

การพัฒนาการผลิตจุลินทรีย์สายพันธุ์ท้องถิ่น *Bacillus sphaericus* H.5 เพื่อใช้กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ

The Production Development of *Bacillus sphaericus* H.5 (Local strain) for *Culex quinquefasciatus* Mosquito Larval Control

วิชัย คงงามสุข	Wichai Kong-ngamsuk
ประคอง พันธุ์อุไร	Prakong Phan-Urai
อุษาวดี ถาวรระ	Usavadee Thavara
สมภพ โคตรวงษ์	Sompop Kotwong

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ตีพิมพ์ใน วารสารวิชาการสาธารณสุข ปีที่ 17 ฉบับที่ 4-6 เมษายน-มิถุนายน 2541.

National Institute of Health
Department of Medical Sciences

บทคัดย่อ

Bacillus sphaericus H.5 สายพันธุ์กาญจนบุรี เป็นจุลินทรีย์ที่ทดสอบแล้วว่ามีประสิทธิภาพในการกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญได้ดี จึงได้นำมาพัฒนาการผลิตด้วยเทคโนโลยีการหมักใช้หัวเหลือง เนื้อบด และผงยีสต์เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ หมักเป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง ได้ผลผลิต 1.5 กรัมต่อลิตร นำผลผลิตในรูปผงมาทดสอบโดยวิธีมาตรฐาน พบว่ามีพิษต่อลูกน้ำยุงรำคาญเท่ากับ 500 ITU/mg *Cx. quin.* สำหรับน้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) ที่ผลิตได้เมื่อนำไปทดลองควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญในแหล่งเพาะพันธุ์ธรรมชาติ ในอัตราส่วน 1 ลิตรต่อพื้นที่ผิวน้ำ 6 ตารางเมตร พบว่าสามารถลดปริมาณความชุกชุมของลูกน้ำยุงรำคาญในระดับ 90 เปอร์เซ็นต์ ได้นาน 2 สัปดาห์ และมีข้อสังเกตว่า *Bacillus sphaericus* H.5 นอกจากจะกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญได้ดีแล้ว ยังปรับสภาพน้ำเสียให้ดีขึ้นอีกด้วย

Abstract

Bacillus sphaericus H.5, Kanchanaburi strain is the microorganism which had been proved that it has high effectiveness for *Culex quinquefasciatus* mosquito larval control. This study, fermentation technique had been used for production development with soy bean, ground meat and powder of yeast as substrate for this microorganism. With the period of 120 hrs. the yield around 1.5 gms/litre was obtained. After the yield was tested by standard method, it was found that the toxicity to larva was 500 ITU/mg *Cx. quin.* The implementation of whole beer from this product in natural breeding places at the concentration of 1 litre per 6 square metres, could reduce the density of *Culex quinquefasciatus* mosquito larva

at the 90 percentage level for 2 weeks. Not only the *Bacillus sphaericus* H.5 did control the mosquito larva but it could also improve the quality of water of the breeding place.

Keywords

Bacillus sphaericus, *Cx. quinquefasciatus*, larval control

บทนำ

ยุงรำคาญ (*Culex quinquefasciatus*) มีชุกชุมทั่วไปในเขตร้อน ชอบออกหากินเลือดในเวลากลางคืน พบมากในแหล่งชุมชนแออัด เพราะมีอาหารอุดมสมบูรณ์ มีแหล่งเพาะพันธุ์มากมาย ยุงรำคาญจะวางไข่ลอยเป็นแพอยู่บนผิวน้ำเสียตามท่อระบายน้ำ แอ่งขังน้ำ ใต้ถุนบ้านและตามคูคลองระบายน้ำ เป็นต้น แอ่งน้ำเน่าขังต่างๆ เหล่านี้จะมีสารจุลินทรีย์ปะปนอยู่มาก เป็นอาหารอย่างดีของลูกน้ำยุงรำคาญ การขยายพันธุ์จึงเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว ยุงในตระกูล *Culex* sp. หลายชนิดมีความสำคัญในทางสาธารณสุข เพราะเป็นแมลงพาหะนำโรคติดต่อที่สำคัญมาสู่คน เช่น โรคไข้สมองอักเสบ โรคไวรัสไข้เลือดออกชิคุนกุนยา โรคเท้าช้าง (สุภัทร สุจริต 2531) เป็นต้น การควบคุมยุงรำคาญเป็นปัญหาใหญ่ ยากที่จะกำจัดให้หมดไปได้ การพ่นเคมีกำจัดยุงตัวเต็มวัยในช่วงเวลาพลบค่ำที่เคยทำมานานจะช่วยลดความชุกชุมลงมาได้บ้างในระยะเวลาสั้นๆ หลังจากเวลาผ่านไป 3-4 วัน ความชุกชุมของยุงก็จะเริ่มปรากฏขึ้นอีกเป็นอย่างนี้เรื่อยมา การควบคุมยุงรำคาญนั้นจะทำให้สามารถลดปริมาณความชุกชุมลงได้ในระดับที่น่าพอใจได้ต้องปฏิบัติการควบคุมอย่างต่อเนื่องและจริงจัง เสริมด้วยการปรับปรุงสุขาภิบาลสิ่งแวดล้อมให้ถูกสุขลักษณะเพื่อลดปัญหาแหล่งเพาะพันธุ์ มาตรการหนึ่งที่เห็นว่ามีประโยชน์ควรจะนำมาใช้ร่วมด้วย คือการกำจัดตัวอ่อนของยุงหรือลูกน้ำยุง โดยวิธีการที่ไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เสียค่าใช้จ่ายน้อย และที่สำคัญก็คือได้ผลดี โดยการใช้สารชีวภาพเช่น จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุง จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมี 2 ชนิดคือ *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) และ *Bacillus sphaericus* H.5 (Bs) จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้มีคุณสมบัติกำจัดลูกน้ำยุงได้ดีแตกต่างกันอยู่บ้างคือ Bti ใช้กำจัดลูกน้ำยุงลาย ส่วน Bs ให้ผลดีสำหรับใช้กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ (Mulla, 1997) การวิจัยพัฒนาวิธีการผลิตจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงทั้งสองชนิดนี้ ในประเทศไทยมีมานานแล้วในส่วนราชการหลายแห่ง เช่น มหาวิทยาลัยมหิดล แต่ยังมีประสบปัญหาหลายประการ จึงยังไม่สามารถขยายไปสู่การผลิตในเชิงพาณิชย์ได้

โครงการวิจัยพัฒนาการผลิตจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาถังหมักและสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 ที่มีคุณภาพและต้นทุนต่ำ สามารถนำไปเป็นต้นแบบในการผลิตจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงในประเทศไทยได้

วัสดุและอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์ *Bacillus sphaericus* ที่นำมาพัฒนาการผลิตเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ท้องถิ่น แยกเชื้อได้จากตัวอย่างลูกน้ำยุง ซึ่งเก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี เมื่อ พ.ศ. 2525 และเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ได้ผ่านการตรวจรับรองจาก WHO Collaborating Center for Entomopathogenic Bacilli จากสถาบัน Pasteur แล้ว
2. อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งพัฒนาเพื่อใช้กับถังหมักเป็นอาหารเหลวที่ปรับปรุงให้มีคุณภาพสำหรับเพาะเลี้ยง *Bacillus sphaericus* H.5 ประกอบด้วยผงถั่วเหลือง เนื้อบดแห้ง ผงยีสต์ตราเฟอร์มิพัน และเกลือแกง
3. ถังหมักเชื้อ ประกอบขึ้นเองเป็นถังรูปทรงกระบอกมีความจุ 200 ลิตร มีอุปกรณ์ต่างๆ เช่น เครื่องทำความร้อน แผงควบคุมอุณหภูมิ และเครื่องเป่าลม เป็นต้น

วิธีการ

การเตรียมหัวเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 ใช้กับถังหมัก

เตรียม *Bacillus sphaericus* H.5 ให้บริสุทธิ์โดยเพาะเลี้ยงใน Tryptic soy broth อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเพาะเลี้ยงบน Nutrient agar คัดแยกเก็บ Colony ที่เป็น Single colony ลงใน Tryptic soy broth เพาะเลี้ยงในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4-6 ชั่วโมง นำไปอุ่นใน Water Bath 65 °C นาน 1 ชั่วโมง เพื่อกำจัด Bacteria Phage แล้วเพาะเลี้ยงใน Nutrient agar อีกครั้ง คัดแยกเอา Single colony เพาะเลี้ยงใน Tryptic soy broth 5 ml อุณหภูมิ 37 °C นาน 4-6 ชั่วโมง จะได้ Young active growing cells ถ่ายเชื้อทั้งหมดลงใน Tryptic soy broth 100 ml เพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง และถ่ายเชื้อทั้งหมดลงใน Tryptic soy broth 100 ml เพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมงอีกครั้งก่อนถ่ายเชื้อทั้งหมดลงในถังหมักที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเชื้ออยู่แล้ว (ดังแสดงในรูปที่ 1)

การเตรียมถังหมัก การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ และกรรมวิธีการหมัก

ถังหมักเชื้อ ทำด้วยแผ่นสแตนเลสหนา 3 มม. ทำเป็นถังรูปทรงกระบอก มีฝาปิดทนความดันได้เล็กน้อยมีลิ้นปิด-เปิด สำหรับเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ หัวเชื้อ น้ำร้อน และอากาศที่ผ่านการคัดกรองเชื้อ ค่าใช้จ่ายในการประกอบถังหมักและอุปกรณ์ต่างๆ เป็นเงิน 50,000 บาท (ดังแสดงในรูปที่ 2) การเตรียมถังหมักก่อนเพาะเลี้ยงเชื้อต้องล้างทำความสะอาดฆ่าเชื้อปนเปื้อนด้วยน้ำร้อนเดือดอุณหภูมิ 95 °C นาน 4 ชั่วโมง ทำซ้ำ 3 ครั้ง ตรวจสอบความสะอาดด้วยการนำน้ำล้างถังครั้งสุดท้ายมาตรวจเพาะเลี้ยงหาเชื้อปนเปื้อน ถังหมักที่พร้อมจะทำการหมักเชื้อต่อไปต้องปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อใดๆ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมักใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย ประกอบด้วยผงถั่วเหลือง 1% เนื้อบดแห้ง 0.15% ผงยีสต์ตราเฟอร์มิพัน 0.15% เกลือแกง 0.15% นำมาชั่งตามปริมาณที่ต้องการ ต้มกรองหลายครั้ง เอน้ำทำให้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อเข้มข้น 10 เท่า เพื่อเจือจางในถังหมัก หนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave 15 ปอนด์ นาน 15 นาที บรรจุลงในถังหมักด้วยเทคนิค

ปราศจากเชื้อปนเปื้อน เติมน้ำต้มเดือดให้ครบตามปริมาณของสูตรที่กำหนด ปรับระดับความ เป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.2-7.4 เพิ่มความร้อนด้วยเครื่องปรับอุณหภูมิในถังเป็น 95 °C เพื่ออบ ฆ่าเชื้อใช้เวลานาน 4 ชั่วโมง ปลอ่ยให้อุณหภูมิเย็นลง 35 °C เติมหิวเชื้อที่เตรียมไว้

กรรมวิธีการหมักเชื้อ เมื่อเติมหิวเชื้อลงในถังหมักที่มีอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแล้ว ทำการ หมักเชื้อโดยเป่าอากาศบริสุทธิ์เข้าไปในถัง ด้วยเครื่องเป่าลม HIBLOW AIR PUMP 50 Hz 44 W เพื่อเติมอากาศให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ และให้เกิดการไหลวน ของอาหารเลี้ยงเชื้อในถังด้วย (ดังแสดงในรูปที่ 3) อุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อจะปรับลด ลงประมาณ 28-30 °C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Bacillus sphaericus* H.5 ทำการหมักเชื้อถึงชั่วโมงที่ 120 ตรวจนับจำนวน Spore count ได้สูงสุดเฉลี่ย 10^8 จึงเก็บน้ำ เลี้ยงเชื้อทันที นำไปปั่นแยกเอาตะกอนเพื่อทำเป็นผงแห้งด้วยกระบวนการ Lyophilization วัดความแรงของผงเชื้อตามวิธีมาตรฐาน คำนวณหาคความแรงของน้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) น้ำเลี้ยงเชื้อที่มีความแรงสูงๆ สามารถนำไปกำจัดลูกน้ำยุงรำคาญได้ โดยไม่ต้องทำเป็นผง การหมักเชื้อครั้งนี้ คำนวณต้นทุนค่าใช้จ่ายระหว่างอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบ กับอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไปราคาถูกกว่ากันมาก ประมาณ 80 เท่า (ดังแสดงในตารางที่ 1) ผลผลิตที่ได้มีน้ำหนักประมาณ 1.5 กรัมต่อลิตร (ดังแสดงในตารางที่ 2)

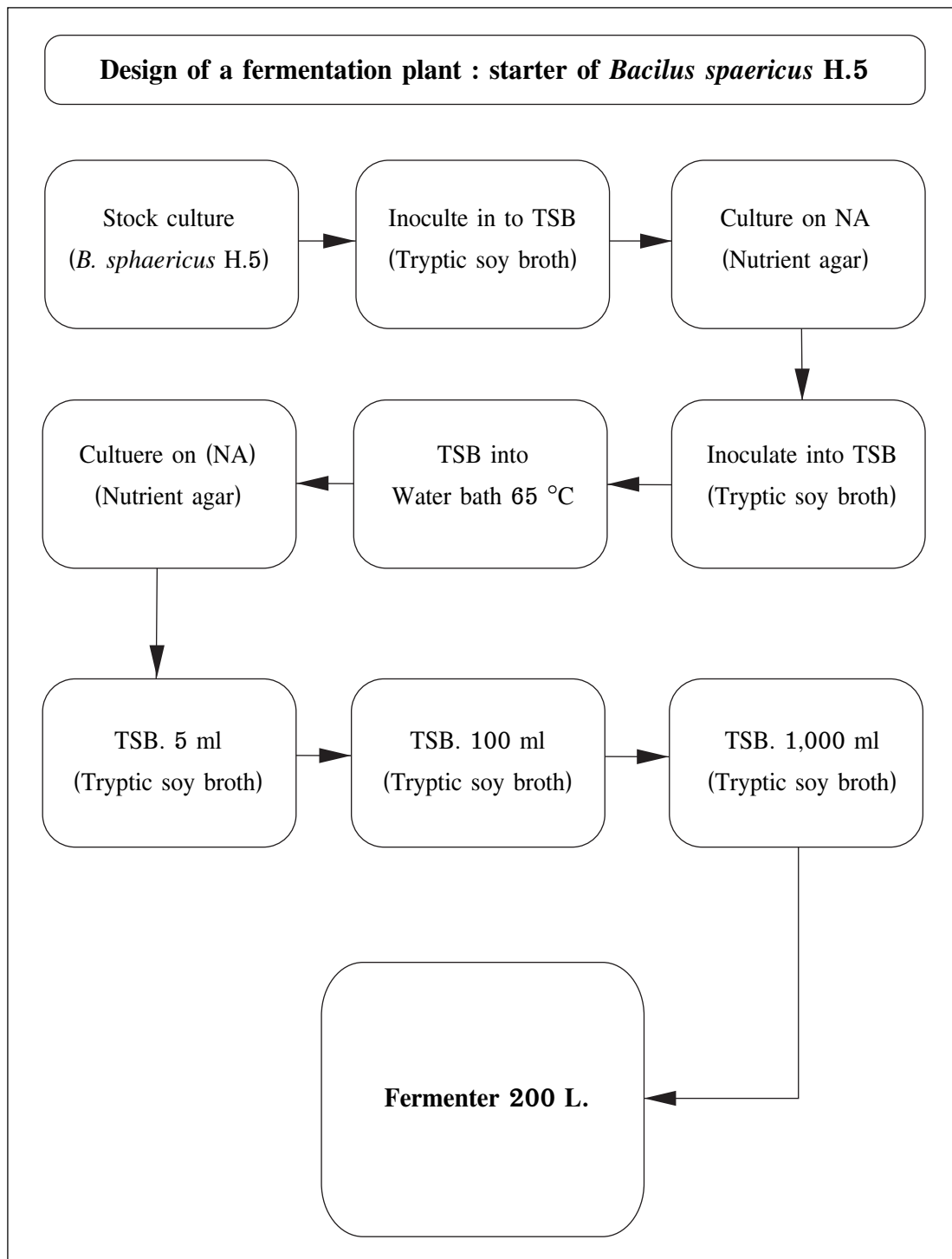
การควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer)

การเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้กำจัดลูกน้ำยุง โดยทั่วไปจะดำเนินการถึงขั้นนำ ตะกอนเชื้อทั้งหมดไปทำเป็นผงแห้ง เพื่อแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ แต่เนื่องจากไม่มี เครื่องเก็บตะกอนเชื้อ (separator) จึงนำน้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) ที่หมักได้ที่แล้วไป ทดลองควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญในภาคสนาม ก่อนนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปใช้ ได้ทำการตรวจวัด ความแรงของ *Bacillus sphaericus* H.5 ตามวิธีมาตรฐานและทดสอบประสิทธิภาพผลการ กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ แบบจำลองธรรมชาติในถังพลาสติกสี่เหลี่ยม ปากกว้าง 2 ตารางเมตร จุน้ำได้ 1,000 ลิตร เพื่อหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมโดยทดลองใช้ปริมาณน้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) ต่อพื้นที่ผิวน้ำ 5 ระดับการทดสอบ (ลิตร: ตารางเมตร) คือ 1: 2, 1: 4, 1: 6, 1: 8, 1: 10 เป็นเวลา 3 เดือน (ดังแสดงในตารางที่ 3) ได้เลือกอัตราการใช้ที่เหมาะสมคือ 1: 6 ซึ่ง สามารถลดปริมาณความชุกชุมของลูกน้ำยุงรำคาญ ระยะ 3-4 และตัวโม่ได้ร้อยละไม่น้อย กว่า 90 ได้นาน 30 วัน เท่ากับอัตราการใช้ 1: 4 และ 1: 6 จึงได้นำไปควบคุมลูกน้ำยุง รำคาญในภาคสนาม พื้นที่ทดลองเป็นแหล่งเพาะพันธุ์ยุงรำคาญธรรมชาติ 3 แห่งในเขต จังหวัดนนทบุรี มีลักษณะและสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน พื้นที่ทดลองที่ 1 (เรวดี 1) มีขนาด พื้นที่ผิวน้ำประมาณ 42 ตารางเมตร น้ำลึกเฉลี่ย 35 เซนติเมตร เป็นพื้นที่ปิดน้ำขังตลอด เวลาไม่มีทางระบายน้ำเข้า-ออก พื้นที่ทดลองที่ 2 (เรวดี 2) มีขนาดพื้นที่ผิวน้ำประมาณ 60 ตารางเมตร น้ำลึกเฉลี่ย 50 เซนติเมตร พื้นที่เปิดติดคลองระบายน้ำ มีน้ำไหลเข้าออก ทุกวัน พื้นที่ทดลองที่ 3 (ไทรยานนท์ 1) เป็นแอ่งน้ำขังใต้ถุนบ้านเป็นพื้นที่ปิด มีพื้นที่ผิวน้ำ

84 ตารางเมตร ลึกเฉลี่ย 120 เซนติเมตร ก่อนทำการควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญได้สำรวจ ลูกน้ำยุงรำคาญ โดยวิธี Dipping technique เพื่อหาจำนวนความหนาแน่นของลูกน้ำยุงรำคาญ และหลังลงมือควบคุมติดตามประเมินผลทุก 7 วัน การทดสอบในภาคสนามใช้เวลาทั้งสิ้น 112 วัน

ผล

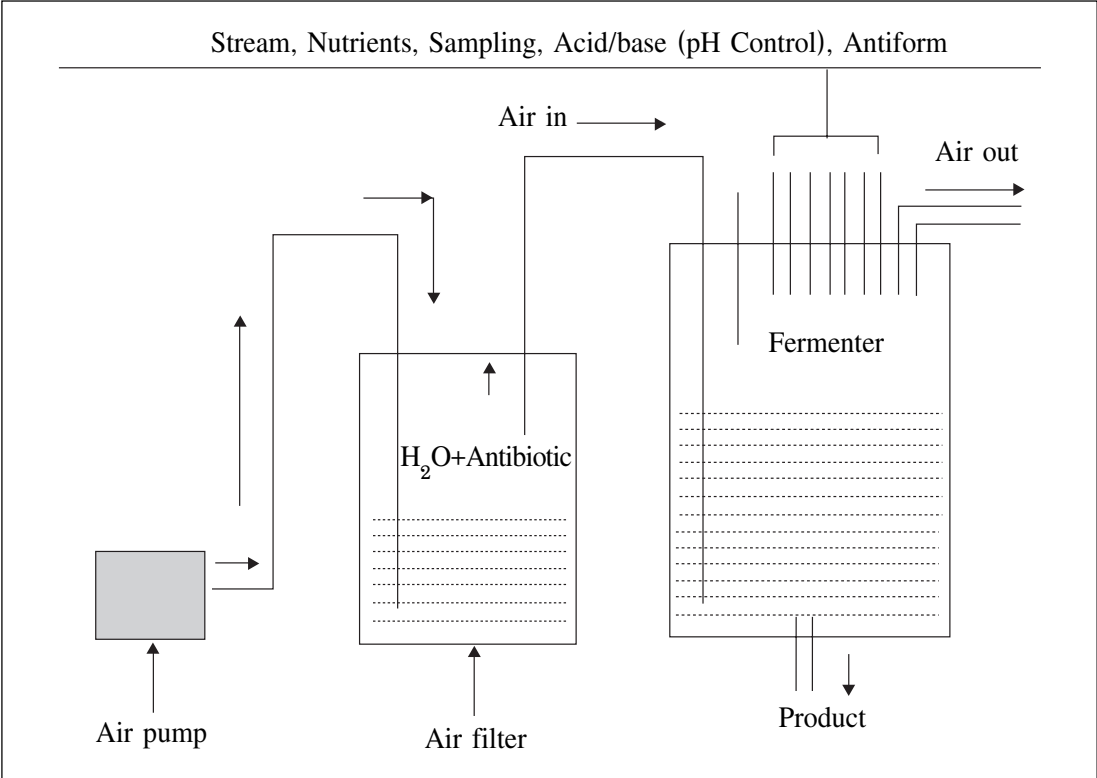
การเพาะเลี้ยง *Bacillus sphaericus* H.5 โดยใช้ถังหมักได้ผลผลิต 1.5 กรัมต่อลิตร วัดความแรงตามวิธีมาตรฐานได้ค่าเฉลี่ย 500 ITU/mg *Cx. quin* หรือมีความแรงของน้ำเลี้ยง เชื้อ (whole beer) เท่ากับ 750,000 ITU ต่อลิตร เมื่อนำไปทดลองควบคุมลูกน้ำยุง รำคาญใช้ผลิตภัณฑ์น้ำเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรต่อพื้นที่ผิวน้ำ 6 ตารางเมตร ทั้ง 3 พื้นที่ที่ได้คัดเลือกไว้ โดยพื้นที่ทดลองที่ 1 (เรวดี 1) ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) 7 ลิตร ฟัน 1 ครั้ง ติดตาม ผลทุก 7 วัน ผลการใช้ผลิตภัณฑ์ สามารถควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญระยะ 3-4 และตัวโม่ง ใน ระดับลดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ ได้นานกว่า 90 วัน (ดังแสดงในกราฟรูปที่ 1) ในพื้นที่ทดลองที่ 2 (เรวดี 2) ฟัน 5 ครั้ง ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อครั้งละ 10 ลิตร สามารถลดปริมาณความชุกชุมของ ลูกน้ำยุงรำคาญระยะ 3-4 และตัวโม่ง ในระดับลดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ยนาน 14 วัน ต่อ การฟัน 1 ครั้ง (ดังแสดงในกราฟรูปที่ 2) และในพื้นที่ทดลองที่ 3 (ไทยานนท์) ฟัน 3 ครั้ง ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อครั้งละ 14 ลิตร พบว่าสามารถลดปริมาณความชุกชุมของลูกน้ำยุงรำคาญระยะ 3-4 และตัวโม่ง ระดับลดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ยนาน 20 วัน ต่อการฟัน 1 ครั้ง (ดัง แสดงไว้ในกราฟที่ 3) การทดลองครั้งนี้มีสิ่งที่น่าสนใจได้ อย่างหนึ่งคือ กลิ่นเหม็นของน้ำลด ลง น้ำใสขึ้น มีลูกไร และลูกปลาหางนกยูงเพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม แสดงว่า *Bacillus sphaericus* H.5 จุลินทรีย์สายพันธุ์ท้องถิ่นนี้ นอกจากจะลดปริมาณความหนาแน่นของลูกน้ำยุงรำคาญ ได้ดีไม่น้อยกว่า 14 วันแล้ว ยังสามารถปรับปรุงสภาพของน้ำเสียให้ดีขึ้นได้อีกด้วย ทั้งนี้จะ ต้องศึกษาในรายละเอียดต่อไป



รูปที่ 1 แสดงขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (Stock culture)



รูปที่ 2 ถังหมัก (Fermenter) ขนาดบรรจุ 200 ลิตร ที่พัฒนาขึ้นพร้อมอุปกรณ์ต่าง ๆ



รูปที่ 3 แสดงการทำงานขณะหมักเชื้อของถังหมัก Fermenter ขนาดจุ 200 ลิตร

ตารางที่ 1 แสดงค่าใช้จ่ายวัตถุดิบส่วนประกอบอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5

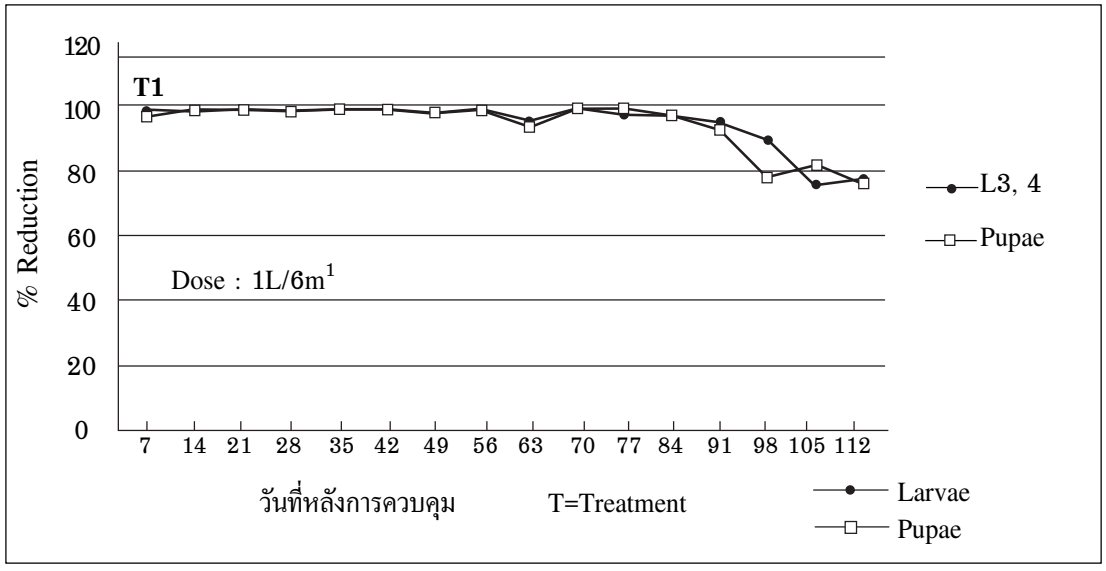
	ส่วนประกอบ	ปริมาณที่ใช้ (%)	ราคาต่อลิตร (บาท)
1. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ nutrient broth + 0.3% Yeast extract	-Peptone	0.5	28.00
	-Beet extract	0.3	26.40
	-Yeast extract	0.3	26.40
	รวม		80.80
2. น้ำต้มถั่วเหลืองดัดแปลงที่พัฒนาขึ้น	-ถั่วเหลืองบด	1	0.50
	-เนือบดแห้ง	0.15	0.075
	-ยีสต์ทำขนม	0.15	0.40
	-เกลือแกง	0.15	0.025
	รวม		1.00

ตารางที่ 2 แสดงผลผลิตและความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงรำคาญของ *Bacillus sphaericus* H.5 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยถังหมัก *Fermenter*

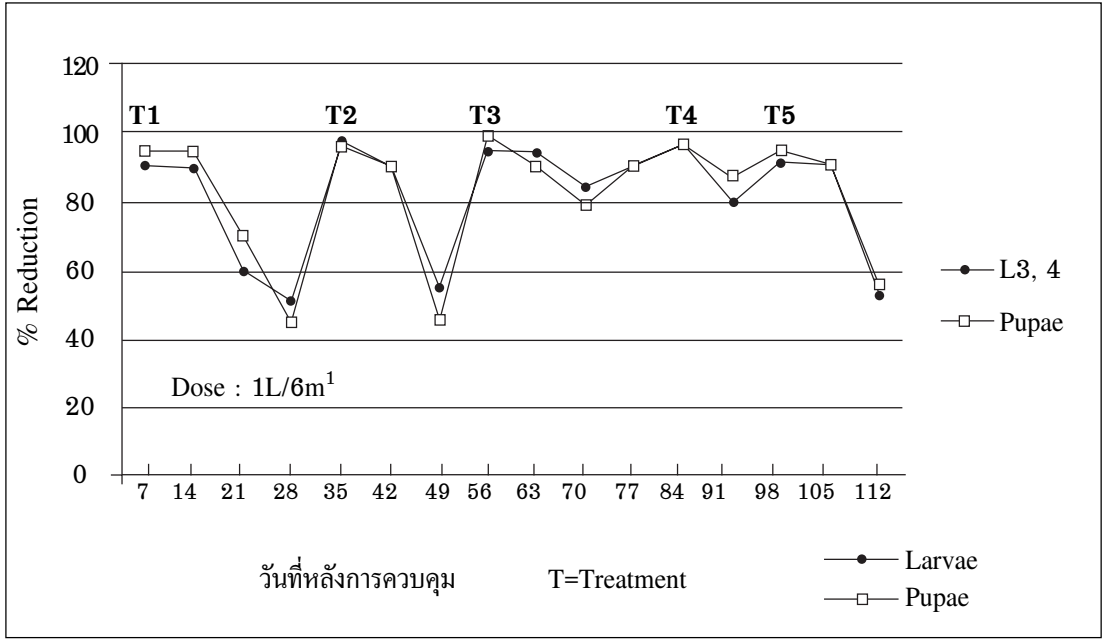
	Spore count (cells/ml)	Yield(gm/L)	Potency (ITU)/mg
Nutrient broth + 0.3% Yeast extract	1.6x10 ⁷	0.95	508
	1.9x10 ⁷	1.10	512
	1.7x10 ⁷	0.95	510
น้ำต้มถั่วเหลืองดัดแปลง	9.8x10 ⁷	1.45	495
	5.7x10 ⁸	1.65	505
	3.5x10 ⁸	1.50	500

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบผลดักกับน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer) ต่อลูกน้ำยุงรำคาญในสภาพจำลองธรรมชาติ

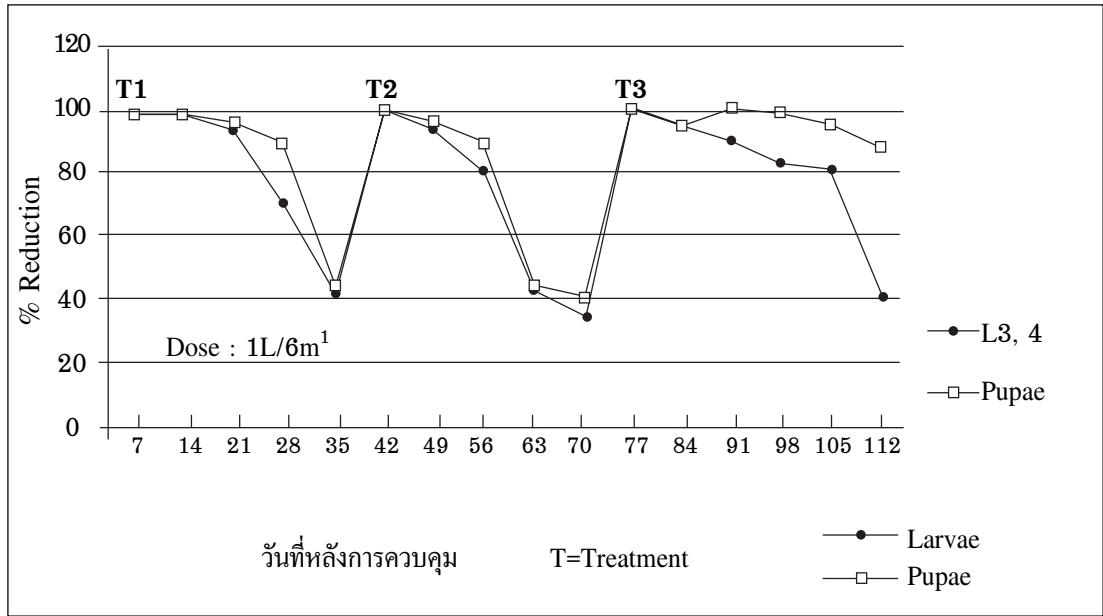
วัน (หลัง Treatment)	%Reduction of <i>Culex quinquefasciatus</i> larvae (L 3-4+pupae)				
	1L=2m ²	1L=4m ²	1L=6m ²	1L=8m ²	1L=10m ²
1	99	99	99	98	87
15	98	98	96	83	75
30	97	96	93	75	42
45	98	89	82	54	25
60	89	87	80	28	17
75	89	61	57	13	10
90	71	27	22	5	5



กราฟที่ 1 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer) ต่อลูกน้ำยุงรำคาญในพื้นที่ทดลองที่ 1 (เรวดี 1)



กราฟที่ 2 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer) ต่อลูกน้ำยุงรำคาญในพื้นที่ทดลองที่ 2 (เรวดี 2)



กราฟที่ 3 ประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer) ต่อลูกน้ำยุงรำคาญในพื้นที่ทดลองที่ 3 (ไถยานนท์ 1)

สรุปและวิจารณ์

การพัฒนาการผลิตจุลินทรีย์สายพันธุ์ท้องถิ่น *Bacillus sphaericus* H.5 เพื่อใช้กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญ โดยอาศัยกระบวนการเทคโนโลยีชีวภาพพื้นฐานทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 ด้วยถังหมักเป็นถังหมักเชื้อที่ประดิษฐ์ขึ้นพร้อมอุปกรณ์ขนาด 200 ลิตร รวมค่าใช้จ่ายประมาณ 50,000 บาท ได้ถังหมักเชื้อที่ราคาถูกกว่าถังหมักเชื้อที่ซื้อจากต่างประเทศ ซึ่งมีราคาสูงนับเป็นเงินหลายสิบล้านบาท สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นราคาถูกใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่ายในประเทศ ต้นทุนเพียง 1 บาทต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ซื้อจากต่างประเทศที่มีขายทั่วไปราคาถึง 80 บาทต่อลิตร การวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตครั้งนี้ประสบความสำเร็จในระดับที่น่าพอใจ นับว่าได้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้ดี อีกทั้งยังมีคุณภาพและมีราคาถูกด้วย การเพาะเลี้ยงเชื้อโดยวิธีนี้ได้ผลผลิตประมาณ 1.5 กรัมต่อลิตร วัดความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงรำคาญมีความแรง (Potency) เท่ากับ 500 ITU/mg *Cx. quin.* ของผงเชื้อ (Primary powder) หรือ 750,000 ITU/ลิตร ของน้ำเลี้ยงเชื้อ (whole beer) ความแรงของผลิตภัณฑ์ 500 ITU/mg *Cx. quin.* ยังไม่สูงนักจะต้องทำการศึกษาวิจัยพัฒนาในรายละเอียดของปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสม เพื่อให้จุลินทรีย์เจริญและสร้างสปอร์ได้มากขึ้นต่อไปเพื่อให้เกิดผลที่ได้ผลิตภัณฑ์มีความแรงสูงขึ้น เพราะถ้ามีสปอร์มาก สาร Delta endotoxin ที่มีฤทธิ์ทำลายลูกน้ำยุงรำคาญจะมีมากขึ้นด้วย

การทดลองควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ *Bacillus sphaericus* H.5 (whole beer) ในภาคสนามทั้ง 3 แห่ง โดยตั้งเป้าหมายที่จะควบคุมให้ลูกน้ำยุงรำคาญระยะปลาย (L. 3-4) และตัวโม่ให้ได้ผลลดลงในระดับ 90 เปอร์เซ็นต์ ผลการควบคุมได้ค่าเฉลี่ยต่ำสุด

เพียง 2 สัปดาห์ ในพื้นที่ทดลองที่ 2 ทั้งนี้จะต้องปรับปรุงพัฒนาผลิตภัณฑ์ และปริมาณการใช้ให้มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น เพื่อที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์สามารถควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญได้นานขึ้นดังเช่นในพื้นที่ทดลองที่ 1 (เรวดี 1) อย่างไรก็ตามสภาพแวดล้อมมีส่วนสำคัญ ถ้าสภาพพื้นที่ทดลองมีปัจจัยต่างๆ มาเกี่ยวข้องดังเช่นพื้นที่ทดลองที่ 2 (เรวดี 2) มีน้ำไหลเข้า-ออกทุกวัน ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ก็จะลดลงได้ ส่วนการควบคุมลูกน้ำยุงรำคาญในพื้นที่ทดลองที่ 3 มีผลอยู่ได้นานเฉลี่ย 20 วันนั้น เป็นไปโดยสมเหตุสมผล ถ้าหากว่าเพิ่มความแรงมากขึ้นอาจจะมีความคงทนได้นาน จะต้องศึกษาในรายละเอียดต่อไป การวิจัยพัฒนาการผลิตจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงรำคาญนี้ เป็นแนวทางการพัฒนาเริ่มต้นแบบพึ่งตนเอง สามารถทำการพัฒนาต่อไปได้หลายเรื่อง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแรงและประสิทธิภาพดีเลิศได้ ด้วยการปรับปรุงอุปกรณ์การหมักเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ ให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น ตลอดจนพัฒนาบุคลากรให้มีความรู้ความเข้าใจในกลไกต่างๆ ทางด้านการฆ่าเชื้อและการหมักเชื้อ การใช้จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงก็เป็นเพียงแนวทางหนึ่งที่มีให้เลือกใช้ควบคู่กับวิธีอื่นๆ ข้อดีประการหนึ่งจากการใช้จุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงคือ ได้สังเกตพบว่า *Bacillus sphaericus* H.5 ช่วยให้แหล่งน้ำสกปรกกลายเป็นน้ำที่มีคุณภาพดีขึ้น กล่าวคือเดิมน้ำในแหล่งเพาะพันธุ์ลูกน้ำจะมีสีดำขุ่นและมีกลิ่นเหม็น เมื่อใช้ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ *Bacillus sphaericus* H.5 ไปสักระยะหนึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพของน้ำ กลิ่นจะหายไป น้ำเริ่มใสขึ้น และต่อมาพบว่าสัตว์น้ำหลายชนิดเริ่มเกิดขึ้น เช่น ตัวไรน้ำ และปลาตัวเล็กๆ เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด น่าจะมีการศึกษาในรายละเอียดต่อไป

แนวทางที่จะขยายการผลิตไปสู่ระดับอุตสาหกรรม คิดว่าเป็นไปได้ไม่ยาก ถ้าหากได้รับการสนับสนุนทั้งทางด้านเงินทุน บุคลากร และการบริหารจัดการที่ดี ก็จะมีโรงงานผลิตจุลินทรีย์กำจัดลูกน้ำยุงเกิดขึ้นได้ในอนาคต ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการควบคุมยุงพาหะนำโรคที่เป็นปัญหาในทางสาธารณสุขได้สำเร็จต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายชีววิทยาและนิเวศวิทยาที่ได้ออกไปประเมินผลภาคสนาม ขอขอบคุณ คุณลัดดา วันโสภา ที่ช่วยพิมพ์เอกสาร ขอขอบคุณ ดร.โชติกา บุญ-หลง และ คุณสุพล เป้าศรีวิงษ์ ที่ได้ตรวจทานและให้คำแนะนำ

ท้ายที่สุดขอขอบคุณ คณะอนุกรรมการบริหารศูนย์วิจัยควบคุมพืชโดยชีวอินทรีย์แห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้อนุเคราะห์ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. นิภา เบญจพงศ์, เลาจนา เซวานาติศัย, สมเกียรติ บุญญะบัญชา และ พญ.บุญล้วน พันธุมจินดา. 2530. “การสำรวจแยกเชื้อ และทดสอบประสิทธิภาพในการทำลายลูกน้ำยุงของเชื้อแบคทีเรียที่พบในประเทศไทย” วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 29(1): 1-11.
2. สุภัทร สุจริต. 2531. กีฏวิทยาการแพทย์ กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์บัณฑิตพัฒนา: 262-264.
3. Mulla, M.S. 1991. Biological control of mosquitoes with entomopathogenic bacteria. Chin J Entomolo Spec Pubi 6: 93-104.
4. Mulla M.S., Rodcharoen J., Kong-ngamsuk W., Tawatsin A., Phan-Urai P., Thavara U. 1997. Field trials with *Bacillus sphaericus* formulations against polluted water mosquitoes in a suburban area of Bangkok, Thailand. J Am Mosq Control Assoc, 13(4): 297-304.