โครงการวิจัยย่อยที่ 5

ระดับความต้านทานของยุงลายต่อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*

Resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in the populations of *Aedes aegypti*

เลาจนา เชาวนาดิศัย ทิพย์นลิน ตะเพียนทอง นิตยา เมธาวณิชพงศ์ และ นันทพร ผลสุวรรณ์

Laojana Chowanadisai,Tipnalin Tapianthong, Nittaya Methawanitphong and Nunthaporn Phonsuwan

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ

โครงการระดับความต้านทานของยุงลายต่อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) มีวัตถุประสงค์เพื่อติดตามระดับความต้านทานต่อ Bti และทีมีฟอสของยุงลายในจังหวัดภาคกลางของประเทศ ดำเนินการศึกษาโดย สุ่มเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลายบ้าน (*Aedes aegypti*) พาหะสำคัญของโรคไข้เลือดออก ด้วยวิธีการสุ่มแบบหลายขั้นตอน (Multi – stage Random Sampling) โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรีและสระบุรี เลี้ยงลูกน้ำจนกระทั่งเป็นยุงตัวเต็มวัย รวบรวมไข่ยุงให้ได้ปริมาณเพียงพอสำหรับใช้ทดสอบด้วยวิธีชีววิเคราะห์ (Bioassay)กับทีมีฟอสชนิด EC และBti (Standard Bti 2-08) ทดสอบซ้ำ 5 ครั้ง เทียบกับยุงสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการที่มีความไวต่อเคมีกำจัดแมลง วิเคราะห์ข้อมูลโดยการหาค่าเฉลี่ย LC_{50} , ค่า 95% CI, ค่า SD, ค่า SE, ค่า CV, ค่าสัดส่วนของ maximumและminimum interval และ Resistance ratio เทียบกับยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของทีมีฟอสและBti พบว่า มีสัดส่วนความต้านทานของทีมีฟอส เท่ากับ 1.68, 1.24, 1.52, 3.25 และ 2.44 ในขณะที่สัดส่วนความต้านทานของ Bti เท่ากับ 1.05, 0.74, 0.89, 1.17 และ 1.34 ตามลำดับแต่ละจังหวัดข้างต้น จะเห็นว่ายุงลายทั้ง 5 จังหวัด ไม่แสดงความต้านทานต่อBti และทีมีฟอส แต่มีสัดส่วนความต้านต่อทีมีฟอสสูงกว่าBti ดังนั้น หากจะใช้แบคทีเรียในการควบคุมลูกน้ำยุงลายทดแทนทีมีฟอสก็สามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : ลูกน้ำยุงลายบ้าน, ความต้านทาน, *Bacillus thuringiensis*

ABSTRACT

The objective of Resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in population of *Aedes aegypti* project was conducted to monitor the resistance to Bti and temephos among field populations of *Ae.aegypti* from various provinces in the central plain of Thailand. The study comprised collection of *Ae. aegypti* larvar from Chachoengsao, Rachaburi, Prachuap Khiri Khan, Suphanburi and Saraburi provinces base on Multi – stage Random Sampling, laboratory colonization, eggs collected in each stain were reared. Susceptibility to temephos EC and in-house secondary standard Bti were assayed using larval bioassays, in comparison with laboratory susceptible stairn, 5 replications for each stain and analysis on average LC_{50}, 95% CI, SD, SE, CV, maximum and minimum interval ratio and resistance ratio compare with laboratory susceptible stairn. The result showed that resistance ratio when tested with temephos were 1.68, 1.24, 1.52, 3.25 and 2.44 respectively while those of Bti were 1.05, 0.74, 0.89, 1.17 and 1.34 in each province respectively. No resistance for both temephos and Bti for every province but resistance ratio for temephos was higher. If larval populations of those 5 provinces become resistance to temephos, Bti could be effectively used in replacement of temephos.

Keywords : *Aedes aegypti* larvae, resistance, *Bacillus thuringiensis*

คำนำ

ไข้เลือดออกเป็นโรคติดต่อที่มีความสำคัญมากในประเทศไทย เริ่มมีรายงานผู้ป่วยเป็นโรคไข้เลือดออกตั้งแต่ปี พ.ศ. 2492 และมีรายงานการระบาดครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2501 ในกรุงเทพมหานครและจังหวัดใกล้เคียง จากนั้นได้ระบาดไปตามจังหวัดที่เป็นศูนย์กลางการคมนาคมหรือชุมชนเมือง และนับจากปี พ.ศ. 2521 เป็นต้นมา โรคไข้เลือดออกได้แพร่กระจายไปทั่วประเทศ (กองโรคติดต่อทั่วไป, 2535) ทำให้ในแต่ละปีมีผู้ป่วยและเสียชีวิตจากโรคไข้เลือดออกเป็นจำนวนมาก การป้องกันโรคที่ได้ผลดีที่สุดยังคงใช้วิธีควบคุมยุงพาหะ (*Aedes aegypti*) และสารเคมีได้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวาง

สำหรับประเทศไทยได้นำทีมีฟอสมาใช้ควบคุมลูกน้ำยุงตั้งแต่ พ.ศ. 2511 และในปัจจุบันก็เป็นสารเคมีชนิดเดียวที่ยังใช้กันอยู่ทั่วประเทศ ที่รู้จักกันดี คือ ทรายอะเบท การใช้สารเคมีกำจัดแมลงเป็นระยะเวลานานๆ จะทำให้แมลงสร้างความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดแมลง ทำให้การควบคุมแมลงไม่ได้ผล (WHO, 1970) นอกจากนั้นสารเคมีเหล่านี้ยังก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมเป็นพิษ การปนเปื้อนสารเคมีในห่วงโซ่อาหารและทำลายแมลงอื่นที่มีประโยชน์ (Poopathi and Abidha, 2010) แม้ว่าทีมีฟอสจะมีพิษน้อยต่อคนและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ แต่มีความเป็นพิษสูงต่อนกหลายชนิด (พาลาภ, 2537)

แบคทีเรียกำจัดลูกน้ำยุงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีได้ ปริมาณการใช้งานเพื่อผลสำเร็จของการควบคุมอาจแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ขึ้นอยู่กับระดับความต้านทานต่อเคมีกำจัดแมลงชนิดนั้นๆ(Brown, 1960; Goldman, Arnold and Carton 1986; Chowanadisai,1998) กลุ่มแบคทีเรียซึ่งเป็นโรคของยุงได้รับการพัฒนาเพื่อการควบคุมแมลงและแก้ปัญหาแมลงดื้อยา เนื่องจากกระบวนการทำลายแมลงของแบคทีเรียแตกต่างจากสารเคมี (Soberón *et al.*, 2007) และ*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในกำจัดลูกน้ำยุงลายและริ้นดำ (Goldberg and Margalit, 1977; Araujo-Coutinho and Lacey, 1990; Atwood *et al.*, 1992; Chowanadisai, 2005) และได้นำมาใช้ในการควบคุมแมลงพาหะนำโรคในหลายประเทศในทวีปอเมริกา ยุโรป และอัฟริกา เป็นระยะเวลาต่อเนื่องนานกว่า 10 ปี กล่าวกันว่าโอกาสการสร้างความต้านทานของแมลงเป้าหมายต่อแบคทีเรียดังกล่าวอาจเกิดขึ้นได้แต่ใช้ระยะเวลายาวนานมาก (Becker and Ludwig, 1993) หากจะเปรียบเทียบกับการสร้างความต้านทานของแมลงต่อเคมีกำจัดแมลงประเภทออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสฟอรัส คาร์บาเมท และไพรีทรอยด์สังเคราะห์

คณะผู้วิจัยจึงได้ติดตามการสร้างความต้านทานต่อBtiและทีมีฟอส เนื่องจากมีการใช้ทีมีฟอสในการควบคุมลูกน้ำยุงลายในประเทศเป็นระยะเวลานานมากกว่า 40 ปี เพื่อให้หน่วยงานที่ควบคุมแมลงได้ทราบถึงพัฒนาการต้านทานต่อทีมีฟอส อีกทั้งจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงยังไม่เป็นที่รู้จักของประชาชนและ

หน่วยงานราชการมากนัก จึงควรมีข้อมูลเกี่ยวกับการสร้างความต้านทานต่อแบคทีเรียในยุงลายเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการบริหารจัดการการควบคุมยุงลายให้มีประสิทธิผลต่อไป

ระเบียบวิธีวิจัย

ผลิตภัณฑ์กำจัดลูกน้ำยุงลาย

ผู้วิจัยเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ 2 ชนิด ที่มีประสิทธิภาพกำจัดลูกน้ำยุงลาย คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีทีมีฟอสเป็นสารออกฤทธิ์ และผลิตภัณฑ์ที่มีแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* เป็นสารออกฤทธิ์ โดยเลือกใช้ผลิตภัณฑ์ทีมีฟอสที่อยู่ในรูปแบบน้ำมันข้น (emulsifiable concentrate, 50% w/w) ส่วนผลิตภัณฑ์แบคทีเรียได้ใช้แบคทีเรียมาตรฐาน *Bti* 2-08 ชนิดผง (lyophilized form) ซึ่งมีค่าความแรงของสารออกฤทธิ์กับ 14,370 International Toxic Unit/มิลลิกรัม

การเก็บลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ

การเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ ดำเนินการโดยวิธี Multi – stage Random Sampling โดยกำหนดให้สุ่มเก็บตัวอย่างภาคละ 5 จังหวัด ในแต่ละจังหวัดสุ่มเก็บ 2 อำเภอๆละ 2 ตำบล นำตัวอย่างลูกน้ำยุงลายที่เก็บได้มารวมกัน และให้ถือเป็นตัวแทนของจังหวัดนั้นๆ

การเพาะเลี้ยงยุงลายในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างลูกน้ำยุงลายที่เก็บมาจากจังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรี และสระบุรี มาเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงซึ่งปรับอุณหภูมิที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส ย้ายลูกน้ำใส่ถาดที่บรรจุน้ำ 1,500 มิลลิลิตร เลี้ยงลูกน้ำถาดละประมาณ 500 ตัว ให้อาหารหนูชนิดเม็ดเป็นอาหารของลูกน้ำยุงลาย เก็บย้ายตัวโม่งที่พบในถาดเลี้ยงลูกน้ำใส่ถ้วย นำใส่กรง จนเป็นตัวยุงจึงให้น้ำหวานเข้มข้น 2% เป็นอาหารของตัวยุง เมื่อยุงมีอายุ 3 วัน จึงให้กัดกินเลือดจากหนู จากนั้นสร้างที่วางไข่ โดยใช้กระดาษกรองวางในบีคเกอร์ที่บรรจุน้ำประมาณ 1 ใน 3 ของแก้ว เก็บกระดาษกรองที่มีไข่ยุงลายในวันต่อมา แล้วนำไปตากในที่ร่มจนแห้ง จึงเก็บกระดาษไข่ยุงใสกล่อง ผนึกกล่องด้วยเทปใส ให้ยุงกินเลือดครั้งต่อไปหลังจากกินเลือดครั้งแรก 5 วัน รวบรวมกระดาษไข่ยุงจากจังหวัดต่างๆให้มีปริมาณมากเพียงพอสำหรับทดสอบประสิทธิภาพกับทีมีฟอสและBti

การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดลูกน้ำยุงลาย

การทดสอบประสิทธิภาพกำจัดลูกน้ำยุงลาย ดำเนินการโดยเตรียมชุดสารผสมของทีมีฟอสและ Bti จำนวน 8-10 ความเข้มข้น บรรจุในถ้วยทดสอบๆละ 100 มิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้นห่างกัน 10 เท่า แต่ละความเข้มข้นรวมทั้งชุดควบคุม ให้เตรียม 2 ซ้ำ

นำลูกน้ำยุงลาย ระยะที่ 4 ตอนต้น (early fourth instar) ที่แข็งแรง ใส่ในถ้วยทดสอบ ๆละ 10 ตัว โดยใช้อัตราส่วนจำนวนลูกน้ำ : ปริมาณสารผสม เท่ากับ 1 ตัว : 10 มิลลิลิตร อ่านผลการตายของลูกน้ำยุง หลังการทดสอบ 24 ชั่วโมง (Busvine, 1957)

จากนั้นเตรียมชุดสารผสมของทีมีฟอสและ *Bti* ใหม่ ตามความเหมาะสม 6-8 ความเข้มข้น ให้แต่ละความเข้มข้นแตกต่างกัน 2 เท่า โดยเตรียมความเข้มข้นละ 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำ เตรียม 100 มิลลิลิตร เช่นเดียวกัน นำลูกน้ำยุงลายระยะที่ 4 ตอนต้น ที่แข็งแรง ใส่ในถ้วยทดสอบ ถ้วยละ10 ตัว ควบคุมอุณหภูมิขณะทดสอบ ที่ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส อ่านผลการตายของลูกน้ำที่ 24 ชั่วโมง หลังการทดสอบ โดยนับจำนวนลูกน้ำเป็นที่ยังแข็งแรงและมีปฏิกริยาตอบสนองต่อการเคาะถ้วยทดสอบและว่ายน้ำตามปรกติเมื่อถูกสัมผัสด้วยปลายไม้ คำนวณหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงลายตายร้อยละ 50 (LC_{50})

ดำเนินการทดสอบซ้ำอย่างน้อย 4-5 ครั้ง แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ยของ LC_{50} ค่า 95% confidence interval (95% CI) ค่า standard deviation (SD) ค่า standard error (SE) และค่า coefficient of variation (CV)

ควบคุมคุณภาพการทดสอบโดยกำหนดให้ค่า correlation coefficient (r) ไม่ต่ำกว่า 0.98 สัดส่วนของ maximum และ minimum interval ไม่เกิน 2 และค่า CV ไม่เกิน 0.15 (Dulmage *et al.*, 1990) กรณีที่พบลูกน้ำตายในชุดควบคุมแต่ไม่เกินร้อยละ 10 ให้ปรับค่าอัตราตายแท้จริงด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925)

พร้อมกับการทดสอบลูกน้ำยุงลายจากต่างจังหวัด ให้ดำเนินการทดสอบประสิทธิภาพกำจัดลูกน้ำยุงลายของทีมีฟอสและ Bti กับลูกน้ำยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการด้วย

การวิเคราะห์หาค่า Resistance ratio

โดยเปรียบเทียบสัดส่วนการต้านทานต่อแบคทีเรียทีมีฟอสของยุงลายจากจังหวัดต่างๆตามสูตร

$$\text{Resistance ratio} = \frac{LC_{50} \text{ของยุงลายต่างจังหวัด}}{LC_{50} \text{ของยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ}}$$

ผลการศึกษา

การเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ

ได้ดำเนินการเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลาย 5 จังหวัด คือ จากจังหวัดฉะเชิงเทรา ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี สุพรรณบุรี และสระบุรี จำนวนจังหวัดละ 2 อำเภอๆละ 2 ตำบล ดังตารางที่ 5.1

ตารางที่ 5.1 การเก็บตัวอย่างลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ

จังหวัด	อำเภอ	ตำบล
ฉะเชิงเทรา	บางปะกง	บางปะกง
		สองคลอง
	แปลงยาว	วังเย็น
		หัวสำโรง
ประจวบคีรีขันธ์	กุยบุรี	กุยบุรี
		เขาแดง
	ปราณบุรี	ปากน้ำปราณ
		วังก์พงษ์
ราชบุรี	จอมบึง	จอมบึง
		เบิกไพร
	ปากท่อ	ยางหัก
		หนองกระทุ่ม
สุพรรณบุรี	สามชุก	สามชุก
		กระเสียว
	เดิมบางนางบวช	ป่าสะแก
		เขาพระ
สระบุรี	บ้านหมอ	สร่างโศก
		โคกใหญ่
	เมือง	ตลิ่งชัน
		หนองยาว

การทดสอบประสิทธิภาพกับแบคทีเรียมาตรฐานและทีมีฟอส

การทดสอบหาระดับความไวหรือดื้อต่อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* ของลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ ดำเนินการควบคู่ไปกับการทดสอบโดยใช้ยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ โดยได้ใช้แบคทีเรียมาตรฐาน Bti 2-08 (14,370 ITU/mg) ในการทดสอบทุกครั้ง และได้ทดสอบลูกน้ำยุงลายทั้งสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการและจากจังหวัดต่างๆกับทีมีฟอสด้วย ผลการทดสอบแสดงไว้ในตารางที่ 5.2

ตารางที่ 5.2 ระดับความไวของลูกน้ำยุงลายต่อ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* และทีมีฟอส

สายพันธุ์	LC_{50}	
	Bti 2-08 (mg/l)	Temephos (ppm)
ห้องปฏิบัติการ	0.0249 ± 0.0009	0.0048 ± 0.0004
ฉะเชิงเทรา	0.0261 ± 0.0019	0.0081 ± 0.0003
ราชบุรี	0.0211 ± 0.0009	0.0069 ± 0.0002
ประจวบคีรีขันธ์	0.0254 ± 0.0018	0.0085 ± 0.0005
สุพรรณบุรี	0.0266 ± 0.0006	0.0150 ± 0.0005
สระบุรี	0.0306 ± 0.0017	0.0113 ± 0.0004

ค่า Resistance ratio

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในห้องปฏิบัติการของลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดต่างๆ รวมทั้งลูกน้ำยุงลายสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ จึงนำค่า LC_{50} ของจังหวัดต่างๆมาเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ ดังตารางที่ 5.3

ตารางที่ 5.3 ค่า Resistance ratio ของยุงลายจากจังหวัดต่างๆ

สายพันธุ์	Resistance ratio	
	Bti 2-08	Temephos
ห้องปฏิบัติการ	1	1
ฉะเชิงเทรา	1.0479	1.6828
ราชบุรี	0.7357	1.2395
ประจวบคีรีขันธ์	0.8861	1.5232
สุพรรณบุรี	1.1668	3.2529
สระบุรี	1.3408	2.4465

วิจารณ์

จากผลการวิจัยพบว่า สัดส่วนความต้านทาน (Resistance ratio, RR) ต่อทีมีฟอสของลูกน้ำยุงลาย จากจังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรีและสระบุรี มีค่า RR อยู่ในช่วง 1.24 – 3.25 เท่า แสดงว่าลูกน้ำยุงลายมีความต้านทานต่อทีมีฟอสเพียงเล็กน้อย โดยมีหลักเกณฑ์การพิจารณาว่าแมลงมีความต้านทานต่อสารเคมีเมื่อค่า RR สูงกว่า 10 เท่า (Knipling, 1950; Nazni *et al.*, 2005) ซึ่งลูกน้ำยุงลายในแต่ละพื้นที่จะมีความต้านทานต่อทีมีฟอสแตกต่างกันไป (Ponlawat *et al.*, 2005) ขึ้นอยู่กับพื้นฐานความไวของลูกน้ำยุงลาย ค่าความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้ และจำนวนรุ่นที่ได้รับสารเคมี (พรรณเกษมและคณะ, 2546)

จากการวิจัยพบว่า ค่า RR ของลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดฉะเชิงเทรา ราชบุรี ประจวบคีรีขันธ์ สุพรรณบุรีและสระบุรีต่อแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* อยู่ในช่วง 0.74 – 1.34 เท่าซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับลูกน้ำสายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ แสดงว่าลูกน้ำยุงลายจากจังหวัดในภาคกลางของประเทศไทย มีความต้านทานต่อ Bti น้อยมาก ถึงแม้ว่ายังไม่มีหลักเกณฑ์สำหรับใช้พิจารณาว่าแมลงมีการดื้อหรือสร้างความต้านทานต่อจุลินทรีย์กำจัดแมลงที่ชัดเจน แต่ผลการศึกษาของ Becker and Ludwig (1993) พบว่าการสร้างความต้านทานของลูกน้ำยุงลายหรือแมลงเป้าหมายอื่นๆกับแบคทีเรียสามารถเกิดขึ้นได้แต่ใช้ระยะเวลายาวนานมากเมื่อเปรียบเทียบกับการสร้างความต้านทานของแมลงต่อเคมีกำจัดแมลงประเภทออร์กาโนคลอรีน ออร์กาโนฟอสฟอรัส คาร์บาเมทและไพรีทรอยด์สังเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีผลทดสอบของ Huang *et al.* (1999) ที่ได้ทดสอบการสร้างความต้านทานของลูกน้ำยุงลายในห้องปฏิบัติการพบว่าลูกน้ำไม่สร้างความต้านทานต่อ Bti เช่นเดียวกัน

การใช้จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงจะมีความจำเป็นมากขึ้นในพื้นที่ที่มีการดื้อต่อสารเคมี เนื่องจาก Bti สามารถใช้ทดแทนทีมีฟอสหรือสารเคมีกำจัดแมลงอื่นๆ แม้ไม่มีรายงานการต้านทานของลูกน้ำยุงลายต่อ Bti แต่ก็ควรเฝ้าระวังเรื่องการดื้อต่อแบคทีเรียกำจัดลูกน้ำต่อไป ควบคู่ไปกับการติดตามความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดลูกน้ำชนิดอื่นๆ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้สารกำจัดลูกน้ำได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

สรุป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้บอกได้ว่า ลูกน้ำยุงลายจากแหล่งเพาะพันธุ์ในธรรมชาติยังไม่มีปัญหาการสร้างความต้านทานและมีความไวต่อความเป็นพิษของBti จึงสามารถนำ Bti มาใช้ประโยชน์ในการควบคุมประชากรลูกน้ำยุงลายในอัตราการใช้ปกติและใช้ทดแทนทีมีฟอสหรือสารเคมีอื่นๆในพื้นที่ที่พบปัญหาการดื้อต่อสารเคมีได้

เอกสารอ้างอิง

กองโรคติดต่อทั่วไป. งานควบคุมโรคติดต่อทั่วไป. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2535.

พาลาภ สิงหเสนี. พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2537.

พรรณเกษม แผ่พร, กสิน ศุภปฐม, ภูเบศร์ ยะอัมพันธ์, พิมพา วัฒนชัย. การศึกษาการต้านทานต่อสารเคมีทีมีฟอสของยุงลาย. วารสารควบคุมโรค 2546; 29(2): 120-124.

Anonymous. 1970. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to Organochlorine insecticide. World Health Organization. Technical report Series, 443; 66-79.

Araujo-Coutinho C.J.P.C. and L.A. Lacey. 1990. Field evaluation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* for control of blackflies in the north littoral zone of Brazil Sao Paolo State. Ebtomol Abst : 22 : 84.

Atwood D.W., J.V. Robinson, M.V. Meisch, *et al.* 1992. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* against larvae of the southern buffalo gnat, Cnephia pecuarum (Diptera : Simulidae), and the influence of water temperature. J Am Mos Cont Assoc. 8 : 126-30.

Becker N. and M. Ludwid. 1993. Investigations on possible resistance in *Aedes vexans* field populations after a 10-year application of *Bacillus thuringiensis israelensis*. J Am Mos Cont Assoc. 9 : 221-224.

Brown, A.W.A. and R. Pal. 1960. Insecticide resistance in arthropods. Wld Hlth Org Monogr. Ser 38 : 215.

Chowanadisai L. 2005. Effectiveness of bacterial larvicide products from Thai strain *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Biotechnology of *Bacillus thuringiensis* 5: 365-382.

Chowanadisai L. 1998. Factors influencing the larvicidal activity of bacterial toxin. Indian J Malariol : 35 : 117-122.

Goldberg L.J. and L. Margalit. 1977. A bacterial spore demonstrating repid larvicidal activity against *Anopheles sergentii, Uranotaenia unguiculata, Culex univittatus, Aedes aegypti* and *Cx. pipiens*. Mosq News : 37 : 355-58.

Goldman I.F., J. Arnold and B.C. Carton. 1986. Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito Aedes aegypti. J Inverte Pathol : 37 : 317-324.

Huang F.. LL. Buschman. RA. Higgins and WH. McGaughey. 1999. Inheritance of resistance to Bacillus thuringiensis toxin (Dipel ES) in the European corn borer. Science 284: 965-967.

Knipling, E.F. 1950. Insecticide resistant flies and mosquitoes. *Soap* (N.Y) 26(6): 87-88

Nazni W.A.. H.L. Lee and A.H. Azahari. 2005. Adult and larval insecticide susceptibility status of *Culex quinquefasciatus* (Say) mosquitoes in Kuala Lumpur Malaysia. *Tropical Biomedicine* 22(1): 63-68.

Ponlawat A.. J.G. Scott and L.C. Harrington. 2005. Insecticide susceptibility of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* across Thailand. Journal of Medical Entomology 42: 821-825.

Poonpathi S. and S. Abidha. 2010. Mosquitocidal bacterial toxins (*Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis*): Mode of action, cytopathological effects and mechanism of resistance. J Physiol Pathol 1(3): 22-38.

Soberón M.. LE. Fernández. C. Pérez. SS. Gill and A. Bravo. 2007. Mode of action of mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* toxins. Toxicon 49(5): 597- 600.

WHO. 1981. Instruction for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. WHO/VBC/81.807 : 1-6.