การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม จาก เซลล์เพาะเลี้ยง

Efficacy Test of *Spodoptera exigua* Nucleopolyhedrovirus Product from Cell Culture

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต สาทิพย์ มาลี เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม จาก เซลล์เพาะเลี้ยง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่าง เดือนตุลาคม 2550 ถึง เดือนกันยายน 2553 การทดสอบผลกระทบสารผสมผลึกไวรัสจากเซลล์ พบว่า สารผสมชนิด E ที่อัตรา 10-70% ไม่มีผลต่อผลึกไวรัส สารผสม ชนิด N อัตรา 1 M มีผลทำให้ผลึกไวรัสละลายภายใน 2 ชั่วโมง ความเข้มข้นผลึกไวรัส 10^8 – 10^9 ผลึก ทดสอบผลกระทบสารผสมต่อใบถั่วเขียวในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารผสมชนิด E อัตรา 10-20% ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของใบพืช แต่สารผสม ชนิด N อัตราต่ำสุด 0.1 M ทำให้ใบพืชเหี่ยว และ ทดสอบคุณสมบัติการเพิ่มประสิทธิภาพของสารผสม ชนิด E กับหนอนกระทู้ผัก พบว่า สารผสม ชนิด E อัตรา 10-20 % ทำให้หนอนวัย 1 และ 3 ตายเฉลี่ย 47.5-67.5 % สารผสม ชนิด N อัตราต่ำสุด 0.1 M ไม่มีผลต่อหนอน และทดสอบไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น พบว่า ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง อัตราความเข้มข้น 3 x 10^6 ผลึก/มล. ปริมาตร 10 μl/ถ้วยอาหารเทียมขนาด 2 ออนซ์/หนอน 1 ตัว ทำให้หนอนกระทู้หอมตายเฉลี่ย 93.33 % ภายใน 7 วันหลังจากหนอนกินผลึกไวรัส ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพในแปลงทดลองจะดำเนินการในปีต่อไป

คำหลัก : เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง, ไวรัสโรคของแมลง , insect cell culture , Se cell line, primary cell line , *Spodoptera exigua*, Nucleopolyhedrovirus , NPV, microbial control, Commercial product , biopesticide

---

รหัสการทดลอง 07-01-49-06-04-02-04-51

คำนำ

การใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลงเป็นสารชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ได้แพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สหภาพโซเวียต อินเดีย จีน ญี่ปุ่น แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกา เป็นต้น บางชนิดได้มีการผลิตเป็นการค้า เนื่องจากควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีและมีความปลอดภัยสูงต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ทำให้ไวรัสมีความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลง (Entwistle, 1998) สำหรับในประเทศไทย นับแต่ปี พ.ศ. 2510 มีรายงานการศึกษาวิจัยโรคไวรัส NPV สาเหตุโรคของแมลง ในกลุ่ม Nucleopolyhedrovirus (NPV) หรือชื่อเดิม Nuclear polyhedrosis viruses (อุทัย, 2544) โดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้มีการวิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลง ชนิด *Spodoptera exigua* Multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) เป็นปริมาณมากในรูปแบบการผลิต แบบ *in vivo* คือ ผลิตจากหนอนแมลง เนื่องจาก ไวรัสจะสามารถเจริญขยายเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น การผลิตไวรัสจึงสามารถผลิตขยายได้ 2 รูปแบบ คือ การผลิตจากหนอนแมลง เรียกว่าแบบ *in vivo* และ ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง เรียกว่า แบบ *in vitro* (สุชลวัจน์, 2545; Wongwilikhit and Somsuk, 2006) ปัญหาที่พบในการผลิตไวรัส SeMNPV ที่ใช้รูปแบบการผลิต แบบ *in vivo* คือ 1.) อัตราการผลิตไวรัสแต่ละรุ่น/ชนิดไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากเลี้ยงหนอนไม่ได้ตามกำหนดเวลาที่ต้องการใช้แต่ละรุ่น 2.) ประสิทธิภาพไม่แน่นอน มีกลิ่นเหม็น เนื่องจากมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว รา ทั้งที่เป็นสาเหตุโรคแมลงหรือแม้แต่ไวรัสที่ต่างชนิดกัน และผลิตภัณฑ์ไวรัสไม่สามารถจำแนกชนิดได้ด้วยลักษณะทางสรีระวิทยา 3.) ผลิตภัณฑ์ไวรัสที่มีจำหน่ายทุกวันนี้ ยังไม่สามารถกำหนดมาตรฐานในการขึ้นทะเบียนสารชีวินทรีย์ตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ เพียงแต่ให้ใช้แบบไม่มีการขึ้นทะเบียนฯเท่านั้น 5.) การใช้สถานที่และแรงงานในการปฏิบัติงานมาก ซึ่งทำให้มีต้นทุนสูง และทำให้มีข้อจำกัดในกระบวนการผลิตขยายในปริมาณมาก (อุทัยและคณะ, 2537) และได้แก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นของการผลิตไวรัส SeMNPV แบบ *in vivo* จึงทำการทดลองวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง หรือที่เรียกว่า การผลิตแบบ *in vitro* โดยนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช จาก United Stated Department of Agriculture (USDA) ประเทศสหรัฐอเมริกา (สุชลวัจน์, 2539; สุชลวัจน์และคณะ, 2543; Lynn and Shapiro, 1998) มาใช้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมสายพันธุ์ไทย (Se cell line : *Spodoptera exigua* cell line) จาก Embryonic stem cell ซึ่งหนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua* Hübner) จัดเป็นแมลงศัตรูพืชที่สำคัญสามารถพบในพืชเศรษฐกิจหลายชนิด เช่น หน่อไม้ฝรั่ง ผักคะน้า ผักตระกูลกะหล่ำ บรอคเคอรี่ หอมแดง ถั่วฝักยาว กระเจี๊ยบเขียว มะเขือเทศ องุ่น ดาวเรือง เป็นต้น และสามารถผลิตขยายไวรัสจากเซลล์หนอนกระทู้หอมได้เป็นรูปแบบชนิดสารละลายได้แล้ว (สุชลวัจน์ และคณะ, 2551)

ดังนั้น จึงต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพในการทำให้หนอนกระทู้หอมเป็นโรคตาย โดยทำการทดสอบไวรัสสูตรสำเร็จที่มีคุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ ในการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ และในสภาพไร่ ก่อนที่จะแนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ให้สอดคล้องกับแนวทางการผลิตพืชให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อม เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตและการพัฒนาที่ยั่งยืนตามยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554)

วิธีดำเนินการ

ดำเนินการทดลองวิจัย 3 การทดลอง ได้แก่ 1.) ทดสอบสูตรสำเร็จไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง 2.) ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 3.) ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในแปลงทดสอบ

การทดลองที่ 1 ทดสอบประสิทธิภาพสูตรสำเร็จไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

เพาะเลี้ยงขยายเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยง จากสต๊อค ตามเทคนิควิธีการของ สุชลวัจน์ (2545) ความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น 2 x 10^5 – 1x 10^6 เซลล์/มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 27 ^{o}C ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 อัตราการเลี้ยงขยายเซลล์ (Sub-culture) 1:5 ในภาชนะ แบบ cell spin flask ขนาดจุ 500-1,000 มิลลิลิตร ทำการ sub-culture 3-4 วันต่อครั้ง คัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงให้มีค่าเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) มากกว่า 80 % เพื่อให้ได้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น 5 เท่า ภายใน 4 วัน ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (Starter cells) เพื่อขยายเพิ่มปริมาณไวรัส ตรวจนับผลึกไวรัสที่ได้ด้วย Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ นำผลึกไวรัสที่ได้ผสมสารละลายที่มีคุณสมบัติเพิ่มประสิทธิภาพโดยที่ไม่ทำอันตรายกับพืช และผลึกไวรัส โดยเลือกทดสอบสารผสมกับหนอนแมลง เช่น หนอนกระทู้หอม หนอนกระทู้ผัก หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก ทดสอบสารผสม 2 ชนิด ได้แก่ สารผสม ชนิด E อัตรา 10 และ 20% สารผสม ชนิด N อัตรา 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 M ฉีดพ่นบนใบพืช เช่น ถั่วเขียว และ ผักกาดขาวปลี และ ผลึกไวรัสจากเซลล์ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้สูตรสำเร็จไวรัส แล้วจึงนำไปใช้ในการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยใช้หนอนกระทู้หอมวัย 3 (อายุ 7 วัน) 50 ตัวต่อซ้ำ จำนวน 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น ใช้วิธีการ

infection แบบ Diet plug method ระดับความเข้มข้นเท่ากัน 3 x 10^6 ผลึก/มล. ปริมาตร 10 μl/ถ้วยอาหารเทียมขนาด 2 ออนซ์/หนอน 1 ตัว ตรวจเช็คและบันทึกผลการตายของหนอนทุกวัน

การทดลองที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในแปลงทดสอบ

วางแผนการทดลองแบบ CRD มีจำนวน และจำนวน 3 ซ้ำ จำนวน 6 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง กรรมวิธีที่ 2 ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงผสมสารเพิ่มประสิทธิภาพ กรรมวิธีที่ 3 สารผสมเพิ่มประสิทธิภาพ กรรมวิธีที่ 4 ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากแมลงอาศัย กรรมวิธีที่ 5 สารเปรียบเทียบ และ กรรมวิธีที่ 6 น้ำกลั่น ตรวจนับจำนวนแมลงในแปลงปลูกพืชที่มีหนอนกระทู้หอมเป็นศัตรูที่สำคัญ และวิเคราะห์ผลการทดลอง

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ดำเนินการทดลองวิจัย ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2550 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2553 ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ และแปลงเกษตรกรท้องที่ จ.กาญจนบุรี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอม จาก เซลล์เพาะเลี้ยง จำนวน 3 การทดลอง ได้แก่ 1.) ทดสอบสูตรสำเร็จไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง 2.) ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ 3.) ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในแปลงทดสอบ มีดังนี้

การทดลองที่ 1 ทดสอบสูตรสำเร็จไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง

จากการทดสอบทดสอบสูตรสำเร็จไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง พบว่า ได้ผลึกไวรัสผสมสารละลายที่มีคุณสมบัติเพิ่มประสิทธิภาพโดยที่ไม่ทำอันตรายกับพืช และผลึกไวรัส จำนวน 1 ชนิด โดยการทดสอบสารผสมในผลิตภัณฑ์ไวรัสจาก 2 ชนิด ได้แก่ สารผสมชนิด E และ ชนิด N ผลการทดสอบผลกระทบสารผสมผลึกไวรัสจากเซลล์ พบว่า สารผสมชนิด E ที่อัตรา 10-70% ไม่มีผลต่อผลึกไวรัส สารผสม ชนิด N อัตรา 1 M มีผลทำให้ผลึกไวรัสละลายภายใน 2 ชั่วโมง ความเข้มข้นผลึกไวรัส 10^8 – 10^9 ผลึก ทดสอบผลกระทบสารผสมต่อใบถั่วเขียวในห้องปฏิบัติการ พบว่า สารผสมชนิด E อัตรา 10-20% ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของใบพืช แต่สารผสม ชนิด N อัตราต่ำสุด 0.1 M ทำให้ใบพืชเหี่ยว และ ทดสอบคุณสมบัติการเพิ่มประสิทธิภาพของสารผสม ชนิด E

กับ หนอนกระทู้ผัก พบว่า สารผสม ชนิด E อัตรา 10-20 % ทำให้หนอนวัย 1 และ 3 ตายเฉลี่ย 47.5-67.5 % สารผสม ชนิด N อัตราต่ำสุด 0.1 M ไม่มีผลต่อหนอน

การทดลองที่ 2 ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ

ทดสอบไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง กับหนอนกระทู้หอมวัยที่ 3 เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น พบว่า ไวรัส SeMNPV ที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง อัตราความเข้มข้น 3 x 10^6 ผลึก/มล. ปริมาตร 10 μl/ถ้วยอาหารเทียมขนาด 2 ออนซ์/หนอน 1 ตัว ทำให้หนอนกระทู้หอมตายเฉลี่ย 93.33 % ภายใน 7 วันหลังจากหนอนกินผลึกไวรัสเข้าไป

การทดลองที่ 3 ทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงในแปลงทดสอบ

ดำเนินการงานวิจัย ปีงบประมาณ 2553

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

ผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV ของหนอนกระทู้หอมจาก เซลล์เพาะเลี้ยงสูตรสำเร็จ ใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี ต้องมีการทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพไร่ ก่อนที่จะเผยแพร่แนะนำให้เกษตรกรนำไปใช้ให้สอดคล้องกับแนวทางการผลิตพืชให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อม นอกจากนี้ในแต่ละรอบการผลิตควรมีการทดสอบประสิทธิภาพไวรัส SeMNPV ทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการมีคุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

ทิพย์วดี อรรถธรรม และ สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2530. เอกสารวิชาการ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเพื่อกำจัดแมลงศัตรูพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต 2545. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช เอกสารประกอบการบรรยายเชิงปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต อุทัย เกตุนุติ และ พิมลพร นันทะ. 2543. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมเพื่อการผลิตเชื้อไวรัส NPV. น. 447-458. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ “แมลงและสัตว์ศัตรูพืช” ครั้งที่ 12. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. 28-31 มีนาคม 2543. ณ โรงแรมอมารี ออคิด รีสอร์ท เมืองพัทยา จังหวัดชลบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และ พิมลพร นันทะ. 2544. เชื้อไวรัส เอ็น พี วี ของหนอนคืบกะหล่ำปลี. น. 73-78. *ใน* เอกสารการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ. ครั้งที่ 5. 21-23 พฤศจิกายน 2544. โรงแรมเฟลิกซ์ ริเวอร์แคว จ.กาญจนบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต พิมลพร นันทะ และ วัชรี สมสุข.. 2545. การเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้ผักสายพันธุ์ไทยจากเอ็มบริโอ. น. 197-206. *ใน* เอกสารวิชาการประชุมสัมมนาทางวิชาการ "เทคโนโลยีการจัดการแมลงและสัตว์ศัตรูพืชเพื่อเกษตรดีที่เหมาะสม" ครั้งที่ 13. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร . 6-9 สิงหาคม 2545. ณ โรงแรม โกลเด้นแซนด์ จังหวัดเพชรบุรี.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุข เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์ และ สาทิพย์ มาลี. 2548. การตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ไวรัส NPV. รายงานผลงานประจำปี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต วัชรี สมสุข สาทิพย์ มาลี และ เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์. 2551. วิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง *(in vitro)*. น. 1-11. *ใน* เอกสารผลงานวิจัยดีเด่นและผลงานวิจัยที่เสนอเข้าร่วมพิจารณาเป็นผลงานวิจัยดีเด่นประจำปี 2550. การประชุมวิชาการประจำปี 2551 กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 16-18 มิถุนายน 2551. ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ.

สุดาวรรณ เชยชมศรี. 2542 เทคโนโลยีการผลิตไวรัสกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเซลล์. น. 72-82. *ใน* เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สารชีวินทรีย์กำจัดศัตรูพืช ในศตวรรษที่ 21. จัดโดย สมาคม กีฏและสัตววิทยาแห่งประเทศไทย กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 15-16 กรกฎาคม 2542. ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพฯ

อุทัย เกตุนุติ อัจฉรา ตันติโชดก สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต และ พิมลพร นันทะ. 2537. ปรับปรุงการผลิตและทำสูตรสำเร็จของไวรัส NPV. น. 457-486. *ใน* เอกสารวิชาการ การประชุมสัมมนาวิชาการ"แมลงและสัตว์ศัตรูพืช" ครั้งที่ 9 กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร

อุทัย เกตุนุติ. 2544. การควบคุมแมลงศัตรูพืชด้วยไวรัส NPV. น. 141-177. *ใน* เอกสารวิชาการ การควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี เพื่อการเกษตรยั่งยืน. กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร. พิมพ์ที่ โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ.

Entwisetle, P.F. 1998. A world survey of virus control of insect pests, pp. 186-201. *In* Insect viruses and pest management. Eds. F.R. Hunter-Fujita, P.F. Entewistle, H.F. Evans and N. E. Crook.