พลอมุตมาส สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

บทล่อบส่วนเอกสาร

Bacillus thuringiensis serotye H-14 (de Barjac 1978)

B. thuringiensis เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตผลึกโปรตีนสารพิษได้ในระยะสร้างสปอร์ พบครั้งแรกโดยชาวญี่ปุ่นคือ Dr. Ishiwata ในหนอนผีเสื้อไหม Bombyx mori (Linn.) เมื่อปี ค.ศ. 1901 แต่ทว่าไม่ได้ตีพิมพ์เป็นเอกสารเผยแพร่ ต่อมา Dr. Ernst Berliner แยกเชื้อนี้ได้สำเร็จจากฝากหนอนผีเสื้อแป้ง Mediterranian flour moth, Anagasta (Ephestia) kuehniella (Zeller) ที่เมือง Thuringia ประเทศเยอรมัน ในปี ค.ศ. 1909 และตั้งชื่อให้ว่า Bacillus thuringiensis Berliner 1915 พร้อมทั้งได้มีการตีพิมพ์เพื่อเผยแพร่ทางวิชาการเป็นครั้งแรกด้วย ทั้ง Ishiwata และ Berliner ต่างก็ศึกษาค้นคว้ากันอย่างอิสระ ดังนั้นเพื่อให้เป็นไปตามกฎของ bacteriological nomenclature จึงได้ยกเกียรตินี้ให้แก่ Berliner (Steinhaus, 1961)

รายละเอียดของ B. thuringiensis เริ่มศึกษากันในปี ค.ศ. 1953 Hannay พบว่าการทำลายตัวอ่อนของแมลงอาจเกิดจากผลึกของสปอร์ (parasporal crystal) ซึ่งเป็นผลึกโปรตีนรูปเพชรที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ข้อสันนิษฐานนี้ได้รับการสนับสนุนต่อมาในปี ค.ศ. 1954 และ 1956 (Angus, 1954, Angus, 1956 a, Angus, 1956 b, Hannay, 1953) ทำนองเดียวกับการค้นพบของนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นคือ Mitani และ Watarai สามารถแยกผลึกโปรตีนนี้ได้ในปี ค.ศ. 1916 แต่เพราะขาดการติดต่อทางวิชาการทำให้ผลงานชิ้นนี้ไม่เผยแพร่ต่อผู้อื่นอีกเช่นกัน (Prasertphon, 1976)

การทดลองระยะแรกทางชีวภาพของ B. thuringiensis เพื่อควบคุมแมลงศัตรูในทางปฏิบัติยังไม่ได้รับความสนใจมากนัก จนปี ค.ศ. 1951 Dr. E.A. Steinhaus เล่นอผลงานแสดงความปลอดภัยของแบคทีเรียนี้ต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงจึงเริ่มมีการตื่นตัว ส่งเสริมให้มีการผลิต B. thuringiensis เป็นจุลินทรีย์กำจัดแมลง (microbial insecticide) ออกมาในรูปการค้า (Prasertphon, 1976) สายพันธุ์แรกที่ผลิตคือ B. thuringiensis var.

thuringiensis ใช้ควบคุมแมลงศัตรูทางการเกษตรคือ หนอนคืบกระหล่ำ (cabbage looper) และแมลงกินใบบางชนิดได้ผลดีในปี ค.ศ. 1960 จากนั้นประมาณสิบปีได้พบสายพันธุ์ใหม่มีความเป็นพิษสูงกว่าเดิมคือ B. thuringiensis var. kurstaki (Garcia et al., 1980 a) นับได้ว่าแบคทีเรียชนิดนี้ประสบความสำเร็จอย่างสูงทั้งในการประยุกต์ทางชีววิทยาและการผลิตเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางในหลายประเทศได้แก่ ฝรั่งเศส รัสเซีย เยอรมัน เชคโกสโลวาเกีย รวมทั้งสหรัฐอเมริกาด้วย แม้แต่ไทยก็เป็นประเทศแรกในเอเชียที่ประสบความสำเร็จในการผลิตและการใช้แบคทีเรียนี้ควบคุมหนอนผีเสื้อใบผัก diamondback moth, Plutella xylostella (Curtis) โดยให้อัตราตายสูงถึง 70-90 % ที่แบคทีเรียเข้มข้น 8.5 x 10^8 สปอร์ต่อ มล. (Prasertphon, 1976)

เนื่องมาจากปัญหาหลายประการเกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีกำจัดแมลงในการควบคุมแมลงพาหะนำโรคทำให้ความสนใจในการควบคุมโดยชีวภาพเพิ่มสูงขึ้น ปี ค.ศ. 1964 Jenkin กล่าวถึงศัตรูธรรมชาติของยุง พบว่ามีตัวห้ำมากกว่า 220 ชนิด ส่วนตัวเบียนและเชื้อโรคพบในจำนวนพอ ๆ กัน ลูกน้ำยุงมีแบคทีเรียเป็นศัตรูธรรมชาติอยู่ถึง 22 ชนิด กลุ่มแบคทีเรียที่พบมากที่สุดคือ สกุล Bacillus ในปี ค.ศ. 1971 Chapman สำรวจพบแบคทีเรียเหล่านี้ในลูกน้ำยุงชนิด Culex pipiens fatigans และ Aedes aegypti ที่อยู่ในประเทศไทย (Chapman, 1974)

องค์การอนามัยโลกทำการค้นคว้าสำรวจเรื่องนี้อย่างจริงจังในปี ค.ศ. 1966 โดยเก็บตัวอย่างซากแมลงพาหะที่ตายในธรรมชาติ นำมาศึกษาถึงแนวโน้มของศัตรูธรรมชาติที่อาจใช้ควบคุมแมลงพาหะนั้น ๆ พบศัตรูธรรมชาติที่น่าสนใจศึกษามากอันหนึ่งคือ แบคทีเรียชนิด Bacillus sphaericus และ B. thuringiensis (WHO, 1979 c) Dr. S. Singer พบว่าแบคทีเรียทั้งสองมีความสามารถทำลายลูกน้ำยุง Culex pipiens และ Aedes aegypti สูง (Singer, 1974)

B. thuringiensis หลายสายพันธุ์สามารถทำลายลูกน้ำยุงได้ แต่มักต้องใช้ความเข้มข้นสูง ปัจจุบันค้นพบสายพันธุ์ใหม่ที่ให้ประสิทธิภาพควบคุมลูกน้ำยุงสูงมาก คือ B. thuringiensis var. israelensis, serotype H-14 ซึ่งแยกได้ครั้งแรกจากแหล่งเพาะพันธุ์ยุงธรรมชาติในอิสราเอล (Goldgerg และ Margarit, 1977)

อนุกรมวิธาน (de Barjac, 1978 a, Buchanan และ Gibbon, 1974, WHO, 1979 a, WHO, 1979 b)

อาณาจักร Procaryotae, Division II : Bacteria

อันดับ Eubacteriales

วงศ์ Bacillaceae

Bacillus thuringiensis serotype H-14 de Barjack 1978

Bacillus thuringiensis var. israelensis de Barjack 1978

ONR 60 A

WHO/CCBC 1897

ลักษณะทางชีวภาพ

โดยทั่วไป B. thuringiensis เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีวิต มีรูปร่างเป็นแท่ง ย้อมแกรมติดสีน้ำเงิน (gram positive) และสร้างสปอร์ได้ภายในเซล (endospore-forming bacteria) จากการศึกษาทางอนุกรมวิธานพบว่าแบคทีเรียนี้มีความใกล้ชิดกับ Bacillus cereus มาก เดิมถูกจัดไว้เป็น B. cereus var. thuringiensis ต่อมาแยกออกโดยอาศัยลักษณะสำคัญคือ ความสามารถสร้างผลึกโปรตีน delta-endotoxin ในระยะสร้างสปอร์ (Buchanan และ Gibbon, 1974)

การวินิจฉัยแบคทีเรียนี้ได้โดยอาศัย flagellar antigen ในระยะ vegetative cell หรือ H-antigen แบ่งเป็น 14 serotype และแยกได้ 19 biotype หรือ subspecies (WHO, 1979 c)

B. thuringiensis หลายสายพันธุ์สร้างสารพิษต่าง ๆ ได้ถึง 7 ชนิดในระหว่างการเจริญเติบโต สารพิษชนิดหนึ่งที่น่าสนใจคือ beta-exotoxin หรือ thuringiensis ที่สร้างขึ้นในระยะ vegetative growth เป็นสารที่มีโครงสร้างของ adenine nucleotide ละลายน้ำและทนความร้อนได้ดี มีปฏิกิริยาคล้ายกับ ATP analog มีระดับความเป็นพิษต่อนกและสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมสูงพอ ๆ กับแมลง (Faust, 1976, WHO, 1979 b)

แบคทีเรีย B. thuringiensis 13 serotype แรก แสดงความสามารถทางพยาธิสภาพต่อหนอนผีเสื้อ (lepidopteran) มีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นคือ serotype 1 (สายพันธุ์

thuringiensis) และ serotype 3a, 3b (ล่ายพันธุ์ kurstaki) ที่มีประสิทธิภาพทำลายลูกน้ำยุง เช่น Aedes aegypti, Ae. triseriatus และ Culex tarsalis โดยให้ LC 50 (50 % lethal concentration) ต่ำกว่า 1 ไมโครกรัมต่อ มล. ส่วนล่ายพันธุ์อื่นแม้จะมีผลทำลายลูกน้ำยุงอยู่บ้าง แต่ให้ฤทธิ์ต่ำเกินไป ต้องใช้ปริมาณความเข้มข้นสูงมากจึงได้ผล (LC 50 ประมาณ 100 ไมโครกรัมต่อ มล.) (Hall et al., 1977, WHO, 1979 b)

ล่ายพันธุ์ใหม่ของ B. thuringiensis คือ serotype H-14, ล่ายพันธุ์ israelensis แล่ดงคุณล่มบัติทางพยาธิล่ภาพต่อลูกน้ำยุงและตัวอ่อน blackfly (Simulium spp.) เมื่อทดล่อบทางชีวภาพกับหนอนผีเลื้อ Anagasta kuhniella พบว่าแบคทีเรียล่ายพันธุ์นี้ไม่ล่ร้าง beta-exotoxin และไม่มีประสิทธิภาพทำลายหนอนผีเลื้อ B. thuringiensis var. israelensis ล่ร้างผลึกโปรตีนรูปร่างและขนาดต่าง ๆ ได้ ขณะที่ล่ายพันธุ์อื่นล่ร้างได้เฉพาะผลึกโปรตีนรูปเพชรเท่านั้น (de Barjac, 1978 a, WHO, 1979 b, WHO, 1979 c)

ผลึกโปรตีนข้างล่ปอร์ของแบคทีเรียนี้ล่ร้างในระยะ engulfment ของ forespore septum และล่ร้างอยู่ภายนอก exosporium เมื่อศึกษาจากกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าผลึกไม่มีล่วนติดกับ mesosome, forespore septum, incipient forespore และ exosporium เลย แล่ดงว่าผลึกข้างล่ปอร์นี้แยกจาก forespore โดยมี cytoplasm คั่นอยู่ (Bechtel และ Bulla, 1976)

ปัจจุบันการศึกษาคุณล่มบัติทางชีวเคมีของผลึกข้างล่ปอร์เป็นไปอย่างกว้างขวาง ลักษณะโดยทั่วไปของผลึกเป็นล่ารพิษตั้งต้น (protoxin) มีโครงล่ร้างเป็นหน่วยเดี่ยวของล่ารประกอบไกลโคโปรตีน (glycoprotein subunit) ประกอบด้วยโปรตีน 95 % และคาร์โบไฮเดรต 5 % กรดอะมิโนที่พบมากคือ glutamic acid และ aspartic acid มีน้ำตาลกลูโคล่ 3.8 % น้ำตาลแมนโนล่ 1.8 % คุณล่มบัติการละลายของผลึกขึ้นกับความเข้มข้นของประจุลบ (OH^-) และการปล่อยประจุบวก ภายใต้ภาวะการเป็นด่าง (alkaline pH) ล่ารพิษตั้งต้นละลายได้ดี และถูกกระตุ้นด้วยกลไกย่อยล่ลายตัวเอง ซึ่งคาดว่าเกี่ยวข้องกับ sulfhydryl group ภายในผลึก การกระตุ้นนี้ทำให้เกิดประจุบวก, การย่อยล่ลาย polypeptide, ปฏิกิริยาของ sulfhydryl group, ปฏิกิริยาย่อยล่ลายโปรตีนและความเป็นพิษต่อแมลง คาดกันว่า active site ของผลึกในปฏิกิริยาย่อยล่ลายโปรตีนและการทำลายแมลงน่าจะอยู่ที่ตำแหน่งของ cysteine residue (Bulla et al., 1977)

จากการศึกษาทางชีวเคมีเปรียบเทียบผลึกย้างสำปอร์ของ B. thuringiensis สายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ สายพันธุ์ kurstaki, tolworthi, alesti, berliner และ israelensis พบว่าผลึกโปรตีนของ B. thuringiensis var. israelensis มีความเป็นพิษสูงต่อลูกน้ำยุงและไม่มีพิษต่อหนอนกินใบยาสูบ (tobacco hornworm) ตรงกันข้ามกับผลึกจากสายพันธุ์อื่น ๆ ที่เหลือ สามารถทำลายหนอนผีเสื้อกินใบยาสูบได้แต่ไม่มีผลต่อลูกน้ำยุง ผลึกนี้ในแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์ประกอบด้วยหน่วยสารพิษตั้งต้น (protoxin subunit) 1 หน่วยมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1.34 x 10^5 ดาลตัน แต่จากผลของ polyacrylamide gel electrophoresis พบส่วนประกอบน้ำหนักโมเลกุลต่ำประมาณ 2.6 x 10^4 ดาลตันในสายพันธุ์ israelensis ซึ่งไม่พบในสายพันธุ์อื่น และยังพบความแตกต่างขององค์ประกอบกรดอะมิโน และ tryptic peptide fingerprint จึงเป็นไปได้ว่าความจำเพาะของการทำลายแมลงอาจขึ้นกับความแตกต่างของการเรียงลำดับกรดอะมิโนและองค์ประกอบคาร์โบไฮเดรต (Tyrell et al., 1981)

กลไกการกระตุ้นและปลดปล่อย delta-endotoxin ในผลึกย้างสำปอร์ยังไม่ทราบแน่ชัด คาดว่าเกี่ยวข้องกับ protease enzyme ซึ่งอาจมีอยู่บนผิวผลึก หรืออยู่ในโครงสร้างของผลึกหรือมาจาก digestive enzyme ในทางเดินอาหารของตัวอ่อนแมลง ในภาวะด่างผลึกจะถูกทำลายและกระตุ้นโดยกลไกย่อยสลายตัวเอง ซึ่งเกี่ยวกับ protease ที่มีอยู่ โดยเปลี่ยนสารพิษตั้งต้นให้เป็น active molecule จากการทดลองพบว่า protease activity มีความสำคัญต่อการปลดปล่อยโมเลกุลพิษจากผลึกย้างสำปอร์ของ B. thuringiensis var. israelensis ความเป็นพิษของผลึกจะลดลงอย่างมากถ้า protease ถูกยับยั้งไว้ (Chilcott et al., 1981)

การผลิตแบคทีเรียมาตรฐาน

สูตรมาตรฐาน IPS-78 เป็นส่วนผสมเชิงซ้อนผลึกสำปอร์ของแบคทีเรีย B. thuringiensis var. israelensis : ONR-60A แยกได้ในอิสราเอล เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียใน fermentor ความจุขนาด 1 ลบ.ม. โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย แป้งสาลี 15 ก. น้ำตาลกลูโคส 10 ก. ยีสต์สกัด 5 ก. $KH_2PO_4.7H_2O$ 0.1 ก. $MgSO_4.7H_2O$ 0.5 ก. NaCl 3 ก. $FeSO_4$ 0.1 ก. เติมน้ำจนมีปริมาตรถึง 1 ล.

จากนั้นเก็บไว้ในห้องเพาะเลี้ยงอุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 38 ชั่วโมง ปล่อยให้อากาศผ่าน 0.5 หน่วย/หน่วยของเหลว/นาที นำไปปั่นแยกตะกอนทิ้ง ทำการตกตะกอนผลึกสปอร์ด้วย acetone 2 ครั้ง ใช้ลมเป่าให้ตะกอนแห้ง บดเป็นผงเนื้อเดียวกัน แล้วใช้ผงผลึกตั้งต้นนี้ 20 กก. ผสมกับสาร bentonite 10 กก. และ Clarcel CBR (powdered diatom-Ceca) 10 กก. ได้เป็นแบคทีเรียสูตรมาตรฐาน IPS-78 หนัก 40 กก. (de Barjac, 1979)

ความเป็นพิษ (Toxicity)

B. thuringiensis serotype H-14 ไม่สามารถขยายพันธุ์ด้วยตัวเองได้ในธรรมชาติ และไม่พบว่ามีการติดเชื้อจากแมลงตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ ผลึกพิษกำจัดแมลงเป็น stomach poison ไม่มีฤทธิ์ถูกตัวตาย แมลงตัวอ่อนที่มีความไวต่อสารพิษตั้งต้นมักมีกระเพาะอาหารส่วนกลางเป็นด่างค่อนข้างมากประมาณ pH 10 ทำให้ผลิตพิษตั้งต้นเปลี่ยนรูปเป็นสารพิษ-ทำลายพยาธิสภาพของกระเพาะอาหาร โดยทำลายเซลเยื่อบุกระเพาะอาหารให้แยกออกจาก-basement membrane คุณสมบัติ permeability ของผนังกระเพาะอาหารต่อประจุโซเดียม (Na^+) เพิ่มขึ้น ระดับความเข้มข้นของประจุโปตัสเซียม (K^+) ในเลือด (hemolymph) สูงขึ้น กระเพาะอาหารเป็นอัมพาต หลังจากนั้นก็เป็นอัมพาตทั้งตัว (Bulla et al., 1977, Federici, 1982, Rishikesh et al., 1983)

จุลินทรีย์กำจัดแมลงนี้เป็นส่วนผสมเชิงซ้อนของสปอร์และผลึกโปรตีนคือ delta-endotoxin ซึ่งสร้างขึ้นพร้อม ๆ กับสปอร์ ผลึกพิษโปรตีนมีความจำเพาะต่อชนิดของแมลง เริ่มแรกการวัดประสิทธิภาพในการทดลองทางชีวภาพและอุตสาหกรรม ได้ใช้จำนวนสปอร์ที่มีอยู่ในสูตรแบคทีเรียนั้น ๆ เป็นหลัก แต่หลังจากศึกษารายละเอียดพบว่าความสามารถทำลายแมลงตัวอ่อนของ B. thuringiensis var. israelensis สูตรต่าง ๆ เป็นผลจากผลึกโปรตีนมากกว่าสปอร์ และปริมาณผลึกพิษโปรตีนไม่ได้แปรตามจำนวนสปอร์ สัดส่วนของสปอร์ต่อผลึก-โปรตีนขึ้นกับสายพันธุ์ของแบคทีเรียและกรรมวิธีการผลิต (de Barjac, 1979)

International Reference Center ผลิตแบคทีเรียสูตรมาตรฐาน "IPS-78" International Pasteur Standard 1978 กำหนดให้มีประสิทธิภาพเท่ากับ 1000 Aedes aegypti International Toxic Unit/มิลลิกรัม (ITU/มก.) เพื่อใช้เป็นมาตรฐานสำหรับเปรียบเทียบประสิทธิภาพจุลินทรีย์ฆ่าแมลงสูตรอื่นของแบคทีเรียนี้ โดยทำตามขั้นตอนวิธีวิเคราะห์ชีวภาพมาตรฐานของ B. thuringiensis var. israelensis ประเมินผลเปรียบเทียบ

แบคทีเรียสูตรต่าง ๆ โดยยึดหน่วย ITU เป็นหลัก (de Barjac, 1979, WHO, 1980) จากการทดลองประสิทธิภาพทำลายแมลงของ B. thuringiensis var. israelensis พบว่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ชนิดของแมลง เป้าหมาย ระยะของแมลงตัวอ่อน อุณหภูมิ สูตรของเบคทีเรีย รวมทั้งช่วงเวลาที่ใช้ในการทดลองด้วย เป็นต้น

ประสิทธิภาพต่อยุงวงศ์ Culicidae

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาในห้องปฏิบัติการครั้งแรกพบว่า B. thuringiensis var. israelensis มีประสิทธิภาพสูงต่อลูกน้ำยุง Anopheles sergentii (Theobald), Uranotaenia unguiculata Edwards, Aedes aegypti (Linn.), Culex univettatus Theobald และ Cx. pipiens Linn. เมื่อทดลองกับลูกน้ำยุงรำคาญ Cx. pipiens ให้ประสิทธิภาพสูงกว่า B. sphaericus (SSII-1) 30-100 เท่า มีค่า ED95 (95 % effective dose) ต่อกลุ่มยุง Cx. pipiens complex ประมาณ 8×10^4 เซล/มล. และต่อยุงก้นปล่อง An. sergentii ประมาณ 6×10^5 เซล/มล. (Goldberg และ Margarit, 1977)

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ B. thuringiensis var. israelensis ต่อลูกน้ำยุงลาย Aedes aegypti และยุงก้นปล่อง Anopheles stephensi พบว่ายุงลาย Ae. aegypti มีระดับความไวสูงมากให้ค่า LT 100 (100 % lethal time) ภายใน 30-40 นาทีที่แบคทีเรียความเข้มข้นสูง ๆ พบว่าภายใน 24 ชั่วโมงลูกน้ำระยะที่ 2 ของยุง Ae. aegypti ให้ LD 50 (50 % lethal dose) เท่ากับ 2.4×10^4 สปอร์/มล. และ An. stephensi ให้ LD 50 เท่ากับ 9.8×10^4 สปอร์/มล. (de Barjac, 1978 b)

เพื่อเป็นการยืนยันให้แน่ชัดว่ายุงลาย Aedes มีระดับความไวต่อแบคทีเรียชนิดนี้สูง ได้ทำการทดลองลูกน้ำยุงลายระยะที่ 4 ชนิดต่าง ๆ คือ Aedes aegypti 3 สายพันธุ์ (สายพันธุ์ Bora Bora จากโปลินีเซีย, สายพันธุ์ Djakata จากอินโดนีเซีย และสายพันธุ์ Enugu จากอัฟริกาตะวันตก), Ae. carpius, Ae. albopictus, Ae. polynesiensis เปรียบเทียบยุงก้นปล่อง Anopheles stephensi และ An. gambiae พบว่ายุงก้นปล่องทั้งสองชนิดมีระดับความไวต่อ B. thuringiensis var. israelensis ต่ำกว่ายุงชนิดอื่นมาก (de Barjac และ Coz, 1979)

ประสิทธิภาพต่อยุงในแคลิฟอร์เนียเหนือ 6 ชนิด (3 สกุล) ได้แก่ยุง Aedes sierrensis, Ae. dorsalis, Culiseta incidens, Cs. inornata, Culex pipiens, Cx. tarsalis LD 100 (100 % lethal dose) ของยุงทั้ง 6 ชนิดเท่ากับ 10^5 เซล/มล. หรือมากกว่านั้น ลูกน้ำยุง Ae. sierrensis มีอัตราตายแปรปรวนอยู่ระหว่าง 0-92 % ที่แบคทีเรียเข้มข้น 10^4 เซล/มล. เมื่อทดลองในน้ำจากโพรงไม้ พบว่าอาจเป็นไปได้ที่ประสิทธิภาพของแบคทีเรียขึ้นกับน้ำจากโพรงไม้ในแหล่งต่าง ๆ กัน ยุง Culiseta inornata และ Ae. dorsalis ในน้ำเค็มให้อัตราตาย 40 % และ 100 % ตามลำดับที่แบคทีเรียเข้มข้น 10^4 เซล/มล. ความเข้มข้นของเกลือไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของแบคทีเรียแต่อย่างใด ลูกน้ำยุงรำคาญ Cx. tarsalis จากห้องเลี้ยงแมลง และ Ae. dorsalis จากท้องที่ให้ LD 100 ที่แบคทีเรียเข้มข้น 10^4 เซล/มล. การทดลองเปรียบเทียบระหว่างภาวะในบ้านและนอกบ้าน พบว่าแล่งแดดไม่มีอิทธิพลต่อความสามารถของแบคทีเรีย (Garcia และ Desrochers, 1979)

การนำ B. thuringiensis var. israelensis สูตรมาตรฐาน IPS-78 ทดลองกับลูกน้ำยุงจากห้องเลี้ยงแมลงระยะที่ 3 และ 4 ของยุง Culex pipiens, Anopheles atroparvus, Aedes caspius, Ae. aegypti และยุงลายจากท้องที่ Ae. detritus พบว่ายุงรำคาญ Cx. pipiens มีระดับความไวสูงสุด ให้ LC 90 เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัม/ล. และยุงก้นปล่อง An. atroparvus มีระดับความไวต่ำสุดให้ LC 90 เท่ากับ 4.4 มก./ล. ลูกน้ำยุงระยะที่ 1 ของ Cx. pipiens มีความไวต่อแบคทีเรียนี้มากกว่าลูกน้ำระยะที่ 4 ถึง 4 เท่า (WHO, 1979 b)

จากการทดลองยุงทางการแพทย์ 3 ชนิดคือ Aedes aegypti Linn., Culex pipiens var. quinquefasciatus Say และ Anopheles albimanus Wiedemann พบว่าจำนวนลูกน้ำที่ตายสัมพันธ์กับน้ำหนักผลึกแห้งแบคทีเรีย ใน 48 ชั่วโมงผลึกย่างสปอร์เริ่มมีผลต่อลูกน้ำยุงทุกชนิดที่ความเข้มข้น 10^{-4} ไมโครกรัม/มล. แบคทีเรียเข้มข้น 10^{-2} ไมโครกรัม/มล. สามารถทำให้ลูกน้ำยุงลาย Ae. aegypti และยุงรำคาญ Cx. pipiens ตายประมาณ 90 % ขณะที่ลูกน้ำยุงก้นปล่อง An. albimanus ตายแค่ 50 % เท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบค่า LC 50ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % พบว่า Ae. aegypti (LC 50เท่ากับ 1.9×10^4 ไมโครกรัม/มล.) Cx. pipiens var. quinquefasciatus (LC 50 เท่ากับ 3.7×10^{14} ไมโครกรัม/มล.) An. albimanus (LC 50 เท่ากับ 8.0×10^{-3} ไมโครกรัม/มล.) แสดงถึงผลึกโปรตีนมีพิษต่อลูกน้ำยุงก้นปล่องน้อยกว่ายุงรำคาญและยุงลาย 20-40 เท่า โดยอาจเป็น-

เพราะพฤติกรรมการกินอาหารที่แตกต่างกัน (Tyrell et al., 1979) จากการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ B. thuringiensis var. israelensis กับ B. sphaericus ต่อยุงลาย Ae. aegypti และยุงรำคาญ Cx. pipiens พบว่า B. sphaericus มีผลทำลายต่อยุง Cx. pipiens เพียงชนิดเดียว ในขณะที่ B. thuringiensis var. israelensis มีผลทำลายต่อยุงทั้งสองชนิด (ธีติปวัฒน์, 2525)

ความน่าจะเป็นของ cross-resistance ต่อ B. thuringiensis var. israelensis ของลูกน้ำยุงที่ต้านเคมีฆ่าแมลง ได้ศึกษากับลูกน้ำระยะที่ 3 และ 4 ของยุงรำคาญ Culex quinquefasciatus 5 สายพันธุ์ (คือ 1. สายพันธุ์ไม่ต้านทานยาฆ่าแมลง 2. สายพันธุ์ต้าน Propoxur 3. สายพันธุ์ต้าน Temephos 4. สายพันธุ์ต้าน trans-Permethrin 5. สายพันธุ์ต้าน cis-Permethrin) และยุงก้นปล่อง Anopheles albimanus 2 สายพันธุ์ (คือ 1. สายพันธุ์ไม่ต้านทานยาฆ่าแมลง 2. สายพันธุ์ต้าน Organophosphate/Carbamate) ภายใน 15 นาทีเมื่อทดลอบกับสูตร IPS-78 ให้ค่า LC 50 เท่ากับ 14 ไมโครกรัม/มล. และ LC 95 เท่ากับ 24 ไมโครกรัม/มล. จากข้อมูลที่ได้ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการตอบสนองต่อสารพิษ B. thuringiensis var. israelensis ระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านเคมีฆ่าแมลงของยุงทั้งสองชนิด แสดงว่ากลไกการต้านทานยาฆ่าแมลงพวก carbamate (oxidase detoxification), organophosphate (esterase detoxification) และ pyrethroid (nerve insensitivity) ของลูกน้ำยุง ยังไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการใช้ B. thuringiensis var. israelensis กล่าวโดยสรุปได้ว่าการใช้แบคทีเรียชนิดนี้อาจใช้ได้แม้ในสภาวะที่แมลงเกิดความต้านทานต่อสารเคมี (Chih-Ning Sun et al., 1980)

แบคทีเรียสูตรมาตรฐาน IPS-78 ทดลอบกับยุงจากท้องที่ในแหล่งน้ำยังในบราซิล ได้ค่า LC 50 และ LC 95 ต่อยุง Culex quinquefasciatus เท่ากับ 0.42 และ 0.33 ppm ตามลำดับ การตายของ Cx. quinquefasciatus เริ่มพบหลังจากใส่แบคทีเรียลงไปประมาณ 2 ชั่วโมงและตายหมดภายใน 12 ชั่วโมง แบคทีเรียเข้มข้น 0.1 ppm ให้ผลต่างกันในยุงแต่ละชนิด กล่าวคือ Culex (Carrollia) sp. ไม่พบว่ามีการตาย Trichoprosopon digitatum มีอัตราการตาย 43 % Culex mollis มีอัตราตาย 63 % และ Limatus durhami/L. flavisetosus มีอัตราตาย 63.6 % สรุปได้ว่า B. thuringiensis var. israelensis อาจใช้ควบคุมลูกน้ำยุง Cx. mollis ได้ เพราะให้อัตราตายสูงถึง 63 % +

5.25 ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm ส่วนยุง Limatus spp. ซึ่งมักพบในป่าแบบทุติยภูมิ แถบบราซิล นั้นควบคุมลำบากเพราะเข้าถึงได้ยาก ยุง T. digitatum พบทั่วไปตามแหล่งน้ำยังธรรมชาติ ทั้งในป่าแบบปฐมภูมิ และทุติยภูมิยังให้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ และการควบคุม Cx. (Carrollia) sp. นั้นเป็นไปไม่ได้เลย (Lacey และ Lacey, 1981)

ผลของ B. thuringiensis var. israelensis ต่อยุงก้นปล่อง Anopheles arabiensis, species B. An. gambiae complex ศึกษาเปรียบเทียบจากแบคทีเรีย 3 สูตร คือ IPS-78 (สูตรมาตรฐาน), ABG-6108 (ผง) และ SAN-402-1 (ของเหลว) ทดลอบต่อลูกน้ำระยะที่ 2 ได้ LD 50 ใน 24 ชั่วโมงเท่ากับ 0.159, 0.211 และ 0.163 ppm ตามลำดับ LD 50 ใน 48 ชั่วโมงเท่ากับ 0.113, 0.119 และ 0.099 ppm ตามลำดับ ทำการเปรียบเทียบ relative action กับสูตรมาตรฐาน IPS-78 พบว่าสูตร ABG-6108 ให้ LC 50 เท่ากับ 0.75 ใน 24 ชั่วโมง และ 0.98 ใน 48 ชั่วโมง ส่วนสูตร SAN-402-1 ให้ LC 50 เท่ากับ 0.97 ที่ 24 ชั่วโมง และ 1.14 ที่ 48 ชั่วโมง แสดงถึงว่าแบคทีเรียชนิดสูตรผงมีแนวโน้มให้ประสิทธิภาพต่ำกว่า ส่วนชนิดสูตรของเหลวแขวนลอย มีฤทธิ์ยาวนานกว่า และเหมาะกับลักษณะการกินอาหารบนผิวน้ำของลูกน้ำยุงก้นปล่อง (Nugud และ White, 1982)

การทดลองในแหล่งเพาะพันธุ์ยุงในธรรมชาติ

การทดลองในบึงธรรมชาติมีอุณหภูมิของน้ำ 11°c, pH 6.8 และความเค็ม 2.5 % NaCl ต่อลูกน้ำทุกระยะของยุง Aedes detritus แบคทีเรียสูตรมาตรฐานเข้มข้น 10 กก. ต่อเฮกเตอร์ มีผลทำลายลูกน้ำยุงได้ ส่วนสูตรเบื้องต้นทางอุตสาหกรรมอื่น ๆ ใช้ในปริมาณ 2.8 กก./เฮกเตอร์ การประเมินผลสูตรเบื้องต้นทางการค้าของ B. thuringiensis var. israelensis ในท้องที่ต่อลูกน้ำยุง Ae. detritus และ Culex pipiens พบว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ให้อัตราตายสมบูรณ์ต่อลูกน้ำยุงทั้งสองชนิดเท่ากับ 0.1 มก./ล. และ 0.4 มก./ล. ตามลำดับ เทียบความเป็นพิษในหน่วยลำกลได้เป็น 310-420 ITU/ล. และ 1240-1680 ITU/ล. ตามลำดับ และไม่พบว่ามีฤทธิ์ตกค้างของแบคทีเรียอยู่เลย (Sinegre et al., 1979)

ผลต่อลูกน้ำยุง Psorophora columbiae ในแหล่งเพาะพันธุ์นาข้าวภายใน 48 ชั่วโมง พบว่าลูกน้ำระยะที่ 2 ให้อัตราตาย 61.5 % ที่แบคทีเรียเข้มข้น 0.44 ppm และ 100 % ที่ความเข้มข้น 4.4 ppm ส่วนลูกน้ำระยะที่ 3 และ 4 ให้อัตราตายเท่ากับ 26.3 % ที่ 0.44

ppm และ 75 % ที่ 8.0 ppm ภายใน 72 ชั่วโมง (Hembree et al., 1980)

แหล่งอาศัยบึงน้ำเค็มและน้ำกร่อยบริเวณอ่าวซานฟรานซิสโกได้ทำการศึกษาเบื้องต้นต่อยุง Aedes dorsalis และ Culex tarsalis พบว่าทุกความเข้มข้นของแบคทีเรียที่ใช้ทดลองล่ามารถลดจำนวนลูกน้ำยุงได้ถึง 85 % ขึ้นไป โดยความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้คือ 1 กก./เฮกเตอร์ แบคทีเรียยังคงมีประสิทธิภาพอยู่ได้แม้ว่าความเค็มของน้ำสูงถึง 3.2 % NaCl (Garcia และ Desrochers, 1980) จากระดับความเป็นพิษต่อยุง Aedes taeniorhynchus ในบึงน้ำเค็มชี้ให้เห็นว่าโลศนล่ามารถลดประสิทธิภาพของ B. thuringiensis var. israelensis และพบว่าที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 4.5 ITU/มล. ขึ้นไปล่ามารถทำลายลูกน้ำยุงได้ถึง 99 % (Purcell, 1981)

ในแหล่งอาศัยน้ำขังตามโพรงไม้และล้อยางรถยนต์ B. thuringiensis var. israelensis ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0-10.0 ppm ทำให้ลูกน้ำระยะที่ 4 ของ Aedes triseriatus ตายด้วยอัตราสูงมาก ภายใต้สภาวะห้องที่ B. thuringiensis var. israelensis สูญเสียประสิทธิภาพภายใน 3-5 วัน การทดลองฉีดพ่นโดย Hudson sprayer ล่ามารถลดจำนวน Ae. triseriatus ลงได้ถึง 98 % (De Maio et al., 1981) ส่วนในแหล่งน้ำเสียของบึงที่มีร่มไม้ทับถม มีลูกน้ำยุง Culex peus และ Cx. pipiens ปนกัน แบคทีเรียนี้ความเข้มข้นระหว่าง 0.40-1.63 กก./เฮกเตอร์ ลดประชากรลูกน้ำได้ 73-99 % ภายใน 48 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในการกระจายอายุประชากรลูกน้ำยุง ลูกน้ำระยะต้นมีอัตราส่วนต่ำกว่าระยะอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่า B. thuringiensis var. israelensis มีความเป็นพิษต่อลูกน้ำระยะต้น ๆ สูงกว่าระยะหลัง เมื่อทิ้งไว้ 1 อาทิตย์ จำนวนประชากรลูกน้ำบริเวณทดลองกลับสูงขึ้นเท่าเดิม โดยลูกน้ำระยะต้นมีสัดส่วนสูงที่สุด (Eldridge และ Callicrate, 1982) ลูกน้ำยุงรำคาญ Cx. quinquefasciatus ในบริเวณคูน้ำข้างทางรถยนต์มีระดับความไวสูงต่อแบคทีเรียนี้ที่ความเข้มข้น 0.6 มก./มล., 491 ITU/มก. ไม่พบลูกน้ำระยะที่ 4 และดักแด้ แต่การวางไข่ของตัวเต็มวัยเพื่อรักษาระดับประชากรของลูกน้ำระยะที่ 1 ยังคงพบต่อเนื่องตลอดการทดลอง (Mc Laughlin และ Fukuda, 1982)

การศึกษาประสิทธิภาพ B. thuringiensis var. israelensis ต่อลูกน้ำยุง-ก้นปล่อง Anopheles crucians ในบึง Golf course แบคทีเรียความเข้มข้นสูง ๆ ประมาณ

$1.8\text{-}3.0 \times 10^9$ ITU/เฮกเตอร์ ลดจำนวนลูกน้ำยุงได้ 80-100 % ปัจจัยที่ทำให้ประสิทธิภาพของ B. thuringiensis var. israelensis เพิ่มสูงขึ้นนอกเหนือไปจากความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ (active ingredient) แล้ว ยังพบว่าช่วงเวลาความคงทนของแบคทีเรียและอัตราการกลืนกินสารพิษของลูกน้ำเป็นปัจจัยอื่นที่ควบคู่ไปด้วย แหล่งน้ำที่มีพืชน้ำน้อยจะประสบผลสำเร็จน้อย วัตถุตามผิวน้ำ เช่น พืชที่โผล่พ้นน้ำหรือฝากพืชทำให้แบคทีเรียอยู่คงทนกว่าแหล่งน้ำเปิด ยิ่งไปกว่านั้นลูกน้ำยุงก้นปล่องมีพฤติกรรมค้อยหาอาหารในแหล่งน้ำเปิด ดังนั้นบริเวณที่มีพืชน้ำและฝากพืชปกคลุมผิวน้ำจะประสบผลในการใช้ B. thuringiensis var. israelensis ควบคุมลูกน้ำยุงก้นปล่องสูงกว่าบริเวณแหล่งน้ำเปิด (Mc Laughlin et al., 1982)

สำธารปราค่จากพืชน้ำยาว 312 ม. ทดลอบด้วยแบคทีเรียเข้มข้น 3.10 ppm พบว่าหลังจากเวลาเริ่มต้นปล่อยไป 20-22 นาที ยังคงเหลือแบคทีเรียอยู่เข้มข้นประมาณ 50-80 % ของความเข้มข้นเดิม (1.5-2.5 ppm) การลดลงอย่างรวดเร็วของจำนวนสปอร์หลังจากทิ้งไว้เป็นสาเหตุทำให้ฤทธิ์ตกค้างต่ำ ระดับจำนวนสปอร์ลดลงจนเกือบเป็นศูนย์ เมื่อทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (Frommer et al., 1981 a) วัชพืชน้ำถูกพบว่ามีผลแปรปรวนต่อการเคลื่อนที่ของ B. thuringiensis var. israelensis ในสำธารน้ำไหล โดยศึกษาในสำธารยาว 312 ม. มีวัชพืชน้ำ Potomogeton cripus และ P. pectinatus อาศัยอยู่ พบว่าแบคทีเรียเข้มข้น 3.10 ppm จะมีความเข้มข้นลดลงเหลือ 24-90 % (0.8-2.8 ppm) หลังจากเวลาเริ่มต้นปล่อย 18-28 นาที (Frommer et al., 1981 b)

ผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตนอกเป้าหมาย

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม

B. thuringiensis var. israelensis จัดได้ว่าเป็นจุลินทรีย์กำจัดยุงที่ปลอดภัยมากต่อมนุษย์และสัตว์มีกระดูกสันหลังอื่น ๆ ในการใช้ควบคุมโดยยิววิธี (WHO, 1981) ไม่พบว่ามีผลพิษเรื้อรังหรือเฉียบพลันต่อสัตว์ทดลองหลายชนิด ได้แก่ หนูถีบจักร หนูยาว หนูตะเภา และกระต่าย เป็นการแสดงว่าสัตว์ทดลองเหล่านี้มีความอดทนสูง เชื้อแบคทีเรียนี้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และจะถูกกำจัดไปอย่างรวดเร็ว แบคทีเรียสามารถสลัดสลมอยู่ได้ในบริเวณสลมอง แต่ไม่มีการเพิ่มจำนวน B. thuringiensis var. israelensis ถูกพบบ่อยครั้งที่ม้าม หลังจากการฉีดเข้าไปในหลาย ๆ ทาง แสดงว่าม้ามเป็นอวัยวะกรอง

แบคทีเรียแปลกปลอมตัวนี้และไม่พบหลักฐานว่ามีการขยายจำนวนทั้งในม้ามและลำไส้ นั่นคือ แบคทีเรียนี้ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แม้ในความเข้มข้นสูงถึง 2.7×10^5 เซลต่อสัตว์ทดลอง 1 ตัว การล่ะลายของแบคทีเรียจะหมดไปภายใน 3-4 อาทิตย์ การทดสอบพิษเรื้อรังโดยการกลืนกินให้ผลปลอดภัย แม้ความเข้มข้น 10^{11}-10^{12} เซล/สัตว์ทดลอง การฉีดสูตรยากสัตว์ทดลองไม่พบเนื้อเยื่อใดถูกทำลายเลย (de Barjac et al., 1980, Shadduck, 1980)

สัตว์นอกเป้าหมายชนิดอื่น

B. thuringiensis serotype H-14 มีความจำเพาะเจาะจงต่อเหยื่อสูง และปลอดภัยในทางปฏิบัติต่อสัตว์นอกเป้าหมาย รวมทั้งศัตรูธรรมชาติของแมลงพาหะซึ่งสามารถมีชีวิตอยู่ได้และยังช่วยเสริมประสิทธิภาพของศัตรูธรรมชาตินั้นให้สูงขึ้นด้วย สัตว์นอกเป้าหมายส่วนมากไม่ได้รับอันตรายจากแบคทีเรียนี้ (Rishikesh et al., 1983) ซึ่งมีมากกว่า 30 ชนิดที่ปลอดภัยจาก B. thuringiensis H-14 แม้ที่ความเข้มข้นสูงเป็น 50 หรือ 200-300 เท่าของความเข้มข้นที่ LD 50 ของลูกน้ำยุง Culex pipiens ($1 \times 10^{3.5}$ ลิปอร์/มล. พิษเฉียบพลันที่ทำให้เกิดการตายพบในแมลงอันดับ Diptera และอันดับย่อย Nematocera นอกจากแมลงในวงศ์ Culicidae และ Simuliidae แล้ว แบคทีเรียนี้ยังมีผลต่อแมลงนอกเป้าหมายบางชนิดในวงศ์ Dixidae, Chironomidae และ Ceratopogonidae อีกด้วย (Garcia et al., 1980 b, Miura et al., 1980)

การทดลองในช่วงเวลา 2-15 วันของ B. thuringiensis var. israelensis ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่ามีผลต่อตัวอ่อนหนอนแดง (chironomid) ที่ความเข้มข้นใกล้เคียงกับลูกน้ำยุง (แบคทีเรียเข้มข้น 0.04 มก./ล. ให้อัตราตาย 8 % และ 0.15 มก./ล. ให้อัตราตาย 92 %) สัตว์นอกเป้าหมายชนิดอื่น ๆ ไม่ได้รับอันตรายใด ๆ กล่าวคือ ด้วงน้ำกินซาก (water scavenger beetle : Berosus) ปลอดภัยที่ความเข้มข้น 25 มก./ล. เป็นเวลา 5 วัน, ไรน้ำจืด (microcrustacean : Daphnia magna และ Cyclops fuscus) 25 มก./ล. เป็นเวลา 5 วัน, แมลงปอ (Cordulia) 8 มก./ล. เป็นเวลา 5 วัน, ไรน้ำเค็ม (Artemia salina) 1.6 มก./ล. เป็นเวลา 5 วัน, ตัวอ่อนริ้น (phantom midge : Chaborids) 2.5 มก./ล. เป็นเวลา 2 วัน, ปลากินลูกน้ำยุง (Gambusia affinis) 8 มก./ล. เป็นเวลา 15 วัน และหอยนางรม (Ostrea edulis) 25 มก./ล.

010207

เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้ภาวะเดียวกันนี้ ค่า LC 50ใน 24 ชั่วโมงของลูกน้ำยุงรำคาญเป็น 0.03-0.1 มก./ล. และตัวอ่อนหนอนแดงเป็น 0.1 มก./ล. (Sinegre et al., 1979) การทดลองอีกอันที่น่าสนใจคือ การศึกษาระดับความไวของ chironomid บางชนิดเช่น Chironomus crassicaudatus Malloch, C. decorus Johannse และ Tanytasus spp. เปรียบเทียบกับลูกน้ำยุง Aedes aegypti (L.) และ Culex quinquefasciatus Say พบว่าลูกน้ำยุงมีระดับความไวสูงกว่าตัวอ่อนริ้น 13-75 เท่า (LC 90 ของลูกน้ำยุงมีค่าเท่ากับ 0.13 และ 0.24 ppm, LC 90 ของริ้นเท่ากับ 4.56-9.84 ppm) (Ali et al., 1981)

ผลึกข้างสปอร์ของ B. thuringiensis var. israelensis ไม่มีประสิทธิภาพทำลายหนอนผีเสื้อ Manduca sexta เลยแม้ในความเข้มข้นสูง ๆ (Tyrell et al., 1979) แต่พบว่าแบคทีเรียนี้สามารถทำลายหนอนผีเสื้อบางชนิดได้ เช่น หนอนคืบกระหล่ำ Trichoplusia ni (Hubner) หนอนเจาะ Heliothis zea (Boddie) และหนอนกินใบยาสูบ H. virescens (F.) โดยให้ LC 50 เท่ากับ 109.6, 19.3 และ 27.6 ไมโครกรัม/มล. ตามลำดับ ซึ่งมีประสิทธิภาพต่ำกว่า B. thuringiensis var. kurstaki 3-10 เท่า (Ignoffo et al., 1981)

การทดลองในท้องที่เบื้องต้นที่ Ivory coast ผลการใช้แบคทีเรียนี้ควบคุม Simulium damnosum ต่อสัตว์นอกเป้าหมายที่อาศัยร่วมอยู่ด้วย พบว่ามีความปลอดภัยเพียงพอที่จะใช้ในการควบคุมได้ (Dejoux, 1979) ขณะที่ประชากร blackfly ลดลงอย่างรวดเร็วถึง 89 % แต่พบว่าแมลงในน้ำชนิดอื่นยังคงมีอัตราเพิ่มของประชากรปกติคือ mayfly (เพิ่มขึ้น 35 %) caddisfly (47 %) Stonefly (75 %) chironomid (19 %) และ elmid (242 %) (Molloy และ Jamnback, 1981)

จากการทดลองต่อยุงในบึงน้ำเค็ม พบว่าสัตว์นอกเป้าหมายที่มีประชากรลดลงอย่างมีนัยสำคัญคือ มวนวน : backswimmer, Notonecta indica (Purcell, 1981)

ผลของ B. thuringiensis var. israelensis ต่อลูกน้ำยุงยักษ์ Toxorhynchites rutilus rutilus พบว่าอัตราตายของลูกน้ำยุงยักษ์ขึ้นกับระยะของลูกน้ำ ความเข้มข้นของแบคทีเรีย และภาวะการมีเหยื่ออาหาร ที่แบคทีเรียเข้มข้น 1 ppm เมื่อมีเหยื่ออาหาร Aedes aegypti จำนวน 5, 10, 20 ตัว ให้อัตราตายของลูกน้ำยุงยักษ์เท่ากับ

9, 21 และ 23 % ตามลำดับ ภายหลังทดลอง 10 วัน ยกเว้นที่ไม่พบการตายในภาวะไม่มีเหยื่อ-อาหาร อย่างไรก็ตามฤทธิ์ตกค้างของ B. thuringiensis var. israelensis ในน้ำและฝากเหยื่ออาหารไม่มีผลทำลายลูกน้ำยุงปักษ์ Toxorhynchitus rutilus rutilus ได้ (Lacey และ Dame, 1982)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย