

แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกสร้างสารพิษที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง ในรูปผลึกโปรตีน ความหลากหลายของสารพิษในผลึกโปรตีนทำให้ *B. thuringiensis* สามารถฆ่าแมลงได้หลายชนิดจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมแมลงศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมี ในการวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงความหลากหลายของ *B. thuringiensis* โดยเก็บตัวอย่างดินจาก เขตป่าสมบูรณ์ อุทยานแห่งชาติเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่า และเขตห้ามล่าสัตว์ป่าในจังหวัดกระบี่ พบตัวอย่างที่มี *B. thuringiensis* 32 ตัวอย่างจากตัวอย่างดินทั้งหมด 91 ตัวอย่าง จำแนกได้ว่าเป็น *B. thuringiensis* 121 ไอโซเลทจากแบคทีเรียที่ตรวจสอบ 859 ไอโซเลท *B. thuringiensis* ทุกไอโซเลทนำมาทดสอบหาประสิทธิภาพการกำจัดหนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนใยผัก โดยการทดสอบขั้นแรกด้วยสารแขวนลอยของสปอร์และผลึกโปรตีนของ *B. thuringiensis* คัดเลือกไอโซเลทที่ทำให้หนอนผีเสื้อทั้ง 3 ชนิดตายที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ได้ 61 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพขั้นที่สอง โดยใช้ความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์ และผลึกโปรตีนที่ความเข้มข้น  $10^3$ ,  $10^5$  และ  $10^7$  โคโลนี/มิลลิลิตร ได้ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท JCPT7, JCPT16, JCPT18, JCPT64, JCPT68, JCPT74 และ JCPT89 นำมาวิเคราะห์ชนิดของยีน *cry* ที่มีผลต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera ได้แก่วัยในในกลุ่ม *cryI*, *cryII* และ *cryV* ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส จากการตรวจสอบยีน *cry* บนโครโมโซมของทั้ง 7 ไอโซเลท พบยีน *cry* จำนวน 8 ชนิด โดยจัดอยู่ในกลุ่มยีน *cryI* จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *cryIAb*, *cryIAc*, *cryIC*, *cryID*, *cryII*, *cry9A*, *cry9B* และในกลุ่มยีน *cryII* 1 ชนิด คือ *cry2A* ขณะที่บนพลาสมิดของ 7 ไอโซเลท พบยีนในกลุ่ม *cryI* จำนวน 6 ชนิด คือ *cryIAa*, *cryIAb*, *cryIAc*, *cryIC*, *cryID*, *cryII* และในกลุ่ม *cryII* คือ *cry2A* จากข้อมูลข้างต้นนี้ สามารถใช้เป็นพื้นฐานในการนำ *B. thuringiensis* ที่แยกได้ในประเทศไทยไปศึกษาเพิ่มเติม และพัฒนาให้มีประสิทธิภาพเพื่อใช้ทดแทนสารเคมีในการควบคุมแมลงศัตรูพืชต่อไป

*Bacillus thuringiensis* is a gram-positive soil bacterium characterized by its ability to produce crystal protein during sporulation. The diversity of *B. thuringiensis* insecticidal protein that is effective against a range of important pests makes *B. thuringiensis* the most interesting microbial insecticidal alternative to chemical agent. In this research, we collected soil samples from national park and wildlife sanctuary in Krabi province. *B. thuringiensis* were detected in 32 soil sample from 91 samples. From a total of 859 bacterial colonies, 121 isolates were identified as *B. thuringiensis*. All isolates of *B. thuringiensis* were screened for their insecticidal activity against *Spodoptera litura*, *S. exigua* and *Plutella xylostella*. The preliminary test using spore - crystal suspension showed two level of mortality at 100% and lower. Sixty-one isolates that demonstrated their toxicity at 100% of mortality were selected for final screening test using spore-crystal mixture at the concentrations of  $10^3$ ,  $10^5$  and  $10^7$  cfu/ml. Seven isolates of *B. thuringiensis* named JCPT7, JCPT16, JCPT18, JCPT64, JCPT68, JCPT74 and JCPT89 were chosen due to their highly toxicity to *P. xylostella*. The detection of *cry* gene of these isolates was done by a method based on polymerase chain reaction (PCR). The PCR result indicated that *cryI* named *cryIAb*, *cryIAc*, *cryIC*, *cryID*, *cryII*, *cry9A*, *cry9B* and *cry2* named *cry2A* were on chromosome and *cryI* named *cryIAa*, *cryIAb*, *cryIAc*, *cryIC*, *cryID*, *cryII*, and *cry2* named *cry2A* were on plasmid DNA. This study introduced the promising *B. thuringiensis* isolates collected from soil samples which could be developed as the effective biocontrol agent for Lepidoptera pest in the future.