

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

1. การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อสัตว์น้ำทั้ง 4 ชนิด

ผลการศึกษาความเป็นพิษของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อลูกกุ้งก้ามกรามที่เวลาต่าง ๆ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 และรูปที่ 1 พบว่า ค่า  $LC_{50}$  ของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อลูกกุ้งก้ามกรามที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 352, 304, 296 และ 280 ppm ตามลำดับ

ความเป็นพิษของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อแมลงดาส่วนที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง มีค่า  $LC_{50}$  เป็น 2259, 2042, 2028 และ 1901 ppm ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 และรูปที่ 2

ค่า  $LC_{50}$  ของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อปลาชนิดที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 4217, 4130, 4130 และ 4036 ppm ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 และรูปที่ 3

ส่วนค่า  $LC_{50}$  ของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อปลาหางนกยูงที่ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 5662, 5470, 5470 และ 5346 ppm ตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4 และรูปที่ 4

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติในสัตว์ทดลองทั้ง 4 ชนิด ที่เวลาต่าง ๆ กัน (ดูภาคผนวก ข ) พบว่า สัตว์ทดลองทั้ง 4 ชนิด มีความไวต่อแบคทีเรียชนิดนี้แตกต่างกันอย่างยิ่ง ( $p > 0.01$ ) โดยลูกกุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์ทดลองที่มีความไวต่อแบคทีเรียมากที่สุด รองลงมาคือแมลงดาส่วน และปลาชนิด ส่วนปลาหางนกยูงทนต่อแบคทีเรียชนิดนี้มากที่สุด

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเพิ่มระยะเวลาที่ได้รับแบคทีเรีย พบว่าที่ 24 ชั่วโมง สัตว์ทดลองทุกชนิดมีอัตราการตายต่ำที่สุด และอัตราการตายเพิ่มขึ้นใน 48 ชั่วโมง ( $p > 0.05$ ) แต่หลังจากนั้นอัตราการตายเพิ่มขึ้นน้อยมากจนถึง 96 ชั่วโมง ( $p < 0.05$ ) นั่นคือแบคทีเรียชนิดนี้มีฤทธิ์ทำลายสูงภายใน 48 ชั่วโมง

จากค่า  $LC_{50}$  ที่เวลาต่าง ๆ สามารถนำมาประมาณเส้นโค้งความเป็นพิษ ซึ่งสามารถนำไปประมาณค่าระดับเริ่มเป็นพิษได้ ค่าระดับเริ่มเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อสัตว์ทดลองทั้ง 4 ชนิด ได้แสดงไว้ในตารางที่ 5 พบว่าระดับเริ่มเป็นพิษของแบคทีเรียต่อลูกกุ้งก้ามกรามมีค่าเป็น 269 ppm , ต่อแมลงดาส่วนมีค่าเป็น 1899 ppm , ต่อปลานิลมีค่าเป็น 4034 ppm และต่อปลาหางนกยูงมีค่าเป็น 5344 ppm จากระดับเริ่มเป็นพิษที่ได้สามารถคำนวณหาสมการเส้นโค้งความเป็นพิษได้ และพบว่าสมการเส้นโค้งความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อลูกกุ้งก้ามกรามเป็น  $M = 269 + 148.0525e^{-0.0263H}$  ดังแสดงในรูปที่ 5

เส้นโค้งความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อแมลงดาส่วนมีสมการเป็น  $M = 1899 + 3044.0762^{-0.0653H}$  ดังแสดงในรูปที่ 6

สำหรับสมการเส้นโค้งความเป็นพิษของแบคทีเรียชนิดนี้ต่อปลานิลเป็น  $M = 4034 + 1267.8612e^{-0.0565H}$  ดังแสดงในรูปที่ 7

ส่วนเส้นโค้งความเป็นพิษของแบคทีเรียชนิดนี้ต่อปลาหางนกยูง มีสมการเป็น  $M = 5344 + 2524.0467e^{-0.0634H}$  ดังแสดงในรูปที่ 8

จากค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง สามารถทำนายระดับปลอดภัยของแบคทีเรียต่อสัตว์ทดลองทั้ง 4 ชนิด โดยใช้อัลสียปรับค่าตาม LFPI (Laboratory Fish Production Index) ซึ่งได้ระดับปลอดภัยประมาณ 0.02 - 0.05 ของค่า  $LC_{50}$  ที่ 96 ชั่วโมง พบว่าระดับปลอดภัยของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อลูกกุ้งก้ามกรามมีค่าระหว่าง 6-14 ppm , ต่อแมลงดาส่วนมีค่าระหว่าง 38-95 ppm , ต่อปลานิลมีค่าระหว่าง 81-202 และต่อปลาหางนกยูงมีค่าระหว่าง 107-267 ppm ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

## 2. การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อปลาหางนกยูง

ผลการศึกษาความเป็นพิษในระยะยาวของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อปลาหางนกยูง เป็นเวลา 6 เดือน (27 สัปดาห์) ในแง่อัตราการตายของพ่อแม่ปลาหางนกยูง พบว่า พ่อแม่ปลาหางนกยูงเมื่อสิ้นสุดการทดลองมีจำนวนใกล้เคียงกันในทุกกลุ่มการทดลองคือ ตาย 1-2 ตัว ทั้งในกลุ่มควบคุมและในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm (ตารางที่ 6)

ส่วนการเจริญเติบโตทางน้ำหนักของปลาหางนกยูง เมื่อเริ่มต้นการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 พบว่าน้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลองซึ่งรวมน้ำหนักลูกปลาด้วยที่เพิ่มขึ้นจากน้ำหนักเมื่อเริ่มต้นการทดลองของกลุ่มควบคุม และในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm มีค่าเท่ากันคือ เพิ่มขึ้น 4.84 กรัม เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตทางความยาวเฉลี่ยของปลาหางนกยูง เมื่อเริ่มต้นการทดลองและเมื่อสิ้นสุดการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 8 พบว่า ปลาหางนกยูงเพศผู้ในกลุ่มควบคุมและในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm มีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันโดยเพิ่มขึ้น 0.30, 0.31 และ 0.31 ซม. ตามลำดับ ส่วนปลาหางนกยูงเพศเมียในกลุ่มควบคุมและในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm มีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 0.51, 0.53 และ 0.53 ซม. ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติพบว่า ปลาหางนกยูงมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นทั้งในกลุ่มควบคุมและในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm ไม่แตกต่างกัน ( $p < 0.05$ ) และมีความยาวเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน ( $p < 0.05$ )

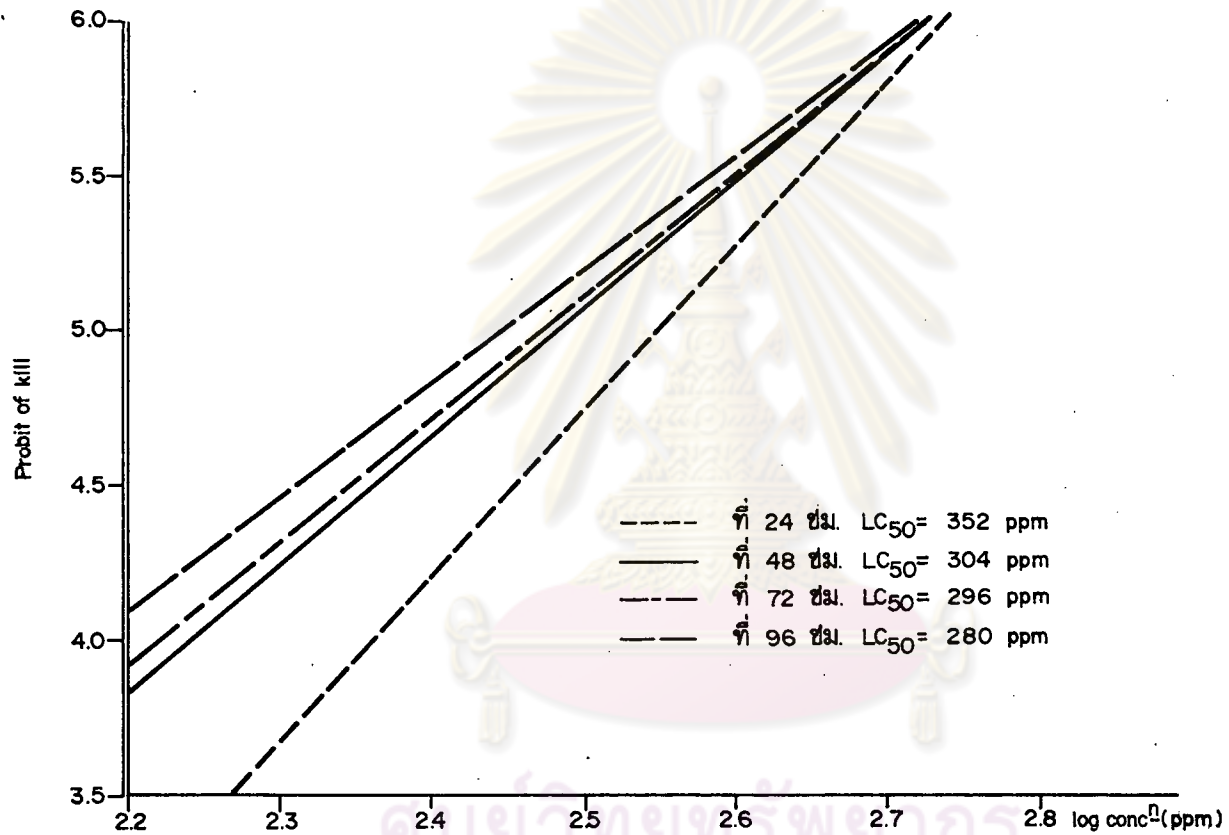
ส่วนอัตราการขยายพันธุ์ซึ่งพิจารณาจากจำนวนลูกปลาที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการทดลอง แสดงไว้ในตารางที่ 6 และภาคผนวก ง พบว่าจำนวนลูกปลาที่เกิดทั้งหมดในกลุ่มควบคุมและในแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm เท่ากับ 216, 242 และ 244 ตัว ตามลำดับ แต่จำนวนลูกปลาที่เหลือเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 172, 163 และ 167 ตัว ตามลำดับ

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติพบว่า ลูกปลาที่เกิดทั้งหมดมีจำนวนใกล้เคียงกันทั้งในกลุ่มควบคุมและในสารละลายแบคทีเรีย 10 และ 500 ppm ( $p < 0.05$ ) นอกจากนี้ไม่พบอาการผิดปกติในพฤติกรรมของปลาหางนกยูงทั้งการว่ายน้ำและการกินอาหารของแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำในทุกกลุ่มการทดลองได้แสดงไว้ในตารางที่ 9 พบว่าปริมาณแอมโมเนีย-ไนโตรเจน ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ), ไนไตรต์-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), ไนเตรต-ไนโตรเจน ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), ฟอสเฟต ( $\text{PO}_4$ ), ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (D.O.) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) และอุณหภูมิในกลุ่มควบคุมและแบคทีเรียเข้มข้น 10 และ 500 ppm เปลี่ยนแปลงน้อยมากและไม่แตกต่างกันมากนัก ( $p < 0.05$ )

| ความเข้มข้นแบคทีเรีย<br>(ppm) | อัตราการตายของลูกกึ่งกำมGRAM ( %) ที่ |        |        |        |
|-------------------------------|---------------------------------------|--------|--------|--------|
|                               | 24 ช.ม                                | 48 ช.ม | 72 ช.ม | 96 ช.ม |
| 190                           | 13.3                                  | 26.7   | 30.0   | 33.3   |
| 280                           | 26.7                                  | 40.0   | 40.0   | 46.7   |
| 370                           | 43.3                                  | 50.0   | 50.0   | 53.3   |
| 460                           | 73.3                                  | 80.0   | 80.0   | 80.0   |
| 550                           | 93.3                                  | 93.3   | 93.3   | 93.3   |

ตารางที่ 1 แสดงอัตราการตายของลูกกึ่งกำมGRAMเมื่อได้รับแบคทีเรีย B. thuringiensis var. israelensis ที่ความเข้มข้นและช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

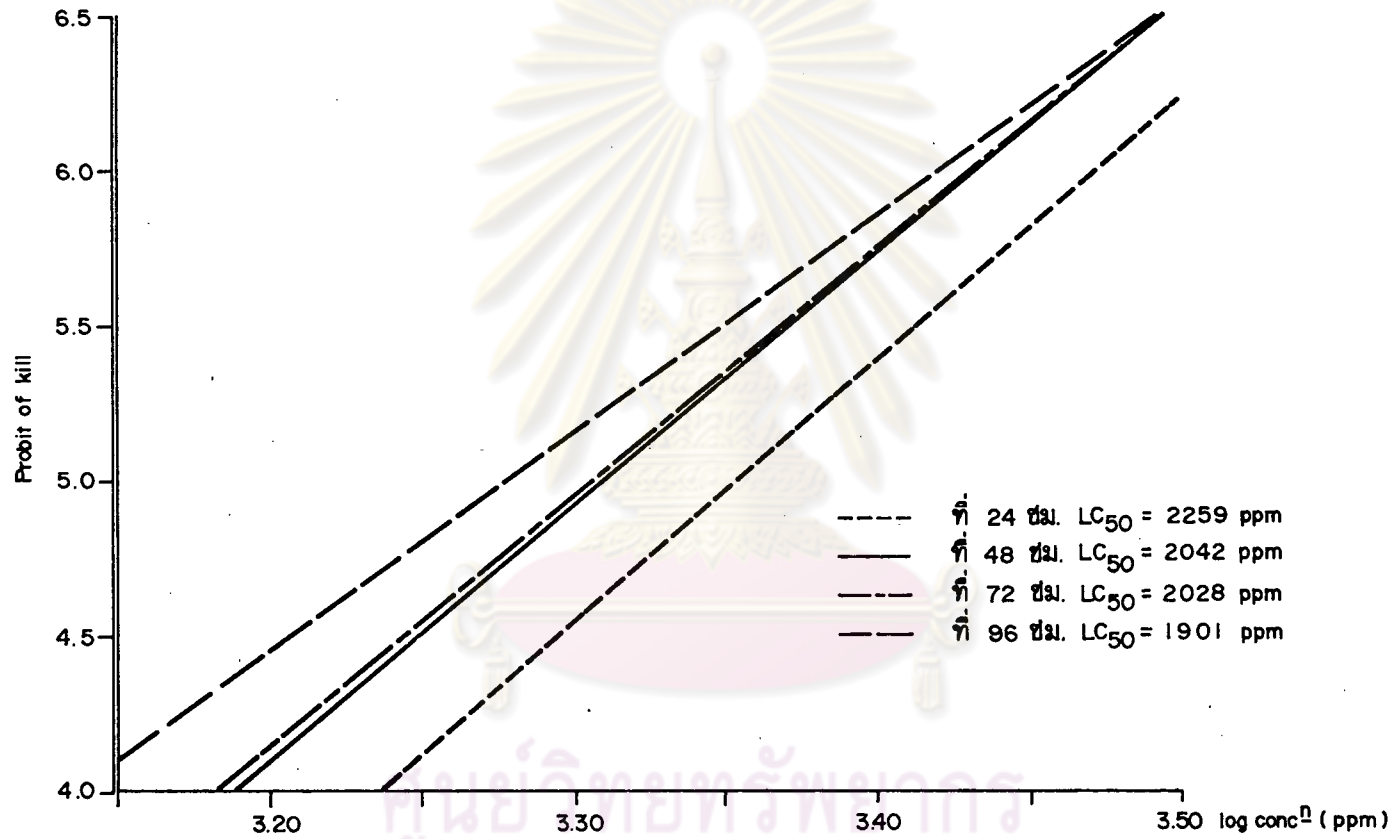


รูปที่ 1 แสดงความเป็นพิษของ B.thuringiensis var. israelensis ต่อลูกกัญก้ามกรรม  
ที่เวลาต่าง ๆ

| ความเข้มข้นแบคทีเรีย<br>(ppm) | อัตราการตายของแมลงดาส่วน (%) ที่ |        |        |        |
|-------------------------------|----------------------------------|--------|--------|--------|
|                               | 24 ชม.                           | 48 ชม. | 72 ชม. | 96 ชม. |
| 1,600                         | 10.0                             | 23.3   | 23.3   | 33.3   |
| 2,000                         | 30.0                             | 40.0   | 43.3   | 53.3   |
| 2,400                         | 56.7                             | 70.0   | 70.0   | 70.0   |
| 2,800                         | 80.0                             | 86.7   | 86.7   | 90.0   |
| 3,200                         | 90.0                             | 96.7   | 96.7   | 96.7   |



ตารางที่ 2 แสดงอัตราการตายของแมลงดาส่วนเมื่อได้รับแบคทีเรีย B. thuringiensis var. israelensis ที่ความเข้มข้นและช่วงเวลาต่าง ๆ กัน

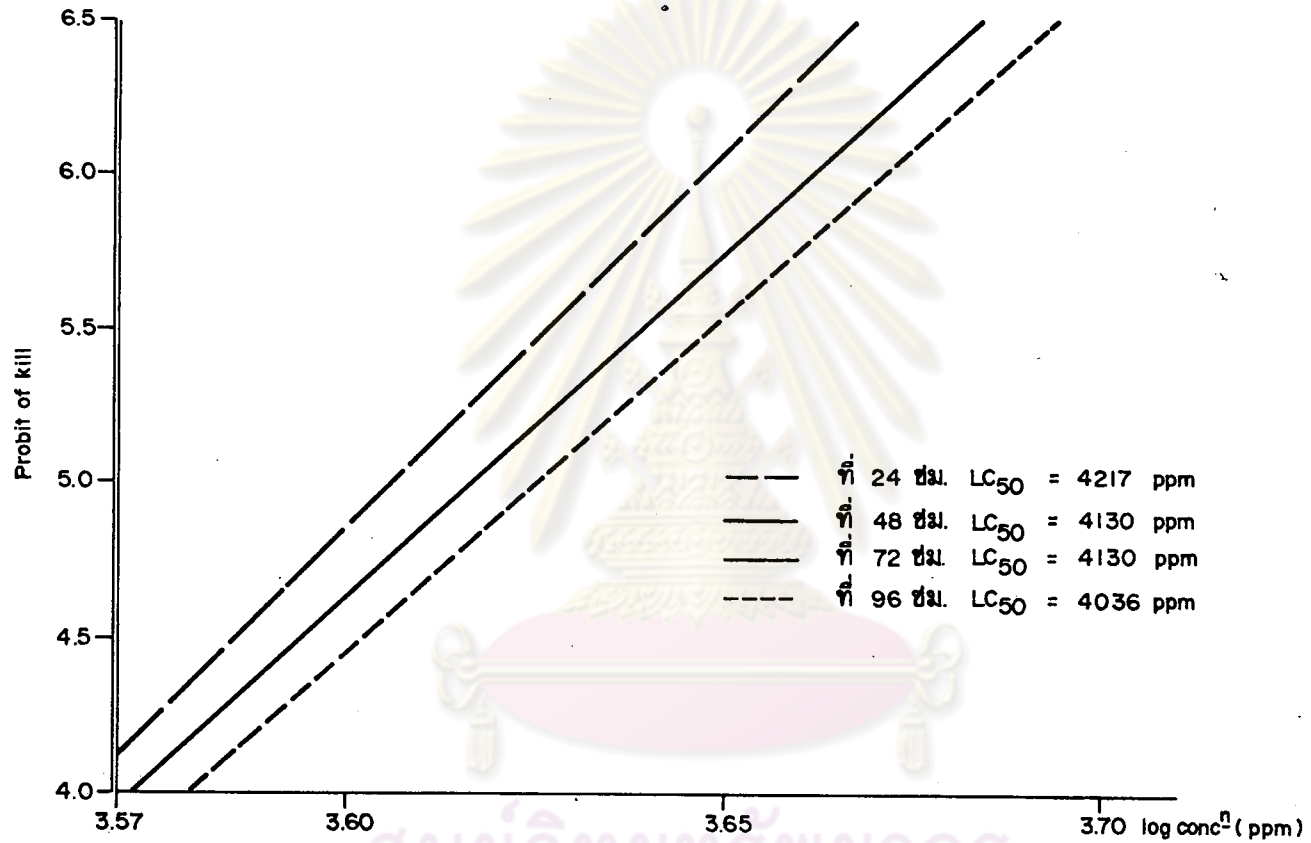


รูปที่ 2 แสดงความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อแมลงดาส่วนที่เวลาต่าง ๆ

| ความเข้มข้นแบคทีเรีย<br>(ppm) | อัตราการตายของลูกปลาชนิด (%) ที่ |       |       |       |
|-------------------------------|----------------------------------|-------|-------|-------|
|                               | 24 ชม                            | 48 ชม | 72 ชม | 96 ชม |
| 3,700                         | 10.0                             | 13.3  | 13.3  | 20.0  |
| 4,000                         | 26.7                             | 36.7  | 36.7  | 46.7  |
| 4,300                         | 60.0                             | 60.0  | 60.0  | 66.7  |
| 4,600                         | 80.0                             | 86.7  | 86.7  | 90.0  |
| 4,900                         | 90.0                             | 93.3  | 93.3  | 100.0 |

ตารางที่ 3 แสดงอัตราการตายของลูกปลาชนิดเมื่อได้รับแบคทีเรีย *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ความเข้มข้นและช่วงเวลาต่าง ๆ กัน



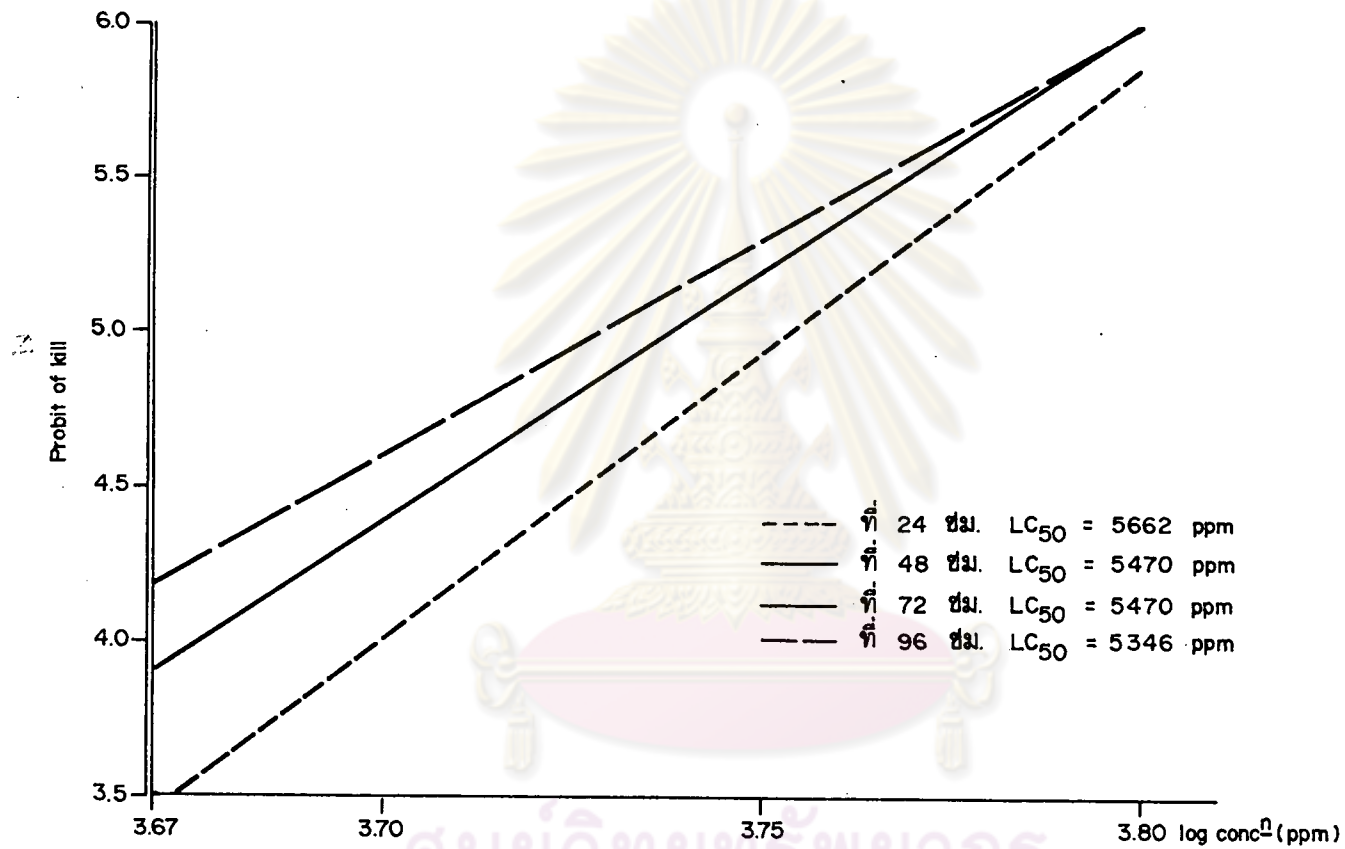


รูปที่ 3 แสดงความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อลูกปลาฉลาม

ที่เวลาต่าง ๆ

| ความเข้มข้นแบคทีเรีย<br>(ppm) | อัตราการตายของปลาหางนกยูง (%) ที่ |        |        |        |
|-------------------------------|-----------------------------------|--------|--------|--------|
|                               | 24 ช.ม                            | 48 ช.ม | 72 ช.ม | 96 ช.ม |
| 4,600                         | 6.7                               | 13.3   | 13.3   | 20.0   |
| 5,100                         | 20.0                              | 30.0   | 30.0   | 43.3   |
| 5,600                         | 40.0                              | 50.0   | 50.0   | 50.0   |
| 6,100                         | 76.7                              | 83.3   | 83.3   | 83.3   |
| 6,600                         | 93.3                              | 93.3   | 93.3   | 93.3   |

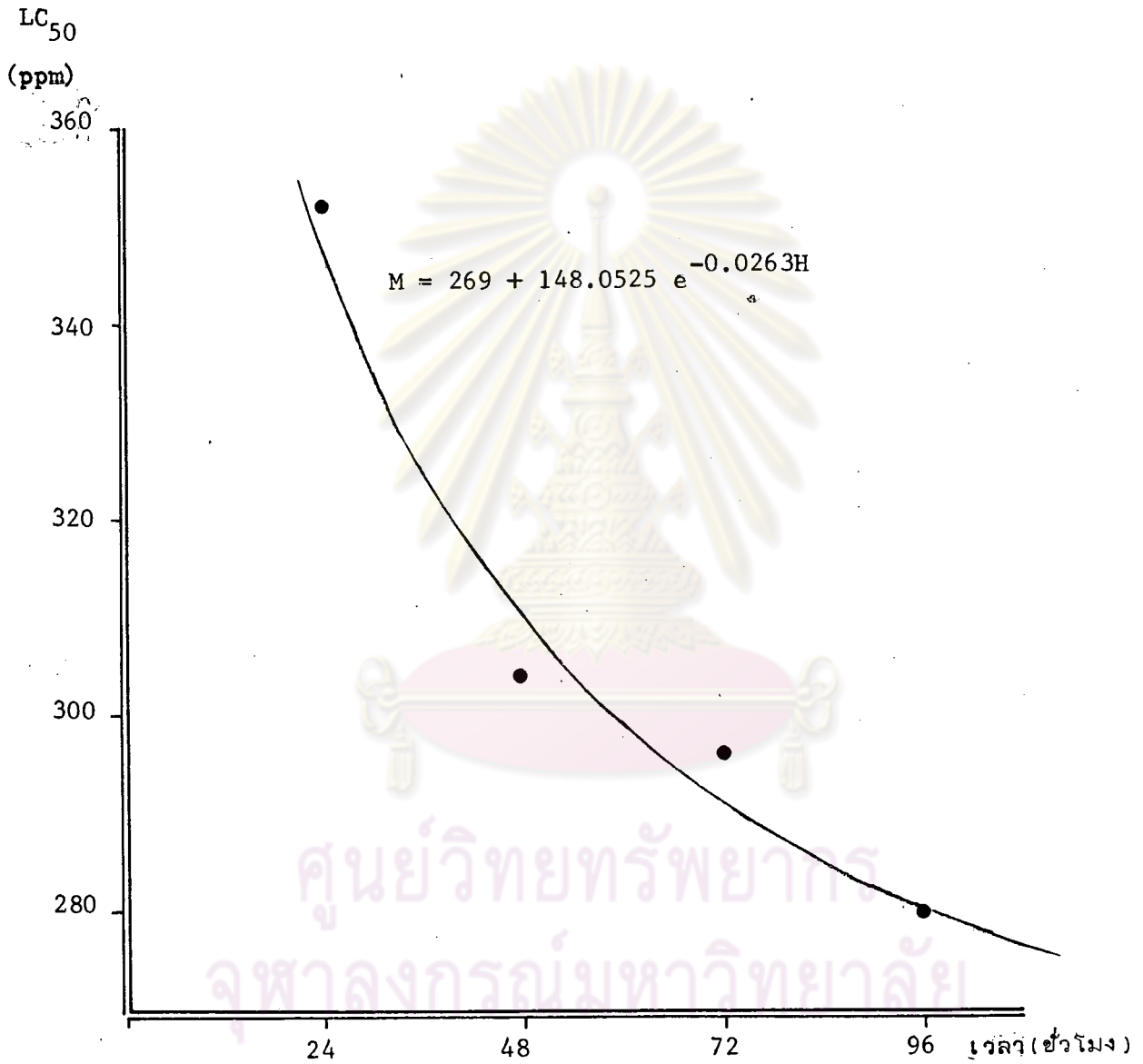
ตารางที่ 4 แสดงอัตราการตายของปลาหางนกยูงเมื่อได้รับแบคทีเรีย B. thuringiensis var. israelensis ที่ความเข้มข้นและช่วงเวลาต่าง ๆ กัน



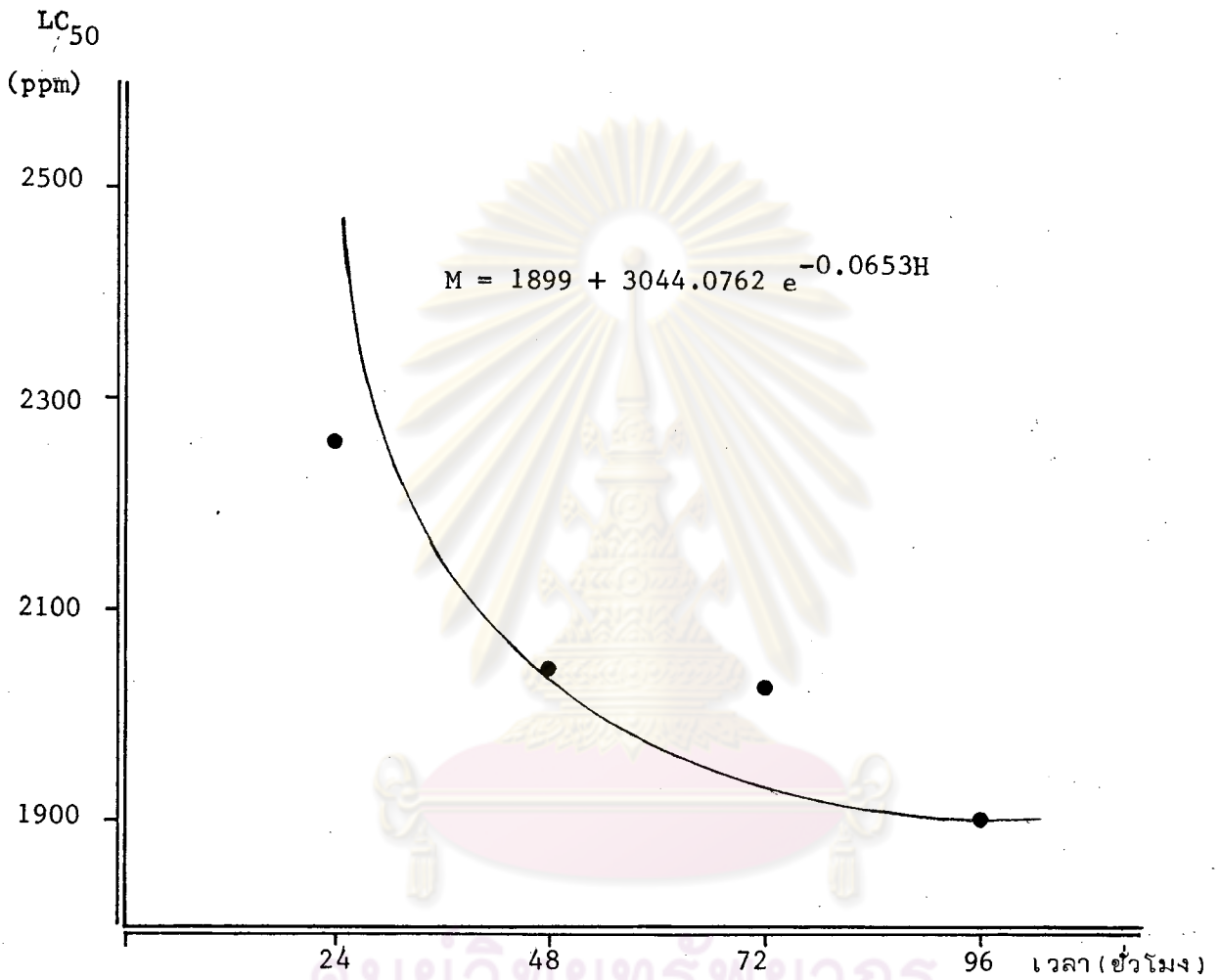
รูปที่ 4 แสดงความเป็นพิษของ B. thuringiensis var. israelensis ต่อกบปลาหางนกยูง  
ที่เวลาต่าง ๆ

| ชนิดของสัตว์ทดลอง | ระดับเริ่มเป็นพิษ<br>(ppm) | ระดับปลอดภัย<br>(ppm) |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|
| กึ่งกัมภกราม      | 269                        | 6 - 14                |
| แมลงดาส่วน        | 1899                       | 38 - 95               |
| ปลาฉิล            | 4034                       | 81 - 202              |
| ปลาหางนกยูง       | 5344                       | 107 - 267             |

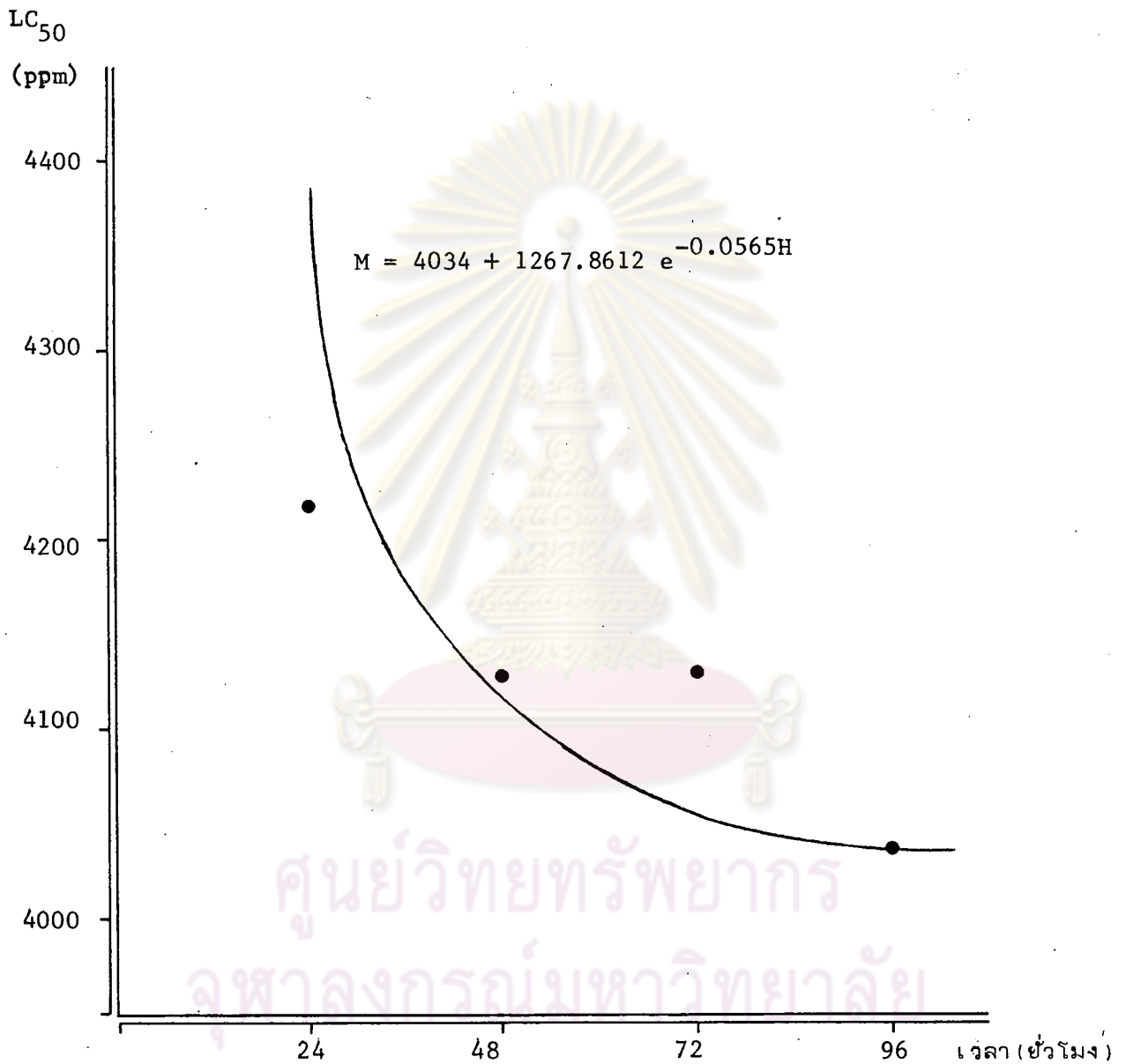
ตารางที่ 5 แสดงค่าระดับเริ่มเป็นพิษและระดับปลอดภัย ของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ต่อสัตว์น้ำ  
ทั้ง 4 ชนิด



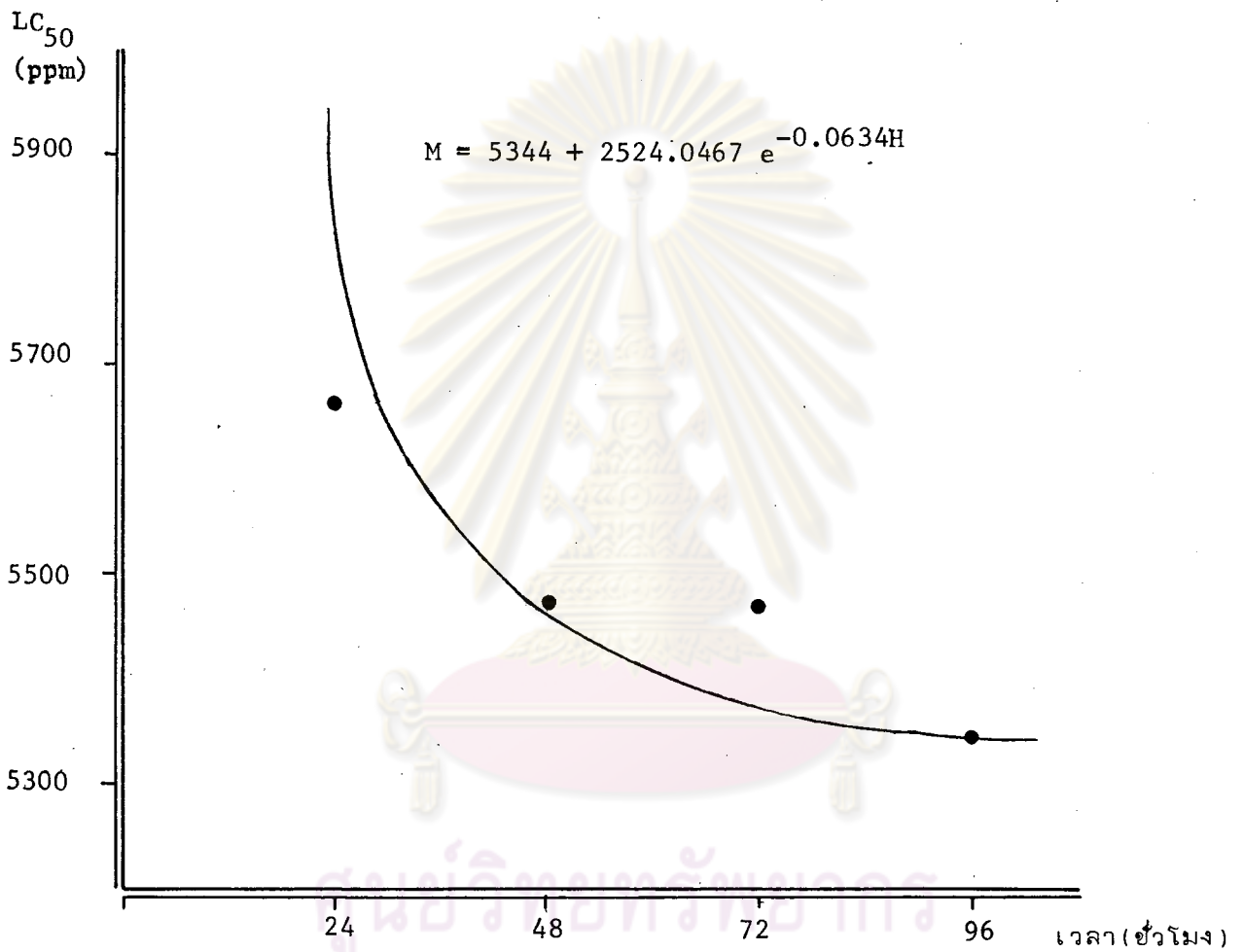
รูปที่ 5 แสดงเส้นโค้งความเป็นพิษของ B. thuringiensis var. israelensis ที่มีต่อลูกตึงก้ามกราม



รูปที่ 6 แสดงเส้นโค้งความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่มีต่อแมลงด่าส่วน



รูปที่ 7 แสดงเส้นโค้งความเป็นพิษของ B. thuringiensis var. israelensis ที่มีต่อลูกปลาฉลาม



รูปที่ 8 แสดงเส้นโค้งความเป็นพิษของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ฉีดต่อปลาหางนกยูง



| ความเข้มข้น<br>แบคทีเรีย<br>(ppm) | จำนวนเมื่อเริ่มต้นการทดลอง |         |     | จำนวนเมื่อสิ้นสุดการทดลอง |         |     | จำนวนลูกปลา<br>ที่เกิด | รวม |
|-----------------------------------|----------------------------|---------|-----|---------------------------|---------|-----|------------------------|-----|
|                                   | เพศผู้                     | เพศเมีย | รวม | เพศผู้                    | เพศเมีย | ลูก |                        |     |
| 0                                 | 30                         | 30      | 60  | 28                        | 28      | 172 | 216                    | 272 |
| 10                                | 30                         | 30      | 60  | 28                        | 29      | 163 | 242                    | 299 |
| 500                               | 30                         | 30      | 60  | 28                        | 28      | 167 | 244                    | 300 |

ตารางที่ 6 แสดงจำนวนตัวปลาหางนกยูงเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองในสารละลายแบคทีเรีย *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

| ความเข้มข้น<br>แบคทีเรีย<br>(ppm) | น้ำหนักเมื่อเริ่มต้น<br>การทดลอง |         |      | น้ำหนักเมื่อสิ้นสุด<br>การทดลอง |         |      |      | น้ำหนักเพิ่มขึ้น |
|-----------------------------------|----------------------------------|---------|------|---------------------------------|---------|------|------|------------------|
|                                   | เพศผู้                           | เพศเมีย | รวม  | เพศผู้                          | เพศเมีย | ลูก  | รวม  |                  |
| 0                                 | 0.95                             | 2.12    | 3.07 | 1.17                            | 4.37    | 2.37 | 7.91 | 4.84             |
| 10                                | 0.97                             | 2.10    | 3.07 | 1.15                            | 4.38    | 2.38 | 7.91 | 4.84             |
| 500                               | 0.97                             | 2.12    | 3.09 | 1.18                            | 4.38    | 2.37 | 7.93 | 4.84             |

ตารางที่ 7 แสดงน้ำหนักรวม (กรัม) ของปลาหางนกยูงเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองในสารละลายแบคทีเรีย *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ



| ความเข้มข้นแบคทีเรีย<br>(ppm) | ความยาวเฉลี่ยของ เพคคู่ |                 |           | ความยาวเฉลี่ยของ เพคเดี่ยว |                 |           |
|-------------------------------|-------------------------|-----------------|-----------|----------------------------|-----------------|-----------|
|                               | เริ่มต้นการทดลอง        | สิ้นสุดการทดลอง | เพิ่มขึ้น | เริ่มต้นการทดลอง           | สิ้นสุดการทดลอง | เพิ่มขึ้น |
| 0                             | 1.59                    | 1.89            | 0.30      | 2.19                       | 2.70            | 0.51      |
| 10                            | 1.60                    | 1.91            | 0.31      | 2.18                       | 2.70            | 0.52      |
| 500                           | 1.61                    | 1.91            | 0.30      | 2.17                       | 2.70            | 0.53      |

ตารางที่ 8 แสดงความยาวเฉลี่ย (ขม.) ของปลาหางนกยูงเมื่อเริ่มต้นและสิ้นสุดการทดลองในสารละลายแบคทีเรีย *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

| องค์ประกอบที่ศึกษา       | ความเข้มข้นแบคทีเรีย (ppm) |        |           |        |           |        |
|--------------------------|----------------------------|--------|-----------|--------|-----------|--------|
|                          | 0                          |        | 10        |        | 500       |        |
|                          | ช่วง                       | เฉลี่ย | ช่วง      | เฉลี่ย | ช่วง      | เฉลี่ย |
| NH <sub>3</sub> -N (ppm) | 0.00-0.79                  | 0.642  | 0.00-0.75 | 0.603  | 0.00-0.78 | 0.633  |
| NO <sub>2</sub> -N (ppm) | 0.00-0.09                  | 0.081  | 0.00-0.07 | 0.075  | 0.00-0.09 | 0.080  |
| NO <sub>3</sub> -N (ppm) | 0.00-0.10                  | 0.020  | 0.00-0.2  | 0.013  | 0.00-0.15 | 0.017  |
| PO <sub>4</sub> (ppm)    | 0.00-0.07                  | 0.009  | 0.00-0.09 | 0.008  | 0.00-0.06 | 0.006  |
| D.O. (ppm)               | 7.60-7.80                  | 7.770  | 7.65-7.80 | 7.769  | 7.65-7.79 | 7.765  |
| pH                       | 7.46-7.90                  | 7.776  | 7.65-8.05 | 7.838  | 7.70-8.10 | 7.847  |
| อุณหภูมิ (°C)            | 22.6-28.0                  | 25.96  | 22.6-28.0 | 26.00  | 22.6-27.9 | 25.98  |

ตารางที่ 9 แสดงการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในระหว่างการทดสอบเชื้อราของ *B. thuringiensis* var. *israelensis* ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อปลาหางนกยูง