

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ง
บทคัดย่อภาษาไทย	จ
ABSTRACT	ฉ
สารบัญตาราง	ณ
สารบัญรูปภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำและวัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	3
2.1 ความรู้เกี่ยวกับไซยาโนแบคทีเรีย	3
2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญอย่างรวดเร็ของไซยาโนแบคทีเรีย	4
2.3 สถานการณ์การเจริญอย่างรวดเร็ของไซยาโนแบคทีเรียในประเทศไทย	7
2.4 สารพิษจากไซยาโนแบคทีเรีย	10
2.5 การตรวจวัดปริมาณสารพิษไมโครซิสติน	15
2.6 การควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	18
2.7 การควบคุมสารพิษไมโครซิสติน	22
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	27
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย	27
3.2 สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย	28
3.3 อาหารเพาะเลี้ยง	28
3.4 วิธีการวิจัย	28
บทที่ 4 ผลการวิจัย	38
4.1 การคัดแยกเชื้อไซยาโนแบคทีเรียบริสุทธิ์	38
4.2 การคัดแยกแบคทีเรียจากแหล่งน้ำธรรมชาติ	40
4.3 การคัดกรองแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	45

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.4	การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมบางประการของแบคทีเรีย ในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	50
4.5	การทดสอบการควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ในปริมาตร 10 ลิตร	59
4.6	การคัดกรองแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน	61
4.7	การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรียโดยลำดับ 16s rDNA	62
4.8	การตรวจสอบกลุ่มยีน <i>mtrA</i> โดยใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส	63
บทที่ 5	อภิปรายผลการวิจัย	64
5.1	การคัดกรองแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการควบคุม การเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	64
5.2	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของ ไซยาโนแบคทีเรีย	66
5.3	อุณหภูมิที่เหมาะสมในการควบคุมการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	67
5.4	การทดสอบการควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ในปริมาตร 10 ลิตร	69
5.5	การคัดกรองแบคทีเรียที่ย่อยสลายสารพิษไมโครซิสติน	70
5.6	การพิสูจน์เอกลักษณ์ของแบคทีเรีย	71
บทที่ 6	สรุปผลการวิจัย	73
เอกสารอ้างอิง		74
ภาคผนวก		88
ภาคผนวก ก	สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงเชื้อ	89
ภาคผนวก ข	การตรวจวัดการเจริญของไซยาโนแบคทีเรีย	92
ภาคผนวก ค	กราฟมาตรฐาน	94
ภาคผนวก ง	น้ำยาตรวจสอบสภาพ	95
ภาคผนวก จ	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	96
ภาคผนวก ฉ	ข้อมูลดิบจากการทดลองการคัดกรองแบคทีเรีย	107
ประวัติผู้เขียน		111

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1	ไซยาโนแบคทีเรียที่มีรายงานว่าสร้าง cyanotoxins
ตาราง 2	ส่วนประกอบในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส
ตาราง 3	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ 27F และ 1525R
ตาราง 4	สภาวะที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ของยีน 16s rRNA
ตาราง 5	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ MF และ MR
ตาราง 6	สภาวะที่ใช้ในการทำพีซีอาร์ของยีน <i>mlrA</i>
ตาราง 7	ลักษณะโคโลนีและพื้นฐานวิทยาของแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากน้ำและตะกอนดินจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา และคูเมืองเชียงใหม่
ตาราง 8	จำนวนเส้นสาย ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้
ตาราง 9	จำนวนเซลล์ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 โดยแบคทีเรียที่คัดแยกได้
ตาราง 10	จำนวนเส้นสาย ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน
ตาราง 11	จำนวนเส้นสาย ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน
ตาราง 12	จำนวนเซลล์ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน
ตาราง 13	จำนวนเซลล์ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 14 การเตรียม stock solution ของอาหาร BG-11	89
ตาราง 15 ส่วนประกอบของ BG-11 Trace metals solution	90
ตาราง 16 ส่วนประกอบของสูตรอาหาร MA	90



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพ 1	ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญอย่างรวดเร็วของไซยาโนแบคทีเรียและ เส้นทางการถ่ายทอดสารพิษสู่มนุษย์	5
ภาพ 2	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพิษ anatoxin-a, homoanatoxin-a และ anatoxin-a(s)	11
ภาพ 3	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพิษ saxitoxins, cylindrospermopsins และ nodularins	13
ภาพ 4	สูตรโครงสร้างทางเคมีของสารพิษไมโครซิสติน	14
ภาพ 5	การย่อยสลายสารพิษ microcystin-LR โดยแบคทีเรีย <i>Sphingomonas</i> sp.	25
ภาพ 6	จุดเก็บตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรียบริเวณคูเมืองลำพูนที่พบการเจริญ อย่างรวดเร็วของ <i>Dolichospermum</i>	30
ภาพ 7	จุดเก็บตัวอย่างไซยาโนแบคทีเรียบริเวณคูเมืองเชียงใหม่ที่พบการเจริญ อย่างรวดเร็วของ <i>Microcystis</i>	30
ภาพ 8	การทดสอบการควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ขนาด 10 ลิตร ในตู้กระจกสี่เหลี่ยมขนาด 7x14x8.5 นิ้ว	33
ภาพ 9	ลักษณะเส้นสายของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่คัดแยกได้จากคูเมืองลำพูน	39
ภาพ 10	ลักษณะโคโลนีและเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่คัดแยกได้จากคูเมืองเชียงใหม่	39
ภาพ 11	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการติดสีแกรมของแบคทีเรียบางชนิด ที่คัดแยกได้จากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่กวงอุดมธารา และคูเมืองเชียงใหม่	44
ภาพ 12	จำนวนเส้นสาย ของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 เมื่อเพาะเลี้ยง ร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไอโซเลทต่างๆ	45
ภาพ 13	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการควบคุม <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014	46
ภาพ 14	ลักษณะเส้นสายของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียไอโซเลท WMK06	46

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 15 จำนวนเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไอโซเลทต่างๆ	48
ภาพ 16 ประสิทธิภาพของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในการควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028	48
ภาพ 17 ลักษณะเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียไอโซเลท WMK06	50
ภาพ 18 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	51
ภาพ 19 จำนวนเส้นสายของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	51
ภาพ 20 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	53
ภาพ 21 จำนวนเส้นสายของ <i>Dolichospermum</i> sp. AARL C014 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	53
ภาพ 22 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	55
ภาพ 23 จำนวนเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่ความเป็นกรดต่างแตกต่างกัน	55
ภาพ 24 ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	57
ภาพ 25 จำนวนเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BG-11 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน	57
ภาพ 26 การควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ในตู้กระจกสี่เหลี่ยมปริมาตร 10 ลิตร ในวันที่ 0 และ วันที่ 7 ของการทดลอง	59
ภาพ 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้ปลาขนาด 10 ลิตร	60

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพ 28	จำนวนเซลล์ของ <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้กระจกสีเหลี่ยมขนาด 10 ลิตร	60
ภาพ 29	ประสิทธิภาพของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06 ในการควบคุม <i>Microcystis</i> sp. AARL C028 ที่เพาะเลี้ยงในตู้ปลาขนาด 10 ลิตร	61
ภาพ 30	การย่อยสลาย microcystin-LR โดยแบคทีเรียจากอ่างเก็บน้ำเขื่อนแม่งวงอุดมธารา	61
ภาพ 31	การวิเคราะห์ phylogenetic tree ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK06	62
ภาพ 32	การวิเคราะห์ phylogenetic tree ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK01	63
ภาพ 33	การตรวจสอบผลิตภัณฑ์ของกลุ่มยีน <i>mlrA</i> ด้วยอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส ของแบคทีเรียไอโซเลท WMK01 และ WMK06	63
ภาพ 34	ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของสไลด์สำหรับนับจำนวน	93