

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

5.1 การคัดกรองแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย

การคัดกรองแบคทีเรียจำนวน 37 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา และคูเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลท สามารถลดปริมาณเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลท สามารถลดจำนวนเซลล์ของ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้ นอกจากนี้แบคทีเรียไอโซเลท WMK06, WMK07, SCM27 และ SCM30 สามารถลดการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดได้ นอกจากนี้พบว่า *Dolichospermum* มักพบร่วมกับการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษชนิดอื่นๆ ในแหล่งน้ำหลายแห่งดังเช่น ทะเลสาบ Okeechobee ประเทศสหรัฐอเมริกา (Ramani *et al.*, 2012) อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา (Pekkoh *et al.*, 2003) อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (Peerapornpisal *et al.*, 2002) อ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว บริเวณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (พงศกร, 2556; Peerapornpisal *et al.*, 2004) สระน้ำบริเวณพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติ (คนุพล, 2558) จังหวัดเชียงใหม่ กว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา (Prommana *et al.*, 2003) อ่างเก็บน้ำหนองหาร จังหวัดสกลนคร อ่างเก็บน้ำเขื่อนลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา และอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี (Peerapornpisal *et al.*, 2002) และการศึกษาครั้งนี้พบว่า *Dolichospermum* เป็นแพลงก์ตอนที่พบเจริญอย่างรวดเร็วบริเวณแหล่งน้ำในคูเมืองลำพูน จังหวัดลำพูน ส่วน *Microcystis* พบว่าเป็นไซยาโนแบคทีเรียที่มักมีรายงานว่าเกิดการเจริญอย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำทั่วโลกดังเช่น ทะเลสาบ Hongfeng (Okano *et al.*, 2009) ทะเลสาบ Donghu (Shao *et al.*, 2014) ประเทศจีน ทะเลสาบ Kasumigaura (Yang *et al.*, 2012) ประเทศญี่ปุ่น อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา (Pekkoh *et al.*, 2003) อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (Peerapornpisal *et al.*, 2002) คูเมืองเชียงใหม่ (บงกชรัตน์, 2557) สระน้ำบริเวณพิพิธภัณฑสถานแห่งชาติ (คนุพล, 2558) จังหวัดเชียงใหม่ กว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา (Prommana *et al.*, 2003) เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ (Somdee *et al.*, 2013) อ่างเก็บน้ำหนองหาร จังหวัดสกลนคร อ่างเก็บน้ำเขื่อนลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา และอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี (Peerapornpisal *et al.*, 2002)

นอกจากนี้บางแหล่งน้ำในประเทศไทยพบการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis* ร่วมกับ *Dolichospermum* เช่นเดียวกัน ดังเช่น ในจังหวัดเชียงใหม่ได้แก่ อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา (Pekkoh *et al.*, 2003) อ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่จัดสมบูรณ์ชล (Peerapornpisal *et al.*, 2002) สระน้ำบริเวณ

พิพิธภัณฑชาวมหา (คณพล, 2558) ในกว๊านพะเยา จังหวัดพะเยา (Prommana *et al.*, 2003) อ่างเก็บน้ำหนองหาร จังหวัดสกลนคร อ่างเก็บน้ำเขื่อนลำตะคอง จังหวัดนครราชสีมา และอ่างเก็บน้ำบางพระ จังหวัดชลบุรี (Peerapornpisal *et al.*, 2002) งานวิจัยนี้สามารถคัดแยกเชื้อไซยาโนแบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยวได้ 2 สายพันธุ์จากแหล่งน้ำที่พบเจริญอย่างรวดเร็วยของไซยาโนแบคทีเรียคือ *Dolichospermum* sp. AARL C014 จากบริเวณคูเมืองลำพูน จังหวัดลำพูนซึ่งถือได้ว่าเป็นรายงานครั้งแรกที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วยของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ และ *Microcystis* sp. AARL C028 จากคูเมืองเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ ด้วยเหตุนี้จึงมีการศึกษาการควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วยของไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิด ทางเลือกหนึ่งที่มีประสิทธิภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมคือการใช้แบคทีเรีย โดยแบคทีเรียที่สามารถควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้นั้นมักพบร่วมกับการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจากแบคทีเรียจะอาศัยไซยาโนแบคทีเรียเป็นแหล่งของคาร์บอนอินทรีย์หรือสารอาหารอื่นๆ (Dziga *et al.*, 2013) ดังเช่นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณเมือกของเซลล์ *Microcystis* นั้นจะอาศัยเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ที่ย่อยสลายหรือทำให้เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียย่อยสลายและใช้เป็นแหล่งของสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญ แต่แบคทีเรียอาจไม่มีผลต่อเซลล์ *Microcystis* เมื่อไซยาโนแบคทีเรียยังอยู่ในช่วงการเจริญหรือมีสภาพที่สมบูรณ์ (Brunberg, 1999 อ้างถึง Stepp *et al.*, 1996; Gao and Yang, 2008) สำหรับแบคทีเรียที่มีรายงานว่าสามารถควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* ได้นั้นพบว่าเป็นแบคทีเรียจีส *Bacillus* และ *Norcadoides* (ธีรศักดิ์ และคณะ, 2543; Zhao *et al.*, 2012) ส่วนแบคทีเรียที่มีรายงานว่าสามารถควบคุมการเจริญของ *Microcystis* ได้แก่ *Bacillus*, *Pedobacter*, *Pseudomonas* (Kang *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2015; Nakamura *et al.*, 2003; Shao *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011) และแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซิสคือ *Streptomyces* (Hua *et al.*, 2009; Phankhajon and Somdee, 2013; Somdee *et al.*, 2013) ซึ่งจากการคัดกรองแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมครั้งนี้พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารานี้สามารถยับยั้งการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญได้สูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 ของการทดลอง สอดคล้องกับ คณพล (2558) ที่คัดแยกแบคทีเรียจากอ่างเก็บน้ำอ่างแก้วที่มีรายงานการเจริญอย่างรวดเร็วยของ *Dolichospermum planctonicum* (Brunnth.) Wacklin, L. Hoffm. & Komárek พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต AK3 สามารถลดปริมาณเส้นสายของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ได้สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 ของการทดลอง นอกจากนี้ในส่วนของการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ในขั้นตอนการคัดกรองมีประสิทธิภาพสูง 56 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 14 เมื่อเปรียบเทียบกับ พงศกร (2556) พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต KS2 และ GS1 สามารถควบคุมการเจริญของ *Microcystis* spp. ได้

มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ในวันแรกของการทดลอง โดยแบคทีเรียที่สามารถควบคุมไซยาโนแบคทีเรียได้นั้นจะมีกลไกในการควบคุมคือไปเกาะที่เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียโดยตรง และ/หรือปลดปล่อยสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย (Shao *et al.*, 2014) จึงอาจแสดงให้เห็นได้ว่าแบคทีเรียแต่ละชนิดมีกลไกที่แตกต่างกันในการควบคุมไซยาโนแบคทีเรีย และพบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มขึ้นเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ในขั้นตอนการหาสภาวะที่เหมาะสม อีกทั้งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้คัดแยกได้จากแหล่งน้ำที่มีรายงานการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษทั้ง 2 ชนิด จึงแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่สามารถลดปริมาณไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษนั้นถูกคัดแยกมาจากแหล่งน้ำที่มีประวัติการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจากแบคทีเรียที่เจริญในแหล่งน้ำที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียนั้นมีกลไกที่ทำให้สามารถอยู่รอดได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Nakamura *et al.*, 2003) นอกจากนี้แบคทีเรียชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียมักเจริญในแหล่งน้ำที่เกิดการเจริญอย่างรวดเร็วอยู่แล้วทำให้การพัฒนาไปใช้งานการควบคุมได้จริงในธรรมชาตินั้นอาจมีความเป็นไปได้สูงกว่าแบคทีเรียที่คัดแยกมาจากแหล่งน้ำอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Shao *et al.* (2014) ที่คัดแยกแบคทีเรียจากทะเลสาบ Donghu ในจังหวัด Hubei ประเทศจีน ซึ่งเป็นทะเลสาบที่มีการรายงานการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis aeruginosa* พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus pumilus* สามารถเจริญได้ดีในการเพาะเลี้ยงร่วมกับ *Microcystis aeruginosa* และสามารถปลดปล่อยสารที่ทำให้เกิดการสลายของเซลล์ *Microcystis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังเช่นแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. Lzh-5 ที่คัดแยกได้จากอ่าว Meiling ในทะเลสาบ Taihu ในประเทศจีน ที่มีรายงานว่าสามารถผลิตสาร hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione และ 3-isopropyl-hexahydropyrrolo[1,2-a]pyrazine-1,4-dione ที่สามารถควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis aeruginosa* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Li *et al.*, 2015)

5.2 ความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย

เมื่อศึกษาความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 พบว่าแบคทีเรียมีที่เพาะเลี้ยงในอาหารทุกความเป็นกรดต่างมีการเจริญอย่างรวดเร็วในระยะ exponential phase จนถึงวันที่ 3 ของการทดลอง จากนั้นมีอัตราการเจริญคงที่จนถึงวันที่ 7 ของการทดลองซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 สามารถเจริญได้ในชุดทดลองที่มีค่าความเป็นกรดต่างตั้งแต่ 6 ถึง 9 เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียพบว่าในชุดการทดลองที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 และ 9 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าจำนวนเส้นสายของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ในชุดควบคุมพบว่าที่ความเป็นกรดต่าง เท่ากับ 7, 8 และ 9 มีปริมาณเส้นสายสูงที่สุดเมื่อทำการเปรียบเทียบกับความ

เป็นกรดต่างเท่ากับ 6 ซึ่งสอดคล้องกับ Chaudhary *et al.* (2013) พบว่า *Anabaena laxa* RPAN8, *A. iyengarii* RPAN9, *A. variabilis* RPAN59 และ *A. oscillarioides* RPAN69 ทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้สูงในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างประมาณ 9.5 แสดงให้เห็นว่า *Dolichospermum* (*Anabaena*) เจริญได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นด่าง ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มสาหร่ายสีเขียวที่สามารถเจริญได้ดีในช่วงความเป็นกรดต่างที่ค่อนข้างกว้างหรือประมาณ 5-10 (ยูวดี และคณะ, 2553) นอกจากนี้ในส่วนของการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับในชุดการทดลองของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 แต่พบว่าหลังวันที่ 7 ของการทดลองแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงในชุดควบคุมมีปริมาณลดน้อยลงทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองเป็นระยะเวลาที่ค่อนข้างนานทำให้อาหารสำหรับแบคทีเรียอาจไม่เพียงพอทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้อย่างต่อเนื่องจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง เมื่อศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่าที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 6 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเท่ากับ 96 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 ของการทดลอง และยังพบว่าในชุดการทดลองที่มีความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8 และ 9 แบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ก็มีประสิทธิภาพค่อนข้างสูงในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับ Li *et al.* (2012) พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. HM-01 สามารถควบคุมการเจริญของ *Microcystis aeruginosa* ได้สูงที่สุดในสภาวะที่ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 8.5 และงานวิจัยของ Nakamura *et al.* (2003) พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis aeruginosa* ได้ในความเป็นกรดต่างสูงถึง 10.1 ทั้งนี้เนื่องจากในธรรมชาติเมื่อเกิดการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียโดยทั่วไปแล้วจะส่งผลทำให้น้ำมีความเป็นด่างเพิ่มมากขึ้น (Mohamed and Alamri, 2012) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้แบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่คัดแยกได้ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำไปใช้ควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียได้จริงในธรรมชาติต่อไปในอนาคต และเมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบคทีเรียในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่าเมื่อทำการทดสอบความแปรปรวนทางเดียวพบว่าทุกความเป็นกรดต่างมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการทดลองพบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในอาหารทุกความเป็นกรดต่างที่ทดลองจึงเป็นสาเหตุให้ทุกชุดการทดลองมีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน

5.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย

การศึกษาอุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียสในการเพาะเลี้ยง *Dolichospermum* sp. AARL C014 ร่วมกับแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่คัดแยกได้ พบว่าในชุดควบคุมแบคทีเรียมีอัตราการเจริญอย่างต่อเนื่องของแบคทีเรียจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7

ของการทดลอง และเมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีประสิทธิภาพในการควบคุมสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสนั้น *Dolichospermum* sp. AARL C014 ไม่สามารถเจริญได้ เมื่อทำการพิจารณาจำนวนเส้นสายในชุดควบคุมไซยาโนแบคทีเรียพบว่า *Dolichospermum* sp. AARL C014 มีการเจริญได้สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามพบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารานั้นสามารถควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 ภายในระยะเวลา 3 วัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ดนุพล (2558) พบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. AK3 ที่คัดได้จากอ่างเก็บน้ำอ่างแก้ว บริเวณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. ได้สูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลา 3 วัน ส่วนการศึกษาการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 โดยแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 พบว่าอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 รองลงมาคืออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสในวันที่ 7 ของการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมไซยาโนแบคทีเรียพบว่า *Microcystis* sp. AARL C028 มีจำนวนเซลล์สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับ Pekkoh *et al.* (2003) ที่พบการเจริญอย่างรวดเร็วของ *Microcystis aeruginosa* ในอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา จังหวัดเชียงใหม่ มีอัตราการเจริญสูงที่สุดที่อุณหภูมิมากกว่า 25 องศาเซลเซียส และนอกจากนี้พบว่าอุณหภูมิ 35 และ 40 องศาเซลเซียสไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ซึ่งสังเกตจากจำนวนเซลล์ในวันที่ 7 ของการทดลอง สอดคล้องกับ Gao and Yang (2008) พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม bacilli ในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย โดยที่อุณหภูมิที่มีความเหมาะสมต่อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. ในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* คือ 25-35°C และงานวิจัยของ Nakamura *et al.* (2003) ที่กล่าวว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* sp. และพบว่าที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ที่คัดแยกได้จากทะเลสาบ Kasumigaura ประเทศญี่ปุ่น สามารถลดจำนวนเซลล์ของ *Microcystis* sp. ได้สูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์หลังวันที่ 3 ของการทดลอง

นอกเหนือจากความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่มีความเหมาะสมในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้แล้ว ยังมีปัจจัยอื่นอีกที่ควรมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นเช่น แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน (Phankhajon and Somdee, 2013) และฟอสเฟตที่แตกต่างกัน (Gao and Yang, 2008) รวมถึงปริมาณแบคทีเรียและอายุของเชื้อแบคทีเรียที่แตกต่างกัน (Somdee *et al.*, 2013) เพื่อให้ทราบ

ถึงสถานะที่เหมาะสมมากยิ่งขึ้นต่อการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดด้วยแบคทีเรีย

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

การทดสอบการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 ซึ่งเป็นไซยาโนแบคทีเรียจืดที่มักพบว่าเกิดการเจริญอย่างรวดเร็วในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Peerapornpisal *et al.*, 2002; Pekkoh, 2008; Okano *et al.*, 2009; Shao *et al.*, 2014) พบว่าเมื่อขยายขนาดเพิ่มมากขึ้นในขนาด 10 ลิตร แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา ยังคงมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้สูงเช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้านี้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำที่มีประวัติการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียมีความเหมาะสมที่นำมาใช้ในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้ เช่นเดียวกับอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธาราที่มีประวัติการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียจืด *Microcystis* มาเป็นเวลานาน (ธีรศักดิ์, 2541; กรมควบคุมมลพิษ, 2553; Pekkoh *et al.*, 2003; Pekkoh, 2008) จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้แบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุม *Microcystis* sp. AARL C028 นอกจากนี้พบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตรในชุดทดลองที่มีการเติมแบคทีเรีย *Bacillus cereus* ร่วมกับ *Microcystis* sp. AARL C028 มีค่าลดลงจะกระทั่งสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 จึงแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ทำให้เซลล์ของ *Microcystis* sp. AARL C028 แตกและตกตะกอนลงด้านล่าง โดยแบคทีเรียที่ควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้นั้นจะมีกลไกในการไปเกาะที่เซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียโดยตรงหรือปลดปล่อยสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียได้ (Shao *et al.*, 2014) เมื่อพิจารณาแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้สามารถยับยั้งการเจริญของ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้หลังจากวันที่ 2 ของการทดลอง โดยมีประสิทธิภาพเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 34.9 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 2 ของการทดลอง และมีประสิทธิภาพเท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 4 ของการทดลอง พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต WMK06 มีประสิทธิภาพสูงในปริมาตรที่เพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับ Kim *et al.* (2008) ที่ทำการศึกษาควบคุมการเจริญของ *Microcystis* จากอ่างเก็บน้ำ Paltang ประเทศเกาหลี ในบ่อคอนกรีตขนาด 300 ลูกบาศก์เมตรพบว่าแบคทีเรียไอโซเลต SM02 สามารถลดการเจริญได้สูงสุด 73.9 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 11 ของการทดลอง ด้วยเหตุนี้แบคทีเรียไอโซเลต WMK06 จึงมีความเป็นไปได้ที่นำไปใช้ได้จริงในธรรมชาติต่อไป โดยอาจผลิตในรูปแบบของไบโอฟิล์มเพื่อใช้ในระบบบำบัดน้ำ (Li *et al.*, 2012) หรือใช้วิธีการตรึงเซลล์แบคทีเรียในวัสดุต่างๆ (Gagala and Mankiewicz-Boczek, 2012) แต่อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกของแบคทีเรียที่ใช้ในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียเพื่อหาแนวทางที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้ต่อไปในอนาคต

5.5 การคัดกรองแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน

จากการศึกษาการย่อยสลายสารพิษ microcystin-LR ด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกได้ พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารานั้นสามารถลดปริมาณสารพิษ microcystin-LR คงเหลือเท่ากับ 0.50 ไมโครกรัมต่อลิตร หรือประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 3 ของการทดลอง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับ Cousins *et al.* (1996) พบว่ากลุ่มประชากรของแบคทีเรียในแหล่งน้ำธรรมชาติพบว่าสามารถย่อยสลาย microcystin-LR ปริมาณ 10 ไมโครกรัมต่อลิตรได้ในระยะเวลาเพียง 1 สัปดาห์ และการศึกษาของ Ramani *et al.* (2012) ที่คัดแยกแบคทีเรียจากทะเลสาบ Okeechobee พบว่าสามารถย่อยสลาย microcystin-LR ปริมาณ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้ 74 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 20 ของการทดลอง ซึ่งพบว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 มีอัตราการย่อยสลายสารพิษได้ไม่สูงมากนัก อย่างไรก็ตามการศึกษากการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินนั้นมีการศึกษามาเป็นเวลานานกว่า 20 ปี โดย Ramani *et al.* (2012) อ้างถึง Jones *et al.* (1994) พบว่าแบคทีเรียพื้นเมืองในแม่น้ำ Murrumbidgee ในประเทศออสเตรเลียสามารถย่อยสลาย microcystin-LR ปริมาณ 1 มิลลิกรัมต่อลิตรได้ในระยะเวลา 5 วัน ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารพิษในแหล่งน้ำธรรมชาติได้นั้น มักพบในแหล่งน้ำธรรมชาติที่เกิดการสะสมของสารพิษโดยจะใช้สารพิษไมโครซิสตินเป็นแหล่งของคาร์บอนและไนโตรเจน (Jones and Orr, 1994) ในการเติบโตของเซลล์ต่อไป

นอกจากนี้แบคทีเรียที่ย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินในกลไก proteolytic ได้นั้นจะสามารถตรวจพบยีน *mlrA* ขนาดประมาณ 800 bp (Alamri, 2010) ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเอนไซม์ microcystinase ในการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน (Okano, 2009) โดยแบคทีเรียที่สามารถตรวจพบยีน *mlrA* นั้นมีรายงานว่าสามารถพบได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยแบคทีเรียแกรมบวกนั้นได้แก่แบคทีเรียจีนัส *Bacillus* (Alamri, 2010; Hu *et al.*, 2012) และแบคทีเรียแกรมลบได้แก่ *Stenotrophomonas* (Chen *et al.*, 2010), *Sphingomonas* (Saito *et al.*, 2003; Somdee *et al.*, 2013), *Sphingopyxis* (Shimizu *et al.*, 2012) เป็นต้น เมื่อทำการตรวจหายีน *mlrA* ในแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินและแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของ *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 พบว่าตรวจไม่พบยีน *mlrA* ในแบคทีเรียไอโซเลทใดเลย โดยแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินได้นั้นจะมีกลุ่มยีน *mlr* ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ microcystinase หรือ metalloprotease (MlrA), serine peptidase 2 (MlrB), metalloprotease 3 (MlrC) และ oligopeptide transporter (MlrD) เพื่อย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน (Gagala and Mankiewicz-Boczek, 2012) สอดคล้องกับ Manage *et al.* (2009) ที่ตรวจไม่พบกลไก proteolytic ในแบคทีเรียที่คัดแยกจากแหล่งน้ำ Scottish จำนวน 3 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินได้นั้น อาจมีกลไกอื่นนอกเหนือจากตรวจ

พบกลุ่มยีน *mlr* ในแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับยีน *mlrA* ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารพิษในประเทศไทยยังมีการศึกษาที่แพร่หลายไม่มากนักและในการทดลองครั้งนี้ไม่มี positive control ที่มียีน *mlrA* ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน มาใช้ในการยืนยันว่าสถานะในการทำปฏิกิริยาถูกโซฟอลิเมอร์นั้นเหมาะสมหรือไม่ อย่างไรก็ตาม ยีน *mlrA* เป็นยีนที่อาจพบได้ในแบคทีเรียบางสายพันธุ์เท่านั้น และยังไม่พบในแบคทีเรียชนิดใดชนิดหนึ่ง นอกจากนี้แบคทีเรียที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับแบคทีเรียที่มียีน *mlrA* ที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินได้นั้นอาจไม่พบยีนชนิดนี้ก็ได้เช่นกัน (Saito *et al.*, 2003) ซึ่งนอกเหนือจากกลไก proteolytic แบคทีเรียยังมีกลไกอื่นที่ใช้ในการกำจัดสารพิษไมโครซิสตินคือ decarboxylation ที่เป็นการกำจัด carboxylate ออกจากโมเลกุลของสารพิษให้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกลไก demethylation ที่เป็นการกำจัดหมู่ methyl ออกจากโครงสร้างของสารพิษ (Dziga *et al.*, 2013; Nybom, 2013) นอกเหนือจากนี้ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียในกลุ่ม probiotic สามารถสร้างเอนไซม์ proteinases ซึ่งมีรายงานว่าสามารถย่อยสลายสารพิษ microcystin-LR ได้ (Nybom, 2013) หรืออาจใช้วิธีการตรวจหาผลิตภัณฑ์ของสารพิษไมโครซิสตินที่ถูกย่อยสลายด้วยแบคทีเรียเพื่อศึกษากลไกอื่นที่นอกเหนือจากที่กล่าวข้างต้น ด้วยเหตุนี้จึงแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 ที่สามารถย่อยสลายสารพิษไมโครซิสตินและตรวจไม่พบยีน *mlrA* นั้นอาจมีกลไกอื่นที่ใช้ในการย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน จึงเป็นสาเหตุให้การศึกษาในครั้งนี้ตรวจไม่พบยีน *mlrA* นั้นเอง

5.6 การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย

เมื่อทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่สามารถควบคุม *Dolichospermum* sp. AARL C014 และ *Microcystis* sp. AARL C028 ได้ ด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ 16s rDNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยแบคทีเรียในกลุ่ม *Bacillus* มีรายงานว่าสามารถสร้างสารปฏิชีวนะได้และมักใช้ในการควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคในพืชได้หลายชนิด (Ajilogba *et al.*, 2013) นอกจากนี้พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคใบจุดสีน้ำตาลในต้นยาสูบ (Fravel and Spurr, 1977) และยังมีการศึกษาการใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* ควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรียที่สร้างสารพิษเช่นเดียวกัน ดังเช่นการศึกษาของ Nakamura *et al.* (2003) ที่ใช้แบคทีเรีย *Bacillus cereus* ที่คัดแยกได้จากโรงงานผลิตน้ำดื่มบริเวณทะเลสาบ Kasumigaura พบว่าสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีมวลโมเลกุลประมาณ 2 กิโลดาลตัน สามารถละลายน้ำได้และมีความทนทานต่ออุณหภูมิสูง ซึ่งมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายไซยาโนแบคทีเรีย *Microcystis aeruginosa* และ *Microcystis*

viridis ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบว่า *Bacillus cereus* ที่คัดแยกได้จากทะเลสาบ Dianchi ประเทศจีน สามารถย่อยสลายเซลล์ของ *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae*, *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis viridis*, *Microcystis wesenbergii*, *Nostoc punctiforme*, *Oscillatoria tenuis* และ *Spirulina maxima* โดยเซลล์ของแบคทีเรียจะยึดเกาะบริเวณเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียทำให้เซลล์แตกสลายไปในที่สุด (Shunyu *et al.*, 2006) และงานวิจัยของ Zhao *et al.* (2012) ที่ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus cereus* L7 ที่คัดแยกได้จากสระน้ำที่มีสารอาหารสูงในเมือง Guangzhou มาศึกษาการยับยั้งและสารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในการควบคุมการเจริญของ *Anabaena flos-aquae* พบว่ามีผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โปรตีน และไฟโคบิลิโปรตีนมีปริมาณลดลง นอกจากนี้ยังมีผลทำให้การทำงานของ malondialdehyde, peroxidase และ catalase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระทำงานเพิ่มมากขึ้น และแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 ที่สามารถลดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินได้นั้น เมื่อทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยใช้ 16s rDNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรียสายพันธุ์ *Proteus mirabilis* โดยแบคทีเรียสายพันธุ์นี้สามารถพบได้ทั่วไปในดินและในน้ำซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้มีรายงานว่าสามารถย่อยสลายสารได้หลายชนิดเช่น การใช้สารสกัดจากแบคทีเรีย *Proteus mirabilis* ในการย่อยสลายคลอรีนให้กลายเป็น trimethylamine และ acetaldehyde ในสภาวะที่มีอากาศ (Sandhu and Chase, 1986) ย่อยสลาย pyrene และย่อยสลายสีย้อม reactive blue 172 (Saratale *et al.*, 2011; Ceyhan, 2012) ด้วยเหตุนี้แบคทีเรียทั้งสองชนิดจึงความเป็นไปได้ที่สามารถควบคุมการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียและลดปริมาณสารพิษไมโครซิสตินได้ต่อไป