

# การกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะโดยใช้ Oil Surfactant

## Efficacy of the Oil Surfactant against Larvae & Pupae of the Vector Mosquitoes

อภิวิภู ฐวัชสิน	Apiwat Tawatsin
อุษาวดี ถาวรระ	Usavadee Thavara
ประคอง พันธุ์อุไร	Prakong Phan-Urai
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข	National Institute of Health
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	Department of Medical Sciences
ตีพิมพ์ใน วารสารวิชาการสาธารณสุข ปีที่ 16 ฉบับที่ 7-9 กรกฎาคม-กันยายน 2540.	

### บทคัดย่อ

ในอดีตมาตรการที่ใช้ในการควบคุมยุงมุ่งเน้นไปที่การใช้สารเคมีกำจัดแมลงซึ่งก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมายไม่ว่าจะเป็นพิษเฉียบพลันหรือพิษเรื้อรังต่อผู้ใช้ ตลอดจนการเกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นนักวิทยาศาสตร์จึงเริ่มให้ความสนใจกับการควบคุมยุงโดยใช้วิธีอื่น ๆ การควบคุมยุงโดยวิธีทางกายภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาทดแทนการใช้สารเคมีได้ การศึกษครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อหาประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ซึ่งเป็นน้ำมันที่สกัดมาจากพืชในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิด คือ *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* และ *Anopheles dirus* และหาปริมาณที่เหมาะสมในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงชนิดต่างๆ ดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่า Oil Surfactant มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิด แต่สามารถกำจัดตัวโม่งได้ดีกว่าลูกน้ำ ความสามารถในการกำจัดยุงทั้ง 3 ชนิด เรียงตามลำดับคือ *An. dirus*, *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus* ทั้งนี้ปริมาณที่เหมาะสมในการกำจัดยุง *An. dirus* คือ 2  $\mu$ l ต่อพื้นที่ 50 ตร.ซม. (เทียบเท่ากับ 4 ลิตร ต่อพื้นที่ผิว 10,000 ตร.ม.) ส่วนปริมาณที่เหมาะสมสำหรับยุง *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus* คือ 5  $\mu$ l ต่อพื้นที่ผิว 50 ตร.ซม. (เทียบเท่ากับ 10 ลิตร ต่อพื้นที่ผิว 10,000 ตร.ม.) ผลการศึกษานี้ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพิจารณานำ Oil Surfactant มาใช้ในการควบคุมยุงพาหะแทนการใช้สารเคมี แต่จะต้องมีการศึกษาถึงประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะในภาคสนาม ตลอดจนศึกษาถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

### Abstract

Mosquito control strategies in the former time was focused on chemical insecticides which caused not only acute or chronic toxicity to human beings but also polluted the environment. On account of the attempt by several scientists, many other strategies were introduced to replace chemical uses and one of these

strategies was physical control. Laboratory study of insecticide effect of the Oil Surfactant, the water insoluble surfactant that has physical mechanism, was carried out in both larvae and pupae of the three mosquito species, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles dirus*. The results revealed that mosquito pupae are more affected by the Oil Surfactant than larvae and *An. dirus* was most affected, *Ae. aegypti* next and *Cx. quinquefasciatus* the least. Moreover, the appropriate amount of the Oil Surfactant for the control of *An. dirus* was two  $\mu\text{l}$ . per 50  $\text{cm}^2$  of the surface area (this was equivalent to four litres per hectare), while the appropriate amount for *Ae. aegypti* and *Cx. quinquefasciatus* was five  $\mu\text{l}$ . per 50  $\text{cm}^2$  of the surface area (this was equivalent to ten litres per hectare). However the results of the Oil Surfactant from this study are preliminary data to be considered as an alternative insecticide instead of chemical insecticides, further studies of effectiveness in field mosquito-control and environmental impact are necessary.

### **Keywords**

Oil Surfactant, mosquitoes, *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*, *An. dirus*

### **บทนำ**

ยุงนอกจากจะสร้างความเดือดร้อนรำคาญโดยการกัดกินเลือดแล้ว บางครั้งยังเป็นตัวการนำโรคร้ายมาสู่มนุษย์ โรคติดต่อซึ่งมียุงเป็นพาหะมีอยู่ด้วยกันหลายโรค ที่สำคัญได้แก่ โรคไข้เลือดออก โรคไข้สมองอักเสบ โรคเท้าช้าง และโรคมาลาเรีย เป็นต้น (Borror, 1976; Beaty, 1996) โรคติดต่อเหล่านี้เป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทย ทำลายทรัพยากรมนุษย์ซึ่งเป็นทรัพยากรอันมีค่ายิ่งของประเทศรวมทั้งสร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจเป็นจำนวนมาก ในบรรดาโรคร้ายเหล่านี้มีเพียงโรคไข้สมองอักเสบเท่านั้นที่สามารถป้องกันได้ด้วยวัคซีน ดังนั้นการควบคุมประชากรยุงพาหะตลอดจนการป้องกันตนเองมิให้ถูกยุงกัดจึงเป็นมาตรการที่สำคัญยิ่งในการป้องกันโรค ในอดีตมาตรการที่ใช้ในการควบคุมยุงมักมุ่งเน้นไปที่การใช้สารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งได้ก่อให้เกิดปัญหาตามมามากมาย ไม่ว่าจะเป็นปัญหาพิษเฉียบพลันหรือพิษเรื้อรังต่อผู้ใช้โดยตรง ตลอดจนการเกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (สิริวัฒน์, 2521; พาลาภ, 2537) นอกจากนี้ยุงบางชนิดได้มีวิวัฒนาการเพื่อการอยู่รอด เช่นการสร้าง ความต้านทานต่อเคมีกำจัดแมลงในกลุ่ม Organophosphate ของ ยุง *Aedes aegypti* (Madhukar and Pillai, 1970; Phanthumachinda, 1979) เป็นต้น ทำให้การใช้เคมีกำจัดแมลงเหล่านี้ไม่ได้ผล นักวิทยาศาสตร์จึงเริ่มให้ความสนใจกับการควบคุมยุงโดยวิธีอื่นๆ เช่น การควบคุมโดยวิธีทางกายภาพ การควบคุมโดยชีววิธี การควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม เป็นต้น (United Nations, 1982) การควบคุมโดยวิธีทางกายภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ทดแทนการใช้สารเคมีได้ การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อหาประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ซึ่งเป็นน้ำมันที่สกัดมาจากพืช ในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่งของยุงพาหะ ตลอดจนหาปริมาณที่เหมาะสมในการนำไปใช้ต่อไป

## วัสดุและวิธีการ

Oil Surfactant : น้ำมันซึ่งสกัดได้จากพืชมีลักษณะเหลว สีเหลืองอำพัน pH 6.5 ไม่ละลายน้ำ ส่วนประกอบที่สำคัญเป็นพวก Mono-ethoxy oleic acid และ Di-ethoxy-cetostearyl alcohol (Accotec Co.Ltd., personal communication)

ยุงที่ใช้ในการศึกษา : ใช้ลูกน้ำและตัวโม่ของยุงพาหะ 3 ชนิด คือ

- ยุง *Aedes aegypti* พาหะโรคไข้เลือดออก
- ยุง *Culex quinquefasciatus* พาหะโรคเท้าช้าง
- ยุง *Anopheles dirus* พาหะโรคมาลาเรีย

### วิธีการศึกษา

: การทดลองทั้งหมดกระทำในห้องปฏิบัติการของกลุ่มงานกีฏวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข โดยควบคุมอุณหภูมิของห้องปฏิบัติการให้อยู่ในช่วง  $27 \pm 1^\circ \text{C}$  และความชื้นสัมพัทธ์  $80 \pm 10\% \text{ RH}$  ทำการทดลองใช้ Oil Surfactant กับ ลูกน้ำระยะที่ 4 และ ตัวโม่ของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิด ในบีกเกอร์ขนาดความจุ 400 มล. เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม. พื้นที่ผิว  $\sim 50$  ตร.ซม. โดยแต่ละบีกเกอร์จะใส่น้ำ 250 มล. และใส่ลูกน้ำหรือตัวโม่ 30 ตัว ใช้ปริมาณของ Oil Surfactant ทดลองแตกต่างกัน 5 ระดับ ตั้งแต่ 1-5 ไมโครลิตร ซึ่งจะทดลองซ้ำรวมทั้งหมด 10 ครั้ง และทุกครั้งจะมีกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ใส่ Oil Surfactant บันทึกผลการตายของลูกน้ำและตัวโม่ของทั้งกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมที่ 48 ชั่วโมงหลังการทดลอง แล้วนำมาคำนวณอัตราการตาย (% mortality) โดยมีเงื่อนไขว่าถ้าอัตราการตายของกลุ่มควบคุม อยู่ในช่วง 5-20% จะต้องนำอัตราการตายทั้งหมดในครั้งนั้นมาปรับด้วย Abbott's formula (Abbott, 1925) แต่ถ้าอัตราการตายของกลุ่มควบคุม  $< 5\%$  ก็จะใช้ อัตราการตายจริงได้เลย

### Abbott's formula :

$$\text{อัตราการตาย} = \frac{\text{อัตราการตายของกลุ่มทดลอง} - \text{อัตราการตายของกลุ่มควบคุม}}{100 - \text{อัตราการตายของกลุ่มควบคุม}} \times 100$$

สถิติที่ใช้ในการศึกษา

$$1. \text{ อัตราการตาย (\% mortality)} = \frac{\text{จำนวนลูกน้ำหรือตัวโม่ที่ตาย}}{\text{จำนวนลูกน้ำหรือตัวโม่ที่ทดลอง}} \times 100$$

2. การทดสอบความแตกต่างระหว่างการตายของตัวโม่และลูกน้ำ

ใช้การทดสอบสมมติฐานความแตกต่างระหว่างค่าสัดส่วนของสองประชากร

$$Z = \frac{(\hat{P}_1 - \hat{P}_2) - (P_1 - P_2)}{\sqrt{\hat{P}_{\text{pooled}} (1 - \hat{P}_{\text{pooled}}) \left[ \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

$P_1$  = สัดส่วนของประชากรตัวโม่ที่ศึกษา

$P_2$  = สัดส่วนของประชากรลูกน้ำที่ศึกษา

$$\begin{aligned} \widehat{P}_1 &= \text{สัดส่วนของประชากรตัวโม่่งตามสมมติฐาน} \\ \widehat{P}_2 &= \text{สัดส่วนของประชากรลูกน้ำตามสมมติฐาน} \\ \widehat{P}_{\text{pooled}} &= \text{สัดส่วนของประชากรรวม} = \frac{X_1 + X_2}{n_1 + n_2} \\ X_1 &= \text{จำนวนตัวโม่่งทั้งหมดที่ตาย} \\ X_2 &= \text{จำนวนลูกน้ำทั้งหมดที่ตาย} \\ n_1 &= \text{จำนวนตัวโม่่งทั้งหมดที่ถูกทดลอง} \\ n_2 &= \text{จำนวนลูกน้ำทั้งหมดที่ถูกทดลอง} \end{aligned}$$

### ผลการทดลอง

การศึกษาประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ต่อลูกน้ำของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิดที่ศึกษา พบว่าสามารถทำให้ลูกน้ำยุง *Anopheles dirus* ตายได้มากที่สุดอยู่ในช่วง 50.5-61.4% รองลงมาเป็นลูกน้ำยุง *Aedes aegypti* ตายอยู่ในช่วง 22.9-44.3% และทำให้ลูกน้ำยุง *Culex quinquefasciatus* ตายอยู่ในช่วง 17.1-38.6% (รูปที่ 1)

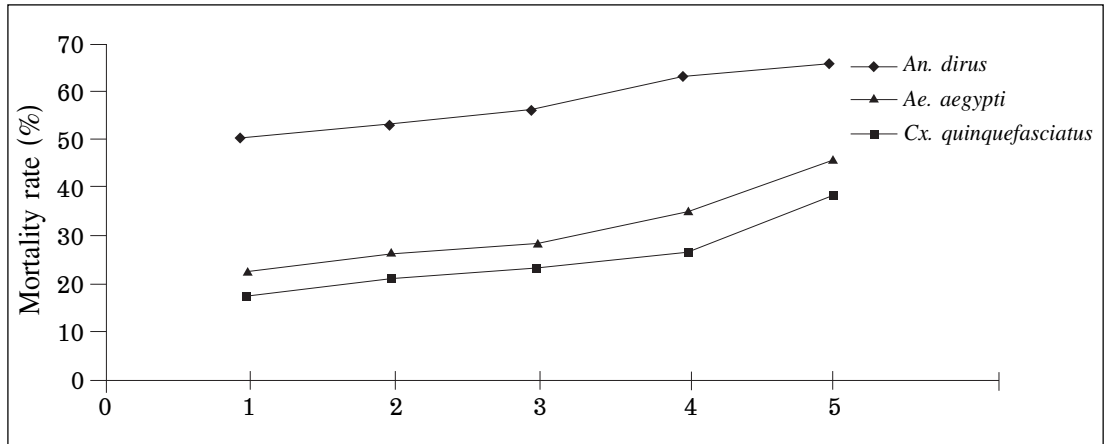
ส่วนการศึกษาประสิทธิภาพต่อตัวโม่่งของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิด พบว่าสามารถทำให้ตัวโม่่งของยุง *An. dirus* ตาย 100% ที่ทุกความเข้มข้น ทำให้ตัวโม่่งของยุง *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus* ตายอยู่ในช่วง 91.7-95.8% และ 25.0-63.3% ตามลำดับ (รูปที่ 2)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ระหว่างลูกน้ำและตัวโม่่งของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิด พบว่า Oil Surfactant มีผลในการกำจัดตัวโม่่งได้ดีกว่าลูกน้ำอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) อัตราตายของตัวโม่่งต่อลูกน้ำ (Pupae/larvae mortality ratio) อยู่ในช่วง 1.71-2.99 (ตารางที่ 1)

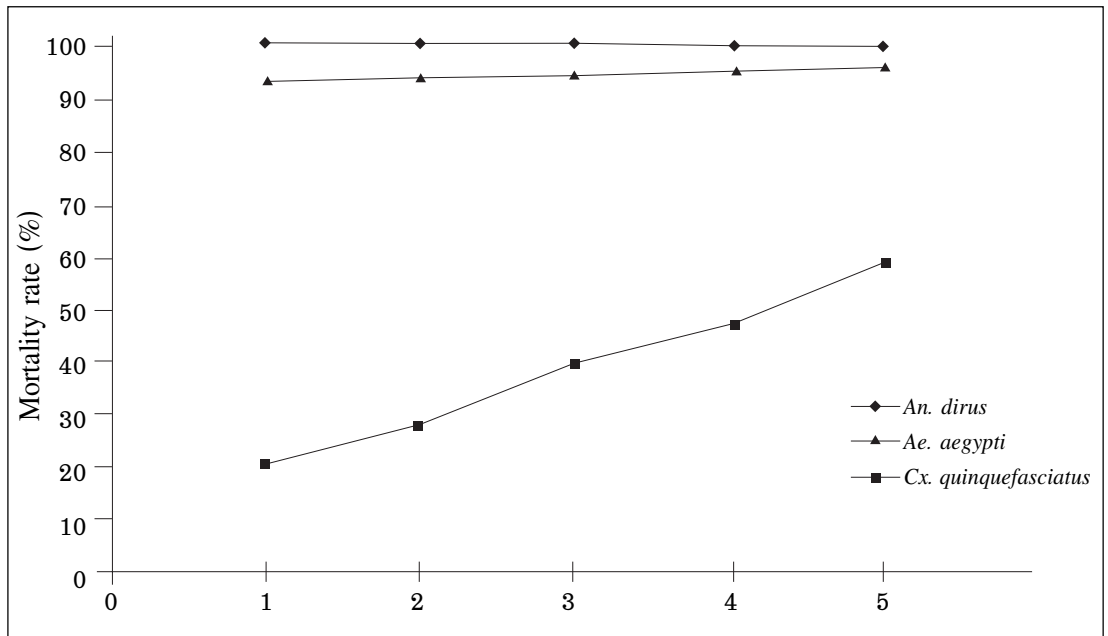
จากการทดลองตลอดการศึกษานี้ไม่มีครั้งใดเลยที่อัตราการตายของกลุ่มควบคุม > 5% อัตราการตายของกลุ่มควบคุมของลูกน้ำจะอยู่ในช่วง 0-1.7% และของตัวโม่่งอยู่ในช่วง 0.8-3.9% ดังนั้นอัตราการตายของกลุ่มทดลองจึงใช้อัตราการตายจริงทั้งหมด

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Oil Surfactant ต่อลูกน้ำและตัวโม่่งของยุง *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* และ *An. dirus*

Mosquitoes	Larvae(L)		Pupae(P)		P/L mortality ratio	Statistical Value	
	total	%	total	%		Z	p
	tested	mortality	tested	mortality			
<i>Ae. aegypti</i>	1,500	31.33	1,500	93.60	2.99	35.22	<0.001
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1,500	25.47	1,500	43.60	1.71	10.26	<0.001
<i>An. dirus</i>	1,500	55.13	1,500	100	1.81	29.47	<0.001



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ (Volume) ของ Oil Surfactant กับอัตราการตาย (Mortality rate) ของลูกน้ำยุง *An. dirus*, *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus*



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ (Volume) ของ Oil Surfactant กับอัตราการตาย (Mortality rate) ของตัวไม่ยุง *An. dirus*, *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus*

## สรุปและวิจารณ์

จากผลของการศึกษาแสดงให้เห็นว่า Oil Surfactant มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำและตัวอ่อนของยุงพาหะทั้ง 3 ชนิดที่ศึกษา ทั้งนี้สามารถทำให้ตัวอ่อนตายได้มากกว่าลูกน้ำ 1.71-2.99 เท่า โดย Oil Surfactant จะมีผลต่อลูกน้ำและตัวอ่อนของยุง *Anopheles dirus* มากที่สุด รองลงไปเป็นยุง *Aedes aegypti* และ *Culex quinquefasciatus* ตามลำดับ ปริมาณที่เหมาะสมในการนำไปใช้กำจัดยุง *An. dirus* คือ อย่างน้อย 2 ไมโครลิตร ต่อพื้นที่ผิว 50 ตร.ซม. (เทียบเท่ากับอย่างน้อย 4 ลิตร ต่อพื้นที่ผิว 10,000 ตร.ม.) ในขณะที่จะต้องใช้ปริมาณมากขึ้นสำหรับยุง *Ae. aegypti* และ *Cx. quinquefasciatus* คือ อย่างน้อย 5 ไมโครลิตร ต่อพื้นที่ผิว 50 ตร.ซม. (เทียบเท่ากับอย่างน้อย 10 ลิตร ต่อพื้นที่ผิว 10,000 ตร.ม.)

กลไกของ Oil Surfactant ที่ทำให้ลูกน้ำและตัวอ่อนตายนั้น มิได้เกิดจากความเป็นพิษเฉกเช่นสารเคมีกำจัดแมลงต่างๆ ไป แต่ Oil Surfactant จะมีคุณสมบัติที่เรียกว่า physical wetting action (Accoted Co.Ltd., personal communication) ที่จะทำให้ออกซิเจนของลูกน้ำ (siphon) และตัวอ่อน (trumpet) เสียคุณสมบัติในการป้องกันน้ำจากสภาพ hydrophobia กลายเป็น hydrophilia ขณะที่เปิดหายใจรับออกซิเจน ทำให้น้ำสามารถผ่านท่อหายใจเข้าไปสู่ระบบทางเดินหายใจ เป็นผลให้ลูกน้ำและตัวอ่อนเกิดภาวะการขาดออกซิเจน (anoxia) และตายในที่สุด ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้จะมีผลต่อตัวอ่อนมากกว่าลูกน้ำ (Mcmullen and Hill, 1971) ทั้งนี้เนื่องจากตัวอ่อนจำเป็นต้องหายใจรับเอาออกซิเจนจากอากาศเหนือผิวน้ำ (atmospheric oxygen) ผ่าน trumpet เพียงทางเดียวเท่านั้น (Kettle, 1984) จึงมีโอกาที่จะสัมผัสกับ Oil Surfactant ซึ่งเคลือบอยู่ที่ผิวน้ำได้มาก ในขณะที่ลูกน้ำหลายชนิดนอกจากจะสามารถหายใจเอา atmospheric oxygen ผ่านทาง siphon แล้ว ยังสามารถที่จะหายใจเอาออกซิเจนที่มีอยู่ในน้ำ (dissolved oxygen) ผ่านทางอวัยวะหายใจข้างลำตัว (posterior spiracle) ได้อีกด้วย (Borror, 1976) และเมื่อพิจารณาถึงขนาดความยาวของท่อหายใจและลักษณะการลอยตัวในน้ำ พบว่า Oil Surfactant น่าจะมีผลให้ลูกน้ำที่ไม่มี siphon หรือมี siphon สั้นตายมากกว่าลูกน้ำที่มี siphon ยาว เห็นได้จากการที่ยุง *An. dirus* ซึ่งไม่มีท่อหายใจและลอยตัวขนานกับผิวน้ำตายมากที่สุด เนื่องจากสัมผัสกับ Oil Surfactant ซึ่งเคลือบอยู่ที่ผิวน้ำตลอดทั้งลำตัว ต่างจากยุงอีกสองชนิดซึ่งลอยตัวทำมุมกับผิวน้ำ ทำให้เฉพาะปลายสุดของท่อหายใจสัมผัสกับ Oil Surfactant

ยุง *Cx. quinquefasciatus* ตายน้อยกว่ายุง *Ae. aegypti* เนื่องจากมีท่อหายใจที่ยาวกว่า และอาจเป็นเพราะลูกน้ำและตัวอ่อนของยุง *Cx. quinquefasciatus* โดยธรรมชาติอาศัยอยู่ในน้ำเน่าเสีย สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมที่ปริมาณออกซิเจนต่ำ จึงทนต่อการขาดออกซิเจน ได้มากกว่ายุง *Ae. aegypti* และ *An. dirus* ซึ่งในธรรมชาติอาศัยอยู่ในน้ำสะอาด ต้องการปริมาณออกซิเจนสูงในการดำรงชีวิต

มีข้อดีหลายประการสำหรับการนำ Oil Surfactant มาใช้ในการควบคุมยุง อาทิเป็นน้ำมันที่สกัดได้จากพืช องค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นไขมันพวก Oleic acid ซึ่งสามารถสลายตัวได้อย่างสมบูรณ์ในธรรมชาติ (complete biodegradability) (Accotec Co.Ltd., personal communication) ไม่ทำลายสภาวะแวดล้อม และสามารถกำจัดตัวอ่อนของยุงได้

ทั้งระยะลูกน้ำและตัวโม่ จึงมีข้อได้เปรียบมากกว่าการใช้ชีววินทรีย์บางชนิด เช่นแบคทีเรียที่ใช้กำจัดลูกน้ำ ซึ่งจะใช้ได้เฉพาะกับระยะลูกน้ำเท่านั้น เพราะต้องอาศัยการกินแบคทีเรียเข้าไป อีกทั้งกลไกในการกำจัดลูกน้ำและตัวโม่ของ Oil Surfactant นั้นเป็นแบบ physical wetting action จึงทำให้ปราศจากปัญหาการสร้างความต้านทานของยุง

ผลการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพิจารณานำ Oil Surfactant ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่มาใช้ในการควบคุมยุงพาหะทดแทนการใช้สารเคมี และเนื่องจากยังไม่เคยมีรายงานการวิจัยในเรื่องนี้ในประเทศไทย จึงน่าจะได้มีการศึกษาต่อไปถึงประสิทธิภาพและความเป็นไปได้ในการนำ Oil Surfactant มาใช้ในภาคสนาม ตลอดจนศึกษาถึงผลกระทบอันอาจจะมีต่อสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์และสิ่งแวดล้อมต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ Accotec Co.Ltd., U.K. ที่ได้เอื้อเฟื้อตัวอย่างของ Oil Surfactant ที่ใช้ในการศึกษานี้ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรีชา อัสวเดชาบุตร ที่ได้ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ดร.โชติกา บุญหลง ที่ได้ช่วยตรวจแก้ผลงานวิจัย นางสาวชุตินา เสรีกุล นางสาวน้ำผึ้ง พลเชียงขวาง และ นางสาวลัดดา โนรี ที่ได้ช่วยในการเตรียมอุปกรณ์ทดลองจนทำให้การวิจัยครั้งนี้บรรลุวัตถุประสงค์

### เอกสารอ้างอิง

1. พาลาก สิงหนะนิย์. 2537. พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร. 157 หน้า.
2. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2521. ยาฆ่าแมลง. โรงพิมพ์อักษรประเสริฐ, กรุงเทพมหานคร. 160 หน้า.
3. Abbott, W.S. 1925. A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
4. Beaty, B.J. and Marquardt, W.C. 1996. The Biology of Disease Vectors. University Press of Colorado, Colorado. 632 pp.
5. Borror, D.J., DeLong D.M. and Triplehorn C.A. 1976. An Introduction to the Study of Insects. Holt, Rinehart and Winston, New York. 852 pp.
6. Kettle, D.S. 1984. Medical and Veterinary Entomology. Croom Helm Ltd., Kent. 658 pp.
7. Madhukar, B.V.R. and Rillai M.K.K. 1970. Development of Organophosphorus Resistance in Indian Strains of *Aedes aegypti*. Bull. WHO. 43: 735-742.
8. McMullen, A.I. and Hill, M.N. 1971. Anoxia in Mosquito Pupae under Insoluble Monolayers. Nature, London. 234: 51-2.
9. Phanthumachinda, B. et al. 1979. Susceptibility of *Aedes aegypti* to Organophosphorus Compounds in Thailand from 1976-1978. Bull. Med. Sci. 21: 73-84.