ความต้านทานเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ของหนอนกระทู้หอม

Resistance Development to *Bacillus thuringiensis* of the Beet Armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner)

อิศเรส เทียนทัด สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี ภัทรพร สรรพนุเคราะห์
กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

ได้ทำการเก็บหนอนกระทู้หอมจากพื้นที่ที่มีการระบาดของหนอน มาทำการเลี้ยงขยายเพื่อใช้ในการทดลอง เลี้ยงขยายหนอนที่รอดตายจากเชื้อ Bt เพื่อใช้เป็น selected colony และ unselected colony จากนั้นได้ทำ pretest เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่สามารถฆ่าหนอนได้อยู่ในช่วง 10-90 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วงดังกล่าวมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง $1x10^{7}$ – $1x10^{4}$ cfu/ml หนอนที่เป็น Unselected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 10.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 13.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหนอนที่เป็น selected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 8.33 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 3.33 เปอร์เซ็นต์

รหัสการทดลอง 03-04-54-02-02-01-06-55

คำนำ

หนอนกระทู้หอมเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง พบมีการระบาดทำลายพืชหลายชนิดทั้งพืชผัก พืชไร่ พืชสวน ตลอดจนไม้ดอกไม้ประดับต่างๆ ในการเข้าทำลายพืชหนอนอาจจะกัดเจาะพืชให้เป็นรูลึกแล้วเข้าไปกินอาหารอยู่ภายในรูตามส่วนต่างๆของพืชอาหาร บางครั้งหนอนจะหลบซ่อนตัวตามซอกกาบใบ ทำให้สารฆ่าแมลงที่ใช้พ่นไม่ถูกตัวหนอนโดยตรงหรือพ่นถูกตัวได้ยาก (อุทัย,2544) ซึ่งหนอนกระทู้หอมในแต่ละแหล่งจะมีการตอบสนองต่อสารฆ่าแมลงแตกต่างกัน โดยแนวโน้มที่จะมีการปรับตัวต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดใดนั้นจะขึ้นอยู่ว่าในแหล่งปลูกพืชนั้นมีการใช้สารฆ่าแมลงใดๆ อย่างต่อเนื่อง (สมชัยและคณะ, 2543; สุเทพและคณะ, 2541) และความแปรปรวนในการตอบสนองต่อสารฆ่า
แมลงที่แตกต่างกัน เป็นผลมาจากลักษณะการจัดการต่อหนอนกระทู้หอมในแต่ละแหล่งนั้นๆ (Brewer *et al.*, 1990) และผลจากการใช้สารฆ่าแมลงไม่ถูกต้อง เป็นสาเหตุให้หนอนกระทู้หอมสามารถพัฒนาความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงชนิดต่างๆ ได้อย่างรวดเร็ว กนกพรและคณะ (2537) ได้ทดสอบระดับความต้านทานของสารฆ่าแมลงกับหนอนกระทู้หอมวัยต่างๆ โดยวิธีการให้หนอนได้รับสารด้วยการกินอาหารเทียมที่มีสารฆ่าแมลงเคลือบผิวหน้าไว้ พบว่าระดับความต้านทานของหนอนกระทู้หอมจะเพิ่มขึ้นตามวัย ขนาดและน้ำหนักของหนอนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งการสร้างความต้านทานของแมลงต่อสารเคมีฆ่าแมลงเป็นปรากฏการณ์ทางชีววิทยาที่เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องไม่หยุดนิ่งโดยมีสารฆ่าแมลงเป็นตัวคัดเลือก แมลงที่รอดชีวิตอาจพัฒนาสร้างกลไกความตานทานและขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนมากขึ้นแมลงเหล่านี้จะมีจีโนไทป์ซึ่งเปลี่ยนแปลงและแสดงออกโดยมีกลไกความต้านทานตั้งแต่ 1 วิธีขึ้นไป ซึ่งจะยังผลให้แมลงเหล่านี้สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ภายหลังมีการใช้สารฆ่าแมลง และเมื่อมีการใช้สารฆ่าแมลงชนิดนั้นๆซ้ำๆในบริเวณกว้างขวางมากขึ้น จำนวนแมลงที่รอดชีวิตที่จะมียีนต้านทานก็จะยิ่งมากขึ้นตามลำดับ จนกระทั่งเป็นจำนวนส่วนใหญ่ของประชากรซึ่งแสดงให้เห็นจากประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงลดลง ทำให้ต้องใช้สารฆ่าแมลงในอัตราที่สูงขึ้นเรื่อยๆจนต้องเลิกใช้สารฆ่าแมลงชนิดนั้นในที่สุด แต่ยังมีสารฆ่าแมลงที่มีประสิทธิภาพดีในการป้องกันกำจัดหนอนกระทู้หอม ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* ไวรัส NPV และสารเคมีฆ่าแมลงบางชนิดเท่านั้น ที่ยังคงให้ผลดีอยู่ในปัจจุบัน (อัจฉรา, 2544) แต่ไม่ว่าจะเป็นสารที่มีประสิทธิภาพดีเพียงใดก็ตาม เมื่อมีการใช้ฉีดพ่นเพื่อควบคุมหนอนไปนานๆ ย่อมมีโอกาสที่หนอนกระทู้หอมจะสร้างความต้านทานต่อสารนั้นๆ ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาวิจัยและทดสอบเพื่อการติดตามประสิทธิภาพของเชื้อ Bt ที่มีต่อหนอนและตรวจสอบแนวโน้มการพัฒนาความต้านทานของหนอนกระทู้หอมต่อเชื้อ Bt

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*
2. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*
3. หนอนกระทู้หอม
3. กล้องจุลทรรศน์
4. จานแก้วเพาะเชื้อ
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ
6. อาหารเทียมเลี้ยงแมลง

วิธีการ

1. เก็บหนอนกระทู้หอมในพื้นที่ที่มีการระบาด มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วยอาหารเทียมจนได้หนอนรุ่น F1 จากนั้นแบ่งหนอนออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 100 ตัว หนอนกลุ่มที่ 1 คือกลุ่มของหนอนกระทู้หอมที่ได้รับเชื้อ Bt แล้วมีชีวิตอยู่รอด (Bt selected colony) และเลี้ยงต่อในสภาพห้องปฏิบัติการ หนอนกลุ่มที่ 2 คือกลุ่มของหนอนกระทู้หอมที่ไม่ได้รับเชื้อ Bt (Unselected colony) และเลี้ยงไว้ในสภาพห้องปฏิบัติการเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ

2.นำหนอนกระทู้หอมมาทดลองทำ pretest เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้อยู่ในช่วง 10-90 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีให้กิน (Feeding Method) บนอาหารเทียมโดยเตรียมเชื้อแบคทีเรีย Bt ด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 5 ระดับ คือ $1x10^3$, $1x10^4$, $1x10^5$, $1x10^6$ และและ $1x10^7$ cfu/ml ใช้หนอนวัย 2 ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ 20 ตัว ทำการตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายทุก 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน

3. ทดสอบค่าความเป็นพิษของเชื้อ Bt กับหนอนกระทู้หอมที่เป็น Unselected colony และ selected colony ส่วนอัตราความเข้มข้นที่ใช้คัดเลือกจะใช้ตามความเหมาะสมของการตอบสนองต่อเชื้อ Bt ตลอดจนการดำรงอยู่ของกลุ่มหนอนแต่ละรุ่น โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1. เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^2$ cfu/ml
กรรมวิธีที่ 2. เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^3$ cfu/ml
กรรมวิธีที่ 3. เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml
กรรมวิธีที่ 4. เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml
กรรมวิธีที่ 5. เชื้อ Bt ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml
กรรมวิธีที่ 6. control

ทำการทดสอบด้วยวิธีการ Diet plug method โดยการเจาะก้อนอาหารเทียมด้วย cork borer เบอร์ 1 เรียงใส่จานเพาะเชื้อ หยดสารละลาย Bt 5 ไมโครลิตรต่อก้อนอาหารเทียม ผึ่งให้แห้ง นำก้อนอาหารใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และปล่อยหนอนทดลอง 1 ตัวต่อหลอด

การบันทึกข้อมูล

ตรวจนับจำนวนหนอนที่ตายในแต่ละกรรมวิธีทุก 24 ชั่วโมงหลังการทดลองในแต่ละรุ่นจนครบ 7 วัน และ ถ้าพบหนอนตายใน control ปรับค่าเปอร์เซ็นต์การตายด้วย Abbott's formula ดังนี้

$$\% \text{ corrected mortality} = \frac{\% \text{ test mortality} - \% \text{ control mortality}}{100 - \% \text{ control mortality}} \times 100$$

จากนั้นนำข้อมูลจำนวนหนอนที่ตายมาหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตาย 50 เปอร์เซ็นต์ (LC_{50}) ด้วยโปรแกรม Probit analysis

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา : ตุลาคม 2555 – กันยายน 2556

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการคัดเลือกหนอนกระทู้หอมที่จะใช้เป็น selected colony ด้วยเชื้อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta) ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ และ $1x10^7$ cfu/ml และ *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ และ $1x10^7$ cfu/ml พบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของหนอนจากการได้รับเชื้อ Bta ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ และ $1x10^7$ cfu/ml จำนวน 86 และ 66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และพบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของหนอนจากการได้รับเชื้อ Btk ที่ความเข้มข้น $1x10^6$ และ $1x10^7$ cfu/ml จำนวน 73 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ จากนั้นนำหนอนที่รอดตายในรุ่น F1 ที่เป็นUnselected colony และselected colony มาเลี้ยงต่อจนได้หนอนในรุ่น F2 และนำหนอนวัยที่ 2 ในรุ่น F2 มาทำการทดสอบค่าความเป็นพิษของเชื้อ Bta และ Btk ต่อไป และจากการทดลองทำ pretest เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่สามารถฆ่าหนอนกระทู้หอมได้อยู่ในช่วง 10-90 เปอร์เซ็นต์ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จากการทำ pretest ครั้งที่ 1 พบว่า Bta ความเข้มข้น $1x10^3$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 6.45 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 10.33 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 38.87 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 74.65 เปอร์เซนต์ และ Bta ความเข้มข้น $1x10^7$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 91.33 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 1) และจากการทำ pretest ครั้งที่ 2 พบว่า Bta ความเข้มข้น $1x10^3$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 7.15 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 12.33 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 37.45 เปอร์เซนต์ Bta ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 77.25 เปอร์เซนต์ และ Bta ความเข้มข้น $1x10^7$ cfu/ml สามารถทำให้หนอนตายได้ 90.78 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 2) ซึ่งจากผลการทดลองช่วงความเข้มข้นของเชื้อ Bta ที่สามารถฆ่าหนอนได้อยู่ในช่วง 10-90 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วงดังกล่าวมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง $1x10^7$ – $1x10^4$ cfu/ml

จากนั้นนำหนอนที่รอดตายในรุ่น F1 ที่เป็นUnselected colony และselected colony มาเลี้ยงต่อจนได้หนอนในรุ่น F2 และนำหนอนวัยที่ 2 ในรุ่น F2 มาทำการทดสอบประสิทธิภาพเชื้อ Bta และ Btk (ตารางที่ 3) พบว่า หนอนที่เป็น Unselected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^6$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 10.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^6$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 13.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหนอนที่เป็น selected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^6$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 8.33 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^6$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 3.33 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 1 การตายของหนอนกระทู้หอมจากการได้รับเชื้อ Bta ที่อัตราความเข้มข้นต่างๆ (pretestครั้งที่1)

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
	วันที่ 7
Bta ความเข้มข้น $1x10^3$ cfu/ml	6.45
Bta ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml	10.33
Bta ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml	38.87
Bta ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml	74.65
Bta ความเข้มข้น $1x10^7$ cfu/ml	91.33
control	1.00

ตารางที่ 2 การตายของหนอนกระทู้หอมจากการได้รับเชื้อ Bta ที่อัตราความเข้มข้นต่างๆ (pretestครั้งที่2)

กรรมวิธี	เปอร์เซ็นต์การตาย
	วันที่ 7
Bta ความเข้มข้น $1x10^3$ cfu/ml	7.15
Bta ความเข้มข้น $1x10^4$ cfu/ml	12.33
Bta ความเข้มข้น $1x10^5$ cfu/ml	37.45
Bta ความเข้มข้น $1x10^6$ cfu/ml	77.25
Bta ความเข้มข้น $1x10^7$ cfu/ml	90.78
control	0

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมในรุ่น F2 ที่เป็น Unselected colony และ Selected colony

ความเข้มข้น	Unselected colony		Selected colony	
(cfu/ml)	Bta	Btk	Bta	Btk
$1x10^2$	0[1/]	0	0	0
$1x\ 10^3$	1.67	1.67	1.67	1.67
$1x\ 10^4$	1.67	3.33	3.33	1.67
$1x\ 10^5$	3.33	5.00	3.33	1.67
$1x\ 10^6$	10.00	13.33	8.33	3.33
Control	0	0	0	0

[1/] เปอร์เซ็นต์การตายของหนอนกระทู้หอมจากการตรวจนับที่เวลา 7 วันหลังจากได้รับเชื้อ

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ได้ทำการเก็บหนอนกระทู้หอมจากพื้นที่ปลูกหอมหัวใหญ่ที่มีการระบาดของหนอน มาทำการเลี้ยงขยายเพื่อใช้ในการทดลอง เมื่อเลี้ยงหนอนได้เพียงแค่ในรุ่น F1 พบว่า มีการระบาดของเชื้อโปรโตซัวทำให้หนอนอ่อนแอและติดเชื้อตายเป็นจำนวนมาก ดังนั้นจึงได้ทำการเก็บหนอนกระทู้หอมจากแหล่งปลูกพืชอื่นๆเข้ามาเลี้ยงขยายใหม่เพื่อให้มีปริมาณมากพอที่จะใช้ทำการทดลองได้ และเมื่อเมื่อเลี้ยงหนอนได้ในรุ่น F1 ทำการคัดเลือกหนอนวัย 3 จำนวน 200 ตัว และแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 100 ตัว จากนั้นทำการ infect เชื้อ Bta ลงในหนอนที่ความเข้มข้น $1x10^{7}$ cfu/ml และเลี้ยงขยายหนอนที่รอดตายจากเชื้อ Bt เพื่อใช้เป็น selected colony และunselected colony จากนั้นได้ทำ pretest เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่สามารถฆ่าหนอนได้อยู่ในช่วง 10-90 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้นของเชื้อ Bt ที่ทำให้หนอนตายอยู่ในช่วงดังกล่าวมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง $1x10^{7}$ – $1x10^{4}$ cfu/ml และหนอนที่เป็น Unselected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 10.00 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x\ 10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 13.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนหนอนที่เป็น selected colony เมื่อได้รับเชื้อ Bta ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 8.33 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อได้รับเชื้อ Btk ความเข้มข้นที่ทำให้หนอนตายสูงที่สุดคือ $1x10^{6}$ cfu/ml โดยมีเปอร์เซ็นต์การตาย 3.33 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คุณมยุรา พงษ์ชวาล คุณปานนภา ภู่ทอง คุณวิทวัส สอนอ่อน คุณกษมา นามแดง คุณอำไพ หาญมนตรี และทีมงานทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและช่วยปฏิบัติงานทดลองครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

กนกพร อุ่นใจชน, สุเทพ สหายา, อุทัย เกตุนุติ, อัจฉรา ตันติโชดกและเกศรา จีรจรรยา. 2537. การศึกษา ความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆต่อหนอนกระทู้หอม. รายงานการค้นคว้าและวิจัย ปี 2537. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูฝ้ายและพืชเส้นใย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

สมชัย สุวงศ์ศักดิ์ศรี, สุเทพ สหายา, กิตติ อ้อไธสงและเกศรา จีรจรรยา. 2543. รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2543. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูฝ้ายและพืชเส้นใย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการ เกษตร.

สุเทพ สหายา, สุพจน์ กิตติบุญญา, ลักขณา บำรุงศรีและเกศรา จีรจรรยา. 2541. การศึกษาความเป็นพิษ ของสารฆ่าแมลงกลุ่มต่างๆต่อหนอนกระทู้หอม. รายงานการค้นคว้าและวิจัย ปี 2541. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูฝ้ายและพืชเส้นใย. กองกีฏและสัตววิทยา, กรมวิชาการเกษตร.

อัจฉรา ตันติโชดก. 2544. บีที: การควบคุมแมลงศัตรูพืช. หน้า 183-208. *ใน*: การควบคุมแมลงศัตรูพืช โดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. หน้า 141-182. *ใน*: การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธีเพื่อการเกษตรยั่งยืน. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

Beron, C. M., L. Curatti and G. L. Salerno. 2005. New strategy for identification of novel cry-type genes from *Bacillus thuringiensis* strains. Appl. Environ. Microbiol. 71(2): 761-765.

El-Guidny, M.A., Madi, S.M., Keddis, M.E., Issa, Y.H. and Abdel-Sattar, M.M. 1982. Development of resistance to pyrethroids in field populations of the Egyptian Cotton Leafworm *Spodoptera litturalis* (Boisd.). International Pest Control 124 : 6-11.

Porcar, M. and P. Caballero. 2000. Molecular and insecticidal characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain isolated during a natural epizootic. J. Appl. Microbiol. 89(2): 309-316.