บทที่ 4
วิจารณ์ผลการทดลอง

ศึกษาลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พบว่าลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* จากธรรมชาติ และที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการนั้นมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกัน คือมีรูปร่างเซลล์กลมค่อนข้างรี มีการเคลื่อนที่ในลักษณะหมุนเป็นเกลียว เมื่อวัดขนาดเซลล์ของ *P. noctilucae* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการพบว่า เซลล์กว้างประมาณ 3.35±0.30 ไมครอน ยาวประมาณ 5.49±0.66 ไมครอน โดยขนาดเซลล์และลักษณะของ *P. noctilucae* จากการศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ กิตติพร ทวีอักษรพันธ์ (2530) ที่ศึกษา *P. noctilucae* ซึ่งแยกจาก *N. scintillans* ซึ่งเก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ทำการวัดขนาดเซลล์พบว่ามีความกว้างประมาณ 3.30 ไมครอน ยาวประมาณ 5.60 ไมครอน มีรูปร่างรี และเคลื่อนที่แบบหมุนเป็นเกลียว ทางด้านหัวมีแส้ 1 เส้น เมื่อศึกษาลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ electron microscope (SEM) ตัวเซลล์ของ *P. noctilucae* จะแบนทางด้านข้าง ด้านหัวของเซลล์มีร่องลึกลงไปเป็นแอ่ง ซึ่งร่องลึกนี้เป็นจุดกำเนิดของแส้ ในบางเซลล์พบขนขนาดเล็กบนแส้ด้วย ลักษณะผิวเซลล์เรียบ ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Sweeney (1976) ที่ศึกษา *P. noctilucae* จากบริเวณทะเลแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยศึกษาลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* หลังจากที่แยกออกจากเซลล์ *N. scintillans* ด้วยกล้องจุทรรศน์แบบ electron microscope (SEM) พบว่าเซลล์มีลักษณะกลมค่อนข้างรี มีแส้ 1 เส้น โดยฝังตัวอยู่ในร่องลึกทางด้านหัวของเซลล์ ลักษณะผิวเซลล์เรียบ และกิตติพร ทวีอักษรพันธ์ (2530) ศึกษาลักษณะเซลล์ของ *P. noctilucae* ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ electron microscope (SEM) พบว่าเซลล์ของ *P. noctilucae* แบนทางด้านข้าง ทางด้านหัวของเซลล์มีร่องลึกลงไปเป็นแอ่งและเป็นจุดกำเนิดแส้ ซึ่งมีความยาวมากกว่าความยาวเซลล์ และในบางเซลล์พบขนขนาดเล็กบนแส้ด้วย จากการศึกษาของ Okaichi และ คณะ (1991) พบว่าลักษณะเซลล์ *P. noctilucae* ที่แยกจาก *N. scintillans* ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ และนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร modified ESM ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ช่วงเวลาสว่าง:ช่วงเวลามืด 14:10 ชั่วโมง โดยศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบ electron microscope (SEM) พบว่าเซลล์ *P. noctilucae* มีรูปร่างรีซึ่งต่างจากการศึกษาครั้งนี้ที่มีรูปร่างกลมค่อนข้างรี มีแส้ 1 เส้น ฝังตัวอยู่ในร่องลึกทางด้านหัวของเซลล์

การแบ่งเซลล์ของ *P. noctilucae* ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ

จากการศึกษาการแบ่งเซลล์ของ *P. noctilucae* แบบไมโตซีสนั้น ในทุกระยะของการแบ่งเซลล์สอดคล้องกับการศึกษาของ Pickett-Heaps และ Donald (1974) ที่ทำการศึกษาการแบ่งเซลล์ของ *P. minor* ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลกตรอนแบบ electron microscope (TEM) แต่ในการศึกษาครั้งนี้เซลล์ที่แบ่งเสร็จใหม่ๆ มีแส้ยาวประมาณ 5 ไมครอน

ความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

เมื่อเลี้ยง *P. noctilucae* ที่ระดับความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ และ 5,000 ลักซ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร modified ESM พบว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ดีที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเฉลี่ยเท่ากับ 0.19±0.01 ต่อวัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ryther (1956) อ้างถึงใน Kinne (1978) ที่ศึกษาความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของแพลงก์ตอนพืชในเขตร้อน และพบว่าแพลงก์ตอนพืชในกลุ่ม Chlorophyceae นั้นมีช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโต 5,000-7,500 ลักซ์ และจากการศึกษาของ Raven และ Richardson (1986) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตของ *Chlamydomonas* sp. นั้นเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มแสงที่เพิ่มสูงขึ้น กล่าวคือ เมื่อเลี้ยง *Chlamydomonas* sp. ที่ระดับความเข้มแสง 2,560 ลักซ์ มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 0.25 ต่อวัน, ระดับความเข้มแสง 5,120 ลักซ์ มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 0.50 ต่อวัน และที่ระดับความเข้มแสง 7,680 ลักซ์ มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเท่ากับ 0.75 ต่อวัน แสดงว่าแพลงก์ตอนพืชในกลุ่ม Chlorophyceae เติบโตได้ดีที่ระดับความเข้มแสงสูง เนื่องจากการทดลองครั้งนี้มีข้อจำกัดในเรื่องของอุปกรณ์ในการทดลองไม่สามารถเลี้ยง *P. noctilucae* ที่ระดับความเข้มแสงสูงกว่า 5,000 ลักซ์ได้ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลี้ยง *P. noctilucae* ที่ระดับความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ ซึ่งให้การเติบโตที่ดีกว่าที่ระดับความเข้มแสง 3,000 ลักซ์

N. scintillans สีเขียวซึ่งเป็นสีของ *P. noctilucae* ที่พบในประเทศไทยนั้นมีการกระจายที่อุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลอยู่ในช่วงกว้าง จากการศึกษาของ สิทธิพันธ์ ศิริรัตนชัย และแววตา ทองระอา (2536) ที่ตรวจวัดอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลในขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของ *N. scintillans* บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดชลบุรี ในเดือนสิงหาคม 2534 พบว่าอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28-31 องศาเซลเซียส ความเค็มอยู่ในช่วง 17-30 ส่วนในพัน เช่นเดียวกับการตรวจวัดอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลในขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของ *N. scintillans* บริเวณชายฝั่งทะเล จังหวัดชลบุรี ในช่วงเดือนมิถุนายน 2535 ถึงเดือนธันวาคม 2536 พบว่า *N. scintillans* มีการเพิ่มจำนวนใน

ช่วงอุณหภูมิของน้ำทะเลเท่ากับ 23-32 องศาเซลเซียส ความเค็มของน้ำทะเลเท่ากับ 11-34 ส่วนในพัน จากที่ได้กล่าวมาแล้วนี้ได้ว่า *N. scintillans* มีการกระจายในอุณหภูมิและความเค็มของน้ำทะเลได้ในช่วงกว้าง ด้วยเหตุนี้ *N. scintillans* จึงสามารถปรับภาวะภายในเซลล์ให้เปลี่ยนแปลงตามภาวะแวดล้อมภายนอกได้ดี ในขณะที่ *N. scintillans* ปรับอุณหภูมิภายในเซลล์ให้เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิของน้ำทะเลภายนอกนั้นเรียกว่า "Thermoconformer" และในขณะที่ *N. scintillans* ปรับภาวะของเหลวภายในเซลล์ให้เปลี่ยนแปลงไปตามความเค็มของน้ำทะเลภายนอกนั้นเรียกว่า "Osmoconformer" (John, 1993) *P. noctilucae* ซึ่งดำรงชีวิตอยู่ภายในเซลล์ของ *N. scintillans* ย่อมมีการปรับตัวเปลี่ยนแปลงไปตามภาวะแวดล้อมที่ *N. scintillans* อาศัยอยู่ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า เมื่อเลี้ยง *P. noctilucae* ที่อุณหภูมิ 20±2 และ28±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* สามารถเติบโตได้ แต่เมื่อเลี้ยง *P. noctilucae* ที่อุณหภูมิ 10±2 องศาเซลเซียส *P. noctilucae* ไม่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์และตายในที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *P. noctilucae* ไม่สามารถกระจายไปอยู่ในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำมากได้ ด้วยเหตุนี้เราจึงไม่พบ *N. scintillans* สีเขียวในเขตอื่นของโลกที่มีอุณหภูมิของน้ำทะเลต่ำมาก เช่น *N. scintillans* ที่พบในบริเวณ Seto Sea ประเทศญี่ปุ่นนั้นมีสีชมพูอมแดงปรากฏจากเซลล์ของ *P. noctilucae* เนื่องจากในฤดูหนาวน้ำทะเลในบริเวณนี้มีอุณหภูมิต่ำประมาณ 8 องศาเซลเซียส (Pithakpol, 1997) ส่วนผลของความเค็มต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* พบว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ทุกระดับความเค็มในการทดลอง คือ 20, 30 และ 40 ส่วนในพัน โดยเติบโตดีที่สุดที่ระดับความเค็ม 20 ส่วนในพัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเซลล์ *N. scintillans* ที่เก็บมาเพื่อใช้ในการทดลองนั้นเก็บจากบริเวณปากแม่น้ำ ซึ่งมีความเค็มขณะเก็บเท่ากับ 21 ส่วนในพัน ดังนั้นเมื่อแยก *P. noctilucae* ออกมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเค็มเป็น 3 ระดับ คือ 20, 30 และ 40 ส่วนในพัน *P. noctilucae* จึงเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเค็ม 20 ส่วนในพัน เนื่องจากเป็นภาวะที่คุ้นเคยและไม่ต้องปรับตัวมาก จากผลการทดลอง *P. noctilucae* เติบโตได้ในทุกระดับความเค็มซึ่งเป็นช่วงที่กว้าง แสดงว่า *P. noctilucae* จัดเป็นพวก osmoconformer เช่นเดียวกับ *N. scintillans* ดังนั้นปัจจัยของความเค็มจึงไม่มีผลต่อการกระจายของ *P. noctilucae* ในธรรมชาติ ผลของความเป็นกรด-เบสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* พบว่า *P. noctilucae* ไม่สามารถเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 8.0 โดยตายทันทีเมื่อใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่ *P. noctilucae* เติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.5 จากการศึกษาของ Okaichi และคณะ (1991) พบว่าเมื่อเลี้ยง *P. noctilucae* ซึ่งแยกจาก *N. scintillans* ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Modified ESM โดยปรับค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารเลี้ยงเชื้อตั้งแต่ 4.0-6.0 *P. noctilucae* เติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับค่าความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.5 และเมื่อความเป็นกรด-เบสของอาหารเลี้ยงเชื้อมาก

กว่า 5.5 *P. noctilucae* จะหยุดการเติบโต และจากการศึกษาของเหลวภายในเซลล์ของ *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่นและประเทศไทย พบว่าประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลายชนิด ซึ่งกรดอินทรีย์ที่พบมากอยู่ในรูปกรดอะซิติก โดยใน *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่นมีกรดอะซิติก 1.85 มิลลิโมล ซึ่งมากกว่าใน *N. scintillans* จากประเทศไทยที่มีกรดอะซิติกประมาณ 0.06 มิลลิโมล ซึ่ง Okaichi และคณะ (1991) กล่าวว่าอาจมีสาเหตุมาจากกรดอะซิติกใน *N. scintillans* จากประเทศไทย ถูกใช้ไปโดย *P. noctilucae* ที่อาศัยร่วมอยู่ภายในเซลล์ จากที่กล่าวมาแสดงว่า *P. noctilucae* ไม่สามารถดำรงชีวิตสมบูรณ์แบบอิสระในน้ำทะเลภายนอกเซลล์ *N. scintillans* ได้ เนื่องจากน้ำทะเลปกติมีค่าความเป็นกรด-เบสประมาณ 7.5-8.5 (มนูวดี หังสพฤกษ์, 2532) ซึ่งสูงกว่าความเป็นกรด-เบสภายในเซลล์ *N. scintillans*

ตารางที่ 4-1 ปริมาณของกรดอินทรีย์ใน *N. scintillans* (Okaichi และคณะ, 1991)

Organic acid (mM)	Sampling station		
	Tachibana	Gulf of Thailand	
	Kagawa Prf.	I*	II**
formic acid	0.06	0.03	0.08
acetic acid	1.85	0.06	0.06
lactic acid	0.12	0.02	0.02
succinic acid	0.03	0.01	0.08
malic acid	0.01		0.09
citric acid			0.47

* บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา

** บริเวณฟาร์มกุ้งทางตอนใต้ของกรุงเทพมหานคร

ผลของชาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเติบโตของ *P. noctilucae*

นั้น *P. noctilucae* มีแนวโน้มการเติบโตดีที่สุด เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมชาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของ NH_4Cl เท่ากับ 2 มิลลิโมล และเติมชาตุอาหารฟอสฟอรัสในรูปของ K_2HPO_4 เท่ากับ 0.05 มิลลิโมล แสดงให้เห็นว่า *P. noctilucae* เติบโตได้ดีในภาวะที่มีชาตุอาหารไนโตรเจนค่อนข้างสูง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์ของ *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่นและประเทศไทย โดย Okaichi และคณะ (1991) พบว่าประกอบด้วยชาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม-ไนโตรเจน ซึ่ง *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่นมีสารประกอบแอมโมเนียม-ไนโตรเจนประมาณ 0.5-4.9 มิลลิโมล ต่อน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4-2) เป็นที่น่าสังเกต

ว่า *N. scintillans* จากประเทศไทยมีแอมโมเนียม-ไนโตรเจนภายในเซลล์ต่ำกว่า *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่น ทั้งนี้เนื่องจากถูกใช้ไปโดย *P. noctilucae* ที่อาศัยร่วมอยู่ภายในเซลล์ *N. scintillans* นั่นเอง ซึ่ง *N. scintillans* จากประเทศญี่ปุ่นไม่มี *P. noctilucae* อาศัยร่วมอยู่ด้วยจึงมีปริมาณของแอมโมเนียม-ไนโตรเจนภายในเซลล์สูง ส่วนธาตุอาหารฟอสฟอรัสในรูปของฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสในเซลล์ของ *N. scintillans* นั้นพบว่ามีค่าใกล้เคียงกันทั้ง 2 บริเวณ แสดงว่า *P. noctilucae* ใช้ธาตุอาหารฟอสฟอรัสเพียงเล็กน้อย จากที่กล่าวมา *P. noctilucae* ต้องการธาตุอาหารในปริมาณสูง ซึ่งผลการทดลอง *P. noctilucae* เติบโตดีที่สุดที่ความเข้มข้นของ NH_4Cl เท่ากับ 2 มิลลิโมล ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงที่สุดในการทดลอง และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนในรูปของแอมโมเนียม-ไนโตรเจนในน้ำทะเลธรรมชาติซึ่งเท่ากับ 1-50 ไมโครกรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจนต่อลิตร (3.6×10^{-3} มิลลิโมล) กับค่าแอมโมเนียม-ไนโตรเจนใน *N. scintillans* จากประเทศไทยและความเข้มข้นที่ *P. noctilucae* เติบโตดีที่สุดในการทดลอง พบว่าแอมโมเนียม-ไนโตรเจนในน้ำทะเลธรรมชาติมีค่าต่ำกว่ามาก ดังนั้นจึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ *P. noctilucae* ต้องอาศัยอยู่ภายในเซลล์ *N. scintillans* เท่านั้น อาจจะเป็นเพราะมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนที่สูงเพียงพอต่อการเติบโต

ตารางที่ 4-2 ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสในเซลล์ของ *N. scintillans* (Okaichi และคณะ, 1991)

Sampling station		NO_3-N NO_2-N	NH_4-N	Total-N	PO_4-P	Total-P
				(mM/g dry weight)		
Seto Inland Sea, Japan						
Aioi	*		4.90	6.50	0.07	0.07
Tachibana	*		3.40	6.40	0.07	0.08
Utimoni	*		2.60		0.03	0.03
Hiketa	*		2.50	4.40		
Oda	*		0.50	3.30	0.03	0.06
Ohkado	*		1.10	4.00	0.04	0.04
Gulf of Thailand						
I	**	0.01	0.50	3.20	0.04	0.11
II	***	0.01	0.30		0.09	0.11

* unpublished ** mouth of Chao Praya River *** shrimp farm in south of Bangkok

จากการทดลองหาภาวะที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* แสดงให้เห็นว่า *P. noctilucae* ไม่สามารถกระจายอยู่ในเขตที่มีอุณหภูมิต่ำมากได้ ด้วยเหตุนี้จึงไม่พบ *N. scintillans* สีเขียวกระจายอยู่ในเขตที่มีอุณหภูมิของน้ำทะเลต่ำ ส่วนปัจจัยของความเค็มไม่เป็นปัจจัยจำกัดต่อการกระจายของ *P. noctilucae* เนื่องจากในการทดลอง *P. noctilucae* เติบโตได้ในช่วงความเค็มที่กว้างมากจัดเป็นพวก osmoregulator ส่วนการดำรงชีวิตของ *P. noctilucae* นั้นไม่สามารถดำรงชีวิตอิสระในน้ำทะเลธรรมชาติ ต้องดำรงชีวิตเป็น symbiont ภายในเซลล์ของ *N. scintillans* เนื่องจากไม่สามารถดำรงชีวิตได้ที่ความเป็นกรด-เบสของน้ำทะเลปกติคือ 7.5-8.5 แต่สามารถเติบโตและดำรงชีวิตได้ที่ความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 4.5 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-เบสภายในเซลล์ *N. scintillans* นอกจากนี้ *P. noctilucae* ต้องการธาตุอาหารไนโตรเจนในการเติบโตสูงมาก ซึ่งน้ำทะเลภายนอกมีค่าต่ำกว่าในเซลล์ *N. scintillans* และไม่เพียงพอต่อการเติบโตของ *P. noctilucae* ดังนั้น *P. noctilucae* จึงอาศัยเป็น Symbiont ภายในเซลล์ *N. scintillans* ซึ่งมีปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจนสูง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย