

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การคัดแยกเชื้อไซยาโนแบคทีเรียบริสุทธิ์

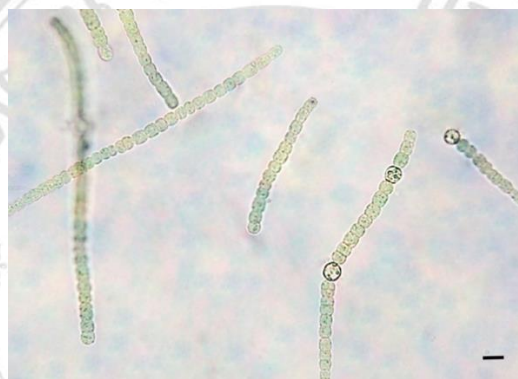
จากการคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรีย ด้วยวิธี pick cell technique ในอาหารที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียคือ MA และ BG-11 โดยอาหาร MA ใช้ในการคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียจีส *Microcystis* และเมื่อสามารถคัดแยกเชื้อ *Microcystis* สายพันธุ์เดี่ยวได้ จะเปลี่ยนใช้อาหาร BG-11 แทนเนื่องจากมีราคาถูกกว่าอาหาร MA โดยสามารถคัดแยกไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยวได้ 2 จีสคือ *Dolichospermum* sp. (*Anabaena*) ได้จากคูเมืองลำพูน จังหวัดลำพูน และ *Microcystis* sp. สามารถคัดแยกได้จากคูเมืองเชียงใหม่ บริเวณด้านหน้าโรงพยาบาลสวนปรุง จากนั้นทำการฝากเชื้อบริสุทธิ์ในห้อง culture collection ของห้องปฏิบัติการวิจัยสาหร่ายประยุกต์ สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยใช้ชื่อเรียกดังนี้คือ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 และเมื่อทำการตรวจวัดการสร้างสารพิษไมโครซิสตินในไซยาโนแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้ง 2 จีส ด้วย Microcystest ของบริษัท Zeulab S.L. ประเทศสเปน พบว่า *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 มีปริมาณสารพิษไมโครซิสตินในน้ำเพาะเลี้ยงเท่ากับ 0.32 และ 2.85 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Dolichospermum sp. AARL C014 มีลักษณะเป็นเส้นสาย ตรีโคม (trichome) มีลักษณะตรง อาจโค้งงอเล็กน้อย มีความยาวประมาณ 200 ไมโครเมตร เซลล์มีลักษณะคล้ายถังเบียร์ (barrel shaped) ขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตร มีการสร้างเฮเทอโรซิสต์ภายในเส้นสายจำนวน 1 เซลล์หรืออาจมากกว่า โดยเฮเทอโรซิสต์ไม่อยู่ติดกับอะคินีท (ภาพ 9)

ปัจจุบันไซยาโนแบคทีเรียจีส *Anabaena* ที่รายงานว่าถูกจัดจำแนกโดย Bornet and Flahault (1888) และ Geitler (1932) (Wacklin *et al.*, 2009) พบว่ามีลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยา ระบบนิเวศที่แตกต่างกัน โดย *Anabaena* ที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนนั้นจะมีการสร้างแก๊สเวซิเคิลเพื่อช่วยในการลอยตัวเพื่อรับแสง แต่ *Anabaena* ที่ดำรงชีวิตตามหน้าดิน (benthic) นั้นไม่พบว่าการสร้างแก๊สเวซิเคิลตลอดวงจรชีวิตและมักพบเมือกเหนียวกระจายทั่วเส้นสาย (Rajaniemi *et al.*, 2005; Komárek and Zapomělová, 2008; Zapomělová *et al.*, 2011) อีกทั้งปัจจุบันมีการนำความรู้ทางด้านอณูชีววิทยา (molecular biology) มาใช้ในการจัดจำแนกไซยาโนแบคทีเรีย พบว่า *Anabaena* ทั้งสอง

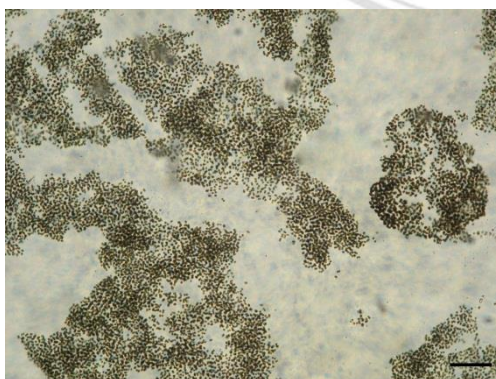
กลุ่มมีลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16s rRNA ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยกลุ่มของ *Anabaena* ที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอนมีความคล้ายคลึงกันมากกว่า 98.6 เปอร์เซ็นต์ (Rajaniemi *et al.*, 2005) ด้วยเหตุนี้จึงมีการเสนอให้เปลี่ยนชื่อจีนัสเป็น *Dolichospermum* ในกลุ่มที่ดำรงชีวิตแบบแพลงก์ตอน (Wacklin *et al.*, 2009)

Microcystis sp. AARL C028 ลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่อยู่รวมกันเป็นโคโลนีที่มีรูปร่างเป็นวงหรือแหวนเว้า (ภาพ 10A) แต่ละเซลล์จะมีลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดประมาณ 5 ไมโครเมตร เมื่อทำการเพาะเลี้ยงและเปลี่ยนถ่ายอาหารไปเรื่อยๆ พบว่าเซลล์จะหลุดออกเป็นเซลล์เดี่ยวไม่อยู่รวมกันเป็นโคโลนี (ภาพ 10B)



Scale bar = 10 ไมโครเมตร

ภาพ 9 ลักษณะเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่คัดแยกได้จากคูเมืองลำพูน



Scale bar = 25 ไมโครเมตร

(A)



Scale bar = 10 ไมโครเมตร

(B)

ภาพ 10 ลักษณะโคโลนี (A) และเซลล์ (B) ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่คัดแยกได้จากคูเมืองเชียงใหม่

4.2 การคัดแยกแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติ

จากการคัดแยกแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติ 2 แหล่งที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียคือ อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา อำเภอคอยสะเกิด และคูเมืองเชียงใหม่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ มาทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์บนอาหาร LB พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในน้ำจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา (WMK) ได้จำนวน 10 ไอโซเลท และคูเมืองเชียงใหม่ (SCM) จำนวน 27 ไอโซเลท ซึ่งเป็นแบคทีเรียจากน้ำจำนวน 10 ไอโซเลทและดินจำนวน 27 ไอโซเลท เมื่อทำการศึกษากายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียและลักษณะทางสัณฐานวิทยา (ตาราง 7, ภาพ 7) พบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกจำนวน 12 ไอโซเลทและแบคทีเรียแกรมลบจำนวน 25 ไอโซเลท



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 7 ลักษณะโคโลนีและสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำและตะกอนดินจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธาราและคูเมืองเชียงใหม่

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี							ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
	ขนาด	สี	การส่องผ่านของแสง	รูปร่าง	ขอบ	การยกตัว	ผิวหน้า	การติดสีแกรม	รูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์
WMK01	0.10	ขาว	opaque	circular	entire	flat	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกัน
WMK02	0.30	ขาว	opaque	circular	entire	flat	smooth	(+)	เป็นเส้นต่อกันเป็นสายยาว
WMK03	0.25	ครีม	opaque	punctiform	entire	raised	smooth	(+)	เป็นทรงกลมขนาดเล็ก อยู่รวมกัน
WMK04	0.30	เหลือง	opaque	circular	entire	convex	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกัน
WMK05	0.30	เหลืองส้ม	opaque	circular	entire	convex	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกัน
WMK06	0.50	ครีม	opaque	spindle	undulate	flat	smooth	(+)	รูปแท่งมีการสร้างเอนโดสปอร์
WMK07	0.25	ส้ม	opaque	circular	entire	convex	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกัน
WMK08	0.50	ขาว	opaque	circular	entire	raised	rough	(+)	รูปแท่งมีการสร้างเอนโดสปอร์
WMK09	0.25	เหลือง	opaque	circular	entire	convex	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกันเป็นคู่
WMK10	0.30	ส้ม	opaque	spindle	undulate	flat	rugose	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM01	0.10	ครีม	translucent	circular	entire	umbonate	smooth	(-)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM02	<0.05	ส้ม	translucent	circular	entire	convex	smooth	(+)	รูปแท่ง อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM03	0.35	ส้ม	opaque	circular	entire	raised	smooth	(+)	รูปแท่งต่อกันเป็นเส้นสายสั้นๆ
SCM04	0.15	ขาว	translucent	circular	entire	convex	smooth	(+)	รูปแท่งเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง

ตาราง 7 ลักษณะโคโลนีและสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำและตะกอนดินจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธาราและคูเมืองเชียงใหม่ (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี							ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
	ขนาด	สี	การส่องผ่านของแสง	รูปร่าง	ขอบ	การยกตัว	ผิวหน้า	การติดสีแกรม	รูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์
SCM05	0.30	ครีม	opaque	circular	entire	umbonate	rough	(-)	รูปแท่งต่อกันเป็นคู่
SCM06	0.70	ครีม	opaque	irregular	undulate	umbonate	smooth	(+)	รูปแท่งขนาดเล็ก อยู่รวมกันเป็นคู่
SCM07	0.50	ครีม	opaque	spindle	undulate	flat	smooth	(-)	รูปแท่งต่อกันเป็นสาย
SCM08	0.40	ขาว	opaque	irregular	undulate	umbonate	smooth	(+)	รูปแท่ง อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว
SCM09	0.30	ส้ม	opaque	spindle	undulate	flat	rugose	(+)	รูปแท่งสั้น อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว
SCM10	0.60	น้ำตาล	translucent	irregular	undulate	flat	smooth	(-)	รูปแท่งเป็นเส้นสายไม่แตกแขนง
SCM11	0.50	ครีม	opaque	irregular	undulate	flat	rough	(-)	รูปแท่งสั้น อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว
SCM12	0.50	ขาว	opaque	circular	entire	raised	rough	(-)	รูปแท่งสั้น บางครั้งจับกันเป็นคู่
SCM13	0.40	ขาว	translucent	irregular	entire	flat	smooth	(+)	รูปร่างกลม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว
SCM14	0.25	ครีม	opaque	punctiform	entire	raised	smooth	(-)	รูปแท่งสั้น อยู่เป็นรวมกันเป็นคู่
SCM15	0.45	ขาว	opaque	irregular	undulate	flat	smooth	(+)	รูปร่างกลม บางครั้งอาจจับกันเป็นคู่
SCM16	0.10	ครีม	translucent	circular	entire	umbonate	smooth	(+)	รูปแท่งสั้น อยู่รวมกันเป็นคู่
SCM17	0.35	ครีม	opaque	circular	entire	convex	smooth	(+)	รูปแท่งต่อกันเป็นเส้นสาย
SCM18	0.30	ขาว	translucent	irregular	undulate	convex	smooth	(+)	รูปแท่งหนา อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว

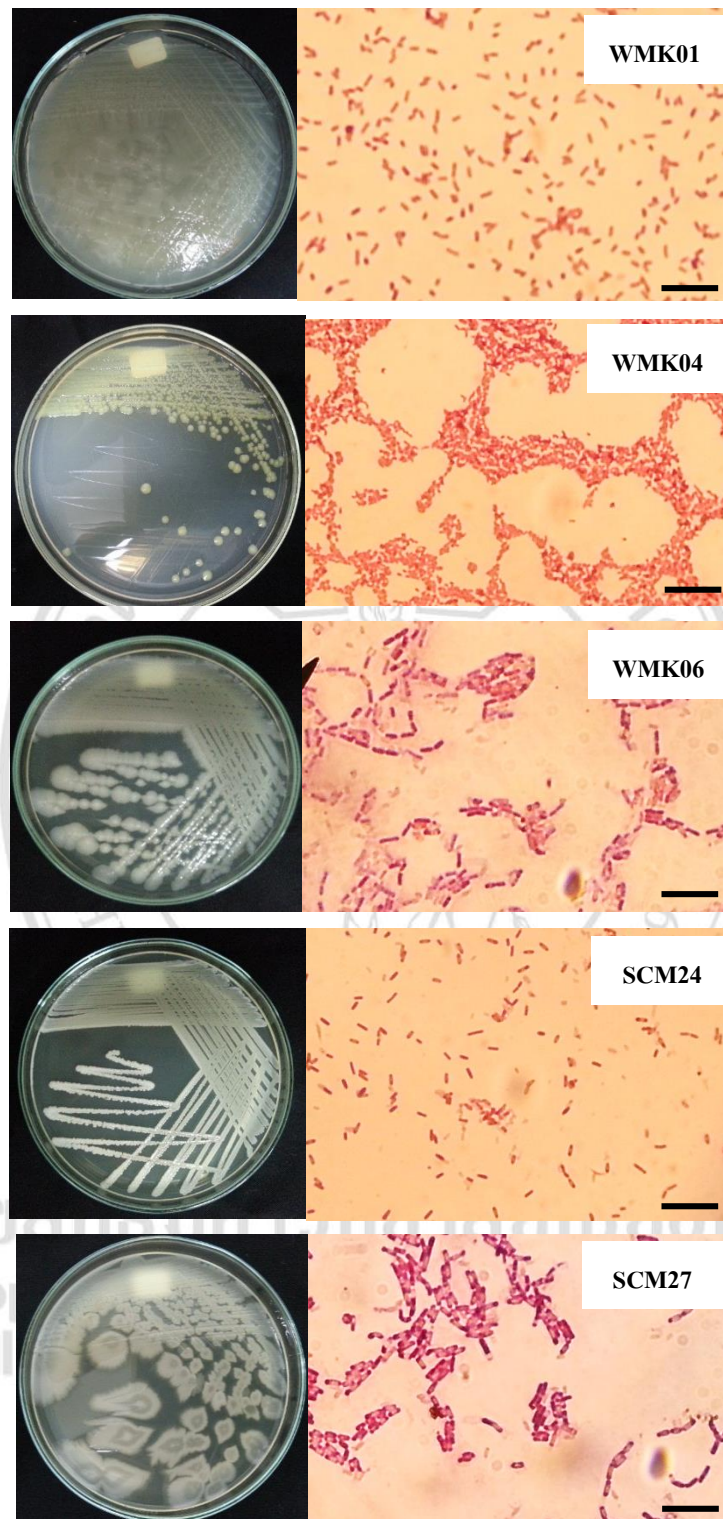
ตาราง 7 ลักษณะโคโลนีและสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำและตะกอนดินจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธาราและคูเมืองเชียงใหม่ (ต่อ)

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนี							ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
	ขนาด	สี	การส่องผ่านของแสง	รูปร่าง	ขอบ	การยกตัว	ผิวหน้า	การติดสีแกรม	รูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์
SCM19	0.25	ครีม	translucent	irregular	undulate	convex	smooth	(+)	รูปแท่งสั้น อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM20	0.30	ครีม	opaque	punctiform	entire	umbonate	smooth	(+)	รูปแท่ง อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM21	0.20	เหลือง	opaque	circular	entire	convex	smooth	(+)	รูปแท่งต่อกันเป็นเส้นสาย
SCM22	0.40	ครีม	opaque	circular	entire	flat	smooth	(+)	รูปแท่งหนา อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM23	0.10	ส้ม	opaque	circular	entire	raised	smooth	(+)	รูปร่างกลม อยู่เป็นรวมกันเป็นคู่
SCM24	0.50	ครีม	opaque	spindle	undulate	flat	smooth	(+)	รูปแท่งมีการสร้างเอนโดสปอร์
SCM25	0.2	น้ำตาล	translucent	spindle	undulate	raised	rugose	(+)	รูปร่างกลม อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM26	0.35	ขาว	opaque	spindle	undulate	flat	smooth	(+)	รูปแท่ง อยู่เป็นเชลล์เดี่ยว
SCM27	0.50	ครีม	opaque	spindle	undulate	flat	smooth	(+)	รูปแท่ง มีการสร้างเอนโดสปอร์

หมายเหตุ

ขนาดของโคโลนี (เซนติเมตร) ทำการตรวจวัดในระยะเวลา 36-48 ชั่วโมง

opaque = ทึบแสง translucent = โปร่งใส entire = ขอบเรียบ undulate = ขอบเป็นลูกคลื่น raised = สูงกว่าอาหารเล็กน้อย
convex = นูนโค้งจากผิวอาหาร flat = แบนไปตามผิวอาหาร spindle = ทรงกระสวย rough = ผิวหน้าขรุขระ smooth = ผิวหน้าเรียบ
rugose = ผิวหน้าขุ่น punctiform = โคโลนีขนาดเล็กแต่ยังมองเห็นด้วยตาเปล่า umbonate = นูนโค้ง และมีปุ่มนูนกลางโคโลนี



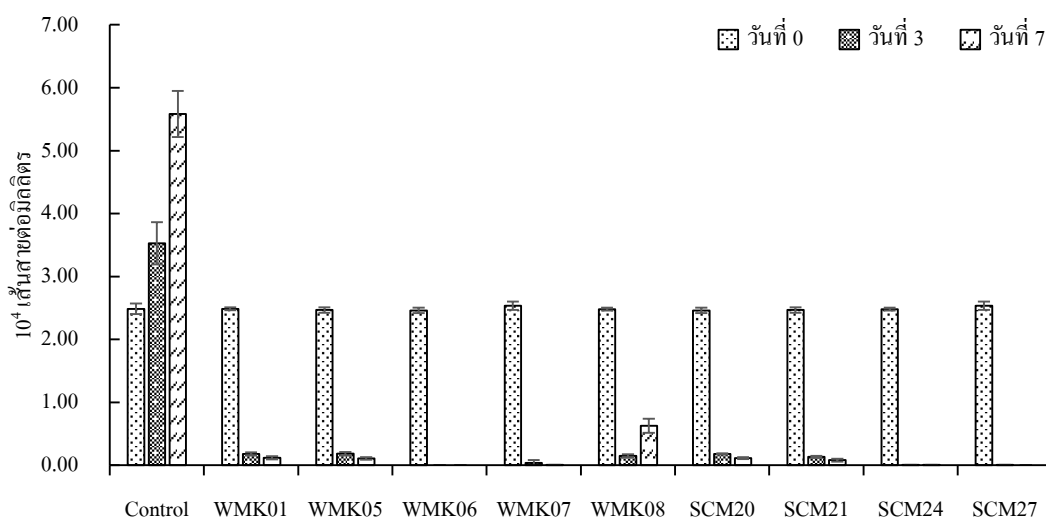
Scale bar = 10 ไมโครเมตร

ภาพ 11 ลักษณะโคโลนีและการติดสีแกรมของแบคทีเรียบางชนิดที่คัดแยกได้
จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่วงอุดมธารา และคูเมืองเชียงใหม่

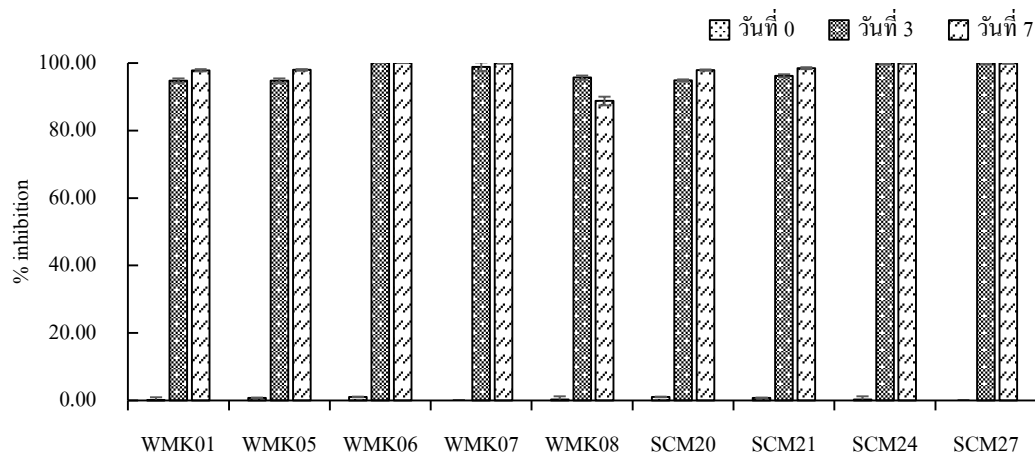
4.3 การคัดกรองแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย

4.3.1 การคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014

การเพาะเลี้ยง *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร เริ่มต้นเท่ากับ 0.1 (ประมาณ 2.48×10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร) ร่วมกับแบคทีเรียจำนวน 37 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธาราและคูเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ ด้วยวิธี liquid culture method ในอาหาร BG-11 พบว่าแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลท (ภาพ 12) คิดเป็น 24.32 เปอร์เซ็นต์ ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด สามารถลดปริมาณเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ได้ในวันที่ 3 ของการทดลอง และพบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดคือ WMK06, SCM24 และ SCM 27 โดยไอโซเลท WMK06 ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา ตรวจไม่พบเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรมีแนวโน้มที่ต่ำสุดเช่นกัน โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 13 และ ตาราง 9) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย (3.53×10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้ในวันที่ 0 ของการทดลองพบว่ามีค่าประสิทธิภาพในการยับยั้งเริ่มต้นที่ไม่ใช่ 0 เนื่องจากในการทดลองใช้เวลาประมาณ 3 ชั่วโมงหลังจากนั้นจึงเริ่มตรวจวัดผลการทดลอง จึงเป็นสาเหตุให้ในวันที่ 0 มีค่าประสิทธิภาพในการยับยั้ง *Dolichospermum* sp. AARL C014

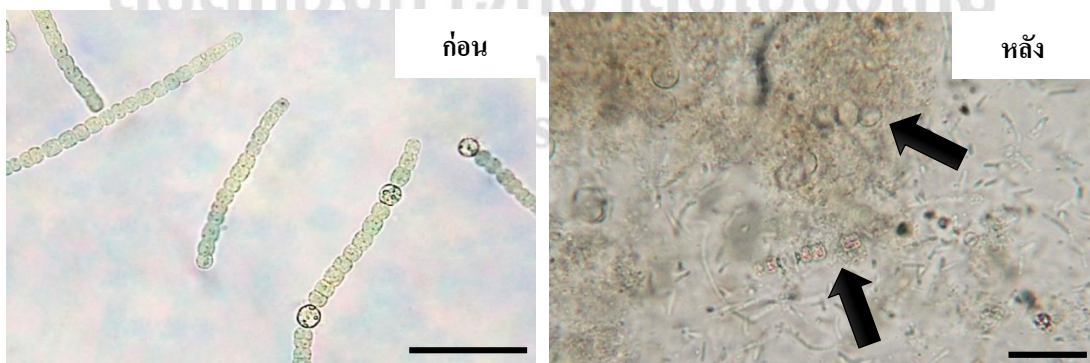


ภาพ 12 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสาย/มิลลิลิตร) ของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไอโซเลทต่างๆ (แสดงเฉพาะ 9 ไอโซเลทที่ให้ผลดีที่สุด)



ภาพ 13 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 (แสดงเฉพาะ 9 ไอโซเลตที่ให้ผลดีที่สุด)

เมื่อนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่าแต่ละชุดการทดลองของแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลตมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และในวันที่ 7 ของการทดลองแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 มีความแตกต่างกับแบคทีเรียไอโซเลต WMK01, WMK07, WMK09, SCM25 และ SCM26 (ตาราง 8) เมื่อทำการสังเกตลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับไอโซเลต WMK06 จะเริ่มหลุดออกเป็นเซลล์เดี่ยวหรือสายสั้นๆจนสลายไปในที่สุด (ลูกศรแสดง) ในวันที่ 3 ของการทดลอง (ภาพ 14) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย ด้วยเหตุนี้จึงทำการเลือกแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 มาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 ในขั้นตอนต่อไป



Scale bar = 25 ไมโครเมตร

ภาพ 14 ลักษณะเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียไอโซเลต WMK06

ตาราง 8 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโน-เมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้ (แสดงเฉพาะ 9 ไอโซเลทที่ให้ผลดีที่สุด)

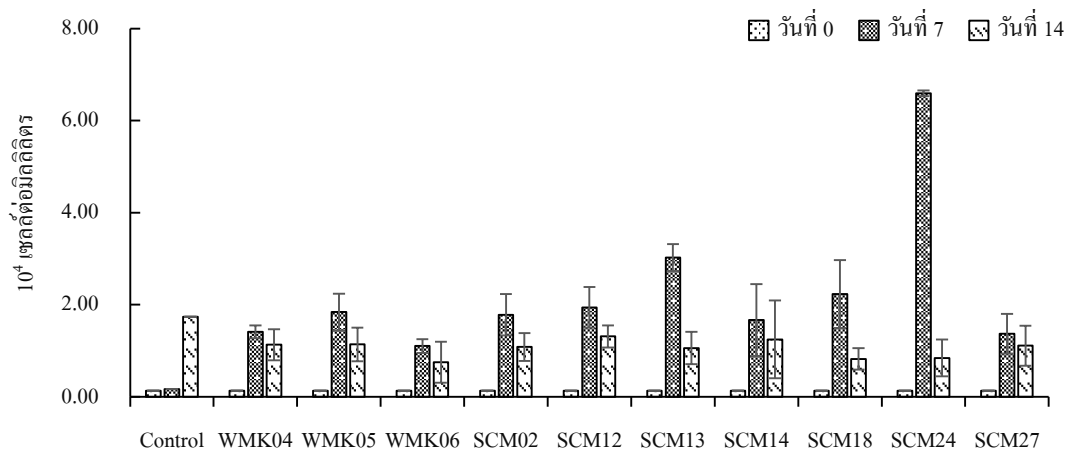
ไอโซเลท	OD ₇₅₀			จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7
Control	0.091	0.121	0.108	2.487	3.527	5.584	-	-	-
WMK01	0.204	0.147	0.121	2.486	0.182	0.120	0.1 ^a	94.8 ^a	97.9 ^b
WMK05	0.154	0.558	0.492	2.469	0.185	0.111	0.7 ^a	94.8 ^a	98.0 ^b
WMK06	0.219	0.224	0.080	2.462	0.000	0.000	1.0 ^a	100 ^b	100 ^c
WMK07	0.125	0.379	0.353	2.534	0.038	0.004	0 ^a	98.9 ^b	99.9 ^c
WMK08	0.116	0.392	0.383	2.480	0.151	0.627	0.3 ^a	95.7 ^a	88.78 ^a
SCM20	0.138	0.389	0.390	2.462	0.179	0.113	1.0 ^a	94.9 ^a	97.9 ^b
SCM21	0.125	0.347	0.302	2.469	0.133	0.082	0.7 ^a	96.2 ^a	98.5 ^b
SCM24	0.151	0.313	0.248	2.480	0.004	0.005	0.3 ^a	99.9 ^b	99.9 ^c
SCM27	0.217	0.226	0.112	2.534	0.004	0.005	0 ^a	99.9 ^b	99.9 ^c

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

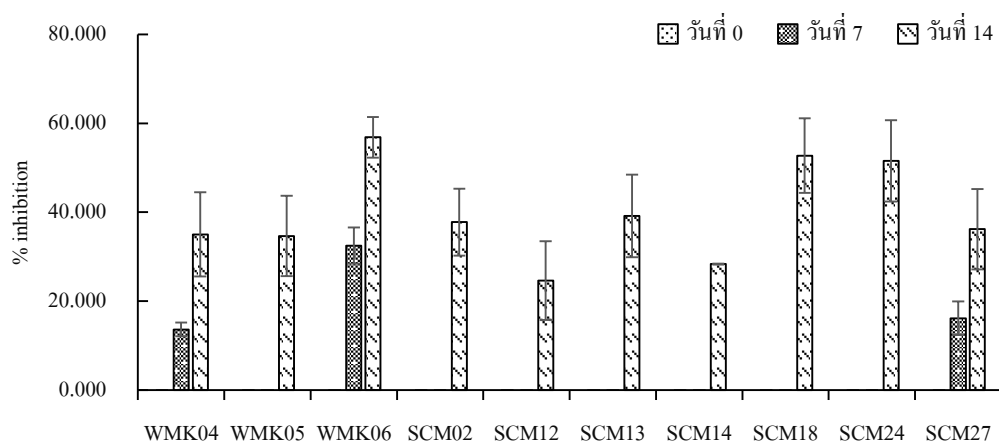
4.3.2 การคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028

การเพาะเลี้ยง *Microcystis* sp. AARL C028 ร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 37 ไอโซเลท โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรเริ่มต้นในอาหารเหลว BG-11 เท่ากับ 0.1 (ประมาณ 1.31×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) พบว่าแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลท คิดเป็น 27 เปอร์เซ็นต์ ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด สามารถลดจำนวนเซลล์ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้ในวันที่ 14 ของการทดลอง และพบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลทมีประสิทธิภาพสูงที่สุด คือ WMK06, SCM18 และ SCM24 โดยไอโซเลท WMK06 ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่วงก์ อุทยานแห่งชาติเขาใหญ่น้ำพอง จังหวัดขอนแก่น ตรวจพบจำนวนเซลล์ของ *Microcystis* sp. AARL C028 น้อยที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลองเท่ากับ 0.75×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ภาพ 15) นอกจากนี้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรมีแนวโน้มที่ลดลงเช่นกัน โดยมีประสิทธิภาพการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 56.86

เปอร์เซ็นต์ (ภาพ 16 และ ตาราง 9) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย (1.74×10^4 เซลล์ต่อมิลลิตร) และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่าแต่ละชุดการทดลองของแบคทีเรีย 10 ไอโซเลตที่ให้ผลดีที่สุดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อทำการสังเกตลักษณะของเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงร่วมกับไอโซเลต WMK06 เซลล์จะเริ่มมีลักษณะคล้ายเซลล์แตกในวันที่ 7 ของการทดลอง (ภาพ 17) ด้วยเหตุนี้จึงทำการเลือกแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 มาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการ *Microcystis* sp. AARL C028 ในขั้นตอนต่อไป



ภาพ 15 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิตร) ของ *Microcystis* sp. AARL C028 เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไอโซเลตต่างๆ (แสดงเฉพาะ 10 ไอโซเลตที่ให้ผลดีที่สุด)

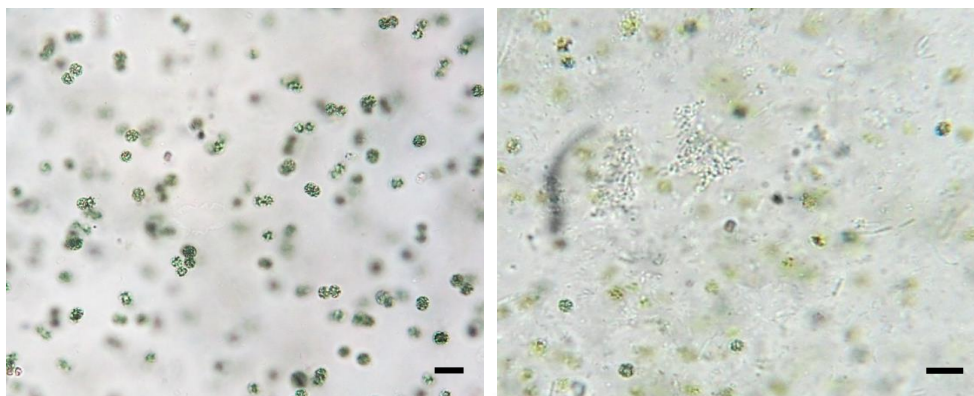


ภาพ 16 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 (แสดงเฉพาะ 10 ไอโซเลตที่ให้ผลดีที่สุด)

ตาราง 9 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้ (แสดงเฉพาะ 10 ไอโซเลตที่ให้ผลดีที่สุด)

ไอโซเลต	OD ₇₅₀			จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
Control	0.107	0.198	0.263	0.131	1.630	1.736	-	-	-
WMK04	0.107	0.231	0.204	0.131	1.408	1.128	0	13.6 ^b	35.0 ^a
WMK05	0.107	0.273	0.205	0.131	1.838	1.135	0	0 ^a	34.6 ^a
WMK06	0.107	0.201	0.167	0.131	1.101	0.749	0	32.5 ^b	56.7 ^a
SCM02	0.107	0.268	0.199	0.131	1.780	1.080	0	0 ^a	37.8 ^a
SCM12	0.107	0.283	0.222	0.131	1.941	1.309	0	0 ^a	24.6 ^a
SCM13	0.107	0.389	0.197	0.131	3.024	1.056	0	0 ^a	39.2 ^a
SCM14	0.107	0.256	0.215	0.131	1.664	1.244	0	0 ^b	28.3 ^a
SCM18	0.107	0.311	0.174	0.131	1.630	1.736	0	0 ^a	52.7 ^a
SCM24	0.107	0.308	0.176	0.131	1.101	0.749	0	0 ^a	51.5 ^a
SCM27	0.107	0.227	0.202	0.131	1.408	1.128	0	16.1 ^b	36.2 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



Scale bar = 10 ไมโครเมตร

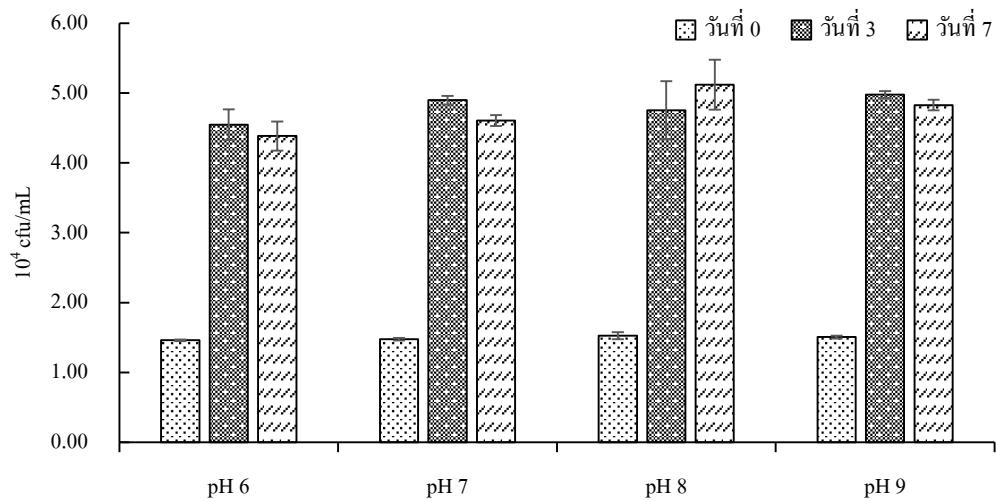
ภาพ 17 ลักษณะเซลล์ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่ถูกย่อยสลาย
โดยแบคทีเรียไอโซเลท WMK06

4.4 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมบางประการของแบคทีเรียในการควบคุมการเจริญของ ไซยาโนแบคทีเรีย

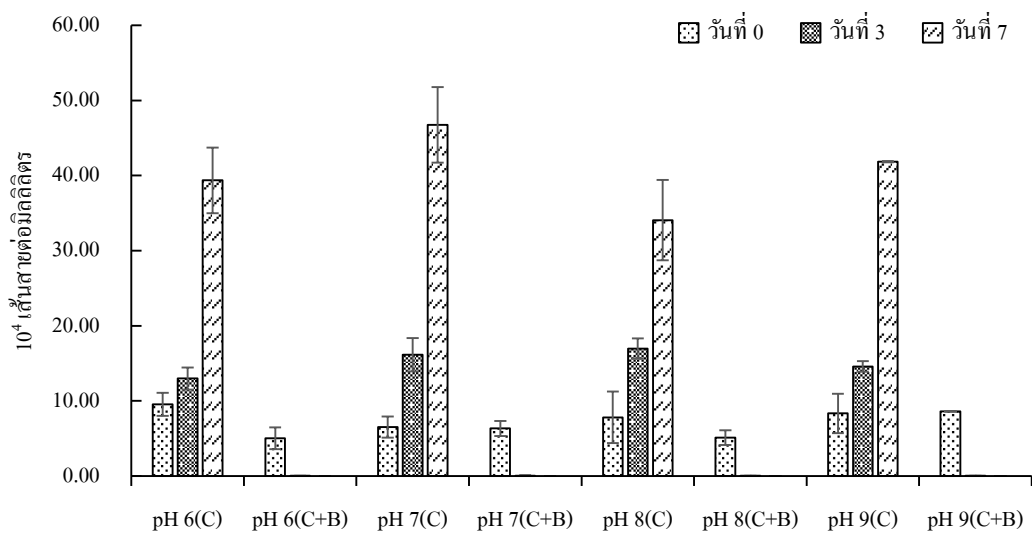
4.4.1 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 โดย
แบคทีเรียไอโซเลท WMK06

4.4.1.1 ความเป็นกรดต่าง

การศึกษาความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการ
ควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 โดยใช้อาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่าง
แตกต่างกันคือ 6, 7, 8 และ 9 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ชุด คือ ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะไซยาโน
แบคทีเรีย ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะแบคทีเรีย และชุดทดลองที่เติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย เป็น
ระยะเวลา 7 วัน พบว่าในอาหารทุกความเป็นกรดต่างแบคทีเรียเจริญได้จนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง
(ภาพ 18) นอกจากนี้จำนวนเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าการเจริญอย่าง
รวดเร็วในอาหารความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7 และ 8 โดยมีจำนวนเซลล์สูงที่สุดที่ความเป็นกรดต่าง
เท่ากับ 8 (ภาพ 19) และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่าแต่ละชุดการ
ทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อทำการสังเกตประสิทธิภาพของ
ไอโซเลท WMK06 ในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าในการทดลองที่มีค่าความ
เป็นกรดต่างเท่ากับ 8 และ 9 พบการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 น้อยที่สุดในวันที่ 3
ของการทดลองโดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 10) เมื่อ
เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย



ภาพ 18 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 (10^4 cfu/mL) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน



ภาพ 19 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิตร) ของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน

C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

ตาราง 10 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิเมตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโน-เมตรและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน

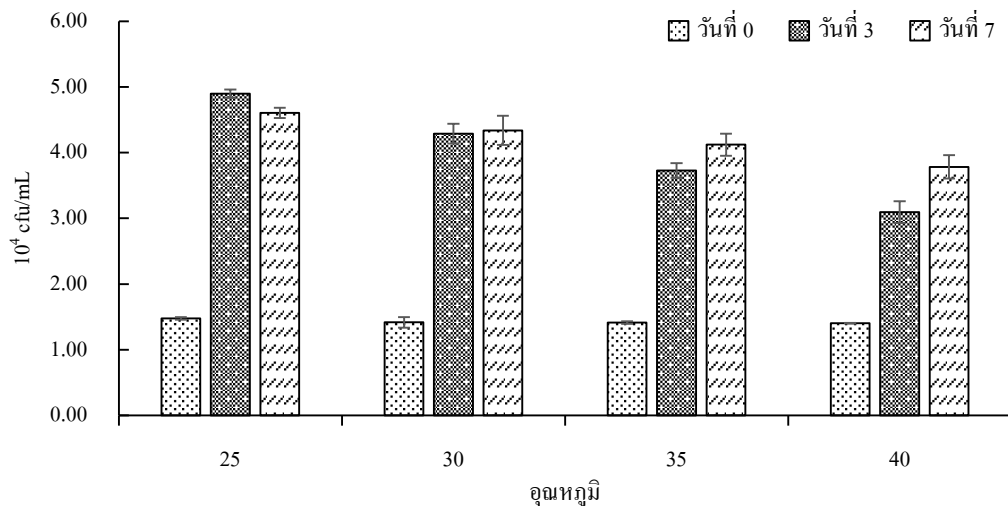
pH	OD ₇₅₀			จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิเมตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7
6 (C)	0.105	0.225	0.506	9.533	12.970	39.367	-	-	-
6 (C+B)	0.153	0.556	0.518	5.020	0.003	0.000	3.0 ^c	99.8 ^a	100
7 (C)	0.105	0.229	0.569	6.520	16.140	46.750	-	-	-
7 (C+B)	0.153	0.676	0.496	6.327	0.038	0.000	10.1 ^{ab}	98.5 ^a	100
8 (C)	0.098	0.227	0.565	7.800	16.967	34.067	-	-	-
8 (C+B)	0.157	0.547	0.479	5.113	0.012	0.000	10.1 ^{bc}	100 ^a	100
9 (C)	0.102	0.223	0.615	8.340	14.587	41.850	-	-	-
9 (C+B)	0.155	0.522	0.469	8.590	0.010	0.000	0.9 ^a	100 ^a	100

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

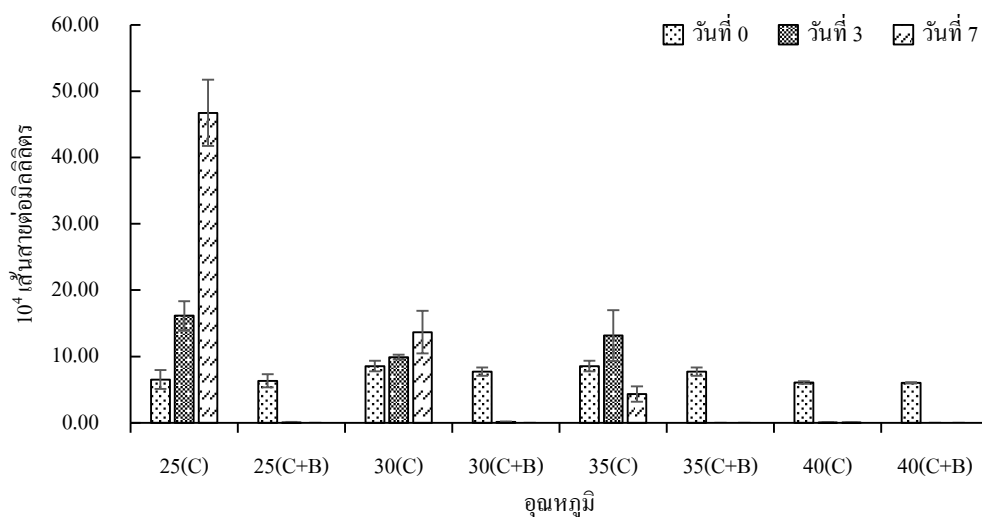
4.4.1.2 อุณหภูมิ

เมื่อทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิแตกต่างกันได้แก่ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 สามารถเจริญได้อย่างต่อเนื่องในทุกอุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ภาพ 20) โดยมีการเจริญสูงที่สุดและต่ำที่สุดที่อุณหภูมิ 25 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เมื่อทำการสังเกตจำนวนเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าในชุดที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียมีการเจริญสูงที่สุดและต่ำที่สุดที่อุณหภูมิ 25 และ 40 องศาเซลเซียส (ภาพ 21) ตามลำดับ เช่นเดียวกับแบคทีเรีย เมื่อทำการศึกษาประสิทธิภาพของไอโซเลท WMK06 ในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าในการทดลองที่มีการเติมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบการเจริญ *Dolichospermum* sp. AARL C014 น้อยที่สุดในวันที่ 3 ของ

การทดลอง โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 11) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย และพบว่าแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)



ภาพ 20 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 (10^4 cfu/mL) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน



ภาพ 21 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร) ของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน
C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

ตาราง 11 จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโน-เมตรและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ	OD ₇₅₀			จำนวนเส้นสาย (10^4 เส้นสายต่อมิลลิลิตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 7
25 (C)	0.105	0.229	0.569	6.520	16.140	46.750	-	-	-
25 (C+B)	0.153	0.534	0.496	6.327	0.038	0.000	2.9 ^a	99.8 ^b	100
30 (C)	0.103	0.226	0.604	8.550	9.897	13.667	-	-	-
30 (C+B)	0.122	0.236	0.198	7.687	0.147	0.000	10.1 ^a	98.5 ^a	100
35 (C)	0.102	0.128	0.137	8.550	13.150	4.317	-	-	-
35 (C+B)	0.159	0.195	0.177	7.687	0.000	0.000	10.1 ^a	100 ^b	100
40 (C)	0.105	0.039	0.038	6.057	0.037	0.003	-	-	-
40 (C+B)	0.130	0.155	0.147	6.007	0.000	0.000	0.8 ^a	100 ^b	100

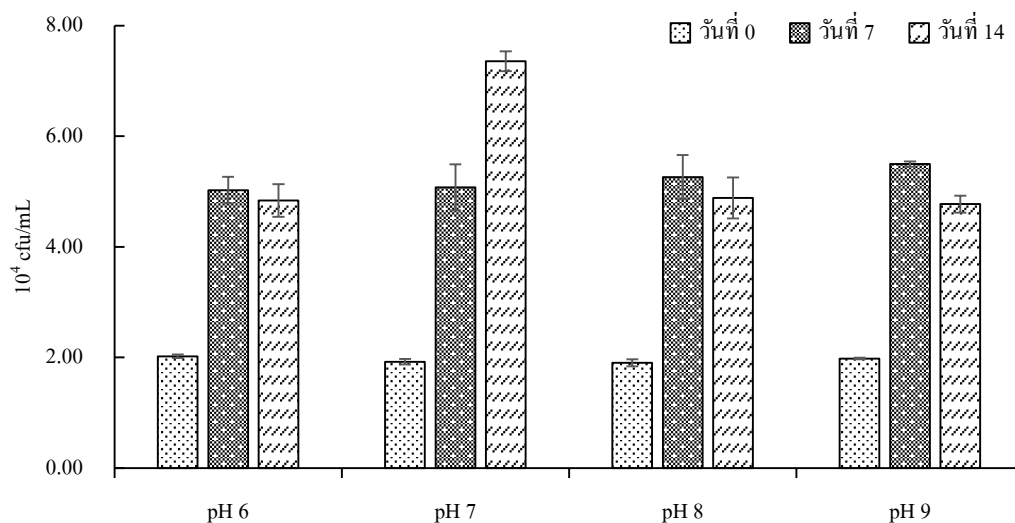
หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

4.4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 โดยแบคทีเรียไอโซเลท WMK06

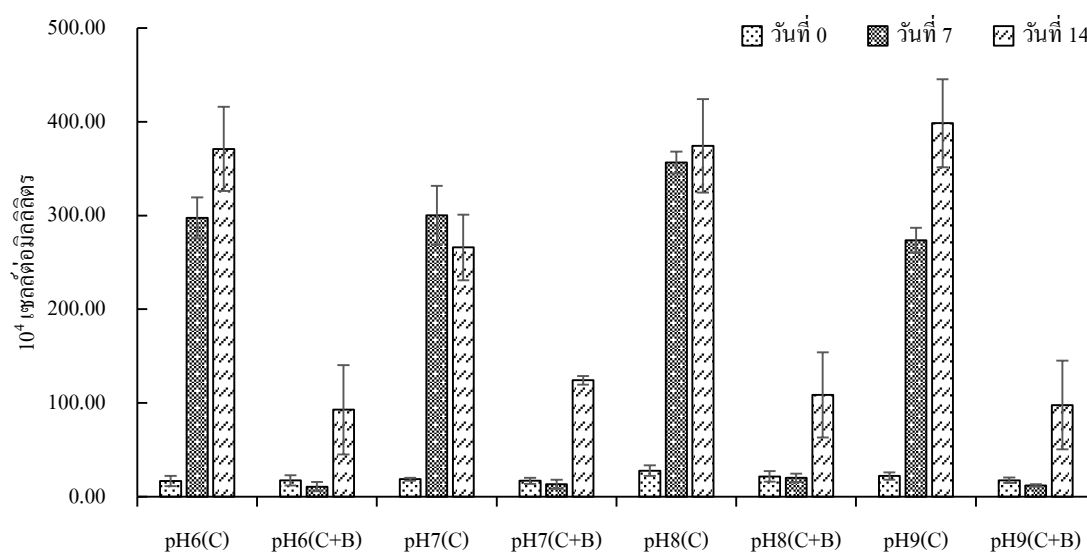
4.4.2.1 ความเป็นกรดต่าง

การศึกษาความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 โดยเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกันคือ 6, 7, 8 และ 9 และทำการแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลอง คือชุดควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย ชุดควบคุมแบคทีเรีย และชุดทดลองที่เติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย โดยทำการสังเกตผลการทดลองเป็นระยะเวลา 14 วัน เมื่อตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรียในชุดควบคุมพบว่าแบคทีเรียที่ความเป็นกรดต่าง 6, 8 และ 9 เริ่มมีจำนวนลดน้อยลงหลังจากวันที่ 7 ของการทดลอง (ภาพ 22) เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์ในชุดควบคุมทุกความเป็นกรดต่างของ *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่า

มีการเจริญอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันแรกที่ทำกรทดลอง จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 14 (ภาพ 23)



ภาพ 22 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไฮโซเลท WMK06 (10^4 cfu/mL) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน



ภาพ 23 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน

C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

เมื่อทำการตรวจวัดประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 พบว่าในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6 พบการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 น้อยที่สุดในวันที่ 3 ของการทดลอง โดยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงที่สุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 12) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่าแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตาราง 12 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน

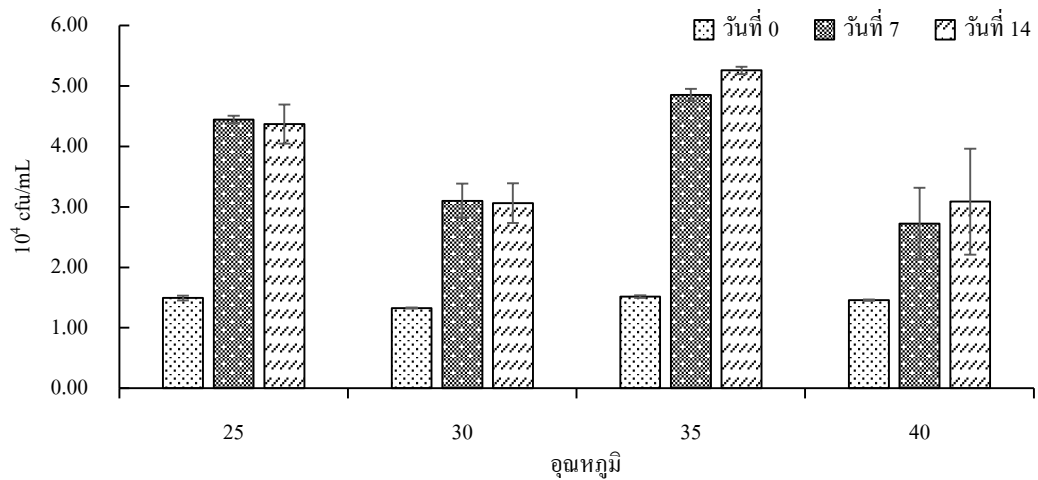
pH	OD ₇₅₀			จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
6 (C)	0.096	1.063	1.660	17	297	371	-	-	-
6 (C+B)	0.307	0.597	0.138	17	11	93	0 ^a	96.0 ^a	82.6 ^a
7 (C)	0.090	0.864	1.590	19	300	266	-	-	-
7 (C+B)	0.291	0.642	0.965	17	13	124	9.5 ^a	95.6 ^a	53.3 ^a
8 (C)	0.126	1.008	1.795	28	357	374	-	-	-
8 (C+B)	0.267	0.600	0.853	22	20	109	22.1 ^a	94.1 ^a	71.0 ^a
9 (C)	0.108	0.858	1.579	22	274	398	-	-	-
9 (C+B)	0.286	0.665	0.879	17	12	98	20.7 ^a	95.0 ^a	75.5 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

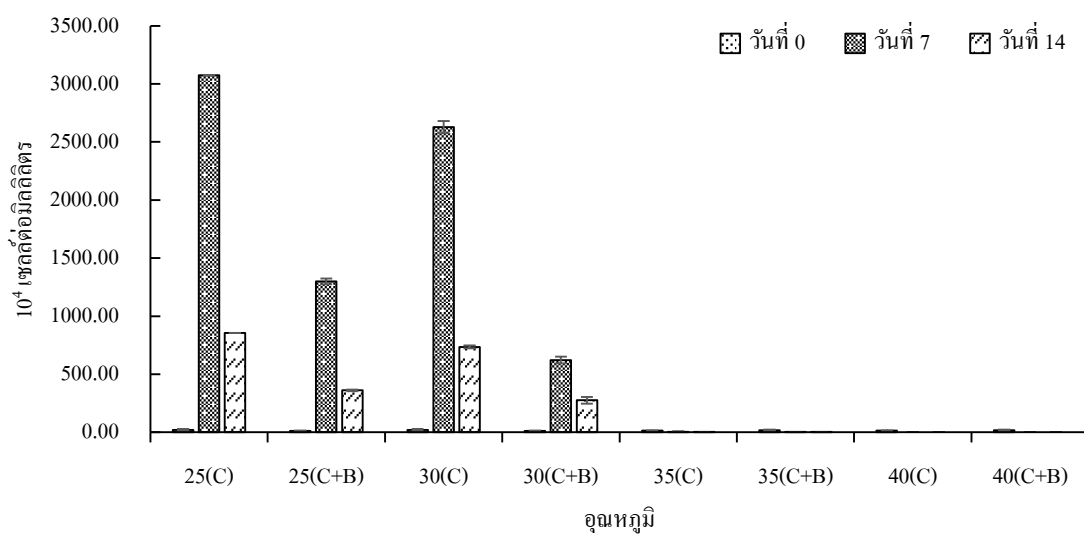
4.4.2.1 อุณหภูมิ

จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกันคือ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส โดยแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลองคือ ชุดควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย ชุดควบคุมแบคทีเรีย และชุดทดลองที่เติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย เป็นระยะเวลา 14 วัน เมื่อทำการ

ตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในชุดควบคุมพบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในทุกอุณหภูมิโดยมีการเจริญสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (ภาพ 24)



ภาพ 24 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 (10^4 cfu/mL) ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน



ภาพ 25 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

เมื่อพิจารณาการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียในชุดควบคุมพบว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส *Microcystis* sp. AARL C028 สามารถเจริญได้ดี โดยมีการเจริญสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ภาพ 25) เมื่อทำการตรวจวัดประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรีย พบว่าในวันที่ 7 ของการทดลองที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 น้อยที่สุดซึ่งมีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่ากับ 98 เปอร์เซ็นต์ (ตาราง 13) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย และเมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) พบว่าแต่ละชุดการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

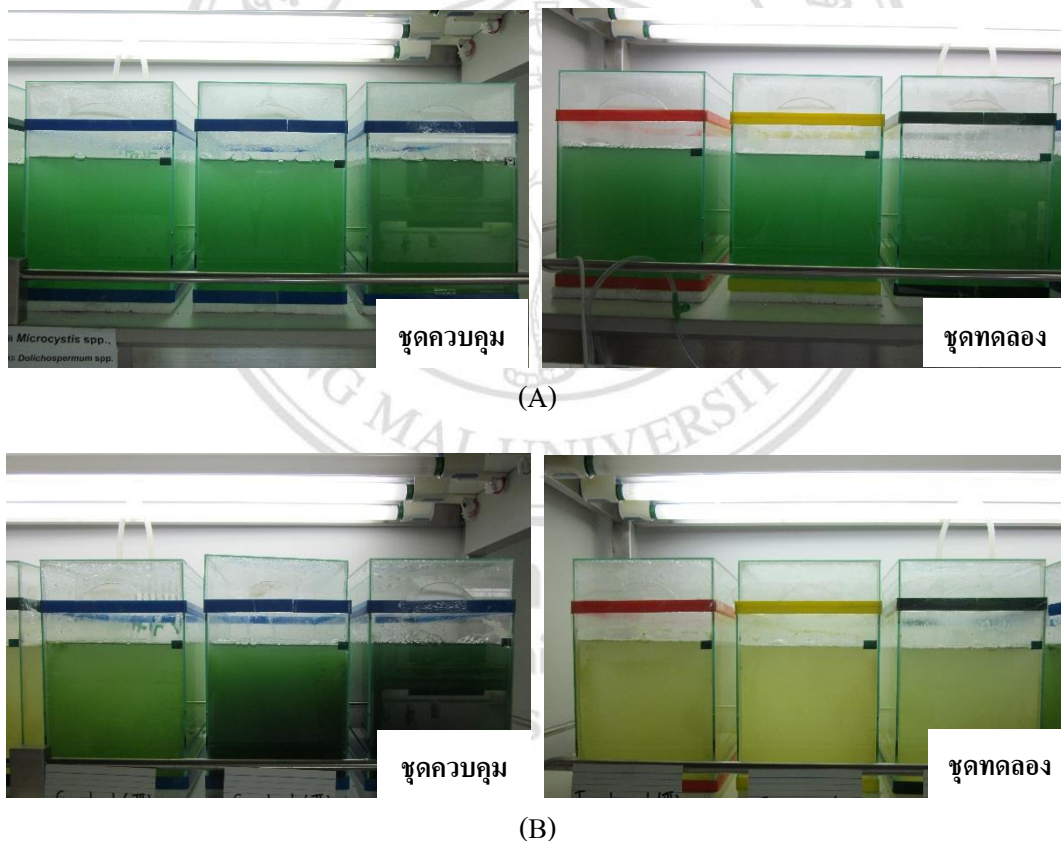
ตาราง 13 จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

อุณหภูมิ	OD ₇₅₀			จำนวนเซลล์ (10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร)			%Inhibition		
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14
25 (C)	0.120	0.904	1.825	19	3075	855	-	-	-
25 (C+B)	0.254	0.670	0.260	12	1300	361	38.1 ^a	97.4 ^c	57.7 ^b
30 (C)	0.109	0.577	1.180	19	2628	735	-	-	-
30 (C+B)	0.204	0.218	0.195	12	622	276	38.1 ^a	98.1 ^c	39.6 ^{ab}
35 (C)	0.116	0.052	0.050	14	4	1	-	-	-
35 (C+B)	0.283	0.546	0.532	18	1	0	24.7 ^a	72.5 ^b	62.9 ^b
40 (C)	0.109	0.041	0.045	14	0	0	-	-	-
40 (C+B)	0.204	0.165	0.215	18	0	0	24.3 ^a	0 ^a	0 ^a

หมายเหตุ : ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงการเปรียบเทียบค่าทางสถิติด้วยวิธีการของ Tukey HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์; C คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; C+B คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย

4.5 การทดสอบการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 ในปริมาตร 10 ลิตร

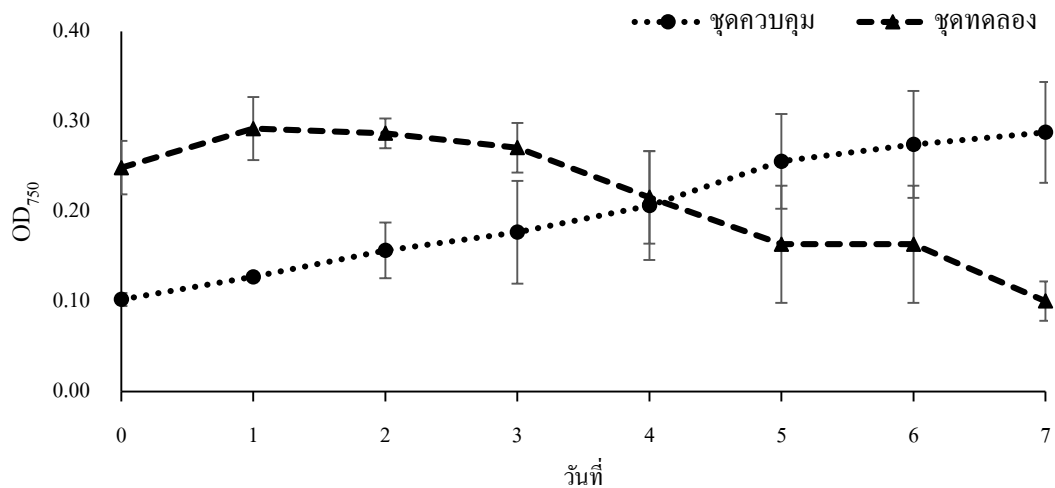
การทดสอบการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 ในตู้กระจกสี่เหลี่ยมปริมาตร 10 ลิตร (ภาพ 26) โดยใช้อาหาร BG-11 โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุดคือ ชุดควบคุมที่เติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย และชุดทดลองที่เติมไซยาโนแบคทีเรียร่วมกับแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 เป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อพิจารณาการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรและจำนวนเซลล์ในชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย *Microcystis* sp. AARL C028 มีการเจริญอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 7 ของการทดลอง และพบว่าในชุดทดลอง *Microcystis* sp. AARL C028 มีการเจริญลดลงในวันที่ 2 ของการทดลอง (ภาพ 27 และ 28) นอกจากนี้ในวันที่ 4 ของการทดลองแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 สามารถลดปริมาณ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้ 95 เปอร์เซ็นต์ และสามารถลดปริมาณได้สูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของการทดลอง (ภาพ 29) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย



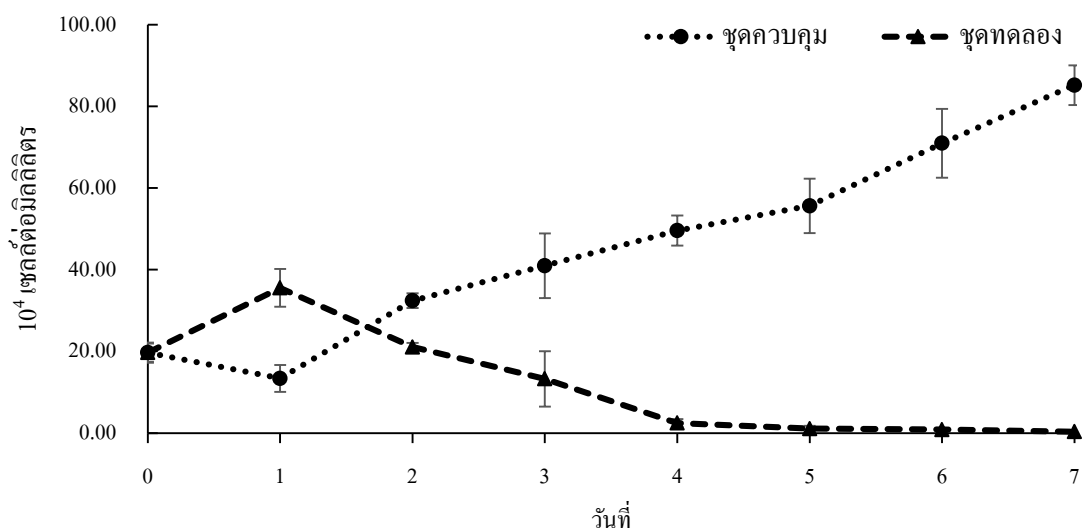
ภาพ 26 การควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 ในตู้กระจกสี่เหลี่ยมปริมาตร 10 ลิตร

ในวันที่ 0 (A) และ วันที่ 7 (B) ของการทดลอง

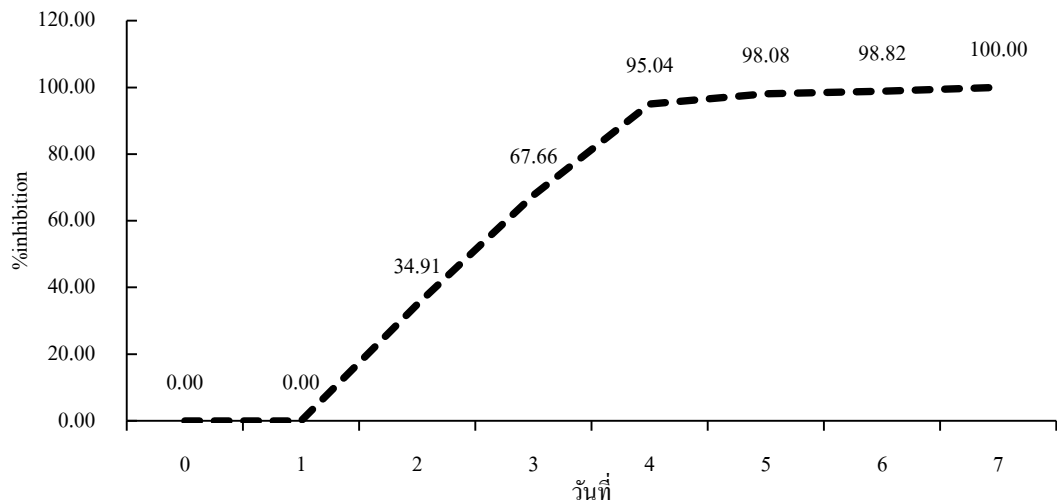
ชุดควบคุม คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; ชุดทดลอง คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย



ภาพ 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้ปลาปริมาตร 10 ลิตร
ชุดควบคุม คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; ชุดทดลอง คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย



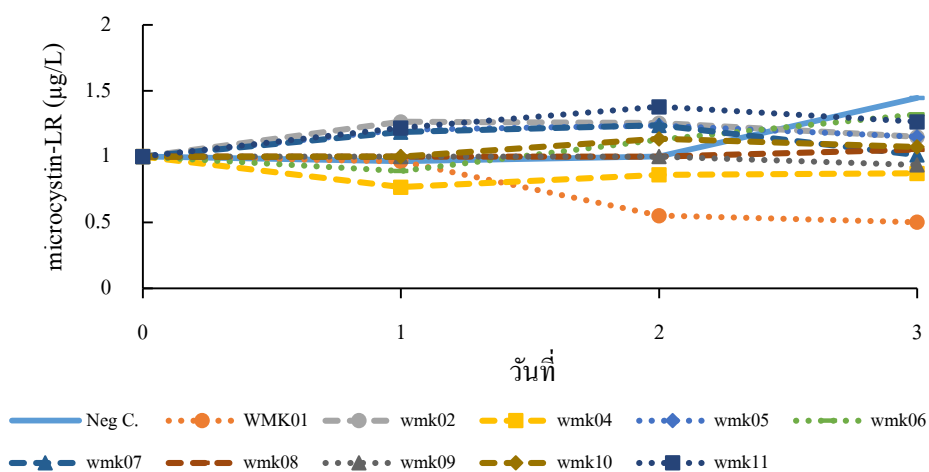
ภาพ 28 จำนวนเซลล์ (10⁴ เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้กระจกสี่เหลี่ยมปริมาตร 10 ลิตร
ชุดควบคุม คือชุดการทดลองที่มีการเติมเฉพาะไซยาโนแบคทีเรีย; ชุดทดลอง คือชุดการทดลองที่มีการเติมไซยาโนแบคทีเรียและแบคทีเรีย



ภาพ 29 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ในการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้กระจกสี่เหลี่ยมปริมาตร 10 ลิตร

4.6 การคัดกรองแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน

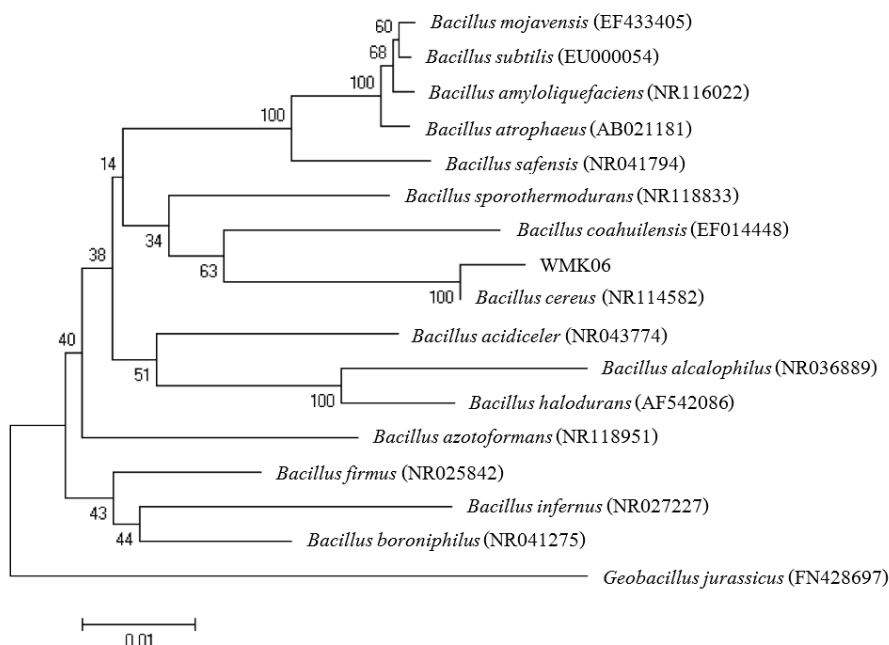
การศึกษาการย่อยสลายสารพิษ microcystin-LR ด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการเลี้ยงเซลล์ของแบคทีเรียโดยใช้ PBS ที่เติม microcystin-LR ปริมาณ 1 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าในชุดทดลองที่เติมแบคทีเรียไอโซเลต WMK01 สามารถลดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินได้ 0.5 ไมโครกรัมต่อลิตรในวันที่ 3 ของการทดลอง (ภาพ 30)



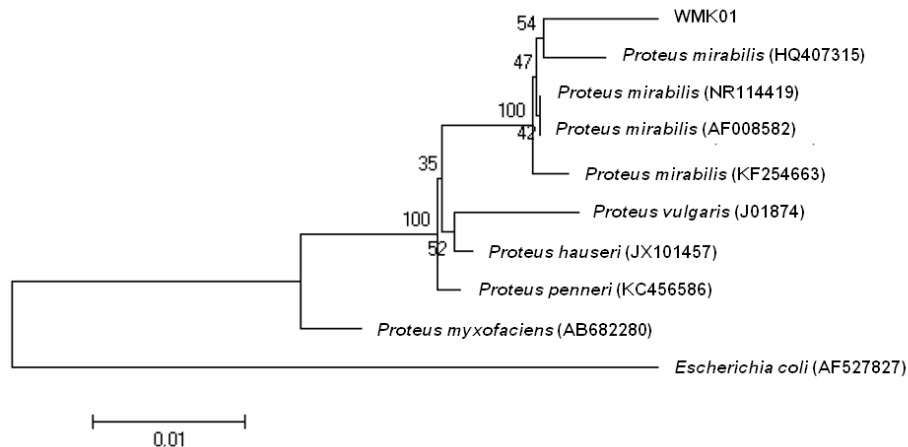
ภาพ 30 การย่อยสลาย microcystin-LR โดยแบคทีเรียจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา

4.7 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียโดยลำดับ 16s rDNA

การศึกษานี้ของแบคทีเรียด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บน 16s rDNA โดยนำตัวอย่างดีเอ็นเอมาเพิ่มขยายลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ 27F และ 1525R พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 มีความคล้ายคลึงกับ *Bacillus cereus* (99 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อทำการวิเคราะห์ phylogenetic tree พบว่าจัดอยู่ในวิวัฒนาการเดียวกันกับ *Bacillus cereus* (ภาพ 31) และแบคทีเรีย WMK01 ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสาหร่ายพิษไมโครซิสตินมีความคล้ายคลึงกับ *Proteus mirabilis* (98 เปอร์เซ็นต์) และเมื่อทำการวิเคราะห์ phylogenetic tree พบว่าจัดอยู่ในวิวัฒนาการเดียวกันกับ *Proteus mirabilis* เช่นเดียวกัน (ภาพ 32)



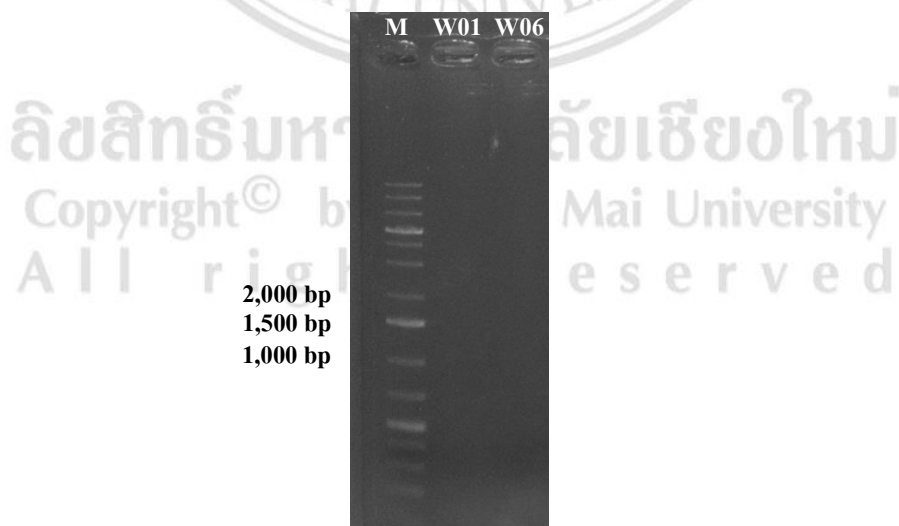
ภาพ 31 การวิเคราะห์ phylogenetic tree ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06



ภาพ 32 การวิเคราะห์ phylogenetic tree ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK01

4.8 การตรวจสอบกลุ่มยีน *mlrA* โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์

การศึกษายีน *mlrA* ที่มีความเกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน โดยแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน โดยทำการเพิ่มจำนวนยีนด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะกับยีน *mlrA* คือ MF และ MR พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 ที่สามารถลดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินและแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้นั้น ตรวจไม่พบยีนนี้ (ภาพ 33)



ภาพ 33 การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ของกลุ่มยีน *mlrA* ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 และ WMK06