หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของแบคทีเรียต่อลูกน้ำยุงครั้งนี้ใช้ B. thuringiensis var. israelensis สูตร SAN 402 I WDC ส่วน B. sphaericus 1593 ใช้สูตร MV 716 WP

แบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้มีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงในทางเดินอาหารจึงไม่มีพิษต่อยุงในระยะตัวโม่ง เนื่องจากตัวโม่งไม่กินอาหาร ในการทดลองพบว่า ถ้าลูกน้ำยุงได้รับแบคทีเรียในระยะการลอกคราบหลัง ๆ กล่าวคือตอนปลายระยะที่ 3 หรือต้นระยะที่ 4 ถ้าปริมาณของแบคทีเรียที่ได้รับไม่มากพอที่จะทำให้ลูกน้ำยุงตาย แต่ทำให้ลูกน้ำยุงอ่อนแอลงจะเป็นผลทำให้ลูกน้ำยุงตายในระยะตัวโม่ง หรือขณะจะลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย ถ้าให้แบคทีเรียในตอนปลายระยะที่ 4 ซึ่งเป็นระยะที่ลูกน้ำยุงไม่ค่อยกินอาหารพบว่าอัตราตายของลูกน้ำยุงจะต่ำมาก ส่วนในระยะการลอกคราบต้น ๆ ถ้าปริมาณแบคทีเรียที่ได้รับน้อยจะไม่มีผลกระทบต่อลูกน้ำยุง ทำให้สามารถปรับตัวทนต่อแบคทีเรียแล้วกลายเป็นตัวโม่ง และตัวเต็มวัยได้ตามปกติ

ค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงจะเพิ่มขึ้นตามระยะการลอกคราบ (ตารางที่ 20) ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับการทดลองของ Hopkins และ Ramoska (1981) กับของ Wraight และคณะ (1981) แต่ค่า LC_{50} จะลดลงเมื่อให้แบคทีเรียเป็นระยะเวลานานขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากลูกน้ำยุงมีเวลาที่จะกินแบคทีเรียได้นานกว่าจึงมีโอกาสที่จะได้รับสารพิษเพิ่มขึ้น ซึ่งอัตราการตายของลูกน้ำยุงจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณสารพิษที่ได้รับ (Mulligan et al. 1980; Ramoska 1979.) ในการทดลองพบว่าถ้าใช้ลูกน้ำยุงที่ลอกคราบใหม่ ๆ ซึ่งกินอาหารมากจะมีโอกาสได้รับสารพิษมากทำให้อัตราตายสูงกว่าเมื่อใช้ลูกน้ำยุงระยะปลาย ซึ่งกำลังจะลอกคราบในระยะต่อไป เพราะลูกน้ำยุงที่ใกล้จะลอกคราบจะไม่ค่อยกินอาหาร โอกาส

ได้รับสารพิษจะน้อยลง อัตราตายจึงต่ำลงด้วย ดังนั้นในการทดลองจึงพยายามใช้ลูกน้ำยุงที่มีอายุใกล้เคียงกัน เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของอัตราตายอันอาจเกิดจากพฤติกรรมการกินอาหารของลูกน้ำยุงเอง โดยใช้ลูกน้ำยุงระยะที่ 1 และ 2 ที่มีอายุ 6–12 ช.ม, ระยะที่ 3 และ 4 ที่มีอายุ 12–18 ช.ม.

ในการทดลองเมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ของลูกน้ำยุงในเวลา 24 และ 48 ช.ม. ปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก) นอกจากในลูกน้ำยุงลายและยุงบ้านระยะที่ 1 และ 2 ที่เกิดจาก B. thuringiensis var. israelensis (ภาคผนวก ตารางที่ 1, 2) พอจะสันนิษฐานได้ว่าความแตกต่างนี้ไม่ได้เกิดจากคุณสมบัติความเป็นพิษของ B. thuringiensis var. israelensis แต่เกิดจากพฤติกรรมการกินอาหารของลูกน้ำยุงเอง ทั้งนี้เพราะลูกน้ำยุงระยะที่ 1 และ 2 มีช่วงชีวิตสั้น (24–48 ช.ม. และ 24–36 ช.ม. ตามลำดับ) ดังนั้นขณะทดลองเพื่อหาค่า LC_{50} จะเป็นช่วงคาบเกี่ยวระหว่างสองระยะการลอกคราบ กล่าวคือในการทดลองกับลูกน้ำยุงระยะที่ 1 นั้น ค่า LC_{50} ในเวลา 24 ช.ม. จะเป็นระยะที่ลูกน้ำยุงออกจากไข่ใหม่ ๆ และไม่ค่อยกินอาหาร อัตราตายจึงต่ำ แต่เมื่อหาค่า LC_{50} ในเวลา 48 ช.ม. ซึ่งเป็นเวลาที่ลูกน้ำยุงกินอาหารมากโอกาสได้รับสารพิษก็มีมาก อัตราตายจึงสูงขึ้น ทำให้ค่า LC_{50} ในเวลา 24 ช.ม. แตกต่างจากในเวลา 48 ช.ม.

ในลูกน้ำยุงระยะที่ 2 นั้นมีช่วงชีวิตสั้นมาก การหาค่า LC_{50} ในเวลา 24 ช.ม. จะเป็นตอนปลายของระยะที่ 2 ซึ่งลูกน้ำยุงกินอาหารน้อย อัตราตายจึงต่ำ แต่เมื่อหาค่า LC_{50} ในเวลา 48 ช.ม. ลูกน้ำยุงจะลอกคราบเป็นระยะที่ 3 แล้ว ซึ่งจะกินอาหารมากขึ้นโอกาสได้รับสารพิษจึงมากตามไปด้วย อัตราตายจึงสูงขึ้นจนเห็นได้ชัด

จากการที่ B. thuringiensis var. israelensis มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ดีทุกระยะการลอกคราบ จึงทดลองนำมาใช้ในภาชนะที่รองขาตู้กับข้าวซึ่งทำด้วยดินเผา เพื่อทดสอบในสภาวะธรรมชาติซึ่งปกติยุงลายจะ

วางไข่ไว้ตามภาชนะต่าง ๆ เช่น ตุ่มน้ำ บ่อน้ำซีเมนต์ ที่รองขาตู้กับข้าว กระป๋อง สังกะสี หรือแม้แต่ในแจกันดอกไม้ ผลการทดลองปรากฏว่า B. thuringiensis var. israelensis สามารถควบคุมลูกน้ำยุงลายได้ดีในสภาพธรรมชาติ ตามรายงานของ Sudomo และคณะ (WHO/VBC/81.836) ได้ทำการทดลองในภาชนะที่ทำด้วยโลหะและเครื่องปั้นดินเผา ปรากฏว่าได้ผลดีเช่นเดียวกัน

สำหรับการศึกษาความเป็นพิษของ B. sphaericus 1593 ปรากฏว่าสามารถนำไปใช้ควบคุมลูกน้ำยุงบ้านได้ดีทุกระยะการลอกคราบเช่นเดียวกับ B. thuringiensis var. israelensis แต่ไม่สามารถนำไปใช้ควบคุมลูกน้ำยุงลายได้ ทั้งนี้เนื่องจากลูกน้ำยุงลายมีความทนต่อ B. sphaericus 1593 แม้ว่าจะกินเข้าไปมากแต่อัตราการตายก็ยังคงต่ำมาก Ramoska และ Hopkins (1981) กล่าวว่าแม้ลูกน้ำยุงลายจะกิน B. sphaericus 1593 ในปริมาณมากที่สามารถทำให้ลูกน้ำยุงบ้านตายได้ถึง 100 % แต่อัตราตายของลูกน้ำยุงลายก็ยังคงต่ำอยู่นั่นเอง ในการทดลองครั้งนี้ใช้ B. sphaericus 1593 ในความเข้มข้นที่สูงมาก (> 10,000 ppm.) ซึ่งไม่สามารถละลายในน้ำได้หมด จึงตกตะกอนลงสู่ก้นภาชนะที่ใช้ทดลอง เมื่อใส่ลูกน้ำยุงลายระยะที่ 3 ลงไปก็ไม่สามารถฆ่าลูกน้ำยุงลายได้ แม้จะทิ้งไว้เป็นเวลาถึง 1 สัปดาห์ ตามรายงานของ WHO (WHO/VBC/80.777) ในความเข้มข้น 100 มก./ล. ซึ่งทำให้ลูกน้ำยุงบ้านตาย 98-100 % แต่จะทำให้ลูกน้ำยุงลายตายเพียง 21 %

จากการทดลอง B. sphaericus 1593 สามารถควบคุมลูกน้ำยุงบ้านได้ดีในทุกระยะการลอกคราบเช่นเดียวกัน และค่า LC_{50} ในเวลา 24 และ 48 ชม. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ตารางที่ 6-13) อัตราตายของลูกน้ำยุงในแต่ละซ้ำจะมีความแปรปรวนมาก ทั้งนี้เกิดจากคุณสมบัติของ B. sphaericus 1593 เอง ซึ่งที่ใช้ในการทดลองเป็นชนิดผงละลายน้ำ สามารถละลายน้ำได้น้อยกว่าชนิดของเหลวและมีความสม่ำเสมอของ bacterial suspension น้อยกว่า

เมื่อเปรียบเทียบการควบคุมลูกน้ำยุงบ้านโดยใช้ B. thuringiensis var. israelensis และ B. sphaericus 1593 ปรากฏว่าในระยะการออกคราบเดียวกันค่า LC_{50} จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ตารางที่ 6-9) แต่จากการทดลองพบว่า B. thuringiensis var. israelensis สามารถฆ่าลูกน้ำยุงบ้านได้เร็วกว่า คือออกฤทธิ์ใน 6-24 ชม. ส่วน B. sphaericus 1593 จะออกฤทธิ์ช้ากว่า คือใน 24-48 ชม.

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของ B. sphaericus 1593 ในการควบคุมลูกน้ำยุงบ้านในสภาพธรรมชาติ จึงทดลองในน้ำสระด้วย ปรากฏว่าได้ผลดีเช่นเดียวกับในน้ำประปา และค่า LC_{50} ในสภาพน้ำประปาและน้ำสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ตารางที่ 10-13) การทดลองในน้ำสระอัตราการตายของลูกน้ำยุงในแต่ละซ้ำมีความแตกต่างกันมากกว่าในน้ำประปา ทั้งนี้ขึ้นกับสารแขวนลอยที่มีอยู่ในน้ำสระ คือถ้าในน้ำสระมีเชื้อโรคชนิดอื่นอยู่ (เช่น แบคทีเรีย, เชื้อรา ฯ) ปนอยู่ด้วยก็จะช่วยส่งเสริมให้ลูกน้ำยุงตายได้มากขึ้น (Singer 1976.) แต่ถ้าสารแขวนลอยนั้นไม่ทำให้ลูกน้ำยุงเกิดโรค ทั้งยังเป็นอาหารให้แก่ลูกน้ำยุงด้วย ลูกน้ำยุงก็จะกิน B. sphaericus 1593 ได้น้อยลง ทำให้อัตราการตายต่ำ (Mulligan et al. 1980; Hornby et.al. 1981.)

ตามรายงานของ Dr. Singer ซึ่งทดลองประสิทธิภาพของ B. sphaericus 1593 และ B. thuringiensis var. israelensis ในลูกน้ำยุงบ้าน ปรากฏว่า B. sphaericus 1593 มีประสิทธิภาพดีกว่ามาก แต่การทดลองครั้งนี้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสูตรของสารที่ใช้ ซึ่งการผลิตในรูปการค้าของ MV 716 WP นี้ ยังมีคุณภาพไม่ดีพอเนื่องจากมีปริมาณสารออกฤทธิ์เพียง 25 % ซึ่งนับว่าต่ำ และการละลายน้ำไม่ดีนักเมื่อทิ้งไว้จะตกตะกอนทำให้ลูกน้ำยุงมีโอกาสกินสารพิษเข้าไปได้น้อย และเมื่อนำไปใช้ในธรรมชาติก็จะตกตะกอนลงสู่ก้นบ่อ, สระน้ำ ทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงได้อีก เนื่องจากลูกน้ำยุงส่วนใหญ่ไม่มีพฤติกรรมการกินอาหารบริเวณก้นบ่อ (Mulligan et al. 1980; Wright 1981.)

bacterial suspension จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดในระยะ 2 วันแรก (ตารางที่ 24, 25, 26) หลังจากนั้นประสิทธิภาพจะลดลงเรื่อย ๆ ในการใช้จึงไม่ควรเก็บแบคทีเรียไว้ในรูปของ bacterial suspension

การทดลองหาความสัมพันธ์ของระยะเวลาและอัตราการตายของลูกน้ำยุง ปรากฏว่าแม้ในความเข้มข้นต่ำ ๆ แต่ถ้าให้แบคทีเรียเป็นเวลาหลาย ๆ วัน อัตราการตายของลูกน้ำยุงก็จะสูงขึ้นทั้งนี้ต้องให้ก่อนที่ลูกน้ำยุงจะกลายเป็นตัวโม่ง ดังนั้นถ้าให้ลูกน้ำยุงได้รับแบคทีเรียตั้งแต่เป็นลูกน้ำระยะที่ 1 หรือ 2 ในความเข้มข้นที่สูงพอ ($\geqslant LC_{50}$) ลูกน้ำยุงบางส่วนจะตายใน 24 ชม. และอัตราตายจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนเกือบ 100 % จากตารางที่ 22 จะเห็นว่าแม้ในความเข้มข้นที่ทำให้ลูกน้ำยุงตายเพียง 27.5 % ในวันแรกก็ทำให้อัตราตายเพิ่มขึ้นเป็น 81.62 % ในวันที่ 5 ทั้งนี้เกิดจากลูกน้ำยุงเมื่อได้รับแบคทีเรีย สภาพ pH ในทางเดินอาหารที่เหมาะสมทำให้น้ำย่อยสามารถย่อยผลึกโปรทีนและปล่อยเดลต้า-เอ็นโดท็อกซิน อันเป็นผลให้เยื่อบุทางเดินอาหารของลูกน้ำยุงถูกทำลาย จึงทำให้ระบบทางเดินอาหารและระบบโลหิตติดต่อถึงกัน ในสภาพเช่นนี้ pH ในทางเดินอาหารจะลดลงจากเดิม ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเซลและการงอกของสปอร์ (Faust 1976.) ดังนั้นในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมแบคทีเรียในลูกน้ำยุงที่ตายไปแล้วจะสามารถเจริญและสร้างสารพิษขึ้นได้อีก โดยเฉพาะในสภาพธรรมชาติ Hertlein และคณะ (1979) ทดลองเก็บตัวอย่างดินจากแหล่งเพาะพันธุ์ยุงที่เคยนำเอา B. sphaericus 1593 และ SSII-1 ไปใช้ ปรากฏว่าหลังจากให้แบคทีเรียแล้ว 9 เดือนก็ยังคงพบ B. sphaericus 1593 และ SSII-1 ในดินนั้น แสดงว่า B. sphaericus 1593 และ SSII-1 สามารถดำรงอยู่ในสภาพธรรมชาติได้ดี การดำรงอยู่ในธรรมชาติของแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้ขึ้นกับสภาพแวดล้อม และคุณภาพของน้ำและดินในแหล่งเพาะพันธุ์ยุงนั้น ๆ (Hornby et.al. 1981.)

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้พอจะบอกได้ว่า B. thuringiensis var. israelensis และ B. sphaericus 1593 นี้ สามารถนำมาใช้ควบคุมลูกน้ำยุงในประเทศไทยแทนสารเคมีได้ในอนาคตอันใกล้ เพราะมีความปลอดภัยต่อมนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารเคมี โดยเฉพาะเมื่อต้องใช้ในบ้านเรือนที่อยู่อาศัย

ในการควบคุมลูกน้ำยุงลาย อาจใช้ B. thuringiensis var. israelensis เพราะมีความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงสูง ซึ่งอาจนำไปใช้ในสภาพธรรมชาติ เช่น ขารองตู้กับข้าว, บ่อน้ำซีเมนต์, โอ่งน้ำ โดยใช้ความเข้มข้นประมาณ 0.20–0.23 ppm. จะสามารถลดจำนวนประชากรลูกน้ำยุงลงได้

ส่วนลูกน้ำยุงบ้าน ควรใช้ B. sphaericus 1593 ซึ่งมีประสิทธิภาพในการควบคุมลูกน้ำยุงบ้านได้ดีกว่า B. thuringiensis var. israelensis ส่วนลูกน้ำยุงก้นปล่องควรใช้ B. sphaericus 1593 เช่นเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่า B. sphaericus 1593 สามารถกำจัดลูกน้ำยุงก้นปล่องได้ดี และลูกน้ำยุงก้นปล่องมักมีแหล่งเพาะพันธุ์ในแหล่งน้ำธรรมชาติซึ่ง B. sphaericus 1593 สามารถดำรงอยู่ได้ดีกว่า B. thuringiensis var. israelensis แต่ทั้งนี้ยังต้องมีการปรับปรุงการผลิตในรูปการค้าอีก เพราะ MV 716 WP ซึ่งใช้ในการทดลองนี้ยังมีปัญหาในการละลายยู่ ทำให้ประสิทธิภาพลดลงไปมาก ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ในรูปของสปอร์ ซัสเพนชั่น จะให้ผลดีกว่า

อย่างไรก็ตามขณะทำการทดลองนี้มีรายงานของ Wickremesinghe และ Mendis (1980) ว่าพบ B. sphaericus สายพันธุ์ใหม่ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุง Cx. quinquefasciatus และพบว่าสายพันธุ์ใหม่นี้สร้างพารา-สปอรอล คริสตอล เช่นเดียวกับ B. thuringiensis var. israelensis ซึ่งไม่พบใน B. sphaericus 1593

ในอนาคตเมื่อมีการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม และมีการปรับปรุงการผลิตในรูปการค้าให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น จะสามารถนำเอาจุลินทรีย์มาใช้แทนสารเคมีได้ และเมื่อมีการพัฒนาด้านการปราบศัตรูทางชีววิธีประสบความสำเร็จ สามารถนำเอาตัวห้ำ, ตัวเบียน เข้ามาใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ได้แล้ว ความสำคัญของสารเคมีจะค่อย ๆ ลดลงเนื่องจากจุลินทรีย์มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์มากกว่า ทั้งยังไม่ทำให้เกิดปัญหามลพิษในสภาพแวดล้อมด้วย