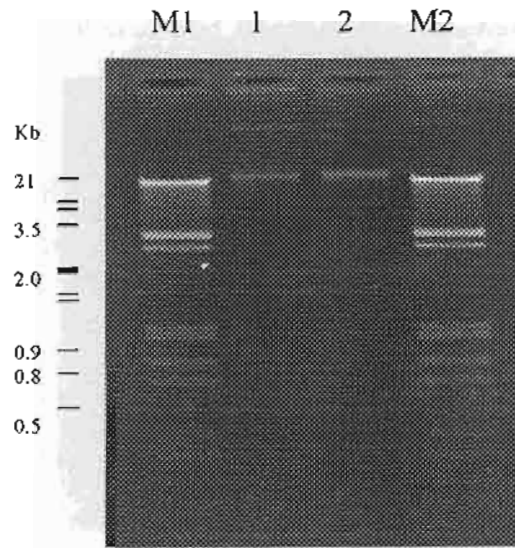




ภาพที่ 4.2 แสดงลักษณะของพลาสมิดและโครโมโซมของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590

เลน M1 และ M2 คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ 1 พลาสมิดที่สกัดได้จากการดัดแปลงวิธีของ Birnboim and Doly

เลนที่ 2 โครโมโซมสกัดที่ได้จากการดัดแปลงวิธีของ Harwood and Cutting

4.2 การตรวจสอบชนิดของยีน *cry* ใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และ สายพันธุ์ JC 590

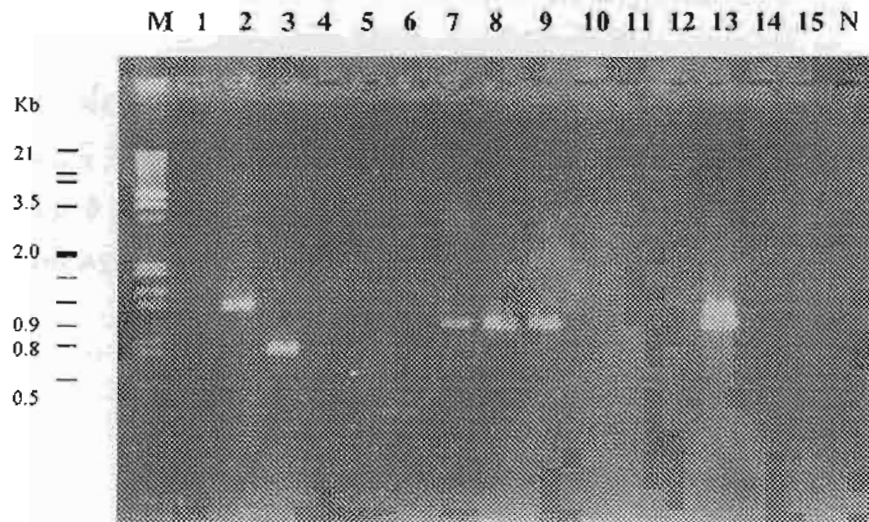
ทำการทดลองโดยใช้ไพรเมอร์ในกลุ่มย่อยของยีน *cry1* จำนวน 19 ชนิดได้แก่ยีน *cry1Aa* ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1Ac* ยีน *cry1Ad* ยีน *cry1Ae* ยีน *cry1B* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1F* ยีน *cry1G* ยีน *cry1H* ยีน *cry1I* ยีน *cry1J* ยีน *cry1K* ยีน *cry9A* ยีน *cry9B* ยีน *cry9C* ยีน และ *cry9D* (ตารางที่ 4.1) ในการศึกษาชนิดของยีน *cry1* ใน *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 จากการจัดจำแนกยีน *cry* โดยอาศัยความเป็นพิษอย่างจำเพาะเจาะจงต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera พบว่านอกจากยีนในกลุ่ม *cry1* ที่มีพิษต่อแมลงในกลุ่มดังกล่าวแล้ว ยีน *cryII* และยีน *cryV* ก็มีผลต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera ด้วย จึงได้ทำการทดลองโดยใช้ไพรเมอร์ในกลุ่มของยีน *cryII* คือยีน *cry2A* และยีนในกลุ่ม *cryV* คือยีน *cry5* ยีน *cry12* ยีน *cry13A* และยีน *cry14* (ตารางที่ 4.1) เพื่อตรวจสอบยีน *cry* ใน *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 ด้วยเทคนิค PCR

4.2.1 *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150

ผลการทำ PCR ด้วยไพรเมอร์ในกลุ่มยีน *cry* พบผลิตภัณฑ์ PCR บนโครโมโซมดีเอ็นเอ จำนวน 7 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1Ac* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1I* และยีน *cry2A* ดังแสดงในภาพที่ 4.3 และ 4.4 ส่วนบนพลาสมิดพบผลิตภัณฑ์ PCR จำนวน 9 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1Ac* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1I* ยีน *cry2A* ยีน *cry9C* และยีน *cry14* ดังแสดงในภาพที่ 4.5 และ 4.6

4.2.2 *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590

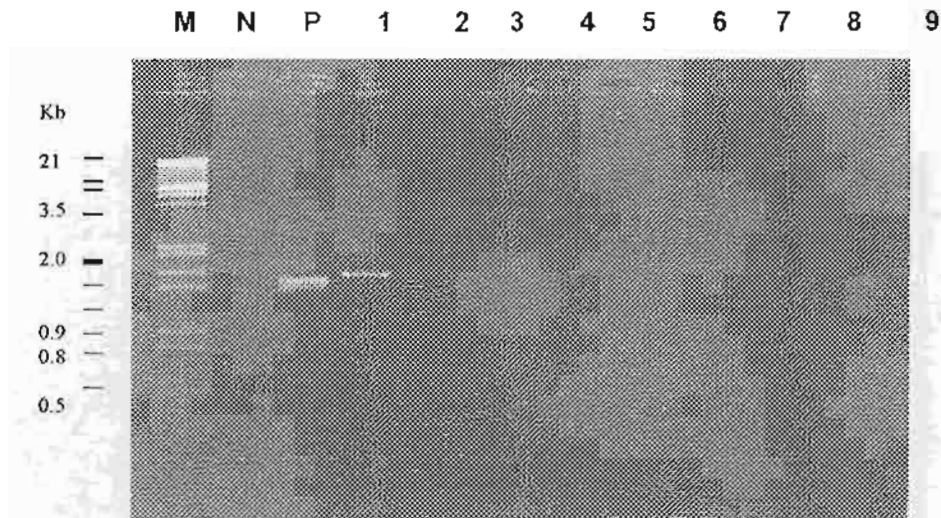
ผลการทำ PCR ด้วยไพรเมอร์ในกลุ่มยีน *cry* พบผลิตภัณฑ์ PCR บนโครโมโซมดีเอ็นเอ จำนวน 10 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1I* ยีน *cry2A* ยีน *cry9B* ยีน *cry9C* ยีน *cry12* และยีน *cry14* ดังแสดงในภาพที่ 4.7 และ 4.8 ส่วนบนพลาสมิดพบผลิตภัณฑ์ PCR จำนวน 6 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1I* และยีน *cry2A* ดังแสดงในภาพที่ 4.9 และ 4.10



ภาพที่ 4.3 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนโครโมโซม

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

- เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Aa*
- เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ab*
- เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ac*
- เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ad*
- เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ae*
- เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1B*
- เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1C*
- เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1D*
- เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1E*
- เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1F*
- เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1G*
- เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1H*
- เลนที่ 13 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1I*
- เลนที่ 14 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1J*
- เลนที่ 15 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1K*
- เลน N negative control



ภาพที่ 4.4 แสดงชนิดของยีน cry ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนโครโมโซม

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลน N negative control

เลน P positive control

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry2A

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry5

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry9A

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry9B

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry9C

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry9D

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry12

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry13A

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน cry14



ภาพที่ 4.5 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนพลาสมิด

เลน M1 คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Aa*

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ab*

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ac*

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ad*

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ae*

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1B*

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1C*

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1D*

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1E*

เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1F*

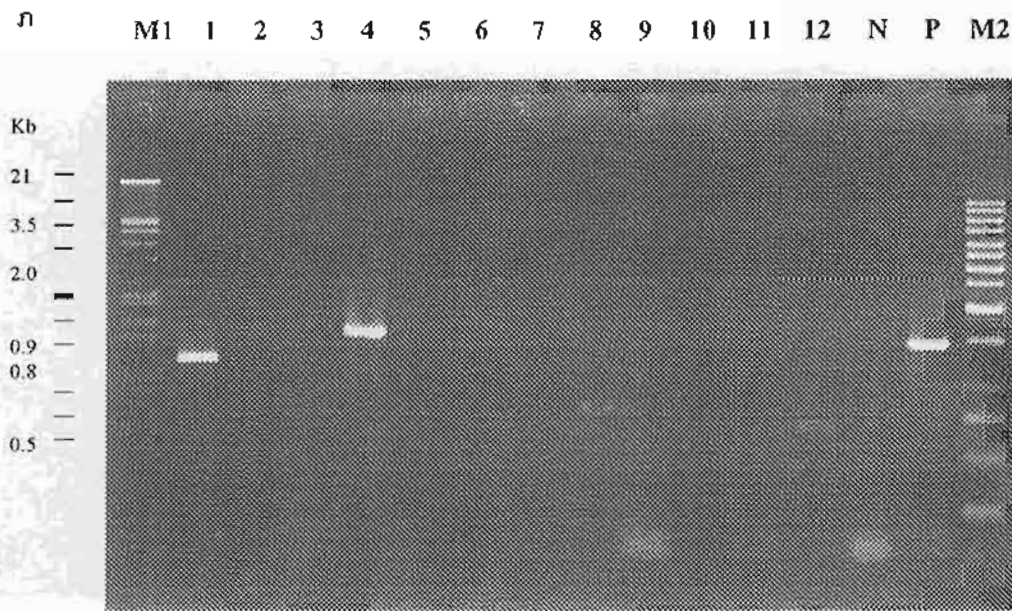
เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1G*

เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1H*

เลน N คือ negative control

เลน P คือ positive control

เลน M2 คือดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 พันคู่เบส



ภาพที่ 4.6 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนพลาสมิด .

เลน M1 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้า ดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1I*

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1J*

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1K*

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry2A*

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry5*

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9A*

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9B*

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9C*

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9D*

เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry12*

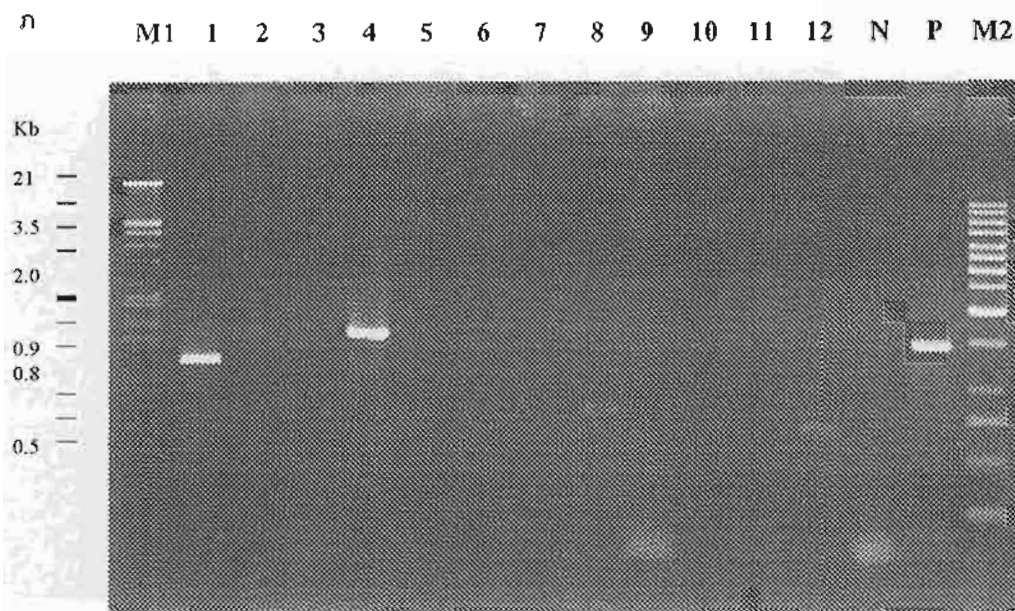
เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry13A*

เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry14*

เลน N คือ negative control

เลน P คือ positive control

เลน M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 พันคู่เบส



ภาพที่ 4.6 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนพลาสมิด

เลน M1 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้า ดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1I*

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1J*

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1K*

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry2A*

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry5*

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9A*

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9B*

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9C*

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry9D*

เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry12*

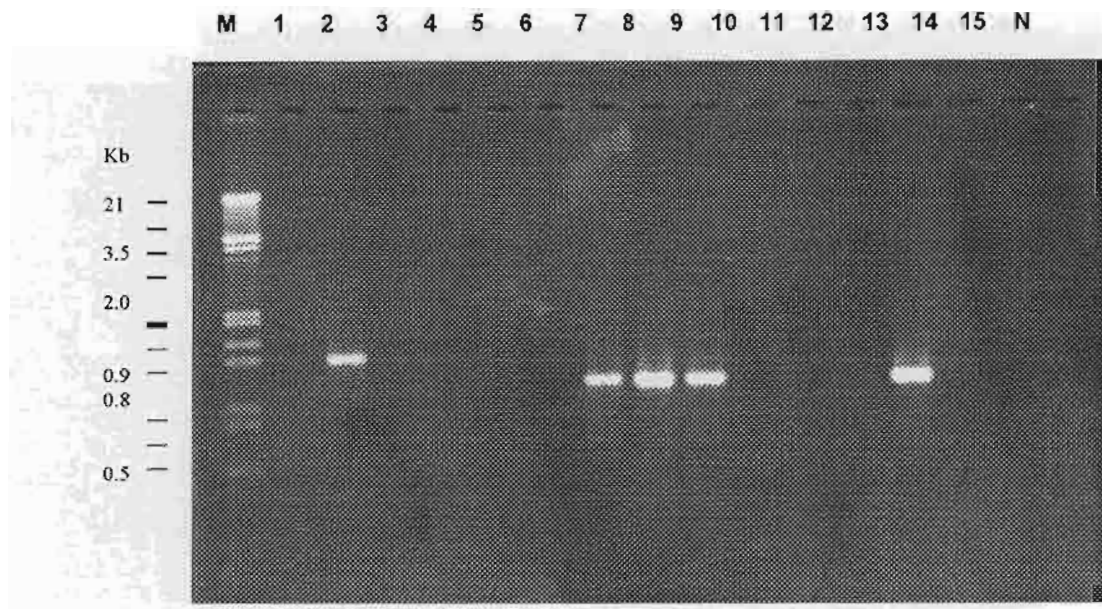
เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry13A*

เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry14*

เลน N คือ negative control

เลน P คือ positive control

เลน M2 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 พันคู่เบส



ภาพที่ 4.7 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนโครโมโซม

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Aa*

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ab*

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ac*

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ad*

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ae*

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1B*

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1C*

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1D*

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1E*

เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1F*

เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1G*

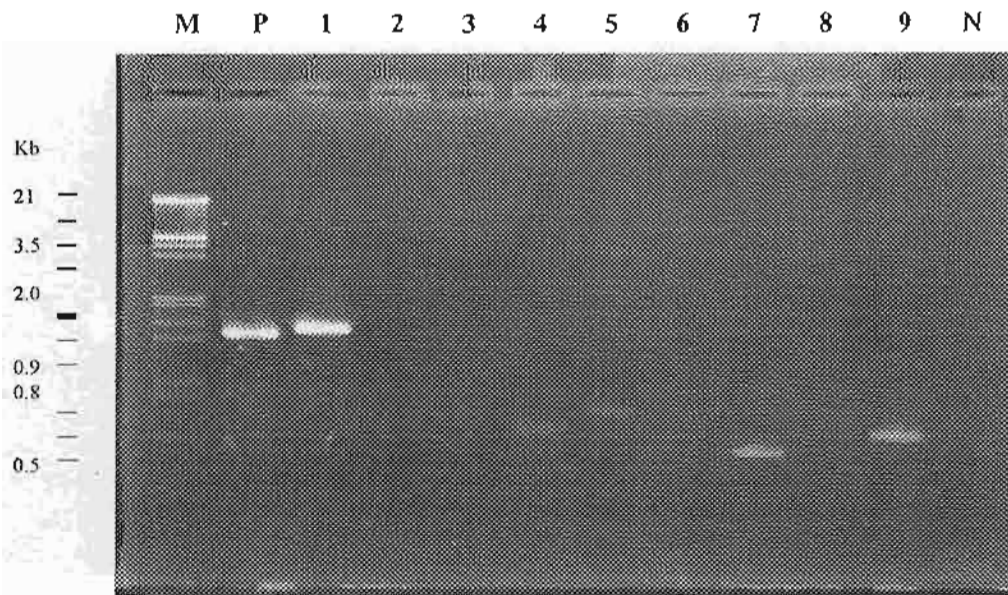
เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1H*

เลนที่ 13 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1I*

เลนที่ 14 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1J*

เลนที่ 15 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1K*

เลน N negative control



ภาพที่ 4.8 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนโครโมโซม

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ P ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน K5Un3 และ K3Un3 (positive control)

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 2A

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 5

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9A

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9B

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9C

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9D

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 12

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 13A

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 14

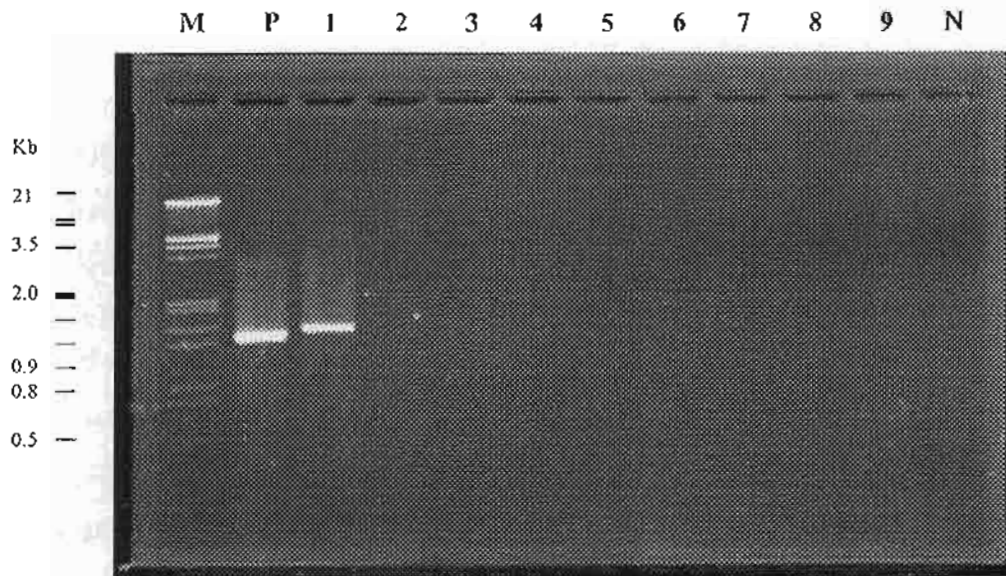
เลน N negative control



ภาพที่ 4.9 แสดงชนิดของยีน *cry1* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนพลาสมิด

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

- เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Aa*
- เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ab*
- เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ac*
- เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ad*
- เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1Ae*
- เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1B*
- เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1C*
- เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1D*
- เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1E*
- เลนที่ 10 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1F*
- เลนที่ 11 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1G*
- เลนที่ 12 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1H*
- เลนที่ 13 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1I*
- เลนที่ 14 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1J*
- เลนที่ 15 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry1K*
- เลน N negative control



ภาพที่ 4.10 แสดงชนิดของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนพลาสมิด

เลน M คือดีเอ็นเอมาตรฐานแลมด้าดีเอ็นเอตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ *HindIII* และ *EcoRI*

เลนที่ P ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน K5Un3 และ K3Un3 (positive control)

เลนที่ 1 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 2A

เลนที่ 2 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 5

เลนที่ 3 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9A

เลนที่ 4 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9B

เลนที่ 5 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9C

เลนที่ 6 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 9D

เลนที่ 7 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 12

เลนที่ 8 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 13A

เลนที่ 9 ผล PCR จากไพรเมอร์ในการสังเคราะห์ยีน *cry* 14

เลน N negative control

4.3 การหาและวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอของ *cry* genes ของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590

นำผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้จากการใช้โครโมโซมดีเอ็นเอหรือพลาสมิดเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ โคลนในดีเอ็นเอพาหะ pGEM-T Easy Vector (บริษัท Promega, USA) แล้วนำโคลนที่ได้ส่งวิเคราะห์ลำดับเบสที่หน่วยบริการชีวภาพ จากนั้นนำลำดับเบสของยีน *cry* ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูล <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BLAST-N

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสที่หน่วยบริการชีวภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 โดยใช้โครโมโซมดีเอ็นเอเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ พบว่า ลำดับเบสของยีน *cry* 1Ab มีขนาด 1,513 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1Ac มีขนาด 842 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1C มีขนาด 1,091 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1D มีขนาด 1,136 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1E มีขนาด 1,140 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1I มีขนาด 1,144 คู่เบส และลำดับเบสของยีน *cry* 2A มีขนาด 1,538 คู่เบส ซึ่งขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR และโคลนดังกล่าวข้างต้นพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของนักวิทยาศาสตร์อื่นที่มีการรายงานก่อนหน้านี้ (Juarez-Perez *et al.*, 1997; Massan *et al.*, 1998 and Ejiofor *et al.*, 2002) เมื่อนำลำดับเบสของยีน *cry* ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N พบว่าลำดับเบสของยีน สอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด (ตารางที่ 4.2)

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสที่หน่วยบริการชีวภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 โดยใช้ พลาสมิดเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ พบว่า ลำดับเบสของยีน *cry* 1Ab มีขนาด 1,367 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1Ac มีขนาด 857 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1C มีขนาด 1,132 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1D มีขนาด 1,137 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1E มีขนาด 1,145 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 1I มีขนาด 1,142 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 2A มีขนาด 1,538 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 9C มีขนาด 878 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry* 14 มีขนาด 700 คู่เบส ซึ่งขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR และโคลนดังกล่าวข้างต้นพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ Juarez-Perez *et al.* (1997) Massan *et al.* (1998) และ Ejiofor *et al.* (2002) เมื่อนำลำดับเบสของยีน *cry* ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N พบว่าลำดับเบสของยีน *cry* 1Ab, *cry* 1Ac, *cry* 1C, *cry* 1D, *cry* 1E, *cry* 1I, *cry* 2A และ *cry* 9C สอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด แต่ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *cry* 14 มีลำดับเบสที่ไม่สอดคล้องกับยีนในกลุ่ม *cry* (non specific) (ตารางที่ 4.3)

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสที่หน่วยบริการชีวภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 โดยใช้โครโมโซมดีเอ็นเอเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ พบว่า ลำดับเบสของยีน *cry1Ab* มีขนาด 1,073 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1C* มีขนาด 1,139 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1D* มีขนาด 1,121 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1E* มีขนาด 1,136 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1I* มีขนาด 1,170 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry2A* มีขนาด 1,510 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry9B* มีขนาด 636 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry9C* มีขนาด 981 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry12* มีขนาด 545 คู่เบส และ ลำดับเบสของยีน *cry14* มีขนาด 787 คู่เบส ซึ่งขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR และโคลนดังกล่าวข้างต้นพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของ Juarez-Perez *et al.* (1997) Massan *et al.* (1998) และ Ejiofor *et al.* (2002) เมื่อนำลำดับเบสของยีน *cry* ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N พบว่าลำดับเบสของยีน *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I*, *cry2A* สอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด แต่ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *cry9B*, *cry9C* *cry12* และ *cry14* มีลำดับเบสที่ไม่สอดคล้องกับยีนในกลุ่ม *cry* (non specific) (ตารางที่ 4.4)

ผลการวิเคราะห์ลำดับเบสที่หน่วยบริการชีวภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 โดยใช้ พลาสมิดเป็นดีเอ็นเอต้นแบบ พบว่า ยีน *cry1Ab* มีขนาด 1,369 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1C* มีขนาด 1,138 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1D* มีขนาด 1,131 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1E* มีขนาด 1,126 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry1I* มีขนาด 1,139 คู่เบส ลำดับเบสของยีน *cry2A* มีขนาด 1,479 คู่เบส ซึ่งขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR และโคลนดังกล่าวข้างต้นพบว่าสอดคล้องกับการทดลองของนักวิจัยอื่นๆ (Juarez-Perez *et al.*, 1997; Massan *et al.*, 1998 และ Ejiofor *et al.*, 2002) เมื่อนำลำดับเบสของยีน *cry* ที่ได้จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N พบว่าลำดับเบสของยีน *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I*, *cry2A* สอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติของลำดับเบสของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนโครโมโซมดีเอ็นเอเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N

cry 1Ab บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
DQ363750.1	plasmid pBMB67	pBMB67	100	32572-32488
BACIS231C	plasmid insertion	IS231C	100	1592-1667
AY566174.1	insertion sequence	kurstaki	97	1580-1655
AY255675.1	insertion sequence	strain Ture	96	1580-1655
AY780428.1	TnpA 165 gene	tenebrionis	91	1580-1665

cry 1Ac บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF492767.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>B. thuringiensis</i>	98	1432-2280
AY122057.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>B. thuringiensis</i>	98	1557-2405
DQ195217.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>kurstaki</i>	98	1793-2641
AJ130970.1	crystal toxin protein	<i>B. thuringiensis</i>	98	1590-2438
AJ002514.1	<i>cry</i> 218 gene	<i>kurstaki</i>	98	1822-2670

cry 1C บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B. thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY007686.1	insecticidal crystal	plasmid pYCH5855	99	1833-2670
M97880.1	cryIC-related gene	<i>B. thuringiensis</i>	99	1435-2124
M73253.1	cryIE(b)	<i>B. thuringiensis</i>	92	1338-1794
AF077326.1	cry1Be1delta-endotoxin	<i>B. thuringiensis</i>	92	1513-1904
AY176063.1	crystal protein gene	<i>B. thuringiensis</i>	92	1537-1928

cry 1D บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B. thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	cry1 gene	<i>B. thuringiensis</i>	93	1994-2482
U70725.1	cry1Gb1	<i>wuhanensis</i>	93	2286-2774
AY078160.1	cry1C	<i>B. thuringiensis</i>	95	1876-2317
X07518.1	delta-endotoxin	<i>B. thuringiensis</i>	95	1908-2349
X13620.1	delta-endotoxin	<i>aizawai</i>	95	2102-2543

cry 1E บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B. thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	cry1	<i>B. thuringiensis</i>	93	1589-2488
U70725.1	cry1Gb1	<i>wuhanensis</i>	93	1881-2780
Z22510.1	crystal	<i>B. thuringiensis</i>	93	1681-2306
M73250.1	cryIA(d)	<i>B. thuringiensis</i>	89	1539-2274
AY570735.1	cry1A	<i>kenyae</i>	95	1765-2264

cry 1I บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY262167.1	<i>cry1I</i>	<i>B. thuringiensis</i>	98	1-1142
AF521013.1	<i>cry1Ia</i>	<i>B. thuringiensis</i>	98	7-1148
AF517127.1	<i>cry1Ia</i>	<i>B. thuringiensis</i>	98	84-1225
AJ315121.1	<i>cry1Ia</i>	<i>kurstaki</i>	98	312-1543
L49391.1	CGCryV	<i>B. thuringiensis</i>	98	61-1202

cry 2A บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
DQ358053.1	<i>cry2Ad</i>	<i>B. thuringiensis</i>	91	185-938
DQ219823.1	<i>cry2Ad</i>	<i>B. thuringiensis</i>	91	185-938
AY297091.1	<i>cry2Ab</i>	<i>B. thuringiensis</i>	91	185-918
X55416.1	<i>cryIIB</i>	<i>kurstaki</i> HD-1	92	1058-1791
DQ361266.1	<i>cry2Ab</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	185-918

หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์เมื่อ 18 มีนาคม พ.ศ. 2549

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติของลำดับเบสของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 บนพลาสมิดเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N

cry 1Ab บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY895148.1	<i>cry</i> 1Ab	vector pCLT327	97	2810-4175
AF375608.1	<i>cry</i> 1Ab16	<i>B. thuringiensis</i>	97	1082-2447
X54939.1	<i>cry</i> IA(b)	<i>B. thuringiensis</i>	97	992-2357
AF059670.1	<i>cry</i> 1Ab	<i>kurstaki</i>	97	960-2325
D00117.1	delta-endotoxin	<i>kurstaki</i>	97	1082-2447

cry 1Ac บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF492767.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>B. thuringiensis</i>	99	1432-2285
AY122057.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>B. thuringiensis</i>	99	1557-2410
DQ195217.1	<i>cry</i> 1Ac	<i>kurstaki</i>	99	1793-2646
AJ130970.1	crystal toxin	<i>B. thuringiensis</i>	99	1590-2443
AJ002514.1	<i>cry</i> 218	<i>kurstaki</i>	99	1822-2675

cry 1C บณพลาสมิติ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY007686.1	<i>cry1Cb</i>	<i>B. thuringiensis</i>	98	1833-2957
M97880.1	<i>cry1C-related</i>	<i>B. thuringiensis</i>	98	1435-2559
M73253.1	<i>cry1E(b)</i>	<i>B. thuringiensis</i>	91	1338-1832
AF077326.1	<i>cry1Be1</i>	<i>B. thuringiensis</i>	90	1338-1832
AY176063.1	crystal protein	<i>B. thuringiensis</i>	90	1537-1994

cry 1D บณพลาสมิติ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	<i>cry1</i>	<i>B. thuringiensis</i>	93	1994-2482
U70725.1	<i>cry1Gb1</i>	<i>wuhanensis</i>	93	2286-2744
AY078160.1	<i>cry1C</i>	<i>B. thuringiensis</i>	95	1876-2317
X07518.1	delta-endotoxin	<i>B. thuringiensis</i>	95	1908-2349
X07518.1	delta-endotoxin	<i>aizawai</i>	95	2102-2543

cry 1E บณพลาสมิติ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	<i>cry1 gene</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	1589-2468
U70725.1	<i>cry1Gb1</i>	<i>wuhanensis</i>	92	1881-2760
AY570735.1	<i>cry1A</i>	<i>kenyae</i>	90	1516-2244
AY319967.1	<i>cry1A</i>	<i>B. thuringiensis</i>	90	1537-2265
AF510713.1	<i>cry1Aa13</i>	<i>sotto</i>	90	1561-2289

cry 1I บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY262167.1	<i>cry1I</i>	<i>B. thuringiensis</i>	96	12-1142
AF521013.1	<i>cry1Ia</i>	<i>B. thuringiensis</i>	96	18-1148
AF517127.1	<i>cry1Ia</i>	<i>B. thuringiensis</i>	96	95-1225
AJ315121.1	<i>cry1Ia</i>	<i>kurstaki</i>	96	95-1225
L49391.1	CGCryV	<i>B. thuringiensis</i>	96	72-1202

cry 2A บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
DQ358053.1	<i>cry2Ad</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	185-938
DQ219823.1	<i>cry2Ad2</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	185-938
AF200816.1	<i>cry2</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	850-1603
AY297091.1	<i>cry2Ab</i>	<i>B. thuringiensis</i>	92	185-918
X55416.1	<i>cryIIb</i>	<i>kurstaki</i>	92	1058-1791

cry 9C บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AE017194.1	-	<i>B. cereus</i>	98	5224283
CP000001.1	-	<i>B. cereus</i>	98	5300915
AE016877.1	-	<i>B. cereus</i>	98	5411809
AE017355.1	-	<i>konkukian</i>	98	5237682
AE017334.2	-	<i>B. anthracis</i>	98	5227419

cry 14 บณพลาสมิต

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY508731.1	-	Cloning vector	91	63-817
AF338824.1	-	Cloning vector	91	5717-6457
AF173954.1	-	Cloning vector	91	12-752
X65309.2	-	Cloning vector	91	62-802
AF092546.1	-	Cloning vector	91	71-811

หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์เมื่อ 18 มีนาคม พ.ศ. 2549

ตารางที่ 4.4 คุณสมบัติของลำดับเบสของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนโครโมโซมดีเอ็นเอเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N

cry 1Ab บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF375608.1	<i>cry</i> 1Ab16 gene	AC-11 (H14)	97	1082-1165
X54939.1	<i>cry</i> IA(b) gene	<i>var. aizawai</i> HD133	97	992-1575
X04698.1	<i>bt</i> 2 gene	berliner 1715	97	1060-1643
AF059670.1	<i>cry</i> 1Ab gene	<i>kurstaki</i>	97	960-1543
AF358861.1	<i>cry</i> 1Ab gene	B-Hm-16	97	2404-2987

cry 1C บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
M97880.1	<i>cry</i> IC gene	HD29	99	1435-2559
M73253.1	<i>cry</i> IE(b) gene	PS81A2	90	1338-2258
AF077326.1	<i>cry</i> 1Be1 gene	PS158C2	87	1513-2168
AY570734.1	<i>cry</i> 1B gene	<i>kurstaki</i>	87	1513-2168
Z22513.1	crystal protein	-	90	2298-2787

cry 1D บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
X54160.1	<i>cryID</i> gene	<i>aizawai</i> , HD-68	91	1369-1924
Z22511.1	crystal protein gene	-	90	1363-1901
AF358862.1	<i>cryIDb</i> operon	B-Pr-88	90	3682-4220
AF288683.1	<i>cryI</i> gene	B-Pr-88	91	1994-2488
U70725.1	<i>cryH2 (cryIGb1)</i> gene	HD-525	91	2286-2764

cry 1E บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	<i>cryI</i> gene	B-Pr-88	91	1589-2488
U70725.1	<i>cryIGb1</i> gene	<i>wuhanensis</i>	91	1516-2264
AY570735.1	<i>cryIA</i> gene	K3	90	1537-2225
AY319967.1	<i>cryIA</i> toxin gene	-	90	1534-2282
AF384211.1	<i>cryIAa</i> gene	-	90	1561-2264

cry 1I บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY262167.1	<i>cryII</i> gene	-	97	1-1134
AJ315121.1	<i>cryIIa</i> gene	BNS	97	312-1445
L49391.1	CGCryV gene	AB88	97	61-1194
M98544.1	<i>cryV</i> gene	-	97	1-1134
AF373207.1	<i>cryIIa</i> gene	-	97	1-1134

cry 2A บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF200816.1	<i>cry2</i> gene	BR30	91	850-1600
AY297091.1	crystal endotoxin gene	WZ-7	92	185-902
X55416.1	<i>cryIIIB</i> gene	<i>kurstaki</i>	92	1058-1175
AF164666.1	<i>cry2Ab</i> gene	BTC002	92	415-1132
M23724.1	<i>cryB2</i> gene	ly30	92	185-902

cry 9C บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AE017013.1	-	<i>B. cereus</i>	97	300975
AE017039.11	-	<i>B. anthracis</i>	97	291804
AE017334.2	-	<i>B. anthracis</i>	93	5227419
AE017225.1	-	<i>B. anthracis</i>	93	5228663
AE017355.1	-	<i>konkukian</i>	92	5237682

cry 9D บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
CP000001.1	-	<i>B. cereus</i>	96	5300915
AE017281.1	-	<i>B. cereus</i>	96	321052
AE017015.1	-	<i>B. cereus</i>	95	276034
AE017355.1	-	<i>konkukian</i>	95	5237682
AE017041.1	-	<i>B. anthracis</i>	96	264504

cry 12 บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AE017009.1	LysR gene	ATCC 14579	95	122438-122970
AE017355.1	LysR gene	97-27	88	3333479-3334010
AE017275.1	LysR gene	-	88	91634-92160
AE017035.1	LysR gene	-	87	65951-66482
AE017334.2	LysR gene	-	87	3262904-3263435

cry 14 บนโครโมโซมดีเอ็นเอ

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AAB59125.1	13.8 kd ORF	-	85	49-108
NP_040360.1	pColE1_05	-	85	49-108
QQEC7	C-84	-	98	4-84
P03851	Hypothetical 9.4 kDa	-	98	4-84
AAM94882.1	hypothetical	-	85	61-120

หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์เมื่อ 16 มีนาคม พ.ศ. 2549

ตารางที่ 4.5 คุณสมบัติของลำดับเบสของยีน *cry* ที่พบใน *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 บนพลาสมิดเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในฐานข้อมูลด้วยโปรแกรม BLAST-N

***cry* 1Ab บนพลาสมิด**

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF375608.1	<i>cry</i> 1Ab16 gene	AC-11 (H14)	97	1082-2447
X54939.1	<i>cry</i> IA(b) gene	var. <i>alzawai</i> HD133	97	992-2357
AF059670.1	<i>cry</i> 1Ab gene	<i>kurstaki</i>	97	960-1543
AF358861.1	<i>cry</i> 1Ab gene	B-Hm-16	97	2404-3769
AF254640.1	<i>cry</i> 1Ab gene	Btc005	97	1558-2923

***cry* 1C บนพลาสมิด**

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
M97880.1	<i>cry</i> IC gene	HD29	99	1435-2559
M73253.1	<i>cry</i> IE(b) gene	PS81A2	90	1338-2258
AF077326.1	<i>cry</i> 1Be1 gene	PS158C2	87	1513-2168
AY570734.1	<i>cry</i> 1B gene	<i>kurstaki</i>	87	1513-2168
Z22513.1	crystal protein	-	90	2298-2787

cry 1D บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
X54160.1	<i>cryID</i> gene	<i>aizawai</i> , HD-68	91	1369-1924
Z22511.1	crystal protein gene	-	90	1363-1901
AF358862.1	<i>cryIDb</i> operon	B-Pr-88	90	3682-4220
AY078160.1	<i>cryIC</i> gene	-	93	1876-2317
X13620.1	delta-endotoxin gene	<i>aizawai</i>	93	2102-2543

cry 1E บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF288683.1	<i>cryI</i> gene	B-Pr-88	92	1565-2482
U70725.1	<i>cryIGb1</i> gene	<i>wuhanensis</i>	92	1857-2774
AY570735.1	<i>cryIA</i> gene	K3	90	1516-2258
AY319967.1	<i>cryIA</i> toxin gene	-	90	1537-2279
AF384211.1	<i>cryIAa</i> gene	-	89	1534-2276

cry 1I บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AY262167.1	<i>cryII</i> gene	-	97	1-1134
AJ315121.1	<i>cryIIa</i> gene	BNS	97	312-1445
L49391.1	CGCryV gene	AB88	97	61-1194
M98544.1	<i>cryV</i> gene	-	97	1-1134
AF373207.1	<i>cryIIa</i> gene	-	97	1-1134

cry 2A บนพลาสมิด

GenBank Accession No	Gene	<i>B.thuringiensis</i> subsp./strain	Identities (%)	Position
AF200816.1	<i>cry2</i> gene	BR30	93	850-1503
AY297091.1	crystal endotoxin gene	WZ-7	93	185-838
X55416.1	<i>cryIIIB</i> gene	<i>kurstaki</i>	93	1058-1711
AF164666.1	<i>cry2Ab</i> gene	BTC002	93	415-1068
M23724.1	<i>cryB2</i> gene	ly30	93	185-838

หมายเหตุ ทำการวิเคราะห์เมื่อ 16 มีนาคม พ.ศ. 2549

ผลการทำ PCR ด้วยไพรเมอร์กลุ่มยีน *cryI* ยีน *cryII* และยีน *cryV* ซึ่งเป็นยีนที่สร้างสารพิษที่มีผลต่อหนอนผีเสื้อ และการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีนพบว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 บนโครโมโซมดีเอ็นเอ และบนพลาสมิด พบว่ายีน *cry* ที่พบบนโครโมโซมและบนพลาสมิดเป็นยีน *cry* ในกลุ่มเดียวกัน แม้ว่าจะมียีนบางชนิดที่แตกต่างกันแต่ยีนที่สำคัญต่อความเป็นพิษในแมลงก็ปรากฏอยู่ในแบคทีเรียทั้งสองชนิด แสดงว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 มียีน *cry* ที่สำคัญอย่างน้อย 2 ชุด ซึ่งน่าจะส่งผลให้มีการสร้างสารพิษ (toxicity) มากกว่าสายพันธุ์อื่นและการมียีนอยู่บนโครโมโซมดีเอ็นเอน่าจะมีเสถียรภาพมากกว่าการมียีนอยู่บนพลาสมิดเพราะพลาสมิดบางชนิดของ *B. thuringiensis* เป็นพลาสมิดที่สามารถถ่ายทอดได้ (conjugative plasmid) ซึ่งอาจจะเกิดปรากฏการณ์ plasmid loss ได้ (Gonzalez et al, 1982) ดังนั้นในสภาพที่ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 มีการสูญเสียพลาสมิด แบคทีเรียชนิดนี้น่าจะยังสามารถฆ่าหนอนได้เนื่องจากว่ายังสามารถผลิตสารพิษได้จากการแสดงออกของยีนบนโครโมโซมดีเอ็นเอ ซึ่งน่าจะเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ *B. thuringiensis* สายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพดีในการฆ่าหนอนใยผัก และจากการเปรียบเทียบระหว่างลำดับเบสของยีน *cry* บนโครโมโซมดีเอ็นเอและลำดับเบสของยีน *cry* บนพลาสมิด พบว่า ลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิดมีความเหมือนกันมาก แต่ลำดับเบสที่นำมาเปรียบเทียบกันดังกล่าวข้างต้นเป็นลำดับเบสเพียงบางส่วนของยีนเท่านั้น ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นกรดอะมิโนและโครงสร้างตติยภูมิ จึงสมควรที่จะทำการศึกษาหาลำดับเบสแบบครบทั้งยีน (full sequence) ต่อไปในอนาคต

สรุปผลการทดลอง

เมื่อนำ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มาทำการศึกษาในระดับดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ในกลุ่ม ยีน *cryI* จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ ยีน *cry1Aa* ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1Ac* ยีน *cry1Ad* ยีน *cry1Ae* ยีน *cry1B* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1F* ยีน *cry1G* ยีน *cry1H* ยีน *cry1I* ยีน *cry1J* ยีน *cry1K* ยีน *cry9A* ยีน *cry9B* ยีน *cry9C* และยีน *cry9D* ยีน *cryII* จำนวน 1 ชนิดคือยีน *cry2A* และยีน *cryV* จำนวน 4 ชนิด คือยีน *cry5* ยีน *cry12* ยีน *cry13A* และยีน *cry14* ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่ผลิตผลึกโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera พบว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มียีน *cry* จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E* และ *cry1I* บนโครโมโซมดีเอ็นเอ ขณะที่ PCR product บนพลาสมิด มียีน *cry* จำนวน 9 ชนิด ในกลุ่ม *cryI* จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I*, *cry9C* กลุ่ม *cryII* จำนวน 1 ชนิดได้แก่ *cry2A* กลุ่ม *cryV* จำนวน 1 ชนิดได้แก่ *cry14* เมื่อนำชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ไปโคลนหาลำดับเบสและตรวจสอบกับโปรแกรม BLAST-N พบว่าลำดับเบสสอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด แต่ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *cry14* บนพลาสมิด มีลำดับเบสที่ไม่สอดคล้องกับยีนในกลุ่ม *cry* (non specific)

เมื่อนำ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 มาทำการศึกษาในระดับดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ในกลุ่ม ยีน *cryI* จำนวน 19 ชนิด ได้แก่ ยีน *cry1Aa* ยีน *cry1Ab* ยีน *cry1Ac* ยีน *cry1Ad* ยีน *cry1Ae* ยีน *cry1B* ยีน *cry1C* ยีน *cry1D* ยีน *cry1E* ยีน *cry1F* ยีน *cry1G* ยีน *cry1H* ยีน *cry1I* ยีน *cry1J* ยีน *cry1K* ยีน *cry9A* ยีน *cry9B* ยีน *cry9C* และยีน *cry9D* ยีน *cryII* จำนวน 1 ชนิดคือยีน *cry2A* และยีน *cryV* จำนวน 4 ชนิด คือยีน *cry5* ยีน *cry12* ยีน *cry13A* และยีน *cry14* ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่ผลิตผลึกโปรตีนที่มีพิษต่อแมลงในอันดับ Lepidoptera พบว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 มียีน *cry* จำนวน 10 ชนิด ในกลุ่ม *cryI* จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I*, *cry9B*, *cry9C* กลุ่ม *cryII* จำนวน 1 ชนิดได้แก่ *cry2A* กลุ่ม *cryV* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ *cry12*, *cry14* บนโครโมโซมดีเอ็นเอและมียีน *cry* จำนวน 6 ชนิด ในกลุ่ม *cryI* จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* กลุ่ม *cryII* จำนวน 1 ชนิดได้แก่ *cry2A* บนพลาสมิด เมื่อนำชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR ไปโคลนและหาลำดับเบสพบว่าบนโครโมโซมชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* เมื่อนำไปตรวจสอบกับโปรแกรม BLAST-N ลำดับเบสสอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด แต่ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการใช้ไพรเมอร์ *cry9B*, *cry9C* *cry12* และ *cry14* มีลำดับเบสที่ไม่สอดคล้องกับยีนในกลุ่ม *cry* (non specific) แสดงว่าบนโครโมโซมมียีน *cry* จำนวน 6 ชนิด ในกลุ่ม *cryI*

จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และกลุ่ม *cryII* จำนวน 1 ชนิด ได้แก่ *cry2A* ส่วนบนพลาสมิดชั้นดีเอ็นเอที่ได้จากการทำ PCR เมื่อนำไปตรวจสอบกับโปรแกรม BLAST-N ลำดับเบสสอดคล้องกับลำดับเบสของยีน *cry* แต่ละชนิด

จากการทดลองในการชนิดของยีน *cry* ใน *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 พบว่าทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิดมีชนิดของยีนในกลุ่ม *cry* เหมือนกัน น่าจะเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพดีในการฆ่าหนอนใยผัก กล่าวคือ จำนวนการแสดงออกของยีน *cry* ที่มีใน *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 จะแสดงออกได้มากกว่าสายพันธุ์อื่น เนื่องจากมี *cry* กลุ่มเดียวกันทั้งบนโครโมโซมและบนพลาสมิด ในสภาพที่ *B. thuringiensis* มีการสูญเสีย พลาสมิด พบว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์นี้ยังสามารถฆ่าหนอนได้เหมือนเดิม เนื่องจากว่ายังสามารถผลิต crystal protein ได้ จากการแสดงออกของยีนบนโครโมโซม งานวิจัยในครั้งนี้เป็นเพียงส่วนหนึ่งของการศึกษาประสิทธิภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 ในชีวโมเลกุลว่าทำไม *B. thuringiensis* สายพันธุ์เหล่านี้จึงมีประสิทธิภาพในการฆ่าหนอนใยผักซึ่งเป็นแมลงศัตรูสำคัญต่อพืชผักตระกูลกะหล่ำ ผักคะน้า และผักกาดชนิดต่าง ๆ เทียบได้กับสายพันธุ์ทางการค้า

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จริยา จันทรไพแสง, ประสิทธิ์ ตีวัฒนวงศ์, วินัย รัชตปกรณชัย และ นฤมล สังข์โอธาน. 2546. การถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้บีทีจากงานวิจัยสู่เกษตรกร. 29.
- Birnboim, H. and J. Doly. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. **Nucleic Acids Res.** 7: 1513-1523.
- Carlson, C.R. and A-B. Klosto. 1993. A complete physical map of a *Bacillus thuringiensis* chromosome. **Bacteriol.** 175: 1053-1060.
- Carozzi, N. B., V. C. Kramer, G. W. Warren, S. Evola and M. Koziel. 1991. Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles. **Appl. Environ. Microbiol.** 57: 3057-3061
- Chilcott, C.N. and P. J. Wigley. 1993. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal protein. Program and Abstracts, Second Canberra *Bacillus thuringiensis* Meeting, 21-23 September 1993, CSIRO Division of Entomology, Australia.
- Crickmore N., D. R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum and D. H. Dean. 1998. Revision of the Nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* Pesticidal Crystal Proteins. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.** 62: 807-813.
- Ejiofor, A. and T. Johnson. 2002. Physiological and molecular detection of crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains from habitats in South Central United States. J. **Microbiol and Biotechnol.** 28: 284-290.
- Gonzalez, J.M., Jr., B. J. Brown and B.C. Carlton. 1982. Transfer of *Bacillus thuringiensis* plasmids coding for δ -endotoxin among strains of *B. thuringiensis* and *B. cereus*. **PNAS.**, 79: 6951-6955
- Harwood., C.R. and S.M. Cutting. 1990. **Molecular Biological Methods for Bacillus.** Acorn Bookwork, Salisbury, Wiltshire, Great Britain.

- Hofte, H. and H.R. Whitely. 1989. Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiol. Rev.** 53: 242-255.
- Juarez-Perez, V.M., M.D. Ferrandis. 1997. PCR-Base Approach for Detection of Novel *Bacillus thuringiensis* cry Genes. **Appl. Environ. Microbiol.** 63: 2997-3002.
- Masson, L., M. Erlandson, M. Puzstai-Carey., R. Brousseau., V. Juarez-Perez., R. Frutos. 1998. A Holistic approach for determining the entomopathogenic potential of *Bacillus thuringiensis* strains. **Appl. Environ. Microbiol.** 64:4782-4788.
- Mullins, K. The polymerase chain reaction. Available Source://faculty.plattsburgh.edu/Donald.slish/PCR.html. May 1, 2004.
- Porcar, M. and V. Juarez-Perez. (2003). PCR-based identification of *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal genes. **FEMS. Lett.** 26: 419-432.
- Surzycki, S. 1999. **Basic Techniques in Molecular Biology**. Springer. New York.

บทที่ 5 สรุป

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีคุณสมบัติในการสร้างโปรตีนที่เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช แต่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงการพัฒนาความต้านทานของแมลงต่อเชื้อ *B. thuringiensis* และคุณลักษณะทางชีววิทยาเฉพาะทางชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดังกล่าว ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเข้าใจอย่างถ่องแท้ ทั้งในด้านการพัฒนาความต้านทานและลักษณะทางชีววิทยาระดับพันธุศาสตร์ โมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์ *B. thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืช คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาความต้านทานของแมลงต่อ *B. thuringiensis* โดยการทดสอบประสิทธิภาพของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และ สายพันธุ์ JC590 กับหนอนไผ่ฝักจากแหล่งปลูกฝักที่มีระดับการใช้สารเคมีแตกต่างกัน คือ สายพันธุ์บางบัวทอง(BBS) และสายพันธุ์ท่าม่วง(TMS) ซึ่งเป็นตัวแทนสายพันธุ์จากแหล่งที่มีการใช้สารเคมีในระดับสูง และปานกลางตามลำดับ แนวโน้มการพัฒนาความต้านทานของหนอนไผ่ฝักต่อสายพันธุ์ JC150 และ สายพันธุ์ JC590 มีต่ำมาก กล่าวคือ อัตราความต้านทาน (RR) หนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ BBS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มีค่าเท่ากับ 0.954 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่า 0.648 และหนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ TMS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 มีค่าเท่ากับ 0.481 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่าเท่ากับ 31.58 ค่า Heritability (h^2) ของหนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ BBS กับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 เท่ากับ 0.047 และ -0.009 ส่วนหนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ TMS กับ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 และ JC590 ได้ค่า h^2 เท่ากับ 0.074 และ -0.081 และในการศึกษาเพื่อหาค่าความแรง (potency) ของ *B. thuringiensis* ทั้งสองสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐานกำกับผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าความแรงของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 กับหนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยเปรียบเทียบกับ *B. thuringiensis* มาตรฐานรูปแบบผง (TW1) มีค่าความแรง 25,473 - 57,945.94 IU และ 12,236.8 - 28,429 IU/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ *B. thuringiensis* มาตรฐานรูปแบบน้ำขุ่น (TW2) มีค่าความแรง 3,438.53 - 22,265.5 IU/ml และ 3,308 - 38,964 IU/ml ตามลำดับ ในการทดสอบเพื่อหาค่าความแรงของ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 เปรียบเทียบกับ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน โดยทดสอบกับหนอนไผ่ฝักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยใช้ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 14,975.6 - 53,600 IU/ml และ 2,293.3 - 34,970.40 IU/ml ตามลำดับ ขณะที่การเปรียบเทียบโดยใช้ TW2 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 3,228.29 - 10,776.37 IU/ml และ 2,642.6 - 7,302 IU/ml ตามลำดับ ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เป็นพิษ (cry genes) โดยเทคนิค PCR การหาลำดับดีเอ็นเอ และชีวสารสนเทศศาสตร์ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีวภาพของสายพันธุ์ และใช้ประกอบการอธิบายถึงการทำงานในระดับชีวโมเลกุลของยีนที่ควบคุมความเป็นพิษของจุลินทรีย์ต่อชนิดแมลงศัตรูพืช พบว่าใน *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 พบยีน

cry จำนวน 7 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab*, *cry1Ac*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* และ *B. thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 พบยีน *cry* จำนวน 6 ชนิด คือ ยีน *cry1Ab*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* ทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิด ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนี้นำไปสู่ความเข้าใจที่ชัดเจนยิ่งขึ้นทางพันธุศาสตร์โมเลกุลของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ โดยการศึกษาที่พบยีน *cry* ทั้งบนโครโมโซมและพลาสมิดของ *B. thuringiensis* ทั้งสองสายพันธุ์ อาจเป็นเหตุให้ทั้งสองสายพันธุ์นี้มีประสิทธิภาพสูงกว่า *B. thuringiensis* สายพันธุ์อื่น อีกทั้งการมีชนิดของยีน *cry* ที่หลากหลายยังอาจทำให้การพัฒนาความต้านทานต่อ *B. thuringiensis* ในหนอนใยผักเกิดขึ้นได้ยากดังเห็นได้จากผลการทดลองที่ค่าความต้านทานที่ได้มีความแปรปรวนสูง และการศึกษาค่าความแรงที่ไม่มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ทางการค้า แสดงถึงศักยภาพของ *B. thuringiensis* ทั้งสองสายพันธุ์ในการพัฒนาเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์บีทีต่อไป อีกทั้งองค์ความรู้ต่างๆที่เกิดขึ้นระหว่างการวิจัยสามารถที่จะนำไปสู่การประยุกต์เพื่อใช้ในการศึกษาและแสวงหาสายพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพต่อไปในอนาคต

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1

ภาคผนวก 1.1 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์บางบัวทอง (BBS) สายพันธุ์ท่าม่วง (TMS) และสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS)

ภาคผนวก 1.2 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์บางบัวทอง (BBS) สายพันธุ์ท่าม่วง (TMS) และสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS) ในการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (LC₁₀)

ภาคผนวก 1.3 - การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
- เทคนิคการย้อมสีแบคทีเรีย
- การย้อมสีแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ endospore และผลึกโปรตีน (Parasporal body)

ภาคผนวก 1.4 ตารางการวิเคราะห์ค่า LC₅₀

ตารางผนวก 1.1 อัตราการรอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์บางบัวทอง (BBS)

Diamondback Moth Strain	No. of larvae	No. of pupal	No. of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
BBS-1							
F ₄	3700	896	158	75.78	24.22	4.27	17.63
F ₅	1458	225	225	84.57	15.43	15.43	100
F ₆	853	81	27	90.5	9.5	3.16	33.33
BBS-2							
F ₆	458	203	51	55.68	44.32	11.14	25.12
F ₁	7500	179	92	97.61	2.39	1.23	51.4
F ₂	6300	99	68	98.43	1.57	1.08	58.68
F ₃	430	297	68	30.93	69.07	15.81	22.9
F ₄	220	32	11	85.45	14.54	5	34.37
BBS-3							
F ₆	4797	3139	2157	34.56	65.44	44.96	67.55
F ₁	7590	4344	1402	42.77	57.23	18.47	32.27
F ₂	949	384	167	59.54	40.46	17.6	43.49
F ₃	320	78	52	75.62	24.38	16.25	66.67
F ₄	185	101	63	45.41	54.59	34.05	62.38
F ₆	321	177	105	44.86	55.14	32.71	59.32
F ₆	134	90	54	32.84	67.16	40.3	60
BBS-4							
F ₀	1700	741	582	56.41	43.59	34.24	78.54
F ₁	3247	1895	781	41.64	58.36	24.05	41.21
F ₂	482	269	127	44.19	55.81	28.35	47.21
F ₃	337	87	33	74.18	25.82	9.79	37.93
F ₄	181	70	29	61.32	38.67	16.02	41.42

ตารางผนวก 1.1 (ต่อ)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupae	No.of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
BBS-5							
F ₀	1030	769	577	25.34	74.66	56.02	75.03
F ₁	2516	1033	829	58.94	41.06	32.95	80.25
F ₂	522	148	106	71.65	28.35	20.31	71.62
F ₃	149	44	38	70.47	29.53	71.14	86.36
BBS-6							
F ₀	8000	7824	6393	2.2	97.8	79.91	81.71
F ₁	1330	230	89	82.71	17.29	6.69	38.7
BBS-7							
F ₀	2015	1782	1316	11.56	88.44	62.31	73.65
F ₁	389	109	68	71.98	28.02	17.48	62.38
BBS-8							
F ₀	2233	1292	825	42.14	57.86	36.94	63.85
F ₁	3045	724	665	76.22	23.78	21.84	91.85
F ₂	680	558	345	17.94	82.06	50.74	61.83
F ₃	851	241	128	62.98	37.02	19.66	53.11
F ₄	3013	1018	967	66.21	33.79	32.09	94.99
F ₅	2158	1311	1134	39.25	60.75	52.55	86.5
F ₆	3062	2098	1822	31.48	68.52	59.50	86.84
F ₇	2040	1273	975	37.60	62.40	47.79	76.59
F ₈	800	345	298	56.88	43.12	37.25	86.38
F ₉	465	230	173	50.54	49.46	37.20	75.22

ตารางผนวก 1.2 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์หาม่วง (TMS)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupal	No.of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
TMS-1							
F ₀	1250	498	131	60.16	39.84	10.48	26.3
F ₁	2673	1124	820	57.95	42.05	30.68	72.95
F ₂	7120	600	408	91.57	8.43	5.73	68
F ₃	4582	2271	1987	50.44	49.56	43.36	87.49
F ₄	5387	363	112	93.26	6.74	2.08	8.3
TMS-2							
F ₀	5550	5054	3211	8.94	91.06	57.86	63.53
F ₁	4617	2901	781	37.17	62.83	16.92	26.92
F ₂	1097	274	82	75.02	24.98	7.47	29.93
TMS-3							
F ₀	1378	1026	905	25.54	74.45	65.67	88.21
F ₁	1835	471	215	74.33	25.67	11.72	45.65
F ₂	828	116	78	85.96	14.04	9.44	67.24
TMS-4							
F ₀	1644	1176	981	28.47	71.53	59.67	83.42
F ₁	696	266	79	61.78	32.22	11.35	29.7
TMS-5							
F ₀	2065	1049	858	49.2	50.8	41.55	81.79
F ₁	696	266	79	61.78	32.22	11.35	29.7
TMS-6							
F ₁	500	158	63	68.4	31.6	12.6	39.87
F ₂	580	333	258	48.59	51.41	44.48	77.48
F ₃	600	287	198	52.17	47.83	33	58.99

ตารางผนวก 1.2 (ต่อ)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupal	No.of adult	Mortality %	%Survival from larval to		%Survival from larval to	
					pupal	adult	adult	pupal to adult
TMS-7								
F ₁	705	131	98	81.42	18.58	13.90	74.81	
F ₂	738	196	151	73.44	26.56	20.46	77.04	
F ₃	802	202	182	74.81	25.19	22.69	90.10	
F ₄	782	203	172	74.04	25.96	21.99	84.73	
F ₅	636	197	167	69.02	30.97	26.26	84.77	
F ₆	585	159	140	72.82	27.18	23.93	88.05	
F ₇	633	167	139	73.62	26.38	21.96	83.23	
F ₈	349	103	82	70.48	29.51	23.50	79.61	

ตารางผนวก 1.3 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupal	No.of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
OSS							
F ₀	1280	369	162	71.17	28.83	9.84	34.14
F ₁	1559	76	64	96.12	4.87	4.11	84.21
F ₂	732	105	100	85.66	14.34	13.66	95.23
F ₃	735	90	86	87.76	12.24	11.7	95.55
F ₄	2674	413	387	84.55	15.44	14.47	93.7
F ₅	2531	352	309	86.09	13.91	12.21	87.78
F ₆	6680	548	497	91.8	8.2	7.44	90.69
F ₇	2156	325	225	84.92	15.07	10.44	69.23
F ₈	173	95	73	45.09	54.91	42.2	76.84
F ₉	181	76	39	58.01	41.99	21.55	51.32
F ₁₀	492	301	180	38.82	61.18	36.58	59.8
F ₁₁	208	156	107	25	75	51.44	68.59
F ₁₂	360	197	111	45.28	54.72	30.83	56.35
F ₁₃	948	535	348	43.57	55.43	36.71	65.05
F ₁₄	395	236	133	40.25	59.75	33.67	65.36
F ₁₅	145	57	21	60.69	39.31	14.48	36.89
F ₁₆	165	99	88	40	60	53.33	88.89
F ₁₇	234	184	104	21.37	78.63	44.44	56.52
F ₁₈	214	96	62	55.14	44.86	28.97	64.58
F ₁₉	161	49	38	59.56	30.43	23.6	77.55
F ₂₀	81	56	37	30.86	69.14	45.66	66.07

ตารางผนวก 1.4 (ต่อ)

Diamondback Moth Strain	No. of larvae	No. of pupae	No. of adult	% Mortality	% Survival from larval to pupal	% Survival from larval to adult	% Survival from pupal to adult
TMS-1							
F ₅	227	72	37	68.28	31.72	18.3	51.39
F ₆	316	94	42	70.25	29.75	13.29	44.88
F ₇	179	50	17	72.07	27.93	9.5	34
TMS-2							
*F ₂	160	53	19	66.88	33.12	11.88	35.85
TMS-3							
*F ₁	300	157	131	47.67	52.33	43.67	83.44
*F ₂	300	70	58	76.67	23.33	19.33	82.86
*F ₃	300	140	123	53.33	46.67	41.00	87.86
*F ₄	350	91	74	73.43	26.00	21.14	81.32
*F ₅	200	75	59	62.50	37.50	29.50	78.67
*F ₆	250	95	81	62.00	38.00	32.40	85.26
*F ₇	200	71	66	64.50	35.50	33.00	92.96
OSS							
F ₇	100	69	41	31	69	41	59.42
*F ₈	350	242	225	30.86	69.14	64.28	92.98
*F ₉	300	130	112	56.67	43.33	37.33	86.15
*F ₁₀	300	99	78	67.00	33.00	26.00	78.79
*F ₁₁	300	177	153	41.00	59.00	51.00	86.44
*F ₁₂	250	126	111	49.60	50.40	44.40	88.10
*F ₁₃	250	50	37	80.00	20.00	14.80	74.00
*F ₁₄	200	31	20	84.50	15.50	10.00	64.52
F ₁₅	150	18	8	88	12	5.33	44.44

ตารางผนวก 1.4 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์บางบัวทอง (BBS) สายพันธุ์ท่าม่วง (TMS) และสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS) ในการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC150 ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (LC₁₀)

Diamondback Moth Strain	No. of larvae	No. of pupal	No. of adult	% Mortality	% Survival from larval to pupal	% Survival from larval to adult	% Survival from pupal to adult
JC 150							
BBS-1							
*F ₁	500	352	165	29.6	70.4	33	46.88
F ₂	701	210	92	70.04	29.96	13.12	43.81
F ₃	201	74	49	63.18	36.82	24.38	66.22
F ₄	379	144	90	62.01	37.99	23.75	62.5
F ₅	131	48	19	63.36	36.44	14.5	39.58
BBS-2							
*F ₂	200	33	8	85.5	14.5	5	27.59
BBS-3							
*F ₁	300	201	122	33	67	40.67	60.7
*F ₂	300	81	72	73	27	24	88.89
*F ₃	300	92	66	69.33	30.67	22	71.74
*F ₄	350	56	44	84	16	12.57	78.57
*F ₅	200	111	79	44.5	55.5	39.5	71.17
*F ₆	250	62	43	75.2	24.8	17.2	69.35
*F ₇	200	58	42	71	29	21	72.41
TMS-1							
*F ₁	1170	140	44	88.03	11.97	3.76	31.43
F ₂	425	107	49	74.82	25.18	11.53	45.79
F ₃	207	77	28	62.8	37.2	13.53	36.36
F ₄	267	60	31	77.53	22.47	11.61	51.67

ตารางผนวก 1.5 อัตราการอยู่รอดและการพัฒนาการเจริญเติบโตของหนอนใยผักสายพันธุ์บางบัวทอง (BBS) สายพันธุ์ท่าม่วง (TMS) และสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS) ในการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (LC₁₀)

Diamondback Moth Strain	No. of larvae	No. of pupal	No. of adult	% Mortality	% Survival from larval to pupal	% Survival from larval to adult	% Survival from pupal to adult
JC 690							
BBS-1							
*F ₃	600	268	163	55.33	44.67	27.17	60.82
*F ₄	318	94	63	70.44	29.56	19.81	67.02
*F ₅	64	16	8	76.56	23.44	12.5	55.33
BBS-2							
*F ₁	500	413	292	17.4	82.6	58.4	70.7
F ₂	218	87	37	80.1	39.9	16.97	40.22
F ₃	193	70	41	63.73	36.27	21.24	58.57
F ₄	178	82	48	53.93	46.07	26.97	58.54
F ₅	257	132	84	48.64	51.36	24.9	48.48
BBS-3							
*F ₂	200	34	12	83	17	6	35.29
BBS-4							
*F ₁	200	52	35	74	26	17.5	67.31
BBS-5							
*F ₁	300	134	81	55.33	44.67	27	60.45
*F ₂	300	92	88	69.33	30.67	29.33	95.65
*F ₃	300	176	150	41.33	58.67	50	85.23
*F ₄	350	44	28	87.43	12.57	8	63.64
*F ₅	200	109	89	45.5	54.5	44.5	81.65
*F ₆	250	52	34	79.2	20.8	13.6	65.38
*F ₇	200	65	43	67.5	32.5	21.5	66.15

ตารางผนวก 1.5 (ต่อ)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupal	No.of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
TMS-1							
*F ₁	1360	240	184	82.35	17.65	13.53	76.67
F ₂	477	115	50	75.89	24.11	10.48	43.47
F ₃	237	90	49	62.03	37.97	20.66	54.44
F ₄	511	205	98	59.88	40.12	19.18	47.8
F ₅	311	101	49	67.52	32.48	15.76	48.51
F ₆	379	121	42	68.07	31.93	11.08	34.71
TMS-1							
F ₇	187	55	24	70.59	29.41	12.83	43.61
TMS-2							
*F ₂	160	36	17	77.5	22.5	10.62	47.22
TMS-3							
*F ₁	500	51	29	88.8	10.2	5.8	56.86
*F ₂	200	47	7	76.5	19.5	3.5	14.89
TMS-4							
*F ₁	300	161	142	46.33	53.67	47.33	88.20
*F ₂	300	57	45	81.00	19.00	15.00	78.95
*F ₃	300	108	99	64.00	36.00	33.00	91.67
*F ₄	350	111	97	68.28	31.71	27.71	87.39
*F ₅	200	88	72	56.00	44.00	36.00	81.82
*F ₆	250	89	70	64.40	35.60	28.00	78.65
*F ₇	200	87	69	56.50	43.50	34.50	79.31
OSS							
F ₇	100	58	41	42	58	41	70.68
*F ₈	350	257	215	26.57	73.43	61.43	83.86

ตารางผนวก 1.5 (ต่อ)

Diamondback Moth Strain	No.of larvae	No.of pupae	No.of adult	% Mortality	%Survival from larval to pupal	%Survival from larval to adult	%Survival from pupal to adult
OSS							
*F ₉	300	149	128	50.33	49.67	42.67	85.91
*F ₁₀	300	101	88	66.33	33.67	29.33	87.13
*F ₁₁	300	167	143	44.33	55.67	47.67	85.63
*F ₁₂	250	135	109	46.00	54.00	43.60	80.74
*F ₁₃	250	69	45	72.40	27.60	18.00	65.22
*F ₁₄	200	42	21	79.00	21.00	10.50	50.00
F ₁₅	167	9	2	94.61	5.39	1.20	22.22

หมายเหตุ * คือ หนอนใยผักที่ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bacillus thuringiensis* ที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ (LC₁₀)

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Nutrient Agar (NA)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	18	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

Nutrient Broth (NB)

Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

ปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 7.0 ด้วย 1 N NaOH และ 1 N H_3PO_4 จากนั้นทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูงที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที สำหรับอาหารในถังหมักฆ่าเชื่อนาน 30 นาที

เทคนิคการย้อมสีแบคทีเรีย

วิธีการย้อมแกรม

1. เกลี่ยเชื้อบนสไลด์ที่สะอาด ตรึงเชื้อให้แน่นด้วยการผ่านไอบานเปลวไฟ 2-3 ครั้ง
2. หยดสี ammonium oxalate crystal violet ให้ทั่วหมเชื้อที่เกลี่ยไว้นาน 1 นาที
3. ล้างสีออกด้วยน้ำไหลนาน 5 วินาที
4. ล้างสไลด์ด้วย Gram's iodine แล้วหยดสารละลายนี้ให้ทั่วมบริเวณเชื้อ
5. ล้างด้วยน้ำไหลนาน 5 วินาที
6. จุ่มสไลด์ที่ยังเปียกๆนี้ ลงใน n-propyl alcohol 3 ครั้ง นานครั้งละ 1 นาที
7. ล้างออกด้วยน้ำไหล 5 วินาที
8. หยด safranin O ให้ทั่วมบริเวณเชื้อทั้งไว้นาน 1 นาที
9. ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ ผลที่ได้ ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกจะติดสีม่วง และแกรมลบจะติดสีแดง

การย้อมสีแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ endospore และผลึกโปรตีน (Parasporal body)

1. เกลี่ยเชื้อแบคทีเรียบนสไลด์ให้เป็นฟิล์มบางๆ ทิ้งไว้ให้แห้ง
2. ตรึงเชื้อให้ติดแน่นบนสไลด์ด้วยการผ่านไอบานเปลวไฟ
3. หยด saturated malachite green ให้ทั่วบริเวณที่เกลี่ยเชื้อไว้ ให้ความร้อนโดยใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์บนไต้สไลด์ ระวังอย่าให้สีเดือดและแห้งเกินไป คอยหยดสีเติมอยู่ตลอด ให้ความร้อนเช่นนี้ประมาณ 10 นาที ล้างสีออกด้วยน้ำไหล จนน้ำที่ล้างไม่มีสีเขียวตามออกมา
4. ย้อมซ้ำบริเวณที่เกลี่ยเชื้อด้วยสี safranin O นาน 1 นาที ล้างออกด้วยน้ำไหล ทิ้งไว้ให้แห้ง
5. ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงจะพบ vegetative cell และ parasporal body ติดสีแดงของ safranin O ส่วนสปอร์จะติดสีเขียวของ malachite green

Name of the file: BBS
7/08/47
JC150(1)

ภาคผนวก 1.4

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	82.0	5.915263	50	41	40.70	0.0121
2	%100000.0000	92.0	6.405322	50	46	46.02 *	0.0001
3	%1000000.0000	96.0	6.751076	50	48	48.64 *	0.3092
4	%10000000.0000	100.0	/	50	50	49.63 *	0.3713

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 4

CHI2= .6926828 df= 2
Prob= .2927272

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00570	.95	0.00000 < LC < 2.67962
2 = 0.01926	.95	0.00000 < LC < 5.77059
3 = 0.04171	.95	0.00000 < LC < 9.39436
4 = 0.07458	.95	0.00000 < LC < 13.55966
5 = 0.11966	.95	0.00000 < LC < 18.28161
10 = 0.60666	.95	0.00000 < LC < 51.10581
20 = 4.33394	.95	0.00000 < LC < 178.62000
30 =17.88980	.95	0.00007 < LC < 443.30310
40 =60.02889	.95	0.00151 < LC < 970.38720
50 =%185.75480	.95	0.02460 < LC < 2035.39200
60 =%574.80360	.95	0.39558 < LC < 4337.00200
70 =%1928.74000	.95	7.51526 < LC < %10079.55000
80 =%7961.50300	.95	213.81450 < LC < %29908.27000
90 =%56876.18000	.95	%11416.16000 < LC < %263064.70000
95 =%288355.20000	.95	%81349.82000 < LC < %5929133.00000
96 =%462657.20000	.95	%123194.60000 < LC < %17186510.00000
97 =%827308.50000	.95	%196431.40000 < LC < %66418710.00000
98 =%1791283.00000	.95	%349147.50000 < LC < %418969800.00000
99 =%6051783.00000	.95	%817354.30000 < LC < %8072594000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 6.296472 +/- .1429685 6.153504 < A < 6.439441
Slope= .5155806 +/- .1577769 .3578036 < B < .6733575
M= 14.78353

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
7/08/47
JC590(1)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	62.0	5.305045	50	31	30.99	0.0000
2	%1000000.0000	88.0	6.175091	50	44	44.02	0.0001
3	%100000000.0000	98.0	7.054189	50	49	48.99 *	0.0001

Mortality in the control: 0 %

Number of iterations: 2

CHI2= 2.223462E-04 df= 1

Prob= 1.189704E-02

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00093	.95	0.00000 < LC < 0.16535
2 = 0.00392	.95	0.00000 < LC < 0.45367
3 = 0.00978	.95	0.00000 < LC < 0.86187
4 = 0.01943	.95	0.00000 < LC < 1.39788
5 = 0.03396	.95	0.00000 < LC < 2.07289
10 = 0.23124	.95	0.00003 < LC < 8.05888
20 = 2.36106	.95	0.00197 < LC < 42.41231
30 = 12.60855	.95	0.03766 < LC < 143.16100
40 = 52.71259	.95	0.45757 < LC < 414.03480
50 = %200.26160	.95	4.54288 < LC < 1154.85800
60 = %760.82150	.95	42.31790 < LC < 3433.23500
70 = %3180.76000	.95	400.59640 < LC < %12743.96000
80 = %16985.89000	.95	%3833.88800 < LC < %86034.27000
90 = %173430.40000	.95	%39701.01000 < LC < %2692683.00000
95 = %1180789.00000	.95	%189708.20000 < LC < %66631370.00000
96 = %2064422.00000	.95	%291480.90000 < LC < %174123100.00000
97 = %4102535.00000	.95	%489558.90000 < LC < %572498700.00000
98 = %10220810.00000	.95	%963820.20000 < LC < %2818266000.00000
99 = %43076210.00000	.95	%2751583.00000 < LC < %35391280000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.789498 +/- .133996 5.655502 < A < 5.923494
Slope= .4363292 +/- 9.846784E-02 .3378613 < B < .534797
M= 14.11101

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS

7/08/47

TW1(1)

```
=====
n   Dose      Mort.   probit   Total   Killed   Killed   CHI2
      corr (%)      treated      expected contribution
=====
1 1000.0000  52.0    5.05002   50      26      26.41    0.0134
2 %100000.0000
  66.0    5.412024   50      33      32.20    0.0563
3 %10000000.0000
  74.0    5.643022   50      37      37.39    0.0158
=====
```

Mortality in the control: 0 %

Number of iterations: 2

CHI2= 8.550429E-02 df= 1

Prob= .2300264

```

Level of
LC      Confidence      Range
=====
1 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.00002
2 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.00019
3 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.00082
4 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.00245
5 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.00595
10 = 0.00000 .95 0.00000 < LC < 0.12695
20 = 0.00077 .95 0.00000 < LC < 5.34994
30 = 0.10314 .95 0.00000 < LC < 83.77690
40 = 6.77075 .95 0.00000 < LC < 964.43480
50 = %335.93460 .95 0.00000 < LC < %12141.95000
60 = %16667.67000 .95 0.06325 < LC < %681212.20000
70 = %1094132.00000 .95 %42284.26000 < LC < %89415880000000.00000
80 = %146969300.00000 .95 %2059684.00000 < LC < % 3.917472E+28
90 = %131441600000.00000 .95 %114780900.00000 < LC < % 1.701412E+33
95 = %35929720000000.00000 .95 %2633967000.00000 < LC < % 1.701412E+33
96 = %184141200000000.00000 .95 %6486630000.00000 < LC < % 1.701412E+33
97 = %1372675000000000.00000 .95 %19557310000.00000 < LC < % 1.701412E+33
98 = % 1.982277E+16 .95 %84326610000.00000 < LC < % 1.701412E+33
99 = % 1.332315E+18 .95 %835956600000.00000 < LC < % 1.701412E+33
=====
```

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.353101 +/- .1059486

5.247152 < A < 5.459049

Slope= .1491687 +/- 6.534742E-02

8.382128E-02 < B < .2145161

M= 14.89338

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS

7/08/47

TW2(1)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	68.0	5.467275	50	34	32.52	0.1915
2	%100000.0000	84.0	5.994422	50	42	44.50	1.2792
3	%10000000.0000	100.0	/	50	50	49.03 *	0.9887

Mortality in the control: 0 %

Number of iterations: 5

CHI2= 2.459419 df= 1

Prob= .883176

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00035	.95	0.00000 < LC < 0.10063
2 = 0.00154	.95	0.00000 < LC < 0.28215
3 = 0.00399	.95	0.00000 < LC < 0.54341
4 = 0.00814	.95	0.00000 < LC < 0.89046
5 = 0.01454	.95	0.00000 < LC < 1.33149
10 = 0.10665	.95	0.00000 < LC < 5.32529
20 = 1.19166	.95	0.00028 < LC < 28.97884
30 = 6.79115	.95	0.00696 < LC < 100.07690
40 = 30.01239	.95	0.10571 < LC < 294.60370
50 = %120.08240	.95	1.29569 < LC < 832.91330
60 = %480.46170	.95	14.98712 < LC < 2495.44600
70 = %2123.31700	.95	180.81660 < LC < 9242.59200
80 = %12100.51000	.95	%2285.38900 < LC < %62605.55000
90 = %135206.60000	.95	%29657.59000 < LC < %2310220.00000
95 = %991676.30000	.95	%152807.90000 < LC < %73179150.00000
96 = %1771786.00000	.95	%238357.30000 < LC < %206903400.00000
97 = %3616086.00000	.95	%406997.10000 < LC < %750981100.00000
98 = %9333754.00000	.95	%817138.30000 < LC < %4226092000.00000
99 = %41596130.00000	.95	%2398259.00000 < LC < %65737300000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.849024 +/- .1360298

5.712994 < A < 5.985053

Slope= .4200299 +/- 9.987695E-02

.3201529 < B < .5199068

M= 14.10082

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
13/10/47
JC150(2)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	46.0	4.899804	50	23	21.65	0.1494
2	%100000.0000	62.0	5.305045	50	31	33.64	0.6348
3	%10000000.0000	88.0	6.175091	50	44	42.82	0.2248

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 2

CHI2= 1.00896 df= 1
Prob= .6848439

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00010	.95	0.00000 < LC < 0.05744
2 = 0.00077	.95	0.00000 < LC < 0.23860
3 = 0.00280	.95	0.00000 < LC < 0.59015
4 = 0.00739	.95	0.00000 < LC < 1.16787
5 = 0.01629	.95	0.00000 < LC < 2.03685
10 = 0.24592	.95	0.00001 < LC < 13.87415
20 = 6.58627	.95	0.00336 < LC < 146.19680
30 = 70.49771	.95	0.21878 < LC < 834.49170
40 = %533.67600	.95	7.24284 < LC < 3944.40800
50 = %3528.28200	.95	167.27670 < LC < %19058.44000
60 = %23326.59000	.95	%2904.63100 < LC < %122480.70000
70 = %176584.60000	.95	%34510.44000 < LC < %1613098.00000
80 = %1890112.00000	.95	%313666.70000 < LC < %65934190.00000
90 = %50621220.00000	.95	%4098215.00000 < LC < %18502370000.00000
95 = %764083600.00000	.95	%29870350.00000 < LC < %2224198000000.00000
96 = %1684498000.00000	.95	%52745270.00000 < LC < %9062924000000.00000
97 = %4451615000.00000	.95	%105691000.00000 < LC < %51161200000000.00000
98 = %16199200000.00000	.95	%264852500.00000 < LC < %513225100000000.00000
99 = %124037900000.00000	.95	%1116786000.00000 < LC < % 1.959618E+16

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.367602 +/- .1104818 5.25712 < A < 5.478084
Slope= .3083474 +/- 7.004403E-02 .2383033 < B < .3783914
M= 14.73973

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
13/10/47
JC590(2)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	65.0	5.384877	20	13	13.37	0.0306
2	%100000.0000	90.0	6.281729	20	18	16.95 *	0.4263
3	%1000000.0000	90.0	6.281729	20	18	18.94 *	0.8783
4	%10000000.0000	100.0	/	20	20	19.73 *	0.2776

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 4

CHI2= 1.612746 df= 2
Prob= .5535234

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.20904	.95	0.00000 < LC < 43.24062
2 = 0.60540	.95	0.00000 < LC < 82.06570
3 = 1.18874	.95	0.00000 < LC < 123.37050
4 = 1.97496	.95	0.00000 < LC < 167.76780
5 = 2.98476	.95	0.00000 < LC < 215.53650
10 = 12.32257	.95	0.00000 < LC < 511.65660
20 = 68.64138	.95	0.00001 < LC < 1477.34600
30 = 236.80950	.95	0.00055 < LC < 3222.73500
40 = 681.75550	.95	0.01551 < LC < 6389.01800
50 = 1828.66200	.95	0.34071 < LC < 12433.05000
60 = 4905.00700	.95	7.11808 < LC < 25441.87000
70 = 14121.09000	.95	163.42260 < LC < 62011.87000
80 = 48717.07000	.95	4094.32700 < LC < 275792.40000
90 = 271372.60000	.95	61783.23000 < LC < 12612910.00000
95 = 1120358.00000	.95	215133.20000 < LC < 799371600.00000
96 = 1693199.00000	.95	292641.60000 < LC < 2829772000.00000
97 = 2813058.00000	.95	419960.90000 < LC < 13614820000.00000
98 = 5523619.00000	.95	665432.60000 < LC < 112067900000.00000
99 = 15997140.00000	.95	1335503.00000 < LC < 3196484000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.946887 +/- .1926478 5.754239 < A < 6.139535
Slope= .5902688 +/- .207164 .3831048 < B < .7974328
M= 14.8663

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
 TW1(2)
 Date: 13/10/47

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	62.0	5.305045	50	31	29.40	0.2125
2	%100000.0000	68.0	5.467275	50	34	36.71	0.7523
3	%1000000.0000	88.0	6.175091	50	44	42.41	0.3915
4	%10000000.0000	90.0	6.281729	50	45	46.20 *	0.4094
5	%100000000.0000	98.0	7.054189	50	49	48.34 *	0.2716

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 3

CHI2= 2.03724 df= 3
 Prob= .435286

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00480	.95	0.00000 < LC < 0.68480
2 = 0.02276	.95	0.00000 < LC < 2.14117
3 = 0.06108	.95	0.00001 < LC < 4.41760
4 = 0.12838	.95	0.00002 < LC < 7.62186
5 = 0.23493	.95	0.00005 < LC < 11.88311
10 = 1.87062	.95	0.00130 < LC < 54.78514
20 = 23.08809	.95	0.07011 < LC < 352.70300
30 = %141.36190	.95	1.22624 < LC < 1368.74300
40 = %664.19000	.95	13.88926 < LC < 4428.58800
50 = %2813.80600	.95	130.44570 < LC < %13580.58000
60 = %11920.57000	.95	%1168.77700 < LC < %43653.79000
70 = %56008.62000	.95	%10940.94000 < LC < %170900.10000
80 = %342925.80000	.95	%108043.60000 < LC < %1174592.00000
90 = %4232551.00000	.95	%1226664.00000 < LC < %35900100.00000
95 = %33701330.00000	.95	%6619273.00000 < LC < %832296600.00000
96 = %61670720.00000	.95	%10594520.00000 < LC < %2122459000.00000
97 = %129622000.00000	.95	%18753290.00000 < LC < %6756556000.00000
98 = %347913500.00000	.95	%39707040.00000 < LC < %31767940000.00000
99 = %1648993000.00000	.95	%127752300.00000 < LC < %369273600000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.800715 +/- .0983563 5.702358 < A < 5.899071
 Slope= .4034009 +/- .0771048 .3262961 < B < .4805057
 M= 15.4342

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
13/10/47
TW2(2)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	44.0	4.849348	50	22	23.71	0.2338
2	%1000000.0000	82.0	5.915263	50	41	37.79	1.1143
3	%10000000.0000	90.0	6.281729	50	45	46.33 *	0.5212

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 3

CHI2= 1.86934 df= 1
Prob= .8284474

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00107	.95	0.00000 < LC < 0.17111
2 = 0.00563	.95	0.00000 < LC < 0.56654
3 = 0.01611	.95	0.00000 < LC < 1.21310
4 = 0.03552	.95	0.00000 < LC < 2.15344
5 = 0.06759	.95	0.00001 < LC < 3.43742
10 = 0.61516	.95	0.00034 < LC < 17.24472
20 = 8.92761	.95	0.02775 < LC < 124.55510
30 = 61.43286	.95	0.63975 < LC < 534.50990
40 = %318.91060	.95	8.94651 < LC < 1932.55500
50 = %1482.80000	.95	97.88796 < LC < 6868.85800
60 = %6894.41400	.95	935.16290 < LC < %27961.14000
70 = %35790.21000	.95	%7898.38000 < LC < %167387.60000
80 = %246280.50000	.95	%59613.79000 < LC < %2194296.00000
90 = %3574169.00000	.95	%584014.00000 < LC < %131093300.00000
95 = %32530810.00000	.95	%3233408.00000 < LC < %4560751000.00000
96 = %61892640.00000	.95	%5255052.00000 < LC < %12987950000.00000
97 = %136468100.00000	.95	%9499038.00000 < LC < %47251860000.00000
98 = %390355800.00000	.95	%20729360.00000 < LC < %264705800000.00000
99 = %2045326000.00000	.95	%70143430.00000 < LC < %4043801000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.510381 +/- .1172747 5.393106 < A < 5.627655
Slope= .3789751 +/- 7.732748E-02 .3016477 < B < .4563026
M= 14.51782

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
 20/02/48
 JC150(3)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	40.0	4.747067	20	8	8.74	0.1114
2	%100000.0000	70.0	5.524002	20	14	12.50	0.4782
3	%1000000.0000	75.0	5.674189	20	15	15.74 *	0.1647
4	%10000000.0000	90.0	6.281729	20	18	17.97 *	0.0004

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 2

CHI2= .7547111 df= 2
 Prob= .3143276

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.28790	.95	0.00000 < LC < 49.08647
2 = 1.07178	.95	0.00000 < LC < 113.35120
3 = 2.46801	.95	0.00000 < LC < 193.10920
4 = 4.62246	.95	0.00000 < LC < 288.63580
5 = 7.70146	.95	0.00000 < LC < 400.59080
10 = 44.43919	.95	0.00015 < LC < 1243.67200
20 = 371.33840	.95	0.02713 < LC < 5032.98100
30 = 1716.21400	.95	1.12174 < LC < 14288.93000
40 = 6342.13400	.95	25.56294 < LC < 36683.84000
50 = 21474.35000	.95	428.66700 < LC < 97482.32000
60 = 72711.73000	.95	5707.06300 < LC < 326283.70000
70 = 268699.70000	.95	51520.46000 < LC < 2114541.00000
80 = 1241848.00000	.95	281573.40000 < LC < 45415090.00000
90 = 10377030.00000	.95	1511257.00000 < LC < 6276918000.00000
95 = 59877720.00000	.95	5101445.00000 < LC < 435570700000.00000
96 = 99761880.00000	.95	7187172.00000 < LC < 1514833000000.00000
97 = 186850200.00000	.95	10905150.00000 < LC < 7042096000000.00000
98 = 430260600.00000	.95	18871330.00000 < LC < 54602530000000.00000
99 = 1601758000.00000	.95	44363270.00000 < LC < 1390451000000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.447356 +/- .1545712 5.292785 < A < 5.601927
 Slope= .477517 +/- .1454763 .3320407 < B < .6229933
 M= 15.26876

Heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
20/02/48
JC590(3)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	45.0	4.874619	20	9	8.24	0.1184
2	%100000.0000	55.0	5.125381	20	11	10.97	0.0002
3	%1000000.0000	65.0	5.384877	20	13	13.58	0.0763
4	%10000000.0000	70.0	5.524002	20	14	15.81 *	0.9864
5	%100000000.0000	95.0	6.645211	20	19	17.50 *	1.0253

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 3

CHI2= 2.20671 df= 3
Prob= .4693712

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00741	.95	0.00000 < LC < 6.36081
2 = 0.04613	.95	0.00000 < LC < 20.74191
3 = 0.14715	.95	0.00000 < LC < 44.00242
4 = 0.35220	.95	0.00000 < LC < 77.58676
5 = 0.71636	.95	0.00000 < LC < 123.19510
10 = 8.19991	.95	0.00000 < LC < 608.20390
20 = %157.08910	.95	0.00212 < LC < 4345.25800
30 = %1320.57400	.95	0.26586 < LC < %18781.82000
40 = %8133.52000	.95	15.35143 < LC < %70324.97000
50 = %44357.86000	.95	587.29080 < LC < %277369.90000
60 = %241916.20000	.95	%15799.55000 < LC < %1555703.00000
70 = %1489977.00000	.95	%231952.70000 < LC < %22910700.00000
80 = %12525570.00000	.95	%1881819.00000 < LC < %1532049000.00000
90 = %239957500.00000	.95	%17497760.00000 < LC < %1021362000000.00000
95 = %2746709000.00000	.95	%93486600.00000 < LC < %258397100000000.00000
96 = %5586684000.00000	.95	%150571200.00000 < LC < %1309690000000000.00000
97 = %13371860000.00000	.95	%269318100.00000 < LC < %9673648000000000.00000
98 = %42658060000.00000	.95	%579938400.00000 < LC < % 1.388066E+17
99 = %265440300000.00000	.95	%1923710000.00000 < LC < % 9.325805E+18

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.388052 +/- .135226 5.252826 < A < 5.523278
Slope= .3433359 +/- 9.952545E-02 .2438105 < B < .4428614
M= 15.77721

Heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
17/03/48
TW1(3)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	50.0	5	20	10	8.18	0.6829
2	%100000.0000	55.0	5.125381	20	11	13.79	1.8179
3	%1000000.0000	90.0	6.281729	20	18	17.77 *	0.0266
4	%10000000.0000	100.0	/	20	20	19.48 *	0.5344

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 4

CHI2= 3.061786 df= 2
Prob= .783657

LC	Level of Confidence	Range
1 = 12.71998	.95	0.00235 < LC < 273.54870
2 = 30.26076	.95	0.01248 < LC < 497.02100
3 = 52.44680	.95	0.03592 < LC < 727.10490
4 = 79.32435	.95	0.07947 < LC < 968.98410
5 = %111.06620	.95	0.15152 < LC < 1224.85900
10 = %352.74940	.95	1.38034 < LC < 2756.00500
20 = %1430.14300	.95	19.63736 < LC < 7516.34900
30 = %3923.82900	.95	129.67800 < LC < %15916.03000
40 = %9289.51100	.95	627.73880 < LC < %31270.60000
50 = %20760.32000	.95	%2589.13900 < LC < %62019.61000
60 = %46395.54000	.95	%9677.22900 < LC < %135739.00000
70 = %109839.30000	.95	%33041.96000 < LC < %378098.00000
80 = %301361.90000	.95	%103824.10000 < LC < %1682600.00000
90 = %1221804.00000	.95	%359336.80000 < LC < %18862630.00000
95 = %3880486.00000	.95	%878499.80000 < LC < %158152400.00000
96 = %5433274.00000	.95	%1127840.00000 < LC < %296901400.00000
97 = %8217675.00000	.95	%1526835.00000 < LC < %646684200.00000
98 = %14242610.00000	.95	%2270974.00000 < LC < %1830207000.00000
99 = %33882970.00000	.95	%4205937.00000 < LC < %9518673000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.506116 +/- .1707642 5.335352 < A < 5.67688
Slope= .7242355 +/- .1787841 .5454514 < B < .9030196
M= 15.01606

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
20/02/48
TW2(3)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	40.0	4.747067	50	20	17.16	0.7182
2	%100000.0000	52.0	5.05002	50	26	28.12	0.3647
3	%1000000.0000	68.0	5.467275	50	34	38.18	1.9357
4	%10000000.0000	96.0	6.751076	50	48	44.98	2.0220

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 4.

CHI2= 5.040655 df= 2
Prob= .9195663

LC	Level of Confidence	Range
1 = 3.73718	.95	0.01837 < LC < 58.52193
2 = 11.44113	.95	0.09544 < LC < 137.50040
3 = 23.27077	.95	0.27117 < LC < 236.71590
4 = 39.69979	.95	0.59444 < LC < 356.49740
5 = 61.30564	.95	1.12498 < LC < 497.70480
10 = %272.54370	.95	10.00073 < LC < 1573.41500
20 = %1660.55800	.95	138.47230 < LC < 6461.46800
30 = %6111.39800	.95	897.93530 < LC < %18354.66000
40 = %18592.61000	.95	%4273.70000 < LC < %46409.10000
50 = %52506.49000	.95	%17232.08000 < LC < %117273.40000
60 = %148280.90000	.95	%62114.47000 < LC < %331494.40000
70 = %451112.80000	.95	%205499.20000 < LC < %1205802.00000
80 = %1660242.00000	.95	%685102.20000 < LC < %6662319.00000
90 = %10115560.00000	.95	%3074658.00000 < LC < %84412510.00000
95 = %44970030.00000	.95	%10025590.00000 < LC < %727516100.00000
96 = %69444290.00000	.95	%14078700.00000 < LC < %1368815000.00000
97 = %118471900.00000	.95	%21329430.00000 < LC < %2982804000.00000
98 = %240967100.00000	.95	%36952480.00000 < LC < %8421732000.00000
99 = %737703400.00000	.95	%87460940.00000 < LC < %43424770000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.320694 +/- 9.757959E-02 5.223114 < A < 5.418273
Slope= .5609863 +/- 9.284751E-02 .4681389 < B < .6538339
M= 15.29187

heterogeneity= 1

ne of the file: BBS
 17/03/48
 JC150(4)

Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1000.0000	52.0	5.05002	50	26	23.96	0.3330
%100000.0000	66.0	5.412024	50	33	36.87	1.5438
%10000000.0000	94.0	6.555097	50	47	45.35 *	0.6458

ortality in the control: 0 %
 umber of iterations: 3

2= 2.522618 df= 1
 ob= .8877733

Level of Confidence		Range	
= 0.00024	.95	0.00000 < LC <	0.07808
= 0.00149	.95	0.00000 < LC <	0.28546
= 0.00475	.95	0.00000 < LC <	0.65094
= 0.01137	.95	0.00000 < LC <	1.21158
= 0.02312	.95	0.00000 < LC <	2.01000
= 0.26404	.95	0.00003 < LC <	11.51391
= 5.04529	.95	0.00498 < LC <	97.76206
=42.33527	.95	0.18564 < LC <	472.36980
=%260.33530	.95	3.89867 < LC <	1897.35100
=%1417.70800	.95	61.74567 < LC <	7511.21800
=%7720.43800	.95	829.74460 < LC <	%35045.10000
=%47475.64000	.95	%9289.59100 < LC <	%264052.20000
=%398369.70000	.95	%84789.24000 < LC <	%5212718.00000
=%7612222.00000	.95	%987800.60000 < LC <	%601386500.00000
=%86950420.00000	.95	%6242830.00000 < LC <	%36409680000.00000
=%176745100.00000	.95	%10542460.00000 < LC <	%121869800000.00000
=%422721500.00000	.95	%19975500.00000 < LC <	%540811000000.00000
=%1347178000.00000	.95	%46405810.00000 < LC <	%3945199000000.00000
=%8369564000.00000	.95	%173305000.00000 < LC <	%91371660000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.495417 +/- .1149645 5.380453 < A < 5.610382
 pe= .343634 +/- 7.446586E-02 .2691681 < B < .4180999
 M= 14.59329

erogeneity= 1

Name of the file: BBS
 17/03/48
 JC150(4)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	52.0	5.05002	50	26	23.96	0.3330
2	%100000.0000	66.0	5.412024	50	33	36.87	1.5438
3	%10000000.0000	94.0	6.555097	50	47	45.35 *	0.6458

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 3

CHI2= 2.522618 df= 1
 Prob= .8877733

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00024	.95	0.00000 < LC < 0.07808
2 = 0.00149	.95	0.00000 < LC < 0.28546
3 = 0.00475	.95	0.00000 < LC < 0.65094
4 = 0.01137	.95	0.00000 < LC < 1.21158
5 = 0.02312	.95	0.00000 < LC < 2.01000
10 = 0.26404	.95	0.00003 < LC < 11.51391
20 = 5.04529	.95	0.00498 < LC < 97.76206
30 = 42.33527	.95	0.18564 < LC < 472.36980
40 = %260.33530	.95	3.89867 < LC < 1897.35100
50 = %1417.70800	.95	61.74567 < LC < 7511.21800
60 = %7720.43800	.95	829.74460 < LC < %35045.10000
70 = %47475.64000	.95	%9289.59100 < LC < %264052.20000
80 = %398369.70000	.95	%84789.24000 < LC < %5212718.00000
90 = %7612222.00000	.95	%987800.60000 < LC < %601386500.00000
95 = %86950420.00000	.95	%6242830.00000 < LC < %36409680000.00000
96 = %176745100.00000	.95	%10542460.00000 < LC < %121869800000.00000
97 = %422721500.00000	.95	%19975500.00000 < LC < %540811000000.00000
98 = %1347178000.00000	.95	%46405810.00000 < LC < %3945199000000.00000
99 = %8369564000.00000	.95	%173305000.00000 < LC < %91371660000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.495417 +/- .1149645 5.380453 < A < 5.610382
 slope= .343634 +/- 7.446586E-02 .2691681 < B < .4180999
 M= 14.59329

eterogeneity= 1

Name of the file: BBS
 17/03/48
 JC590(4)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	64.0	5.358015	50	32	31.31	0.0410
2	%100000.0000	84.0	5.994422	50	42	42.79	0.1001
3	%1000000.0000	96.0	6.751076	50	48	48.21 *	0.0247
4	%10000000.0000	100.0	/	50	50	49.72 *	0.2788

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 4

CHI2= .4445894 df= 2
 Prob= .1993205

LC	Level of Confidence	Range
1 = 2.62415	.95	0.00329 < LC < 48.06769
2 = 6.13156	.95	0.01342 < LC < 88.74152
3 = 10.50640	.95	0.03275 < LC < 131.03540
4 = 15.75482	.95	0.06406 < LC < 175.75790
5 = 21.90560	.95	0.11053 < LC < 223.25030
10 = 67.92420	.95	0.71719 < LC < 508.87450
20 = %267.49970	.95	6.85093 < LC < 1391.96400
30 = %718.71690	.95	34.53364 < LC < 2903.66100
40 = %1671.37500	.95	135.87170 < LC < 5502.57800
50 = %3673.39800	.95	479.75620 < LC < %10157.97000
60 = %8073.50900	.95	%1645.56600 < LC < %19303.91000
70 = %18774.94000	.95	%5792.20500 < LC < %40890.63000
80 = %50444.32000	.95	%21508.88000 < LC < %115787.30000
90 = %198660.20000	.95	%89426.91000 < LC < %727684.60000
95 = %615999.10000	.95	%233341.10000 < LC < %4124610.00000
96 = %856489.80000	.95	%303379.90000 < LC < %6952550.00000
97 = %1284348.00000	.95	%416342.10000 < LC < %13291070.00000
98 = %2200723.00000	.95	%629256.50000 < LC < %31692270.00000
99 = %5142182.00000	.95	%1192106.00000 < LC < %126151600.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.859622 +/- .1261789 5.733443 < A < 5.985801
 Slope= .7395827 +/- .150655 .5889278 < B < .8902377
 M= 14.72737

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
 17/03/47
 TW1(4)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	42.0	4.798482	50	21	20.51	0.0199
2	%100000.0000	86.0	6.080353	50	43	43.84	0.1291
3	%10000000.0000	100.0	/	50	50	49.73 *	0.2757

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 4

CHI2= .4247197 df= 1
 Prob= .4854081

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.93188	.95	0.00804 < LC < 10.44195
2 = 2.30574	.95	0.03118 < LC < 20.83586
3 = 4.09705	.95	0.07353 < LC < 32.35100
4 = 6.31396	.95	0.14010 < LC < 45.09002
5 = 8.97636	.95	0.23650 < LC < 59.11648
10 = 30.04186	.95	1.41806 < LC < 150.83590
20 = %129.77380	.95	12.14212 < LC < 479.54250
30 = %372.71650	.95	55.55758 < LC < 1135.05200
40 = %917.53440	.95	196.74130 < LC < 2450.90200
50 = %2126.61700	.95	609.69850 < LC < 5277.84800
60 = %4928.97800	.95	%1753.42400 < LC < %12247.27000
70 = %12133.85000	.95	%4866.78000 < LC < %33739.89000
80 = %34849.08000	.95	%13914.63000 < LC < %127806.50000
90 = %150539.60000	.95	%50408.98000 < LC < %960369.40000
95 = %503822.00000	.95	%135436.30000 < LC < %5468441.00000
96 = %716269.00000	.95	%179377.90000 < LC < %9138208.00000
97 = %1103844.00000	.95	%252642.80000 < LC < %17229120.00000
98 = %1961410.00000	.95	%396698.40000 < LC < %40185080.00000
99 = %4853084.00000	.95	%802132.80000 < LC < %153717000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.396788 +/- .1377216 5.259066 < A < 5.534509
 Slope= .6928406 +/- .1193364 .5735041 < B < .812177
 M= 13.90039

heterogeneity= 1

Name of the file: BBS
 17/03/48
 TW2 (4)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	52.0	5.05002	50	26	23.91	0.3503
2	%100000.0000	68.0	5.467275	50	34	37.92	1.6773
3	%10000000.0000	96.0	6.751076	50	48	46.37 *	0.7870

Mortality in the control: 0 %
 Number of iterations: 4

CHI2= 2.814689 df= 1
 Prob= .9065942

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00097	.95	0.00000 < LC < 0.16146
2 = 0.00512	.95	0.00000 < LC < 0.53546
3 = 0.01469	.95	0.00000 < LC < 1.14773
4 = 0.03247	.95	0.00000 < LC < 2.03898
5 = 0.06188	.95	0.00001 < LC < 3.25671
10 = 0.56667	.95	0.00028 < LC < 16.37200
20 = 8.28432	.95	0.02367 < LC < 118.52280
30 = 57.30820	.95	0.55630 < LC < 509.29490
40 = %298.84420	.95	7.91310 < LC < 1842.50400
50 = %1395.35800	.95	88.04756 < LC < 6546.44800
60 = %6515.20900	.95	856.74350 < LC < %26597.79000
70 = %33974.71000	.95	%7385.18400 < LC < %158784.70000
80 = %235025.70000	.95	%56705.86000 < LC < %2088754.00000
90 = %3435920.00000	.95	%561291.50000 < LC < %127092600.00000
95 = %31462190.00000	.95	%3120792.00000 < LC < %4508188000.00000
96 = %59965410.00000	.95	%5076988.00000 < LC < %12914290000.00000
97 = %132505000.00000	.95	%9187512.00000 < LC < %47329760000.00000
98 = %380113700.00000	.95	%20077320.00000 < LC < %267773000000.00000
99 = %2000716000.00000	.95	%68075210.00000 < LC < %4155336000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.51729 +/- .1174337 5.399857 < A < 5.634724
 Slope= .3779398 +/- .0774677 .3004721 < B < .4554076
 M= 14.5134

heterogeneity= 1

Name of the file: TMS
10/03/48
JC150(1)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	82.0	5.915263	50	41	39.11	0.4175
2	%100000.0000	84.0	5.994422	50	42	44.14	0.8888
3	%1000000.0000	94.0	6.555097	50	47	47.25 *	0.0249
4	%10000000.0000	98.0	7.054189	50	49	48.88 *	0.0122
5	%100000000.0000	100.0	/	50	50	49.61 *	0.3939

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 3

CHI2= 1.737369 df= 3
Prob= .3713408

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00026	.95	0.00000 < LC < 0.24571
2 = 0.00120	.95	0.00000 < LC < 0.68379
3 = 0.00318	.95	0.00000 < LC < 1.30999
4 = 0.00660	.95	0.00000 < LC < 2.13730
5 = 0.01197	.95	0.00000 < LC < 3.18374
10 = 0.09240	.95	0.00000 < LC < 12.53842
20 = 1.09839	.95	0.00001 < LC < 66.44715
30 = 6.54569	.95	0.00019 < LC < 222.91370
40 = 30.05269	.95	0.00407 < LC < 632.08350
50 = %124.60220	.95	0.07047 < LC < 1691.36500
60 = %516.61620	.95	1.19784 < LC < 4613.83600
70 = %2371.89500	.95	23.96185 < LC < %14080.71000
80 = %14134.93000	.95	707.16330 < LC < %58868.12000
90 = %168036.10000	.95	%37024.10000 < LC < %893805.80000
95 = %1297170.00000	.95	%310523.10000 < LC < %26430300.00000
96 = %2352392.00000	.95	%511845.70000 < LC < %79881920.00000
97 = %4889839.00000	.95	%913423.40000 < LC < %322257700.00000
98 = %12932610.00000	.95	%1899022.00000 < LC < %2137143000.00000
99 = %59889040.00000	.95	%5726948.00000 < LC < %44279070000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 6.241276 +/- .1236057 6.11767 < A < 6.364881
Slope= .4095141 +/- .1061058 .3034083 < B < .51562
M= 15.12662

heterogeneity= 1

me of the file: TMS
 10/3/48
 JC590(1)

Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1000.0000	58.0	5.201519	50	29	26.52	0.4921
%100000.0000	74.0	5.643022	50	37	41.42	2.7420
%10000000.0000	100.0	/	50	50	48.28 *	1.7865

mortality in the control: 0 %
 number of iterations: 6

H2= 5.02061 df= 1
 rob= .9749516

	Level of Confidence	Range
1 = 0.00303	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
2 = 0.01282	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
3 = 0.03198	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
4 = 0.06364	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
5 = 0.11137	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
10 = 0.76101	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
20 = 7.80394	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
30 = 41.80527	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
40 = %175.24300	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
50 = %667.43410	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
60 = %2542.00900	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
70 = %10655.80000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
80 = %57082.51000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
90 = %585364.50000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
95 = %3999724.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
96 = %7000188.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
97 = %13929020.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
98 = %34761230.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
99 = %146897800.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.630917 +/- .1256736 5.505244 < A < 5.756591
 Slope= .4355151 +/- .1975874 .2379277 < B < .6331025
 M= 14.27308

variance of the LC50= .1693073
 heterogeneity= 5.02061 with 1 df

Name of the file: TMS

10/3/48

. TW₁(1)

```
=====
n   Dose      Mort.   probit   Total   Killed   Killed   CHI2
      corr (%)              treated    expected contribution
=====
1 1000.0000  73.3   5.622588   30     22     20.33     0.4234
2 %100000.0000
      76.7   5.727655   30     23     25.94 *     2.4682
3 %10000000.0000
      100.0   /       30     30     28.78 *     1.2742
=====
```

Mortality in the control: 0 %

Number of iterations: 6

CHI2= 4.165698 df= 1

Prob= .9587487

```
LC                Level of      Range
                  Confidence
=====
1 = 0.00000      .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
2 = 0.00001      .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
3 = 0.00005      .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
4 = 0.00012      .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
5 = 0.00026      .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
10 = 0.00359     .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
20 = 0.08507     .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
30 = 0.83436     .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
40 = 5.86203     .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
50 =36.14897     .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
60 =%222.91870   .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
70 =%1566.17900  .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
80 =%15361.21000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
90 =%364448.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
95 =%4977271.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
96 =%10657750.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
97 =%27174050.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
98 =%94286830.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
99 =%669764500.00000 .95 Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
=====
```

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.89015 +/- .1674522

Slope= .3201489 +/- .2302804

M= 14.33852

5.722698 < A < 6.057603

8.986844E-02 < B < .5504293

heterogeneity= 4.165698 with 1 df

Name of the file: TMS
10/3/48
TW2(1)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	70.0	5.524002	50	35	33.46	0.2134
2	%100000.0000	76.0	5.706027	50	38	39.27	0.1915
3	%1000000.0000	84.0	5.994422	50	42	43.68	0.5095
4	%10000000.0000	96.0	6.751076	50	48	46.63 *	0.5945

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 3

CHI2= 1.508949 df= 2
Prob= .529741

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00015	.95	0.00000 < LC < 0.26593
2 = 0.00086	.95	0.00000 < LC < 0.84060
3 = 0.00266	.95	0.00000 < LC < 1.74615
4 = 0.00622	.95	0.00000 < LC < 3.02796
5 = 0.01241	.95	0.00000 < LC < 4.74007
10 = 0.13319	.95	0.00000 < LC < 22.15036
20 = 2.35915	.95	0.00000 < LC < 144.75300
30 = 18.74183	.95	0.00019 < LC < 566.92790
40 = %109.99050	.95	0.00979 < LC < 1845.44800
50 = %573.42830	.95	0.38041 < LC < 5679.52900
60 = %2989.53800	.95	14.10834 < LC < %18304.71000
70 = %17544.72000	.95	593.90500 < LC < %73238.79000
80 = %139380.80000	.95	%25574.74000 < LC < %688746.70000
90 = %2468747.00000	.95	%534859.70000 < LC < %136083100.00000
95 = %26487110.00000	.95	%3081132.00000 < LC < %22845480000.00000
96 = %52867230.00000	.95	%4974929.00000 < LC < %104771200000.00000
97 = %123639100.00000	.95	%8883137.00000 < LC < %687613700000.00000
98 = %382455200.00000	.95	%18990890.00000 < LC < %847423600000.00000
99 = %2267029000.00000	.95	%61905980.00000 < LC < %450700100000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.858183 +/- .1066227 5.75156 < A < 5.964806
Slope= .3527049 +/- 9.998991E-02 .2527149 < B < .4526948
M= 15.19163

heterogeneity= 1

Name of the file: TMS
20/5/48
JC150(2)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	60.0	5.252934	20	12	11.72	0.0159
2	%100000.0000	65.0	5.384877	20	13	12.83	0.0066
3	%1000000.0000	65.0	5.384877	20	13	13.87	0.1798
4	%10000000.0000	75.0	5.674189	20	15	14.85	0.0060
5	%100000000.0000	80.0	5.841457	20	16	15.74 *	0.0209

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 2

CHI2= .2291314 df= 3
Prob= .0272451

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
2 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
3 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
4 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
5 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
10 = 0.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
20 = 0.00046	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
30 = 0.07334	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
40 = 5.52398	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
50 = %311.60800	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
60 = %17577.95000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
70 = %1324031.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
80 = %208937000.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
90 = %233638000000.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
95 = %76801000000000.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
96 = %4153337000000000.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
97 = %33074170000000000.00000	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
98 = % 5.214404E+16	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79
99 = % 4.024588E+18	.95	Impossible range: G>1, cf Finney's book 3rdEd., p. 79

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.490977 +/- .1321945 5.358782 < A < 5.623171
Slope= .1444212 +/- 9.416976E-02 5.025143E-02 < B < .238591
M= 15.89322

heterogeneity= 1

Name of the file: TMS

20/5/48

JC590(2)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	1000.0000	64.0	5.358015	50	32	31.18	0.0579
2	%100000.0000	88.0	6.175091	50	44	45.35 *	0.4331
3	%10000000.0000	100.0	/	50	50	49.50 *	0.5000

Mortality in the control: 0 %

Number of iterations: 5

CHI2= .9910149 df= 1

Prob= .6805019

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.00573	.95	0.00000 < LC < 0.49480
2 = 0.01992	.95	0.00000 < LC < 1.19016
3 = 0.04390	.95	0.00000 < LC < 2.07974
4 = 0.07955	.95	0.00001 < LC < 3.16745
5 = 0.12904	.95	0.00002 < LC < 4.46252
10 = 0.67924	.95	0.00035 < LC < 14.54923
20 = 5.07793	.95	0.01215 < LC < 61.82734
30 = 21.65870	.95	0.15260 < LC < 178.71740
40 = 74.73658	.95	1.29569 < LC < 452.21790
50 = %237.38070	.95	9.22815 < LC < 1111.08100
60 = %753.97780	.95	61.98435 < LC < 2894.63300
70 = %2601.70200	.95	420.10590 < LC < 9175.95700
80 = %11096.96000	.95	%2889.71900 < LC < %48445.49000
90 = %82959.33000	.95	%21995.17000 < LC < %927787.50000
95 = %436664.60000	.95	%86410.91000 < LC < %14437940.00000
96 = %708309.80000	.95	%125781.40000 < LC < %32863660.00000
97 = %1283698.00000	.95	%197853.90000 < LC < %91103180.00000
98 = %2829500.00000	.95	%357390.00000 < LC < %357113700.00000
99 = %9832026.00000	.95	%892119.90000 < LC < %3127334000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.782556 +/- .1404887

5.642068 < A < 5.923045

Slope= .503939 +/- .1126257

.3913133 < B < .6165646

M= 13.92832

heterogeneity= 1

Slope= .5070284 +/- .2314942

6.010363 < A < 6.440611

M= 14.83105

.2755342 < B < .7385225

heterogeneity= 1

Name of the file: TMS
6/6/48
JC150(3)

n	Dose	Mort. corr (%)	probit	Total treated	Killed	Killed expected	CHI2 contribution
1	%10000.0000	65.0	5.384877	20	13	11.67	0.3641
2	%100000.0000	70.0	5.524002	20	14	14.86	0.1942
3	%1000000.0000	80.0	5.841457	20	16	17.26 *	0.6770
4	%10000000.0000	95.0	6.645211	20	19	18.76 *	0.0507
5	%100000000.0000	100.0	/	20	20	19.52 *	0.4902

Mortality in the control: 0 %
Number of iterations: 4

CHI2= 1.776149 df= 3
Prob= .3798597

LC	Level of Confidence	Range
1 = 0.01817	.95	0.00000 < LC < 7.89892
2 = 0.07518	.95	0.00000 < LC < 19.77601
3 = 0.18510	.95	0.00000 < LC < 35.45246
4 = 0.36460	.95	0.00000 < LC < 55.04801
5 = 0.63286	.95	0.00000 < LC < 78.79000
10 = 4.20328	.95	0.00000 < LC < 271.35650
20 = 41.64731	.95	0.00036 < LC < 1234.77300
30 = 217.64160	.95	0.01565 < LC < 3759.48600
40 = 893.23120	.95	0.38668 < LC < 9980.91200
50 = 3335.47200	.95	7.40830 < LC < 25822.43000
60 = 12455.21000	.95	131.60090 < LC < 72052.78000
70 = 51117.82000	.95	2381.82700 < LC < 261060.80000
80 = 267132.70000	.95	39600.28000 < LC < 2106561.00000
90 = 2646827.00000	.95	490037.50000 < LC < 151988400.00000
95 = 17579590.00000	.95	2196612.00000 < LC < 9255465000.00000
96 = 30513970.00000	.95	3282831.00000 < LC < 31726630000.00000
97 = 60103520.00000	.95	5315683.00000 < LC < 145985700000.00000
98 = 147983200.00000	.95	9940693.00000 < LC < 1126578000000.00000
99 = 612196200.00000	.95	26069690.00000 < LC < 28842110000000.00000

Regression line: $Y = A + \text{Slope} * (X - M)$

A= 5.810314 +/- .1593001 5.651014 < A < 5.969614
Slope= .4420411 +/- .1283761 .313665 < B < .5704172
M= 15.35628

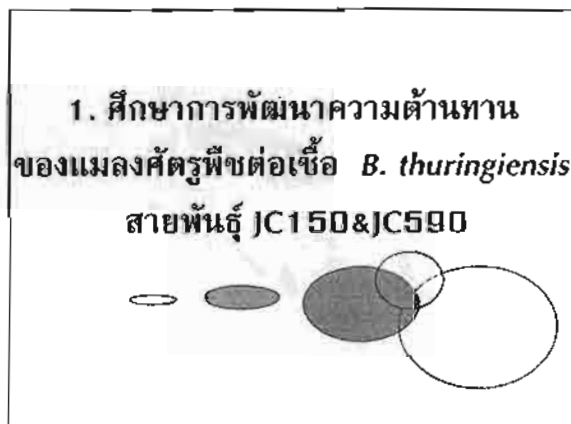
heterogeneity= 1

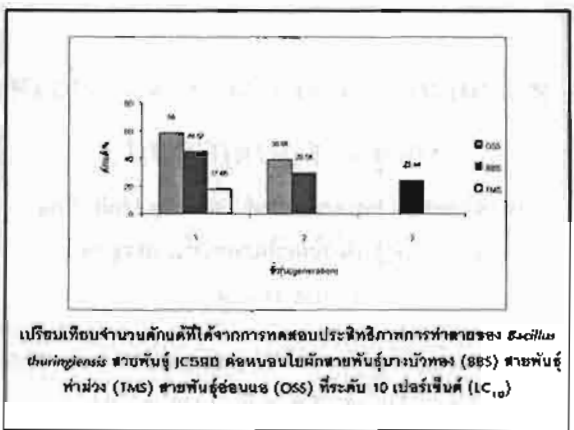
ภาคผนวก 2

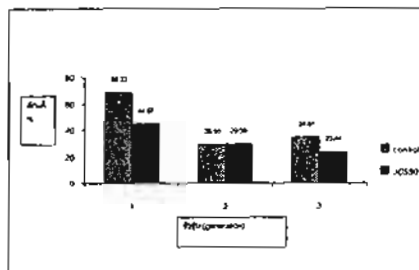
บทความสำหรับการเผยแพร่มี 4 รายการคือ

- ภาคผนวก 2.1 เอกสารประกอบการรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 1 วันที่ 14-15 ตุลาคม 2546 ที่
องค์การสวนพฤกษศาสตร์ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
- ภาคผนวก 2.2 เอกสารประกอบการรายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 2 วันที่ 17-18 ตุลาคม 2547 ที่
องค์การสวนพฤกษศาสตร์ อำเภอมะริม จังหวัดเชียงใหม่
- ภาคผนวก 2.3 บทความวิจัยเรื่องการพัฒนา *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ไทย เพื่อใช้
ประโยชน์อย่างยั่งยืน ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติครั้งที่ 7: อารักขา
พืชเพื่อคุณภาพชีวิตและสิ่งแวดล้อม วันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548 ณ โรงแรมโลตัส
ปางสวนแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่
- ภาคผนวก 2.4 บทความวิจัยเรื่องการพัฒนา *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ไทย เพื่อใช้
ประโยชน์อย่างยั่งยืน ในงานนิทรรศการบนเส้นทางงานวิจัย
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2549 ในงานวันเกษตรแฟร์ ระหว่างวันที่ 27
มกราคม -4 กุมภาพันธ์ 2549 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

0







จำนวนด้งแคที่ไ้จากการทดสอบประสิทธิภาพการทำลายของ *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ JC590 ต่อ หนอนไหมักสายพันธุ์บางบัวทอง (SSS) ที่ระดับ 10 เปอร์เซนต์ (LC_{10}) 3 ชั่วรุ่น (generation) ต่อเนื่องกัน

$$\text{Potency (sample)} = \frac{\text{ITU of standard} \times \text{LC}_{50} \text{ of standard}}{\text{LC}_{50} \text{ of standard}}$$

หาค่า LC_{50} ของ standard และสายพันธุ์ JC150&JC590 ของหนอนไหมัก โดยใช้โปรแกรม Probit analysis

**อัตราการพัฒนาความต้านทาน
ของแมลงต่อบีที
แสดงผลโดยค่า Inheritability index**

ผลการวิเคราะห์โดยโปรแกรม Probit Analysis

สายพันธุ์ บีที	ค่า LC_{10} (สปอร์/มล.)	ค่า LC_{50} (สปอร์/มล.)
JC150	6.41×10^{-2}	1.37×10^0
JC590	1.20×10^{-4}	3.60×10^1

2. หาค่าความแรง (Potency) บีทีสายพันธุ์ JC150&JC590

ในหน่วยของ International Toxicity Units/mg (ITU/mg) เพื่อใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานกำกับผลิตภัณฑ์

งานวิจัยที่ทำอย่างต่อเนื่อง

- 1.การถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้แบคทีเรียบีทีสู่เกษตรกร
- 2.การพัฒนาผลิตภัณฑ์แบคทีเรียบีทีสายพันธุ์ไทย
- 3.การใช้แบคทีเรียบีทีสายพันธุ์ไทยร่วมกับจุลินทรีย์สายพันธุ์กลุ่มอื่น ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช



โครงการ “การพัฒนาสายพันธุ์แบคทีเรียบีทีและไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน”(ระยะที่ 1)

หัวหน้าโครงการ รศ.ดร.จรรยา จันทรีไพแสง

ผู้ร่วมวิจัย ดร.สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการแยกและคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* ที่มีคุณสมบัติในการสร้างโปรตีนที่เป็นพิษต่อแมลงศัตรูพืช แต่ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์ (จรรยา และคณะ, 2544) แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงการพัฒนาความต้านทานของแมลงต่อเชื้อ *B. thuringiensis* และคุณลักษณะทางชีววิทยาเฉพาะทางชีวโมเลกุลของจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดังกล่าว ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเข้าใจอย่างถ่องแท้ ทั้งในด้านการพัฒนาความต้านทานและลักษณะทางชีววิทยาระดับพันธุศาสตร์โมเลกุลของเชื้อจุลินทรีย์ *B. thuringiensis* ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืช คณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาความต้านทานของแมลงต่อ *B. thuringiensis* โดยการทดสอบประสิทธิภาพของบีทีสายพันธุ์ JC150 และ JC590 กับหนอนใยผักจากแหล่งปลูกผักที่มีระดับการใช้สารเคมีแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ สายพันธุ์บางบัวทอง (BBS) สายพันธุ์ท่าม่วง (TMS) และสายพันธุ์อ่อนแอ (OSS) ซึ่งเป็นตัวแทนสายพันธุ์จากแหล่งที่มีการใช้สารเคมีในระดับสูง ปานกลาง และไม่มีการใช้สารเคมีเลย ตามลำดับ แนวโน้มการพัฒนาความต้านทานของหนอนใยผักต่อสายพันธุ์ JC150 และ JC590 มีต่ำมาก รวมทั้งการหาค่าความแรง (potency) ของบีทีทั้งสองสายพันธุ์เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐานกำกับผลิตภัณฑ์ต่อไป ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนที่เป็นพิษ (cry genes) ในด้านลำดับเบสของดีเอ็นเอ และโครงสร้างของยีนจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องมีการศึกษา เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีวภาพของสายพันธุ์ เพื่อใช้ประกอบการอธิบายถึงการทำงานในระดับชีวโมเลกุลของยีนที่ควบคุมความเป็นพิษของจุลินทรีย์ต่อชนิดแมลงศัตรูพืช และอาจนำไปสู่วิธีการใหม่ในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพโดยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมที่มีความแม่นยำมากกว่าวิธีการทางชีวภาพ ทำให้สามารถลดเวลาและแรงงานที่ใช้ในการคัดเลือกลงได้ จากการวิเคราะห์ในระดับดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (polymerase chain reaction, PCR) ใช้ไพรเมอร์ในกลุ่มของยีน cry1 จำนวน 24 คู่ พบว่า *B. thuringiensis* JC 590 มียีน cry1 ที่อยู่บนโครโมโซมและพลาสมิด ได้แก่ cry1A(b), cry1C, cry1D, cry1E, cry1I และ cry2A ขณะที่ *B. thuringiensis* JC 150 พบว่ามียีน cry1 ที่อยู่บนโครโมโซม ได้แก่ cry1A(b), cry1A(c), cry1C, cry1D, cry1E, cry1I และ cry2A ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์บีทีและการนำบีทีไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

ผลการประเมินรายงานความก้าวหน้า

18 ตุลาคม 2547

ผู้นำเสนอ รศ.ดร.จริยา จันทริโพแสง
เรื่อง การพัฒนาและคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียบีที และได้เดือนฝอยกำจัดแมลง เพื่อการใช้ประโยชน์ที่ยั่งยืน

วิธีการนำเสนอและการสรุปข้อมูล สอดคล้องกับวัตถุประสงค์	ผลการ ประเมิน (%)	การใช้ประโยชน์จากผลงาน	ผลการ ประเมิน(%)
ดีมาก	19	ผลงานบางส่วนถูกนำไปใช้ประโยชน์แล้ว 100%	25
ดี	78	ผลงานบางส่วนถูกนำไปใช้ประโยชน์แล้ว 75%	52.5
พอใช้	3	ผลงานบางส่วนถูกนำไปใช้ประโยชน์แล้ว 50%	20
ควรปรับปรุง	0	ผลงานไม่มีโอกาสถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้	2.5

ความคิดเห็นและข้อเสนอแนะ

1. ไม่ทราบว่าคุณทุนการผลิตสูงมากหรือไม่ และจะคุ้มทุนกับเกษตรกรผู้นำไปใช้มากน้อยเพียงไร
2. การทำ genetic engineering จะเกิดปัญหาสิทธิและราคาแพงมากขึ้นหรือไม่



ประกาศนียบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

ผลงานวิจัยเรื่อง

การพัฒนา *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ไทยเพื่อใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

โดย

จรรยา จันทร์ไพแสง ยุพา มงคลสุข สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์

ได้นำเสนอในการประชุมวิชาการอาชีวศึกษาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7
ระหว่างวันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2548

(ดร.เกลิยวัฒน์ สุวรรณรักษ์)

นายกสมาคมวิทยากรวิจัยพืชแห่งประเทศไทย

ประธานคณะกรรมการจัดงานประชุมวิชาการอาชีวศึกษาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 7

การพัฒนา *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ไทยเพื่อใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืน

Development of *Bacillus thuringiensis* Thai Strain for Sustainable Application

จริยา จันทร์โพแสง¹⁾ ยุพา มงคลสุข²⁾ และสุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์³⁾

Jariya Chanpaisaeng¹⁾ Yupa Mongkolsook²⁾ and Suttipun Keawsompong³⁾

บทคัดย่อ

ได้รวบรวมและจำแนกสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* (Bt) ในประเทศไทย ตั้งแต่ปี 2532 สายพันธุ์ที่ได้นำมาทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น หนอนใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้หอม (*Spodoptera exigua*) และหนอนเจาะสมอฝ้าย (*Helicoverpa armigera*) งานวิจัยนี้ให้ความสำคัญกับแมลงศัตรูผักเป็นอันดับแรก โดยเฉพาะหนอนใยผักซึ่งเป็นศัตรูที่สำคัญมาก ได้ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ของ Bt ที่มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายหนอนใยผักทั้งในห้องปฏิบัติการ ในเรือนปลูกทดลอง และในแปลงปลูกของเกษตรกร สายพันธุ์ที่คัดเลือกได้นำมาศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพ เช่น ชนิดของยีน *cry* ค่าความแรงและการพัฒนาความต้านทานของแมลงต่อเชื้อ Bt ได้มีโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้ Bt จากงานวิจัยสู่เกษตรกรไปพร้อม ๆ กันโดยได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งเป็นโครงการที่ช่วยสนับสนุนการเกษตรที่ดีเหมาะสม ซึ่งเป็นนโยบายของรัฐบาล ตลอดจนช่วยกระตุ้นให้มีการใช้ Bt อย่างกว้างขวางทดแทนการใช้สารเคมี เป็นผลดีต่อสภาพแวดล้อมและได้ผลผลิตทางการเกษตรที่ปลอดภัยไร้พิษภัย

Abstract

As we have collected *Bacillus thuringiensis* (Bt) in Thailand since 1989, the strains were tested against important pests such as *Plutella xylostella*, *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa armigera*. Pest control in vegetable was focused as the first target of research especially diamondback moth (*Plutella xylostella*), which is the most effective pest in vegetable plantation. Bt strains were isolated, selection and trailed in green house and also in field for their insecticidal activity. The effective strains were selected and characterized for its properties such as type of *cry* genes, potency and resistance. At the same time, farmer in the central part of Thailand were trained for Bt application in the field by our group. This project was granted by Kasetsart University and its also supported Good Agricultural Practise (GAP) Policy of Thai government. This could promote Bt use through out Thailand leading to safe agricultural products, lower chemical insecticide use and better environment.

¹⁾ ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

²⁾ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute, Kasetsart University

³⁾ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำนำ

ตามที่รัฐบาลได้ประกาศให้ปี 2547-2548 เป็นปีแห่งความปลอดภัยของอาหารนั้น ภาครัฐและเอกชนได้ร่วมกันรณรงค์การผลิตอาหารโดยเฉพาะวัตถุดิบจากภาคเกษตรให้มีความปลอดภัยจากการปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่าง ๆ และผู้บริโภคเองก็ตื่นตัวและตระหนักถึงภัยจากสารเคมีที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์เกษตรกันมากขึ้น จากสถานการณ์ดังกล่าวนี้ ทำให้การเกษตรปลอดสารพิษเป็นแนวทางที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่ง มีการนำเข้าผลิตภัณฑ์เกษตรปลอดสารพิษซึ่งเป็นสินค้าเกษตรที่ผลิตตามระบบมาตรฐานและมีการจัดการที่ดี มีราคาแพง เป็นมูลเหตุจูงใจที่สำคัญที่ทำให้เกษตรกรไทยตื่นตัวในเรื่องการลดปริมาณการใช้สารเคมี และหันมาใช้จุลินทรีย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในการกำจัดศัตรูพืชมากขึ้น สิ่งมีชีวิตที่นิยมใช้ในการควบคุมแมลงที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ คือ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) เนื่องจากประเทศไทยตั้งอยู่ในภูมิภาคที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตนานาชนิด จึงมีการค้นพบสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์เหล่านี้ในภูมิภาคต่าง ๆ ของประเทศ ด้วยกระแสความตื่นตัวด้านนี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์ ที่เกี่ยวข้องทั่วโลกให้ความสำคัญและสนใจต่อการเก็บรวบรวมสายพันธุ์ Bt เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่นำไปใช้พัฒนาให้เกิดประโยชน์ และรวบรวมสายพันธุ์เพื่อใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนในอนาคต รวมทั้งมีการศึกษาในระดับพันธุศาสตร์ โมเลกุลของสายพันธุ์ที่ดีในเรื่องของยีนที่ควบคุมการสร้างผลึกโปรตีนที่เป็นพิษ (cry genes) ต่อแมลงศัตรูพืช การศึกษาการพัฒนาความต้านทานของแมลงต่อ Bt และค่าความแรง (potency) ของเชื้อ Bt ในการกำจัดแมลงศัตรูพืชนับเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวในประเทศไทย เพื่อใช้อธิบายถึงผลของความรุนแรงของพิษและเป็นข้อมูลพื้นฐานทางชีวภาพของสายพันธุ์ ตลอดจนสร้างความเข้าใจในศักยภาพของ Bt และนำไปใช้ในการกำจัดศัตรูพืชอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด อีกทั้งเป็นข้อมูลในการปกป้องสายพันธุ์ Bt ที่ดีที่แยกได้ในประเทศไทย หรือการจดสิทธิบัตรสายพันธุ์จุลินทรีย์ในอนาคต ซึ่งเป็นการป้องกันการละเมิดหรืออ้างสิทธิ์ทรัพย์สินทางปัญญาของทรัพยากรในประเทศ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยทั้งหมดนี้ เพื่อก่อให้เกิดองค์ความรู้ที่สามารถนำ Bt สายพันธุ์ไทยไปใช้ประโยชน์ได้อย่างครบวงจร เริ่มตั้งแต่การรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ การทดสอบประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืช การศึกษาลักษณะทางชีวภาพที่สำคัญของสายพันธุ์ไทย แนวโน้มการพัฒนาความต้านทานของแมลงศัตรูต่อ Bt สายพันธุ์ไทย การหาค่าความแรงของเชื้อเพื่อ

ใช้กำกับผลิตภัณฑ์ และการพัฒนารูปแบบของผลิตภัณฑ์ให้มีคุณภาพและเหมาะสมต่อการนำมาใช้
อย่างต่อเนื่อง

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สํารวจและรวบรวมตัวอย่างดิน เศษวัสดุและซากพืชจากอุทยานแห่งชาติและเขตรักษาพันธุ์
ทั่วประเทศ นำมาแยกหา *Bt* ตามวิธีมาตรฐาน (Chanpaisaeng และคณะ, 1991 และ 1993) และ
จำแนกสายพันธุ์ไทยโดยเทคนิคทาง ชีววิทยาตามวิธีของ Ohba และ Aizawa (1978) และ de
Barjae และ Frachon (1990)

2. ทดสอบประสิทธิภาพของ *Bt* ที่แยกได้กับแมลงศัตรูสำคัญทางเศรษฐกิจ 3 ชนิดคือ หนอน
ใยผัก (*Plutella xylostella*) หนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* และหนอนเจาะสมอฝ้าย
(*Helicoverpa armigera*) ในห้องปฏิบัติการ และเรือนปลูกทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bt* ในห้องปฏิบัติการมี 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกใช้สารละลายของ
Bt ที่ประกอบด้วยสปอร์และผลึกโปรตีนความเข้มข้นประมาณ 10^7 สปอร์/มล. หยดลงบนอาหารเทียม
(หรือจุ่มใบผักสำหรับหนอนใยผัก) ให้หนอนกินและนับจำนวนหนอนที่ตายหลังจากได้รับเชื้อ *Bt*
นาน 24, 48 และ 72 ชั่วโมง คัดเลือกเฉพาะไอโซเลทของ *Bt* ที่สามารถฆ่าหนอนให้ตาย 100
เปอร์เซ็นต์ เพื่อทดสอบต่อในขั้นที่สองโดยใช้ *Bt* ที่คัดเลือกได้มาหยดในอาหารเทียมให้หนอนกินใน
อัตราความเข้มข้นที่ 10^3 , 10^5 และ 10^7 สปอร์/มล. และบันทึกจำนวนหนอนที่ตายตามเวลาในขั้นแรก
นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาอัตราการตายที่แท้จริงด้วย Abbott formula (1925) และวิเคราะห์หาความ
เข้มข้นที่ฆ่าหนอนตายที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ LC_{50} โดยใช้โปรแกรม Probit analysis (Finney,
1971)

3. นำ *Bt* สายพันธุ์ที่ให้ค่า LC_{50} ต่ำสุดในการทดสอบกับหนอนใยผักและแมลงทั้ง 3 ชนิดละ 2
ไอโซเลท มาทดสอบประสิทธิภาพต่อหนอนใยผักในเรือนปลูกทดลอง ใช้ *Bt* อัตราความเข้มข้น
เดียวกับการทดสอบขั้นที่สอง และเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ทางการค้า (*BtK*) ด้วย คัดเลือกสายพันธุ์ *Bt*
ที่มีประสิทธิภาพสูงในสภาพเรือนปลูกทดลองมาทดสอบประสิทธิภาพต่อ หนอนใยผักของ
เกษตรกรในอำเภอท่าม่วง จ.กาญจนบุรี โดยเตรียมเลี้ยงเชื้อ *Bt* ในอาหารเหลวจนได้เชื้อ *Bt* เข้มข้น
ประมาณ 10^9 สปอร์/มล. นำมาทดสอบโดยผสมกับน้ำในอัตราส่วนของเชื้อ *Bt* ที่ 25, 50 และ 75

เปอร์เซ็นต์ ใช้ฉีดพ่นเมื่อผักอายุได้ 1 เดือน โดยฉีดพ่น *Bt* ติดต่อกัน 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 3 วัน กลุ่ม
นับจำนวนหนอนใยผักก่อนการฉีดพ่นทุกครั้ง

4. การพัฒนาความต้านทานของหนอนใยผักต่อเชื้อ *Bt* ที่มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดหนอน
ใยผัก 2 ไอโซเลท ทำ Selection pressure โดยใช้อัตราความเข้มข้นของ *Bt* ที่ LC_{50} กับหนอนใยผักที่
เกิดจากสภาพแปลงต่างกันเทียบกับพันธุ์อ่อนแอ (Susceptible Strain, OSS) Georgiou, 1994;
Tabashnik และคณะ, 1994 และหาค่าความแรง (poency) ในหน่วยของ International Toxicity
Unit/mg เพื่อใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานกำกับอัตราการใช้กำจัดแมลงศัตรูผัก

5. ตรวจสอบยีนของ *cry* gene โดยเทคนิค PCR และโคลน *cry* gene เพื่อหาลำดับเบสของ
ดีเอ็นเอ วิเคราะห์ลำดับเบสของ *cry* gene ที่โคลนได้ในสายพันธุ์ *Bt* Birnboim และ Doly,
1979, Kuo และ Chak, 1996, Harwood และ Cutting, 1990) ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัด
แมลงศัตรูผัก 2 ไอโซเลท เทียบกับ *cry* gene จากสายพันธุ์ *Bt* อื่น ๆ ที่เคยมีการรายงาน (Tounsi และ
Jaoua, 2002)

6. พัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bt* สายพันธุ์ไทย ให้อยู่ในรูปแบบที่มีคุณภาพและเหมาะสมในการ
นำไปใช้อย่างต่อเนื่อง

7. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้ *Bt* จากงานวิจัยสู่เกษตรกร โดยการจัดอบรมเกษตรกร
ในจังหวัดรอบ ๆ กรุงเทพมหานคร จัดทำแปลงสาธิตให้เกษตรกรได้ประสบการณ์ตรง เพื่อเกิดความ
มั่นใจในการนำ *Bt* ไปใช้และช่วยกันเผยแพร่ให้มีการใช้กว้างขวางขึ้น

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. การรวบรวมสายพันธุ์ *Bt* ในประเทศไทย ได้ดำเนินการมาอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532
จนถึงปี 2542 สามารถจำแนกสายพันธุ์โดยเทคนิค H-serotype ได้ *Bt* จำนวน สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์
ที่เคยมีผู้รายงานแล้ว 15 สายพันธุ์คือ H3abc: *kurstaki* (132 ไอโซเลท) H3ac: *alesti* (3 ไอโซเลท)
H4ab: *sotto* (1 ไอโซเลท) H4ac: *kenyae* (53 ไอโซเลท) H5ab: *galleriae* (34 ไอโซเลท) H5ac:
canadensis (5 ไอโซเลท) H6ab: *entomocidus* (7 ไอโซเลท) H7: *alzawai* (3 ไอโซเลท) H9:
tolworthi (4 ไอโซเลท) H18: *kumamotoensis* (4 ไอโซเลท) H19: *tochigiensis* (2 ไอโซเลท)
H21: *colmeri* (1 ไอโซเลท) H24: *neoleonensis* (64 ไอโซเลท) H27: *mexicanensis* (1 ไอ
โซเลท) และ H33: *leesis* (1 ไอโซเลท) และพบสายพันธุ์ใหม่ 2 สายพันธุ์ (Lecadet และคณะ,
256

1999) คือ H46: *chanpasis* (3 ไอโซเลท) และ H68: *thailandensis* (1 ไอโซเลท) จำนวน 316 ไอโซเลท และยังมีไอโซเลทที่ยังไม่ได้จำแนกอีกกว่า 200 ไอโซเลท (จริยา และคณะ, 2544a) รวมทั้งสิ้น 17 สายพันธุ์

ปัจจุบันการจำแนกสายพันธุ์ *Bt* โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยา ไม่ค่อยเป็นที่นิยม แต่เทคโนโลยีใหม่ ๆ มุ่งเข้าหาจุดที่สร้างสารพิษต่อแมลงเลย นั่นคือการตรวจหาชิ้น *cry* และองค์ประกอบของชิ้น *cry* ว่าจะมีผลต่อการเข้าทำลายแมลงได้รุนแรงมากแค่ไหน ซึ่งเทคนิคนี้จะนำมาตรวจสอบ *Bt* ไอโซเลทที่ยังไม่ได้ทำการจำแนกต่อไป งานวิจัยนี้จึงเป็นพื้นฐานการจำแนกสายพันธุ์ในประเทศไทย ผลที่ได้ทำให้ทราบว่าสภาพภูมิประเทศของเรากำลังอยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายของสายพันธุ์ *Bt* สูงมากและน่าจะมีศักยภาพในการควบคุมแมลงศัตรูได้หลากหลายมากขึ้นเรื่อย ๆ

2. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bt* กับหนอนใยผัก หนอนกระทู้หอม และหนอนเจาะสมอฝ้ายในห้องปฏิบัติการ.

ได้นำสายพันธุ์ *Bt* ที่ได้ทั้งหมดในข้อ 1 ไปวิเคราะห์หาเฉพาะ *cryI* โดยใช้เทคนิค PCR ร่วมกับ RFLP พบว่ามี *Bt* จำนวน 28 ไอโซเลทที่มีชิ้น *cryI* จัดอยู่ใน 5 สายพันธุ์ คือ *galleriae* (4 ไอโซเลท) *kenyae* (3 ไอโซเลท) *neoleonensis* (1 ไอโซเลท) *thailandensis* (1 ไอโซเลท) และ *kurstaki* (19 ไอโซเลท) นำมาทดสอบหาค่า LC_{50} และคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่ให้ค่า LC_{50} ต่ำ ในหนอนใยผักพบ 2 ไอโซเลท คือ สายพันธุ์ *galleriae* (JC 150) ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 1.140×10^4 สปอร์/มล. และ *kurstaki* (JC 590) ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 4.476×10^3 สปอร์/มล. การทดสอบกับหนอนกระทู้หอม คัดเลือกได้ 2 ไอโซเลทคือ สายพันธุ์ *kurstaki* (JC 595) ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 1.756×10^4 สปอร์/มล. และสายพันธุ์เดียวกัน รหัส JC398 ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 7.037×10^5 สปอร์/มล. และในหนอนเจาะสมอฝ้ายคัดเลือก *Bt* ไว้ 2 ไอโซเลท คือ *kurstaki* (JC 82) ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 7.178×10^4 สปอร์/มล. และสายพันธุ์ *kenyae* (JC.190) ให้ค่า LC_{50} เท่ากับ 5.553×10^5 สปอร์/มล.

3. การทดสอบประสิทธิภาพของ *Bt* สายพันธุ์ที่คัดเลือกแล้ว กับแมลงศัตรูพืชชนิดเดียวกันในสภาพเรือนปลูกทดลอง และแปลงปลูกเกษตรกร

เมื่อนำไปทดสอบต่อในสภาพเรือนปลูกทดลอง และแปลงปลูกเกษตรกร พบว่า มีเพียงสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงต่อหนอนใยผัก 2 สายพันธุ์ (JC 150 และ JC 590) ที่ยังคงมีมีประสิทธิภาพในการควบคุมหนอนใยผักได้ดี (จริยา และคณะ, 2544b) ส่วนหนอนกระทู้หอมและหนอนเจาะสมอฝ้ายได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร

4. การพัฒนาความต้านทานของ *Bt* สายพันธุ์ JC 150 และ JC 590 กับหนอนใยผัก โดยการทดสอบประสิทธิภาพของ *Bt* ที่อัตราความเข้มข้นที่ LC_{50} ต่อเนื่องกันหลายชั่วรุ่นของหนอนใยผัก เพื่อนำมาวิเคราะห์หาค่า inheritability in dex การพัฒนาความต้านทานมีแนวโน้มว่ามีอัตราต่ำมาก แต่งานวิจัยนี้ใกล้จะเสร็จสมบูรณ์ คาดว่าจะเสนอผลงานวิจัยได้ในอนาคตอันใกล้

5. การตรวจหาชนิดของ *cry* gene โดยเทคนิค PCR และโคลน *cry* gene เพื่อหาลำดับเบสของดีเอ็นเอ

จากการวิเคราะห์ในระดับดีเอ็นเอโดยอาศัยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction, PCR) ใช้ไพรเมอร์ในกลุ่มของยีน *cry1* จำนวน 24 คู่ พบว่า *B. thuringiensis* JC 590 มียีน *cry1* ที่อยู่บนโครโมโซม และพลาสมิด ได้แก่ *cry1A(b)*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* ขณะที่ *B. thuringiensis* JC 150 พบว่ามียีน *cry1* ที่อยู่บนโครโมโซม ได้แก่ *cry1A(b)*, *cry1A(c)*, *cry1C*, *cry1D*, *cry1E*, *cry1I* และ *cry2A* ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์บีทีและการนำไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

6. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ *Bt* สายพันธุ์ไทย ได้เริ่มดำเนินงานในปีงบประมาณ 2548 โดยทุนอุดหนุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. โดยนำ *Bt* สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูง 2 สายพันธุ์คือ JC 150 และ JC 590 มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พร้อมใช้ในรูปแบบต่าง ๆ ที่ยังคงคุณภาพดีเหมือนเดิม และมีความเหมาะสมในการนำไปใช้อย่างต่อเนื่อง งานวิจัยนี้จะเสร็จสมบูรณ์ประมาณปลายปี พ.ศ. 2549 ซึ่งคาดว่าจะเป็ผลิตภัณฑ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่จะส่งถึงมือเกษตรกรให้ได้ใช้อย่างทั่วถึง

7. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้ *Bt* จากงานวิจัยสู่เกษตรกร โครงการนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ให้ดำเนินงานในปี 2546-2547 คณะผู้วิจัยได้จัดอบรมเกษตรกรสวนผักในจังหวัดรอบ ๆ กรุงเทพมหานคร มีการอบรม 4 ครั้ง ๆ ละ 2 วัน จัดที่ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมแห่งชาติ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม มีเกษตรกรเข้าร่วมการอบรม 125 ราย (จริยา และคณะ, 2547) รายละเอียดในการอบรมมีการบรรยาย คู่มืออย่างละเอียด จากกล้องจุลทรรศน์ ชมแปลงสาธิตการใช้ *Bt* ที่อำเภอท่าม่วง จ.กาญจนบุรี และเกษตรกรได้ลงไปเก็บรวบรวมหนอนที่ตายเพาะ *Bt* มาตรวจดูได้กล้องจุลทรรศน์ด้วยตนเอง รวมทั้งได้นำผักปลอดสารพิษกลับไปรับประทาน ทำให้เกิดความมั่นใจในการใช้ *Bt* มากขึ้น ในแต่ละรุ่นที่เข้าอบรมจะมีผู้นำเกษตรกรรุ่นละ 2 คน เพื่อคอยติดตามและประสานข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในกลุ่มเกษตรกรเอง จากโครงการนี้สามารถสร้างเครือข่ายเกษตรกรที่ใช้ *Bt* ด้วยความมั่นใจและสามารถใช้อย่างถูกต้อง

สรุปผล

การดำเนินงานวิจัยเกี่ยวกับ *Bt* อย่างต่อเนื่อง มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 มีเป้าหมายสำคัญที่ต้องการใช้ประโยชน์จาก *Bt* อย่างยั่งยืน บนพื้นฐานของการพึ่งพาตนเอง จึงได้มีการทำงานวิจัยอย่างครบวงจร เริ่มจากการรวบรวมและคัดเลือกสายพันธุ์ *Bt* ในประเทศ นำมาทดสอบประสิทธิภาพกับแมลงศัตรูทางเศรษฐกิจ ทำการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น การสร้างความต้านทานของแมลงต่อเชื้อ *Bt* การตรวจหาชนิดของยีน *cry* และองค์ประกอบของยีน *cry* ชนิดต่าง ๆ ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญที่สร้างพิษฆ่าแมลงศัตรูพืชได้ รวมทั้งหาค่าความแรงของเชื้อเพื่อใช้กำกับผลิตภัณฑ์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพในรูปแบบที่เหมาะสมต่อการใช้อย่างต่อเนื่อง และในเวลาเดียวกันมีการจัดโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้ *Bt* จากงานวิจัยสู่เกษตรกร เพื่อเป็นช่องทางที่เกษตรกรได้ความรู้และมีความมั่นใจในการใช้ *Bt* รวมทั้งได้นำผลจากงานวิจัยไปใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรและประเทศชาติอย่างแท้จริง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์พันธุ์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยโครงการต่าง ๆ มาอย่างต่อเนื่อง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และนักวิจัยจากหน่วยงานต่าง ๆ ที่มีส่วนช่วยหรือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- จรรยา จันทรีไพแสง ปทุมพร นิยมเอนก และเลาเจนา เขาวานาติชัย. 2544a. ความหลากหลายของสายพันธุ์ *Bacillus thuringiensis* ที่พบในประเทศไทย และประสิทธิภาพในการควบคุมแมลงศัตรูพืช. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เสนอต่อดคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 64 หน้า.
- จรรยา จันทรีไพแสง พัฒนา ศรีฟ้า และปทุมพร นิยมเอนก. 2544b. การควบคุมหนอนใยผัก *Plutella xylostella* ด้วย *Bacillus thuringiensis* สายพันธุ์ไทย. การประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 5 อารักขาพืช: ผลิตอาหารเพื่อประชากรโลก ภาคบรรยาย. ระหว่างวันที่ 21-23 พฤศจิกายน 2544 ณ โรงแรมเฟลิกซ์ริเวอร์แคว จังหวัดกาญจนบุรี. 179-184 น.
- จรรยา จันทรีไพแสง ชูพา มงคลสุข สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์ และประสิทธิ์ ศิวพัฒน์วงศ์. 2547. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการใช้แบคทีเรียบีทีจากงานวิจัยสู่เกษตรกร เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ โรงพิมพ์อักษรสยามการพิมพ์. 48 น.
- Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *J. Econ.* 18: 265-267.
- Agaisse, H. and Lereclus, D. 1995. How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? *J. Bacteriol.* 177, 6027-6032
- Birnboim, H. and Doly J. 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7: 1513-1523
- Chanpaisaeng, J., N. Thaveechai, S. Chaeychomsri, T. Attathom and S. Wongthong. 1991. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in Thailand. First International Conference on *Bacillus thuringiensis*, Oxford University, UK.
- Chanpaisaeng, J., T. Attathom, N. Thaveechai and G. Theeragool. 1993. *Bacillus thuringiensis* Found in Natural Habitat Around Thailand. Proceeding of the 31st Annual Conference in Plant Science, Kasetsart University. p. 664-670. (In Thai)
- Chanpaisaeng, J., T. Attathom, N. Thaveechai and G. Theeragool. 1993. Novel Isolation of *Bacillus thuringiensis* Found in Thailand. *J. Agr. Sci.* 26(1-3): 55-66. (In Thai)
- De Barjac, H. and E. Franchon. 1990. Classification of *Bacillus thuringiensis* Strains. *Entomophaga* 35: 233-240.
- Finney, D.J. 1971. Probit Analysis. Cambridge Univeristy Press. Cambridge, London.

- Georgiou, G.P. 1994. Mechanisms and characteristics of invertebrate resistance to bacterial toxins, pp. 48-50. *In* Proc. VIth Intern. Coll. Invertebr. Pathol., Montpellier, France. Soc. Inverte. Pathol.
- Harwood, C.R. and Cutting, S.M. (1990). *Molecular Biological Methods for Bacillus*. Acom Bookwork, Salisbury, Wiltshire, Great Britain.
- Kuo, W. S. and Chak, K. F. 1996. Identification of novel cry type genes from *Bacillus thuringiensis* strains on the basis of restriction fragment length polymorphism of the PCR-amplified DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2277-2282.
- Lecadet, M.M., E. Frachon, V. Cosmo Dumanoir, H. Ripouteau, S. Hamon, P. Laurent and I. Thiery. 1999. Updating the H-antigen Classification of *Bacillus thuringiensis*. *J. Appl. Microbiol.* 86: 660-672.]
- Ohba, M. and K. Aizawa. 1978. Serological Identification of *Bacillus thuringiensis* and Related Bacteria Isolated in Japan. *J. Invert. Pathol.* 33: 303-309.
- Shin, B.S., Park, S.H., Choi, S.K., Lee, S.T. and Kim, J.I. (1995) Distribution of cryV-type genes in *Bacillus thuringiensis* and cloning of cryV-type genes from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and *Bacillus thuringiensis* subsp. *Entomocidus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 2402-2407
- Tabashnik, B.E., F.R. Groeters, N. Finson, and M.W. Johnson. 1994. Instability of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Biocontrol Sci. and Tech.* 4: 419-426.
- Tounsi, S. and Jaoua, S. (2002) Identification of a promoter for the crystal protein-encoding gene *cryIa* from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. *FEMS Microbiol. Lett.* 208, 215-218

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
	1.2 บันทึกข้อมูลอัตราการตาย อัตราการอยู่รอด การอยู่รอด อัตราการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโต ความสามารถในการขยายพันธุ์ 1.3 ทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> กับหนอนใยผักในแต้ละรุ่น โดยทำการทดสอบในรุ่นที่ F_1, F_2, F_3, ..., F_n จนมีปริมาณของหนอนที่รอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80	1.2 บันทึกข้อมูลอัตราการตาย อัตราการอยู่รอด อัตราการเจริญเติบโต ความสามารถในการขยายพันธุ์ 1.3 ทดสอบการพัฒนาความต้านทานของหนอนใย ผักสายพันธุ์บางตัวของ (BBS) และสายพันธุ์ทำ ม่วง (TMS) ต่อ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 และ สายพันธุ์ JC590	1.2 ดูข้อมูลได้จากตารางผนวก 1.1-1.3
	1.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> กับหนอนใยผักในแต้ละรุ่น โดยทำการทดสอบในรุ่นที่ F_1, F_2, F_3, ..., F_n จนมีปริมาณของหนอนที่รอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80	1.3.1 ทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> กับหนอนใยผักในแต้ละรุ่น โดยทำการทดสอบในรุ่นที่ F_1, F_2, F_3, ..., F_n จนมีปริมาณของหนอนที่รอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80	1.3.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> กับหนอนใยผักในแต้ละรุ่น โดยทำการทดสอบในรุ่นที่ F_1, F_2, F_3, ..., F_n จนมีปริมาณของหนอนที่รอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80
	1.3.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i>	1.3.1.1 การทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i>	1.3.1.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> กับหนอนใยผักในแต้ละรุ่น โดยทำการทดสอบในรุ่นที่ F_1, F_2, F_3, ..., F_n จนมีปริมาณของหนอนที่รอดชีวิตมากกว่าร้อยละ 80

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
		1.3.2 การทดสอบการพัฒนาความต้านทานของหนอนใยผักต่อ <i>B. thuringiensis</i>	1.3.2 การทดสอบการพัฒนาความต้านทานของหนอนใยผักต่อ <i>B. thuringiensis</i> โดยให้หนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS ได้รับ <i>B. thuringiensis</i> ที่ระดับความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (LC ₁₀) อย่างต่อเนื่องได้ทั้งหมด 7 รุ่น (ตารางที่ 2.2-2.5)
	1.4 คำนวณหาค่าอัตราความต้านทาน (Resistance Ratio)	1.4 คำนวณหาค่าอัตราความต้านทาน (Resistance Ratio)	1.4 เมื่อคำนวณหาอัตราความต้านทาน (RR) พบว่าอัตราความต้านทาน (RR) หนอนใยผักสายพันธุ์ BBS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC590 มีค่าเท่ากับ 0.954 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่า 0.648 ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS รุ่นที่ 7 ที่ได้รับ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 มีค่าเท่ากับ 0.481 ส่วนสายพันธุ์ JC590 มีค่าเท่ากับ 31.58
	1.5 คำนวณหาค่าดัชนีการพัฒนาความต้านทาน (Inheritance Ratio)	1.5 คำนวณหาค่าดัชนีการพัฒนาความต้านทาน (Inheritance Ratio)	1.5 ค่า Heritability (h^2) จากการทดสอบหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS กับ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 และ JC590 ได้ค่า h^2 เท่ากับ 0.047 และ -0.009 ส่วนหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS กับ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 และ JC590 ได้ค่า h^2 เท่ากับ 0.074 และ -0.081

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
2. หาค่าความแรง (potency) ของ <i>B. thuringiensis</i> ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงศัตรูพืช 2 ไอโซเลต ในหน่วย Toxicity Unit (IU)/mg เพื่อใช้เป็นเกณฑ์มาตรฐานกำกับอัตราการใช้กำจัดแมลงศัตรูพืช	2.1 ทดลองและคำนวณหาค่าความแรง (potency) ของ <i>B. thuringiensis</i> 2 ไอโซเลต ในหน่วยของ International Toxicity (ITU) / mg	2.1 การเลียบเพิ่มปริมาณหนอนใยผักเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 และสายพันธุ์ JC590 ระดับที่ทำลายหนอนใยผักให้ตาย 50 เปอร์เซนต์ (LC ₅₀) เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า	2.1 ค่า LC ₅₀ ของ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 กับ หนอนใยผักสายพันธุ์ BBS ได้ค่า LC ₅₀ ระหว่าง 1.246 x10 ² - 1.156 x10 ³ cfu/ml. และทดสอบกับหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS ได้ค่า LC ₅₀ ระหว่าง 1.85x10 ² - 2.1474x10 ⁴ cfu/ml. ส่วน <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC590 ทดสอบหาค่า LC ₅₀ กับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS ได้ค่า LC ₅₀ ระหว่าง 2.37x10 ² - 3.744x10 ³ cfu/ml. และทดสอบกับหนอนใยผักสายพันธุ์ TMS ได้ค่า LC ₅₀ ระหว่าง 2.00x10 ² - 5.6242x10 ⁴ cfu/ml.
2.2 การคำนวณหาค่า International Toxicity Unit	2.2 การคำนวณหาค่า International Toxicity Unit	2.2 การคำนวณหาค่า International Toxicity Unit	2.2 . เมื่อนำมาหาค่าความแรงของ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 และ สายพันธุ์ JC590 พบว่าค่าความแรงของ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC150 กับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยเปรียบเทียบกับ <i>B. thuringiensis</i> มาตรฐานรูปแบบผง (TW1) มีค่าความแรง 25,473 - 57,945.94 IU และ 12,236.8 - 28,429 IU/ml. ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับ <i>B. thuringiensis</i> มาตรฐานรูปแบบน้ำขึ้น (TW2) มีค่าความแรง 3,438.53 - 22,265.5 IU/ml. และ 3,308 - 38,964 IU/ml. ตามลำดับ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ดำเนินการมา	ผลที่ได้รับตลอดโครงการ
			ในการทดสอบเพื่อหาค่าความแรงของ <i>B. thuringiensis</i> สายพันธุ์ JC590 เปรียบเทียบกับ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน โดยทดสอบกับหนอนใยผักสายพันธุ์ BBS และสายพันธุ์ TMS โดยใช้ TW1 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 14,975.6 -53,600 IU/ml. และ 2,293.3 -34,970.40 IU/ml. ตามลำดับ ขณะที่การเปรียบเทียบโดยใช้ TW2 เป็นสายพันธุ์มาตรฐาน มีค่าความแรง 3,228.29 -10,776.37 IU/ml. และ 2,642.6 -7,302 IU/ml. ตามลำดับ

สัญญาเลขที่ RDG 4620027

โครงการ “การพัฒนาสายพันธุ์แบคทีเรียบีทีและไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์
อย่างยั่งยืน” (ระยะที่1)

รายงานสรุปการเงินในรอบ 12 เดือน

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน รศ. ดร. จริยา จันทรีไพแสง
รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ธันวาคม 2547 – 30 พฤศจิกายน 2548

รายจ่าย					
หมวด (ตามสัญญา)	รายจ่ายสะสม จากรายงานครั้ง ก่อน	ค่าใช้จ่าย งวดปัจจุบัน	รวมรายจ่ายสะสม จนถึงงวดปัจจุบัน	งบประมาณ ทั้งหมด ที่ตั้งไว้ตาม สัญญา	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	299,250.00	48,000.00	347,250.00	395,250.00	48,000.00
2. ค่าจ้าง	408,346.50	145,012.50	553,359.00	553,359.00	0.00
3. ค่าใช้สอย	228,536.50	67,139.00	295,675.50	257,700.00	-37,975.50
4. ค่าวัสดุ	656,234.60	95,536.04	751,770.64	770,000.00	18,229.36
5. ค่าครุภัณฑ์	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
รวม	1,592,367.60	355,687.54	1,948,055.14	1,976,309.00	28,253.86

จำนวนเงินที่ได้รับและจำนวนเงินคงเหลือ

จำนวนเงินที่ได้รับ

งวดที่ 1	553,967.00 บาท	เมื่อ 13 มิถุนายน 2546
ดอกเบี้ยครั้งที่ 1	1.90 บาท	เมื่อ 30 มิถุนายน 2546
งวดที่ 2/1	200,000.00 บาท	เมื่อ 31 ธันวาคม 2546
ดอกเบี้ยครั้งที่ 2	118.80 บาท	เมื่อ 31 ธันวาคม 2546
งวดที่ 2/2	298,967.00 บาท	เมื่อ 15 มกราคม 2547
ดอกเบี้ยครั้งที่ 3	54.36 บาท	เมื่อ 30 มิถุนายน 2547
งวดที่ 3/1	200,000.00 บาท	เมื่อ 22 กรกฎาคม 2547
งวดที่ 3/2	291,687.50 บาท	เมื่อ 10 สิงหาคม 2547
ดอกเบี้ยครั้งที่ 4	68.44 บาท	เมื่อ 31 ธันวาคม 2547
งวดที่ 4/1	150,000.00 บาท	เมื่อ 18 มกราคม 2548
งวดที่ 4/2	233,687.50 บาท	เมื่อ 18 กุมภาพันธ์ 2548
ดอกเบี้ยครั้งที่ 5	33.30 บาท	เมื่อ 30 มิถุนายน 2548
ดอกเบี้ยครั้งที่ 6	2.27 บาท	เมื่อ 31 ธันวาคม 2548

รวม **1,938,588.07** บาท

ค่าใช้จ่าย

งวดที่ 1 เป็นเงิน	560,895.51 บาท
งวดที่ 2 เป็นเงิน	493,519.60 บาท
งวดที่ 3 เป็นเงิน	537,952.49 บาท
งวดที่ 4 เป็นเงิน	355,687.54 บาท
รวม	<u>1,948,055.14</u> บาท

จำนวนเงินคงเหลือ **-9,467.07 บาท**

.....จรรยา จันทรีไพแสง.....

รศ.ดร. จรรยา จันทรีไพแสง
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

.....ศ.ดร.สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์.....

ศ.ดร.สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์
เจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

สัญญาเลขที่ RDG 4620027

โครงการ “การพัฒนาสายพันธุ์แบคทีเรียบีทีและไส้เดือนฝอยกำจัดแมลงเพื่อการใช้ประโยชน์
อย่างยั่งยืน” (ระยะที่1)
ประมาณค่าใช้จ่ายในงวดต่อไป

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน
รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่

รศ. ดร. จริยา จันทรไพแสง
1 ธันวาคม 2547 – 30 พฤศจิกายน 2548

งบประมาณที่เสนอสำหรับงวดที่ 5

หมวด (ตามสัญญา)	ตั้งไว้เดิม (ในสัญญา)	เสนอใหม่	แตกต่าง	%	หมายเหตุ
1. ค่าตอบแทน	61,500.00	48,000.00	-13,500.00	-21.95	ตั้งเอกสารแนบที่ 1
2. ค่าจ้าง	0.00	0.00	0.00	0.00	
3. ค่าใช้สอย	0.00	0.00	0.00	0.00	
4. ค่าวัสดุ	0.00	0.00	0.00	0.00	
5. ค่าครุภัณฑ์	0.00	0.00	0.00	0.00	
รวม	61,500.00	48,000.00	-13,500.00	-21.95	

เงินที่ควรส่งให้ในงวดนี้ 48,000.00 บาท
(สี่หมื่นแปดพันบาทถ้วน)

.....
รศ.ดร. จริยา จันทรไพแสง
หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน

.....
ผศ.ดร. สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์
เจ้าหน้าที่การเงินโครงการ

30 DEC 2003

THIS BOOK SHOULD BE PRODUCE FOR DEPOSIT OR WITHDRAWAL
PLEASE NOTIFY US OF ANY CHANGE OF ADDRESS OR LOSS OF PASSBOOK

คำเตือน

ต้องนำสมุดฝากเงินนี้มาทุกครั้งที่มีการฝากหรือถอน
ไปรูดแจ้งธนาคาร เมื่อสมุดฝากสูญหายหรือเปลี่ยนแปลงที่อยู่ใหม่

ธนาคารจะเรียกเก็บค่าธรรมเนียมรักษานับบัญชีเงินฝาก ไม่เกินรายเดือนละ 50.-บาท โดยมีเงื่อนไข ดังนี้-

- ก. บุคคลธรรมดา บัญชีที่มียอดคงเหลือไม่เกิน 500.-บาท และไม่มีการเคลื่อนไหวติดต่อกัน 1 ปี
- ข. นิติบุคคล บัญชีที่มียอดคงเหลือไม่เกิน 1,000.-บาท และไม่มีการเคลื่อนไหวติดต่อกัน 1 ปี

025611725-6

หมายเลขบัญชี 039-6-02805-5

สำนักงานสามแยกเกษตร
Office

บัญชีเลขที่
Account No.

039-1-98156-0

ชื่อบัญชี
Account Name

แบบที่เรียกใช้การฝากเงิน



ลายมือชื่อผู้มีอำนาจลงนาม
Authorized Signature

ทะเบียนเล่มที่ S/A B 2696779

ณ. 251245.500.000

รหัส NA.82101

วัน เดือน ปี D M Y	ลำดับ DEP No.	คำขอ CODE	ถอน WITHDRAWAL	ฝาก DEPOSIT	คงเหลือ BALANCE	เจ้าหน้าที่ ผู้รับผิดชอบ STAFF ID.
13.06.46	039 8/F				*****0.00	80412
30.06.46	007 TTS			*****553,967.00	*****553,967.00	60806 2
30.06.46	039 INP			*****1.90	*****553,968.90	800000 3
30.09.46	039 CRT			*****0.00	*****553,968.90	500000 4
30.09.46	039 DBT		*****341,314.00		*****212,654.90	500000 5
02.10.46	039 RSC		*****19,500.00		*****193,154.90	60067 6
31.10.46	039 CRT			*****0.00	*****193,154.90	500000 7
31.10.46	039 DBT		*****10,114.00		*****183,040.90	500000 8
14.11.46	039 RSC		*****150,000.00		*****33,040.90	60067 9
30.11.46	039 CRT			*****0.00	*****33,040.90	500000 10
30.11.46	039 DBT		*****10,114.00		*****22,926.90	500000 11
03.12.46	039 RSC		*****21,426.00		*****1,500.90	60067 13
31.12.46	039 DBT		*****0.00	*****200,118.80	*****201,619.70	500000 14
08.01.47	039 RSC		*****119,614.00		*****201,619.70	500000 15
15.01.47	007 TTS			*****298,967.00	*****82,005.70	60067 16
29.02.47	039 CRT			*****0.00	*****380,972.70	320037 17
29.02.47	039 DBT		*****272,836.00		*****380,972.70	500000 18
04.03.47	039 RSC		*****19,500.00		*****108,136.70	500000 19
10.03.47	039 RSC		*****28,000.00		*****88,636.70	60067 20
					*****60,636.70	60067 21

สำเนาสมุดบัญชี

คำอธิบาย "คำขอ" โปรดดูด้านหลังเล่ม

FOR INTERPRETATION OF "CODE" ABOVE, PLEASE SEE INSIDE BACK COVER.

ทะเบียนเล่มที่ S/A B 2696779



วัน เดือน ปี D M Y	ลำดับ DEP No.	รหัส CODE	ถอน WITHDRAWAL	ฝาก DEPOSIT	คงเหลือ BALANCE	เจ้าหน้าที่ STAFF
18/03/48	7	SDTRC		++1111233,687.50	*****240,860.00	1801
03/03/48	700	OTOS		---100,080.50	*****140,778.50	90053
04/03/48	700	OTOS		---29,644.00	*****111,135.50	90053
07/03/48	700	OTOS		---19,500.00	*****91,635.50	90053
24/03/48	700	OTOS		---25,000.00	*****66,635.50	90053
29/03/48	700	OTOS		---15,322.00	*****51,313.50	90053
25/04/48	700	OTOS		---35,413.00	*****15,900.50	90053
31/05/48	700	OTOS			*****1,500.50	90053
30/05/48	0	1PS		*****1,533.80	9400	
31/12/48	0	1PS		*****1,536.07	9400	

สำเนาถูกต้อง

ทริบียอนเมนต์ S/B 2696779

คำอธิบาย "รหัส" ไม่ถูกต้องตามต้นฉบับ
FOR INTERPRETATION OF "CODE" ABOVE, PLEASE SEE INSIDE BACK COVER.

วัน เดือน ปี D M Y	ลำดับ DEP No.	รหัส CODE	ถอน WITHDRAWAL	ฝาก DEPOSIT	คงเหลือ BALANCE	เจ้าหน้าที่ STAFF
18/03/47	039	RSC	*****19,614.00		*****41,022.70	60067
18/04/47	039	RSC	*****28,614.00		*****12,408.70	60067
31/05/47	039	PTC	*****200.00		*****12,208.70	639123
1-05-47	039	DCA		*****200.00	*****12,408.70	60904
2-06-47	039	INP		*****51.36	*****12,463.06	800000
2-07-47	007	ITS		*****200,000.00	*****212,463.06	320036
3-07-47	039	RSC	*****50,000.00		*****162,463.06	60067
0-07-47	039	RSC	*****100,000.00		*****62,463.06	60067
3-08-47	007	ITS		*****291,587.50	*****354,150.56	826019
25/08/47	39	RSC		105,000.50	*****249,070.06	11
03/09/47	39	RSC		60,000.00	*****189,070.06	12
30/09/47	700	OTOS		35,000.00	*****154,070.06	90053
01/10/47	700	OTOS		19,500.00	*****134,570.06	90053
26/10/47	700	OTOS		30,000.00	*****104,570.06	90053
20/10/47	700	OTOS		46,500.00	*****58,070.06	90053
09/11/47	700	OTOS		33,000.00	*****25,070.06	90053
30/11/47	700	OTOS		15,322.00	*****10,748.06	90053
31/12/47	0	1PS		*****68.44	*****11,816.50	9400
18/01/48	7	SDTRC		*****150,000.00	*****151,816.50	1801
27/01/48	700	OTOS		75,000.00	*****76,816.50	90053
01/02/48	700	OTOS		49,564.00	*****27,252.50	90053

คำอธิบาย "รหัส" ไม่ถูกต้องตามต้นฉบับ
FOR INTERPRETATION OF "CODE" ABOVE, PLEASE SEE INSIDE BACK COVER.

ทริบียอนเมนต์ S/B 2696779