สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัด *Nostoc commune*

Antibacterial activity of *Nostoc commune* extracts

T104568

โดย

นางสาวรุ่งนภา กลัดกันแสง

ว.ท.
รก28ก
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 104568
วันเดือน,ปี - 5 พ.ย. 2552

b 12159277 x
i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัด *Nostoc commune*
Antibacterial activity of *Nostoc commune* extracts

ชื่อนักศึกษา นางสาวรุ่งนภา กลัดกันแสง

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่ 15 **เดือน** พ.ค. **พ.ศ.** 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโดยสารสกัด *Nostoc commune*

Antibacterial activity of *Nostoc commune* extracts

การใช้ *Nostoc commune* ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 5 ชนิด คือ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas fluorescens* และ *Steptococcus agalactiae* ที่ระดับความเข้มข้นของสาร 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตรโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และไขมันหยาบ (crude lipid) ที่สกัดจาก *N. commune* พบว่าสารสกัดจาก *N. commune* ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว คือ *S. agalactiae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก แต่ไม่แสดงผลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp. และ *Pseudomonas fluorescens* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบโดยสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากที่สุด 14.67±0.19 มิลลิเมตร โดยมีความแตกต่างทางสถิติกับสารสกัดไขมันหยาบที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากที่สุด 21.67±0.69 มิลลิเมตร ความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากขึ้นตามไปด้วย และพบว่าสารสกัดไขมันหยาบแสดงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้ดีกว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษในครั้งนี้จะไม่สำเร็จลุล่วงไปได้ หากขาดอาจารย์ 2 ท่าน คือ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ ที่คอยช่วยเหลือและผลักดันให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี โดยเฉพาะผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ ที่ให้ความรู้ ให้คำปรึกษาและให้คำแนะนำแก่ข้าพเจ้าเสมอมา ขอบพระคุณอย่างสูงค่ะ

ขอบพระคุณอาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ให้ความรู้และอบรมสั่งสอนข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบคุณพี่เจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์และคำแนะนำที่ดี

ขอบคุณเพื่อนรุ่น 11 ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจ ให้คำแนะนำและช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ให้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

ขอบคุณนางสาววรรณภา สุนทรดิลกกุล ที่เป็นเพื่อนร่วมทำงาน ถึงแม้ว่าจะไม่อยู่จนสำเร็จลุล่วง แต่เป็นแรงผลักดันที่ทำให้ข้าพเจ้ามีกำลังใจสู้ต่อไป โดยเฉพาะเวลาที่เกิดปัญหาต่าง ๆ จนปัญหาพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอบคุณเพื่อนโรงเรียนพรตพิทยพยัต ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้กำลังใจและคำแนะนำที่ดีทำให้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา น้าและน้องสาว ที่ให้กำลังทรัพย์และกำลังใจตลอดมา

สุดท้ายประโยชน์ของปัญหาพิเศษเล่มนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้แก่บิดา และมารดา

นางสาวรุ่งนภา กลัดกันแสง

พฤษภาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุป	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย	19
2	กิจกรรมต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* ทดสอบสิ่งมีชีวิตความเข้มข้นของแผ่นยา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	20
3	แสดงกิจกรรมของสารสกัดที่ชอบไขมันและชอบน้ำจากไซยาโนแบคทีเรียที่ต่างชนิดกันที่ความเข้มข้นของแผ่นยา 2 มิลลิกรัม	20
4	แสดงปริมาณสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ	21

ตารางผนวกที่		หน้า
1	ความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จาก *Nostoc commune*	25
2	ความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดไขมันหยาบจาก *Nostoc commune*	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงรูปร่างของ *Nostoc commune* ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	8
2	แสดงไขมันหยาบที่สกัดออกมาจาก *Nostoc commune*	13
3	แสดงโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดออกมาจาก *Nostoc commune*	13
4	แสดงการวางแผ่นยาทดสอบบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ	17
5	แสดงสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*	21
6	แสดงสารสกัดไขมันหยาบยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*	22
7	แสดงสารสกัด *Nostoc commune* ไม่มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเมื่อมีโรคสัตว์น้ำเกิดขึ้น เกษตรกรมีการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคสัตว์น้ำซึ่งมีราคาแพงและทำให้เกิดสารตกค้างในสัตว์น้ำ

ไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นพวกโปรคาริโอตที่เก่าแก่ โครงสร้างเซลล์คล้ายกับแบคทีเรียแกมลบ แต่สามารถสังเคราะห์แสงได้เหมือนพืชชั้นสูง มีคลอโรฟิลล์เอและมีสารสีต่าง ๆ ได้แก่ carotenoid และ phycobiloprotein ได้มีรายงานเกี่ยวกับการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพว่าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ เช่น *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* เป็นต้น จึงทำการศึกษาใน *Nostoc commune* เนื่องจาก *N. commune* มีประโยชน์ทางด้านการประมงสามารถนำไปใช้เลี้ยงสัตว์น้ำและมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และไขมันหยาบ (crude lipid) จึงนำมาทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค 5 ชนิด คือ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp. *Pseudomonas fluorescens* และ *Streptococcus agalactiae*

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และไขมันหยาบ (crude lipid) ซึ่งเป็นสารสกัดจาก *Nostoc commune* ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อลดการใช้สารเคมีและยาปฏิชีวนะในการรักษาสัตว์น้ำ
2. ประหยัดค่าใช้จ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

Nostoc ลักษณะเป็นเส้นสาย อยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก มีชีทหุ้มหนาหรือบางสุดแต่ชนิด สร้างเฮเทอโรซิสต์ได้ทุกชนิด ซึ่งอาจอยู่ที่ปลายสุด (terminal) หรืออยู่ระหว่างเซลล์ในเส้นสาย (intercalary) และอาจจะติดกับอะคินีตหรือใกล้เคียง มีลักษณะเป็นวุ้น บางชนิดเหนียว และมีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ อาจเป็นก้อน หรือเป็นเส้นเหมือนเส้นผม เซลล์มีลักษณะกลมหรือค่อนข้างกลม บางชนิดนำมารับประทานได้ โดยเฉพาะ *Nostoc commune* Vaucher มีลักษณะเป็นก้อนกลม ๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-2 เซนติเมตร และ *Nostoc* sp. หรือผักผม ซึ่งมีลักษณะเป็นเส้นเหมือนเส้นผม (กาญจนกาชน์, 2527)

ลักษณะทั่วไปของไซยาโนแบคทีเรีย

ไซยาโนแบคทีเรีย (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) เป็นกลุ่มความหลากหลายของการสังเคราะห์แสง โปรคาริโอต พบในน้ำจืดและน้ำเค็มแหล่งกำเนิดพบเมื่อ 3-4 ล้านปี โครงสร้างเซลล์คล้ายกับแบคทีเรียแกรมลบ แต่สังเคราะห์แสงเองเหมือนพืชชั้นสูง มีคลอโรฟิลล์และมีสารสีแดงและน้ำเงิน (Mundt et al., 2001)

1. อนุกรมวิธานของ *Nostoc*

Kingdom Monera
Division Cyanophyta
Order Nostocales
Family Nostocaceae

2. ลักษณะทั่วไป

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีลักษณะและคุณสมบัติหลายประการที่แตกต่างไปจากสาหร่ายพวกอื่น ๆ อาทิเช่น รงค์วัตถุไม่ได้อยู่ในพลาสติด แต่กระจายอยู่ทั่วไปในไซโตพลาสซึม ยังไม่มีนิวเคลียสที่แท้จริง ไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ เปลี่ยนสีได้ สามารถเคลื่อนไหวได้โดยไม่ใช้หนวด หรือแฟลเจลลา เป็นต้น (กาญจนกาชน์, 2527)

2.1 รงควัตถุ รงควัตถุของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ประกอบด้วย

2.1.1 คลอโรฟิลล์ เป็นคลอโรฟิลล์เอ

2.1.2 แคโรทีนอยด์ ประกอบด้วย

- เบตา-แคโรทีน
- แซนโธฟิลล์หลายชนิด ส่วนใหญ่จะเป็นมิกโซแซนธิน มิกโซแซนโธฟิลล์

2.1.3 ไฟโคบิลิน ประกอบด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ซี-ไฟโคไซยานิน
- อัลโลไฟโคไซยานิน
- ซี-ไฟโคเออริธรินิน

ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีคลอโรพลาสต์ชัดเจน เพียงแต่มีไทลาคอยด์ ซึ่งจะอยู่เดี่ยว ๆ ไม่มีเยื่อบาง ๆ หุ้ม และไม่มีการจัดเรียงตัวกันเป็นชั้น ๆ จะพบเป็นอิสระทั่วไปในเซลล์ หรือบริเวณรอบ ๆ นอกของตัวเซลล์ จึงเรียกบริเวณที่มีรงควัตถุเหล่านี้ว่า โครโมพลาสซึม (chromoplasm) บริเวณไทลาคอยด์นี้เป็นที่อยู่ของคลอโรฟิลล์เอ ส่วนรงควัตถุอื่น ๆ จะเกาะอยู่บนผิวของไทลาคอยด์ในลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ ซึ่งเราเรียกว่า ไฟโลบิลิโซม

การที่สาหร่ายชนิดนี้มีทั้งคลอโรฟิลล์ และซี-ไฟโคไซยานิน จึงทำให้มองเห็นเป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน ถ้าสาหร่ายชนิดไหนมีซี-ไฟโคเออริธรินมากอาจจะมองเห็นเป็นสีแดงปนอยู่ด้วย สัดส่วนของรงควัตถุดังกล่าวมีสีต่าง ๆ กัน ซึ่งทำให้สาหร่ายชนิดนี้มีสีแตกต่างกันไป (ยุวดี, 2546)

2.2 ส่วนประกอบของเซลล์

2.2.1 ผนังเซลล์ ผนังเซลล์ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน มีองค์ประกอบที่สำคัญคล้ายคลึงกับที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ ภายนอกมักมีซีท ซึ่งเป็นสารเมือกหุ้มอยู่ มีความหนาบางต่าง ๆ กัน อาจมีสีหรือไม่มีสี หรือเป็นชั้น ๆ พวกที่เป็นเส้นสาย ส่วนของเซลล์ที่เรียงกันเป็นแถว เรียก ทรัยโคม (trichome) ดังนั้นเส้นสาย (filament) จึงประกอบด้วยทรัยโคมและซีทรวมกัน เซลล์ในทรัยโคมจะมีการเชื่อมโยงของไซโตพลาสซึม (cytoplasmic connection) ระหว่างเซลล์โดยผ่านทางรูเล็ก ๆ ที่ผนังเซลล์

การที่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีซีทหุ้มอยู่ภายนอกเช่นนี้ จึงสามารถทำให้สามารถขึ้นอยู่ในที่แห้งแล้งได้ เพราะสามารถดูดซึมและอุ้มน้ำได้ดี

2.2.2 ไซโตพลาสซึม ถัดจากผนังเซลล์เข้าไปข้างใน เป็นเยื่อบาง ๆ เรียก พลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) หุ้มไซโตพลาสซึมไว้ ไซโตพลาสซึมส่วนนอกที่อยู่ใกล้ผนังเซลล์มักมีรงควัตถุกระจายอยู่มาก เรียกส่วนนี้ว่า โครโมพลาสซึม (chromoplasma) ไซโตพลาสซึมตอนในมีส่วนที่คล้ายนิวเคลียส เรียก เซนโตรพลาสซึม (centroplasm) ส่วนนี้ไม่มีผนังหุ้ม จึงไม่ใช่นิวเคลียสที่แท้จริง

2.2.3 แก๊สแวคิวโอล ในโครโมพลาสซึมมีแก๊สแวคิวโอล (gas vacuole) ลักษณะเป็นเม็ดเล็ก ๆ กระจายอยู่ทั่วไป โดยเฉพาะพวกเป็นแพลงก์ตอน เช่น *Nostoc* แก๊สแวคิวโอลมีสีเหลืองแต่ถ้าดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำจะเห็นเป็นสีดำ และเมื่อใช้กำลังขยายสูง ๆ จะเห็นเป็นสีแดงเนื่องจากการสะท้อนแสง

2.2.4 เฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) เป็นเซลล์พิเศษที่พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็นเส้นสายบางชนิดเท่านั้น เฮเทอโรซิสต์เป็นเซลล์ที่มีลักษณะแตกต่างจากเซลล์ธรรมดา ตรงที่มีผนัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์หนา และภายใจเซลล์มีลักษณะใสเป็นสีเหลืองจาง ๆ เนื่องจากขาดรงควัตถุสังเคราะห์แสง เหลือเฉพาะแต่พวกแคโรทีน

2.2.5 การตรึงไนโตรเจน เช่น *Nostoc* เฮเทอโรซิสต์นั้น มักจะเกิดในขณะที่อาหารที่ใช้เลี้ยงขาดสารประกอบไนโตรเจน ถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงมีธาตุอาหารสมบูรณ์ อาจมีเฮเทอโรซิสต์เกิดขึ้นบ้างเล็กน้อยหรือไม่มีเลย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ไม่มีเฮเทอโรซิสต์ก็สามารถตรงไนโตรเจนได้ ไม่ว่าจะเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นเส้นสาย การตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เกิดขึ้นได้ทั้งในภาวะที่อยู่เป็นอิสระหรือในภาวะที่อยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น

2.2.6 การสืบพันธุ์ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (กาญจนกาซน์, 2527)

2.2.7 การก่อให้เกิดวอเตอร์บลูม เช่น *Nostoc* เมื่อเกิดสภาพวอเตอร์บลูมก็จะทำให้เกิดมลพิษของน้ำบริเวณนั้น น้ำจะเน่าเสียเปลี่ยนสี เกิดกลิ่นเหม็น น้ำขาดออกซิเจน นอกจากนี้สาหร่ายบางชนิดยังปล่อยสารพิษออกมาในน้ำ ทำให้ปลาตายหรือสัตว์น้ำบริเวณนั้นตาย เนื่องจากสารพิษเหล่านี้ทำให้การหายใจติดขัดและอาจทำลายเนื้อเยื่อของตับ

2.2.8 ความสามารถทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงและต่ำมาก ๆ ได้ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ชีทหนา และโมเลกุลของโปรตีนภายในโปรโตพลาสซึมจับตัวกันแน่น จึงช่วยทำให้สาหร่ายชนิดนี้มีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าปกติได้ ในน้ำจืดพบ *Nostoc*

ประโยชน์ของไซยาโนแบคทีเรีย

1. ความสำคัญต่อระบบนิเวศ ไซยาโนแบคทีเรียดำรงชีวิตแบบออโตโทรฟิค (autotrophic organism) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ผลิตออกซิเจนให้แก่สิ่งแวดล้อมอย่างสำคัญที่เดียว ประมาณกว่า 50% ของออกซิเจนในน้ำเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย นอกจากนี้ยังเป็นผู้ผลิต (producer) และเป็นส่วนหนึ่งของห่วงโซ่อาหารขั้นต้น ๆ ของสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเป็นอาหารของตัวอ่อนแมลง ลูกกุ้ง ลูกปลา หรือแม้แต่ปลาที่โตเต็มที่แล้ว จะเห็นได้ว่า ผลผลิต (productivity) จากทะเล มหาสมุทร แม่น้ำ ลำคลอง และทะเลสาบทั่วไปก็ตาม จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในน้ำในแหล่งนั้น ๆ ถ้าฤดูกาลใดมีแพลงก์ตอนพืชมากก็มักจะมีสิ่งมีชีวิตในน้ำ เช่น กุ้ง หอย ปู ปลา มากตามไปด้วย

2. ความสำคัญทางด้านอาหาร

2.1 อาหารของสัตว์ ประเทศทางยุโรปอาจจะเป็นอาหารสดให้กับสัตว์ เช่น วัว ควาย แพะ แกะ เพราะสัตว์เหล่านี้มีน้ำย่อยพิเศษที่สามารถย่อยผนังเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรียได้ บางประเทศอาจจะนำไปผสมเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงเป็ด ไก่ และหมู โดยนำมาผสมกับปลาป่น เปลือกหอยป่น รำข้าว และยีสต์ ในปัจจุบันประเทศไทยเราเองก็พยายามนำเอาเทคโนโลยีใหม่ ๆ มาใช้ในการเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายเซลล์เดียวแล้วนำสาหร่ายมาเป็นอาหารของสัตว์ต่อไป เช่น การนำน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมต่าง ๆ น้ำทิ้งเหล่านี้มีสารอาหารที่สาหร่ายจะใช้ในการเจริญเติบโตได้ เมื่อได้สาหร่ายปริมาณมาก ๆ ก็นำมาเลี้ยงไรแดง โรติเฟอร์ ซึ่งพวกนี้จะเป็นอาหารของลูกกุ้งลูกปลาต่อไป การนำเอาไซยาโนแบคทีเรียพวก *Spirulina* มาอาหารผสมเลี้ยงปลาตู้ พบว่าปลามีสีสันสดใสกว่าเดิม เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีเบต้าแคโรทีนปริมาณสูง มีการนำเอา *Spirulina* ผสมกับเนื้อปลา ใช้เป็นอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลากะพงขาว พบว่าลูกปลามีอัตราการอยู่รอดและเจริญเติบโตได้ดีและเร็วกว่าอาหารผสมชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ยังมีการนำเอา *Spirulina* มาผสมกับอาหารปกติเพื่อเลี้ยงไก่และนกกระทา พบว่าอัตราการเจริญสูงขึ้น เนื้อมีสีชมพูสดขึ้น และไข่แดงมีสีสดแดงกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารปกติ

2.2 อาหารคน ชาวจีนเป็นพวกแรกที่นำสาหร่ายมาเป็นอาหาร สำหรับประเทศไทยก็นิยมรับประทานสาหร่าย นำ *Nostoc* และ *Nostochopsis* หรือที่เรียกว่า ไข่หิน มาต้มใส่น้ำหวานผสมกับน้ำแข็งรับประทาน หากพิจารณาคุณค่าแล้วจะพบว่าไม่สูงมากนัก คาร์โบไฮเดรตซึ่งส่วนมากเป็นพวกเซลลูโลสก็เป็นชนิดที่ย่อยยาก มีโปรตีนไม่มากนัก นอกจากพวกสาหร่ายเซลล์เดียวที่เป็นโคโลนีเล็ก ๆ เช่น *Spirulina* จะมีโปรตีนสูงกว่าชนิดอื่น ๆ

3. ความสำคัญทางด้านการเกษตร มีการนำเอาสาหร่ายมาใช้ด้านการเกษตรหลายด้านด้วยกัน ที่ชัดเจนก็คือไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับนาข้าว อาจจะได้มาจากเซลล์สาหร่ายตามธรรมชาติ หรืออาจจะใช้แหนแดงที่มีสาหร่ายพวก *Anabaena* อยู่บริเวณช่องว่างในใบ (leaf cavity) มาใส่ในนาข้าวก็ได้เช่นกัน ปัจจุบันมีการวิจัยว่า แหนแดงชนิดใดที่จะช่วยเพิ่มผลผลิตในนาข้าวได้ดีกว่าชนิดอื่น

4. ความสำคัญทางด้านใช้เป็นตัวยารักษาโรคต่าง ๆ ยารักษาโรคทั่วไป ปัจจุบันหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทยด้วยนิยมใช้สาหร่ายอัดเม็ด ซึ่งทำมาจากไซยาโนแบคทีเรียพวก *Spirulina* มาเป็นอาหารเสริมและมีข้อมูลอ้างอิงถึงความสามารถในการใช้เป็นตัวยารักษาโรคเบาหวาน โรคที่เกิดจากภูมิคุ้มกันบกพร่อง โรคตับและโรคตาบางชนิด ประชากรแถบแม่น้ำน่าน จังหวัดน่านนำไซยาโนแบคทีเรีย *Nostochopsis* ซึ่งชาวบ้าน เรียกว่า ลอน หรือออองลอน มาใช้เป็นยาแก้ร้อนใน

5. การใช้เป็นตัวชี้สภาพมลพิษทางน้ำ สาหร่ายแต่ละชนิดมีแหล่งที่อยู่อาศัยและช่วงความทน (range of tolerance) ต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมือนกัน โดยเฉพาะสาหร่ายแต่ละชนิดไวต่อสภาพรีดิวซ์หรือออกซิไดซ์ในแหล่งน้ำต่าง ๆ ได้ง่าย ดังนั้นในแหล่งน้ำต่างกันจึงมีสาหร่ายแต่ละชนิดเจริญเติบโตไม่เหมือนกัน จึงใช้สาหร่ายเป็นดัชนี (indicator) แสดงสภาพของแหล่งน้ำนั้นได้ว่ามีลักษณะเช่นใด แหล่งน้ำที่มีสารอาหารมาก มักจะพบสาหร่ายน้อยประเภท แต่ละประเภทจะมีจำนวนมาก บางครั้งอาจพบสาหร่ายเพียงชนิดเดียว แต่มีปริมาณมากก็ได้ ในแหล่งน้ำดังกล่าวจะพบไซยาโนแบคทีเรีย *Oscillatoria* (ยุวดี, 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากไซยาโนแบคทีเรีย

Issa (1999) ทำการศึกษาการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* หาความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับการเจริญเติบโต และอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับผลิตยาปฏิชีวนะ พบว่าอุณหภูมิที่ 30 °C ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและโปรตีนมีมากที่สุด ที่อุณหภูมิ 25 °C เหมาะสมสำหรับผลิตยาปฏิชีวนะ ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย คือ *Bacillus cereus*, *Staphyllococcus aureus*, *Esocherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* ต่อต้านเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคผิวหนัง คือ *Microsporum canis*, *Trichophyton rubrum*, *T. gaurgii* และ *Chrysosporium*

Kreitlow *et al.* (1999) ได้สกัดสารจากไซยาโนแบคทีเรีย โดยใช้ Dichlormethane, Methanol, Hexane, Ethylacetate และน้ำเป็นตัวสกัด เพื่อทดสอบการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ 7 ชนิด พบว่าต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* และ *Serratia marcescens* ต่อต้านยีสต์ ได้แก่ *Candida maltosa* ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* ต่อต้านเซลล์เนื้อเยื่อติดต่อ (fibroblast cells) เป็นอันตรายต่อเซลล์ของมนุษย์

Volk and Franz (2006) ได้สกัดไซยาโนแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Nodularia harveyana* และ *Nostoc insulare* มีสารที่ปล่อยออกมา คือ norharmane (9H-pyrido(3,4-*b*)indole) และ 4,4'-dihydroxybiphenyl กิจกรรมต่อต้านสิ่งมีชีวิต *Synechocystic aquatilis* norharmane HCl มีผลมากกว่า 4,4'-dihydroxybiphenyl เนื่องจากความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลของการทดสอบสารประกอบทั้งสอง (norharmane HCl : Mr=204, 4,4'-dihydroxybiphenyl : Mr=186)น่าสังเกต 4,4'-dihydroxybiphenyl ที่สกัดจาก *Nostoc insulare* การต่อต้านสิ่งมีชีวิตอยู่ในระดับปานกลาง 4,4'-dihydroxybiphenyl ถูกทำให้ความเข้มข้นสูงขึ้นสูงสุดที่ 128 ไมโครกรัม ml^{-1} ความเข้มข้นที่สูงขึ้นไม่ต่อต้าน *E. coli* และมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Pseudomonas aeruginosa* สามารถสังเกตเห็นได้ แต่ไม่มีผลในการยับยั้งที่สมบูรณ์ ถูกสังเกตระหว่างการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของสาร norharmane HCl *Bacillus* ถูกค้นพบในระหว่างทดสอบสิ่งมีชีวิตทั้งหมด ส่วนใหญ่ต่อต้าน *Staphylococcus aurenu* มีความว่องไวสูงกว่าของ 4,4'-dihydroxybiphenyl แบคทีเรียแกรมลบส่วนใหญ่ต่อต้าน *Bacillus cereus* และยีสต์ *Candida albicans* แสดงความว่องไวสูงกว่า

Mundt *et al.* (2001) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย 35 ชนิด ได้แก่ *Gloeocapsa caldariorum*, *Microcystis firma*, *Microcystis aeruginosa*, *Synechocystis aquatilis*, *Oscillatoria agardhii*, *Oscilliatoria prolifica*, *Oscillatoria rubescens*, *Phormidium tenue*, *Pseudanabaena catenata*, *Anabaena variabilis*, *Calothrix gracilis*, *Cylindrospermum majus*, *Nodularia harveyana*, *Nodularia spumigena*, *Nostoc linckia*, *Scytonema bonerii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบเม็ดเลือดขาวของมนุษย์ ใช้ทดความเข้มข้นของสารสกัดมากกว่า 0.14 และ 1.4 µg/ml 24 สารสกัดแสดงอันตรายต่อเม็ดเลือดขาว มี 11 สารสกัดที่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์ ทดสอบใน LTT (Lymphocyte Transformation Test) แบ่งเป็น 3 พวก สารสกัดของ *Oscillatoria tenuis* SPH03 , *Limonthrix redekei* HUB051 และ *Synechocystic aquatilis* 428 ยับยั้งสารที่ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ของ HPBLs (Haman Peripheral Blood Lymphocytes) มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ อิทธิพลของสารสกัดเกี่ยวกับกิจกรรมเอนไซม์ cyclooxygenase, lipoxygenase และ leucine อะมิโนเปปไทด์ กิจกรรมของ cyclooxygenase ไม่มีอิทธิพล ในทางตรงกันข้ามกิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase ถูกยับยั้งโดยสารสกัด 33 ชนิด *(Gloeocapsa caldariorum, Microcystis firma, Oscillatoria agardhii,Oscilliatoria prolifica, Oscillatoria rubescens, Phormidium tenue, Pseudanabaena catenata, Anabaena variabilis, Calothrix gracilis, Cylindrospermum majus, Nodularia harveyana, Nodularia spumigena, Nostoc linckia, Scytonema bonerii)* จากสารสกัด 35 ชนิด

Kaji *et al.* (2002) ได้สกัด calcium spirulan คือ โพลีแซคคาไรด์ที่มีซัลเฟตปนอยู่ (Ca-SP) จาก *Spirulina platensis* ยับยั้งการเกิดบาดแผลที่เซลล์เยื่อบุผิวชั้นเดียวการอธิบายอิทธิพลของ Ca-SP เกี่ยวกับการฟื้นฟูเซลล์ชั้นเดียวที่ได้รับบาดแผลโพลีแซคคาไรด์มีความสำคัญ เช่น เป็นต้นกำเนิดของภาวะผนังเส้นเลือดหนา (atherosclerosis) Ca-SP คาดว่าฟื้นฟูบาดแผล การสังเกตโครงสร้างของขอบที่ได้รับบาดแผลจากเยื่อบุผิวแสดงเซลล์ซึ่งปรากฏในพื้นที่บาดเจ็บลดลง โดย Ca-SP ไม่ได้ฟื้นฟูหลังจากบ่ม 48 ชั่วโมง

Hayakawa *et al.* (1997) ทำการศึกษา Ca-SP จาก *Spirulina platensis* กระตุ้นการผลิต t-PA มีรายงานว่าในเซลล์ IMR-90 จากใยเยื่อปอดของตัวอ่อนมนุษย์ เพาะเลี้ยง 48 ชั่วโมง ซึ่ง Ca-SP ลดลง Ca-SP กระตุ้นการผลิต t-PA ในเซลล์ IMR-90 ขึ้นอยู่กับจำนวนปริมาณยาต่อครั้ง (dose)การทำงานร่วมกับ thrombin thrombin เป็นตัวกระตุ้นการผลิต t-PA และ gene transcription t-PA ลดลงในเซลล์ IMR-90 การรวมกันของ Ca-SP และการผลิต t-PA ในเซลล์ IMR-90 ถึงแม้ว่า Ca-SP กระตุ้นการผลิต t-PA โดย 3.1-fold ให้สูงมากขึ้น โดย thrombin การผลิต t-PA โดย H-SP และ Na-SP H-SP ไม่มีอิทธิพลกระตุ้นการผลิต t-PA ในกลุ่มซัลเฟตที่มีการรบกวน Na-SP ตัวกระตุ้นการผลิต t-PA ในเซลล์ IMR-90 เหมือนกับ Ca-SP ผลชี้บอกว่า Ca-SP รักษาโดย Ca หรือ Na มีความสำคัญเกี่ยวกับการกระตุ้นการผลิต t-PA

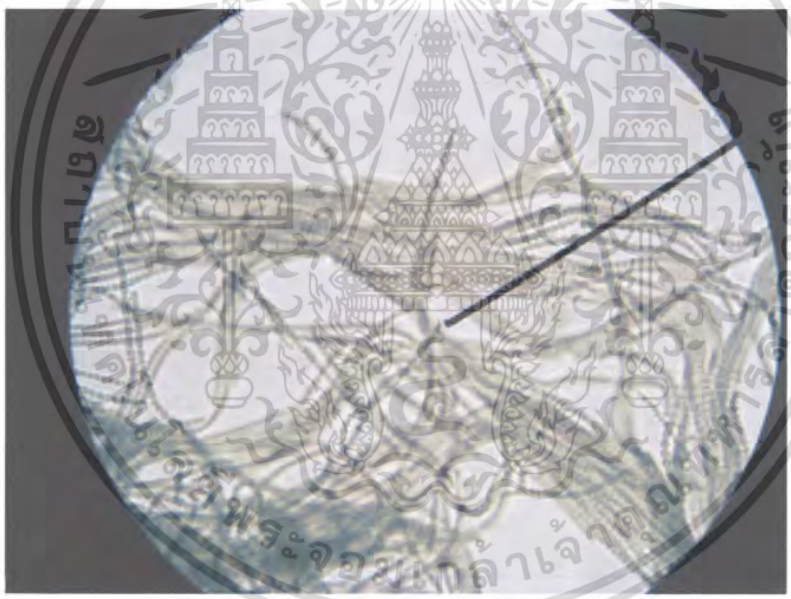
Zheng *et al.* (2006) ศึกษาสารสกัดที่มีอยู่ในไซยาโนแบคทีเรียออกมา ได้แก่ exopolysaccharide จาก *Aphanothece halophytica* Fremy (EPAH) นำสารสกัดมาทดสอบการยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (H1N1) มีอิทธิพลต่อโรคปอดบวมในหนูที่ติดเชื้อ การยับยั้งเชื้อไวรัสโดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การให้กิน EPAH ทางปากส่งผลให้ปอดอักเสบลดลง จำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มมากขึ้นและปริมาณเซลล์ที่กลืนสิ่งแปลกปลอม (phagocytic) เพิ่มมากขึ้นด้วย

ลักษณะของ *Nostoc*

รูปร่างของ *Nostoc* มีลักษณะเป็นเส้น ไม่แตกแขนง มีซีทหุ้มเฮเทอโรซิสต์ สายบิดงอมากกว่า และอยู่รวมกันเป็นจำนวนมาก โดยฝังตัวอยู่ในสารเมือกที่มีลักษณะเป็นวุ้นหนา มองดูเป็นก้อน ต้องขยี้เมือกที่หุ้มออกก่อน จึงจะเห็นเส้นสายจำนวนมาก เซลล์มีลักษณะกลม หรือค่อนข้างกลม เฮเทอโรซิสต์และอะคินีทจะอยู่ติดกัน หรือใกล้เคียงกัน และอยู่ในเส้นสาย ซีทที่หุ้มตัวตรัยโคมมักหนา ทัลลัสมีลักษณะเป็นก้อนเมือก ประกอบด้วยเส้นสายตรงหรือโค้งงอ แตกแขนงแบบแท้จริงแต่ไม่เป็นระเบียบ บางแขนงสั้น บางแขนงยาว มีเฮเทอโรซิสต์เกิดปลายแขนงสั้น ๆ บางชนิดอาจเกิดภายในเส้นสาย สาหร่ายชนิดนี้มักอยู่ตามพื้นดินที่ชื้นแฉะหรือตามหน้าผาชื้น ๆ นำมารับประทานได้



ภาพที่ 1 แสดงรูปร่างของ *Nostoc commune* ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

ประโยชน์ของ *Nostoc*

1. เป็นอาหารคน ชาวจีนเป็นพวกแรกที่ใช้สาหร่ายเป็นอาหาร ในหลายประเทศทั่วโลก รู้จักนำสาหร่ายมาประกอบอาหาร ทั้งสภาพสดและแห้ง ในประเทศไทย เช่น *Nostoc* มายำเป็นอาหาร หรือมาต้มใส่น้ำหวานผสมน้ำแข็งรับประทาน

2. ความสำคัญทางด้านการเกษตร มีการนำเอาสาหร่ายมาใช้ด้านการเกษตรหลายด้านด้วยกัน ที่ชัดเจนก็คือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดช่วยเพิ่มไนโตรเจนให้กับนาข้าว ดินที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพวก *Nostoc* ปกคลุมอยู่มาก ๆ จะพบว่ามีการเพิ่มสารอินทรีย์และไนโตรเจนให้กับดินบริเวณนั้น

3. ความสำคัญทางด้านใช้เป็นยารักษาโรคต่าง ๆ (ยุวดี, 2546)

แบคทีเรียบางชนิดที่ทำให้เกิดโรคสัตว์น้ำ

1. *Aeromonas hydrophila*

A. hydrophila เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค Motile Aeromonas Septicemia(MPS), Bacteria Hemorrhagic Septicemia, Red Pest, Red Spot เกิดในกบเรียก Red Leg

1.1 ลักษณะรูปร่าง

เชื้อมีลักษณะเป็นแท่งปลายมน ติดสีแกรมลบ สามารถเคลื่อนที่ได้ สามารถพบเชื้อได้บ่อยในน้ำจืด

1.2 อาการของโรค

ลักษณะภายนอกของปลาที่เป็นโรค hemorrhagic septicemia ตามครีบและผิวตัว ลักษณะท้องบวมน้ำ ตาโปน (exopthalmia) เกล็ดตั้งพอง สีผิวตัวเปลี่ยนไปในทางเข้มขึ้น ลักษณะภายในเมื่อเปิดช่องท้องจะมีน้ำขุ่นสีเลือด ตับขีดจาง ไตบวม อวัยวะภายในทั้งหมดตกเลือดทั่วไป ปลาว่ายน้ำเสียการทรงตัว

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อชนิดนี้เกิดในปลาดุกมีชื่อว่า โรคโคนครีบหูบวม ในปลาดุกขนาดเล็กจนไปถึงขนาดใหญ่ อาการของโรคที่สำคัญคือโคนครีบหูบวมแดง มีแผลตกเลือดทั้งตัว ช่องท้องมีน้ำสีเหลืองขุ่นปนเลือด ตับและม้ามบวมโต ไตทั้งส่วนหน้าและส่วนหลังบวมแดง ในปลาช่อนที่เป็นโรคระบาดในปี 2525-2526 อาการของปลาจะเป็นแผลเน่าตามลำตัว เนื้อ แหว่งเป็นแผลลึก ท้องทะลุ ลำตัวซีด ตาโปนและขุ่น

2. *Pseudomonas fluorescens*

P. fluorescens เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค *Pseudomonad septicemia*

2.1 ลักษณะรูปร่าง

มีรูปร่างเป็นแท่งตรงหรือแท่งโค้งเล็กน้อย ติดสีแกรมลบ สามารถเคลื่อนที่ได้และเจริญเติบโตได้ที่มีอุณหภูมิต่ำ ไม่สร้างสปอร์

2.2 อาการของโรค

ปลาที่ติดเชื้อ *Pseudomonad septicemia* มักจะอยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่ดีเนื่องจากการเลี้ยงรวมตัวหนาแน่นมากเกินไป ความไม่สมดุลของอาหาร จะทำให้ปลาอ่อนแอ ทำให้เชื้อ *Pseudomonas* จะเข้าทำอันตรายเป็น secondary infection ทันที ปลาจะมีอาการเหมือนกับการติด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *A. hydrophila* จะมีจุดเลือด (petechiae และ red spots) ตามผิวตัวและครีบ รวมทั้งช่องท้องและอวัยวะภายในทั้งหมด ท้องบวมน้ำ ผิวตัวสีเปลี่ยนไป

3. *Pseudomonas* sp.

Pseudomonas ส่วนใหญ่เป็นเชื้อฉวยโอกาสในคน, สัตว์และพืช

3.1 ลักษณะรูปร่าง

เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบที่เป็นแท่งตรงหรือโค้งเล็กน้อย ไม่สร้างสปอร์

3.2 อาการของโรค

คล้ายกับของ *P. fluorescens* แต่ไม่สร้างสารเรืองแสง

4. *Vibrio alginolyticus*

Vibrio ทำให้เกิดโรค Vibriosis, Ulcer Disease, Red Pest, Red Boil, Salt Water Furanculosis (ปภาศิริ, 2538)

4.1 ลักษณะรูปร่าง

Vibrio เป็นเชื้อที่มีรูปร่างเป็นแท่งตรงหรือโค้งเล็กน้อย ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ และสามารถเคลื่อนที่ได้ ส่วนใหญ่จะสามารถพบเชื้อได้ทั่วไปในบริเวณน้ำทะเลและน้ำกร่อย

4.2 อาการของโรค

ก่อให้เกิดการติดเชื้อในเลือดแบบเฉียบพลัน และก่อโรคเรื้อรังเป็นจุด โดยทั่วไปมักพบโรค Vibriosis ร่วมกับภาวะเครียดหรือการมีบาดแผลทางกายภาพ (นันทริกา, 2539)

5. *Streptococcus agalactiae*

S.agalactiae เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรค Streptococcosis

5.1 ลักษณะรูปร่าง

รูปร่างกลมหรือเป็นรูปไข่ ติดสีแกรมบวก มักจะอยู่เป็นคู่หรือลูกโซ่ เคยมีรายงานทั้งในปลาน้ำจืด น้ำกร่อยและน้ำเค็ม (ปภาศิริ, 2538)

5.2 อาการของโรค

ปลามีอาการเบื่ออาหารและมีการบุกรุกของแบคทีเรียที่ระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้การทำงานผิดปกติส่งผลให้ปลา ว่ายน้ำควงสว่าน เซื่องซึมเฉื่อยชา ลำตัวบิดงอ และทำให้การว่ายน้ำผิดทิศทาง ปลาป่วยส่วนมากจะมีการแสดงออกมาทั้ง endophthalmia และexophthalmiaเกิดการติดเชื้อในกระแสเลือดแล้วกระจายเข้าไปในอวัยวะภายใน ลักษณะอาการที่แสดงออกมาชัดเจนคือจะมีการตกเลือดและอักเสบที่ ตับ ไต ม้าม หัวใจ สมองและลำไส้ภายในร่วมกับอาการบวมที่ตับและไตในบางครั้ง ส่วนเยื่อบุช่องท้องจะมีการยึดติดกับอวัยวะภายในและผนังช่องท้อง (http://www.thefishsite.com/articles/190/streptococcus-in-tilapia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. การเลี้ยง *Nostoc commune* และเก็บเซลล์
   - 1.1 ขวดน้ำเกลือ
   - 1.2 ตะแกรงกรอง
   - 1.3 ตู้เขี่ยเชื้อแบบลมเป่า (Laminar flow)
   - 1.4 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
   - 1.5 น้ำกลั่น
   - 1.6 เครื่องชั่ง
   - 1.7 อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11
   - 1.8 หัวเชื้อ *N. commune*
   - 1.9 ตู้อบความร้อน (Hot air oven)
2. การสกัดโพลีแซคคาไรด์และไขมันหยาบจาก *N. commune*
   - 2.1 เครื่องลดความดัน (Rotary evaporator)
   - 2.2 suction pump
   - 2.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)
3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาทดสอบ
   - 3.1 เข็มฉีดยา
   - 3.2 ปลานิล ปลาดุก และกุ้งขาว
   - 3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptic soy agar และ Tryptic soy broth
   - 3.4 กล้องจุลทรรศน์
   - 3.5 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)
   - 3.6 ตู้อบเครื่องแก้ว (Oven)
   - 3.7 จานเลี้ยงเชื้อ
   - 3.8 ชุดย้อมแกรมแบคทีเรีย
   - 3.9 ชุดผ่าตัดสัตว์น้ำ
4. การทดสอบ *N. commune* ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (clear zone)
   - 4.1 แผ่นทดสอบ (paper disc)
   - 4.2 ไม้พันสำลี
   - 4.3 Pipette

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 Micropipette

4.5 tip

4.6 เครื่องปั่น (Vortex mixture)

4.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA)

4.5 น้ำเกลือ 0.85%

4.6 เกลือ

4.7 ปากคีบ

วิธีการ

แผนการทดลอง

1. การเลี้ยง *N. commune* และเก็บเซลล์
2. การสกัดโพลีแซคคาไรด์และไขมันหยาบจาก *N. commune*
3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาทดสอบ
4. การทดสอบ *N. commune* ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย

วิธีการทดลอง

1. การเลี้ยง *N. commune* และเก็บเซลล์

1.1 นำหัวเชื้อสาหร่าย *N. commune* มาเลี้ยงในขวดน้ำเกลือขนาด 1 ลิตร โดยให้อาหารสูตร BG-11 ให้ออกซิเจนและแสง เป็นเวลา 15-30 วัน

1.2 เมื่อเลี้ยงครบ 15-30 วัน นำเซลล์มาเก็บไว้ด้วยตะแกรงกรองขนาด 15 ไมครอน

1.3 นำเซลล์สาหร่ายที่กรองแล้วไปอบที่ตู้อบความร้อน อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2 วัน

1.4 ชั่งน้ำหนักและจดบันทึก

1.5 เก็บเซลล์ไว้ในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาใช้

2. การสกัดโพลีแซคคาไรด์และไขมันหยาบจาก *N. commune*

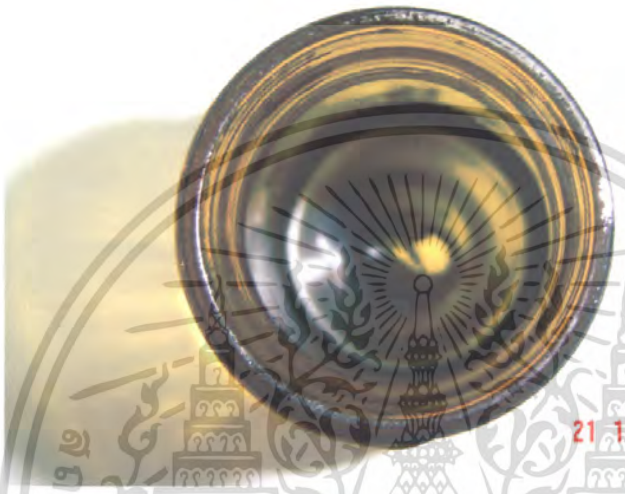
2.1 นำเซลล์ที่เก็บไว้มาบดให้ละเอียด

2.2 นำมาสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง 3 ครั้ง จากนั้นกรองจะได้กากเซลล์และ Filtrate ออกมานำ Filtrate มาเข้าเครื่องลดความดัน (Rotary evaporator) จะได้เป็นไขมันหยาบ (crude lipid) ออกมาดังแสดงในภาพที่ 2 ส่วนกากเซลล์นำมาสกัดต่อไปในข้อ 2.3

2.3 นำกากเซลล์นำมาสกัดต่อด้วย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิห้อง 3 ชั่วโมง 2 ครั้ง จากนั้นกรองจะได้กากเซลล์และ Filtrate นำกากเซลล์มาสกัดต่อไปในข้อ 2.4 ส่วน Filtrate ทิ้งไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 นำกากเซลล์นำมาสกัดต่อด้วยน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง 12 ชั่วโมง 2 ครั้ง จากนั้นกรองจะได้กากเซลล์และ Filtrate นำกากเซลล์ทิ้งไป ส่วน Filtrate นำมาตกตะกอนด้วย 1% CTAB (Hexadecyltrimethylammonium Bromide) จากนั้นนำมาล้างตะกอนจนได้โพลีแซคคาไรด์ออกมาดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 2 แสดงไขมันหยาบที่สกัดออกมาจาก *N. commune*

ภาพที่ 3 แสดงโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดออกมาจาก *N. commune*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาทดสอบ

3.1 เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียใน slant แล้วนำมาบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C

3.2 เตรียมความขุ่นของแบคทีเรียและใช้น้ำเกลือ 0.85% เป็นตัวทำละลาย

3.3 ใส่เชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ลงในเข็มฉีดยา

3.4 ฉีดใส่ปลาหรือกุ้งขาว เชื้อแบคทีเรีย 1 ชนิดต่อปลาหรือกุ้งขาว 1 ตัว ทิ้งไว้ 1 คืนให้ปลาหรือกุ้งขาวเป็นโรค

3.5 จับปลาหรือกุ้งขาวมาผ่าบริเวณที่ฉีดเชื้อแบคทีเรียไว้จากนั้นมาเขี่ยลงบนจานเลี้ยงเชื้อ

3.6 นำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ ประมาณ 12-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C

3.7 เลือกโคโลนีไปเขี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้ง จนได้โคโลนีเดี่ยวๆ ใช้ในการทดสอบการติดสีโดยการย้อม Gram stain เมื่อย้อมสีเชื้อแบคทีเรียแล้ว นำมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ดูลักษณะและการติดสีเพื่อทดสอบดูว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียชนิดเดียวกับที่ฉีดใส่ปลาและกุ้งขาวหรือไม่

3.8 เมื่อเป็นเชื้อแบคทีเรียตัวเดียวกับที่เราฉีดใส่ปลาหรือกุ้งขาวแล้ว ทำการเก็บเชื้อแบคทีเรียโดยเขี่ยใน slant แล้วนำมาบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C

3.9 นำ slant มา stab เก็บไว้แล้วนำมาบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C และเก็บในตู้เย็นจนกว่าจะนำมาใช้ แต่ไม่ควรเกิน 1 เดือน

4. การทดสอบ *N. commune* ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย

4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบ Mueller-Hinton Agar (MHA) ซึ่งเป็นอาหารที่ดีที่สุดสำหรับทดสอบ

4.2 นำเชื้อแบคทีเรียที่เรา stab เก็บไว้นำมาบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C จากนั้นนำมา slant แล้วนำมาบ่มในตู้บ่มเชื้อเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C จึงนำไปใช้ทดสอบ

4.3 เตรียมความขุ่นของสารละลายเชื้อแบคทีเรีย โดยใช้น้ำเกลือ 0.85% เป็นตัวทำละลาย เปรียบเทียบความขุ่นของเชื้อแบคทีเรียกับ 0.5 Mac Farland มาตรฐาน (เตรียมโดย $BaCl_2$ 0.05 ml และ NH_4SO_4 9.95 ml) เขย่าก่อนใช้

4.4 นำโพลีแซคคาไรด์ที่สกัดไว้มาละลายในน้ำกลั่น และไขมันหยาบที่สกัดไว้มาละลายในคลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) มาแบ่งเป็นระดับความเข้มข้นดังนี้

ครั้งที่ 1 : 0, 0.25, 0.5, 1, 2 และ 4 กรัมต่อลิตร

ครั้งที่ 2 : 0, 4, 6, 8, 10 และ 12 กรัมต่อลิตร

ครั้งที่ 3 : 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร

โดยระดับความเข้มข้นสามารถคำนวณได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนในล้านส่วน (ppm) = มิลลิกรัมต่อลิตร

4.5 นำแต่ละความเข้มข้นมาใส่ลงใน plate ปริมาตรที่ใส่คือ 2 มิลลิลิตรต่อแผ่นยาทดสอบ ส่วนแผ่นยาทดสอบควบคุมของโพลีแซคคาไรด์ใช้น้ำกลั่นและแผ่นยาทดสอบควบคุมของไขมันหยาบใช้คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) ปริมาตรที่ใส่คือ 2 มิลลิลิตรต่อแผ่นยาทดสอบโดยใส่ตามปริมาตรที่ที่แสดงไว้ดังนี้

ครั้งที่ 1 ที่ทดสอบต้องการความเข้มสูงสุดที่ 4000 ppm = 0.04 มิลลิกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร

ppm	ไขมันหยาบ(มิลลิลิตร)	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) (มิลลิลิตร)
0	0	2
250	0.125	1.875
500	0.25	1.75
1000	0.5	1.5
2000	1	1
4000	2	0
ppm	โพลีแซคคาไรด์(มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	2
250	0.125	1.875
500	0.25	1.75
1000	0.5	1.5
2000	1	1
4000	2	0

ครั้งที่ 2 ที่ทดสอบต้องการความเข้มข้นสูงสุดที่ 12000 ppm = 0.12 มิลลิกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร

ppm	ไขมันหยาบ(มิลลิลิตร)	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) (มิลลิลิตร)
0	0	2
4000	0.66	1.34
6000	1	1
8000	1.33	0.67
10000	1.66	0.34
12000	2	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ppm	โพลีแซคคาไรด์ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	2
4000	0.66	1.34
6000	1	1
8000	1.33	0.67
10000	1.66	0.34
12000	2	0

ครั้งที่ 3 ที่ทดสอบต้องการความเข้มข้นสูงสุดที่ 50000 ppm = 0.5 มิลลิกรัมต่อ 10 มิลลิลิตร

ppm	ไขมันหยาบ(มิลลิลิตร)	คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (2:1) (มิลลิลิตร)
0	0	2
10000	0.4	1.6
20000	0.8	1.2
30000	1.2	0.8
40000	1.6	0.4
50000	2	0

ppm	โพลีแซคคาไรด์ (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	2
10000	0.4	1.6
20000	0.8	1.2
30000	1.2	0.8
40000	1.6	0.4
50000	2	0

4.6 นำแผ่นยาทดสอบมาใส่ในแต่ละความเข้มข้นที่เตรียมไว้ โดยค่อย ๆ หยดโพลีแซคคาไรด์หรือไขมันหยาบในแต่ละแผ่นยาทดสอบให้ทั่วสม่ำเสมอกัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 5-10 นาที

4.7 เปรียบเทียบความขุ่นของสารละลายเชื้อแบคทีเรียกับ 0.5 Mac Farland มาตรฐานให้ได้ความขุ่นเท่ากัน

4.8 ใช้ไม้พันสำลีที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มลงในสารละลายเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้แล้วจากข้อ 4.7 มาลาก swab ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่วและสม่ำเสมอกัน

4.9 รอให้ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง 3-5 นาที แต่ไม่เกิน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ภาพที่ 4 แสดงการวางแผ่นยาทดสอบบนผิวอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.10 คีบแผ่นยาทดสอบที่ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำต่อเชื้อแต่ละชนิดมาวางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อดังแสดงในภาพที่ 4

4.11 นำไปบ่มไว้ในตู้บ่มเชื้อ ประมาณ 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C

4.12 นำมาวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแต่ละแผ่นทดสอบ บันทึกผล มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การบันทึกข้อมูล

บันทึกเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียหน่วยเป็นมิลลิเมตร

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS for window version 15.0

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนมีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

104568

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 1 จากตารางจะเห็นได้ว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และสารสกัดไขมันหยาบ (crude lipid) จาก *Nostoc commune* แสดงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว คือ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก สารสกัดโพลีแซคคาไรด์แสดงบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ดังภาพที่ 5 มากที่สุดที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร คือ 14.67±0.19 มิลลิเมตรและบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียน้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร คือ 10.67±0.19 มิลลิเมตร สารสกัดไขมันหยาบบริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ดังภาพที่ 6 มากที่สุดความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร คือ 21.67±0.69 มิลลิเมตร และบริเวณยับยั้งเชื้อที่น้อยที่สุดที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร คือ 14.67±1.02 มิลลิเมตร ในส่วนของแบคทีเรียชนิดอื่นที่ทดสอบ คือ *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus*, *Pseudomonas* sp. และ *Pseudomonas fluorescens* เป็นแบคทีเรียแกรมลบทั้งหมด ไม่แสดงบริเวณการยับยั้งดังภาพที่ 7 รายงานของ Issa (1999) จากตารางที่ 2 พบว่าบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* แสดงการยับยั้งอย่างชัดเจนกับเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกคือ *Bacillus cereus* และ *Staphyllococcus aureus* โดยปรากฏบริเวณการยับยั้งเส้นผ่าศูนย์กลาง 11-15 มิลลิเมตร บริเวณการยับยั้งของแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบคือ *Esocherichia coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยปรากฏบริเวณการยับยั้งเส้นผ่าศูนย์กลาง 6-10 มิลลิเมตร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองครั้งนี้ที่สกัดสารจาก *Nostoc commune* ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *Streptococcus agalactiae* และสอดคล้องกับผลของ Kreitlow et al. (1999) รายงานว่าสารสกัดด้วย Dichlormethane, Methanol, Hexane, Ethylacetate และน้ำ จาก *Anabaena* sp. 7120, *Osillatoria tenuis* 03, *Oscillatoria rubescens* 016, *Anabaena solitaria* AS, *Oscillatoria* sp. 022, *Limnothrix* sp. 051 และ *Nodularia* sp. (waterbloom 97-8) ไม่แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ในตารางที่ 3 แสดงสารสกัดที่ละลายในน้ำและละลายในไขมันที่สกัดมาจากไซยาโนแบคทีเรียที่แตกต่างกันมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวกอย่างน้อย 1 ชนิดโดยใช้เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 3 ชนิดมาทดสอบ ได้แก่ *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* จะเห็นได้ว่า *M. flavus* มีความว่องไวต่อสารสกัดมากที่สุด เนื่องจากสารสกัดเกือบทุกชนิดที่ทดสอบสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ สกัดด้วย dichlormethane จาก *Oscillatoria* sp. แสดงกิจกรรมต่อต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้มากที่สุด ตารางที่ 4 แสดงปริมาณสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 แสดงความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย (average±S.E.)

ความเข้มข้นของไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ(กรัมต่อลิตร)	ความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิด (เส้นผ่าศูนย์กลางหน่วยเป็นมิลลิเมตร)				
1.ความเข้มข้นของโพลีแซคคาไรด์ *N. commune*	*S. agalactiae*	*P. fluorescent*	*P.* sp.	*A. hydrophila*	*V. alginolyticus*
0	0[a]	-	-	-	-
10	10.67±0.19[b]	-	-	-	-
20	11.67±0.19[bc]	-	-	-	-
30	12.67±0.19[cd]	-	-	-	-
40	13.67±0.19[de]	-	-	-	-
50	14.67±0.19[e]	-	-	-	-
2.ความเข้มข้นของไขมันหยาบ *N. commune*					
0	0[a]	-	-	-	-
10	14.67±1.02[b]	-	-	-	-
20	17.00±0.88[bc]	-	-	-	-
30	19.00±0.88[cd]	-	-	-	-
40	20.00±0.88[de]	-	-	-	-
50	21.67±0.96[e]	-	-	-	-
3. ความเข้มข้นของโพลีแซคคาไรด์ *Gloeocapsa* sp.					
40	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-
Calothrix parietina					
30	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษในแนวตั้งเดียวกันที่แตกต่างกัน คือ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 กิจกรรมต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ของ *Oscillatoria angustissima* และ *Calothrix parietina* ทดสอบสิ่งมีชีวิตความเข้มข้นของแผ่นยา 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

	Activity[a]	
Strain tested	*Oscillatoria anguntissima*	*Calothrix parietina*
Bacteria		
Bacillus cereus(+)	+++	+++
Staphylococcus aureus(+)	+++	+++
Escherichia coli(-)	++	++
Pseudomonas aeruginosa(-)	++	++

[a]++ หมายถึงบริเวณการยับยั้งมีความกว้าง 6-10 มิลลิเมตร และ +++ หมายถึงบริเวณการยับยั้งมีความกว้าง 11-15 มิลลิเมตร

ที่มา : Issa (1999)

ตารางที่ 3 แสดงกิจกรรมของสารสกัดที่ชอบไขมันและชอบน้ำจากไซยาโนแบคทีเรียที่ต่างชนิดกันที่ความเข้มข้นของแผ่นยา 2 มิลลิกรัม

		Zone of inhibition(in mm diameter)		
Cyanobacteria	Extract	*S. aureus*	*B. subtilis*	*M. flavus*
	Dichlormethane	++	+	-
Osicalloria tenuis 03	Methanol	++	-	++
O. rubescens 016	Methanol	+++	++	++
Anabaena sp. 7120	Hexane	-	-	++
A. solitaria AS	Hexane	-	+	++
Oscillatoria sp. 022	Dichlormethane	+++	++	++
Limnothrix sp. 051	Hexane	++	++	++
	Ethylacetate	-	++	+++
Waterbloom 97-8	Water	-	-	++

[a] — หมายถึง ไม่มีบริเวณการยับยั้ง, + หมายถึงบริเวณการยับยั้งน้อยกว่า 1 มิลลิเมตร, ++ หมายถึงบริเวณการยับยั้งมีความกว้าง 1-8 มิลลิเมตร และ +++ หมายถึงบริเวณการยับยั้งมีความกว้างมากกว่า 8 มิลลิเมตร

ที่มา : Kreitlow *et al.* (1999)

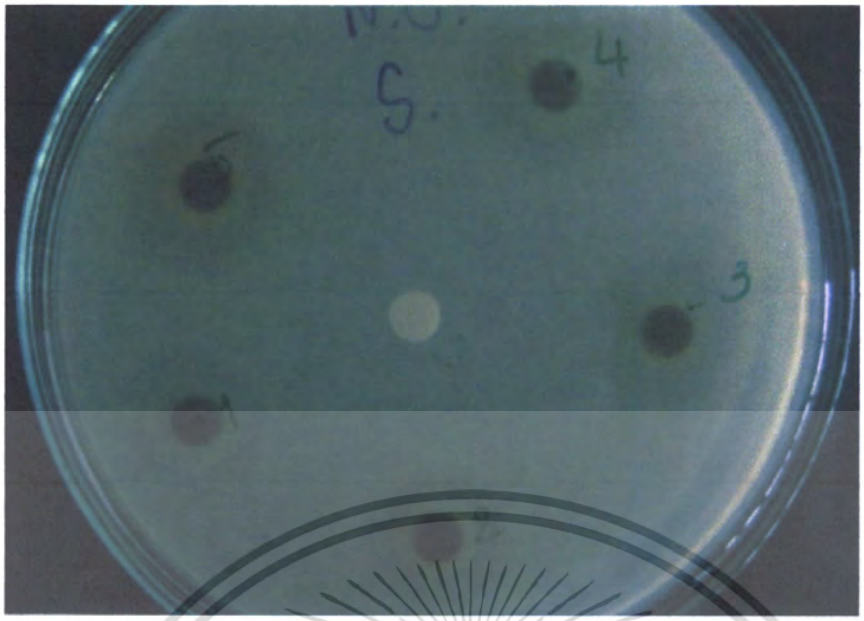
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

ครั้งที่	สาหร่าย	น้ำหนักอบแห้ง (กรัม)	น้ำหนักโพลีแซคคาไรด์ (กรัม)	น้ำหนักไขมันหยาบ (กรัม)
1	*N. commune*	45	4.29	5.50
2	*N. commune*	18	0.18	0.53
3	*N. commune*	9	-	0.50
	Gloeocapsa sp.	-	0.50	-
	Calothrix parietina	-	0.50	-

ภาพที่ 5 แสดงสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 แสดงสารสกัดไขมันหยาบยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*

ภาพที่ 7 แสดงสารสกัด *Nostoc commune* ไม่มีการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดของ *Nostoc commune* ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) และไขมันหยาบ (crude lipid) แสดงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียเพียงชนิดเดียว *Streptococcus agalactiae* โดยสารสกัดโพลีแซคคาไรด์ที่ความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากที่สุด 14.67±0.19 มิลลิเมตร และที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้น้อยที่สุด 10.67±0.19 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดไขมันหยาบที่ความเข้มข้น 50กรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากที่สุด 21.67±0.69 มิลลิเมตร และที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้น้อยที่สุด 14.67±1.02 มิลลิเมตร ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้มากขึ้นตามไปด้วย จะเห็นได้ว่าสารสกัดไขมันหยาบแสดงการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* ได้ดีกว่าสารสกัดโพลีแซคคาไรด์

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการทดลองใช้เชื้อแบคทีเรียแกรมบวกชนิดอื่น ๆ ในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย. คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 343 น.

นันทริกา ชันซื่อ. 2539. แบคทีเรียวิทยาในปลา. คณะสัตว์แพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. หน้า 38-69

ปภาศิริ ศรีโสภาภรณ์. 2538. โรคและพยาธิของสัตว์น้ำ. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี. 190 น.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 546 น.

Hayakawa, Y., T. Hayashi, H. Kyoko, T. Ozawa, K. Niiya, and N. Sakuragawa. 1997. Calcium spirulan as an inducer of tissue-type plasminogen activator in human fetal lung fibroblasts. Biochimica et Biophysica Acta. 1355: 241-247.

Issa, A.A. 1999. Antibiotic production by cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*. Environment Toxicology and Pharmacology. 8: 33-37.

Kaji, T., Y. Fujiwara, Y. Inomata, C. Hamada, C. Yamamoto, S. Shimada, J.B. Lee, and T. Hayashi. 2002. Repair of wounded monolayers of cultured bovine aortic endothelial cells is inhibited by calcium spirulan, a novel sulfated polysaccharide isolated from *Spirulina platensis*. Life Sciences. 70: 1841-1848.

Kreitlow, S., S. Mundtoyd and U. lindequist. 1999. Cyanobacteria-a potential source of new biologically actived substances. Journal of Biotechnology. 70: 61-63.

Mundt, S., S. Kreitlow, A. Nowotny, and U. Effmert. 2001. Biochemical and pharmacological investigations of selected cyanobacteria. Internation Journal of Hygiene and Environment Health. 203: 327-334.

Volk, R. and F.H. Furkert. 2006. Antialgal, antibacterial and antifungal activity of two metabolites produced and excreted by cyanobacteria during growth. Microbiological Research. 161: 180-186.

Zheng, W., C.Chen, Q. Cheng, Y. Wang, and C. Chu. 2006. Oral administration of exopolysaccharide from *Aphanothece halophytica* (Chroococcales) significantly inhibits influenza virus (H1N1)-induced pneumonia in mice. International Immunopharmacology. 6: 1093-1099.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดโพลีแซคคาไรด์จาก *Nostoc commune*

ความเข้มข้นของโพลีแซคคาไรด์ (กรัมต่อลิตร)	ความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* (เส้นผ่าศูนย์กลางหน่วยเป็นมิลลิเมตร)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0	0	0
10	1	11	11
20	11	12	12
30	12	13	13
40	13	14	14
50	14	15	15

ตารางผนวกที่ 2 ความสามารถของการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันของสารสกัดไขมันหยาบจาก *Nostoc commune*

ความเข้มข้นของไขมันหยาบ (กรัมต่อลิตร)	ความสามารถในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย *S. agalactiae* (เส้นผ่าศูนย์กลางหน่วยเป็นมิลลิเมตร)		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	0	0	0
10	18	14	12
20	20	15	16
30	22	18	17
40	23	19	18
50	25	20	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้