# พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง

# Development Technology of Nucleopolyhedrovirus Producing from Cell Culture

**สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต สาทิพย์ มาลี เสาวนิตย์ โพธิ์พูนศักดิ์**
**กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช**

---

## บทคัดย่อ

พัฒนาเทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ระหว่าง เดือนตุลาคม 2553 ถึง เดือนกันยายน 2554 เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ โดยมีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ 90.05 % เซลล์หนอนใยผักที่ 90.21 % เซลล์หนอนกระทู้ผัก ที่ 91.25 % และเซลล์หนอนกระทู้หอม 91.45 % ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ซึ่งต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงพัฒนาเพื่อให้ได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) และผลการตรวจวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุลยังแสดงผลไปในทิศทางเดียวกัน

**คำหลัก** : เซลล์แมลงเพาะเลี้ยง การผลิต Insect cell culture, Nucleopolyhedrovirus, NPV, producing, biopesticide

---

**รหัสการทดลอง** 03-04-54-01-02-01-01-54

## คำนำ

การใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลงเป็นสารชีวินทรีย์ควบคุมแมลงศัตรูพืชหลายชนิด ได้แพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สหภาพโซเวียต อินเดีย จีน ญี่ปุ่น แอฟริกา ออสเตรเลีย อเมริกา เป็นต้น บางชนิดได้มีการผลิตเป็นการค้า เนื่องจากควบคุมแมลงศัตรูพืชได้ดีและมีความปลอดภัยสูงต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ทำให้ไวรัสมีความเฉพาะเจาะจงในการเข้าทำลายแมลง (Entwistle, 1998) สำหรับในประเทศไทย นับแต่ปี พ.ศ. 2510 มีรายงานการศึกษาวิจัยโรคไวรัส NPV สาเหตุโรคของแมลง ในกลุ่ม Nucleopolyhedrovirus (NPV) หรือชื่อเดิม Nuclear polyhedrosis viruses (อุทัย, 2544) โดยกลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้มีการวิจัยและพัฒนาการผลิตขยายและการใช้ไวรัสสาเหตุโรคของแมลง ชนิด *Spodoptera exigua* Multiple-nucleocapsid Nucleopolyhedrovirus (SeMNPV) เป็นปริมาณมากในรูปแบบการผลิตแบบ *in vivo* คือ ผลิตจากหนอนแมลง เนื่องจาก ไวรัสจะสามารถเจริญขยายเพิ่มจำนวนได้ในเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น การผลิตไวรัสจึงสามารถผลิตขยายได้ 2 รูปแบบ คือ การผลิตจากหนอนแมลง เรียกว่าแบบ *in vivo* และ ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง เรียกว่า แบบ *in vitro* (สุชลวัจน์, 2545; Wongwilikhit and Somsuk, 2006) ปัญหาที่พบในการผลิตไวรัส SeMNPV ที่ใช้รูปแบบการผลิต แบบ *in vivo* คือ 1.) อัตราการผลิตไวรัสแต่ละรุ่น/ชนิดไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากเลี้ยงหนอนไม่ได้ตามกำหนดเวลาที่ต้องการใช้แต่ละรุ่น 2.) ประสิทธิภาพไม่แน่นอน มีกลิ่นเหม็น เนื่องจากมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่น เช่น แบคทีเรีย โปรโตซัว รา ทั้งที่เป็นสาเหตุโรคแมลงหรือแม้แต่ไวรัสที่ต่างชนิดกัน และผลิตภัณฑ์ไวรัสไม่สามารถจำแนกชนิดได้ด้วยลักษณะทางสรีระวิทยา 3.) ผลิตภัณฑ์ไวรัสที่มีจำหน่ายทุกวันนี้ ยังไม่สามารถกำหนดมาตรฐานในการขึ้นทะเบียนสารชีวินทรีย์ตามมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ เพียงแต่ให้ใช้แบบไม่มีการขึ้นทะเบียนฯเท่านั้น 5.) การใช้สถานที่และแรงงานในการปฏิบัติงานมาก ซึ่งทำให้มีต้นทุนสูง และทำให้มีข้อจำกัดในกระบวนการผลิตขยายในปริมาณมาก (อุทัยและคณะ, 2537) การแก้ปัญหาดังกล่าวข้างต้นของการผลิตไวรัส SeMNPV แบบ *in vivo* จึงมีการทดลองวิจัยรูปแบบการผลิตไวรัส SeMNPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง หรือที่เรียกว่า การผลิตแบบ *in vitro* โดยนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชจาก United Stated Department of Agriculture (USDA) ประเทศสหรัฐอเมริกา (สุชลวัจน์, 2539; สุชลวัจน์และคณะ, 2543; Lynn and Shapiro, 1998) มาใช้ทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนแมลงสายพันธุ์ไทยในกลุ่มแมลงศัตรูพืชผัก ผลจากการทดลองเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้ผักสายพันธุ์ไทย (Sl cell line : *Spodoptera litura* cell line) จากเอ็มบริโอ (Embryonic stem cell) ได้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงชนิดนี้ได้เป็นผลดี มีอัตราการเจริญ 91.49 % (สุชลวัจน์และคณะ, 2545) ต่อมาใช้เทคนิคเดียวกันเพาะเลี้ยงเซลล์หนอนกระทู้หอมมีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ 90.91 % และได้เป็นรูปแบบการผลิตขยายไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่องกันได้ดี (สุชลวัจน์และคณะ, 2551) ดังนั้น จึงทำการวิจัยพัฒนาต่อยอดเพื่อให้ได้เทคโนโลยีการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยงชนิดใหม่เพิ่มเติม ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในการผลิตไวรัส NPV จากเซลล์เพาะเลี้ยง เพื่อให้ได้เทคโนโลยีที่สามารถนำไปขยายผลในเชิง

การค้าได้ และทำให้ผลิตภัณฑ์ไวรัสมีคุณภาพมาตรฐานความปลอดภัยทางชีวภาพ ในการนำไปใช้ควบคุมแมลงศัตรูพืชโดยชีววิธี สอดคล้องกับแนวทางการผลิตพืชให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสภาพแวดล้อม เพื่อยกระดับคุณภาพชีวิตและการพัฒนาที่ยั่งยืนตามยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (พ.ศ. 2550-2554)

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างแมลงและการเลี้ยงแมลงในห้องปฏิบัติการ เช่น กล่องพลาสติก ปากคีบ น้ำหวาน อาหารเทียมเลี้ยงแมลง เป็นต้น

2.วัสดุอุปกรณ์การเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ ขวดใส่สารละลาย สารเคมีผสมสูตรสำเร็จ กระดาษกรอง ชุดกรองสารละลาย จานพลาสติกเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง ชุดเครื่องผ่าตัด หลอดดูดสารละลาย หลอดปั่นแยกสาร T-flask และภาชนะเพาะเลี้ยง Cells lines ขนาดต่างๆ อาหารเพาะเลี้ยงเซลล์ สารเคมีที่จำเป็น เช่น Sodium phosphate, Serum, Glucose, Yeastolate, Tryptose, Primatone, Cystine, Methionine, Inosine, Pluronic, Sodium bicarbonate, Potassium chloride, Magnesium sulfate เป็นต้น

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เช่น เครื่องกรองอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลง เครื่องวัดค่าออสโมซีส กล้องจุลทรรศน์ ถังไนโตรเจนเหลวเก็บสต๊อคเซลล์ ตู้ควบคุมอุณหภูมิ เครื่องเพาะเลี้ยงเซลล์ cell spin เป็นต้น

4. วัสดุอุปกรณ์เก็บตัวอย่าง Cell line เช่น หลอด Cryotube ใส่สารละลาย ไนโตรเจนเหลว เป็นต้น

### วิธีการ

ดำเนินการทดลองวิจัยย่อย 2 การทดลอง ได้แก่ 1.) เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ 2.) เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

### การทดลองที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ

เพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell ตามเทคนิควิธีการของสุชลวัจน์ (2545) เพาะเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 27 $^{\circ}$C ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 อัตราการเลี้ยงขยายเซลล์ (sub-culture) 1:5 ในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มม. ทำการ sub-culture 3-4 วัน/ครั้ง คัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงให้มีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability)

มากกว่า 80% เพื่อให้ได้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น 5-10 เท่า ภายใน 4-7 วัน ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (starter cells) จำนวน 2 ซ้ำ เพื่อหาอัตราการเจริญของเซลล์ที่เหมาะสมในแต่ละภาชนะ และอัตราการขยายเพิ่มปริมาณ บันทึกผลโดยการตรวจนับจำนวนเซลล์ทุกวันต่อเนื่องด้วยสไลด์ Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ เปรียบเทียบอัตราการเจริญของเซลล์ โดยคำนวณจากค่าร้อยละของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ แล้วคัดเลือก Se-cell line ไปใช้ในการทดลองที่ 2

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของเซลล์เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล เปรียบเทียบกับเซลล์หนอนแมลงปกติ โดย สกัดตัวอย่างหนอนและเซลล์เพาะเลี้ยง ด้วยโกร่งเย็น เติม PBS 1,000 µl เพื่อรักษาสภาพเซลล์ ปั่นเหวี่ยง 2,000 - 5,000 rpm 5 นาที เติม extraction buffer 500 µl บ่มที่อุณหภูมิ 65°C นาน 10 นาที เติม cool 5M potassium acetate 120 µl และ proteinase K 10 µl แช่เย็น 30 นาที เติม phenol/chloroform 1:1 500 µl ปั่นเหวี่ยง 10,000 rpm นาน 5 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ เติม 95% Cool ethanol ปริมาตรเป็น 2 เท่าของส่วนใส ปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm นาน 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติม 70% ethanol 200 µl ปั่นเหวี่ยง 12,000 rpm นาน 10 นาที เทส่วนใสทิ้งเหลือแต่ตะกอนทิ้งให้ ethanol ระเหยที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที จากนั้นเติม TE buffer 30 µl ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ด้วยอะกาโรสเจลอีเล็กโตรโฟรีซีสสำหรับวิเคราะห์แถบของดีเอ็นเอ

**การทดลองที่ 2. เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ**

นำเซลล์หนอนกระทู้หอมเพาะเลี้ยงที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1 ข้างต้น มาเลี้ยงขยายในภาชนะ แบบ T-flask ใช้เซลล์ตั้งต้น $2 \times 10^5$ – $1 \times 10^6$ เซลล์/มล. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการสร้างผลึกไวรัสในเซลล์หนอน กระทู้หอมเพาะเลี้ยง หลังจาก sub-culture 4 วัน และเพาะอนุภาคไวรัส (infection) จากเลือดหนอนกระทู้หอม ในเซลล์เพาะเลี้ยง อนุภาคไวรัสที่ใช้มีค่า Multiplicity of infection (MOI) ที่เหมาะสมต่อความเข้มข้นของเซลล์ตั้งต้น $2 \times 10^5$ - $1 \times 10^6$ เซลล์/มล. จำนวน 2 ซ้ำต่ออัตราอนุภาคไวรัส หลังจากนั้น ตรวจดูการสร้างผลึกโปรตีนไวรัสบริเวณนิวเคลียสของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ inverted microscope เปรียบเทียบกับเซลล์เพาะเลี้ยงปกติ ตรวจนับจำนวนผลึกไวรัสที่ได้ด้วยสไลด์ Hemocytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ light compound microscope จำนวน 4 ซ้ำ คัดเลือกอัตราอนุภาคไวรัสที่ดีที่สุดในการทดลองข้างต้นนำมาใช้ผลิตขยายแบบต่อเนื่องจำนวน 3 รอบการผลิต โดยทำการปั่นแยกอนุภาคไวรัสจากผลผลิตไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยง ปั่นตกตะกอนที่แรงเหวี่ยง 10,000*g* นาน 8 นาที มาใช้เพาะเลี้ยงอนุภาคไวรัสในเซลล์เพาะเลี้ยงในรอบการผลิตถัดไป รอบที่ 1 และ 2 ในภาชนะ แบบ cell spin flask (ปริมาตร 500 – 1,000 มล./ขวด)

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล เปรียบเทียบกับไวรัสที่ผลิตจากหนอนแมลงปกติ โดย สกัดตัวอย่างไวรัสที่ผลิตจากหนอน และ ไวรัสที่ผลิตจาก

เซลล์เพาะเลี้ยงตามวิธีการของ (Wongwilikhit *et al.* 2008) หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ด้วยอะกาโรสเจลอีเล็กโตรโฟรีซีสสำหรับวิเคราะห์แถบของดีเอ็นเอ

**เวลาและสถานที่ทำการทดลอง**

ดำเนินการทดลองวิจัย ตั้งแต่ เดือนตุลาคม 2553 สิ้นสุด เดือนกันยายน 2555 ณ ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ กลุ่มกีฏและสัตววิทยาสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

## ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

**การทดลองย่อยที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ**

จากการเพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell จากหนอนแรกเกิด เปรียบเทียบ 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม ตามเทคนิควิธีการของ สุชลวัจน์ (2545) เพาะเลี้ยงไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่ 27 $^{\circ}$C ในอาหารเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช มีค่าออสโมซีส 350 – 360 mOsmols/kg. ค่า pH 6.2- 6.3 อัตราการเลี้ยงขยายเซลล์ (sub-culture) 1:5 ในภาชนะเพาะเลี้ยงเซลล์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35 มม. ทำการ sub-culture 3-4 วัน/ครั้ง คัดเลือกเซลล์เพาะเลี้ยงให้มีค่าร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) มากกว่า 80% เพื่อให้ได้อัตราการเจริญของเซลล์เพิ่มขึ้น 5 เท่าภายใน 4 วัน ใช้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงตั้งต้น (starter cells) และตรวจดูความต่อเนื่องของการเจริญของเซลล์ พบว่า เซลล์เพาะเลี้ยงทั้ง 4 ชนิด สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ โดยมีค่าร้อยละการเจริญที่สูงสุดของเซลล์ เซลล์หนอนใยผักที่ 90.21 % หนอนเจาะสมอฝ้ายที่ 90.05 % เซลล์หนอนกระทู้ผัก ที่ 91.25 % และเซลล์หนอนกระทู้หอม 91.45 % (ตารางที่ 1) ซึ่งยังคงสภาพได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยง (cell line) ซึ่งต้องใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงพัฒนาเพื่อให้ได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) จึงจะนำไปใช้ในการทดลองที่ 2 ต่อไป

การควบคุมคุณภาพเซลล์เพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับเซลล์หนอนแมลงด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล พบว่า แถบของดีเอ็นเอเซลล์เพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับเซลล์หนอนแมลงอยู่ที่ตำแหน่งตรงกัน ซึ่งควรได้มีการวิจัยเพิ่มเติม โดยใช้ Degenerate primers หรือ Restriction enzyme หรือ ลำดับเบสของดีเอ็นเอ เพื่อยืนยันผลความเหมือนกัน

**ตารางที่ 1.** ร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) มากกว่า 80%

| แหล่งที่เก็บตัวอย่างแมลง | ร้อยละการเจริญของเซลล์ที่สามารถเจริญต่อไปได้ (cells viability) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | เซลล์หนอนใยผัก | เซลล์หนอนเจาะสมอฝ้าย | เซลล์หนอนกระทู้ผัก | เซลล์หนอนกระทู้หอม |
| 1. กาญจนบุรี | 90.21 | 90.05 | 91.25 | 91.45 |
| 2. นครราชสีมา | - | 85.90 | - | - |
| 3. นนทบุรี | - | - | 87.35 | - |
| 4. กรุงเทพฯ | - | - | 83.25 | - |

**การทดลองย่อยที่ 2. เพาะเลี้ยงไวรัสจากเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบ**

ดำเนินการต่อจากการทดลองย่อยที่ 1. เพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืชสายพันธุ์ไทยต้นแบบจนกระทั่งได้เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงต่อเนื่อง (continuous cell line) แล้ว และ การควบคุมคุณภาพไวรัสที่ผลิตจากหนอน และ ไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล พบว่า แถบของดีเอ็นเอไวรัสที่ผลิตจากหนอน และ ไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยง อยู่ที่ตำแหน่งตรงกัน ซึ่งควรได้มีการวิจัยเพิ่มเติม โดยใช้ Degenerate primers หรือ Restriction enzyme หรือ ลำดับเบสของดีเอ็นเอ เพื่อยืนยันผลความเหมือนกันต่อไป

## สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

เทคนิคการเพาะเลี้ยงขยายเซลล์แมลงเพาะเลี้ยง จาก Embryonic stem cell จากหนอนแรกเกิด เปรียบเทียบ 4 ชนิด ได้แก่ หนอนเจาะสมอฝ้าย หนอนใยผัก หนอนกระทู้ผัก หนอนกระทู้หอม สามารถเจริญเติบโตเป็นเซลล์ต้นแบบได้ตามเทคนิควิธีการนี้ ที่สามารถนำไปเผยแพร่ได้ และถ้าวิจัยต่อเนื่องนำไปประยุกต์ต่อยอด จะได้เป็นต้นแบบที่เหมาะสมต่อการผลิตขยายไวรัสจากเซลล์เพาะเลี้ยงมาตรฐาน ที่สามารถนำไปจดสิทธิบัตร เพื่อเป็นประโยชน์ของกรมวิชาการเกษตรต่อไป นอกจากนี้การตรวจวิเคราะห์คุณภาพไวรัสที่ผลิตจากหนอน และ ไวรัสที่ผลิตจากเซลล์เพาะเลี้ยงด้วยเทคนิคชีวโมเลกุล ยืนยันผลไปในทิศทางเดียวกัน

## เอกสารอ้างอิง

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

สุชลวัจน์ ว่องไวลิขิต 2545. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเซลล์แมลงศัตรูพืช เอกสารประกอบการบรรยายเชิงปฏิบัติการ กลุ่มงานวิจัยการปราบศัตรูพืชทางชีวภาพ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรุงเทพฯ.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Wongwilikhit, S., K. Ukoskit, M. Mingmuang, A. Thongpan and V. SomSook. 2008. A rapid detection and identification of Thai Nucleopolyhedrovirus using PCR-based typing. In International seminar : Bio Agricultural Input for Sustainable Agriculture Prospects and Challenges. July 1-2, Medan, Indonesia.