



ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลกระทบของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเปลี่ยนแปลง
ทางเนื้อเยื่อของปลาดุก

Effect of Cyanobacteria on pathological changes in catfish.

โดย

นางสาวอุษาวรรณ เนาว์อุดม

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

Department of Fisheries Science Faculty of Agricultural Technology

King Mongkut's Institute of Technology Lardkrabang

Bangkok 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ผลกระทบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเปลี่ยนแปลง
ทางเนื้อเยื่อของปลาดุก

Effect of Cyanobacteria on pathological changes in catfish.

ชื่อนักศึกษา นางสาวอุษาวรรณ เนาว์อุดม

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบุญ

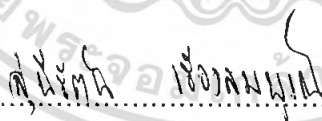
ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....



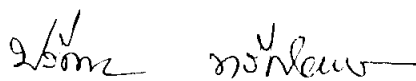
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุนีรัตน์ เรืองสมบุญ)

ภาควิชารับรองแล้ว



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่... ๑๑...เดือน... พ.ศ. ๒๕๕๗

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชื่อเรื่อง ผลกระทบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเปลี่ยนแปลง
ทางเนื้อเยื่อของปลาดุก

Effect of Cyanobacteria on pathological changes in catfish.



T104556

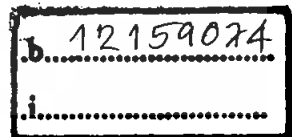
โดย

นางสาวอุษาวรรณ เนาว์อุดม

รฟ.

ด 864 ล

เลขหมู่..... 2550
เลขทะเบียน..... 104556
วันเดือนปี..... 5 พ.ย. 2562



ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ผลกระทบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุก

Effect of Cyanobacteria on pathological changes in catfish.

การศึกษาความสัมพันธ์ของ Cyanobacteria ในบ่อเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆในปลาดุกลูกผสม โดยทำการเก็บแพลงก์ตอนและตัวอย่างปลาในบ่อเลี้ยงของเกษตรกรเขตลาดกระบังจำนวน 3 บ่อ ทุก 2 สัปดาห์ ตลอดระยะเวลาการเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน และทำการวิเคราะห์ชนิดและความหนาแน่นของแพลงก์ตอนตลอดจนการประเมินการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลา ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบ Cyanobacteria ในบ่อจำนวน 7 ชนิด ได้แก่ *Oscillatolia* sp., *Microcystis* sp., *Spirulina* sp., *Chroococcus* sp., *Lyngbya* sp., *Merismopedia* sp. และ *Pseudanabaena* sp. พบชนิดที่สร้างพิษ Microcystins ได้แก่ *Oscillatolia* sp., *Microcystis* sp. และ *Lyngbya* sp. ชนิดที่พบมากที่สุด ได้แก่ *Oscillatolia* sp. และอวัยวะเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ *Oscillatolia* sp. มีจำนวน 746.21×10^2 cell/L ซึ่งเนื้อเยื่อบริเวณต่างๆ เกิดการเปลี่ยนแปลง คือ บริเวณตับมีเซลล์ที่ตายจับตัวเป็นก้อน พบเม็ดเลือดขาวจำนวนเพิ่มมากขึ้น บริเวณกระเพาะอาหารและลำไส้พบเม็ดเลือดขาวจำนวนเพิ่มมากขึ้น และบริเวณเหงือกพบมีการเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ ที่ ช่วยให้กำลังใจตลอดมา ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ทวีกิจการ ที่ช่วยผลักดันและคอยให้คำปรึกษาจนมีวันนี้ และขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่ ช่วยให้คำแนะนำในเรื่องต่างๆและกวดขันดูแลในเรื่องการเรียน สุดท้ายขอขอบคุณพี่ๆห้อง lab ที่ ช่วยในเตรียมอุปกรณ์ต่างๆ และพี่ปริญญาโททุกคน

นางสาวอุษารวรรณ เนาว์อุดม

พฤษภาคม พ.ศ.2551



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	13
ผลการทดลองและวิจารณ์	15
สรุปและข้อเสนอแนะ	41
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	43



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การสะสม Microcystin ในระบบต่างๆของปลาสามชนิดในทะเลสาบ Suwa	6
2	อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักต่อน้ำหนักตัว(L/BW)และถุงน้ำดีต่อน้ำหนักตัว(G/BW)	7
3	จำนวนเซลล์ตับของคาร์ฟที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ หลังได้รับสารmicrocystin ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน	7
4	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Oscillatolia</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	21
5	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Spirulina</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	23
6	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Microcystis</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	25
7	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Chroococcus</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	27
8	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Psuedanabaena</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	29
9	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Merismopedia</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	31
10	จำนวน Cyanobacteria ชนิด <i>Lyngbya</i> sp. ทั้ง 30 สัปดาห์	33
11	จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 1	35
12	จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 2	37
13	จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 3	39

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของกลุ่มเซลล์ (colony) ของสาหร่ายชนิด <i>Microcystis</i> sp.	2
2	เข้มข้นของสารอาหารและความอุดมสมบูรณ์ของ <i>Microcystis aeruginosa</i> บริเวณเหนือปากน้ำ	3
3	การเปรียบเทียบผลรวมของ Microcystins จากการเก็บตัวอย่างในธรรมชาติแต่ละปี และจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างกัน	4
4	อัตราการตายของเอ็มบริโอปลาคาร์พหลังจากได้รับพิษเป็นเวลา 120 ชั่วโมง	5
5	ลักษณะเซลล์ดับที่เลี้ยงในสภาวะปกติและได้รับพิษ microcystin	8
6	ลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อไต	9
7	ลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารและทางเดินอาหารส่วนปลาย	10
8	ลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อดับ	11
9	เนื้อเยื่อดับปกติ	15
10	เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารปกติ	16
11	เนื้อเยื่อลำไส้ปกติ	
12	เนื้อเยื่อไตปกติ	17
13	เนื้อเยื่อเหงือกปกติ	
14	ลักษณะผิดปกติของตับ	18
15	ลักษณะการผิดปกติของกระเพาะอาหาร	19
16	ลักษณะการผิดปกติของลำไส้	19
17	ลักษณะการผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก เกิด Hyperplasia	20
18	ปริมาณ <i>Oscillatoria</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	22
19	ปริมาณ <i>Spirulina</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	24
20	ปริมาณ <i>Microcystis</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	26
21	ปริมาณ <i>Chroococcus</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	28
22	ปริมาณ <i>Psuedanabaena</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	30
23	ปริมาณ <i>Merismopedia</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	32
24	ปริมาณ <i>Lyngbya</i> sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์	34
25	ปริมาณของ Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 1	36
26	ปริมาณของ Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 2	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือ Blue green algae จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่ม Cyanobacteria ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิต เซลล์เดี่ยวที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น แต่เมื่อมีการแบ่งตัว เจริญเติบโตเป็นจำนวนมากจะรวมกันเป็นกลุ่มโคโลนีที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถสังเคราะห์แสงได้เองซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่สามารถสังเคราะห์แสงเองได้ นอกจากนี้ในเซลล์แบคทีเรียยังมีสาร Phycocyanin ที่มีสีน้ำเงินเขียว จึงทำให้มีสีดังกล่าว แต่นักวิทยาศาสตร์มักเรียกว่าสาหร่าย เพราะแบคทีเรียเหล่านี้เจริญได้ดีตามแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วโลก Cyanobacteria ที่พบมากตามแหล่งน้ำมีหลายชนิด แต่ชนิดที่ก่อให้เกิดพิษมากที่สุด คือ *Microcystis aeruginosa* และ *Anabeana flos-aquae* ซึ่งสามารถผลิตสารพิษ คือ Microcystin และ Anatoxin ตามลำดับ Microcystin มีทั้งหมด 3 ชนิด คือ Microcystin ชนิด LR, YR และ RR โดยชนิดหลังมีความเป็นพิษน้อยที่สุด สำหรับชนิด YR เป็นชนิดที่มีการศึกษากันมากที่สุด พิษที่เห็นเด่นชัดของ Microcystin คือ พิษต่อตับ (Hepatotoxin) microcystin ในปริมาณมากทำให้เซลล์ตับตายและทำลายเส้นเลือดที่หล่อเลี้ยงภายในตับ การเกิดพิษต่อคนหรือสัตว์มักได้รับสารนี้ปนเปื้อนมากับน้ำและในอาหาร ความรุนแรงมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับปริมาณสารพิษในน้ำ รวมทั้งชนิด ขนาด เพศ และอายุของสัตว์ ดังนั้นหากมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในปลาที่ใช้เป็นอาหารและเลี้ยงในบ่อที่มีสาหร่าย *Microcystis* sp. เจริญเติบโตอยู่ ว่าได้รับผลกระทบหรือไม่อย่างไรน่าจะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ เพื่อใช้ในการพัฒนาการเลี้ยงให้ได้สัตว์น้ำที่มีคุณภาพและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาถึงผลกระทบของ Cyanobacteria ในบ่อเลี้ยงต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาดุก

การตรวจเอกสาร

เนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีองค์ประกอบภายในเซลล์เรียกว่า Gas vacuole ซึ่งช่วยในการลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ ถูกคลื่นและลมพัดพามาบริเวณใกล้ชายฝั่ง เมื่อสัตว์ต็มน้ำที่มีสาหร่ายที่สร้างสารพิษปนเปื้อนอยู่อาจได้รับอันตรายถึงตายได้ โดยทั่วไปสาหร่ายจะปลดปล่อยสารพิษลงสู่แหล่งน้ำเมื่อเซลล์ตายหรือเซลล์แก่ หรือเกิดการรั่วของผนังเซลล์ การตายของสัตว์ที่ได้รับสารพิษเข้าไปเนื่องมาจากการย่อยเซลล์สาหร่ายที่กินเข้าไปนั่นเองปัจจัยที่มีผลก่อให้เกิดการตายของสัตว์เมื่อได้รับสารพิษ ได้แก่ ชนิดและปริมาณของสารพิษที่ผลิตโดยสาหร่าย ปริมาณความเข้มข้นของเซลล์สาหร่าย ชนิด เพศ และขนาดของสัตว์ สาหร่ายที่พบว่ามีสารพิษแพร่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue-green algae) ที่พบได้บ่อยและมีปริมาณมาก ได้แก่ *Microcystis aeruginosa* ซึ่งลอยอยู่บริเวณผิวน้ำจำนวนมาก และก่อให้เกิดปัญหาเนื่องจากสาหร่ายสร้างสารพิษ เรียกว่า ไมโครซิสติน (Microcystins) เป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อตับ (Hepatotoxin) และพบว่าเป็นตัวเร่งให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองด้วย

ไมโครซิสติน

สาหร่ายที่พบว่ามีสารพิษแพร่ขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน



ภาพที่ 1 ลักษณะของกลุ่มเซลล์ (colony) ของสาหร่ายชนิด *Microcystis* sp.

ที่มา: www.google/microcystis

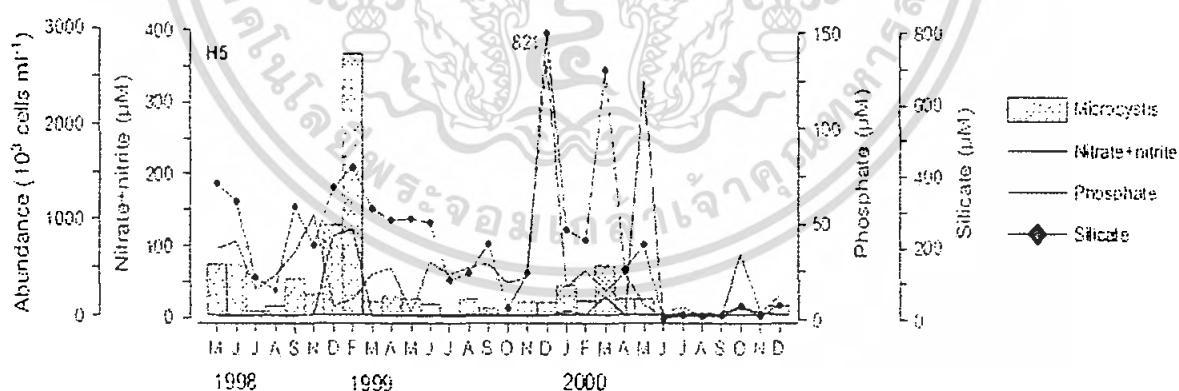
ไมโครซิสติน มีองค์ประกอบเป็นกรดอะมิโน 7 ชนิด เรียงกันเป็นวงเดียว (Monocyclic) และมีโครงสร้างที่แตกต่างกันขึ้นกับตำแหน่งของกรดอะมิโน จึงทำให้พบสารไมโครซิสตินมากกว่า 50 ชนิด (Carmichael, 1992) กลไกการทำงานของไมโครซิสติน พบว่ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทส 1 (Protein phosphatase 1 : PP1) และโปรตีนฟอสฟาเทส 2A (Protein phosphatase 2A : PP2A) ซึ่งมีความสำคัญต่อการควบคุมเมตาโบลิซึมต่างๆ เช่น เมตาโบลิซึมของคาร์โบไฮเดรต การแบ่งเซลล์ และการยึดหดตัวของกล้ามเนื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย

ธาตุอาหารมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายเช่นเดียวกับพืช สาหร่ายต้องการธาตุอาหารในชนิดและปริมาณที่แตกต่างกัน การเจริญเติบโตของสาหร่ายจะขาดธาตุชนิดใดชนิดหนึ่งไม่ได้ เราเรียกธาตุอาหารนี้ว่าธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช (Essential element) มี 16 ชนิด แบ่งเป็นธาตุอาหารหลัก (Macronutrient) 9 ชนิด และธาตุอาหารรอง (Micronutrient) 7 ชนิด ธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ได้แก่ ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสำคัญของกรดอะมิโน โปรตีน เอนไซม์ เป็นต้น ส่วนฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบของพลังงานในรูป ATP, ADP, Phospholipid, RNA, DNA เป็นต้น ซึ่งสาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ดีในช่วงที่มีธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เหมาะสม

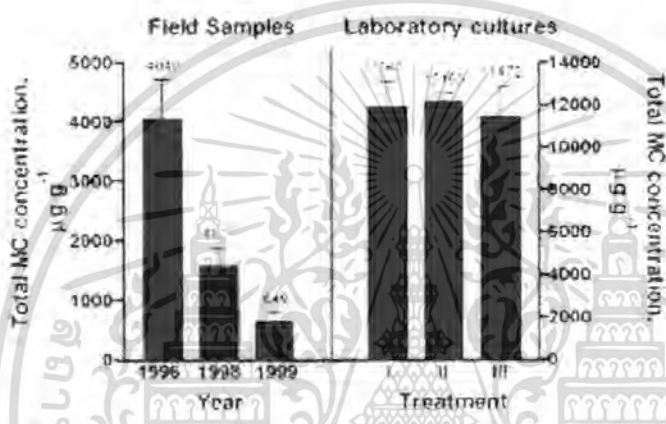
ซึ่งการศึกษาของ Seyfettin Tas และคณะ (2006) ได้เก็บตัวอย่างน้ำจากบริเวณปากน้ำ Golden Horn ประเทศตุรกี ซึ่งมีการบลูมของ *Microcystis aeruginosa* พบค่า nitrate+nitrite อยู่ระหว่าง 0.2-328 μM , ortho-phosphste 0.3-135 μM และ silicate 1.86-821.7 μM ตลอดการศึกษา ความเข้มข้นของสารอาหารส่วนใหญ่จะสูงขึ้นในหน้าหนาวเมื่อน้ำจืดมีปริมาณน้ำฝนที่เพิ่มขึ้น ภายหลังจากเดือนพฤษภาคม 2000 ความเข้มข้นของสารอาหารก็มีการลดลงอย่างแปลกประหลาด ระหว่างที่มีการบลูมของ *Microcystis aeruginosa* ค่าความเข้มข้นของ nitrate+nitrite จะสูงและความเข้มข้นของ ortho-phosphste ต่ำ ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 2 ความเข้มข้นของสารอาหารและความอุดมสมบูรณ์ของ *Microcystis aeruginosa* บริเวณเหนือปากน้ำ Golden Horn
ที่มา: Tas และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

M.L.Cuvin-Aralar และคณะ(2002) ทดลองโดยการเก็บตัวอย่างในธรรมชาติและการเลี้ยง *Microcystis aeruginosa* ในห้องปฏิบัติการ โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งที่มีการบลูมบริเวณอ่าว Laguna de ในประเทศฟิลิปปินส์ โดยเก็บตัวอย่างด้วยการกรอง และรักษาไว้โดยการแช่แข็ง โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างในแต่ละปีก่อนการนำไปวิเคราะห์ ส่วนในห้องปฏิบัติการนั้นนำ *Microcystis aeruginosa* บริเวณอ่าว Laguna de มาเลี้ยงภายใต้อาหารที่สมบูรณ์ ซึ่งให้ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่ 1,3,6 mg NL⁻¹ ตั้งให้เป็น treatment 1 2 3 ตามลำดับและให้ฟอสฟอรัส 0.5 mgL⁻¹ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การเปรียบเทียบผลรวมของ Microcystins จากการเก็บตัวอย่างในธรรมชาติแต่ละปี และจากการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการที่ความเข้มข้นสารอาหารต่างกัน
ที่มา: Cuvin-Aralar และคณะ(2002)

พบว่าตัวอย่างในธรรมชาติปี 1996 พบความเข้มข้นสูงสุด ตามมาด้วยปี 1998,1999 ตามลำดับ ส่วนในห้องปฏิบัติการนั้นผลรวมของพิษจะสูงกว่าตัวอย่างจากธรรมชาติอาจเพราะเนื่องจากการให้อาหารที่สมบูรณ์เหมาะแก่การเติบโตของสาหร่าย การทดลองในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับระดับจำนวน Microcystins กับความแตกต่างของระดับไนโตรเจน อย่างไรก็ตามการศึกษาต่าง ๆ นี้แสดงให้เห็นถึงอาหารมีอิทธิพลต่อระดับความเข้มข้น Microcystins ใน Cyanobacterial

การเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติในแคนาดาแสดงให้เห็นถึงความเข้มข้นของ Microcystins ซึ่งจะมีความสัมพันธ์แบบผกผันกับความเข้มข้นของไนเตรท และแสดงให้เห็นถึงผลผลิตของพิษนั้นขึ้นอยู่กับระดับฟอสฟอรัส แม้ว่าความเข้มข้นจะต่ำเพียง 0.1-0.4 mg PL⁻¹ เท่านั้น เมื่อใช้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในการทำทดลองที่ระดับ 0.5 mg PL⁻¹ อิทธิพลของระดับฟอสฟอรัสนั้นมีผลมากต่อผลผลิตของ Microcystins

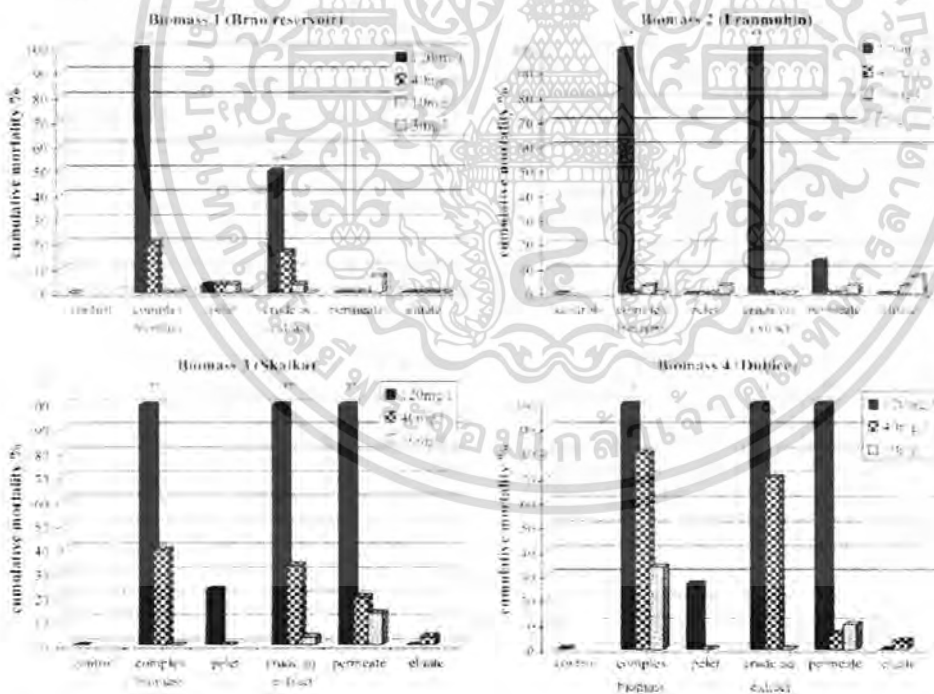
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลกระทบของ Microcystin การเจริญเติบโตของปลา

Microcystin ก่อให้เกิดผลกระทบต่างๆมากมาย ซึ่งในการบ่มของCyanobacteria จะมี ส่วนประกอบและก่อให้เกิดความเป็นพิษ ในการศึกษาของ Palikova และคณะ (2007)ได้ทดลอง โดยใช้ส่วนประกอบของมวลชีวภาพ(biomass)ที่แยกออกมาทดลองกับตัวอ่อนปลาคาร์พสายพันธุ์ *Cyprinus capio* ระยะเอมบริโอที่กำลังมีการพัฒนาจากน้ำที่มีการบ่มทั้ง 4 บริเวณ โดยได้ทำการแยกส่วน(Fraction) ดังนี้

Fraction A (complex biomass) น้ำที่ไม่มีการแยกใดๆ มีส่วนประกอบของมวลชีวภาพ แบ่งน้ำจาก Fraction A นำไปปั่นเหวี่ยง 15 นาที ผลที่ได้ออกมานั้นจะได้ตะกอน(ซึ่งมีผนังเซลล์ต่างๆปนอยู่)เป็น Fraction B(pellet) และน้ำที่แยกชั้นเป็น Fraction C(crude aq. extract) หลังจากนั้นแบ่งน้ำจาก Fraction C มา 2 ส่วน ส่วนที่1 นำไปแยกชั้นเป็น Fraction D(permeate) และส่วนที่ 2 นำมาสกัดแห้งและผสมน้ำกลั่นเป็น Fraction E (eluate)

พบว่ามีการตายอย่างมีนัยสำคัญหลังจากได้รับ complex biomass ที่ความเข้มข้น 120 mg/l ในตัวอย่างที่ 3และ 4 ส่วนความเข้มข้น 40 mg/l ของ complex biomass,crude aquatic extract และ permeate ก็เป็นสาเหตุการตายอย่างชัดเจน ไม่มีการตายในกลุ่มที่ได้รับส่วน eluate



ภาพที่ 4 อัตราการตายของเอมบริโอปลาคาร์พหลังจากได้รับพิษเป็นเวลา 120 ชั่วโมง
ที่มา: Palikova และคณะ (2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความเป็นพิษต่อตัวอ่อนปลาคาร์ฟหลังจากได้สัมผัส cyanobacteria และสารสกัดที่มีส่วนประกอบและปริมาณของ microcystins ต่างๆกัน ความเป็นพิษมากที่สุดใน complex biomass และ crude extract ในการศึกษาที่เคยมีขาคความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นพิษและปริมาณของ microcystin ในตัวอย่างของ cyanobacteria แต่พบว่ามีอัตราการตายสะสม แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นที่ต่ำของ microcystins ในสารสกัดจาก cyanobacteria (0.5-5 µg/L)

Xie และคณะ (2007) ได้ศึกษาอวัยวะต่างๆของ ปลา 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Silurus glanis*, *Carassius auratus* และ *Cyprinus carpio* ด้วยการนำเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆมาประเมิน โดยนำปลาจากแหล่งน้ำที่มีการบลูม พบว่าเมื่อปลาได้รับพิษ Microcystin จะสะสมพิษอยู่ที่บริเวณตับ และกล้ามเนื้อ การที่ไม่พบ MC-LR นั้นอาจเป็นเพราะว่าปริมาณไม่มากพอที่จะสามารถตรวจวัดได้ด้วย HPLC ซึ่งตรงกับการศึกษา (Kotak และคณะ 1996) ที่พบว่าไม่สามารถตรวจวัด MC-LR ในตับของปลาจากทะเลสาบ Driedment แม้สาปลาจะได้รับพิษ Microcystins

ตารางที่ 1 การสะสม Microcystin ในระบบต่างๆของปลาสามชนิดในทะเลสาบ Suwa

Fish name	Wet weight (g)	Liver (µgg ⁻¹ DW)		Kidney(µgg ⁻¹ DW)		Muscle(µgg ⁻¹ DW)		Total cone.fish ⁻¹ (µg)
		MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR	MC-RR	MC-LR	
		<i>Silurus glanis</i>	1180	ND	ND	ND	ND	
<i>Carassius auratus</i>	120	0.82	ND	ND	ND	0.49	ND	79.4
<i>Cyprinus carpio</i>	1818	2.06	ND	ND	ND	0.27	ND	46.3

ที่มา: Xie และคณะ (2007)

ซึ่ง Mohamed และคณะ (2006) ได้ศึกษาอวัยวะต่างๆในปลานิล(ตับ , ฤงน้ำดี,ทางเดินอาหาร)ที่นำมาจากฟาร์มที่มีการบลูมของพิษ microcystins มาเลี้ยง และนำปลาจากแม่น้ำไนล์ซึ่งไม่มีการบลูมมาเป็นกลุ่มควบคุม ผลการวิเคราะห์ ทำให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญของความเข้มข้น Microcystins ใน ตับ , ฤงน้ำดี,ทางเดินอาหาร ซึ่งมีความสัมพันธ์กับเวลา(ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์ ทำให้เห็นความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้น Microcystins กับเวลา นอกจากนี้การเสนอข้อมูลแสดงให้เห็นความเปลี่ยนแปลงอย่างไม่มีนัยสำคัญของตับกับอัตราน้ำหนักตัว หรือฤงน้ำดีกับน้ำหนักร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักตับต่อน้ำหนักตัว (L/BW)และถ่วงน้ำหนักต่อน้ำหนักตัว (G/BW)ตลอดระยะเวลาการทดลอง

Time (h)	L/BW ratio	G/BW ratio
0	0.56±0.06	0.32±0.02
24	0.43±0.04	0.33±0.04
48	0.48±0.05	0.33±0.05
72	0.48±0.10	0.39±0.10
96	0.48±0.08	0.36±0.07

ที่มา: Mohamed และคณะ(2006)

Xiao-Yu. Li และคณะ (2007) ทำการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นพิษของ Microcystin จาก *Microcystis aeruginosa* ซึ่งทำการทดลองกับเซลล์ตับปลาคาร์พที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยนำปลามาฆ่าโดยใช้เหล็กแหลมตีบริเวณหัวแล้วนำเลือดที่คั่งบริเวณตับมาล้างด้วย Phosphate buffered saline (PBS pH7.2) แล้วแยกเซลล์ตับโดยใช้ 0.25% trypsin และให้เซลล์ลอยตัวใน Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) แล้วล้างออกสามครั้งเพื่อกำจัด trypsin และ blood cell เซลล์ตับที่แยกออกมาจะถูกเลี้ยงไว้ในขวดด้วย Microcystin ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.01,0.1,1,10,100,1000 μgL^{-1}) ใน DMEM ที่ 2,4,8,16 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ให้ผลดังนี้ เมื่อเซลล์ตับได้รับพิษ Microcystins 24 ชั่วโมงของทุกความเข้มข้นพบการตายที่เพิ่มขึ้นและมีจำนวนเซลล์ที่รอดลดลง และเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงของความเข้มข้น 1000 μgL^{-1} มีการตาย 100% ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความเป็นพิษของ Microcystin ในเซลล์ตับนั้นขึ้นอยู่กับเวลาปัจจัยที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือ ระยะเวลาที่ได้รับพิษและความเข้มข้นของพิษ

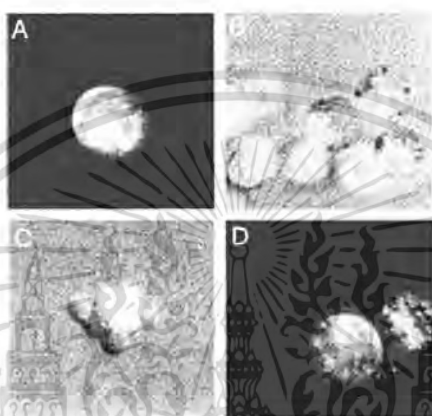
ตารางที่ 3 จำนวนเซลล์ตับที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ หลังได้รับสาร microcystin ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของ Microcystins (μgL^{-1})						
	0	0.01	0.1	1	10	100	1000
0	96.3±0.59	95.4±0.9	94.5±1.2	94.8±0.8	94.3±1.4	93.9±1	93.8±1.6
2	96.3±0.59	95.4±0.9	94.5±1.2	94.8±0.8	94.3±1.4	93.9±1	93.8±1.6
4	95.8±1	93.5±0.9	93.1±2.1	94.2±1.2	92.5±1.7	94.4±0.4	91.7±1.1
8	93.5±0.9	92.5±0.6	92±0.3	91.4±0.7	90.4±1.2	88.7±2	88.1±1.3
16	81.5±1.7	77.9±4.1	78.3±3	78.1±2.3	77±0.9	75.7±1.5	4.6±0.8
24	71±3.1	69.4±2	68.2±2.9	61.9±4.9	44.5±3.9	38.7±2.5	0

ที่มา: Liและคณะ(2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงของเซลล์คืออย่างแรกจะเกิดการตายของเซลล์ ตรวจพบหลังจากได้รับพิษ Microcystin ไป 4 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 1, 10, 100 μgL^{-1} บันทึกการเปลี่ยนแปลงนี้ได้ว่าเกิดกระบวนการ condensation และ nuclei จะมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยมีการหดตัว (ภาพที่ 5B) และจะมีการบวมพองหรือมีฟองอากาศที่เซลล์เนื้อเยื่อ (ภาพที่ 5C) แต่จะไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในการเลี้ยงที่ความเข้มข้นต่ำ (0.01-0.1 μgL^{-1}) ที่ระยะเวลาได้รับพิษ 24 ชั่วโมง เซลล์ตับจะมีการเปื่อยเน่าเมื่อเลี้ยงที่ความเข้มข้นสูง 1000 μgL^{-1} หลังจากได้รับพิษ 16 ชั่วโมง (ภาพที่ 5D)



ภาพที่ 5 แสดงลักษณะเซลล์ตับที่เลี้ยงในสภาวะปกติและได้รับพิษ microcystin

ภาพ A เซลล์ควบคุม กำลังขยาย $\times 600$ ภาพ B เซลล์ตับที่ได้รับ microcystin 100 $\mu\text{g/l}$ นาน 4 ชั่วโมง แสดงการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ nuclei กำลังขยาย $\times 600$ ภาพ C เซลล์ตับที่ได้รับ microcystin 100 $\mu\text{g/l}$ นาน 16 ชั่วโมง แสดงให้เห็นการบวมพองของเยื่อหุ้มเซลล์ กำลังขยาย $\times 600$ ภาพ D เซลล์ตับที่ได้รับ microcystin 1000 $\mu\text{g/l}$ นาน 16 ชั่วโมง แสดงให้เห็นการตายของเซลล์

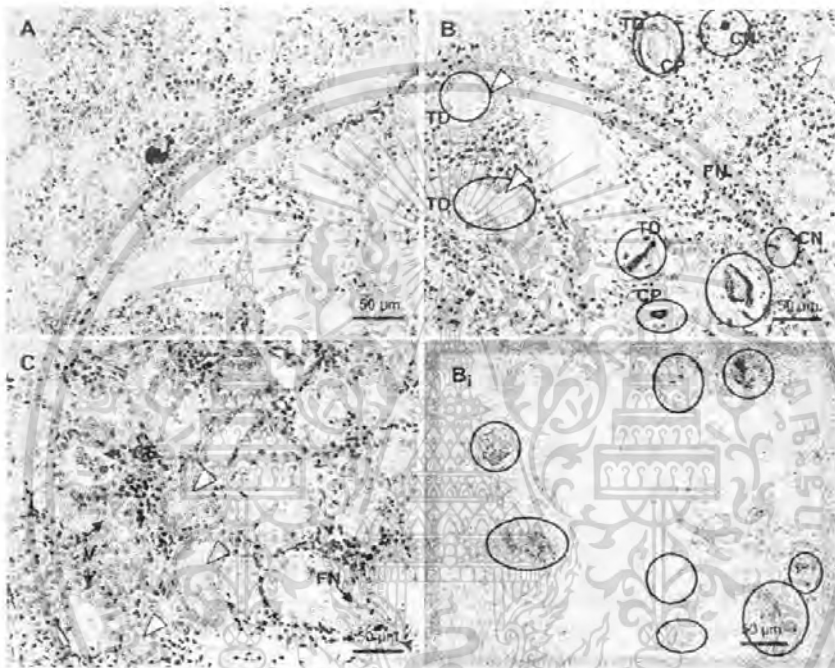
ที่มา: Li และคณะ (2007)

การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเมื่อได้รับพิษของ Microcystin

Ernst และคณะ(2006) ได้ทำการทดลองโดยฉีดพิษ Microcystin จากสาหร่าย *Planktothrix rubescens* เป็นจำนวน 80000 cell ในกระเพาะอาหารของปลา coregonid มีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

-การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อไต

พบการเปลี่ยนแปลงของท่อไตคือ มีการตายของเซลล์น้อย มีการเกิดใหม่และการแยกออกของเซลล์บุผิวท่อไตของปลาที่ได้รับพิษของ *Planktothrix rubescens*



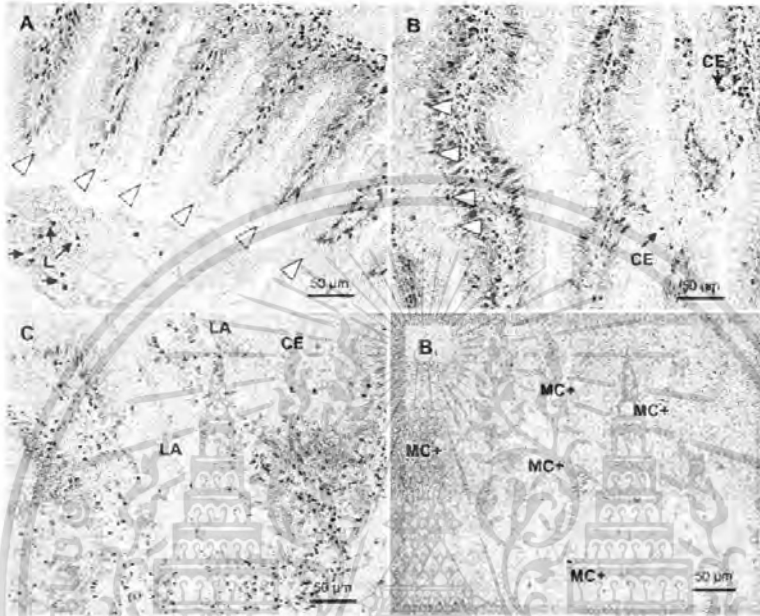
ภาพที่ 6 แสดงลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อไต เนื้อเยื่อไตที่ปกติ(A)เนื้อเยื่อเมื่อได้รับพิษเป็นเวลา 9 ชั่วโมง(B) เนื้อเยื่อเมื่อได้รับพิษเป็นเวลา 72 ชั่วโมง(C) แสดงให้เห็นบริเวณรวมของพิษ (FN)และเกิดการตายของเนื้อเยื่อมีการจับตัวเป็นก้อน(CN) มีการเสื่อมของท่อภายในเนื้อเยื่อไต (TD)การรวมตัวของช่องว่างภายในเซลล์(V) เกิดการหลุดลอกออกของเยื่อบุผิว(CE)จุดที่มีโปรตีน (ลูกศรขาว) เกิดตะกอนแคลเซียมฟอสเฟต(CP)บริเวณที่มี microcystin ในเนื้อเยื่อ(MC+) การย้อมเนื้อเยื่อไตด้วย H&E หรือ แอนติบอดี microcystin (Bi)เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ (วงกลม)

ที่มา: Ernst และคณะ(2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-การเปลี่ยนแปลงบริเวณกระเพาะอาหารและทางเดินอาหารส่วนปลาย

กลุ่มที่ได้รับ *Planktothrix rubescens* จะพบว่ามีการทำลายของเซลล์เยื่อในกระเพาะอาหาร และเซลล์บุผิววิลโลหลุดลอกออก และมีเซลล์แตกกระจายอยู่ทั่วไปพร้อมกับเม็ดเลือดขาวเข้ามา



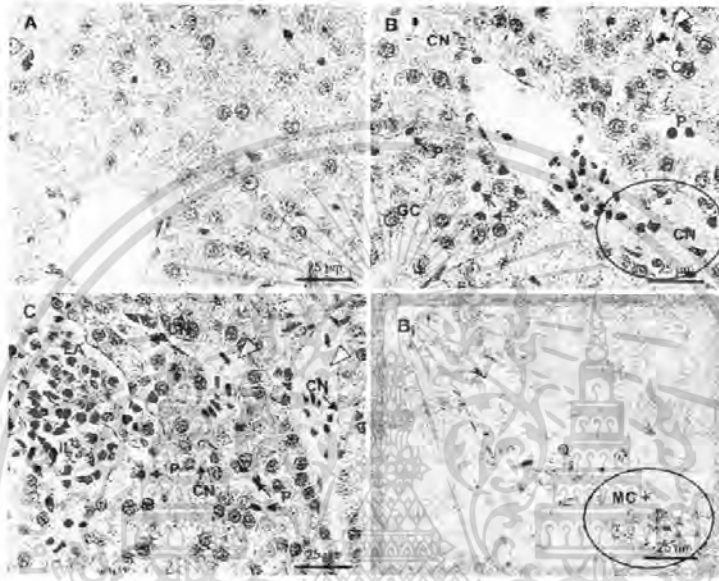
ภาพที่ 7 แสดงลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อกระเพาะอาหารและทางเดินอาหารส่วนปลาย เนื้อเยื่อลำไส้เล็ก (A) เนื้อเยื่อทางเดินอาหารส่วนปลาย(B) และ (C) แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อเมื่อได้รับพิษเป็นเวลา 24 ชั่วโมง การย้อมเนื้อเยื่อด้วย H&E หรือ แอนติบอดี microcystin (Bi) การเปลี่ยนแปลงเยื่อบุผิวและมีการสลายตัวของเซลล์เม็ดเลือดแดง(ลูกศรขาว) เกิดการหลุดลอกออกของเยื่อบุผิวเซลล์ (CE) แสดงให้เห็นเม็ดเลือดขาว (L)และเกิดการเสียรูปร่างของลำไส้(LA)บริเวณที่มี microcystin ในเนื้อเยื่อ(MC+)

ที่มา: Ernst และคณะ(2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อตับ

พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงที่เซลล์ตับ(ภาพที่ 6)และเมื่อเวลามากขึ้นก็มีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นโดยจะมีเซลล์ตับที่มีแกรนูลและมีการทำลายโครงสร้างตับปกติ เซลล์แยกตัวออกมา โคโรมาตินมีการเปลี่ยนแปลงมีการตายของเซลล์ตับเป็นหย่อมๆกระจายอยู่ทั่วไป รอบๆ central vein มีการแตกของหลอดเลือด sinusoids ขยายตัวออกและมีเม็ดเลือดขาวแทรกอยู่



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะผิดปกติของเนื้อเยื่อตับ

เนื้อเยื่อตับที่ปกติ (A) แสดงให้เห็นเนื้อเยื่อตับเมื่อได้รับพิษเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (B) และ 48 ชั่วโมง (C) การตัดและย้อมสีด้วยวิธี H&E (Bi) เมื่อได้รับพิษแสดงให้เห็นถึงการขยายตัวของ Sinusoid (ลูกศรขาว) ส่วนของตับที่เกิดการสูญเสีย (LA) การแทรกตัวของเม็ดเลือดขาว (IL) เกิดก่อนหรือเม็ดบริเวณไซโทพลาสซึมของเซลล์ตับ (GC) การเสื่อมสลายของเซลล์ซึ่งนิวเคลียสหดเหี่ยวและโครมาตินเกาะกลุ่มแน่นเป็นก้อน (P) เนื้อเยื่อที่เน่าตายจับตัวเป็นก้อน (CN) บริเวณที่มี microcystin ในเนื้อเยื่อ (MC+) เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อ (วงกลม)

ที่มา: Ernst และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งพิษนี้จะออกฤทธิ์ทำลาย hepatocyte โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ phosphatase โดยเฉพาะ phosphatase 1 และ 2A phosphatase นี้ทำงานร่วมกับเอนไซม์อื่น เช่น protein kinase ในการควบคุมการเพิ่มหรือลดจำนวน phosphate ใน protein ซึ่งจะมีผลสำคัญต่อโครงสร้างและการทำงานของ intermediate filament และ microfilament ของ cytoskeletal ของเซลล์ ฉะนั้นหากขาดความสมดุลของปฏิกิริยา phosphorylation และ dephosphorylation มีผลทำลาย cytoskeletal ของเซลล์ตับ ทำให้มีการหดตัวของเซลล์ตับรวมทั้ง sinusoidal capillary cell ทำให้เลือดแพร่ซึมเข้าไปในเซลล์ตับ เกิดมีการทำลายของเซลล์ตับตามมา (www.google.com/ความเป็นพิษ microcystins)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- 1 สวิตช์ปลา ถูกรองแพลงตอนขนาด 15 ไมครอน
- 2 กระจกใสตัวอย่างปลา กระจกใสตัวอย่างน้ำ
- 3 ชุดอุปกรณ์ผ่าตัด ได้แก่ มีดผ่าตัด ถาดพาราฟิน ฟอเซฟ เข็มเย็บ กรรไกรผ่าตัด
- 4 ยาสลับ
- 5 Buffer formalin 10%
- 6 classette block
- 7 mole
- 8 เมทานอล 30%
- 9 xylene
- 10 พู่กัน สไลด์ แผ่นปิดสไลด์ กล้องเก็บสไลด์
- 11 เครื่อง microtome ยี่ห้อ Microm รุ่น HM335 E
- 12 เครื่อง tissue processor ยี่ห้อ Leica รุ่น TP 1020
- 13 cool plate
- 14 slide wormmer
- 15 อ่างลอยชิ้นเนื้อ
- 16 สีย้อม
- 17 กล้องใสสีย้อม
- 18 นาฬิกาจับเวลา
- 19 เครื่องอุ่นพาราฟิน
- 20 น้ำยา permount
- 21 สไลด์นับแพลงตอน
- 22 หลอดหยด
- 23 cylinder ขนาด 50 ml
- 24 กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

แผนการทดลอง

เลือกฟาร์มเลี้ยงปลาทุกกลุ่มที่เคยมีการระบาดของ Microcystis ในบริเวณเดียวกัน จำนวน 3 บ่อ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำและปลาทุก 2 สัปดาห์ เพื่อนำมาวิเคราะห์ชนิดของ plankton และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลา

วิธีการทดลอง

1. เก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อปลาทุก บ่อละ 3 จุด เก็บน้ำจำนวน 5 ลิตร ใช้ถุงกรองแพลงตอน ขนาด 15 ไมครอน กรองน้ำเก็บใส่ขวดแล้วบันทึกวันที่เก็บ

1.1 ทำการนับแพลงตอนจากตัวอย่างน้ำที่เก็บ ชนิด Cyanobacteria แยกชนิด และวัด ปริมาตรน้ำตัวอย่าง

1.2 ทำกราฟแสดงถึงความอุดมสมบูรณ์ของ Cyanobacteria ทั้ง 3 บ่อ

2. เก็บตัวอย่างปลาจากบ่อปลาทุกบ่อละ 3 ตัว ใส่ยาสลบ

2.1 ทำการผ่าเอาอวัยวะต่างๆ(ตับ ไต กระเพาะ ลำไส้ และเหงือก) แช่ Buffer formalin 10%

2.2 นำตัวอย่างชิ้นเนื้อที่ดองใน Buffer formalin 10% อย่างน้อย 48 ชั่วโมง ตัดชิ้นเนื้อ เพียงเล็กน้อยใส่ classtte block

2.3 เมื่อได้ชิ้นเนื้อใส่ classtte block แล้วนำไปใส่ในเครื่อง tissue processor และผ่าน กระบวนการพาราฟิน

2.4 ทำการตัดเนื้อเยื่อ ที่ความหนา 4 ไมครอน และทำการย้อมสี H&E

2.5 ส่องกล้องประเมินเนื้อเยื่อ

การวิเคราะห์ข้อมูล

รวบรวมผลของ cyanobacteria ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล Microsoft excel

สถานที่ทำการทดลอง

บ่อปลาทุก บ่อ 71 หมู่ 1 ถนนหลวงแพ่งทับยาว ตำบลชุมทอง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร และภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

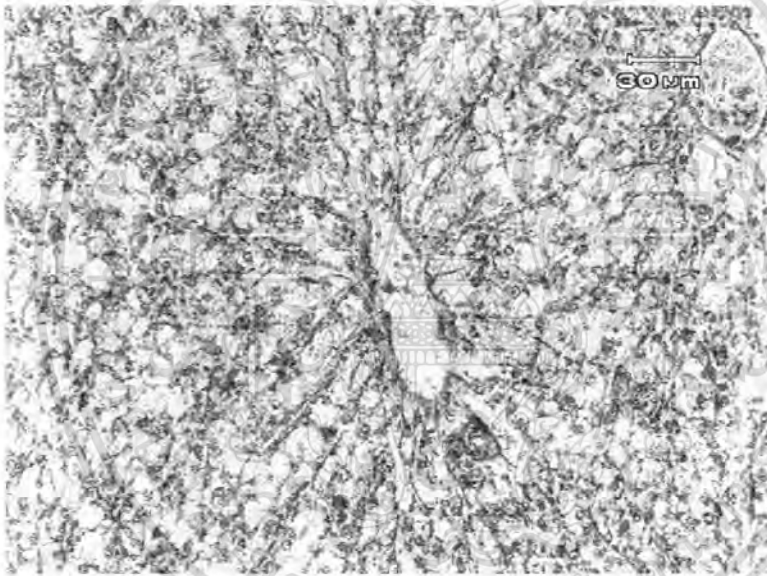
ระยะเวลาในการทดลอง

เดือนพฤษภาคม 2550 – เมษายน 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

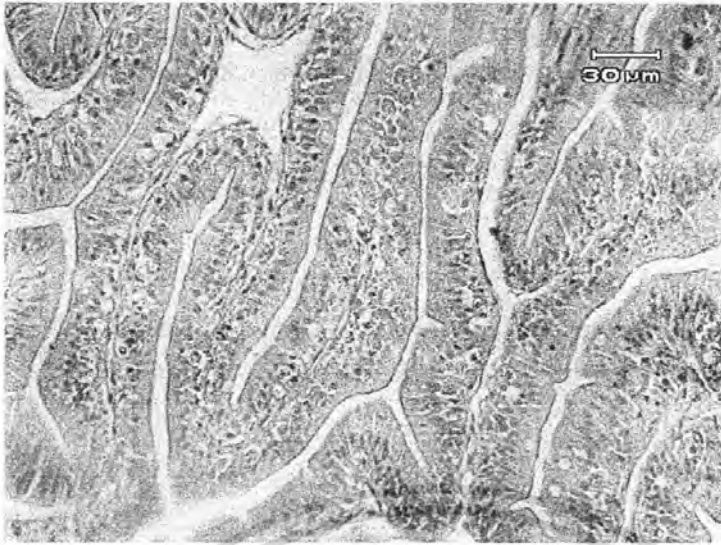
ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลองนี้ศึกษาถึงผลกระทบของ Microcystins ต่ออวัยวะต่างๆของปลาตู้ซึ่งปริมาณของ plankton ขึ้นด้วยชนิด cyanobacteria (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน) ที่พบในบ่อมี 7 ชนิด ได้แก่ *Oscillatoria* sp., *Microcystis* sp. , *Spirulina* sp. , *Chroococcus* sp. , *Lyngbya* sp. , *Merismopedia* sp. , *Psuedanabaena* sp. ซึ่งแต่ละชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน (ตารางที่ 4-10) ชนิดที่สร้างพิษ Microcystins นั้น ได้แก่ *Oscillatoria* sp.และ *Microcystis* sp. และเริ่มศึกษาเนื้อเยื่อทุกๆ เดือน ตั้งแต่เริ่มเลี้ยงที่ 0 สัปดาห์ จนกระทั่งเก็บผลผลิตที่ 30 สัปดาห์ ซึ่งในระยะแรก (0-8 สัปดาห์) ที่ไม่มีการบลูมของ Cyanobacteria ชนิดสร้าง Microcystins นั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของตัวอย่างปลาที่ทำการศึกษา โดยดูจากอวัยวะต่างๆได้แก่ ตับ ไต กระเพาะอาหาร ลำไส้ และเหงือก ซึ่งเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆที่ไม่มีความผิดปกติมีลักษณะดังนี้



ภาพที่ 9เนื้อเยื่อตับปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

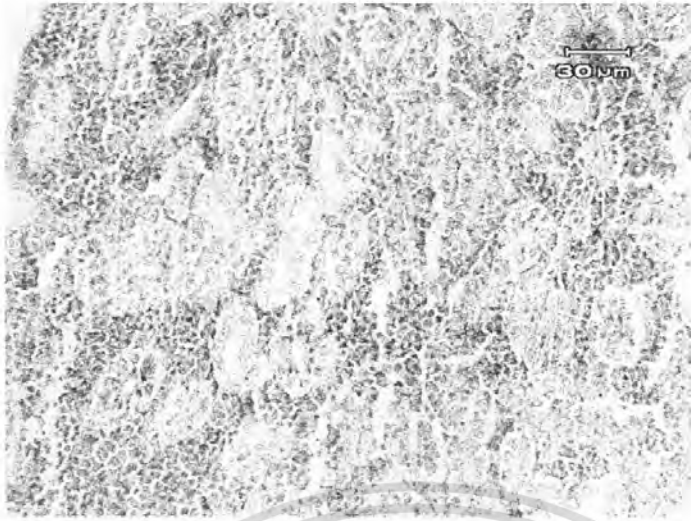


ภาพที่ 10 เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารปกติ



ภาพที่ 11 เนื้อเยื่อลำไส้ปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 เนื้อเยื่อไตปกติ



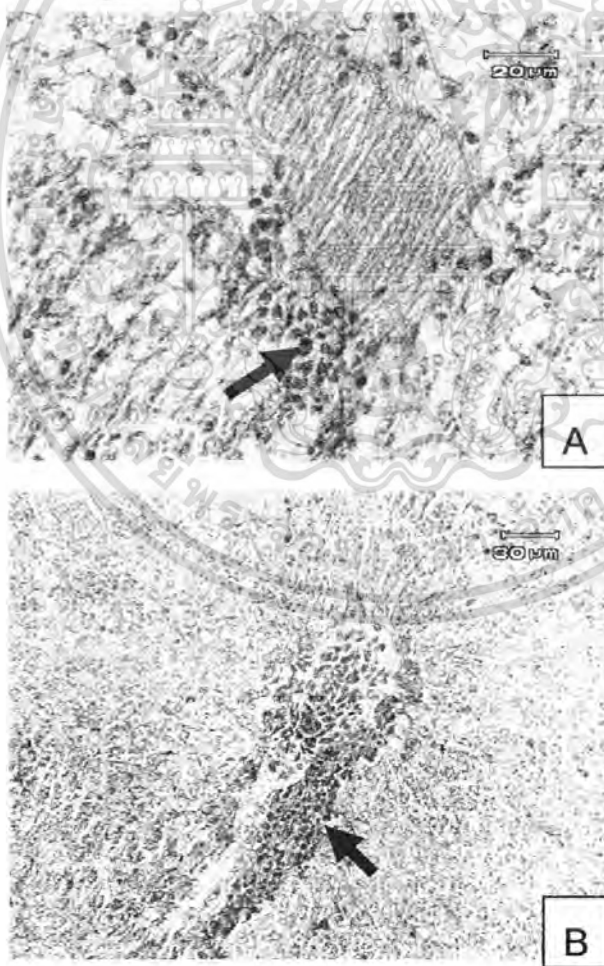
ภาพที่ 13 เนื้อเยื่อเหียงปกติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระยะต่อมาหลังจากสัปดาห์ที่ 8 ได้เกิดการบลูมของ *Oscillatoria* sp. ในสัปดาห์ที่ 10 พบการบลูมของ *Oscillatoria* sp. ในปริมาณ $1595.25-5940.94 \times 10^2$ cell /L ซึ่งทำให้เนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ มีความเปลี่ยนแปลงที่พบเด่นชัดได้แก่ ตับ กระเพาะอาหาร และลำไส้ ส่วนบริเวณเหงือกนั้นได้พบความเปลี่ยนแปลงโดยเหงือกเกิด Hyperplasia แต่เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงนี้อาจจะไม่เกี่ยวข้องกับ Microcystins เพราะคุณภาพของน้ำนั้นก็มีส่วนทำให้เกิด Hyperplasia ได้ และในไตนั้นไม่มีความเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ernst et al(2006) เนื่องจากมีการตายของเนื้อเยื่อเมื่อได้รับพิษ Microcystins เช่นกันแต่ Ernst et al(2006) ได้ทำการทดลองกับปลา coregonids (*C.lavaretus* L.)โดยการฉีดพิษ Microcystins จาก *Planktothrix rubescens* ซึ่งทำให้อวัยวะต่างๆของปลาเกิดความเปลี่ยนแปลง

การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อตับ

มีการผิดปกติจะพบเม็ดเลือดขาวเป็นจำนวนมากและเนื้อเยื่อที่เน่าตายจะจับตัวเป็นก้อน



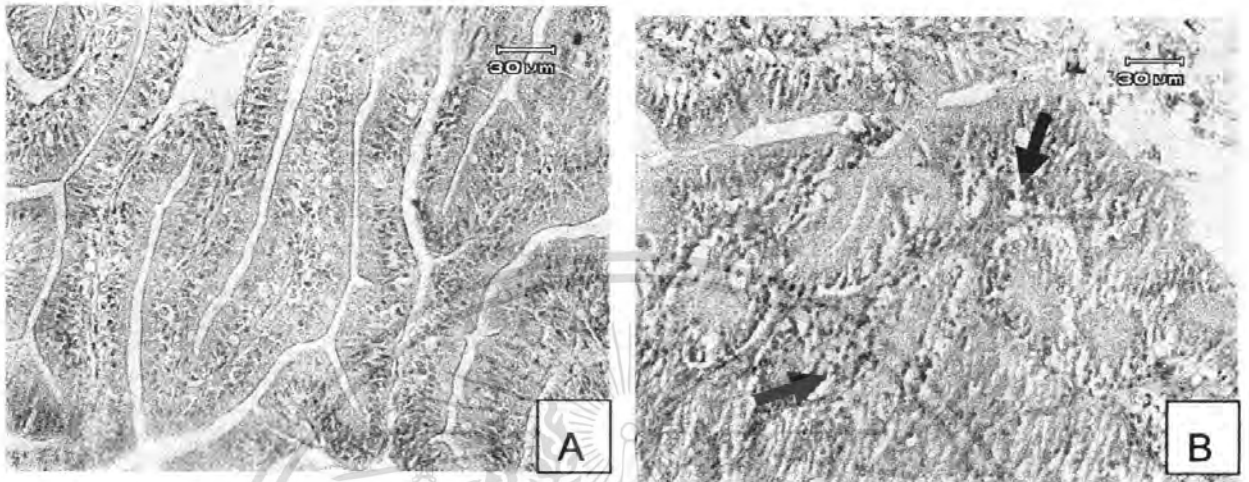
ภาพที่ 14 (A-B) ลักษณะผิดปกติของตับ พบความผิดปกติเนื่องจากมีการตายของเนื้อเยื่อรอบๆ

ท่อเลือดเป็นจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อบริเวณกระเพาะอาหาร

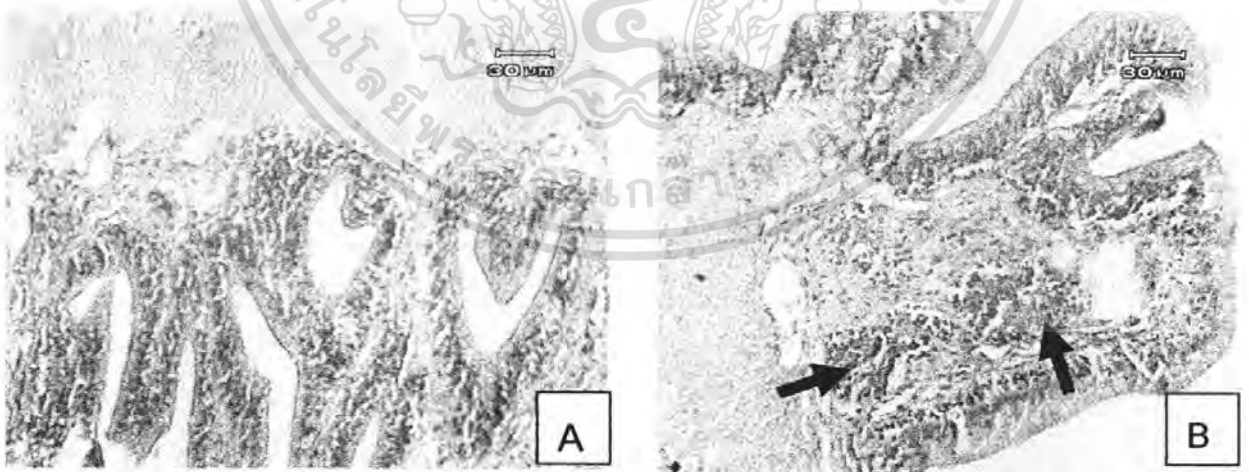
พบเม็ดเลือดขาวมีการแทรกเข้ามาเป็นจำนวนมาก มีการทำลายของเซลล์เยื่อในกระเพาะอาหารและเยื่อผิว วิลไล



ภาพที่ 15 ลักษณะการผิดปกติของกระเพาะอาหาร (A) เนื้อเยื่อกระเพาะอาหารปกติ (B) ลักษณะของเนื้อเยื่อผิดปกติเนื่องจากมีการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวเข้ามาจำนวนมาก

การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อบริเวณลำไส้

พบเม็ดเลือดขาวมีการแทรกเข้ามาเป็นจำนวนมากบริเวณลำไส้

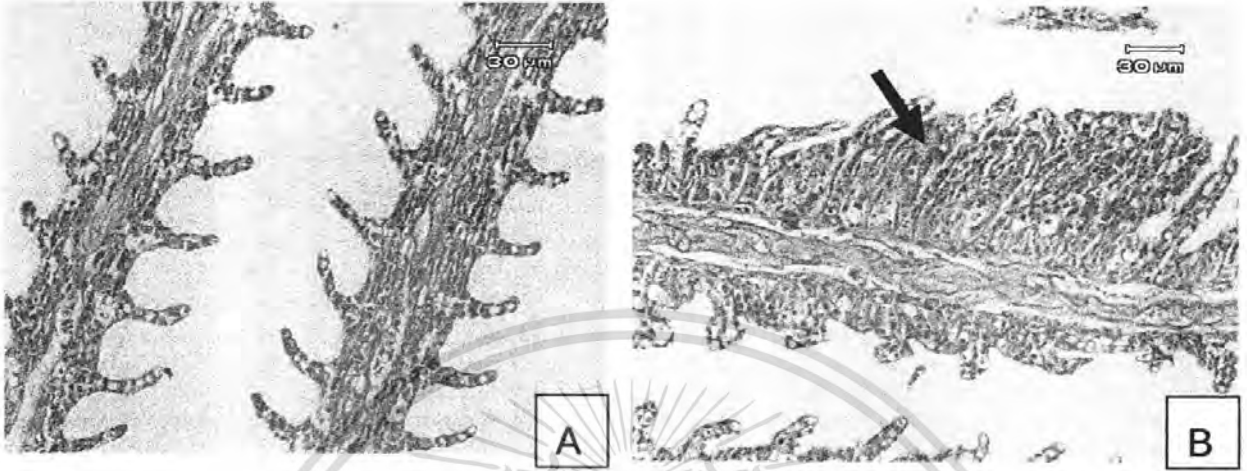


ภาพที่ 16 ลักษณะการผิดปกติของลำไส้ (A) ลักษณะเนื้อเยื่อปกติ (B) ลักษณะของเนื้อเยื่อผิดปกติเนื่องจากมีการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวเข้ามาจำนวนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเหงือก

เหงือกที่มีการเปลี่ยนแปลงมีลักษณะดังนี้ มีการเพิ่มจำนวนคลอไรด์เซลล์ มีการตกเลือด และเชื่อมติดกัน



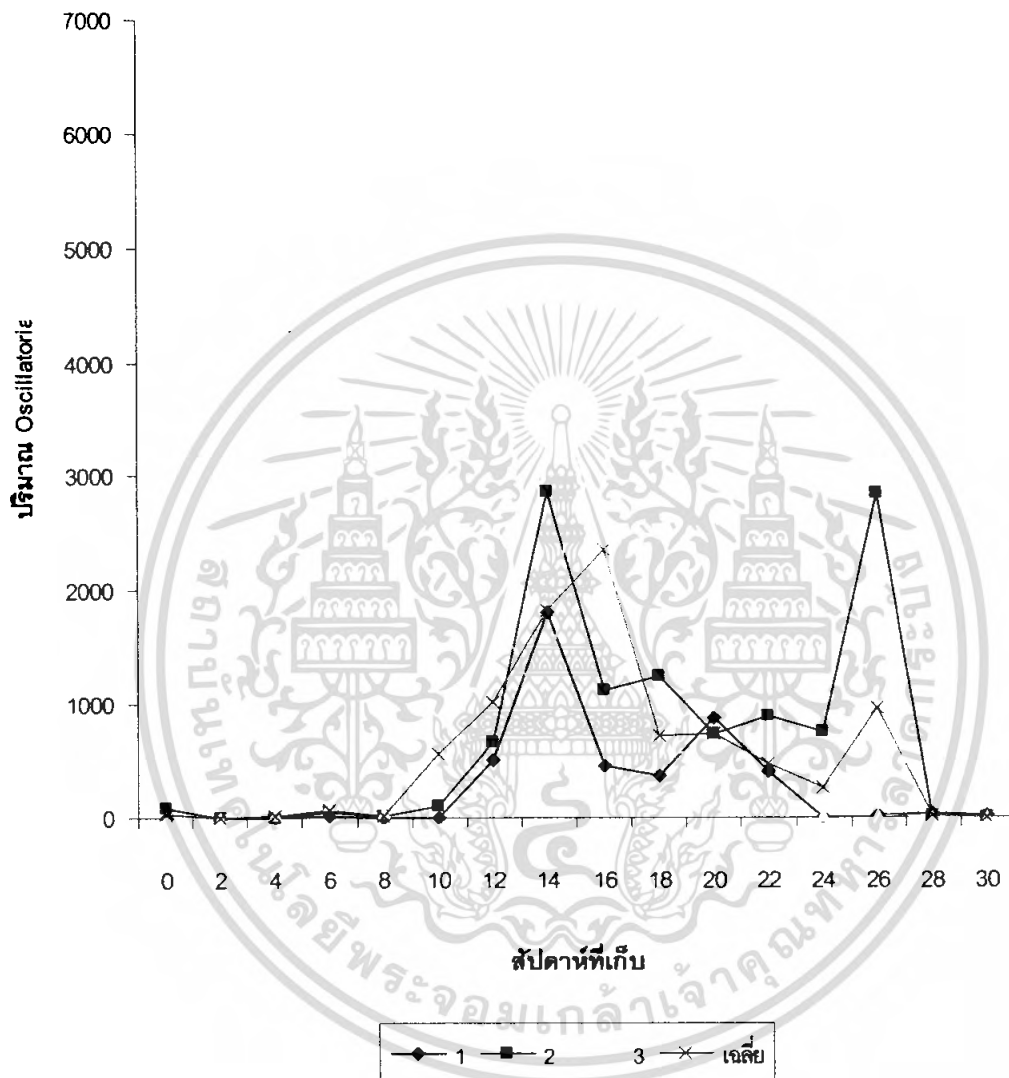
ภาพที่ 17 ลักษณะการผิดปกติของเนื้อเยื่อเหงือก (A) เนื้อเยื่อปกติ (B) เนื้อเยื่อผิดปกติเนื่องจากเกิด Hyperplasia (มีการเพิ่มจำนวนเซลล์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Oscillatoria* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณ x 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0.07	0.09	0.23	24.67	6.19	4.42	511.62	1820	450.79	364.44	885.61	407.18	6.46	26.05	27.82	9.96
2	81.8	0.55	0.52	49.98	12.24	100.15	662.65	2868.4	1119.8	1255.3	746.21	888.72	759.96	2852.3	0	0
3	0.14	3.3	35.63	118.02	50.16	1595.3	1910	803.18	5940.9	547.93	607.58	110.42	13.86	11.76	0	0
ค่าเฉลี่ย	27.33	1.31	12.12	64.22	22.86	566.6	1028.1	1830.5	2353.8	722.57	746.46	468.77	260.09	963.35	9.27	3.32

ปริมาณ *Oscillatoria* sp. ของบ่อที่ 3 มีปริมาณมากที่สุด โดยเริ่มเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 10 และเพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 16 มีปริมาณ $5940.9 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$ และลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ต่อมา บ่อที่ 2



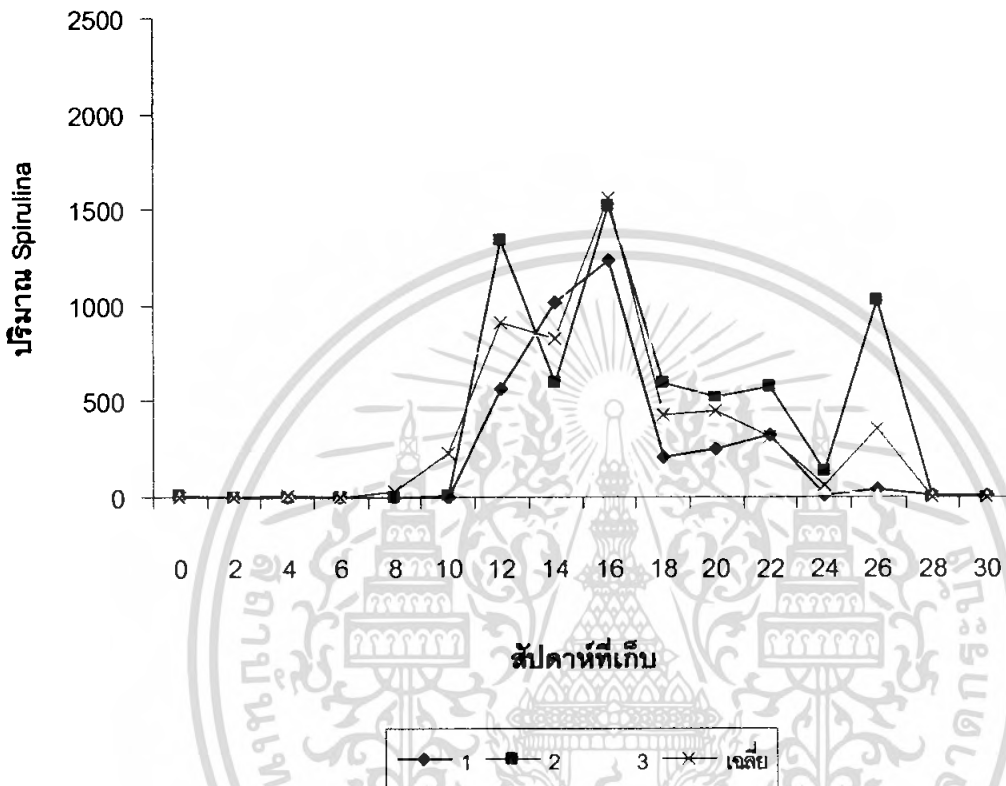
ภาพที่ 18 ปริมาณ *Oscillatoria* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Spirulina* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณ x 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0.1	0.13	0	0	2.4	0.85	569.04	1019.6	1237.1	211.1	249.57	320.99	12.16	40.12	15.02	11.88
2	9.9	0.47	0.39	1.55	4.78	14.52	1342.3	601.69	1524.2	594.13	523.37	579.95	134.32	1027.5	0	0
3	0	0	24.12	5.8	100.38	674.21	815.88	861.98	1932.2	471.31	584.83	57.45	42.61	11.64	0	0
ค่าเฉลี่ย	3.33	0.2	8.17	2.45	35.84	229.86	909.08	827.75	1564.5	425.51	452.59	319.46	63.03	359.76	5	3.96

ปริมาณ *Spirulina* sp. ทั้ง 3 บ่อมีการเพิ่มขึ้นสูงสุดพร้อมกันในสัปดาห์ที่ 16 แต่บ่อที่ 3 มีปริมาณมากที่สุด (1237.1,1524.2,1932.2 cell x 10²/ L) ตามลำดับ มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 1564.6 cell x 10²/ L



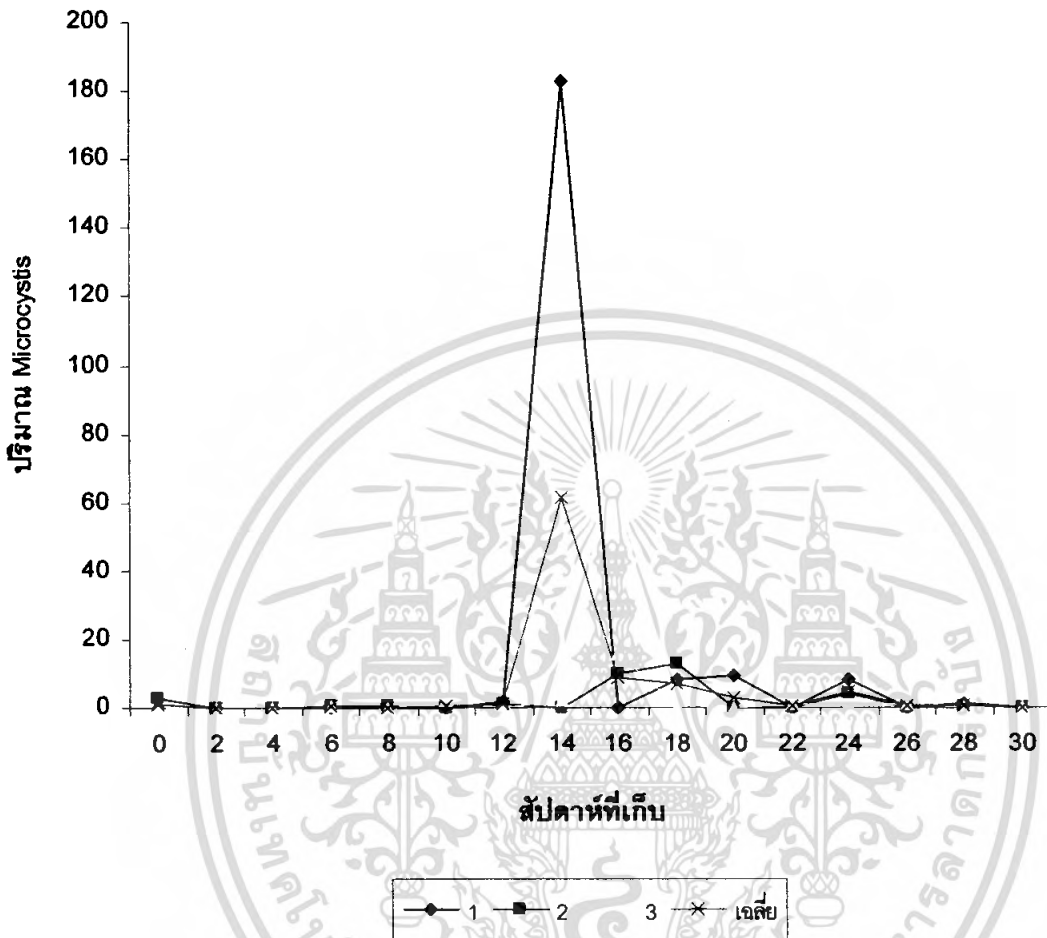
ภาพที่ 19 ปริมาณ *Spirulina* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Microcystis* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณ x 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0	0	0	0	0.19	0	1.64	182.88	0	8.04	9.33	0	8.5	0.1	0.91	0
2	2.67	0	0	0.66	0.41	0	1.03	0	10.14	12.79	0	0	4.33	0	0	0
3	0	0	0.21	0.8	0	2.38	0	2.59	16.06	0.84	0	0.92	0.42	0.88	0	0
ค่าเฉลี่ย	0.89	0	0.07	0.48	0.2	0.79	0.89	61.82	8.73	7.22	3.11	0.3	4.41	0.32	0.3	0

ปริมาณ *Microcystis* sp. ของบ่อที่ 1 มีปริมาณสูงที่สุด 182.88 cell x 10²/L ในสัปดาห์ที่ 14 และลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ต่อมา บ่อที่ 2 และ 3 มีปริมาณใกล้เคียงกัน



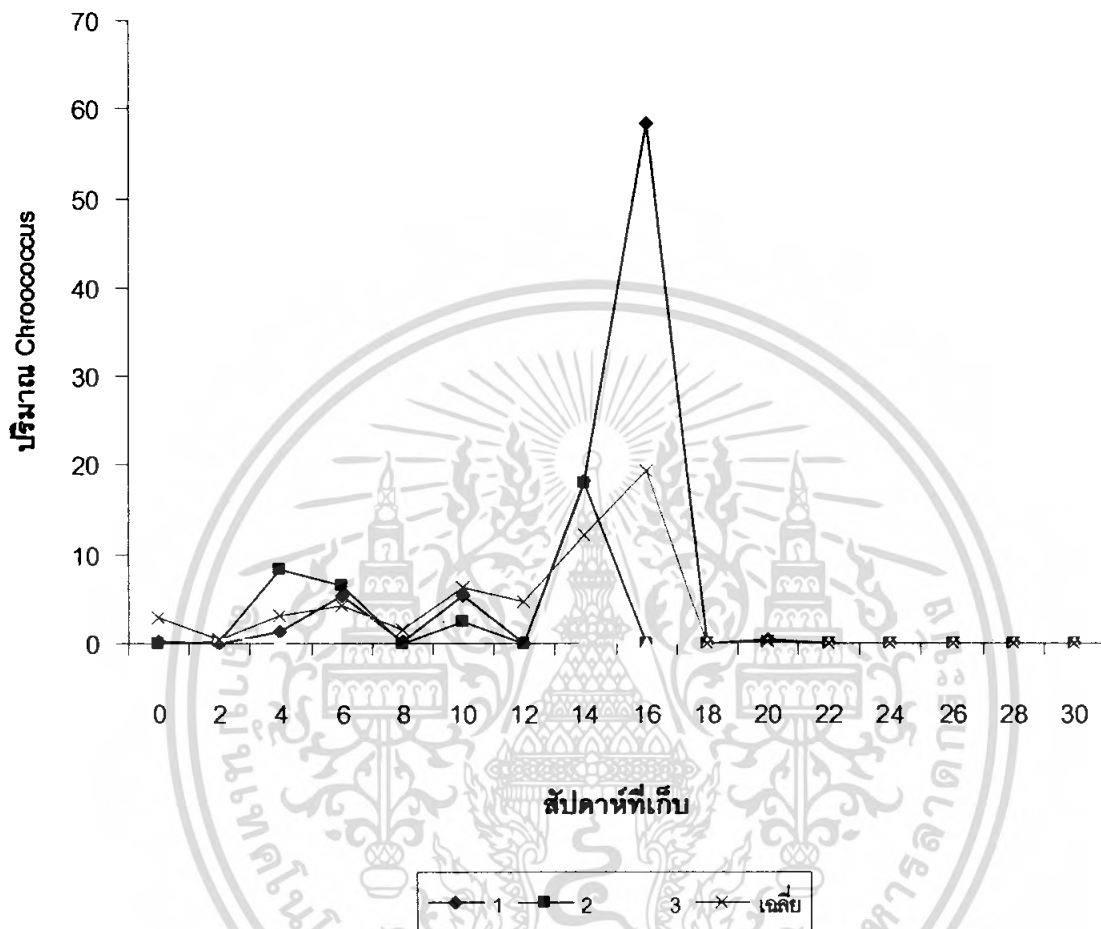
ภาพที่ 20 ปริมาณ *Microcystis* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Chroococcus* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

ปอที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณ x 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0.3	0	1.31	5.33	0.31	5.41	0	18.39	58.56	0	0.5	0	0	0	0	0
2	0	0.27	8.44	6.5	0	2.56	0	18.1	0	0	0	0	0	0	0	0
3	8.2	1.01	0	0.8	4.19	10.88	14.16	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	2.83	0.42	3.25	4.21	1.5	6.28	4.72	12.16	19.52	0	0.16	0	0	0	0	0

ปริมาณ *Chroococcus* sp. บ่อที่ 1 มีปริมาณสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 คือ 58.56 cell x 10²/L



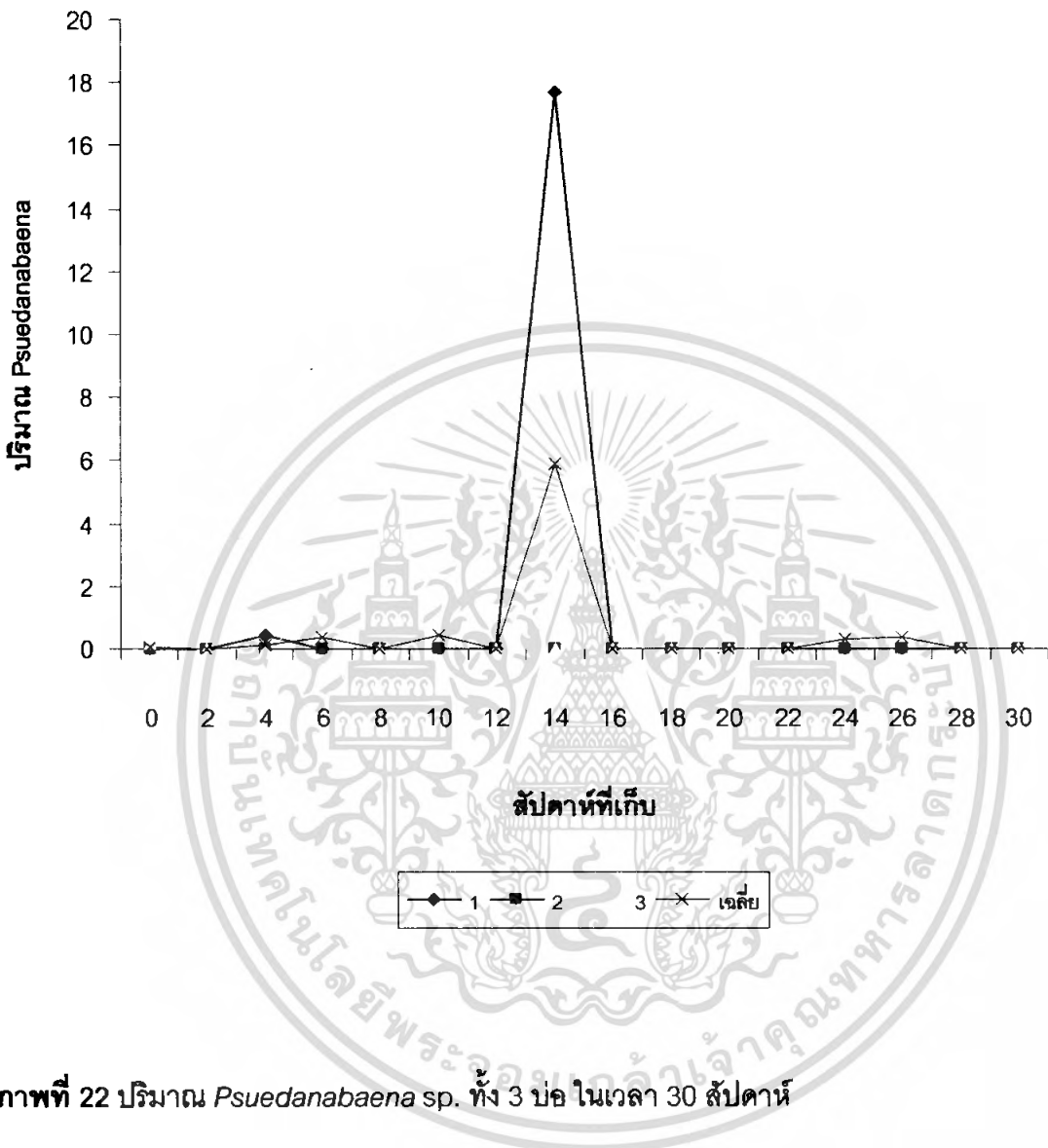
ภาพที่ 21 ปริมาณ *Chroococcus* sp. ทั้ง 3 บ่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Psuedanabaena* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณx 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0	0	0.46	0	0	0	0	17.7	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0.19	0	0	1.17	0	1.26	0	0	0	0	0	0	1	1.05	0	0
ค่าเฉลี่ย	0.06	0	0.15	0.39	0	0.42	0	5.9	0	0	0	0	0.33	0.35	0	0

ปริมาณ *Psuedanabaena* sp. ในบ่อที่ 1 พบจำนวนมากที่สุด 17.7 cell x 10²/ L ใน
สัปดาห์ที่ 14 ส่วนในบ่อที่ 2 และ 3 พบจำนวนน้อยมาก



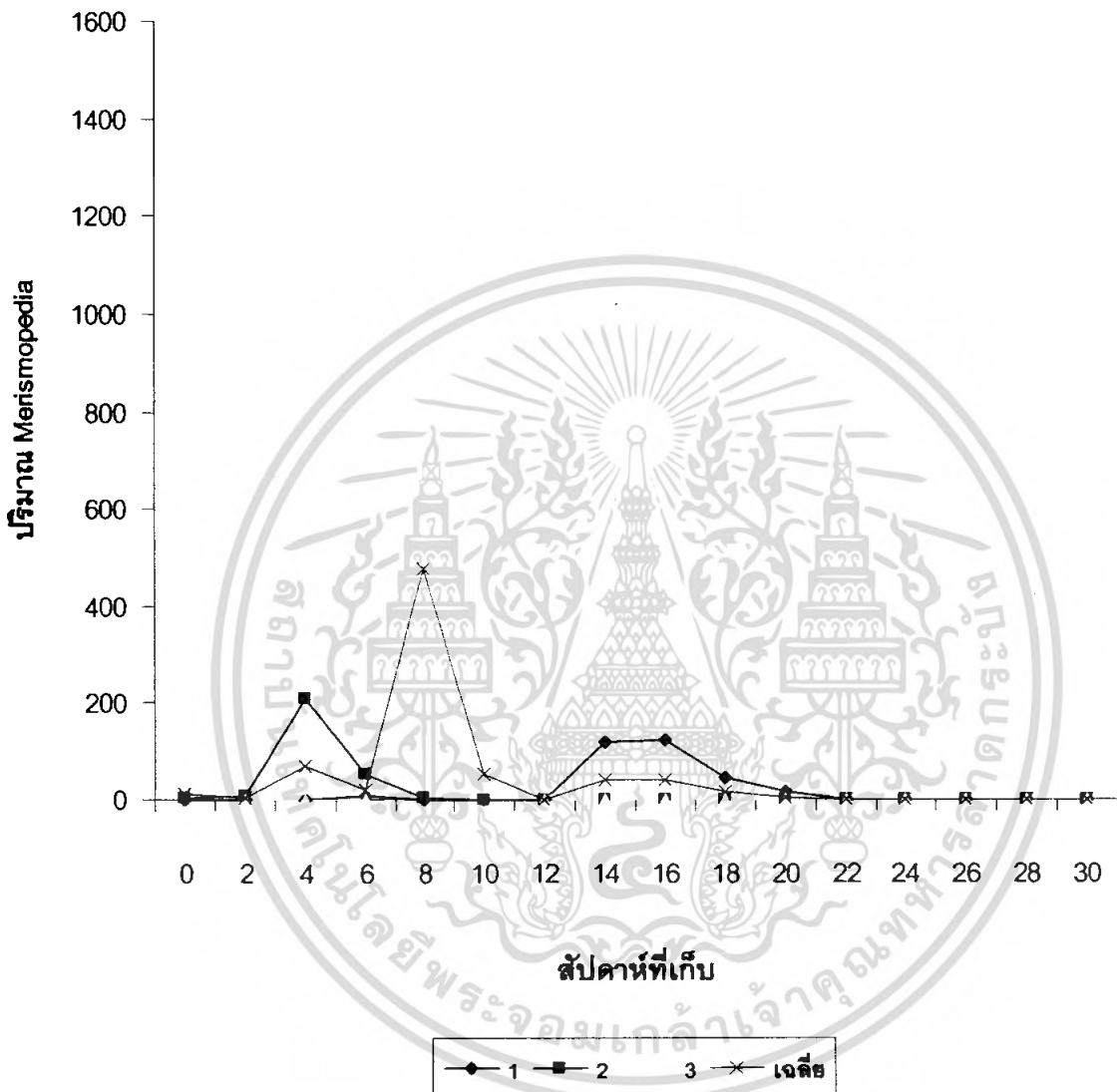
ภาพที่ 22 ปริมาณ *Psuedanabaena* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Merismopedia* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณx 10 ² cell/ L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0	0.91	0.93	8.53	0	0	0	119.16	121.6	44.52	14.68	0	0	0	0	0
2	5.46	7.13	208.04	54.59	3.64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	36.2	0	0	0	1432.3	163.72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ค่าเฉลี่ย	13.88	2.68	69.65	21.04	478.63	54.57	0	39.72	40.53	14.84	4.89	0	0	0	0	0

ปริมาณ *Merismopedia* sp. ในบ่อที่ 3 สัปดาห์ที่ 8 มีปริมาณมากที่สุดคือ $1432.3 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$ และลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 10 บ่อที่ 2 มีปริมาณสูงสุดคือ $208.04 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$ ในสัปดาห์ที่ 4 และบ่อที่ 1 มีปริมาณสูงสุด คือ $121.6 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$ ในสัปดาห์ที่ 16



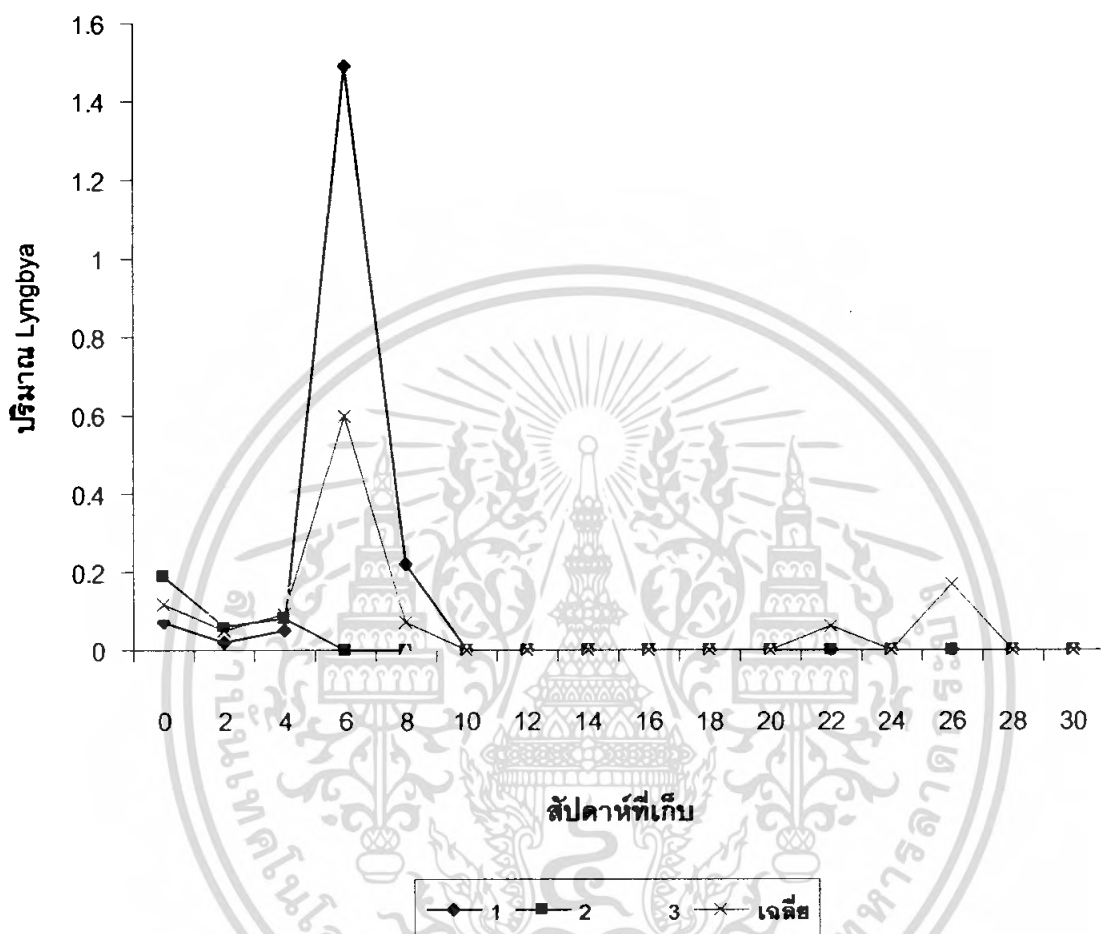
ภาพที่ 23 ปริมาณ *Merismopedia* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 จำนวน Cyanobacteria ชนิด *Lyngbya* sp. ทั้ง 30 สัปดาห์

บ่อที่	สัปดาห์ที่เก็บ(ปริมาณ x 10 ² cell / L)															
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
1	0.07	0.02	0.05	1.49	0.22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0.19	0.06	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0.1	0.09	0.15	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0.19	0	0.52	0	0
ค่าเฉลี่ย	0.12	0.05	0.09	0.6	0.07	0	0	0	0	0	0	0.06	0	0.17	0	0

ปริมาณ *Lyngbya* sp. บ่อที่ 1 เพิ่มขึ้นสูงสุดในสัปดาห์ที่ 6 มีปริมาณ $1.49 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$
 บ่อที่ 3 เพิ่มสูงสุดในสัปดาห์ที่ 26 คือ $0.52 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$ และบ่อที่ 2 มีปริมาณมากที่สุดในสัปดาห์
 ที่ 0 คือ $0.19 \text{ cell} \times 10^2 / \text{L}$

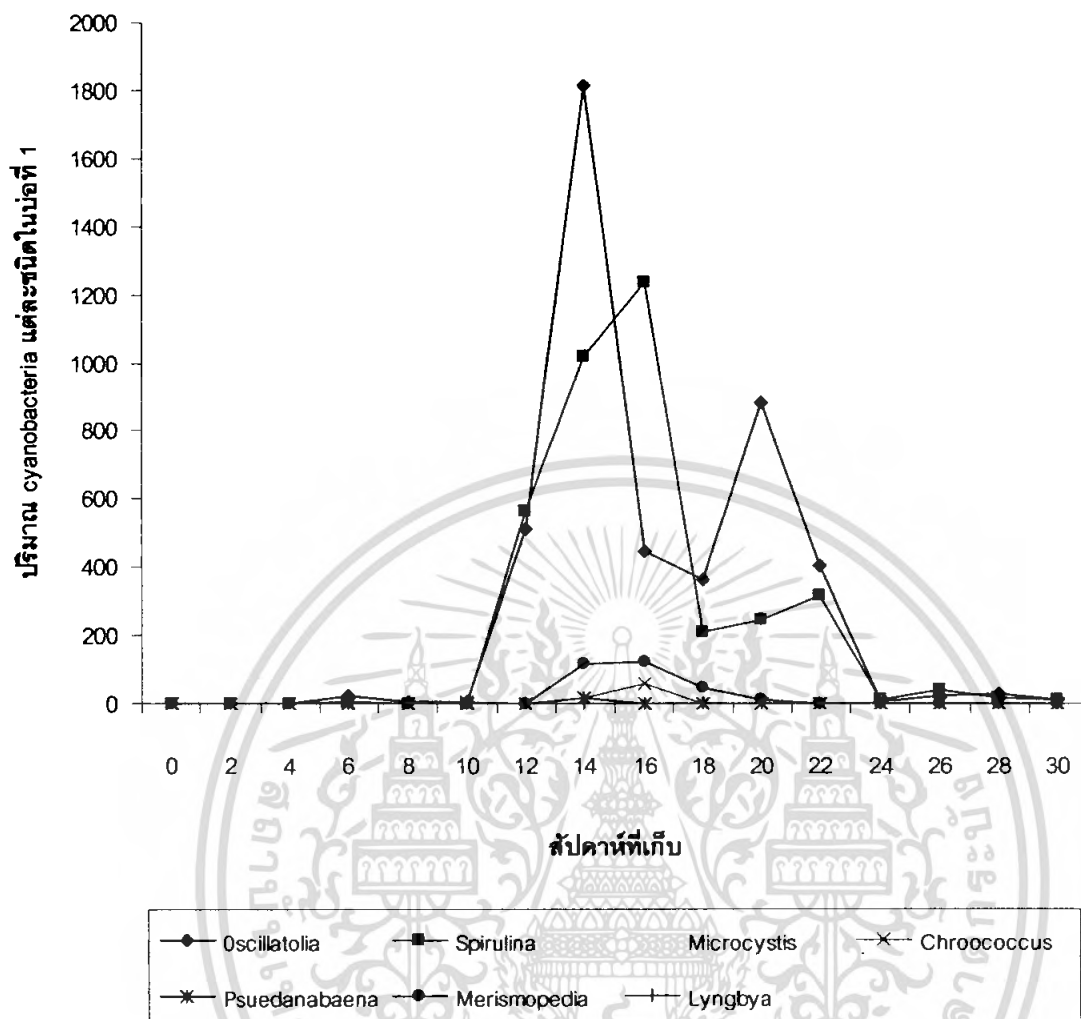


ภาพที่ 24 ปริมาณ *Lyngbya* sp. ทั้ง 3 บ่อ ในเวลา 30 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิด ของบ่อที่ 1 ทั้ง 30 สัปดาห์

ชนิด	ปริมาณ Cyanobacteria × 10 ² cell/L																
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	รวม
Oscillatolia	0.07	0.09	0.23	24.67	6.19	4.42	511.62	1820	450.79	364.44	885.61	407.18	6.46	26.05	27.82	9.96	4545.6
Spirulina	0.1	0.13	0	0	2.4	0.85	569.04	1019.6	1237.1	211.1	249.57	320.99	12.16	40.12	15.02	11.88	3690.09
Microcystis	0	0	0	0	0.19	0	1.64	182.88	0	8.04	9.33	0	8.5	0.1	0.91	0	211.59
Chroococcus	0.3	0	1.31	5.33	0.31	5.41	0	18.39	58.56	0	0.5	0	0	0	0	0	90.11
Psuedanabaena	0	0	0.46	0	0	0	0	17.7	0	0	0	0	0	0	0	0	18.16
Merismopedia	0	0.91	0.93	8.53	0	0	0	119.16	121.6	44.52	14.68	0	0	0	0	0	310.33
Lyngbya	0.07	0.02	0.05	1.49	0.22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.85

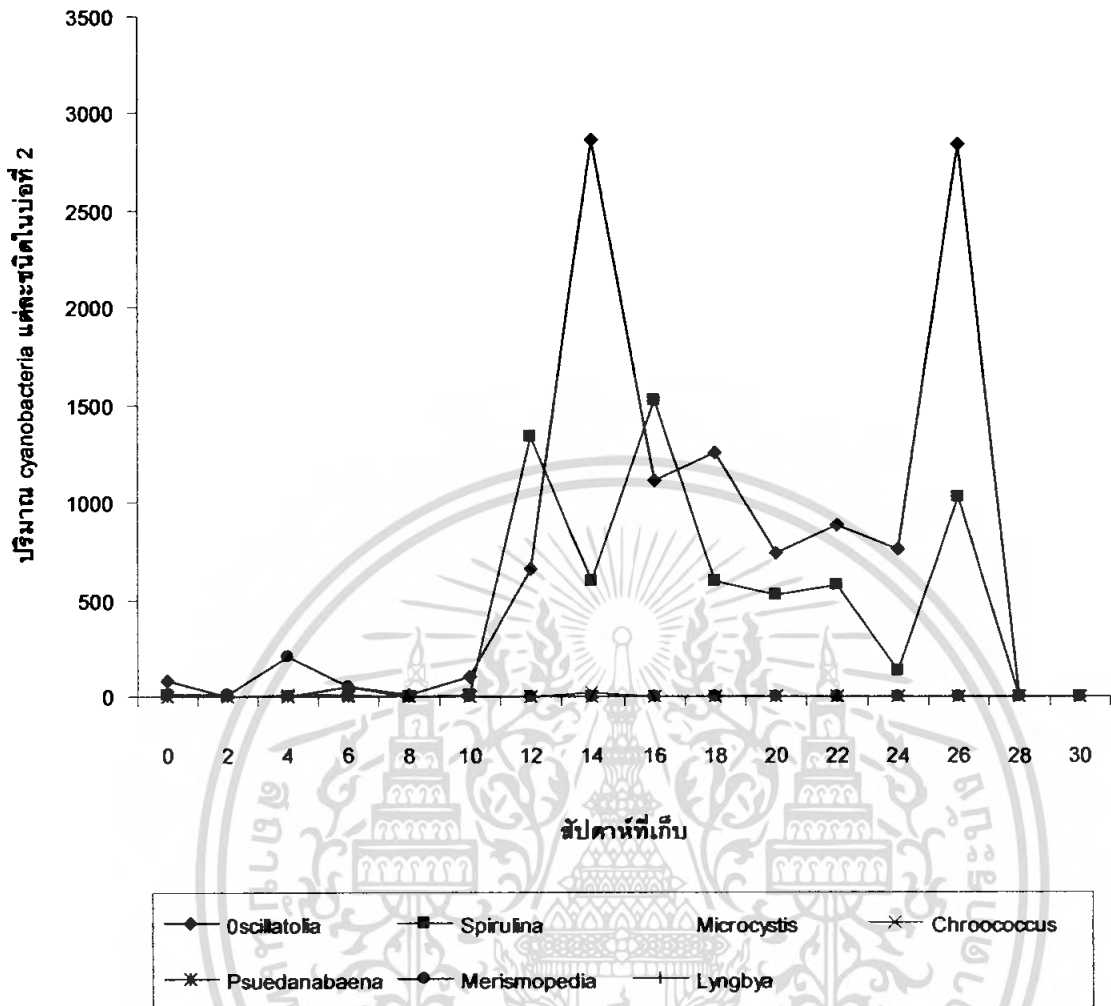


ภาพที่ 25 ปริมาณของ Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิด ของบ่อที่ 2 ทั้ง 30 สัปดาห์

ชนิด	ปริมาณ Cyanobacteria×10 ⁸																
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	รวม
Oscillatolia	81.8	0.55	0.52	49.98	12.24	100.15	662.65	2868.4	1119.8	1255.3	746.21	888.72	759.96	2852.3	0	0	11398.48
Spirulina	9.9	0.47	0.39	1.55	4.78	14.52	1342.3	601.69	1524.2	594.13	523.37	579.95	134.32	1027.5	0	0	6359.07
Microcystis	2.67	0	0	0.66	0.41	0	1.03	0	10.14	12.79	0	0	4.33	0	0	0	32.03
Chroococcus	0	0.27	8.44	6.5	0	2.56	0	18.1	0	0	0	0	0	0	0	0	35.87
Psuedanabaena	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Merismopedia	5.46	7.13	208.04	54.59	3.64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	278.86
Lyngbya	0.19	0.06	0.08	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.33

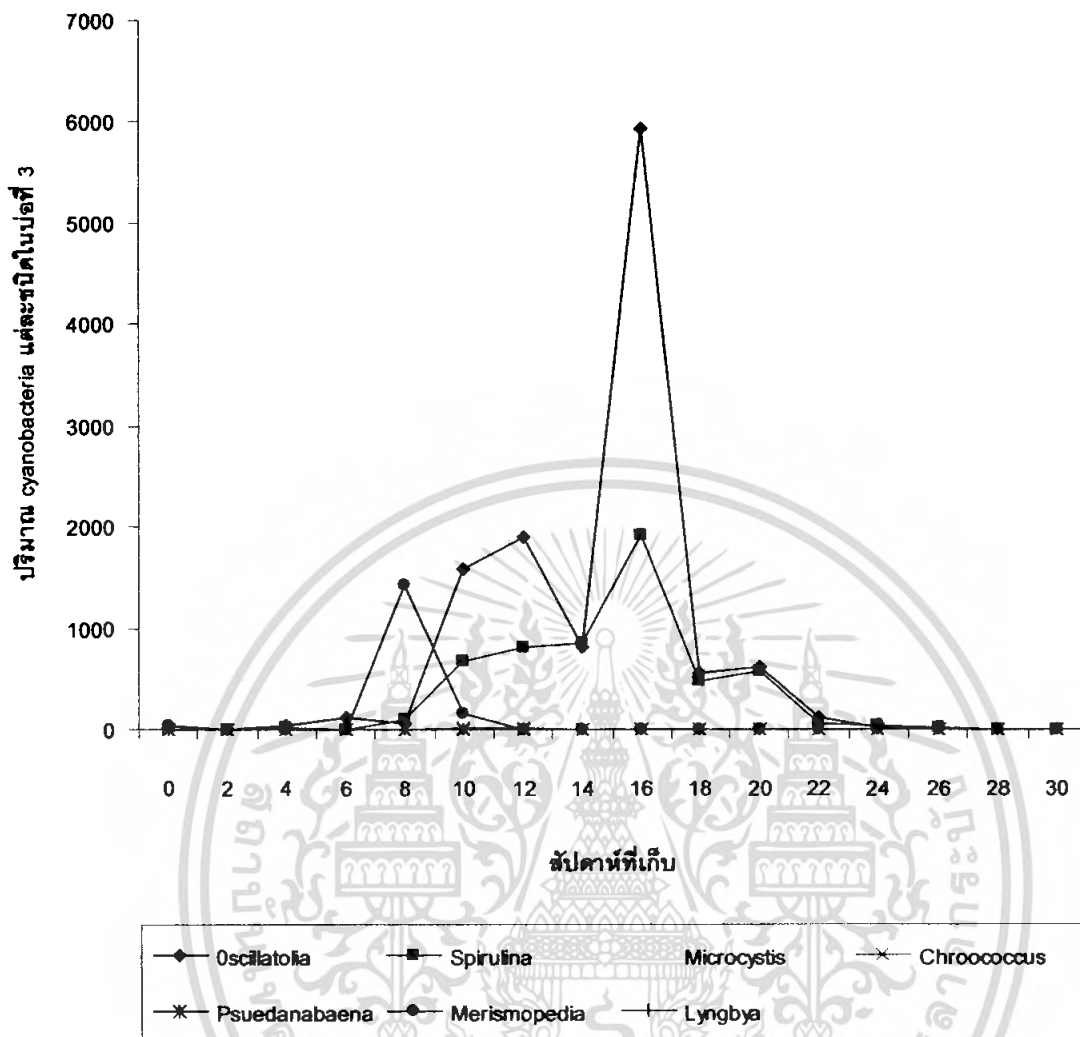


ภาพที่ 26 ปริมาณของ Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 จำนวน Cyanobacteria แต่ละชนิด ของบ่อที่ 3 ทั้ง 30 สัปดาห์

ชนิด	ปริมาณ Cyanobacteria×10 ⁸																
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	รวม
Oscillatolia	0.14	3.3	35.63	118.02	50.16	1595.3	1910	803.18	5940.9	547.93	607.58	110.42	13.86	11.76	0	0	11748.18
Spirulina	0	0	24.12	5.8	100.38	674.21	815.88	861.98	1932.2	471.31	584.83	57.45	42.61	11.64	0	0	5582.38
Microcystis	0	0	0.21	0.8	0	2.38	0	2.59	16.06	0.84	0	0.92	0.42	0.88	0	0	25.1
Chroococcus	8.2	1.01	0	0.8	4.19	10.88	14.16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39.24
Psuedanabaena	0.19	0	0	1.17	0	1.26	0	0	0	0	0	0	1	1.05	0	0	4.67
Merismopedia	36.2	0	0	0	1432.3	163.72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1632.19
Lyngbya	0.1	0.09	0.15	0.32	0	0	0	0	0	0	0	0.19	0	0.52	0	0	1.37



ภาพที่ 27 ปริมาณของ Cyanobacteria แต่ละชนิดในบ่อที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการทดลองพบว่าการเจริญเติบโตของสาหร่ายดีที่สุดในช่วง 8-16 สัปดาห์ ซึ่งสาหร่ายที่ให้สารพิษ Microcystins ได้แก่ *Microcystis* sp. และ *Oscillatoria* sp. ซึ่ง *Microcystis* sp. เจริญเติบโตได้ดีในช่วงสัปดาห์ที่ 14-18 ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดคือ 182.88×10^2 cell / L ดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 14 และ *Oscillatoria* sp. เจริญเติบโตได้ดีในช่วงสัปดาห์ที่ 10-26 ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดคือ 5940.9×10^2 cell / L เติบโตได้ดีที่สุดในสัปดาห์ที่ 16 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลาคุณนี้เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงในสัปดาห์ที่ 10 ดังนั้นการเกิดพิษ Microcystins อาจไม่เกี่ยวข้องกับสาหร่ายชนิด *Microcystis* sp. เนื่องจาก *Microcystis* sp. นี้มีจำนวนที่น้อยไม่สามารถสร้างพิษในปริมาณที่ทำลายเนื้อเยื่อได้ แต่ *Oscillatoria* sp. ในการทดลองมีจำนวนมากและยังสามารถสร้างพิษได้ การที่เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงนี้จึงมาจากพิษของ *Oscillatoria* sp. ซึ่งปริมาณที่ทำให้เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงนี้มีปริมาณตั้งแต่ 759.96×10^2 cell/ลิตร โดยมีการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆ ที่เห็นได้เด่นชัดคือ บริเวณตับ คือบริเวณรอบๆท่อเลือดพบการตายของเนื้อเยื่อและพบการแทรกตัวของเม็ดเลือดขาวในปริมาณมาก

เอกสารอ้างอิง

- Ernst, B., S.J. Hoeger., E. O'Brien. and D.R. Dietrich. 2006. Oral toxicity of the microcystin-containing cyanobacterium *Planktothrix rubescens* in European whitefish (*Coregonus lavaretus*). *Aquatic toxicology*. 79: 31-40.
- Palikova, M., R. Krejci., K. Hilscherova., P. Babica., S. Navratil., R. Kopp. and L. Blaha. 2007. Effect of different cyanobacterial biomasses and their fractions with variable microcystin content on embryonal development of carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquatic toxicology*. 81: 312-318
- Mohamed, A.Z. and A.A. Hussein. 2006. Depuration of microcystins in tilapia fish exposed to natural populations of toxic cyanobacteria: A laboratory study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 63: 424-429
- Xie, L., A. Yokoyama., K. Nakamura. and H. Park. 2007. Accumulation of microcystins in various organs of the freshwater snail *Sinotaia histrica* and three fishes in a temperate lake, the eutrophic Lake Suwa, Japan. *Toxicon*. 49: 646-652
- Cuvin-Aralar, M.L., J. Fastner., U. Focken., K. Becker. and E.V. Aralar. 2002. Microcystins in Natural Blooms and Laboratory Cultured *Microcystis aeruginosa* from Laguna da Bay, Philippines. *Systematic and Applied Microbiology*. 25: 179-182.
- Tas, S., E. okus. and A.A. Yilmaz. 2006. The blooms of a cyanobacterium, *Microcystis* cf. *aeruginosa* in a severely polluted estuary, the Golden Horn, Turkey. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 68: 593-599.
- Li, X.U., J. Wang., J.B. Liang. and Y.D. Liu. 2007. Toxicity of Microcystins in the isolated hepatocytes of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 67: 447-451.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ขั้นตอนการย้อมสี H&E

1.xylene I	3-5 min
2.xylene II	3-5 min
3.absolute alcohol I	2 min
4. absolute alcohol II	2 min
5.95% alcohol	1-2 min
6.70% alcohol	1-2 min
7.slowly dripping tap water	3-5 min
8.hematoxylin staining	1-5 min
9. slowly dripping tap water	3-5 min
10.blue the hematoxylin	3-5 min
11.wash in slowly	3-5 min
12. 70% alcohol	1-2 min
13. 95% alcohol	1-2 min
14.eosin staining	1-3 min
15. absolute alcohol I	1-2 min
16. absolute alcohol II	1-2 min
17. absolute alcohol III	1-2 min
18. xylene I	2-3 min
19. xylene II	2-3 min
20. xylene III	2-3 min

Buffer formalin 10%

ส่วนผสม 1 ลิตร ได้แก่ Formalin conc 37-40% 100 ml

น้ำกลั่น 900 ml

Sodium phosphate monobasic 4 g.

Sodium phosphate dibasic 6.5 g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้