้อออก แล้วนำไปต้มน้ำกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนได้ชิ้นส่วนของกระดูกที่ขาวสะอาดนำไปอบจนแห้ง แล้วนำไปศึกษาลักษณะสัณฐานของกระดูกกรยางค์ (Figure 2) และกะโหลก (Figure 3) รวมทั้งสิ้น 24 ลักษณะ ด้วยเวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์ มีหน่วยวัดเป็นมิลลิเมตร (millimeter) ตามวิธีการ ของ Musser *et. al.* (2006) และ Lin and Shiraishi (1992) ดังนี้

วัดขนาดกระดูกกรยางค์ (appendage bone)

1. ความยาวกระดูกขาหน้าท่อนบน (humerus length ; HL.)

2. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนบน (femur length ; FL.)

3. ความยาวกระดูกขาหลังท่อนล่าง (tibia length ; TL.)

ศึกษาลักษณะสัณฐานของกะโหลก (skull / cranium) 21 ลักษณะ

1. breadth of rostrum (BR)

2. length of rostrum (LR)

3. occipitonasal length (ONL)

4. interorbital breadth (IB)

5. breadth of brain case (BBC)

6. zygomatic breadth (ZB)

7. breadth of incisive foramina (BIF)

8. breadth of first upper molar (BM1)

9. length of diastema (LD)

10. length of Incisive foramina (LIF)

11. length of bony palate (LBP)

12. postpalatal length (PPL)

13. length of auditory bulla (LB)

14. breadth of mesopterygoid fossa (BMF)

15. breadth of bony palate at first molars (BBP)

16. crown length of maxillary molar row (CLM1-3)

17. height of brain case (HBC)

18. breadth of zygomatic (BZP)

19. length of mandible (LM).

20. height of mandible (HM)

21. length of lower molar series (LLM)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### ภาคกลาง

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ (ricefield rat); *Rattus argentiventer* ในพื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคกลาง ตัวอย่างหนูนา

ใหญ่ที่ศึกษา (N = 77, เพศผู้ 38 ตัว เพศเมีย 39 ตัว) ทำการบันทึกลักษณะภายนอก พบว่า ลูกหนูหรือหนูที่ยังไม่เจริญเป็นตัวเต็มวัย จะมีลักษณะสีขนบริเวณโคนหูเป็นสีส้มอ่อนๆ และตัวเต็มวัยลักษณะสีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก จากตัวอย่างลักษณะของสีขนของหนูที่เจริญเป็นตัวเต็มวัย พบว่า มีความยาวของหัวและลำตัว (HB) จะยาวกว่าความยาวของหาง (T) ตัวเมียจะมีนม 3 คู่ ที่บริเวณส่วนอก และ 3 คู่ ที่บริเวณส่วนท้อง และมีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 208.8943.28 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 198.0814.41 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 182.7614.04 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 36.282.00 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.701.61 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศผู้ (N= 38) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 227.1847.06 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 204.4715.08 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 187.1114.36 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 37.05.22 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 23.391.57 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศเมีย (N= 39) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 191.0725.18 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 191.688.44 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 178.179.36 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 35.501.69 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.001.04 มิลลิเมตร

### ภาคใต้

สำรวจและเก็บตัวอย่างหนูนาใหญ่ (ricefield rat); *Rattus argentiventer* พื้นที่ทำนาของเกษตรกรภาคใต้ จากตัวอย่างหนูนาใหญ่

ที่ศึกษา (N= 118, เพศผู้ 65 ตัว เพศเมีย 53 ตัว) ทำการบันทึกลักษณะภายนอก พบว่า ตัวเต็มวัยลักษณะสีขนลำตัวด้านบนมีน้ำตาลเหลืองปนดำ มีขนแข็งสีขาวแทรก จากตัวอย่างลักษณะของสีขนของหนูที่เจริญเป็นตัวเต็มวัย พบว่า สีของขนบริเวณท้องเป็นสีขาวนวล สีของขนบริเวณท้องสีขาวเงิน และสีของขนบริเวณท้องสีขาวนวลมีแถบเส้นสีน้ำตาลถึงสีดำพาดกลางอก 10, 39, 51% ตามลำดับ มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 226.3243.43 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 202.8412.16 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 187.8911.07 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 37.561.88 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.081.18 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศผู้ (N= 65) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 243.9846.91 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 207.8212.44 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 190.7011.54 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 38.401.60 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 22.51 1.12 มิลลิเมตร

หนูนาใหญ่เพศเมีย (N= 53) มีน้ำหนัก (Wt.) เฉลี่ย 204.2525.18 กรัม ความยาวหัวลำตัว (HB) เฉลี่ย 196.628.44 มิลลิเมตร ความยาวหาง (T) เฉลี่ย 184.309.36 มิลลิเมตร ความยาวตีนหลัง (HF) เฉลี่ย 36.521.69 มิลลิเมตร ความยาวหู (E) เฉลี่ย 21.541.04 มิลลิเมตร

จากการศึกษาลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ทั้งภาคกลางและภาคใต้ ด้วยการวัดขนาดทั้งความยาวและความกว้างของกระดูกกะโหลก และกระดูกซี่โครง พบว่า

1. ขนาดและลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ ได้แก่ head body length : HB, tail



crown length of maxillary molar row (CLM1-3), height of brain case (HBC), length of mandible (LM) และ length of lower molar series (LLM) มีค่าเฉลี่ย 0.71, 0.26, 0.75, 0.41, 0.14, 0.54, 0.51, 0.28, 0.35, 0.50, 1.29, และ 0.03 มิลลิเมตร มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่  $P \leq 0.05$  เมื่อเทียบเพศผู้ภาคกลางกับเพศผู้ภาคใต้ (Table 2) พบว่า ค่าของ breadth of rostrum (BR), length of incisive foramina (LIF), breadth of mesopterygoid fossa (BMF), length of mandible (LM) และ length of lower molar series (LLM) มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่  $P \leq 0.05$  และระหว่างเพศเมียภาคกลางกับเพศเมียภาคใต้ (Table 3) พบว่าค่าเฉลี่ยของ breadth of brain case (BBC), length of incisive foramina (LIF), length of bony palate (LBP), height of brain case (HBC), length of mandible (LM) มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ที่  $P \leq 0.05$  เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับ ปราสาททองและคณะ (2533) ได้ศึกษาความแปรปรวนของลักษณะภายนอกในประชากรหนูนาใหญ่ จังหวัดสุพรรณบุรี และลพบุรี วัดขนาดกระดูกองค์ประกอบของกะโหลก และกระดูกซี่โครงรวม 18 ลักษณะ พบว่า ขนาดขององค์ประกอบกระดูกกะโหลก และกระดูกซี่โครง 13 ลักษณะ ไม่มีความแปรปรวนแตกต่างกัน ยกเว้น กระดูกองค์ประกอบของกะโหลก 5 ลักษณะ ที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันออกไป คือ skull length, zygomatic length, mandible length, skull width. และ mastoid width

ค่าเฉลี่ยขนาดกะโหลก และกระดูกซี่โครงของหนูนาใหญ่ตัวเต็มวัย 24 ลักษณะ จากทั้งภาคกลางและภาคใต้ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 14 ลักษณะ สอดคล้องกับการศึกษาของ Marshall (1977); Francis (2008) ลักษณะสัณฐานกะโหลกหนูที่มีความแตกต่างกันเหล่านั้น เป็นลักษณะทางอนุกรมวิธาน ที่ช่วยในการจำแนกหนูแต่ละชนิดออกจากกัน อีกทั้งเป็นการบ่งบอกให้ทราบว่า กลุ่มประชากรของหนูนาใหญ่ จากทั้งภาคกลางและภาคใต้ เริ่มมีความแตกต่างของลักษณะที่ปรากฏ กล่าวคือ ยีนที่ควบคุมลักษณะเหล่านี้ เริ่มเปลี่ยนแปลงไปจากหนูนาใหญ่ที่อาศัยอยู่ดั้งเดิมของทั้งสองภาค ซึ่งลักษณะที่ปรากฏเหล่านี้ เป็นความแปรปรวนเฉพาะตัว ระหว่างช่วงการพัฒนาการเจริญเติบโต และตัวเต็มวัยในกลุ่มของประชากร (Cock, 1966) การที่กลุ่มประชากรหนูนาใหญ่จากทั้งภาคกลางและภาคใต้ มีลักษณะแตกต่างจากกลุ่มประชากร แสดงว่า หนูนาใหญ่จากภาคกลางและภาคใต้นั้น มีการแพร่กระจายหรืออพยพแยกมาจากแหล่งประชากรเดียวกัน แล้วมาอาศัยอยู่ในสภาพภูมิประเทศที่ต่างกัน สภาพพื้นที่การเกษตร ตลอดจนแหล่งอาหารในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน พฤติกรรมการทำการเกษตรของเกษตรกรเอง อีกทั้งพฤติกรรมการดำรงชีวิตของคนในแต่ละภูมิภาคที่ต่างกัน ทั้งด้านสังคมและวัฒนธรรม การกินอยู่อาศัยที่แตกต่างกัน การทำการเกษตรที่แตกต่างกัน ตลอดจนสภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศที่ต่างกัน มีการผสมพันธุ์กันภายในกลุ่มและต่างกลุ่ม ทำให้เกิดการพัฒนาแก่งแย่งภายในกลุ่ม เพื่อที่จะดำรงและสืบพันธุ์ ทำให้เกิดความแปรปรวนของยีนหรือ

ลักษณะที่ปรากฏดังกล่าว

สภาพภูมิศาสตร์ของโลกที่มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา นั้น เป็นผลให้สิ่งแวดล้อมของสิ่งมีชีวิตมีโอกาสเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมได้ สิ่งมีชีวิตชนิดต่างๆ มีความสามารถที่จะอยู่รอดท่ามกลางการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว สภาพแวดล้อมทำให้สิ่งมีชีวิตมีความผันแปรแตกต่างกันไป เนื่องจากสภาพภูมิศาสตร์ถูกแยกจากกัน การคัดเลือกโดยธรรมชาติเมื่อผ่านไปหลายๆ รุ่น จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงบางลักษณะ ที่เป็นไปอย่างช้าๆ การคัดเลือกมักจะควบคู่ไปกับการปรับตัวเสมอ จะต้องมีการปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของแต่ละแห่งอาจจะเป็นการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา หรือพฤติกรรมก็ได้ เมื่อผ่านการปรับตัวแล้วอาจจะได้สิ่งมีชีวิตชนิดใหม่ที่เหมาะสมต่อสภาพแวดล้อม และสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ทำให้หนูนาใหญ่ทั้ง 2 ภูมิภาค มีความแตกต่างบางลักษณะเกิดขึ้น

อีกทั้งในสภาพปัจจุบัน สภาพภูมิประเทศ การทำการเกษตรและการเจริญเติบโตทางสังคมเมือง น่าจะเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการขัดขวางและการอพยพเคลื่อนย้ายระหว่างกลุ่มประชากรของหนูนาใหญ่ระหว่างสองภาค และเมื่อพิจารณาถึงลักษณะความแตกต่างดังที่ปรากฏ ขนาดรูปร่างประชากรของหนูนาใหญ่ในภาคใต้ มีขนาดใหญ่กว่า ทั้งนี้อาจจะเพราะ อาหารที่อุดมสมบูรณ์ มีแหล่งน้ำชลประทานสมบูรณ์ มีพื้นที่ปลูกทั้งข้าว ทั้งปาล์มน้ำมันเป็นแหล่งอาหารที่เพียงพอ อีกทั้งพฤติกรรมของคนในพื้นที่เองไม่มีการนำหนูชนิดนี้มารับประทาน จึงส่งผลให้มีการเจริญพันธุ์และเพิ่มขนาดประชากรของหนูนาใหญ่ของภาคใต้ได้ดีกว่าภาคกลาง ซึ่งสอดคล้องกับ

รายงานของ Wright (1951) และ Nunney and Elam (1994) ที่กล่าวว่า กลุ่มประชากรย่อยเหล่านั้น มีการผสมพันธุ์กันเพิ่มขึ้น ทั้งภายในและภายนอกกลุ่ม ทำให้เกิดความหลากหลายพันธุกรรม ซึ่งเป็นสาเหตุให้กลุ่มประชากรของหนูทั้ง 2 ภูมิภาค เริ่มมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า ประชากรหนูหริ่งบ้าน (house mice); *Mus musculus* 2 กลุ่ม คือ ประชากรหนูที่อาศัยอยู่บนเกาะกับประชากรหนูที่อาศัยบนแผ่นดินใหญ่ มีความกว้างของช่องเปิดบริเวณเพดานปากด้านบน (incisive foramina) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Maryanto *et al.*, 2005) และตามทฤษฎีของ Darwin (1859) ที่กล่าวว่า มีสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย จะแปรปรวนไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป และจะถูกคัดเลือกโดยธรรมชาติ

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานของกระดูกกรยางค์และกระดูกกะโหลก ตลอดจนลักษณะภายนอกของหนูนาใหญ่ จากภาคกลางและภาคใต้ (N=195) พบว่า ขนาดลำตัวและหางมีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกัน ยกเว้นน้ำหนักตัว ขนาดตีนหลังและใบหู มีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน และลักษณะของขน สีขน ไม่มีความแตกต่างกัน ขนาดขององค์ประกอบกระดูกกะโหลกและกระดูกกรยางค์ 24 ลักษณะ มีความแตกต่างกัน 14 ลักษณะ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเพศผู้ภาคกลางและเพศผู้ภาคใต้ พบว่ามีความแตกต่างของกระดูกกรยางค์และกะโหลก 7 ลักษณะ และเพศเมียภาคกลางและเพศเมียภาคใต้ พบความแตก

ต่างของกระดูกยางค์และกะโหลก 7 ลักษณะ เป็นการบ่งบอกให้ทราบว่าคุณสมบัติของหนูนาใหญ่ จากทั้งภาคกลางและภาคใต้ เริ่มมีความแปรปรวนของลักษณะที่ปรากฏ เนื่องจากมีปัจจัยหลายอย่าง เช่น สภาพแวดล้อมทั้งภูมิอากาศและภูมิประเทศ การดำรงกิจกรรมของคนในพื้นที่ที่ต่างกัน อีกทั้งการทำการเกษตรที่ต่างกันไป มีการผสมพันธุ์กันทั้งภายในและภายนอกกลุ่มทำให้เกิดความหลากหลายพันธุกรรม ซึ่งเป็นสาเหตุให้กลุ่มประชากรของหนูทั้ง 2 ภูมิภาคเริ่มมีลักษณะบางประการที่เปลี่ยนแปลงไป

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ นายชาติศักดิ์ สังข์วัฒน์และนายโยธินทร์ โพธิ์ศรี ที่ช่วยเลี้ยงและดูแลหนูนาใหญ่ในห้องปฏิบัติการ รวมทั้งพนักงานและเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ของกลุ่มงานสัตววิทยาการเกษตร กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และขอขอบคุณ ดร. กานจน์ คุ่มทรัพย์ อาจารย์ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ที่ให้คำแนะนำและการวิเคราะห์สถิติ จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

### เอกสารอ้างอิง

ปราสาททอง พรหมเกิด, กรแก้ว เสือสะอาด, ยิวลักษณ์ ขอบประเสริฐ และทรงทัพ แก้วตา. 2553. ศึกษาความแปรปรวนของลักษณะภายนอกในประชากรหนูนาใหญ่ *Rattus argentiventer*. หน้า 80-83. ใน : เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการอารักขาพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร.

- วัชรินทร์ เขจรวงศ์. 2553. การป้องกันกำจัดหนูในนาข้าวได้ผลเกือบร้อยเปอร์เซ็นต์โดยวิธีล้อมหนูดกถึงที่ร้อยเอ็ด. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล :<http://76.nationchannel.com/playvideo.php?id=82404> (1 มีนาคม 2553)
- เสริมศักดิ์ หงส์นาค. 2543. ประวัติการป้องกันกำจัดหนูในประเทศไทย. หน้า 1-35. ใน: เอกสารประกอบการประชุมสัมมนาเรื่องหนูดกศัตรูพืชและมนุษย์ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- Cock, A. G. 1966. Genetical aspects of metrical growth and form in animals. *Quart. Rev. Biol.* 41:131-190.
- Darwin, C. 1859. On the origin of species. Facsimile of 1<sup>st</sup> ed. Harvard Univ. Press, Cambridge 513 p.
- Francis, C. M. 2008. A guide to the mammals of Thailand and South-East Asia. Princeton University Press, New Jersey, USA. 392 p.
- Lekagul, B., and J. A. Mcneelley. 1977. Mammals of Thailand. Kurusapha Ladprao Press, Bangkok. 758 p.
- Lin, L. and S. Shiraishi. 1992. Skull growth and variation in the Formosan wood mouse, *Apodemus semotus*. *J. fac. Agr., Kyushu Univ.*, 37(I), 51-69 p.
- Marshall. T. J. 1997. Family Muridae. 397-487 pp. In: Lekagul, B., J. A. Mcneelley. Mammals of Thailand. Kurusapha Ladprao Press, Bangkok.
- Maryanto, I., D. J. Kitchener and S. N.

- Prijino. 2005. Morphological analysis of house mice, *Mus musculus* (Rodentia, Muridae) in Southern and Eastern Indonesia and Western Australia. *Mammal Study*. 30 : 53-63.
- Musser, G.G., D.P. Lunde and N.T.Son. 2006. Description of a new genus and species of rodent (Murinae, Muridae, Rodentia) from the Tower Karst Region of Northeastern Vietnam. *American Museum Novitates*. 1-41.
- Nunney, L. and D. R. Elam. 1994. Estimating the effective population size of conserved populations. *Conservation Biology*. 8:175-184.
- Suyanto, A., M.Yoneda, I. Maryanto, Maharadatunkamsi, and J.Sugardjito. 1998. Checklist of the mammals of Indonesia. Scientific name and distribution area table in Indonesia including CITES, IUCN and Indonesia category for conservation. *LIPI-JICA* 34 p.
- Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. University of Chicago. Galton Lecture at University College, London. *Annals of Eugenics*. 15 : 323-354

**Table 1** Measurements of skull and body parts (in millimeters) of ricefield rat; *Rattus argentiventer* in central and southern region of Thailand between 2011-2013 <sup>1/</sup>

Characters	Max.		Min.		Mean		SD.	
	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern
BR *	10.10	9.60	6.88	6.94	8.52	8.20	0.71	0.46
LR	16.51	15.48	11.43	12.00	14.15	14.06	1.10	0.77
ONL	47.83	47.92	37.92	16.10	43.64	43.54	2.17	3.11
IB *	6.37	6.72	4.77	5.24	5.68	5.78	0.26	0.28
BBC *	18.38	19.12	14.86	14.35	16.70	17.31	0.75	0.63
ZB	22.85	23.26	17.08	17.15	20.68	20.43	1.02	0.89
BIF *	3.87	3.51	2.06	2.21	2.93	2.73	0.41	0.24
BM1 *	2.41	2.37	1.28	1.94	2.05	2.11	0.14	0.08
LD	13.68	13.62	9.73	10.23	12.09	12.24	0.85	0.68
LIF *	9.38	9.17	6.70	6.87	8.41	8.16	0.54	0.46
LBP *	9.42	9.67	7.10	7.69	8.36	9.09	0.51	0.46
PPL	17.94	24.09	12.51	12.82	15.21	15.22	1.05	1.12
LB	8.81	8.50	6.68	6.84	7.78	7.77	0.45	0.33
BMF *	3.75	7.50	2.51	2.80	3.20	3.49	0.28	0.46
BBP	4.93	5.15	3.34	3.46	4.22	4.29	0.36	0.32
CLM1-3 *	8.22	8.09	6.54	6.88	7.37	7.48	0.35	0.23
HBC *	13.42	14.37	11.47	5.75	12.43	12.82	0.50	0.79
BZP	6.47	12.84	4.22	4.46	5.31	5.36	0.53	0.80
LM *	25.62	26.91	20.20	20.49	23.34	23.94	1.29	1.07
HM	16.63	15.44	11.58	11.78	13.78	13.72	0.92	0.68
LLM *	7.56	7.56	5.94	5.84	6.74	6.84	0.30	0.26
HL	37.30	29.49	19.38	20.50	25.68	25.96	2.38	1.65
FL *	40.57	41.36	27.62	25.63	34.42	35.79	2.53	2.36
TL *	42.63	43.87	31.08	30.94	37.07	38.35	2.33	2.28

<sup>1/</sup> Result of analysis of variance and comparison between of samples \* :  $P \leq 0.05$

**Table 2** Measurements of skull and body parts (in millimeters) of riceeld rat; *Rattus argentiventer* (♂) in central and southern region of Thailand <sup>1/</sup>

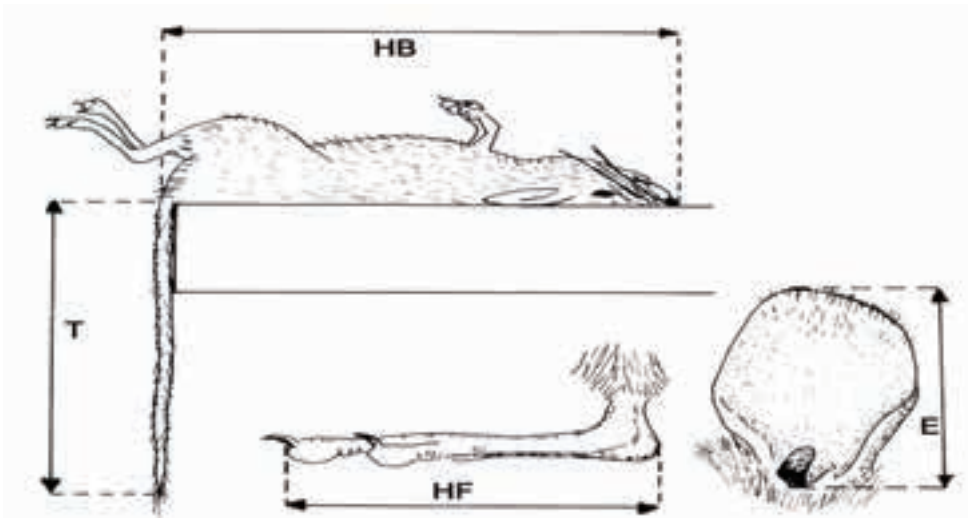
Characters	Max.		Min.		Mean		SD.	
	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern
BR *	10.10	9.60	6.97	6.94	8.74	8.28	0.71	0.47
LR	16.51	15.48	11.98	12.00	14.60	14.39	1.09	0.72
ONL	47.83	47.92	39.37	16.10	44.55	43.97	2.04	3.99
IB	6.32	6.72	5.34	5.24	5.74	5.82	0.19	0.29
BBC	18.38	18.64	15.41	14.35	16.67	17.34	0.73	0.67
ZB	22.85	23.26	17.08	17.15	20.91	20.53	1.10	0.98
BIF	3.87	3.51	2.06	2.21	3.07	2.73	0.44	0.25
BM1	2.33	2.37	1.70	2.00	2.05	2.14	0.11	0.08
LD	13.68	13.62	9.73	10.23	12.38	12.41	0.80	0.69
LIF *	9.38	9.17	6.70	7.09	8.50	8.24	0.60	0.43
LBP	9.42	8.22	7.10	7.70	8.51	9.50	0.53	0.46
PPL	17.24	24.09	13.46	12.82	15.66	15.51	0.88	1.34
LB	8.81	8.40	7.03	6.95	7.90	7.87	0.44	0.29
BMF *	3.75	7.50	2.72	2.84	3.23	3.53	0.27	0.56
BBP	4.93	5.15	3.44	3.61	4.28	4.32	0.36	0.31
CLM1-3	8.22	8.05	6.72	6.88	7.39	7.53	0.37	0.22
HBC	13.42	14.37	11.47	5.75	12.50	12.83	0.52	1.02
BZP	6.47	12.84	4.35	4.46	5.48	5.47	0.57	1.02
LM *	25.20	26.91	20.54	20.49	23.62	24.11	1.20	1.15
HM	16.63	15.42	11.78	11.78	14.03	13.81	0.99	0.67
LLM *	7.56	7.56	6.22	5.84	6.71	6.89	0.31	0.28
HL	30.16	29.49	20.90	20.50	26.48	26.75	1.60	1.59
FL *	40.57	41.36	27.79	25.63	35.58	36.92	2.40	2.30
TL *	42.63	43.87	31.56	30.94	38.27	39.59	2.01	2.06

<sup>1/</sup> Result of analysis of variance and comparison between of samples \* :  $P \leq 0.05$

**Table 3** Measurements of skull and body parts (in millimeters) of ricefield rat; *Rattus argentiventer* (♀) in central and southern region of Thailand<sup>1/</sup>

Characters	Max.		Min.		Mean		SD.	
	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern	Central	Southern
BR	9.58	9.20	6.88	7.23	8.30	8.10	0.65	0.43
LR	15.59	15.03	11.43	12.38	13.69	13.66	0.93	0.62
ONL	46.64	45.92	37.92	40.16	42.67	43.03	1.88	1.38
IB	6.37	6.31	4.77	5.28	5.63	5.73	0.31	0.27
BBC *	18.13	19.12	14.86	16.13	16.74	17.29	0.78	0.58
ZB	22.06	22.25	17.73	18.91	20.45	20.29	0.88	0.74
BIF	3.77	3.24	2.14	2.32	2.79	2.74	0.32	0.24
BM1	2.41	2.24	1.28	1.94	2.05	2.08	0.17	0.07
LD	13.32	13.61	10.00	10.80	11.79	12.03	0.80	0.60
LIF *	9.00	9.01	7.19	6.87	8.32	8.06	0.46	0.48
LBP *	9.16	9.56	7.37	7.69	8.22	8.60	0.46	0.45
PPL	17.94	16.30	12.51	13.84	14.77	14.88	1.04	0.63
LB	8.81	8.50	6.68	6.84	7.66	7.66	0.42	0.34
BMF	3.72	4.19	2.51	2.80	3.17	3.45	0.30	0.29
BBP	4.85	5.03	3.34	3.46	4.15	4.25	0.36	0.34
CLM1-3	8.17	8.09	6.54	7.07	7.35	7.43	0.33	0.22
HBC *	13.35	13.59	11.50	11.85	12.37	12.81	0.47	0.38
BZP	6.10	6.08	4.22	4.59	5.14	5.23	0.42	0.36
LM *	25.62	25.89	20.20	22.08	23.06	23.73	1.33	0.94
HM	15.09	15.44	11.58	12.39	13.54	13.60	0.79	0.69
LLM	7.56	7.47	5.94	6.36	6.76	6.78	0.30	0.22
HL	37.30	26.86	19.38	22.03	24.90	24.98	2.75	1.13
FL *	37.58	36.83	27.62	30.75	33.29	34.41	2.13	1.59
TL *	40.77	39.55	31.08	33.92	35.90	36.83	2.03	1.47

<sup>1/</sup> Result of analysis of variance and comparison between of samples \* : P < 0.05



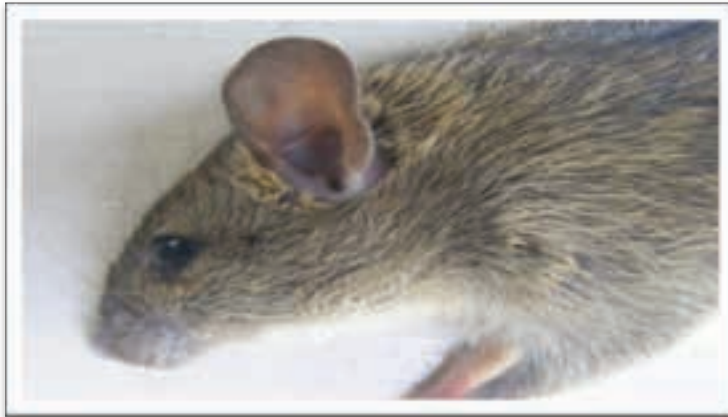
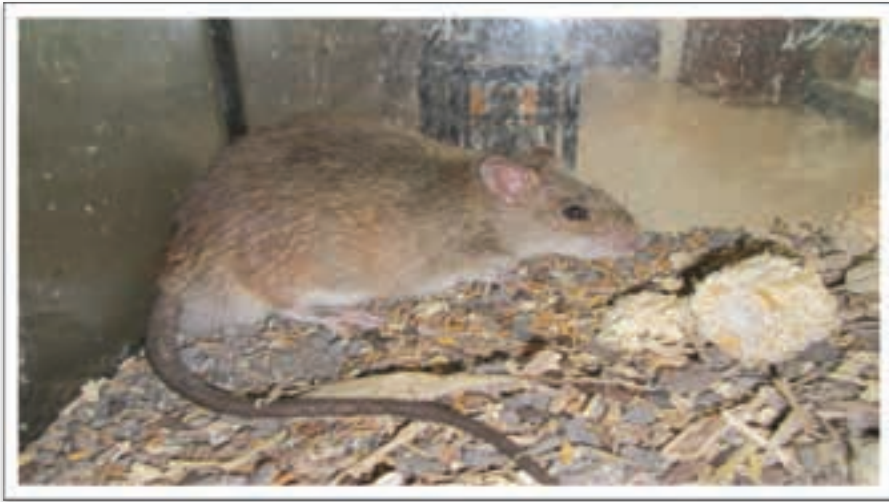
**Figure 1** Measurements (in millimeters) the external appearance of the ricefield rat; *Rattus argentiventer* : HB = head body length ; T = tail length; HF = hind foot length; E = ear length



1. humerus length ; HL.    2. femur length ; FL.    3. tibia length ; TL.

**Figure 2** Measurements of the appendage bone of the ricefield rat; *Rattus argentiventer*





Often has an orange – brown tuft of fur in front of each ear



white spined- hair on back side



underside of hindfoot showing pawpads

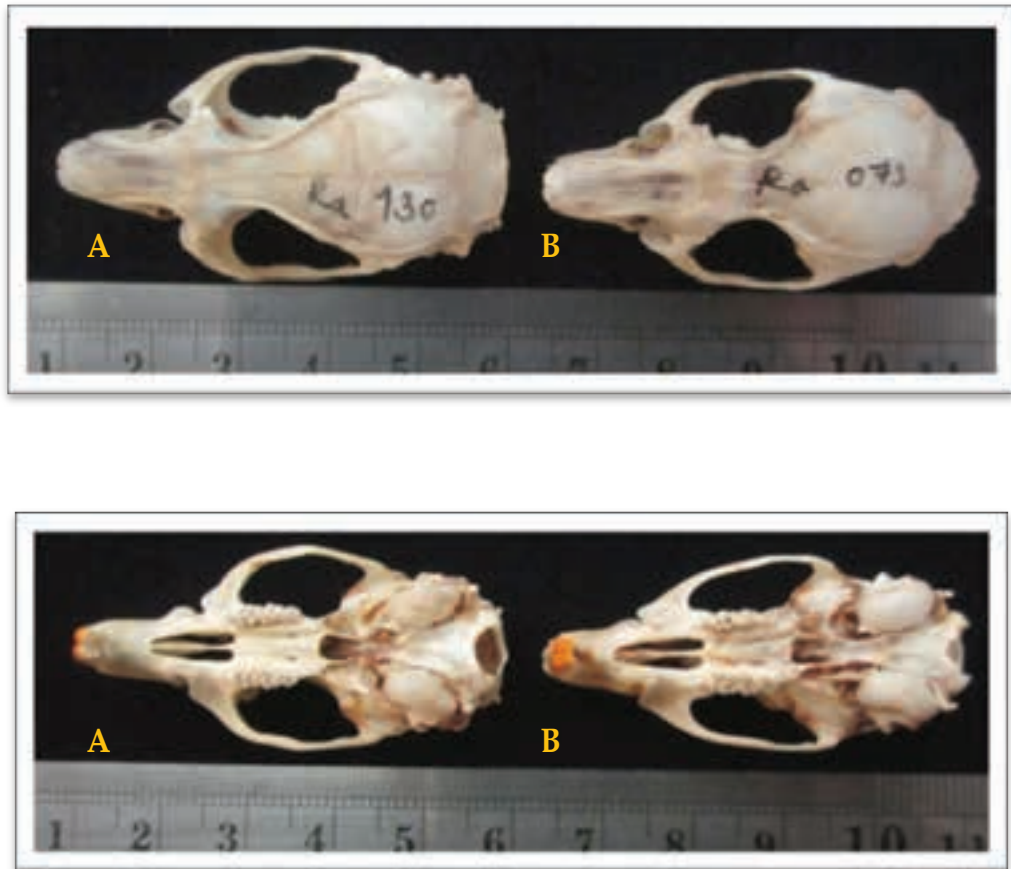


black band on upper hind foot



scaled - tail

**Figure 4** The external appearance of the riceeld rat; *rattus argentioenter*



**Figure 5** The craniums/skulls of ricefield rat; *Rattus argentiventer* A. southern B. central

## Detection Survey of Mango Seed Weevil; *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) (Coleoptera: Curculionidae) in Thailand

Udom Unahawutti<sup>1/</sup>

Oratai Euatrakool<sup>2/</sup> Apinya Rujitharanawong<sup>2/</sup> Somyot Chukumnerd<sup>2/</sup> Walaikorn Rattana-  
dechakul<sup>3/</sup> Alongkot Phodee<sup>3/</sup> Sunadda Chaowalit<sup>3/</sup> and Ittipon Bannakan<sup>3/</sup>

---

### Abstract

Detection survey of mango seed weevil; *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) was undertaken throughout major mango production areas in six regions of Thailand. In each region, 1-2 provinces were selected as representatives of the region including provinces of Chiang Mai, Phichit, Nakhon Ratchasima, Ratchaburi, Phetchaburi, Suphan Buri, Chachoengsao and Chon Buri. The survey was targeted on three mango cultivars of Namdokmai, Thongdam and Chok Anan, the main cultivars exported to Malaysia. Malaysian had agreed on the methodology of survey protocol developed by Thailand. Fruit surveys were carried out in mango orchards during April to June, 2009 to coincide with fruiting season. At least 600 fruits in each region were collected for mango seed weevil detection. All random-sampled fruits were longitudinally cut open and dissection of seeds to inspect the existence of mango weevils was undertaken. Specimens found in the infested fruits were collected and sent for identification by taxonomists at Insect Taxonomy Section, Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. Mango weevils collected from different areas were all identified to species. The only species found was *Sternochetus olivieri* (Faust). The result could, therefore, point to the absence of *S. mangiferae* in Thailand.

**Key words:** detection survey, mango seed weevil; *Sternochetus mangiferae* (Fabricius), mango

---

<sup>1/</sup> Expert Office, Department of Agriculture 50 Phaholyothin Road, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

<sup>2/</sup> Agricultural Regulatory Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Road, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

<sup>3/</sup> Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 Phaholyothin Road, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

## Introduction

In the third Consultation Meeting on Cooperation in Plant Quarantine Activities at Thailand and Malaysia Borders held during 13-15 December, 2005 in Chiang Rai, Thailand. Malaysian side informed the meeting that mango seed weevil; *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) was noticed as the quarantine pest of concern and five intercepted weevils on mangoes from Thailand were submitted to Natural History of London for identification. One specimen was identified as *S. mangiferae*. As a result, mangoes from Thailand may have been prohibited from being imported into Malaysia. However, Malaysia has still allowed the importation of mangoes from Thailand under special arrangements until further verification.

In order to solve this issue, the Department of Agriculture dispatched two insect taxonomists to Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, CSIRO), Australia. One hundred specimens of weevils were thoroughly examined by experts of CSIRO. Based on the external and genitalia characters, only two species were identified as *S. olivieri* (Faust) and *S. frigidus* (Fabricius). None of *S. mangiferae* was found. In the fifth Consultation Meeting on Cooperation in Plant Quarantine Activities at Thailand and Malaysia Borders held during 22-24 December, 2008 in Chiang Mai, Thailand. the Malaysian side preliminarily agreed on the finding and yet required further confirmation. The meeting agreed to form a Technical Ad-hoc Working Group comprising of the experts from Thailand and Malaysia to jointly conduct a specific detection survey of mango seed weevils in major mango producing areas in Thailand to confirm the absence of *S. mangiferae* in Thailand. The research objectives were as followed; 1. To conduct specific detection survey for species identification of mango weevils in major mango producing areas in Thailand, and 2. To confirm the non existence of *S. mangiferae* in Thailand.

## Materials and Methods

### Survey areas

Survey on mango seed weevil was carried out throughout major mango production areas in 6 regions of Thailand. In each region, 1-2 provinces were selected as representatives of the region. The eight

surveyed provinces were (1) Chiang Mai (2) Phichit (3) Nakhon Ratchasima (4) Ratchaburi (5) Phetchaburi (6) Suphan Buri (7) Chachoengsao and (8) Chon Buri (Appendix 1).

### Detection survey

The survey was targeted on three

mango cultivars of Namdokmai, Thongdam and Chock Anan, the main cultivars exported to Malaysia. At least two mango orchards in each province were chosen. Fruits were randomly collected by hand or with picking pouch on a short pole (Figure 7). The minimum numbers of sampling mangoes had to be not less than 600 fruits (or ~200 kg/region) in each region. Total number of 4,800 fruits (or ~1,600 kg) or more were then examined.

Sampled fruits collected in mango orchards were either longitudinally cut open and the dissected seeds (Figure 8) were inspected for the weevils right there in the field or sampled fruits were transported to the plant quarantine laboratory in Bangkok for cutting (Figure 9). All mango weevils found in the infested fruits were sent for identification by taxonomists at Insect Taxonomy Section, Entomology and Zoology Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok. In case of the uncertain identification, the specimens would be forwarded to CSRIO, Australia for final confirmation.

#### **Mango weevil identification**

Identification to species level of *Sternonchetus* species has been described by Oberprieler, 2008; Poonchaisri and Chaowalit, 2008. Their morphological descriptions are

determined by 3 elements namely pronotum, elytra and aedeagus. Each of which has a distinct character that can be differentiated. The morphological descriptions are shown in Table 1 and Figure 1-6.

### **Result and Discussion**

#### **Detection survey**

Survey was carried out in each designated GAP mango orchards in 6 regions during April to July 2009 in the same ritual as the fruiting season. The total numbers of fruits collected from all orchards was 5,946. The amount of fruits dissected and mango varieties are presented in Table 2. All random-sampled fruits were longitudinally cut open and dissection of seeds to inspect the existence of mango weevils was undertaken (Figure 8). Mango weevils collected from different mango orchards and regions were all identified to species and all of 75 weevils were found to be *S. olivieri* (Faust). Lower numbers of mango seed weevil infestation in orchards are caused by the application of Good Agricultural Practice (GAP) resulting in pest reduction. Fruit bagging is using for mango at early fruiting stage for prevention of insect infestation. It was important to note that during the time of inspection and cutting fruits, the alive larval stages of mango pulp weevil were found and reared (Figure 10,11). However, rearing in fresh mango was not successful and the larvae were all dead.

Woodruff and Fasulo (2009) reported that *S. mangiferae* had not been observed developing in any host except mango, *Mangifera indica* L.. In the laboratory, oviposition was made on potatoes, peach, litchi, plum, string beans, and several varieties of apple, yet, none of the larvae were able to reach maturity.

In order to verify and confirm absence of *S. mangiferae* in Thailand, a large numbers of mangoes were surveyed and collected from various mango products, e.g. pickled mangoes, canned mango pulps from fruit industries, mangoes for domestic consumption from local markets, road sides, and backyard mangoes where pest management was not implemented at the same manner of GAP mango farm. This was aimed to get lots of weevil and identified their species. The number of seeds dissected was 2,484 and 61 were found to be infested by *S. olivieri*.

### Conclusion

The data collected from the survey and presented above can then verify the existence of just *S. olivieri* but the absence of *S. mangiferae* in Thailand.

### Acknowledgements

This research was supported by the Department of Agriculture, Thailand.

### References

- Poonchaisri, S. and S. Chaowalit. 2008. Identification of Weevils in Genus *Sternochetus*. Report of the Meeting: The Fifth Consultation Meeting on Cooperation in Plant Quarantine Activities at the Thailand and Malaysia Borders on 22 – 24 December 2008 at Chiang Mai Orchid Hotel, Chiang Mai Province, Thailand. 6 p.
- Oberprieler, R. and N.Banks. 2008. Key to species of mango weevils (*Sternochetus*). CSIRO Entomology. (unpublished)
- Woodruff, R. and T. Fasulo. 2009. Mango Seed Weevil, *Sternochetus mangiferae* (Fabricius) (Insecta: Coleoptera: Curculionidae) Entomology and Nematology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 5 p.

**Table 1** Morphological identification of mango weevil, *Sternochetus* spp. (Oberprieler, 2008; Poonchaisri and Chaowalit, 2008)

Scientific name	Pronotum	Elytra	Aedeagus
<i>Sternochetus olivieri</i> (Faust)	medially with a conspicuous carina (keel) in basal 2/3 of length, anked on either side by a line of white scales and anterior end (in middle of pronotum) by tuft of dense, erect black scales.	large, whitish macula (patch) stretching from just behind humeri (shoulders) to top of declivity, inscribing a black, inverted medial triangle before middle of length and sometimes posteriorly interrupted by a fainter, dark, transverse band above declivity	with sides nearly parallel, apically broadly rounded and no internal sclerites
<i>Sternochetus mangiferae</i> (Fabricius)	with sides nearly parallel from base to beyond middle, interstriae at to faintly but evenly costate (ridge), striae punctures rectangular to square, whitish macula forming a more or less distinct V and transverse posterior band	with erect black scales scattered over basal part of pronotal disk	with pair of internal sclerites separate, not touching apically
<i>Sternochetus frigidus</i> (Fabricius)	narrowing from base to apex, odd interstriae except sutural one distinctly costate-tuberculate, striae punctures round, whitish macula fragmented but usually forming a vague anterior inverted triangle inscribing a similar, smaller black median triangle and a broken posterior band on declivity	with erect black scales arranged in medial pair of loose cluster	with pair of internal sclerites overlapping apically

Table 2 Number of fruit dissected, mango variety and mango weevil detect

Regional	Province	Mango variety	No. of fruit dissected	Weight (kg)	No. of mango weevil		
					Larva	Pupa	Adult
1	Phrao, Chiang Mai	Namdokmai	373	97	0	0	9
	Chiang Dao, Chiang Mai.	Chok Anan	860	215	1	2	11
2	Sawankhalok, Sukhothai	Chok Anan	461	124	0	0	6
	Noen Maprang, Phitsanulok	Namdokmai	113	42	0	0	0
	Sak Lek, Phichit	Thongdam	383	119	0	0	3
3	Mueang Nong Khai, Nong Khai	Chok Anan	232	80	0	0	6
	Kut Chap, Udon Thani	Chok Anan	268	65	0	0	2
	Waritchaphum, Sakon Nakhon	Namdokmai	296	74	0	0	3
4	Pak Chong, Nakhon Ratchasima	Namdokmai	687	250	0	2	5
5	Nong Ya Plong, Phetchaburi	Chok Anan	327	109	2	1	7
	Doem Bang Nang Buat, Suphan Buri	Namdokmai	227	72	0	0	1
6	Si Mahosot, Prachin Buri	Namdokmai	486	107	0	0	5
	Ko Chan, Chon Buri	Chok Anan	789	195	0	0	9
	Phanat Nikhom, Chon Buri	Namdokmai	120	50	0	0	8
	Phanom Sarakham, Chachoengsao	Namdokmai	324	112	0	0	0
<b>Total</b>			<b>5,946</b>	<b>1,711</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>75</b>




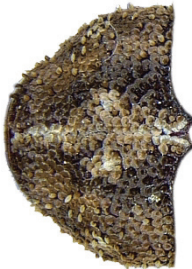





Scientific name	Common name	Body length (mm)	Pronotum	Elytra	Aedeagus	Remark
<i>Sternochetus olivieri</i> (Faust)	mango seed weevil	6-8				damage seed
<i>Sternochetus mangiferae</i> (Fabricius)	mango seed weevil	8-10				damage seed
<i>Sternochetus frigidus</i> (Fabricius)	mango pulp weevil	3.8-5.9				damage pulp

Figure 1 Different feather of *Sternochetus* spp. (Poonchaisri and Chaowalit, 2008)

## Pronotum

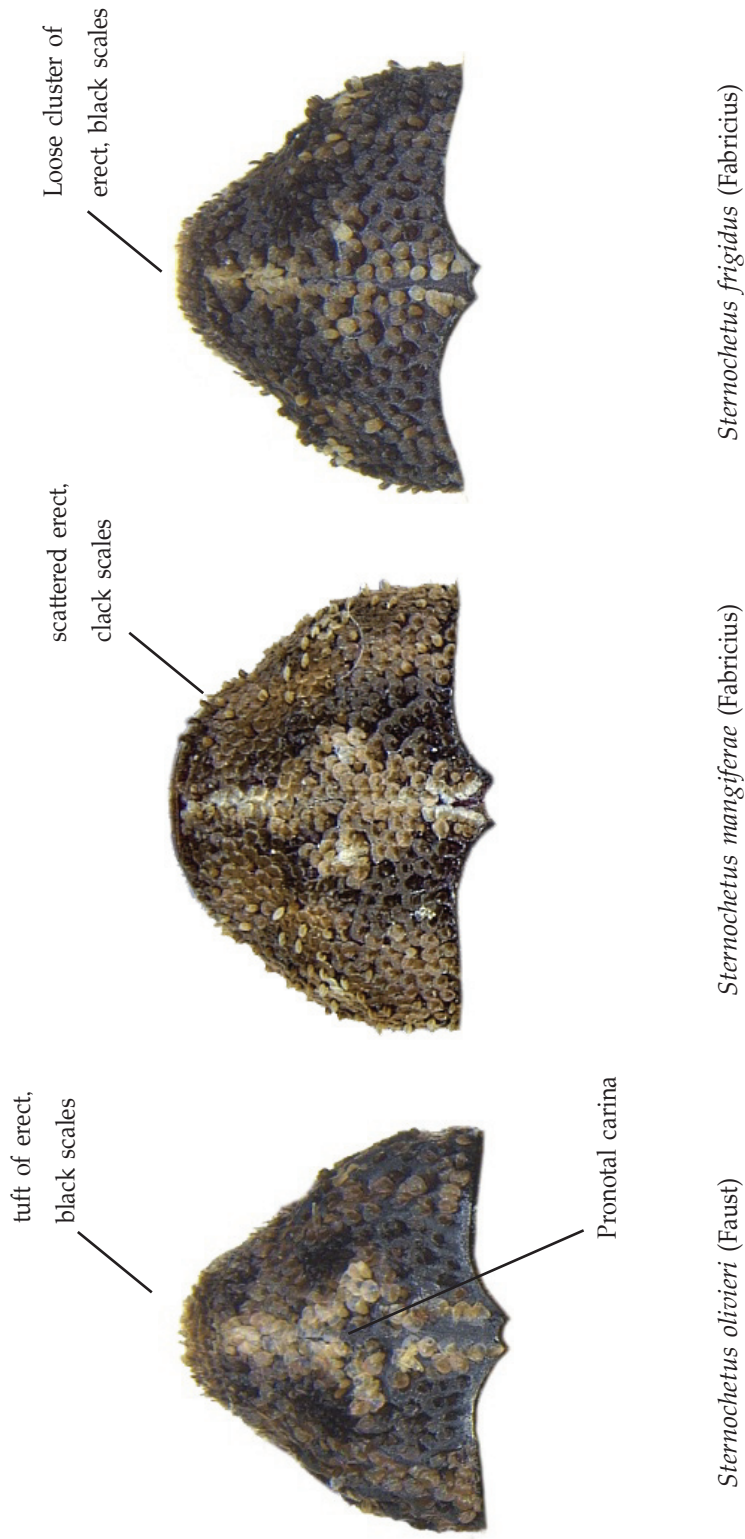


Figure 2 Pronotal morphology of *Sternochetus* spp. (Poonchaisri and Chaowalit, 2008)

Elytra

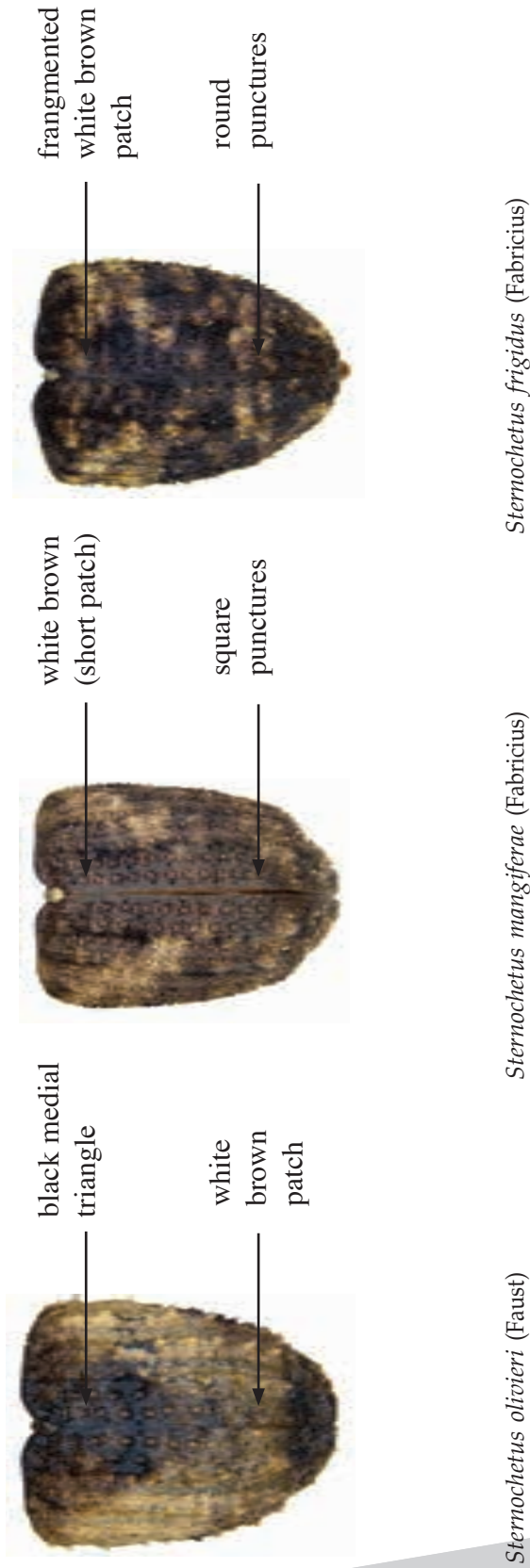


Figure 3 Elytral morphology of *Sternochetus* spp. (Poonchaisri and Chaowalit, 2008)

Sex

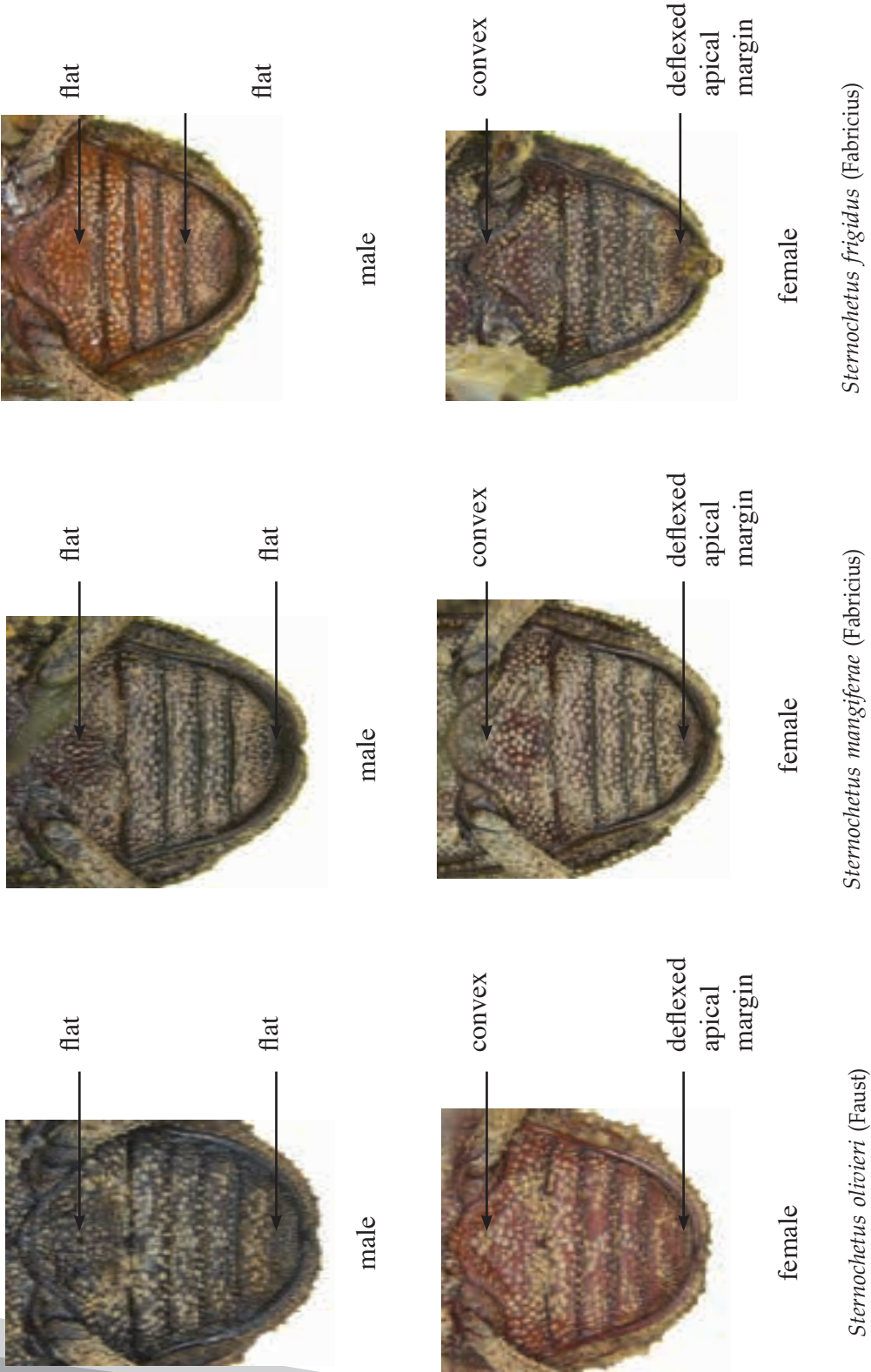


Figure 4 Abdominal morphology of *Sternochetus* spp. (Poonchaisri and Chaowalit, 2008)

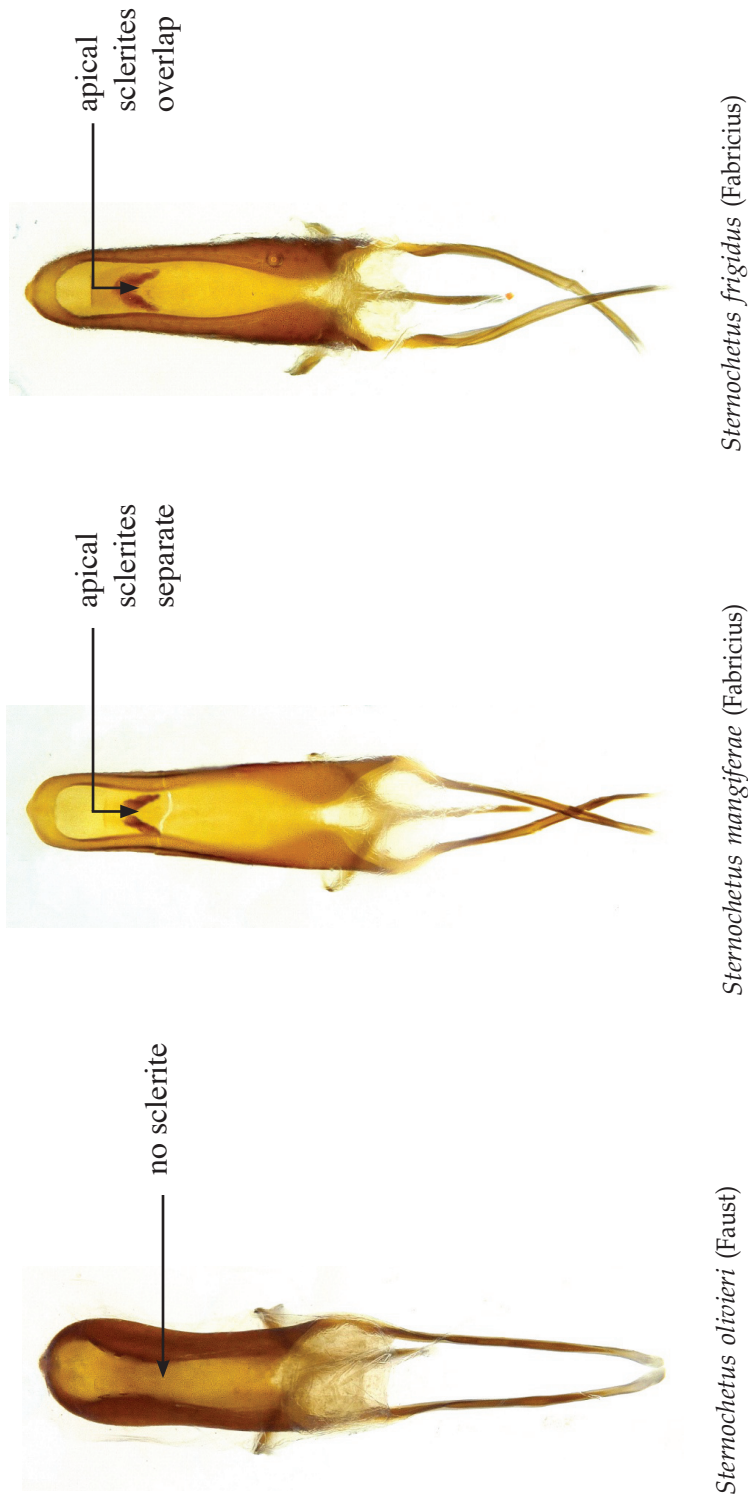


Figure 5 Aedeagus morphology of *Sternochetus* spp. (Poonchaisri and Chaowalit, 2008)



Figure 6 morphology of *Sternochetus* spp. (Oberprieler, 2008)



Figure 7 Random collect mangoes by hand or with picking pouch on a short pole.



Figure 8 Sample fruits were cut opened and dissected seed for the presence of mango weevils



Figure 9 Mangoes were collected and transported to plant quarantine laboratory in Bangkok.

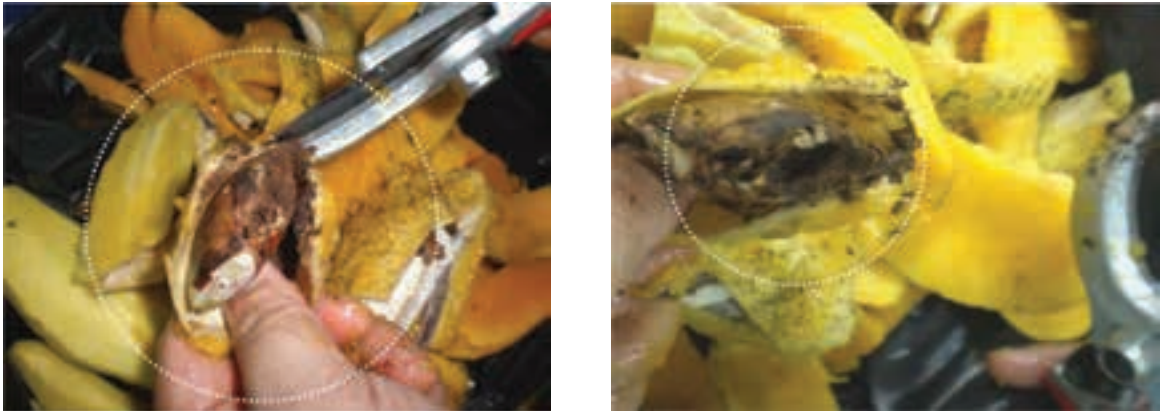


Figure 10 Mango seed weevils found inside seed.

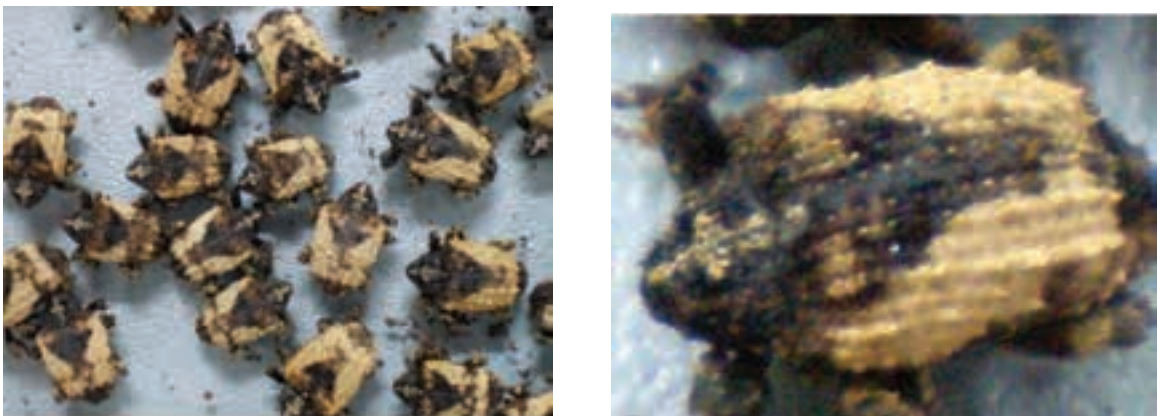
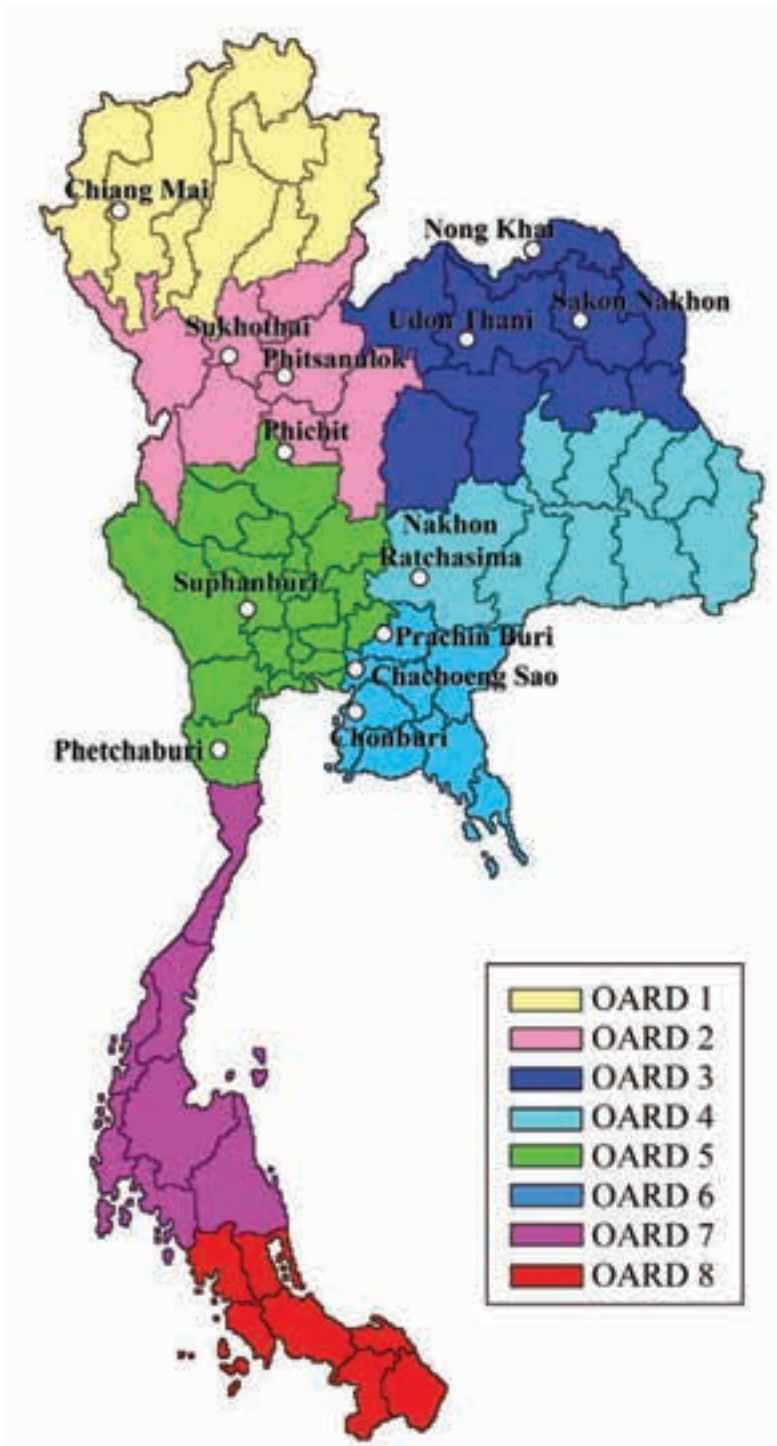


Figure 11 *Sternochetus oliveieri* adults



Map of survey mango orchard: OARD, Office of Agricultural Research and Development Region

ประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย;  
*Aonidiella aurantii* (Maskell) ในส้มเขียวหวาน  
 Efficacy of Insecticides for Controlling California Red Scale;  
*Aonidiella aurantii* (Maskell) on Tangerine

ศรีจันทรจี้ ศรีจันตรา<sup>1/</sup> บุษบง มนัสมันคง<sup>1/</sup> วิภาดา ปลอดนครบุรี<sup>1/</sup>  
 อีราทัย บุญญะประภา<sup>1/</sup> และ ศรุต สุทธิอารมณ<sup>1/</sup>  
 Srijumnun Srijuntra<sup>1/</sup> Busabong Manusmunkong<sup>1/</sup> Wipada Plodkornburee<sup>1/</sup>  
 Teerathai Bunyaprapa<sup>1/</sup> and Sarute Sudhi-Aromna<sup>1/</sup>

---

**Abstract**

Efficacy of insecticides for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine was conducted at the farmer's tangerine orchards in Thanyaburi and Nong suea Districts, Pathum Thani Province during August-November, 2013. The experiment was designed in RCB with 7 treatments and 4 replications. The treatments were the applications of sulfoxaflor 50% W/V WG at 10 g/20 l water, dinotefuran 10% W/V SL at 20 ml/20 l water, white oil 67% W/V EC at 60 ml/20 l water, petroleum spray oil 83.9% W/V EC at 60 ml/20 l water, chlorpyrifos 40% W/V EC at 50 ml/ 20 l water, malathion 57% EC at 60 ml/20 l water and the untreated. The results indicated that sulfoxaflor at 10 g/ 20 l water was the most effective for 88-95% control of California red scale at the high cost of 7.29 Bath/tree/time. The applications of white oil 67% W/V EC at 60 ml/20 l water, petroleum spray oil 83.9% W/V EC at 60 ml/20 l water, dinotefuran 10% W/V SL at 20 ml/20 l water and chlorpyrifos 40% W/V EC at 50 ml/ 20 l water were moderately effective for 60-86% California red scale control at the costs of 1.50, 1.13, 4.63 and 2.50 bath/tree/time, respectively. The insecticides were to be sprayed at least twice every week.

**Key words:** California red scale, *Aonidiella aurantii* (Maskell), insecticides, tangerine

---

<sup>1/</sup> กลุ่มบริหารศัตรูพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>1/</sup> Plant Pest Management Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900

### บทคัดย่อ

ทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย;

*Aonidiella aurantii* (Maskell) ในส้มเขียวหวาน ดำเนินการในแปลงส้มเขียวหวานของเกษตรกรอำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี เดือน สิงหาคม 2556 และที่อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี เดือนพฤศจิกายน 2556 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร dinotefuran 10% W/V SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร white oil 67% W/V EC อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร petroleum spray oil 83.9% W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร chlorpyrifos 40% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่พ่นสาร malathion 57% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และกรรมวิธีไม่พ่นสาร พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย ได้แก่ sulfoxaflor 50% W/V WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 88-95 % มีต้นทุนการพ่นสารที่สูงที่สุด 7.29 บาท/ต้น/ครั้ง รองลงมา คือ white oil 67% W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร petroleum spray oil 83.9%W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร dinotefuran 10% W/V SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร และ chlorpyrifos 40% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสารที่ 1.50, 1.13, 4.63 และ 2.50 บาท/ต้น/ครั้ง ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 60-86 เปอร์เซ็นต์ โดยต้องพ่นสารฆ่าแมลงทุก 7 วันอย่างน้อย 2 ครั้งติดต่อกัน

**คำหลัก :** เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย ; *Aonidiella aurantii* (Maskell) สารฆ่าแมลง ส้มเขียวหวาน

### คำนำ

เพลี้ยหอยเป็นแมลงศัตรูขนาดเล็กซึ่งมีรูปร่างแตกต่างจากแมลงชนิดอื่นๆ โดยจะมีอวัยวะภายนอกแข็งห่อหุ้มลำตัวซึ่งอ่อนนุ่มอยู่ภายใน ทำให้ยากแก่การป้องกันกำจัด นอกจากนี้แมลงชนิดนี้เริ่มทวีความสำคัญมากขึ้น เนื่องจากสามารถติดไปกับผลผลิตพืชที่ส่งออกขายไปยังต่างประเทศ เพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย; *Aonidiella aurantii* (Maskell) เป็นแมลงศัตรูสำคัญของส้มในต่างประเทศ ซึ่งพบระบาดมากในประเทศสหรัฐอเมริกา แคนาดา ออสเตรเลีย กรีซ อิสราเอล อาเจนตินา และชิลี เป็นต้น ในประเทศไทยช่วง 3-4 ปีที่ผ่านมา มีแนวโน้มพบการระบาด

มากขึ้นโดยเฉพาะตามแหล่งปลูกส้มทางภาคเหนือ ซึ่งเป็นแหล่งปลูกสำคัญของประเทศ เพลี้ยหอยชนิดนี้พบเกาะอยู่บริเวณผลและใบ ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงทำให้คลอโรฟิลล์ถูกทำลายกลายเป็นสีเหลืองซีด ซึ่งพบได้ในบริเวณที่เพลี้ยหอย เกาะอยู่ ทำให้ผลอ่อนหยุดชะงักการเจริญเติบโต แคระแกรน ถ้าพบในปริมาณมากอาจทำให้ผลและใบร่วงได้ การแพร่ระบาดของเพลี้ยหอยชนิดนี้ เนื่องจากจัดอยู่ในพวก armored หรือพวก hard scales จะไม่ขั้บสารที่คล้ายน้ำหวานที่เป็นตัวล่อมัดให้เป็นตัวนำเพื่อแพร่กระจายไปที่อื่น แต่ตัวอ่อนจะอาศัยลมและมนุษย์ในการแพร่ระบาด หรือติด

ไปกับชิ้นส่วนของพืชโดยเฉพาะผลที่มีส่วนของเปลือกหอยเข้าทำลาย ถ้าไม่กำจัดจะเป็นแหล่งสะสมและเป็นตัวกลางการแพร่ระบาดต่อไปในการป้องกันกำจัด ชลิดาและคณะ (2542) แนะนำให้ตัดส่วนของพืชที่มีเปลือกหอยลงทำลาย นำไปเผาไฟ หรือใช้สารฆ่าแมลง malathion 83% EC อัตรา 40 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ผสมสารจับใบพ่นบริเวณที่พบเปลือกหอยทำลาย

การใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชจึงเป็นวิธีการหนึ่งในหลายๆ วิธีการที่สามารถป้องกันความเสียหายของผลผลิตที่อาจเกิดจากศัตรูพืชได้ แม้ว่าจะไม่ใช่วิธีการที่ดีที่สุด แต่หากเกษตรกรใช้ด้วยความระมัดระวังและบนพื้นฐานความรู้ที่ถูกต้อง จะเป็นการป้องกันกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพวิธีการหนึ่ง และปัจจุบันมีสารฆ่าแมลงกลุ่มใหม่และสารน้ำมันที่ค่อนข้างมีความปลอดภัยต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและยังสามารถใช้ในการป้องกันกำจัดเปลือกหอยได้ การทดสอบประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดเปลือกหอยสีแดงแคลิฟอร์เนียในส้มเปลือกกลอนจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้สารป้องกันกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพดีอย่างน้อย 1 ชนิด ในการป้องกันกำจัดเปลือกหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย เพื่อเป็นทางเลือกให้เกษตรกร และผู้เกี่ยวข้อง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูส้มแบบผสมผสาน ทำให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพและปริมาณตามที่ตลาดต้องการ

### อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการในแปลงส้มเขียวหวานอายุ

2-3 ปี ของเกษตรกร ที่อำเภอธัญบุรี และอำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ระหว่างเดือนสิงหาคม-พฤศจิกายน 2556 วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 1 ต้น 7 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร sulfoxaflor 50%W/V WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4 Neonicotinoids)

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร dinotefuran 10% W/V SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 4 Neonicotinoids)

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร white oil 67% W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม -)

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร petroleum spray oil 83.9%W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม -)

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร chlorpyrifos 40% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 1 Organophosphates)

กรรมวิธีที่ 6 พ่นสาร malathion 57%EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร (กลุ่ม 1 Organophosphates)

กรรมวิธีที่ 7 ไม่พ่นสาร พ่นสารด้วยเครื่องยนต์พ่นสารแบบสะพายหลังแรงดันน้ำสูงที่ต้นส้ม ตามกรรมวิธีต่างๆเมื่อพบการระบาดของเปลือกหอย โดยใช้ช่วงพ่น 7 วันครั้ง ติดต่อกันอย่างน้อย 2 ครั้ง ทำการสุ่มสำรวจผลส้มที่ถูกเปลือกหอยทำลาย ทำเครื่องหมายไว้ต้นละ 10 ผล ตรวจสอบจำนวนเปลือกหอยทั้งที่มีชีวิตในช่วงก่อนพ่นสารและหลังพ่นสาร 3, 5 และ 7 วัน ทุกครั้ง บันทึกผลกระทบต่อพืช ศัตรูธรรมชาติ

ปริมาณน้ำที่ใช้พ่นต่อต้น นำข้อมูลจำนวนเพลี้ยหอยที่ตรวจพบมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ และคำนวณหาต้นทุนการพ่นสาร

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### แปลงที่ 1 อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี (Table 1 และ Table 2)

ก่อนพ่นสาร พบว่าทุกกรรมวิธีมีจำนวนเพลี้ยหอย 12.50-21.60 ตัว/ผล ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่าทุกกรรมวิธี พบเพลี้ยหอย 8.34-15.89 ตัว/ผล ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด (efficacy percentage) เพียง 26-50%

หลังพ่นสาร ครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 1.93 ตัว/ผล ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG dinotefuran 10% W/V SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร white oil 67% W/V EC และ malathion 57% EC ซึ่งพบเพลี้ยหอย 3.24, 2.58, 3.49 และ 3.25 ตัว/ผล ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยหอย 11.49 ตัว/ผล เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด พบว่าสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุดที่ 83.65 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร sulfoxaflor 50% W/V WG dinotefuran 10% W/V SL white oil 67% W/V EC และ malathion 57% EC มีประสิทธิภาพในการ

ป้องกันกำจัด 64-78 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นสาร white oil 67% W/V EC พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 1.85 ตัว/ผล ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG และ dinotefuran 10% W/V SL ซึ่งพบเพลี้ยหอย 2.63 และ 2.72 ตัว/ผล ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยหอย 8.28 ตัว/ผล เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด white oil 67% W/V EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุดที่ 80.88 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสาร sulfoxaflor 50% W/V WG และ dinotefuran 10% W/V SL มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 71.42 และ 68.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 และ 5 วัน พบว่า กรรมวิธีที่พ่นสาร พบเพลี้ยหอย 1.36-2.17 และ 1.01-1.87 ตัว/ผล ตามลำดับ น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยหอย 6.15 และ 7.69 ตัว/ผล ตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด พบว่า ในช่วง 3 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG, dinotefuran 10% W/V SL, white oil 67% W/V EC, petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ chlorpyrifos 40% W/V EC มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 71-80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร malathion 57% EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดน้อยสุด 55 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่า

ทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร พบเพลี้ยหอย 0.14-1.23 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยหอย 3.24 ตัว/ผล โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ chlorpyrifos 40% W/V EC มีจำนวนเพลี้ยหอย 0.35, 0.33 และ 0.14 ตัว/ผล ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร dinotefuran 10% W/V SL อัตรา และ white oil 67% W/V EC ซึ่งพบเพลี้ยหอย 0.63 และ 0.49 ตัว/ผล ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร malathion 57% EC และกรรมวิธีไม่พ่นสาร ซึ่งพบเพลี้ยหอย 1.23 และ 3.24 ตัว/ผล ตามลำดับ เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด พบว่า ในช่วง 3 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG dinotefuran 10% W/V SL white oil 67% W/V EC petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ chlorpyrifos 40% W/V EC มีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 81-97 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร malathion 57% EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดน้อยสุดเพียง 51 เปอร์เซ็นต์

#### **แปลงที่ 2 อ.หนองเสือ จ.ปทุมธานี (Table 3 และ Table 4)**

ก่อนพ่นสาร พบว่า ทุกกรรมวิธีมีจำนวนเพลี้ยหอย 14.76-24.25 ตัว/ผล ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 3 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสาร พบเพลี้ยหอย 11.32-12.90 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอย 19.62 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดต่ำเพียง 11-41 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุด 41.47 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 5 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเพลี้ยหอยลดลงหลังการพ่นแล้ว 3 วันเล็กน้อย 8.81-11.47 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอยเพิ่มขึ้น 21.23 ตัว/ผล และทุกกรรมวิธีที่มีการพ่นสารมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย 32-60 เปอร์เซ็นต์ โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุด 59.88 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 1 แล้ว 7 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเพลี้ยหอยลดลงอย่างต่อเนื่องเหลือเพียง 5.68 - 9.11 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอย 19.80 ตัว/ผล โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 5.68 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุด 73.32 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือกรรมวิธีที่พ่นสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ dinotefuran 10% W/V SL พบเพลี้ยหอย 6.28 และ 8.25 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพการป้องกันกำจัด 63.97 และ 36.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 3 วัน พบว่า ทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเพลี้ยหอยลดลงอย่างต่อเนื่อง

เนืองเหลือเพียง 2.30-4.90 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอยเพิ่มขึ้น 22.10 ตัว/ผล โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร dinotefuran 10% W/V SL และ sulfoxaflor 50% W/V WG พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 2.30 และ 2.38 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 84.10 และ 89.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ chlorpyrifos 40% W/V EC มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดรองลงมา 82.37 และ 82.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร malathion 57% EC และ white oil 67% W/V EC ซึ่งพบเพลี้ยหอย 4.63 และ 4.90 ตัว/ผล ตามลำดับ มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 75-76 เปอร์เซ็นต์

หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 5 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเพลี้ยหอยลดลงอย่างต่อเนื่องเหลือ 0.69-2.24 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอย 12.10 ตัว/ผล โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 0.69 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุดที่สุด 95 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร dinotefuran 10% W/V SL พบเพลี้ยหอย 1.09 ตัว/ผล ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดรองลงมา 86 เปอร์เซ็นต์ แต่น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC white oil 67% W/V EC chlorpyrifos 40% W/V EC และ malathion 57% EC ซึ่งพบ

เพลี้ยหอย 1.73, 2.10, 2.19 และ 2.24 ตัว/ผล ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 84, 80, 76 และ 79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังพ่นสารครั้งที่ 2 แล้ว 7 วัน พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารพบเพลี้ยหอยเพิ่มขึ้นเล็กน้อย 1.27-3.57 ตัว/ผล น้อยกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารซึ่งมีเพลี้ยหอย 9.84 ตัว/ผล โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG พบเพลี้ยหอยน้อยที่สุด 1.27 ตัว/ผล และมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 88 เปอร์เซ็นต์ ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร petroleum spray oil 83.9% W/V EC และ dinotefuran 10% W/V SL พบเพลี้ยหอย 1.86 และ 2.04 ตัว/ผล ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดรองลงมา 79 และ 68 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่น้อยกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่พ่นสาร chlorpyrifos 40% W/V EC, malathion 57% EC และ white oil 67% W/V EC ซึ่งพบเพลี้ยหอย 2.62, 3.04 และ 3.57 ตัว/ผล ตามลำดับ โดยมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดต่ำเพียง 58-64 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดทั้ง 2 การทดลอง พบว่าทุกกรรมวิธีที่พ่นสารทดสอบให้ผลในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนียหลังการพ่นสารครั้งที่ 2 โดยกรรมวิธีที่พ่นสาร sulfoxaflor 50% W/V WG มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดดีที่สุดที่สุด 80-95 เปอร์เซ็นต์ และดีกว่าสาร dinotefuran 10% W/V SL เล็กน้อย ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 70-86 เปอร์เซ็นต์ โดยสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดอยู่ในกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เดียวกัน (กลุ่ม 4) ซึ่งสาร

ฆ่าแมลงในกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงปากดูดได้ดี สอดคล้องกับ Sparks *et al.* (2013) รายงานว่าสาร sulfoxaflor (4C) เป็นสารฆ่าแมลงตัวใหม่พัฒนาใหม่ออกฤทธิ์ที่จับกับ nicotinic receptors (nAChRs) เช่นเดียวกับสารฆ่าแมลงในกลุ่ม neonicotinoid (4A) ได้แก่ imidacloprid dinotefuran thiametoxam clothianidin แต่มีประสิทธิภาพดีกับแมลงปากดูดได้มากกว่ารวมทั้งแมลงที่ต้านทานต่อสารฆ่าแมลงในกลุ่ม neonicotinoid spinosyn nereistoxin analogs กลุ่มสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพรองลงมาคือสารในกลุ่มน้ำมันมี ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดได้ 70-90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งพบว่า petroleum spray oil 83.9% W/V EC ให้ผลในการป้องกันกำจัดดีกว่า white oil 67% W/V EC เล็กน้อย และสาร chlorpyrifos 40% W/V EC (กลุ่ม 1B Organo-phosphate) มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 70-97 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าสารฆ่าแมลงที่กรมวิชาการเกษตรแนะนำ คือ malathion 57% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมี ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพียง 50-70 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น

#### ต้นทุนการใช้สารฆ่าแมลง (Table 5)

เมื่อพิจารณาต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลง โดยคำนวณจากอัตราพ่น 2.5 ลิตรต่อต้น (ขนาดทรงพุ่มเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 เมตร) พบว่า สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดมี ต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลงสูงมาก กล่าวคือ สาร sulfoxaflor 50% W/V WG อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร มีต้นทุนการพ่นสาร 7.29 บาทต่อต้น เช่นเดียวกับสารในกลุ่มกลไก

การออกฤทธิ์เดียวกัน dinotefuran 10% W/V SL SL อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร มี ต้นทุนการพ่นสาร 4.63 บาทต่อต้น ในขณะที่ กลุ่มสารน้ำมันทั้งสองชนิดซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดปานกลาง-สูง มีต้นทุนการพ่น สารต่ำเพียง 1.13-1.50 บาทต่อต้น เมื่อเปรียบ เทียบกับสารฆ่าแมลงที่กรมวิชาการเกษตร แนะนำคือ malathion 57% EC อัตรา 60 มิลลิลิตรต่อ น้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยไฟค่อนข้างต่ำ โดยมี ต้นทุนต่ำ 2.5 บาทต่อต้น

#### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

สารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการ ป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคลิฟอร์เนีย; *A. aurantii* ในส้มเขียวหวาน ได้แก่ สารฆ่าแมลงในกลุ่ม Neonicotinoids 2 ชนิด คือ sulfoxaflor 50% W/V WG อัตรา 10 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ dinotefuran 10% W/V SL อัตรา 20 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สารน้ำมัน 2 ชนิด คือ white oil 67% W/V EC อัตรา 60 กรัม/น้ำ 20 ลิตร และ petroleum spray oil 83.9% W/V EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร สารฆ่าแมลงในกลุ่ม Organophosphates 1 ชนิด คือ chlorpyrifos 40% W/V EC อัตรา 50 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร โดยพ่นสารทุก 7 วัน อย่างน้อย 2 ครั้งติดต่อกัน ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด 70-96 เปอร์เซ็นต์ และมี ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยดีกว่า สารฆ่าแมลง malathion 57% EC อัตรา 60 มิลลิลิตร/น้ำ 20 ลิตร ที่กรมวิชาการเกษตร แนะนำ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด

## 50-70 เปอร์เซนต์

อนึ่งสารฆ่าแมลงที่แนะนำเพิ่มเติมในการป้องกันกำจัดเพลี้ยหอยสีแดงแคสฟออร์เนีย ได้แก่ sulfoxaflor และ dinotefuran จัดอยู่ในกลุ่มสารฆ่าแมลงที่มีความเป็น พิษน้อย-พิษปานกลาง (Class II-III) แต่มีต้นทุนการพ่นสารฆ่าแมลงค่อนข้างสูง ส่วนสารน้ำมันทั้งสองชนิดนั้นไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีต้นทุนการพ่นสารต่ำ จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการใช้สารใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ปลอดภัยกับเกษตรกร ผู้บริโภค รวมทั้งสิ่งแวดล้อมด้วย โดยแนะนำให้พ่นสารสลับกลุ่มกลไกการออกฤทธิ์เพื่อการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพ และชะลอการสร้างความต้านทานต่อสารฆ่าแมลง

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ คุณณิชาพร ฉ่ำประวิง คุณกัญญาภัค ตาแก้ว นักวิชาการเกษตร และคุณสุนทร ปานแดง คนงานทดลองการเกษตร ที่ช่วยดำเนินการทดลองรวบรวมข้อมูลเบื้องต้น จึงทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

- ชลิตา อุณหวุฒิ, เสาวนิตย์ ไหมมาลา และอรุณี วงษ์กอบรัชฎ์. 2542. แมลงศัตรูส้มโอ. หน้า 79-89. ใน: แมลงศัตรูไม้ผล. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูไม้ผล สมุนไพร และเครื่องเทศ กองกสิกรรมและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- Sparks T. C., G.B. Watson, M.R. Loso, C. Geng, J.M. Babcock and J.D.Thomas. 2013. ulfoxaflor and thesulfoxamine insecticides : Chemistry, mode of action and basis for efficacy on resistant insects. Pesticide Biochemistry and Physiology (107). 1-7.

**Table 1** Efficacy of insecticides for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine at Thanyaburi Pathum Thani, August 2013

Treatments	Rate of application (ml./ 20 l of water)	Before app.	No. of California red scale/fruit						
			After app.1 <sup>st</sup> (days)			After app.2 <sup>nd</sup> (days)			
			3	5	7	3	5	7	
sulfoxaor 50% W/V WG	10	17.87	9.60	3.24 ab <sup>1/</sup>	2.63 ab	1.36 a	1.23 a	0.35 a	
dinotefuran 10% W/V SL	20	16.68	10.30	2.58 ab	2.72 ab	1.83 a	1.47 a	0.63 ab	
white oil 67% W/V EC	60	18.79	9.22	3.49 ab	1.85 a	2.00 a	1.01 a	0.49 ab	
petroleum spray oil 83.9% W/V EC	60	16.52	11.97	1.93 a	3.78 abc	1.80 a	1.12 a	0.33 a	
chlorpyrifos 40% W/V EC	50	21.60	12.17	5.26 bc	5.86 bc	1.77 a	1.44 a	0.14 a	
malathion 57% EC	60	12.50	8.34	3.25 ab	3.05 ab	2.17 a	1.87 a	1.23 b	
Untreated	-	16.08	15.89	11.49 c	8.28 c	6.15 b	7.69 b	3.24 c	
CV (%)		41.1	50.5	66.5	61.9	45.1	67.3	99.6	
R.E.(%)		-	-	-	-	126.5	81.2	123.8	

<sup>1/</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

**Table 2** Efficacy percentage of insecticides for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine at Thanyaburi, Pathum Thani, August 2013

Treatments	Rate of application (ml./ 20 l of water)	Efcacy percentage						
		After 1 <sup>st</sup> app. (days)			After 2 <sup>nd</sup> app. (days)			
		3	5	7	3	5	7	7
sulfoxaor 50% W/V WG	10	45.64	74.63	71.42	80.10	85.61	90.28	
dinotefuran 10% W/V SL	20	37.51	78.35	68.33	71.31	81.57	81.25	
white oil 67% W/V EC	60	50.34	74.01	80.88	72.17	88.76	87.06	
petroleum spray oil 83.9% W/V EC	60	26.68	83.65	55.56	71.51	85.82	90.09	
chlorpyrifos 40% W/V EC	50	42.98	65.92	47.31	78.57	86.06	96.78	
malathion 57% EC	60	32.48	63.61	52.61	54.61	68.72	51.16	

**Table 3** Efficacy of insecticides for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine at Nong suea, Pathum Thani, November 2013

Treatments	Rate of application (ml./ 20 l of water)	No. of California red scale/fruit						
		Before app.			After 1 <sup>st</sup> app. (days)			
		3	5	7	3	5	7	After 2 <sup>nd</sup> app. (days)
sulfoxaor 50% W/V WG	10	24.25	12.35 a	9.16 a	5.68 a	2.38 a	0.69 a	1.27 a
dinotefuran 10% W/V SL	20	14.76	11.32 a	9.43 a	8.25 ab	2.30 a	1.09 ab	2.04 abc
white oil 67% W/V EC	60	19.65	12.28 a	11.47 a	9.11 b	4.90 b	2.10 c	3.57 c
petroleum spray oil 83.9% W/V EC	60	19.85	11.79 a	8.81 a	6.28 ab	3.43 ab	1.73 bc	1.86 ab
chlorpyrifos 40% W/V EC	50	16.73	12.90 a	10.49 a	8.60 b	2.83 ab	2.19 c	2.62 bc
malathion 57% EC	60	19.43	12.02 a	10.76 a	7.81 ab	4.63 b	2.24 c	3.04 bc
Untreated	-	22.55	19.62 b	21.23 b	19.80 c	22.10 c	12.10 d	9.84 d
CV (%)		33.1	27.0	29.1	48.1	51.2	62.7	52.1
R.E.(%)		-	147.2	119.6	247.6	86.0	103.8	107.1

**Table 4** Efficacy percentage of insecticides for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine at Nong suea, Pathum Thani, November 2013

Treatments	Rate of application (ml./ 20 l of water)	Efficacy percentage						
		After app.1 <sup>st</sup> (days)			After app.2 <sup>nd</sup> (days)			
		3	5	7	3	5	7	7
sulfoxaor 50% W/V WG	10	41.47	59.88	73.32	89.99	94.70	88.00	
dinotefuran 10% W/V SL	20	11.85	32.14	36.34	84.10	86.24	68.33	
white oil 67% W/V EC	60	28.17	38.00	47.20	74.56	80.08	58.37	
petroleum spray oil 83.9% W/V EC	60	31.73	52.86	63.97	82.37	83.76	78.53	
chlorpyrifos 40% W/V EC	50	11.38	33.40	41.46	82.74	75.60	64.11	
malathion 57% EC	60	28.90	41.18	54.22	75.69	78.51	64.14	

**Table 5** Average cost of insecticides per plant for controlling California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine

Insecticides	package (g/ml)	Cost/unit <sup>1/</sup> (Baht)	Rate of application/ 20(ml)	Cost (Baht/20 litres of water	Cost (Baht/tree) <sup>2/</sup>
sulfoxaor 50% W/V WG	12	70	10	58.33	7.29
dinotefuran 10% W/V SL	1,000	1,850	20	37.00	4.63
white oil 67% W/V EC	1,000	200	60	12.00	1.50
petroleum spray oil 83.9% W/VEC	1,000	150	60	9.00	1.13
chlorpyrifos 40% W/V EC	1,000	400	50	20.00	2.50
malathion 57% EC	1,000	200	60	12.00	1.50

<sup>1/</sup> price in January 2014

<sup>2/</sup> spray volume : 2.5 litres/tree (hight 1.5-2 m/  $\phi$  2-3 m)



California red scale; *Aonidiella aurantii* (Maskell) on tangerine

การจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟฝ้าย; *Thrips palmi* Karny ในประเทศไทย  
โดยเทคนิค real-time PCR

Real-time PCR assay for the Identification of *Thrips palmi* Karny in Thailand

จารุวัฒน์ แท้กุล<sup>1/</sup> อธิพิณ บรรณการ<sup>1/</sup> รุ่งนภา ทองเคิ่ง<sup>2/</sup> และ ณัฐลิมา ไชยิตเจริญกุล<sup>2/</sup>  
Charuwat Taekul<sup>1/</sup> Ittipon Bannakan<sup>1/</sup> Rungnapha Thongkreg<sup>2/</sup> and Nuttima  
Kositcharoenkul<sup>2/</sup>

**Abstract**

The International Plant Protection Convention (IPPC) has endorsed the identification of *T. palmi* using real-time PCR assay into the International Standards for Phytosanitary Measures (ISPM) No. 27: Annex 01. Despite its importance, the use of this molecular technique to diagnose *T. palmi* has not yet been intensely studied in Thailand. The primary goal of this study was to employ environmental conditions of the assay provided by IPPC to detect Thai strain *T. palmi*, as well as to obtain the suitable molecular technique for precise identification. The experiment was carried out from September 2013 to March 2015. The results were drawn from 40 Thrips samples collected from major exported-orchid farms around Bangkok, and from the real-time PCR reactions using mitochondrial gene region, i.e., Cytochromoxydase Subunit I (COI). The sensitivity test revealed that the environmental conditions and approach provided by ISPM could detect Thai strain *T. palmi* with the Cp value from 23.71 - 28.94. Both probe and each primer (Tpalmi 139F, Tpalmi 286R) concentration at 100 nM and 900 nM respectively can detect *T. palmi* at the ratio level of 1:1000 (*T. palmi*: other Thrips populations). The results of specificity test were assessed from 20 samples, 5 of which were *T. palmi* including a single sample of the last-instar larva. The real time reaction could detect all 5 *T. palmi* samples at the Cp value from 23.92 - 27.76. Our results can be used in the detection of *T. palmi* at port of entry for both export

<sup>1/</sup> กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

<sup>1/</sup> Insect Taxonomy Section, Entomology and Zoology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900 THAILAND

<sup>2/</sup> กลุ่มงานแบคทีเรียวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

<sup>2/</sup> Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900 THAILAND

and import agricultural commodities. The detection protocol can be modified for other insect quarantine pests in the long run.

**Key words:** *Thrips palmi* Karny, cotton thrips, real-time PCR, quantitative PCR, diagnostic protocol

### บทคัดย่อ

สำนักงานอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention: IPPC) ได้กำหนดวิธีตรวจวินิจฉัยเพลี้ยไฟชนิดนี้โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลเรียกว่า real-time PCR assay for *Thrips palmi* ลงใน ISPM No.27: Annex ซึ่งยังไม่เคยมีการทดลองการใช้วิธีการนี้กับเพลี้ยไฟสายพันธุ์ในประเทศไทยมาก่อน การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเทคนิค real-time PCR มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟ; *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) สายพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสม มีเสถียรภาพและมีความแม่นยำ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน กันยายน 2556 - มีนาคม 2558 โดยใช้ตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เก็บจากแหล่งปลูกกล้วยไม้ตัดดอกเพื่อการส่งออกที่สำคัญในเขตปริมณฑลกรุงเทพฯ ผลการทดลองพบว่า เมื่อนำตัวอย่างเพลี้ยไฟทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR โดยใช้ mitochondrial gene ในส่วน Cytochromoxydase Subunit I (COI) ผลการทดลองพบว่าสภาพที่แนะนำโดย ISPM นั้นสามารถตรวจพบเพลี้ยไฟได้ โดยให้ค่า  $C_p$  ระหว่าง 23.71 - 28.94 การทดสอบความไวของ primers Tpalmi 139F และ Tpalmi 286R พบว่าที่ความเข้มข้นที่ใช้ในแต่ละ primers คือ 900 นาโนโมลาร์(nM) และความเข้มข้นของ probe ได้แก่ 100 nM มีความสามารถในการตรวจจับเพลี้ยไฟได้ในอัตราประชากรเพลี้ยไฟต่อประชากรของเพลี้ยไฟทั้งหมดที่อัตรา 1:1000 ส่วน การทดสอบความเฉพาะเจาะจงของปฏิกิริยา โดยใช้ตัวอย่างเพลี้ยไฟ 5 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับเพลี้ยไฟชนิดอื่นอีก 14 ตัวอย่าง พบว่า ทั้ง primers และ probe มีความเฉพาะเจาะจงในการตรวจจับเพลี้ยไฟโดยให้ค่า  $C_p$  อยู่ระหว่าง 23.92 - 27.76 ผลการทดลองนอกจากได้วิธีการในการตรวจจับเพลี้ยไฟในกล้วยไม้ตัดดอกก่อนการนำเข้าและส่งออกแล้วยังสามารถใช้เป็นแนวทางในการตรวจวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นๆ ในอนาคต

**คำหลัก:** เพลี้ยไฟ *Thrips palmi* Karny ปฏิกิริยา real-time PCR การตรวจวิเคราะห์ทางอณูชีวโมเลกุล การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเชิงปริมาณ

## คำนำ

เพลี้ยไฟฝ้าย; *Thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae) เป็นศัตรูพืชที่สำคัญสามารถเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด (polyphagous pests) โดยส่วนใหญ่พบเข้าทำลายพืชผักและไม้ดอก โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชในสกุล Cucurbitaceae และ Solanaceae มีถิ่นกำเนิดมาจากเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และแพร่ระบาด กระจายครอบคลุมเขตร้อนชื้น กึ่งร้อนชื้น ตลอดถึงชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิกและแคริบเบียน มีรายงานการแพร่กระจายในเขตอเมริกาเหนือ อเมริกากลางและอเมริกาใต้ตลอดถึงแอฟริกา (Murai, 2002; PaDIL, 2007; EPPO, 2013) ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยเข้าทำลายพืชโดยดูดกินน้ำเลี้ยงจากเซลล์พืชในส่วนยอดอ่อน ตาอ่อน ใบ ดอกและผลทำให้ใบเกิดรอยด่างมีสีขีด การทำลายเห็นชัดเจนในไม้ดอกเมื่อพบเข้าทำลายกลีบดอก (ศิริณี, 2544) สำนักงานอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ (International Plant Protection Convention: IPPC) ภายใต้มาตรฐานระหว่างประเทศว่าด้วยมาตรการสุขอนามัยและสุขอนามัยพืช (Sanitary and Phytosanitary: SPS) ได้จัดเพลี้ยไฟฝ้ายให้เป็นศัตรูพืชที่สำคัญ และต้องเฝ้าระวังในการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตร การตรวจวิเคราะห์วินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟฝ้ายที่ถูกต้องและรวดเร็วจึงเป็นหัวใจสำคัญของการนำเข้าและส่งออกสินค้าเกษตรในปัจจุบัน

การจำแนกชนิดเพลี้ยไฟฝ้ายสามารถทำได้โดยจัดจำแนกออกจากเพลี้ยไฟศัตรูพืชชนิดอื่น โดยใช้ลักษณะพื้นฐานทางสัณฐานวิทยาอย่างไรก็ตามการตรวจวินิจฉัยชนิดมักเกิดความคลาดเคลื่อน เนื่องจากสาเหตุหลายประการ

ได้แก่ 1) ขนาดลำตัวที่มีขนาดเล็กยากต่อการวินิจฉัย 2) ปัญหาทางด้าน cryptic species กล่าวคือการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เหมือนหรือใกล้เคียงกันแต่เป็นชนิดที่แตกต่างกัน 3) ความคิดเห็นในการตรวจวินิจฉัยของนักอนุกรมวิธานไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้แล้วการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถวินิจฉัยได้เฉพาะระยะตัวเต็มวัยของเพลี้ยไฟ แต่ใช้ไม่ได้ในระยะตัวอ่อน ระยะก่อนเข้าดักแด้และระยะดักแด้ เนื่องจากมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ไม่เพียงพอในการตรวจวินิจฉัย ในปัจจุบันเพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* Karny เป็นปัญหาที่สำคัญของกล้วยไม้ส่งออก เพื่อให้ได้การตรวจวินิจฉัยศัตรูพืชชนิดนี้ที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว IPPC จึงได้บรรจุการตรวจจำแนกชนิดของเพลี้ยไฟฝ้ายโดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุล ลงใน ISPM No.27: Annex 01 ว่าด้วยการตรวจจำแนกชนิดศัตรูพืชควบคุม (Diagnostic protocols for regulated pests) ซึ่งดำเนินการโดยใช้วิธีตรวจสอบทางชีวโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพ รวดเร็ว ถูกต้องและแม่นยำ วิธีดังกล่าวนี้เรียกว่า “Real-time PCR assay for *Thrips palmi*” (FAO, 2006a; FAO, 2009) ซึ่งยังไม่เคยมีการทดลองการใช้วิธีการนี้กับเพลี้ยไฟฝ้ายสายพันธุ์ในประเทศไทยมาก่อน

Real-time PCR เป็นเทคนิคทางชีวโมเลกุล ที่ผสมผสานระหว่าง การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ที่ต้องการ (regular PCR) กับฟลูออเรสเซนซ์โพรบ (probe) ที่จับกับผลผลิต DNA (fluorescent detection) ในแต่ละครั้งที่ทำการเพิ่มปริมาณ (amplified product) ในกระบวนการโพรบฟลูออเรสเซนซ์ ทำหน้าที่เสมือนรายงานผล ซึ่งทำให้สามารถติดตามดู

ความคืบหน้าของปฏิกิริยาได้ทุกระยะในขณะกำลังดำเนินการ (real time) และทำให้ทราบถึงปริมาณความหนาแน่นของผลผลิต DNA เทคนิค real-time PCR เป็นวิธีการที่สะดวก รวดเร็ว มีความเฉพาะเจาะจงสูง และง่ายในการดำเนินงาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟ

Walsh *et al.* (2005) ได้ออกแบบวิธีการในการตรวจจำแนกชนิดเพลี้ยไฟ โดยเทคนิค real-time PCR เรียกว่า “SCAR marker-generated sequence-based real-time PCR assay for *Thrips palmi*” วิธีการนี้ได้นำมาใช้เป็นมาตรฐานควบคุมสุขอนามัยพืช (phytosanitary authorities) ในประเทศอังกฤษ และเวลส์ การสังเคราะห์ไพรเมอร์ดำเนินการโดยใช้วิธี Random Amplified Polymorphic DNA analysis และตรวจสอบโดยวิธี Southern blot analysis ผลการทดลองพบว่าไพรเมอร์มีความเฉพาะเจาะจงสูงต่อเพลี้ยไฟ จากการทดสอบโดยใช้เพลี้ยไฟในอันดับ Thysanoptera 21 ตัวอย่าง และเพลี้ยไฟสกุล *Thrips* 10 ตัวอย่าง จากประเทศโดมินิกัน รีพับลิค ญี่ปุ่น ไทย และ สหราชอาณาจักร พบว่าสามารถใช้วิธี real-time PCR ตรวจวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟ ที่ค่า cycle threshold (Ct) อยู่ระหว่าง 18.75 - 26.41 การวินิจฉัยมีความรวดเร็วโดยใช้เวลาประมาณ 45 นาที ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่าง real-time PCR assay และการจำแนกโดยวิธีทางสัณฐานวิทยา จากเพลี้ยไฟ 152 ตัวอย่าง พบว่าทั้ง 2 วิธีการ มีความสอดคล้องกัน 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงถึงความมีเสถียรภาพมีความแม่นยำในการตรวจวินิจฉัย

มาตรฐานควบคุมสุขอนามัยพืช ณ เนเธอร์แลนด์ ได้ใช้กรรมวิธีการตรวจวินิจฉัยชนิดเพลี้ยไฟ โดยใช้เทคนิคทางชีวโมเลกุลของ Kox *et al.* (2005) ตาม ISPM No.27 เรียกว่า “COI sequence-based real-time PCR assay for *Thrips palmi*” ซึ่งเป็นการใช้ยีน Cytochrome Oxidase I (COI) ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในไมโทคอนเดรีย เพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค real-time PCR ทั้งนี้ primers ที่ใช้มีความเฉพาะเจาะจงสูง อย่างไรก็ตามเมื่อนำ primers ดังกล่าวมาใช้เพื่อเพิ่มปริมาณ DNA โดยปฏิกิริยา PCR ปกติพบว่า ชิ้นส่วน DNA ดังกล่าวไม่มีความเฉพาะเจาะจง จากผลการทดลองพบว่าจากตัวอย่างเพลี้ยไฟ 23 ตัวอย่าง สามารถวิเคราะห์ชนิดได้เพียงแค่ 1 ตัวอย่าง (Kox *et al.*, 2005) แต่เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี real-time PCR detection พบว่าวิธีการนี้ให้ผลที่มีประสิทธิภาพ ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 3 ชั่วโมง นอกจากนั้นแล้ว primers ที่ใช้ยังมีความเฉพาะเจาะจงสูงและสามารถใช้ได้ในทุกระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยไฟ อย่างไรก็ตามมีรายงานทดลองพบว่า TaqMan probe ที่ Kox *et al.* ใช้ในเทคนิคข้างต้น ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างบางส่วนของเพลี้ยไฟสายพันธุ์จากประเทศอินเดีย ซึ่งลายพิมพ์ DNA (sequence DNA) เหล่านี้ได้ถูกเก็บไว้ใน GenBank และยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้เมื่อนำลายพิมพ์ DNA ดังกล่าวมาเปรียบเทียบความแตกต่างทั้งในแง่อนุกรมวิธานและความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการ (phylogeny) (Asokan *et al.*, 2007)

การทดลองนี้เป็นการนำเทคนิค real-time PCR มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟฝ้าย สายพันธุ์ในประเทศไทย เพื่อให้ได้วิธีการที่เหมาะสม และมีความแม่นยำของการตรวจวินิจฉัยซึ่งประกอบไปด้วย ความเฉพาะเจาะจงของ primers (molecular marker) และ probe ต่อสายพันธุ์ในประเทศไทย สภาพการทดลองและวิธีดำเนินงาน ตลอดจนความรวดเร็วและแม่นยำของการวินิจฉัยจำแนกชนิด ข้อมูลเหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัยเพลี้ยไฟฝ้ายในสินค้าเกษตรก่อนนำเข้า และส่งออก กรรมวิธีและรูปแบบการวิจัยยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับแมลงศัตรูพืชด้วยกันที่สำคัญชนิดอื่นๆ ต่อไป

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### การเตรียมตัวอย่างเพลี้ยไฟ (Acquisition of Thrips material)

การเก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟจากแปลงปลูกกล้วยไม้ส่งออกที่สำคัญและแปลงพืชผักสวนครัวที่เป็นแหล่งอาศัยของเพลี้ยไฟใกล้แปลงปลูกกล้วยไม้ในเขตปริมณฑลกรุงเทพฯ ได้แก่ จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม สมุทรปราการ ปทุมธานี และนนทบุรี หลังจากเก็บตัวอย่างทำการบันทึกรายละเอียดตามข้อกำหนดใน ISPM No.6 (FAO, 2006b) เช่น แหล่งที่เก็บ พิกัดทางภูมิศาสตร์ พืชอาศัย วันเดือนปีที่เก็บตัวอย่าง เทคนิคการเก็บตัวอย่าง เป็นต้น เก็บตัวอย่างเพลี้ยไฟชนิดอื่นนอกเหนือจากเพลี้ยไฟฝ้าย; *T. palmi* เพื่อใช้เป็นตัวอย่างในกระบวนการทดสอบความเฉพาะเจาะจงของ primers และ probes เช่น *T. hawaiiensis*, *Scirtothrips*

*dorsalis* เก็บรักษาตัวอย่างเพลี้ยไฟในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (95% ethanol) หลังจากนั้นนำตัวอย่างแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แบ่งตัวอย่างที่เก็บออกเป็น 2 ส่วน ตัวเต็มวัยส่วนหนึ่งเก็บเพื่อทำสไลด์ถาวร (ตัวอย่างแห้ง) โดยดำเนินการตามกรรมวิธีของศิริณีและคณะ (2554) อีกส่วนเก็บทั้งระยะตัวอ่อน ตัวเต็มวัยและดักแด้ เพื่อนำไปสกัด DNA (ตัวอย่างสด) ทำการจัดจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาดำเนินการตามคู่มือการตรวจจำแนกชนิดโดยศิริณี (2554) ดำเนินการ ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2556 ถึงมิถุนายน 2558 ณ พิพิธภัณฑ์แมลง กลุ่มงานอนุกรมวิธานแมลง และห้องปฏิบัติการกลุ่มงานבקเทรวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืชสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

#### การสกัด DNA จากตัวอย่างเพลี้ยไฟ (DNA extraction)

ทำการสกัด DNA จากเพลี้ยไฟ โดยกระบวนการสกัด DNA เพื่อการเก็บรักษาตัวอย่าง (non-destructive DNA extraction protocol) ซึ่งหลังจากทำการสกัด DNA แล้วตัวอย่างยังคงสมบูรณ์และสามารถเก็บตัวอย่างใช้ในการทำสไลด์เพื่อใช้อ้างอิงต่อไป (voucher specimens) วิธีการสกัด DNA นี้ได้พัฒนาประยุกต์มาจากวิธีการสกัด DNA ของแตนเบียนโซ่โดย Taekul *et al.* (2013) และวิธีการสกัด DNA จากเพลี้ยไฟที่เรียกว่า “salting-out” ซึ่งพัฒนาจาก Sunnucks and Hales (1996) และ Rugman-Jones *et al.* (2006) เริ่มดำเนินการโดยนำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เก็บไว้ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ที่

อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาสกัด DNA โดยใช้ชุดสกัด DNA ของ QIAGEN DNeasy® Blood & Tissue Kit นำตัวอย่างเพลี้ยไฟเปลี่ยนถ่ายลงในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ที่อุณหภูมิห้อง (25±1 องศาเซลเซียส) นาน 24 ชั่วโมงเพื่อทำให้ผนังลำตัวและเนื้อเยื่อของตัวอย่างอ่อนตัวลง หลังจากนั้นดำเนินการตามขั้นตอนที่แนะนำจาก Kit Protocol โดยประยุกต์ในขั้นตอนเริ่มต้น คือการเติมสารทำลายยับยั้ง ATPase ปริมาณ 180 ไมโครลิตร (µl) และเอ็นไซม์ย่อยสลายโปรตีน (proteinase K) 20 µl หลังจากนั้นนำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่อยู่ในหลอดทดลองอบ (incubate) ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ถ่ายสารละลายส่วนบน (supernatant) ลงในหลอดทดลองใหม่ หลังจากนั้นดำเนินการตามวิธีการสกัด DNA ของ Kit Protocol สำหรับส่วนของตัวอย่างที่เหลือในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นปริมาณ 300 µl (การเติมแอลกอฮอล์โดยตรงลงบนตัวอย่างอาจทำให้ตัวอย่างแข็งตัวอย่างรวดเร็วและผนังลำตัวแตกได้) หลังจากเติมน้ำกลั่นทิ้งไว้ประมาณ 45 นาทีถึง 1 ชั่วโมง เติมน้ำกลั่นความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 700 µl เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อการทำสไลด์ถาวรต่อไป

#### การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค real-time PCR (real-time PCR: TaqMan assay)

เตรียมไพรเมอร์ CO I (CO I sequence-based real-time PCR assay) พัฒนาประยุกต์วิธีการทดลองตาม Kox *et al.* (2005) ไพรเมอร์และโพรบ (Probe) ที่ใช้สำหรับการทดลองได้แก่

PCR primer: Tpalmi 139F\* (5'-TCATGCTGGAATTCAGTAGATTTAAC-3')

PCR primer: Tpalmi 286R\* (5'-TCACACTRAATAATCTTAGTTTTCTCTTG-3')

TaqMan probe: TpP (6-FAM 5'-TAGCTGGGGTATCCTCAA-3' MGB)

ดำเนินการโดยใช้ชุดเพิ่มปริมาณ DNA สำเร็จรูป (core reagent kit) TaqMan PCR ชุดสารละลาย DNA ตั้งต้น (reaction mixture) ใช้ปริมาณ 20 µl ซึ่งประกอบไปด้วย TaqMan Universal Master Mix (Light Cycler 480 Probes Master) 10 µl ไพรเมอร์แต่ละชนิดใช้ความเข้มข้น 0.9 ไมโครโมลาร์ (µM) ปริมาณ 1.8 µl, และโพรบ (TaqMan probe for *T. palmi*) ซึ่งใช้เป็นตัวตรวจจับชนิดของเพลี้ยไฟฝ่าย ใช้ความเข้มข้น 0.1 µM ปริมาณ 0.2 µl ใช้ DNA ตั้งต้น 5 µl ตรวจจับการเพิ่มของปริมาณ DNA โดยใช้ fluorescence ของ ABI Prism 7700 หรือ ABI 7900HT (Sequence Detection Systems) ตัวอย่างจะทำปฏิกิริยาในถาดพลาสติกหลุมมีจำนวน 96 หลุม (LightCycler® 480 Multiwell plate 96) ในการทำปฏิกิริยาจำเป็นต้องมีตัวควบคุมลบ (negative control) ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทน DNA ของเพลี้ยไฟในทุกครั้ง ดำเนินการทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้ pre-incubation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที หลังจากนั้น amplification จำนวน 40 รอบ โดยแต่ละรอบใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 วินาที และ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ในขณะที่ทำปฏิกิริยาในเครื่อง LightCycler® 480 นั้น DNA Probes ที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเพลี้ยไฟฝ่ายจะเข้าไปจับกับเส้น DNA ที่สร้างขึ้นใหม่ใน

แต่จะรอบและจะเปล่งแสง fluorescence ออกมา เมื่อมีการเพิ่มปริมาณผลผลิต PCR ในแต่ละรอบ โดยเครื่องจะตรวจติดตามการเพิ่มปริมาณ DNA ที่เกิดขึ้นจริง ณ เวลานั้นและแสดงผลเป็นกราฟ เส้นโค้ง (semilog curve) ที่เกิดสะสมในแต่ละรอบของปฏิกิริยา real-time PCR ซึ่งค่า crossing point (Cp values) ของแต่ละกราฟเส้นโค้งแสดงถึงค่าเริ่มต้นที่มีการเปล่งแสงหรือเกิด annealing ค่า Cp จึงใช้เป็นเกณฑ์ในการตรวจสอบการมีหรือไม่มีปริมาณผลผลิต PCR เป้าหมาย และบอกได้ถึงปริมาณผลผลิต PCR เป้าหมาย โดยถ้ามีผลผลิต PCR เป้าหมายมากค่า Cp จะต่ำ จากรายงานของ Kox *et al.* (2005) พบว่าหากสารละลายตั้งต้นเป็น DNA จากตัวอย่างของ *T. palmi* ค่า Cp ควรมีค่าต่ำกว่า 40

#### การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกอุณหภูมิของ PCR thermocycler steps และค่า Cp เมื่อมีการตรวจพบเปลี่ยไฟ ฝ่าย บันทึกระยะเวลาในการตรวจจับในแต่ละตัวอย่าง ส่วนในกรณีที่ค่า Cp สูงกว่า 35 แสดงว่าไม่มีการพบเปลี่ยไฟฝ่ายถึงแม้ว่ามีปริมาณผลผลิต DNA และตัวอย่างที่ศึกษาทดลองเป็นเปลี่ยไฟฝ่ายจริง ให้ปรับเปลี่ยนค่า PCR thermocycler steps หลังจากนั้นทำการทดลองซ้ำ หากยังไม่มีการตรวจพบให้บันทึกผลเป็นลบ (negative result)

#### ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้เก็บตัวอย่างเปลี่ยไฟฝ่าย *T. palmi* และเปลี่ยไฟในสกุลใกล้เคียงที่พบปะปนในแปลงกล้วยไม้ บันทึกข้อมูลการเก็บตัวอย่าง พร้อมทั้งระบุเลขรหัสเพื่อใช้อ้างอิง ทั้งเพื่อใช้ในห้อง

ปฏิบัติการ (Ref. code) และติดตั้งบาร์โค้ดตัวอย่างที่ได้หลังจากสกัด DNA แล้ว (Museum voucher ID) ซึ่งขึ้นต้นด้วยรหัสของพิพิธภัณฑ์แมลง EMBT ENT เป็นรหัสย่อของ Entomology and Zoology Museum Bangkok Thailand, Entomology Collection ซึ่งตามด้วยรหัสตัวเลขหรือ "BARCODE" ซึ่งแต่ละตัวอย่างไม่ซ้ำกัน (Figure 4) museum voucher barcode ID ในแต่ละพิพิธภัณฑ์มีชื่อรหัสย่อที่ไม่ซ้ำกันทั่วโลก ทั้งนี้ในแต่ละตัวอย่างมีรายละเอียดข้อมูลที่ซ้ำกัน (unique identifiers) รหัสบาร์โค้ดนี้บรรจุรายละเอียดของข้อมูลที่สำคัญจำเป็นต่อการส่งข้อมูล ไปยังฐานข้อมูลสากลเช่น ฐานข้อมูลทางพันธุกรรม (Barcode of Life Data Systems: BOLDsystem) หรือการส่งลายพิมพ์ DNA ไปเก็บยัง GenBank ซึ่งข้อมูลรายละเอียดของตัวอย่างเหล่านี้ประกอบด้วยชื่อผู้เก็บตัวอย่าง วันเดือน ปี ที่เก็บ สถานที่ และพิกัดภูมิศาสตร์ในการเก็บตัวอย่าง ความสูงจากระดับน้ำทะเล เทคนิคในการเก็บตัวอย่าง ช่วงระยะเวลาการเจริญเติบโต ชนิดที่ทำการวินิจฉัยและผู้วินิจฉัย ซึ่งในขณะนี้ข้อมูลนี้ได้เก็บรวบรวมในฐานข้อมูลพิพิธภัณฑ์แมลง กรมวิชาการเกษตร และสามารถสืบค้นได้จาก museum voucher ID (Table 1)

**สกัด DNA จากเปลี่ยไฟ** โดยใช้กระบวนการสกัดเพื่อการเก็บรักษาตัวอย่าง (non-destructive DNA extraction protocol) เป็นวิธีการที่ประยุกต์มาจากวิธีการสกัด DNA ของแตนเบียนไข่โดย Taekul *et al.* (2013) ซึ่งเป็นวิธีการใหม่ที่ไม่เคยใช้มาก่อนในแมลงปากดูด โดยเฉพาะอย่างยิ่งกับเปลี่ยไฟ Sunnucks and Hales (1996) และ

Rugman-Jones *et al.* (2006) ทำการสกัดเพลี้ยไฟ เพื่อเก็บรักษาตัวอย่างโดยกระบวนการที่เรียกว่า “salting-out” โดยนำตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เตรียมไว้ ใส่ในหลอดทดลอง ใช้เข็มขนาดเล็ก (sterilized minute pin) เจาะตรงบริเวณส่วนท้องของเพลี้ยไฟ ซึ่งถือเป็นวิธีการที่ค่อนข้างยุ่งยากและซับซ้อน Kox *et al.* (2005) ทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR ดำเนินการสกัด DNA โดยวิธีการการบดตัวอย่าง (destructive techniques) โดยใช้หลอดขนาดเล็ก (micropestle) ในสารละลาย Lysis buffer หลังจากนั้นทำการสกัด DNA โดยใช้เอ็นไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนตามวิธีการโดยทั่วไปของการสกัด DNA จากสิ่งมีชีวิต ถึงแม้ว่าสามารถทดลองในตัวอย่างที่เป็น ตัวอ่อน ดักแด้ และตัวเต็มวัย แต่จำเป็นต้องบดมากถึง 9 ตัวอย่าง ในแต่ละ reaction เพื่อทดสอบความไวของ primers แต่จากการทดลองใช้ตัวอย่างเพียง 1 ตัวอย่าง สามารถให้ผลผลิต DNA ที่เพียงพอต่อการทดลอง นอกจากนี้แล้วข้อดีของวิธีนี้คือ หลังจากทำการสกัด DNA แล้วตัวอย่างยังคงสมบูรณ์ สามารถนำมาทำเป็นสไลด์ถาวรเพื่อใช้อ้างอิงเปรียบเทียบและบรรจุลงในฐานข้อมูลสากลได้ นอกจากนี้แล้วพบว่าตัวอย่างที่ผ่านการสกัด DNA มีความใสมากกว่า เนื่องจากเนื้อเยื่อของเพลี้ยไฟถูกย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ Proteinase K ทำให้มีความชัดเจน ง่ายต่อการตรวจวินิจฉัยและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Figure 5)

#### **การทดสอบชุด Primers และ Probe ในปฏิกิริยา real-time PCR (Selection of primers and probe for real-time PCR)**

การทดสอบชุด primers และ probe กับเพลี้ยไฟ ฝ้ายที่เก็บจากแปลงกล้วยไม้ส่งออกที่สำคัญของ

เกษตรกรแถบจังหวัดนครปฐมจำนวน 19 ตัวอย่าง โดยมีน้ำเป็น negative control อีก 1 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองนี้ใช้ตัวเต็มวัยทั้งสิ้น 17 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001603 - 0001614, 0001617 - 0001621) และตัวอ่อนระยะสุดท้ายจำนวน 2 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001615 - 0001616) ตัวอย่างที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดรวบรวมตาม Table 1 ในการทดลองนี้ไม่ได้ใช้ตัวอย่างที่เป็นไข่และดักแด้เนื่องจากเพลี้ยไฟเป็นแมลงปากดูดที่มีขนาดเล็กและจะวางไข่ที่มีขนาดเล็กและสีค่อนข้างใสในเนื้อเยื่อของกล้วยไม้ ส่วนดักแด้ของเพลี้ยไฟมีขนาดเล็ก ส่วนใหญ่อยู่ในดินและวัสดุปลูก ซึ่งค่อนข้างยากและมีความซับซ้อนในการเก็บตัวอย่างเพื่อการทดลอง อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตที่สำคัญของเพลี้ยไฟศัตรูพืชที่ติดไปกับกล้วยไม้ส่งออกที่มีการตรวจพบได้แก่ ระยะตัวเต็มวัย เมื่อทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR สำหรับตรวจวินิจฉัยชนิดของเพลี้ยไฟฝ้ายกับเครื่อง LightCycler® 480 (Roche Diagnostics, Thailand) ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบจะทำปฏิกิริยาในภาตพลาสติคหลุมขนาด 96 หลุม (LightCycler 480 Multiwell plate 96) สำหรับการทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR กับ primers และ probe ที่เลือกไว้ในแต่ละปฏิกิริยา (reaction) ใช้ปริมาณรวมของสารที่ใช้ในการทดสอบ primer COI ในแต่ละ reaction จำนวน 20 µl ประกอบด้วย LightCycler 480 Probes Master (dNTP mix, fast start Taq DNA polymerase, reaction buffer และ MgCl<sub>2</sub>) จำนวน 10 µl, forward primer (139F) และ reverse primer (286R) ที่ความเข้มข้น 0.9 µM จำนวน 1.8 µl ในแต่ละ primer DNA ของเพลี้ยไฟแต่ละ

ตัวอย่างจำนวน 5  $\mu$ l และใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.2  $\mu$ l ซึ่งผลจากการทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR กับ COI primer 139F/286R พบว่าสามารถตรวจพบเพลี้ยไฟได้ (positive result) โดยให้ค่า  $C_p$  อยู่ระหว่าง 23.71 - 28.95 (Figure 1) ซึ่งได้นำตัวอย่างที่มีค่า  $C_p$  ต่ำที่สุดมาทดสอบหาความไวของ primer (sensitivity test) ต่อไป น้ำกลั่นที่ใช้เป็น control reaction ในการทดลองให้ผลเป็นลบ

#### การทดสอบสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา real-time PCR (Optimization of real-time PCR)

การทดสอบความไวของ primers (sensitivity test) ดำเนินการโดยทำการเจือจางความเข้มข้นของ DNA ของเพลี้ยไฟที่ 1, 10, 100 และ 1000 เท่าจาก DNA ที่สกัดได้จากเพลี้ยไฟ 1 ตัวอย่างได้แก่ EMBT ENT 0001605 ซึ่งเลือกจากตัวอย่างที่ให้ค่า  $C_p$  ต่ำที่สุดจากการทดสอบกับเพลี้ยไฟ 19 ตัวอย่างข้างต้น ทดสอบปฏิกิริยา real-time PCR กับ COI primers ได้แก่ Tpalmi 139F และ Tpalmi 286R ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันคือ 50, 150, 300, 900 และ 1200 นาโนโมลาร์ (nM) และใช้ probe ที่ความเข้มข้นคงที่คือ 100 nM ผลการทดลองแสดงใน Table 2 พบว่า ไม่สามารถตรวจจับเพลี้ยไฟได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุดของ primer ที่ใช้ทดสอบคือ 50 nM ซึ่งตรงกับผลการทดลองของ Kox *et al.* (2005) อย่างไรก็ตามเริ่มตรวจจับเพลี้ยไฟได้ที่ความเข้มข้นของ primer 150 nM โดยตรวจจับที่ความเข้มข้นของ DNA ที่ 1, 10 และ 100 เท่าแต่ไม่สามารถตรวจจับได้ที่ความเจือจางของ DNA

1000 เท่า ความสามารถของปฏิกิริยาในการตรวจจับเพลี้ยไฟที่เจือจางตั้งแต่ 1 เท่าถึง 1000 เท่า ได้แก่ความเข้มข้นของ primer ตั้งแต่ 300 - 1200 nM หรือกล่าวได้ว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าวอัตราการตรวจจับเพลี้ยไฟต่อประชากรเพลี้ยไฟชนิดอื่นคือ 1:1000 ที่ความเข้มข้นของ primer 1200 nM ให้ค่า  $C_p$  ต่ำที่สุดคือ 22.88 เมื่อทดสอบกับความเข้มข้นของ DNA ที่เจือจาง 1 เท่า อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นเดียวกันเมื่อทดสอบกับ DNA ของเพลี้ยไฟที่เจือจาง 1000 เท่าให้ค่า  $C_p$  สูงถึง 33.17 ซึ่งมีความใกล้เคียงกับค่า  $C_p$  ที่ไม่สามารถตรวจจับเพลี้ยไฟได้ (>35) จึงมีแนวโน้มว่าค่าความเข้มข้นของ primer ที่เหมาะสมในการตรวจจับเพลี้ยไฟ *T. palmi* ที่ความเข้มข้นของ DNA ตั้งแต่ 1 - 1000 เท่าคือ 900 nM (Table 2 และ Figure 2)

#### การทดสอบความจำเพาะของปฏิกิริยา real-time PCR (Specificity of real-time PCR)

ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของปฏิกิริยา real-time PCR โดยใช้ primer COI ได้แก่ Tpalmi 139F และ Tpalmi 286R ใช้ตัวอย่างเพลี้ยไฟตาม Table 1 ซึ่งเป็นตัวอย่างเพลี้ยไฟที่เก็บจากแปลงกล้วยไม้ส่งออกที่สำคัญเขตภาคกลางรวมถึงเพลี้ยไฟในแปลงพืชอาหารใกล้เคียง เนื่องจากเพลี้ยไฟเหล่านี้มีโอกาสพบปะปนในกล้วยไม้ส่งออก เพลี้ยไฟที่ใช้ในการทดสอบความเฉพาะเจาะจงของปฏิกิริยา real-time PCR มีทั้งสิ้น 19 ตัวอย่าง ประกอบด้วย *Thrips palmi* จำนวน 5 ตัวอย่าง ประกอบด้วยตัวเต็มวัย 4 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001622, 0001625, 0001627 - 0001628) และตัวอ่อน

ระยะสุดท้ายจำนวน 1 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001624) ซึ่งเก็บจากแหล่งปลูกกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม ปทุมธานีและสมุทรสาคร เพลี้ยไฟ *Thrips hawaiiensis* จำนวน 3 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001629 - 0001631) *Thrips parvispinus* จำนวน 1 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001640), *Scirtothrips dorsalis* ซึ่งเป็นเพลี้ยไฟที่มีลักษณะโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาคคล้ายคลึงกับเพลี้ยไฟฝ้าย จำนวน 3 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001632 - 0001634), *Frankliniella schultzei* จำนวน 2 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001637 - 0001638), *Megalurothrips usitatus* จำนวน 2 ตัวอย่าง (EMBT ENT 0001639, 0001641) และ *Caliothrips indicus* (EMBT ENT 0001642), *Rhipiphorothrips cruentatus* (EMBT ENT 0001636), และ สกัด DNA จากเพลี้ยไฟ 1 ตัวอย่างในแต่ละปฏิกิริยา (reactions) โดยใช้วิธีการสกัดแบบการไม่ทำลายตัวอย่าง (non-destructive DNA extraction) ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างของเพลี้ยไฟฝ้ายทั้ง 5 ตัวอย่างทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยให้ผลเป็นบวก (positive result) โดยมีค่า Cp อยู่ระหว่าง 23.92 - 27.76 ในขณะที่ตัวอย่างของเพลี้ยไฟชนิดอื่นอีก 14 ตัวอย่างให้ผลเป็นลบ เช่นเดียวกันกับปฏิกิริยาที่ใช้ น้ำกลั่นเป็นมาตรฐานควบคุม (control reaction) ซึ่งกล่าวได้ว่าฟลูออเรสเซนต์ไพรอบที่ใช้ตาม ISPM No.27: Annex 01 (Kox *et al.* 2005) มีความเฉพาะเจาะจงในการตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้าย *Thrips palmi* สายพันธุ์ในประเทศไทย (Figure 3)

มีข้อสังเกตในรายงานซึ่งระบุใน ISPM

No. 27 (FAO, 2006a) ว่ามีตัวอย่างเพลี้ยไฟฝ้ายจำนวนหนึ่งที่เก็บได้จากประเทศอินเดีย ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ชนิดโดยใช้ TaqMan probe ที่ Kox *et al.* (2005) ได้รายงานไว้ใน ISPM ซึ่งลายพิมพ์ DNA (sequence DNA) ดังกล่าวได้ถูกเก็บไว้ใน GenBank นอกจากนี้แล้วยังไม่สามารถหาข้อสรุปได้ในแง่การจัดจำแนกเปรียบเทียบความแตกต่างทั้งในแง่อนุกรมวิธานและความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการหรือ Phylogeny ของลายพิมพ์ DNA เหล่านี้ (Asokan *et al.*, 2007) อย่างไรก็ตามหลังจากทดลองกระบวนการตรวจวิเคราะห์เพลี้ยไฟฝ้ายสายพันธุ์ในประเทศไทยโดยเทคนิค real-time PCR พบว่า สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ถูกต้องแม่นยำ โดยมีค่า Cp อยู่ระหว่าง 23.71 - 28.94 (Figure 1) ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าค่าแนะนำใน ISPM โดยให้ใช้ค่า Ct (Cp ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่อง real-time) ที่ต่ำกว่า 40 ในการตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้าย (FAO, 2006a) แต่สำหรับสายพันธุ์ในประเทศไทยนั้น พบว่าค่า Cp ในการตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้ายมีค่าต่ำกว่า 35 และสำหรับการทดสอบถึงสภาพที่เหมาะสมของปฏิกิริยา real-time PCR Kox *et al.* (2005) ได้สรุปว่าอัตราในการตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้าย ที่ความเข้มข้นของ primers 300 และ 900 nM สามารถตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้ายได้ในอัตรา 1:100 (ประชากรเพลี้ยไฟฝ้าย *T. palmi* ต่อประชากรเพลี้ยไฟทั้งหมด) และที่ความเข้มข้นของ probe 25 - 100 nM สามารถตรวจจับเพลี้ยไฟฝ้ายได้ในอัตรา 1:1000 ของประชากรเพลี้ยไฟทั้งหมด อย่างไรก็ตามจากการทดลองให้ผลแตกต่างจากที่ได้มีการรายงานใน ISPM คือ ที่ความเข้มข้นของ primers 300

และ 900 nM และความเข้มข้นของ probe ที่ 100 nM สามารถตรวจจับพลีไฟฟ้ายได้ในอัตราที่ 1:1000 ซึ่งประเมินจากความเจือจางของ DNA 1000 เท่า ซึ่งเป็นค่าอัตราการตรวจจับพลีไฟฟ้ายที่สูงกว่าที่ Kox *et al.* (2005) ได้เคยรายงานไว้ถึง 10 เท่า (Table 2)

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ปฏิกิริยา real-time PCR จัดเป็นเทคนิคทางชีวโมเลกุลที่ใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจจับพลีไฟฟ้ายที่ได้รับการรับรองจาก สำนักงานอนุสัญญาว่าด้วยการอารักขาพืชระหว่างประเทศ ได้รับการบรรจุอยู่ใน มาตรฐานการตรวจวิเคราะห์ศัตรูพืชสำคัญ ISPM No.27: Annex 01 ซึ่งเป็นวิธีการที่ สะดวกรวดเร็วและแม่นยำ การทดสอบโดยใช้ primer Tpalmi 139F และ Tpalmi 286R สามารถตรวจพบพลีไฟฟ้ายได้ โดยให้ค่า Cp ระหว่าง 23.71 - 28.94 ที่ความเข้มข้นของ primers 300 และ 900 nM และความเข้มข้นของ probe ที่ 100 nM มีความสามารถในการตรวจจับพลีไฟฟ้ายได้ในอัตราประชากรพลีไฟฟ้ายต่อประชากรของพลีไฟฟ้ายทั้งหมดที่อัตรา 1:1000 อย่างไรก็ตามค่าความเข้มข้นของ primer ที่เหมาะสมในการตรวจจับพลีไฟฟ้ายที่ความเข้มข้นของ DNA ที่แตกต่างกันคือ 900 nM เทคนิคนี้สามารถตรวจสอบและทราบผลภายใน 2-3 ชั่วโมง โดยเห็นผลการตรวจสอบตามเวลาที่แท้จริง (real-time) นอกจากนี้ยังทำให้สามารถทราบถึงปริมาณผลผลิต DNA ที่ได้รับจากปฏิกิริยา (quantitative PCR: qPCR) วิธีการดังกล่าวสะดวกกว่าการเพิ่มปริมาณ DNA ปกติโดยใช้เทคนิค conventional PCR เพราะไม่ต้องนำไป

เข้ากระบวนการ gel electrophoresis ในแผ่น agarose gel และย้อมสีด้วย ethidium bromide ซึ่งเป็นสารอันตรายที่ก่อให้เกิดมะเร็ง ผลการทดลองสามารถนำไปใช้ประโยชน์ ทั้งในแง่การยืนยันผลการตรวจวินิจฉัยโดยใช้ลักษณะสัญญาณวิทยา ในกรณีที่ผลการตรวจวินิจฉัยชนิดไม่เป็นไปในทิศทางเดียวกัน นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ในการตรวจจับพลีไฟฟ้ายในสินค้าเกษตรทั้งก่อนการนำเข้าและส่งออก กรรมวิธีที่ได้จากการทดลองสามารถใช้เป็นแนวทางในการตรวจวินิจฉัยแมลงศัตรูพืชกักกันชนิดอื่นๆ ในอนาคต

### คำขอบคุณ

การทดลองนี้ไม่สามารถเสร็จสมบูรณ์ได้ถ้าขาดห้องปฏิบัติการวิจัยที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานจากกลุ่มงานבקเทรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ขอขอบคุณ ดร. ณัฐริมา ไชยิตเจริญกุล ผู้ช่วยชี้แนะแนวทางซึ่งทำให้เกิดที่มาของการทดลอง ดร. มานิตา คงชื่นสิน ในการช่วยทบทวนและอ่านต้นฉบับ นอกจากนี้แล้วขอขอบคุณนักวิจัยและเจ้าหน้าที่ผู้มีส่วนร่วมในการวิจัยครั้งนี้ทุกท่าน ทั้งในแง่การเก็บตัวอย่างประสานงานและให้การสนับสนุน

### เอกสารอ้างอิง

- ศิริณี พูนไชยศรี. 2544. พลีไฟฟ้าย Terebrantia. กองกสิกรรมและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 75 หน้า.
- ศิริณี พูนไชยศรี, ชลิตา อุณหวุฒิ, พรรณเพ็ญชโยภาส, รัตนา นชะพงษ์, ลักขณา บำรุงศรี, สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, ชุวรินทร์ บุญทอบ

- และ ญัฐวัฒน์ ยิ้มยิ้ม. 2554. แผลงการจำแนกและการเก็บตัวอย่าง. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 100 หน้า.
- Asokan, R., N.K. Krishna Kumar, V. Kumar and H.R. Ranganath. 2007. Molecular differences in the mitochondrial cytochrome oxidase I (mtCOI) gene and development of a species-specific marker for onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman, and melon thrips, *T. palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae), vectors of tospoviruses (Bunyaviridae). Bulletin of Entomological Research. 97: 461-470.
- EPPO. 2013. Available <http://www.eppo.org>. (8 April, 2013).
- FAO. 2006a. Diagnostic protocols for regulated pests (2006). The international Plant Protection Convention (IPPC). International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM No. 27.
- FAO. 2006b. Guidelines for surveillance (1997). The International Plant Protection Convention (IPPC). International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM No. 6.
- FAO. 2009. Annex to ISPM No.27 (Diagnostic protocols for regulated pests) *Thrips palmi*. The international Plant Protection Convention (IPPC). International Standards for Phytosanitary Measures: ISPM No. 27.
- Kox, L.F.F., H.E. van den Beld, C. Zijlstra, and G. Vierbergen. 2005. Real-time PCR assay for the identification of *Thrips palmi*. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 35: 141-148.
- Murai, T. 2002. The pest and vector from the East: *Thrips palmi*. pp. 19-32. In: R. Marullo, & L.A. Mound, eds. Thrips and Tospoviruses: Proceedings of the 7th International Symposium on Thysanoptera. Italy, 2-7 July 2001. Canberra, Australian National Insect Collection.
- PaDIL. 2013. Pests and Diseases Image Library. Available <http://www.padil.gov.au> (9 April, 2013).
- Quarantine pests for Europe, 2nd edition. Wallingford, UK, CAB International. 1425 p.
- Rugman-Jones, P.F., M.S. Hoddle, L.A. Mound and R. Stouthamer. 2006. Molecular identification key for pest species of Scirtothrips (Thysanoptera: Thripidae). Journal of Economic Entomology. 99(5): 1813-1819.
- Sunnucks, P. and D.F. Hales. 1996. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase

I-II in aphids of the genus *Sitobian* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular Biology and Evolution*. 13: 510-524.

Taekul, C., A. A. Valerio, A. D. Austin, H. Klompen and N. F. Johnson. 2013. Molecular phylogeny of telenomine egg parasitoids (Hymenoptera: Platygasteridae s.l.: Telenominae): evolution of host shifts and implications for classification.

*Systematic Entomology*. (2013), DOI:10.1111/syen.1203.

Walsh, K., N. Boonham, I. Barker and D.W. Collins. 2005. Development of a sequence-specific real-time PCR to the melon thrips *Thrips palmi* (Thysanoptera, Thripidae). *Journal of Applied Entomology*, 129 (5): 272-279.

**Table 1** List of Thrips used in this study, each sample associated with the reference code using in the laboratory, the unique identifiers defined by the specimen barcode number prefixed with EMBT ENT, host plant and collected locality

Species	Ref. code	Museum voucher ID "EMBT ENT"	Host Plant	Collected locality
<i>Thrips palmi</i>	ct1.1-1	0001603	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.1-2	0001604	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.1-3	0001605	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.1-5	0001606	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.2-1	0001607	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.2-2	0001608	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.2-3	0001609	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.2-4	0001610	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.2-5	0001611	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.3-1	0001612	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.3-2	0001613	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.3-3	0001614	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.3-4	0001615	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.3-5	0001616	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.4-1	0001617	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.4-2	0001618	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.4-3	0001619	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.4-4	0001620	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct1.4-5	0001621	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct2.1	0001622	<i>Dendrobium</i> sp.	Samut Sakhon
	ct2.3	0001623	<i>Dendrobium</i> sp.	Samut Sakhon
	ct2.4	0001624	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom
	ct3.1	0001625	<i>Dendrobium</i> sp.	Samut Sakhon
	ct3.2	0001626	<i>Dendrobium</i> sp.	Nakhon Pathom

	iti1-1B	0001627	<i>Ocimum basilicum</i>	Pathum Thani
	iti1-3B	0001628	<i>Salanum xanthocarpum</i>	Pathum Thani
<i>Thrips hawaiiensis</i>	iti1-1C	0001629	<i>Ocimum basilicum</i>	Pathum Thani
	iti2-5A	0001630	<i>Zea mays</i>	Pathum Thani
	iti6-9A	0001631	<i>Salanum xanthocarpum</i>	Nakhon Pathom
<i>Thrips parvispinus</i>	ni1-1E	0001640	<i>Carica papaya</i>	Pathum Thani
<i>Scirtothrips dorsalis</i>	iti2-6A	0001632	<i>Capsicum frutescens</i>	Pathum Thani
	iti3-7C	0001633	<i>Vigna sesquipedalis</i>	Pathum Thani
	ni2-2D	0001634	<i>Capsicum frutescens</i>	Pathum Thani
<i>Bathrips melanicornis</i>	iti1-1A	0001635	<i>Ocimum basilicum</i>	Pathum Thani
<i>Rhipiphorothrips cruentatus</i>	iti1-1D	0001636	<i>Ocimum basilicum</i>	Pathum Thani
<i>Frankliniella schultzei</i>	iti1-2B	0001637	<i>Ocimum sanctum</i>	Pathum Thani
	ni4-4A	0001638	<i>Salanum xanthocarpum</i>	Pathum Thani
<i>Megalurothrips usitatus</i>	iti1-3A	0001639	<i>Salanum xanthocarpum</i>	Pathum Thani
	ni7-7A	0001641	<i>Luffa acutangula</i>	Nakhon Pathom
<i>Caliothrips indicus</i>	iti3-7B	0001642	<i>Vigna sesquipedalis</i>	Pathum Thani

**Table 2** Cycle thresholds at different concentrations of COI primer at 100 nM probe

Dilution of DNA					
(1 adult)	Cp value				
	50 nM primers	150 nM primers	300 nM primers	900 nM primers	1200 nM primers
1	>35	26.02	23.56	23.22	22.88
10	>35	30.13	27.01	26.61	26.54
100	>35	32.71	30.32	30.19	29.77
1000	-	35	33.07	31.85	33.17
water	-	-	-	-	-

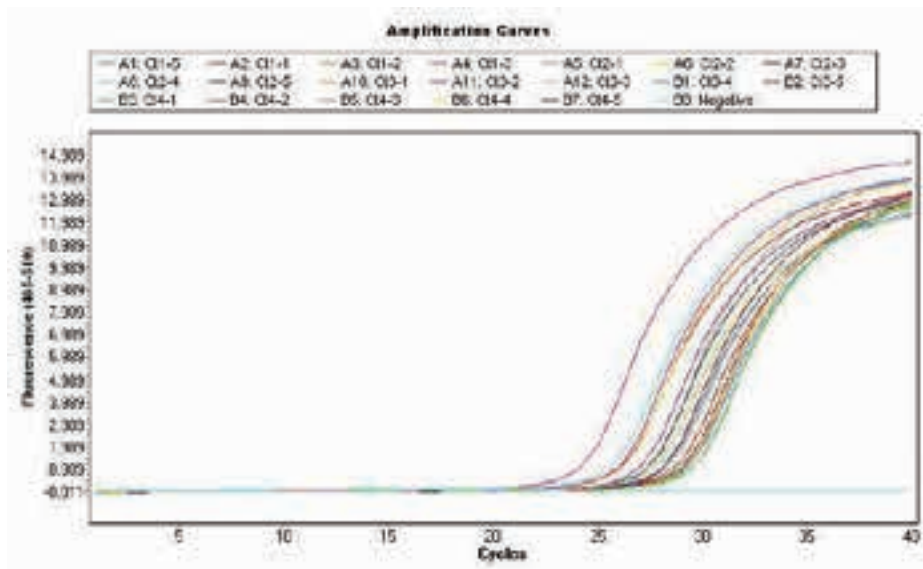


Figure 1 COI sequence-based real-time PCR assay for *Thrips palmi* using primers and probe follow ISPM No27

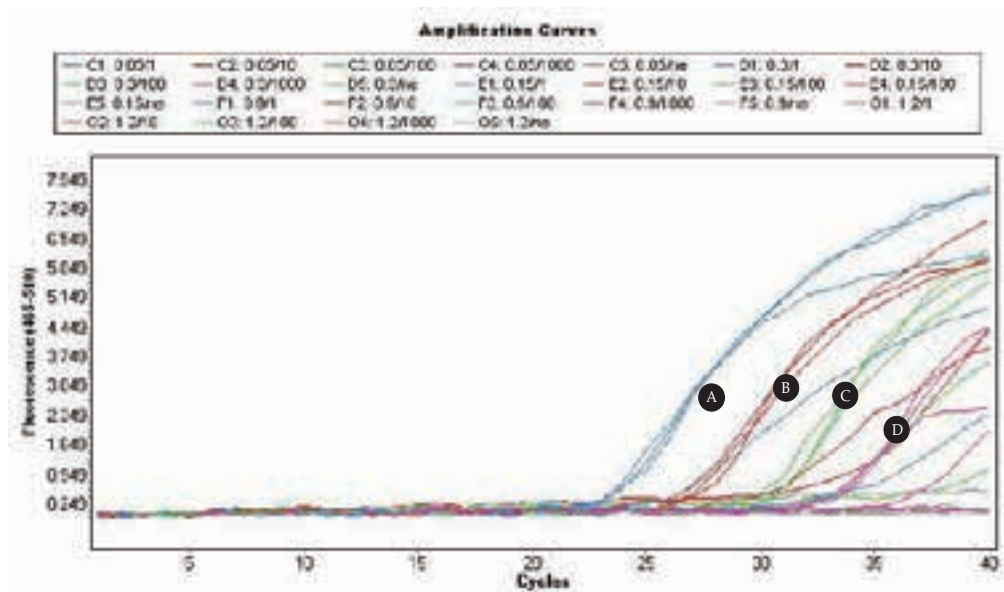
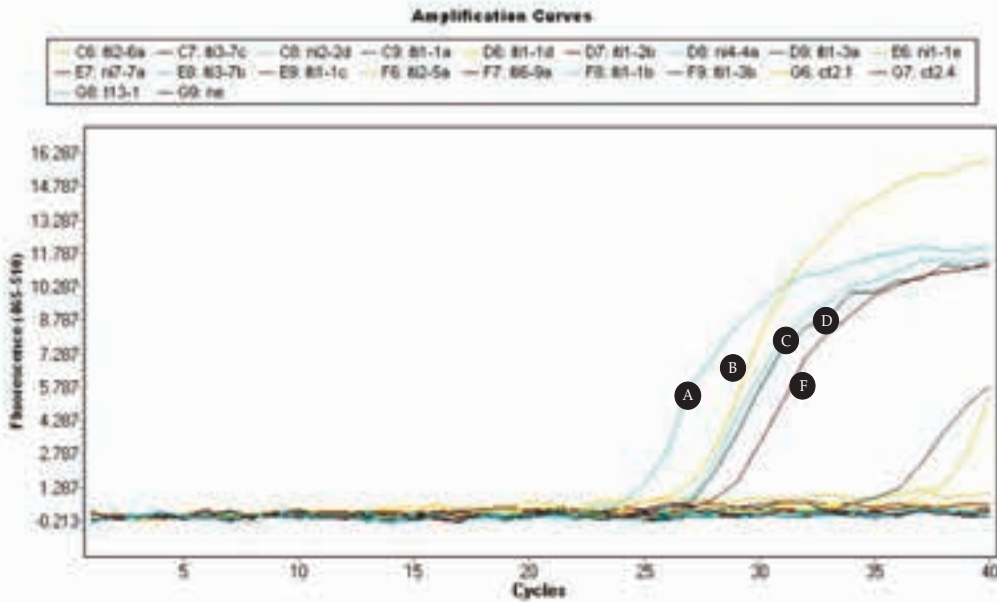
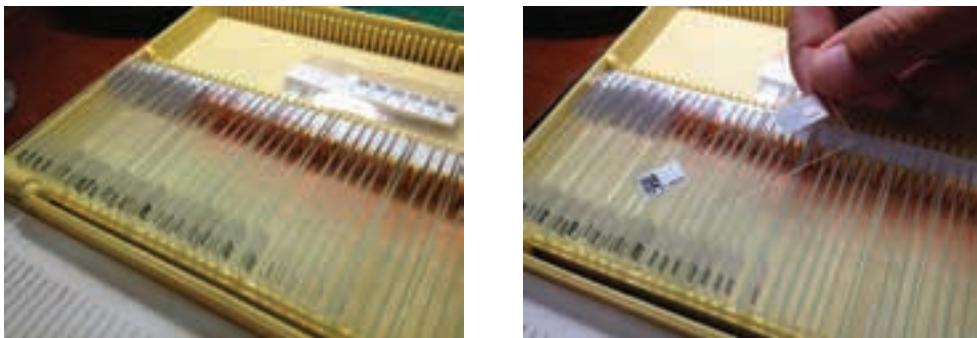


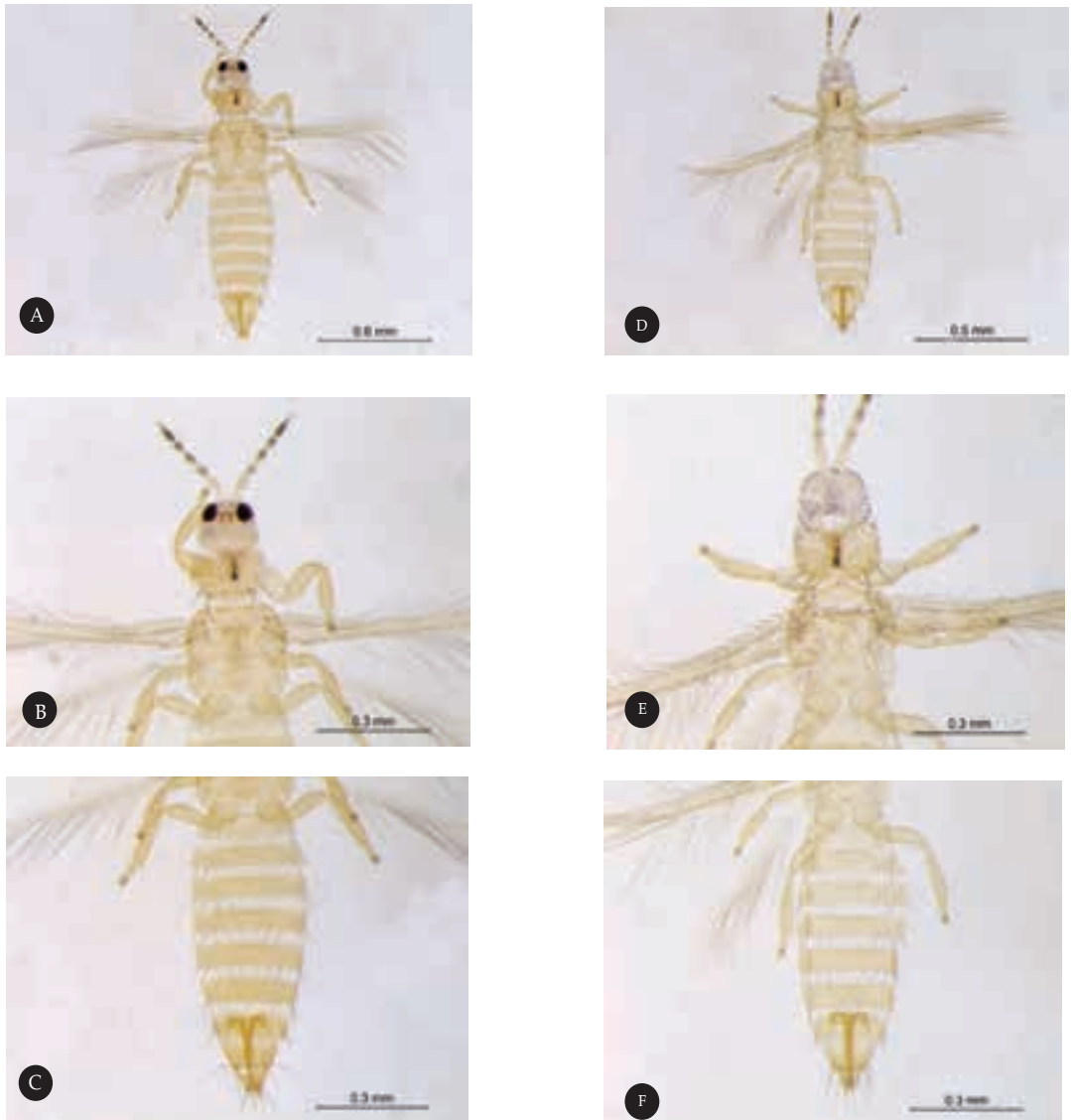
Figure 2 Sensitivity test for COI sequence-based real-time PCR assay using different primer concentrations (100 nM probe): A. dilution of 1 adult DNA, B. 10-fold dilution of *T. palmi* DNA, C. 100-fold dilution of *T. palmi* DNA, and D. 1000-fold dilution of *T. palmi* DNA



**Figure 3** Specificity test for COI sequence-based real-time PCR assay using 19 samples of Thysanoptera, 5 of which are *Thrips palmi* detected at different Cp values: A. 23.92, B. 26.17, C. 26.48, D. 26.53, and E. 27.76



**Figure 4** Museum voucher ID which the number prefixed with “EMBT ENT” are unique identifiers for the individual specimens



**Figure 5** The comparison between the sample before DNA extraction (EMBT ENT 0003437: **A.** Dorsal habitus; **B.** Head-pronotum, dorsal view **C.** abdomen, dorsal view) and after non-destructive DNA extraction (EMBT ENT 0001619: **D.** Dorsal habitus **E.** Head-pronotum, dorsal view **F.** abdomen, dorsal view)

### คำแนะนำในการเตรียมเรื่องตีพิมพ์ใน “วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา”

1. เรื่องที่จะลงพิมพ์อาจเป็นรายงานการวิจัย บทความทางวิชาการ ข่าวสาร เรื่องแปล สารานุกรม ข้อคิดเห็น หรือ ประสพการณ์ที่เกี่ยวข้องทางด้านกสิกรรม สัตววิทยา หรือที่เป็นประโยชน์ต่อวงการเกษตร ซึ่งยังไม่เคยตีพิมพ์ที่ไหนมาก่อน
2. ต้นฉบับต้องมีเนื้อเรื่องสมบูรณ์ในฉบับ พิมพ์หน้าเดียวบนกระดาษพิมพ์สี (A4) ครอบคลุมความยาวไม่เกิน 12 หน้า (รายงานการวิจัย) 6 หน้า (บทความ) และ 2 หน้า (สารานุกรม)
3. เรื่องที่รายงานการวิจัยจะมีหัวข้อเรียงตามลำดับ ดังนี้
  - 3.1 **ชื่อเรื่อง** ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ
  - 3.2 **ชื่อ และที่อยู่ผู้เขียน** ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ
  - 3.3 **Abstract** ความยาวไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเรื่อง ให้ระบุ “Key words” ท้าย Abstract
  - 3.4 **บทคัดย่อ** ความยาวไม่เกิน 5 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเรื่อง ให้ระบุ “คำหลัก” ท้าย บทคัดย่อ
  - 3.5 **คำนำ** แสดงความสำคัญของปัญหา การตรวจเอกสาร และวัตถุประสงค์ของการวิจัย
  - 3.6 **อุปกรณ์และวิธีการ** ควรเขียนให้กระชับ และเป็นลำดับขั้นตอนการดำเนินงาน
  - 3.7 **ผลการทดลองและวิจารณ์**

**ผลการทดลอง** บรรยายสรุปผลที่ได้จากการวิจัย/ทดลองอย่างกระชับ หลีกเลี่ยงการซ้ำซ้อนกับข้อความในตารางหรือรูปประกอบ (ถ้ามี) ตารางหรือรูปประกอบให้ใช้ภาษาอังกฤษทั้งหมด

**วิจารณ์** ควรประกอบด้วยหลักการที่ออกมาจากการวิจัย เปรียบเทียบกับผลการวิจัยและการตีความหมายของผู้อื่น ปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญ ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และแนวทางที่จะนำไปใช้ประโยชน์
  - 3.8 **สรุปผลการทดลอง/ สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ** ไม่ควรซ้ำซ้อนกับผลการศึกษา แต่สรุปให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์ **คำแนะนำ** อาจแยกหัวข้อใหม่ได้เพื่อความกระชับ
  - 3.9 **คำขอบคุณ** (ถ้ามี) สำหรับผู้ช่วยเหลืองานวิจัย แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย
  - 3.10 **เอกสารอ้างอิง** เขียนตามรูปแบบในข้อ 8
4. การเขียนควรใช้ภาษาที่ง่ายต่อการเข้าใจของบุคคลทั่วไป หลีกเลี่ยงการใช้ศัพท์ที่เข้าใจยาก หรือการเขียนศัพท์ ภาษาต่างประเทศที่ไม่จำเป็น และใช้วรรคตอนให้ถูกต้องเหมาะสม
 

**การเขียนชื่อวิทยาศาสตร์** ให้เขียนดังนี้

ชื่อสามัญภาษาไทย (ชื่อสามัญภาษาอังกฤษ); ชื่อวิทยาศาสตร์ ตัวอย่างเช่น

เพลี้ยอ่อนฝ้าย (cotton aphid); *Aphis gossypii* Glover หรือ

เพลี้ยอ่อนฝ้าย; *Aphis gossypii* Glover หรือ Cotton aphid; *Aphis gossypii* Glover
5. การอ้างอิงในเนื้อเรื่องให้ใช้ระบบ ชื่อ-ปี ตัวอย่างเช่น เกรียงไกรและศรุต (2549) รายงานว่า.....หรือ.....(เกรียงไกรและศรุต, 2549) กรณีผู้เขียน 3 คนขึ้นไป ให้ใช้ชื่อคนแรก ตามด้วย “และคณะ” หรือ “*et al.*” สำหรับชื่อคนไทยจากเอกสารภาษาไทยให้ใช้ชื่อตัวแทนชื่อสกุล
6. หากมีตารางหรือรูปภาพ ให้จัดพิมพ์แยกไว้ท้ายเรื่อง อาจแทรกในเนื้อเรื่องตามความเหมาะสมใส่หมายเลข และคำอธิบายทุกครั้ง โดยที่หมายเหตุ (footnote) ของตาราง ให้ใช้ตัวเลขแสดงคำอธิบาย เพิ่มเติม เช่น 1/, 2/ เป็นต้น
7. รูปถ่ายควรเป็นรูปที่มีความชัดเจนและสื่อตรงกับเรื่อง เขียนหมายเลขกำกับไว้หลังรูป (ถ้าแยกส่ง) รูปลายเส้นควรพิมพ์หรือเขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษหน้าสีขาว

8. เอกสารอ้างอิง (references, literature cited ซึ่งได้อ้างอิงในเนื้อเรื่อง) และบรรณานุกรม (bibliography) ใช้ประกอบการเขียน ไม่ได้อ้างอิงโดยตรงในเนื้อเรื่องให้เขียนดังนี้

- 8.1 เรียงลำดับเอกสารภาษาไทยก่อนภาษาอังกฤษ
- 8.2 เรียงลำดับตามตัวอักษรและสระและตามจำนวนผู้เขียน กรณีผู้เขียนคนเดียวกันให้เรียงตามปี
- 8.3 ให้ใช้รูปแบบดังนี้
  - 8.3.1 วารสาร (journal)  
ชื่อผู้เขียน. ปี. ชื่อเรื่อง. ชื่อวารสารปีที่ (ฉบับที่) : หน้า-หน้า.
  - 8.3.2 ตำรา (textbook) หรือหนังสือที่ออกไม่เป็นวารสาร  
ชื่อผู้เขียน. ปี. ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์หรือหน่วยงานที่พิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมดของหนังสือ (อาจยกเว้นได้).
  - 8.3.3 วิทยานิพนธ์ เอกสารวิชาการอื่นๆ  
ชื่อผู้เขียน. ปี. ชื่อเรื่องหรือชื่อหนังสือ. ประเภทของเอกสาร, หน่วยงานหรือสถาบันที่จัดพิมพ์, เมืองที่พิมพ์. จำนวนหน้าทั้งหมดของหนังสือ (อาจยกเว้นได้).
  - 8.3.4 เรื่องย่อในตำราหรือเอกสารที่มีผู้เขียนแยกเรื่องกันเขียน และมีบรรณธิการ  
ชื่อผู้เขียน. ปี. ชื่อเรื่อง. หน้า-หน้า (pp. Xx-xx). ใน (In): ชื่อบรรณธิการ (ใช้ชื่อตัวขึ้นก่อน) ชื่อหนังสือ. สำนักพิมพ์, เมืองที่พิมพ์.
  - 8.3.5 ชื่อผู้เขียนที่เป็นภาษาต่างประเทศให้ใช้ชื่อสกุลขึ้นก่อนสำหรับผู้เขียนคนแรกเท่านั้น ชื่อตัว ชื่อกลาง ให้ใช้เฉพาะอักษรตัวหน้าตามด้วย “.” (จุด) ส่วนชื่อคนไทยที่เป็นเอกสารภาษาไทยให้ใช้ชื่อตัวหน้าหน้าทุกคน ถ้าผู้เขียน 3 คนขึ้นไป ระหว่างชื่อให้ใส่ “ , ” (จุลภาค) และระหว่างชื่อรองสุดท้ายกับชื่อสุดท้ายให้ใส่คำว่า “และ (and)” ด้วย

#### การส่งเรื่อง

ต้นฉบับควรพิมพ์ด้วย Microsoft Word ตัวอักษร Cordia UPC ขนาดอักษร 16 ต้องมีชื่อและที่อยู่ของผู้เขียนที่ติดต่อได้ทางไปรษณีย์ โทรศัพท์ และ E-mail ให้ส่งต้นฉบับไปที่ คุณชมพูนุท จรรยาเพศ (chanyapate@gmail.com) หรือ ที่กองบรรณาธิการ (turnjits@hotmail.com) และ (turnjits@gmail.com)

#### การตรวจแก้

กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขเรื่องที่ส่งไปลงพิมพ์ทุกเรื่องตามที่เห็นสมควร โดยผ่านผู้ทรงคุณวุฒิในกองบรรณาธิการ ในกรณีที่จำเป็นจะส่งต้นฉบับที่แก้ไขแล้วคืนผู้เขียน เพื่อความเห็นชอบอีกครั้งก่อนพิมพ์

#### คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

**เรื่องที่จะลงพิมพ์** ต้องเป็นเรื่องที่ยังไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารฉบับอื่น มี 3 ประเภท คือ

1. **ผลงานวิจัย** เป็นผลงานการวิจัยทดลองที่เกี่ยวข้องทางด้านกีฏวิทยา สัตววิทยา หรือที่เป็นประโยชน์ต่อวงการเกษตร
2. **บทความ** เป็นเรื่องที่เขียนจากการรวบรวมข้อมูล ความคิดเห็น และประสบการณ์ ของงานที่เกี่ยวข้องทางด้านกีฏวิทยา สัตววิทยา หรือที่เป็นประโยชน์ต่อวงการเกษตร
3. **สารความรู้** เป็นเรื่องแปล ข่าวสารที่สำคัญ ข้อคิดเห็น หรือประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องทางด้านกีฏวิทยา สัตววิทยา หรือที่เป็นประโยชน์ต่อวงการเกษตร

## แบบฟอร์มการเขียนผลงานวิจัย

ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)

ชื่อเรื่อง (ภาษาอังกฤษ)

(ภาษาไทย) ชื่อ สกุล <sup>1/</sup> (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ สกุล <sup>2/</sup> (ผู้แต่งคนที่ 2)  
(ภาษาอังกฤษ) ชื่อ สกุล <sup>1/</sup> (ผู้แต่งคนที่ 1) ชื่อ สกุล <sup>2/</sup> (ผู้แต่งคนที่ 2)

### Abstract

สรุปวัตถุประสงค์ สถานที่ เวลาทำการทดลอง ที่เป็นสาระสำคัญของการทดลองเป็นภาษาอังกฤษ ใช้สำนวนรัดกุมและให้รายละเอียดที่ชัดเจน มีความยาว 150-250 คำ หรือ 5 เปอร์เซ็นต์ของเนื้อเรื่อง

**Key words:**

### บทคัดย่อ

มีเนื้อหาสาระเช่นเดียวกับบทคัดย่อภาษาอังกฤษ (Abstract) ควรจะอยู่ในหน้าเดียวกันกับ Abstract (ถ้าเป็นได้)

**คำหลัก :**

### คำนำ

อธิบายถึงเหตุผล แสดงความสำคัญของปัญหา การตรวจเอกสาร และวัตถุประสงค์ของการวิจัย

<sup>1/</sup> ที่อยู่ของหน่วยงาน ของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาไทย)

<sup>1/</sup> ที่อยู่ของหน่วยงาน ของผู้แต่งคนที่ 1 (ภาษาอังกฤษ)

<sup>2/</sup> ที่อยู่ของหน่วยงาน ของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาไทย)

<sup>2/</sup> ที่อยู่ของหน่วยงาน ของผู้แต่งคนที่ 2 (ภาษาอังกฤษ)

### อุปกรณ์และวิธีการ

ควรเขียนให้กระชับ และเป็นลำดับขั้นตอนที่ชัดเจน ในการดำเนินงานทดลอง

### ผลการทดลองและวิจารณ์

บรรยายสรุปผลที่ได้จากการวิจัย/ทดลองอย่างกระชับ หลีกเลี่ยงการซ้ำซ้อนกับข้อความในตาราง หรือรูปประกอบ (ถ้ามี) วิจารณ์หลักการที่ออกมาจากการวิจัย เปรียบเทียบกับผลการวิจัยและการตีความหมายของผู้อื่น ปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญ ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคต และแนวทางที่จะนำไปใช้ประโยชน์

### สรุปผลการทดลอง/ สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ไม่ควรซ้ำซ้อนกับผลการศึกษา แต่สรุปให้สอดคล้องกับวัตถุประสงค์

คำแนะนำอาจแยกหัวข้อใหม่ได้เพื่อความกระชับและชัดเจน

### คำขอบคุณ

กล่าวถึงบุคคลผู้ช่วยเหลืองานวิจัย แต่มิได้เป็นผู้ร่วมงานวิจัย

### เอกสารอ้างอิง

ตามแบบที่ได้กำหนดหลักเกณฑ์การเขียนไว้ใน

คำแนะนำในการเตรียมเรื่องตีพิมพ์ใน “วารสารกสิกรรมและสัตววิทยา” ข้อที่ 8

### ตาราง

ชื่อตารางและรายละเอียดเป็นภาษาอังกฤษ เรียงตั้งแต่ Table 1 เป็นต้นไป

### ภาพประกอบ

ภาพขาวดำ หรือภาพสี หรือภาพลายเส้น (กราฟ) เป็นต้นฉบับที่ชัดเจน สะอาด และสวยงาม

พร้อมคำอธิบายเป็นภาษาอังกฤษ เรียงตั้งแต่ Figure 1 เป็นต้นไป

