บทที่ 1 บทนำ

ความหมายของน้ำเปลี่ยนสี

น้ำเปลี่ยนสี หรือขี้ปลาวาฬ หรือน้ำแดง(red tide หรือ red water หรือ water discoloration) เป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติ หมายถึง ปรากฏการณ์ที่แพลงก์ตอนพืชมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณมากจนทำให้น้ำทะเลบริเวณนั้นเปลี่ยนสีไปจากน้ำทะเลปกติ เช่น สีแดง เขียว เหลือง เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่เป็นสาเหตุของปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีนั้นๆ (สุนีย์, 2525) Sweeney (1979) ได้เสนอว่า ควรแยก phytoplankton bloom หรือ algal bloom ออกจาก red tide ให้ชัดเจน โดยการเกิด red tide นั้น เกิดจากเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของแพลงก์ตอนพืชชนิดเดียว ประมาณ 90–95% แนวความคิดที่แยก red tide ออกจาก algal bloom หรือ phytoplankton bloom แสดงให้เห็นว่าในการเกิดน้ำเปลี่ยนสี หรือ red tide นั้น มีปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับแพลงก์ตอนพืชเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีกว่าชนิดอื่น และแพลงก์ตอนพืชนั้นๆจะต้องมีความ สามารถในการตอบสนองต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดีกว่าแพลงก์ตอนพืชอื่น ๆภายใต้สภาวะแวดล้อมที่อยู่ร่วมกันนั้นด้วย เช่น ความสามารถในการดูดซึมสารอาหารและความต้องการชนิดของสารอาหารที่แตกต่างกัน ตลอดจนความสามารถของแพลงก์ตอนพืชบางชนิดที่สามารถสร้างและปล่อยสารบางชนิดไปยับยั้งการเจริญของแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นได้ ดังนั้นคำว่า phytoplankton bloom หรือ algal bloom จึงมีความหมายกว้าง ๆ หมายถึง การเจริญอย่างรวดเร็วของแพลงก์ตอนพืชที่เป็นการเพิ่มมวลชีวภาพ (biomass) ขึ้นเป็นอย่างมาก

ความสำคัญของน้ำเปลี่ยนสี

ผลกระทบจากปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี อาจก่อให้เกิดความเสียหายได้หลายประการ ดังนี้

1. ผลกระทบต่อเศรษฐกิจ บ่อยครั้งการเกิดน้ำเปลี่ยนสีเป็นสาเหตุให้สัตว์น้ำในธรรมชาติหรือที่ทำการเพาะเลี้ยงตายทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ ความรุนแรงของความสูญเสียขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการเช่น ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช พื้นที่ที่เกิดปรากฏการณ์ครอบคลุมพื้นที่มากน้อยเพียงใด และที่สำคัญที่สุดคือชนิดของแพลงก์ตอนพืชที่เป็นสาเหตุเป็นชนิดที่เป็นอันตรายหรือไม่ น้ำเปลี่ยนสีจากแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษจะส่งผลกระทบต่อการส่งออกสินค้าสัตว์ทะเลไปต่างประเทศอีกด้วย

2. ผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน ในกรณีที่น้ำเปลี่ยนสีเกิดจากแพลงก์ตอนพืชชนิดที่เป็นพิษ พิษจากแพลงก์ตอนพืชจะสามารถส่งต่อไปในห่วงโซ่อาหาร โดยการกินตามลำดับขั้นจนกระทั่งไปสู่คนที่บริโภคสัตว์น้ำที่ปนเปื้อนพิษนั้น ทำให้เจ็บป่วยและตายได้ เหตุการณ์ดังกล่าวเกิดขึ้นบ่อยครั้งในหลายพื้นที่เช่น ประเทศ ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย และแคนาดา เป็นต้น

3. ผลกระทบต่อการท่องเที่ยว การเกิดน้ำเปลี่ยนสีเป็นสาเหตุทำให้สีของน้ำทะเลเปลี่ยนไปจากปกติซึ่งเป็นสิ่งที่นักท่องเที่ยวไม่พึงประสงค์และนักท่องเที่ยวอาจกลัวอันตรายจากปรากฏการณ์นี้ไม่มาท่องเที่ยวหรือมีจำนวนนักท่องเที่ยวเข้ามาในพื้นที่น้อยลง

การเกิดน้ำเปลี่ยนสีมักก่อให้เกิดความรู้สึกในด้านที่ไม่เป็นประโยชน์ เพราะการเกิดน้ำเปลี่ยนสีมักเกี่ยวข้องกับการตายของทรัพยากรสัตว์น้ำ ตลอดจนอาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคสัตว์น้ำ รวมทั้งยังทำให้เกิดกลิ่นเหม็นและทำให้น้ำทะเลชายฝั่งสกปรกไม่เป็นที่พึงประสงค์ของนักท่องเที่ยวและประชาชนโดยทั่วไป อย่างไรก็ดีการเกิด algal bloom หรือ phytoplankton bloom มีบทบาทที่สำคัญมากต่อระบบนิเวศวิทยาของทะเล เพราะแพลงก์ตอนพืชเป็นผลผลิตเบื้องต้นที่จะถ่ายทอดสารอาหารและพลังงาน จากขบวนการสังเคราะห์แสงไปสู่สัตว์กินพืชที่สูงขึ้นไปในห่วงโซ่อาหาร เช่น spring blooms และ autumn blooms ในเขตอบอุ่นจะมีความสำคัญมากต่อการเพิ่มผลผลิตทางการประมง

การเกิดน้ำเปลี่ยนสี

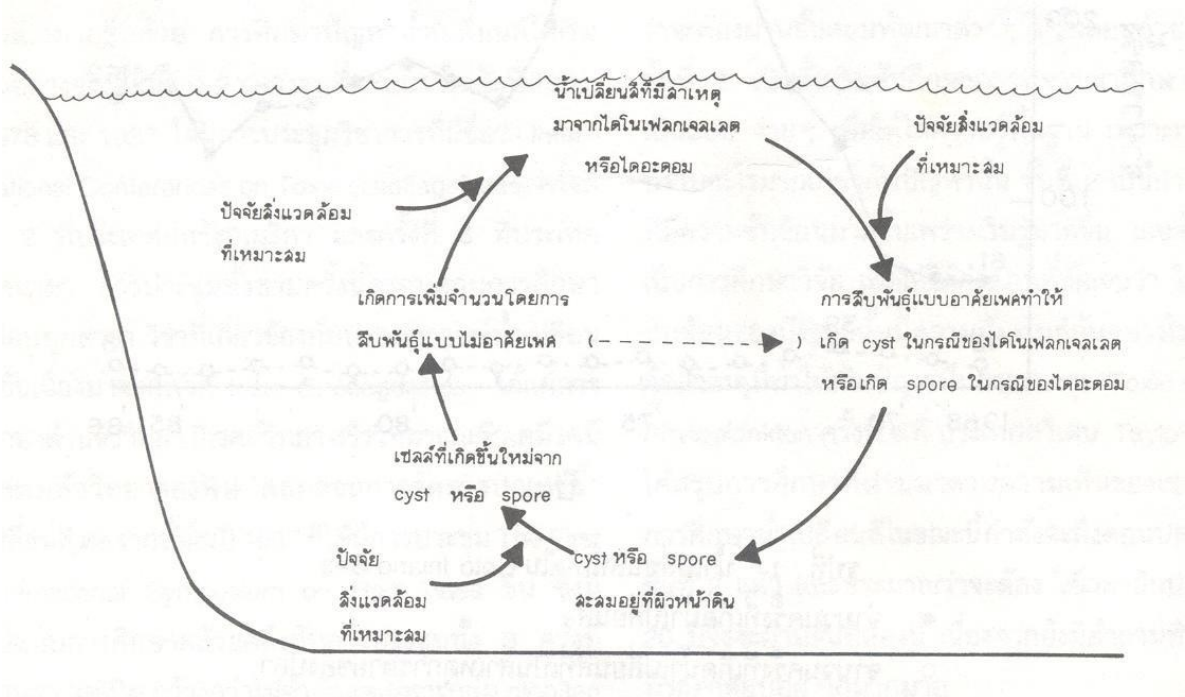
น้ำเปลี่ยนสีเป็นปรากฏการณ์ที่ซับซ้อน เกิดจากการกระทำร่วมกันของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ เช่น ความมีเสถียรของมวลน้ำ แสง อุณหภูมิ ความเค็ม สารอาหาร พฤติกรรมของแพลงก์ตอนพืช เป็นต้น ด้วยเหตุนี้เอง การทำนายการเกิดน้ำเปลี่ยนสีได้อย่างถูกต้องจึงไม่ใช่เรื่องที่จะทำได้โดยง่าย ในบางสถานที่การเกิดน้ำเปลี่ยนสีอาจมีความสัมพันธ์อย่างเห็นได้ชัดเจนกับปัจจัยบางประการ เช่น Okaichi (1989) ได้แสดงให้เห็นว่าการเกิดน้ำเปลี่ยนสีบริเวณ Seto Inland Sea เกี่ยวข้องกับปัญหามลภาวะน้ำเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำบริเวณดังกล่าว โดยพบว่า ความถี่ของการเกิดน้ำเปลี่ยนสีเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับการเพิ่มขึ้นของอุตสาหกรรม เมื่อมีการควบคุมปริมาณ COD (chemical oxygen demand) โดยให้มีการบำบัดน้ำเสียขั้นที่ 2 (secondary treatment) และการห้ามไม่ให้ใช้ฟอสฟอรัสเป็นส่วนประกอบในสูตรผงซักฟอก ทำให้การเกิดน้ำเปลี่ยนสีลดลงมากในปี ค.ศ.1978 แต่อย่างไรก็ตามน้ำเปลี่ยนสีก็ยังคงเกิดอยู่ และที่น่าสนใจ คือ การเกิดน้ำเปลี่ยนสีเป็นสาเหตุให้ปลาตายนั้นยังคงเกิดขึ้นตามปกติประมาณ 12 – 13 ครั้งต่อปี ตั้งแต่ปี ค.ศ.1968 – 1986 ชี้ให้เห็นว่าน่าจะมีปัจจัยอื่น ๆ ที่ควบคุมการเกิดน้ำเปลี่ยนสี

แม้ว่าปัจจุบันจะไม่สามารถบ่งบอกถึงปัจจัยที่เป็นสาเหตุสำคัญที่โน้มนำให้เกิดน้ำเปลี่ยนสีได้อย่างชัดเจน แต่จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพอจะทราบถึงกลไกหรือขั้นตอนต่าง ๆ ที่พัฒนาไปสู่ปรากฏการณ์นี้ 4 ระยะด้วยกัน(Taylor, 1987) ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ควบคุมการเกิดในแต่ละระยะอาจจะเหมือนหรือแตกต่างกันก็ได้แต่ทั้ง 4 ระยะ จะต้องเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีจึงจะเกิดขึ้นได้ ตัวอย่างเช่น ความสัมพันธ์ระหว่างวงจรชีวิตของแพลงก์ตอนพืช (ชนิดที่สามารถเกิด cyst หรือ spore ได้) กับการเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี ซึ่งความสัมพันธ์นี้จะสังเกตุพบได้อย่างชัดเจนในเขตอบอุ่น

1. ระยะเริ่มต้น ต้องมีกลุ่มเซลล์เริ่มต้น ซึ่งอาจมาจากการเกิดใหม่ของเซลล์จาก cyst หรือ spore ที่สะสมอยู่ที่ผิวตะกอนบริเวณที่เป็นแหล่งสะสม และ/หรือเซลล์จากบริเวณอื่นถูกกระแสน้ำพัดพาเข้ามาในบริเวณที่เหมาะสมที่จะพัฒนาให้เกิดปรากฏการณ์นี้ได้ ระยะนี้ถือเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดเพราะถ้าปราศจากตัวเซลล์ของแพลงก์ตอนพืชที่จะเป็นจุดเริ่มต้นแล้ว ปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีก็จะไม่สามารถเกิดขึ้นได้

ในขั้นตอนนี้ cyst หรือ spore จะต้องผ่านระยะพัก (dormancy period) ซึ่งมักจะเป็นช่วงที่สภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่เหมาะสมที่เซลล์ที่มีชีวิตปกติจะอยู่ได้ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศซึ่งทำให้เกิด cyst หรือ spore เป็นการตอบสนองของแพลงก์ตอนพืชต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แพลงก์ตอนพืชจะสามารถมีชีวิตอยู่ได้ภายใต้สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมสำหรับเซลล์ปกติจะดำรงชีวิตอยู่ได้

cyst หรือ spore จะมีระยะพัก (dormancy period) ซึ่งมีระยะเวลาแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของแพลงก์ตอนพืช หลังจากนั้นจะมีการพัฒนาการต่าง ๆ ภายใน cyst หรือ spore โดยขบวนการทางชีวเคมีเพื่อให้พร้อมที่จะเกิดเซลล์ใหม่ ต่อจากนั้นปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ จะเริ่มเข้ามามีอิทธิพลอย่างมากต่อการเกิดใหม่ของเซลล์ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ แสง ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ เป็นต้น หากสภาพเหมาะสม cyst หรือ spore บางชนิดอาจไม่สามารถเกิดใหม่ได้อีก แต่บางชนิดอาจมีระยะพักครั้งที่ 2 (secondary dormancy period) เพื่อรอให้สภาพแวดล้อมเหมาะสมก่อนจึงจะเกิดเซลล์ใหม่ขึ้นมา สำหรับ cyst หรือ spore ที่สะสมอยู่ในที่ลึก ๆ นั้นกระแสน้ำจะมีบทบาทสำคัญมากในการนำ cyst หรือ spore ฟุ้งกระจายขึ้นมาจากผิวดินเพื่อสัมผัสกับสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเกิดใหม่ของเซลล์ต่อไป



ความสัมพันธ์ระหว่างวงจรชีวิตของแพลงก์ตอนพืชกับการเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี (ไทยถาวร, 2534)

2. ระยะพัฒนา เป็นขั้นตอนที่เซลล์ที่เกิดใหม่มีการเพิ่มขนาดประชากรโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยวิธีการแบ่งเซลล์ (binary fission) ความหนาแน่นของเซลล์ที่เพิ่มขึ้นนี้ถือเป็นระยะแรก ๆ ของปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี ในขั้นตอนนี้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทั้งกายภาพและชีวภาพจะร่วมกันมีอิทธิพลต่อการเพิ่มขนาดประชากร เช่น ความมีเสถียรของมวลน้ำ พฤติกรรมของ แพลงก์ตอนพืช สารอาหาร กระแสน้ำ เป็นต้น

3. ระยะน้ำทะเลเปลี่ยนสี ในขั้นตอนนี้ปัจจัยทางกายภาพที่มีบทบาทสำคัญมาก คือ กระแสลมและกระแสน้ำ ซึ่งจะพัดพาแพลงก์ตอนพืชจากระยะที่ 2 มารวมตัวกันอย่างหนาแน่นมากขึ้นที่บริเวณใดบริเวณหนึ่ง ประกอบกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบริเวณดังกล่าวมีความเหมาะสมทำให้แพลงก์ตอนพืชมีการแบ่งตัวเพิ่มมากขึ้นจนทำให้น้ำทะเลเปลี่ยนไปในที่สุด ดังนั้นบริเวณที่เกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีนี้จึงไม่จำเป็นที่จะต้องเกิดขึ้นในบริเวณเดียวกับระยะที่ 2 แต่มักจะเกิดในบริเวณใกล้กับบริเวณที่เกิดระยะที่ 2

4. ระยะสลายตัว ปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีจะคงสภาพอยู่ได้ไม่นานนักอาจนาน 1–5 วัน หรือมากกว่าทั้งนี้แล้วแต่สภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบริเวณนั้น เช่น คลื่นลมที่รุนแรง การกินแพลงก์ตอนพืชโดยแพลงก์ตอนสัตว์ เป็นต้น สำหรับcyst forming phytoflagellates เช่น *Alexandrium tamarense, Gymnodinium catenatum* พบว่า การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่ช่วยทำให้ปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสียุติลง เนื่องจาก cyst เกิดจากเซลล์ 2 เซลล์ที่มี mating type ต่างกันผสมกัน (conjugation) cyst ที่เกิดขึ้นจะจมและสะสมอยู่ที่ผิวหน้าดินตะกอน การเกิด cyst จึงเป็นการลดจำนวนของแพลงก์ตอนพืชที่แขวนลอยอยู่ในน้ำได้อย่างรวดเร็ววิธีหนึ่ง อย่างไรก็ดี cyst ที่สะสมอยู่ที่ผิวหน้าดินตะกอนจะทำหน้าที่สำคัญโดยจะเป็นแหล่งของเซลล์ที่จะเกิดใหม่และพัฒนาไปสู่การเกิดน้ำเปลี่ยนสีครั้งต่อไป

แพลงก์ตอนพืชที่เป็นสาเหตุของปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีในอ่าวไทยมีหลายชนิด เช่น *Noctiluca scintillans, Ceratium furca, Trichodesmium erythraeum* และ diatoms ชนิดต่าง ๆ เป็นต้น โดยการเกิดน้ำเปลี่ยนสีที่มีสาเหตุจาก *Noctiluca scintillans* มีความสำคัญมากที่สุดถึงแม้ว่า *Noctiluca* จะเป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดที่ไม่สร้างสารชีวพิษแต่น้ำเปลี่ยนสีจาก *Noctiluca* เกิดขึ้นบ่อยครั้งและในบางครั้งส่งผลกระทบทำให้สัตว์ทะเลตายและชาวประมงจับปลาได้น้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณที่เกิดน้ำเปลี่ยนสีมีปริมาณออกซิเจนในน้ำลดต่ำลงและมีปริมาณแอมโมเนียสูง

การเกิดน้ำเปลี่ยนสีที่ส่งผลกระทบทำให้สัตว์น้ำตายมักพบบ่อยครั้งในอ่าวไทยตอนในแต่มักจะไม่รุนแรงมากนัก น้ำเปลี่ยนสีที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชนพบเพียงหนึ่งครั้งคือ การเกิดน้ำเปลี่ยนสีที่เป็นสาเหตุของการเกิดพิษอัมพาตในหอย (PSP: Paralytic Shellfish Poisoning) พบที่ปากแม่น้ำปราณบุรีในเดือนพฤษภาคม 2526 เหตุการณ์เริ่มจากการเกิดน้ำเปลี่ยนสีจากแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษ จากนั้นหอยแมลงภู่ในบริเวณดังกล่าวทำการกรองกินแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษ เมื่อคนบริโภคหอยที่ปนเปื้อนพิษจะเจ็บป่วย เหตุการณ์ดังกล่าวทำให้ประชาชนในพื้นที่ที่บริโภคหอยแมลงภู่ป่วย 63 คนและเสียชีวิต 1 คน (Suvapepun,1984) ภายหลังเหตุการณ์ดังกล่าวก็ไม่พบเหตุการณ์น้ำเปลี่ยนสีที่เป็นพิษอีก แต่การศึกษาภายหลังตลอดระยะเวลา 20 กว่าปีที่ผ่านมากลับตรวจพบแพลงก์ตอนพืชที่เป็นอันตรายชนิดต่างๆเพิ่มมากขึ้นในอ่าวไทยตอนใน

การเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี *Noctiluca* ที่พบในประเทศไทยแตกต่างจากที่พบในเขตอบอุ่นและเขตหนาว น้ำเปลี่ยนสี *Noctiluca* ที่พบในประเทศไทยมีสีเขียวทั้งนี้เนื่องจากภายในเซลล์ของ *Noctiluca* มีแพลงก์ตอนพืชสีเขียวขนาดเล็กชนิด *Pedinomonas noctilucae* ร่วมอาศัยอยู่แบบพึ่งพาโดยเป็นผู้ผลิตสาร

อาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตให้แก่เจ้าบ้าน(Sweeney, 1971, 1976 และ 1978) สำหรับ *Noctiluca* ที่พบในบริเวณเขตอบอุ่นจะมีสีชมพู หรือสีส้ม หรือสีแดง เนื่องจากไม่มีแพลงก์ตอนพืชอาศัยร่วมอยู่ด้วย *Noctiluca* สีแดงจะกินแพลงก์ตอนหรือสารแขวนลอยอื่นๆเป็นอาหารจึงสังเกตพบอาหารเหล่านั้นอยู่ภาย ใน food vacuole เสมอและมีปริมาณมากน้อยต่างกันตามฤดูกาล (Uhlig และ Sahling,1990)

ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมกับการเกิดน้ำเปลี่ยนสี ที่มีสาเหตุมาจาก *Noctiluca* ได้มีการศึกษาโดยนักวิทยาศาสตร์หลายท่าน เช่น Adnan (1989), Devassy (1989), Le Fevre and Grall (1970), Prasad (1958), Ratti *et al*. (1988), Tada *et al*. (2004), Cruz *et al*. (2002), Uhling and Sahling (1990) เป็นต้น พบว่า การเกิดน้ำเปลี่ยนสีเนื่องจาก *Noctiluca* ในเขตอบอุ่น ไม่มีความสัมพันธ์กับธาตุอาหาร แต่พบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณเซลล์ของ *Noctiluca* มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิ โดยเมื่ออุณหภูมิเริ่มสูงขึ้นในฤดูใบไม้ผลิปริมาณ *Noctiluca* ก็เริ่มเพิ่มมากขึ้น และพบหนาแน่นมากที่สุดในช่วงฤดูร้อน แต่เมื่อเริ่มเข้าสู่ฤดูหนาวปริมาณเซลล์จะลดลงอย่างรวดเร็ว (Uhlig and Sahling, 1990 และ Tada, *et al*., 2004)

สำหรับการศึกษาน้ำเปลี่ยนสีที่มีสาเหตุจาก *Noctiluca* ในประเทศไทย Lirdwitayaprasit, *et al*. (1995) รายงานว่าน้ำเปลี่ยนสีจาก *Noctiluca* บริเวณชายฝั่งด้านตะวันออกและตะวันตกของอ่าวไทยตอนในจะ พบได้บ่อยในช่วงระหว่างเดือนกรกฎาคม – กันยายน และธันวาคม – กุมภาพันธ์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของฤดูมรสุม Thongra-ra (1996) รายงานว่าการเกิดน้ำเปลี่ยนสีมีแนวโน้ม สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารไนเตรต และฟอสเฟต โดยพบปริมาณธาตุอาหารทั้งสองสูงเมื่อเกิดน้ำเปลี่ยนสีจาก *Noctiluca*

Lirdwitayaprasit *et al*. (2005) ทำการศึกษานิเวศวิทยาของ *Noctiluca* บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงถึงอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี พบว่าการเปลี่ยนแปลงประชากรของ *Noctiluca* มีแนวโน้มตอบสนองต่อการเปลี่ยน แปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ โดยจะพบเซลล์ของ *Noctiluca* หนาแน่นและเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีเมื่อความเค็มน้ำมีค่าระหว่าง 22-33 psu ไนเตรตมีค่าระหว่าง 0.1-0.2 µM และฟอสเฟต มีค่าระหว่าง 1-2 µM โดยพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างความหนาแน่นเซลล์ของ *Noctiluca* กับความเข้มข้นของฟอสเฟตแต่ไม่พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับปัจจัยอื่นๆนอกจากนี้ยังพบว่าในที่ลึกและไกลจากปาก แม่น้ำจะมีความชุกชุมของเซลล์มากกว่าบริเวณที่ตื้นและใกล้ปากแม่น้ำ

Sriwoon, *et al*.(2008) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสิ่งแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงพลวัฒน์ปรชากรของ *Noctiluca* บริเวณปากแม่น้ำบางปะกงและอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี พบว่าการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ *Noctiluca* มีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนกับการเปลี่ยนแปลงของรอบฤดูลมมรสุม โดยจะพบการเกิดน้ำเปลี่ยนสี *Noctiluca* บ่อยครั้งในพื้นที่ศึกษาระหว่างฤดูลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ (ระหว่างเดือน พฤษภาคมถึงกันยายน) เนื่องจากการไหลเวียนของมวลน้ำผิวน้ำแบบตามเข็มนาฬิการในอ่าวไทยตอนบนจะนำแพลงก์ตอนพืชมายังพื้นที่ศึกษาซึ่งมีธาตุอาหารมากส่งเสริมให้เซลล์ *Noctiluca* และ *Pedinomonas* ตลอดจนแพลงก์ตอนอื่นๆเติบโตได้ดี แพลงก์ตอนชนิดอื่นที่เพิ่มปริมาณขึ้นในช่วงเวลาดังกล่าวก็เป็นอาหารให้กับ *Noctiluca* อีกด้วย การเกิดการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศใน *Noctiluca* ที่พบใน

ช่วงเวลานี้ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ *Noctiluca* มีการเติบโตอย่างรวดเร็ว แต่จะพบความหนาแน่นเซลล์ของ *Noctiluca* ต่ำในระหว่างฤดูลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างเดือน พฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ เนื่องจากธาตุอาหารต่ำ

ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีเป็นปรากฏการณ์ธรรมชาติที่ซับซ้อน เกิดจากการกระทำร่วมกันของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ ทั้งปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพ เช่น ความเสถียรของมวลน้ำ อุณหภูมิ ความเค็ม สารอาหาร พฤติกรรมของแพลงก์ตอนพืช เป็นต้น (ไทยถาวร, 2536) การเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีจาก *Noctiluca* ในอ่าวไทยตอนในมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นและทวีความรุนแรงมากขึ้นตามลำดับอาจส่งผลกระทบต่อการประมงและการท่องเที่ยวเป็นอย่างมาก ด้วยความสำคัญดังกล่าวจึงได้ดำเนินการศึกษา วิจัยกลไกการเกิดน้ำเปลี่ยนสีบริเวณอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันออกและตะวันตกโดยมีสมมติฐานของการศึกษาในครั้งนี้ว่า

1. การเกิดน้ำเปลี่ยนสีมีความสัมพันธ์กับฤดูมรสุม
2. ปัจจัยความเค็มมีอิทธิพลต่อกระบวนการเกิดน้ำเปลี่ยนสี
3. อุณหภูมิเป็นปัจจัยจำกัดการกระจายของ green *Noctiluca*

วัตถุประสงค์

เพื่อให้ทราบปัจจัยที่เป็นตัวควบคุมกลไกการเกิดน้ำเปลี่ยนสีในอ่าวไทยตอนใน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ข้อมูลพื้นฐานด้านนิเวศวิทยาของ *Noctiluca* ซึ่งอาจจะนำไปใช้ในการอธิบายสาเหตุการเกิดน้ำเปลี่ยนสี

ขอบเขตและวิธีดำเนินการวิจัย

ทำการศึกษาทั้งภาคสนามด้านฝั่งตะวันตกและตะวันออกของอ่าวไทยตอนในและในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบสมมุติฐานที่ตั้งไว้

บทที่ 2 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

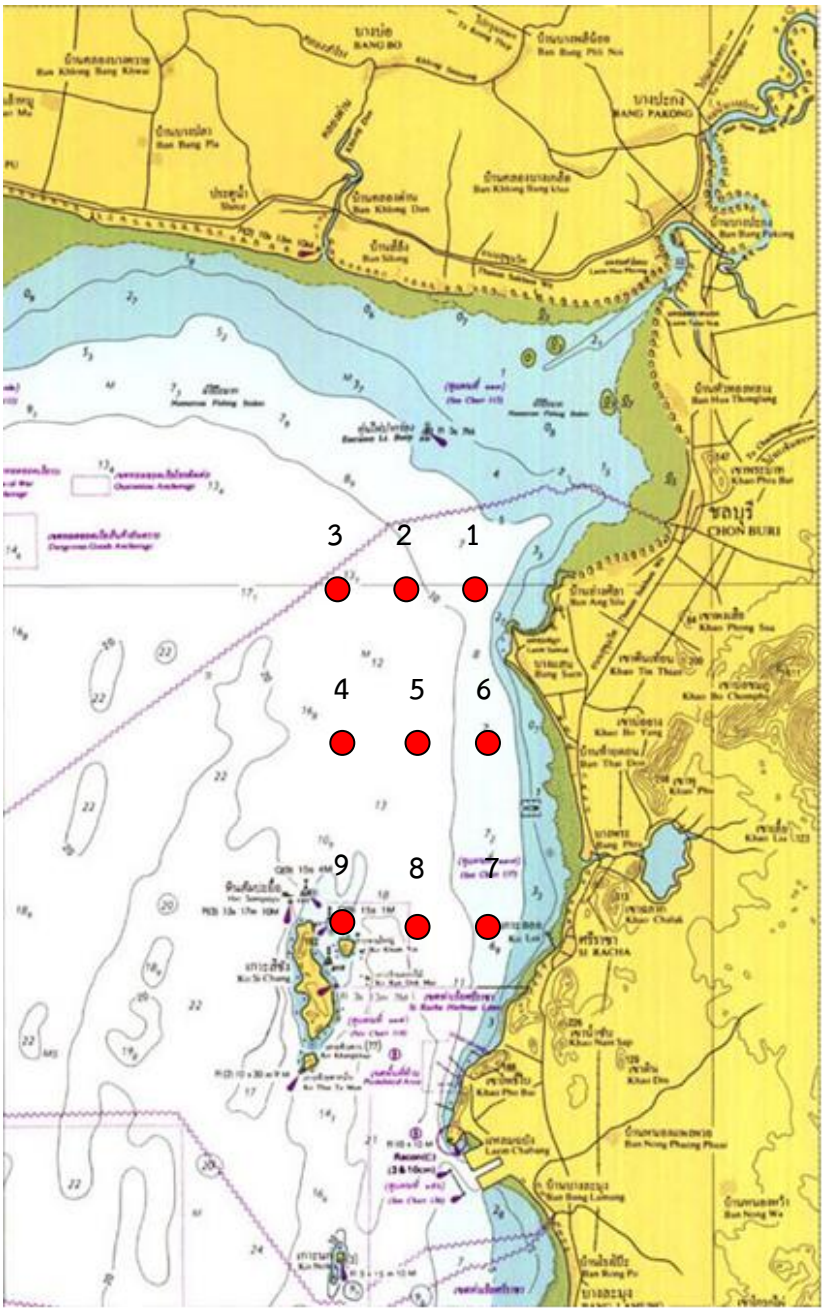
2.1 การศึกษาในภาคสนาม

1.พื้นที่ศึกษา

ปีที่ 1

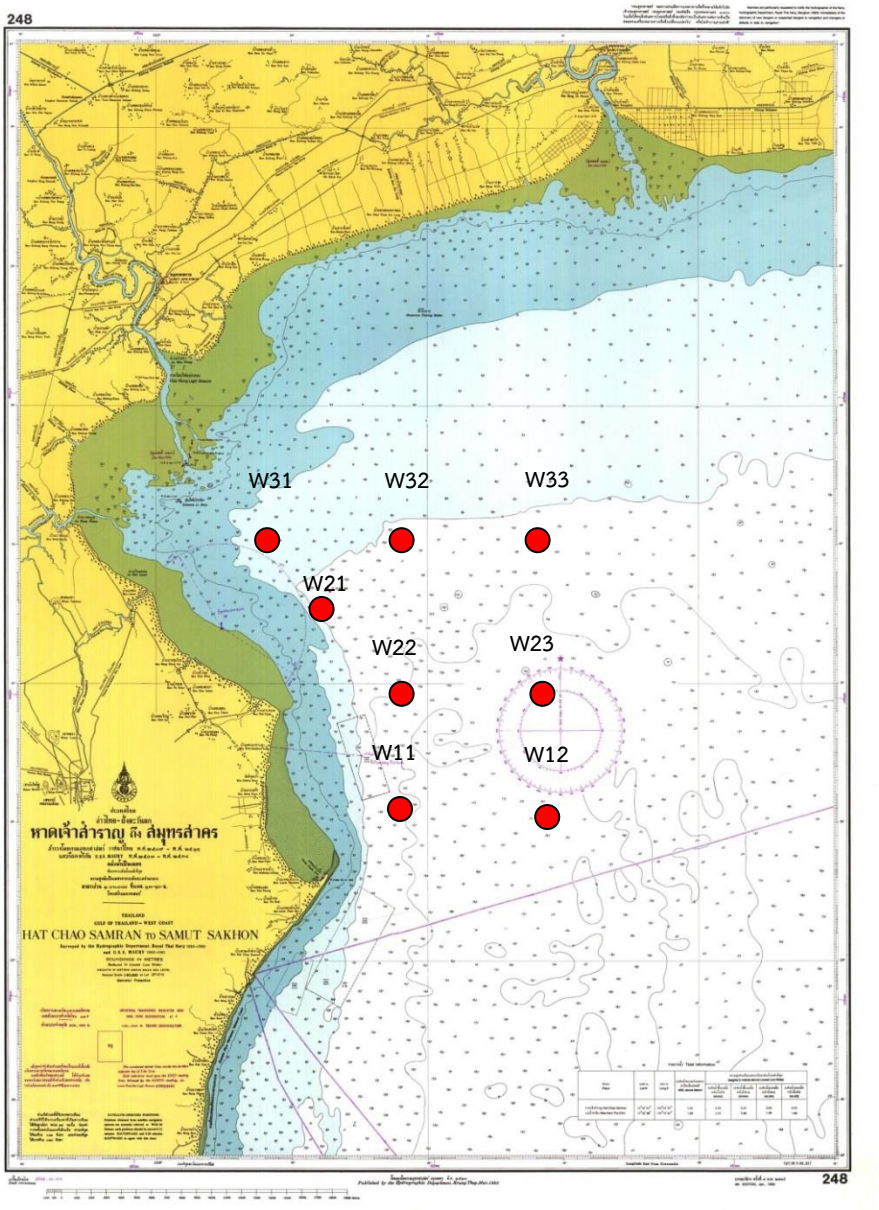
ในปีที่ 1 ทำการเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง ทุกสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ของเดือนตั้งแต่เดือนกรกฎาคม-ตุลาคม 2551 โดยทำการเก็บตัวอย่างพร้อมกันทั้งฝั่งตะวันออกและตะวันตก

พื้นที่ศึกษาบริเวณฝั่งตะวันออกของอ่าวไทยตอนในครอบคลุมตั้งแต่บริเวณอ่างศิลาถึงศรีราชา จังหวัดชลบุรี โดยมีสถานีเก็บตัวอย่าง 9 สถานี ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณอ่างศิลาถึงศรีราชา จังหวัดชลบุรี

สำหรับพื้นที่ศึกษาบริเวณฝั่งตะวันตกของอ่าวไทยตอนในครอบคลุมตั้งแต่บริเวณปากคลองบางตะบูน ถึงแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี โดยมีสถานีเก็บตัวอย่าง 8 สถานี ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณปากคลองบางตะบูนถึงแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี

ปีที่ 2

ในปีที่ 2 ทำการเก็บตัวอย่างเก็บตัวอย่างเดือนละ 2 ครั้ง ทุกสัปดาห์ที่ 2 และ 4 ของเดือนตั้งแต่เดือนมกราคม-กรกฎาคม 2553 โดยทำการเก็บตัวอย่างพร้อมกันทั้งฝั่งตะวันออกและตะวันตก

ในการเก็บตัวอย่างทุกครั้งเก็บตามพิกัดของสถานีเก็บตัวอย่างดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

ตารางที่ 1 ตำแหน่งพิกัดของสถานีต่างๆบริเวณอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันออก

station	1	2	3	4	5	6	7	8	9
latitude	$13^0$21	$13^0$21	$13^0$21	$13^0$16	$13^0$16	$13^0$16	$13^0$11	$13^0$11	$13^0$11
longitude	$100^0$50	$100^0$52	$100^0$54	$100^0$50	$100^0$52	$100^0$54	$100^0$50	$100^0$52	$100^0$54

ตารางที่ 2 ตำแหน่งพิกัดของสถานีต่างๆบริเวณอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตก

station	W31	W32	W33	W21	W22	W23	W11	W12
latitude	$13^0$16	$13^0$16	$13^0$16	$13^0$14	$13^0$11	$13^0$11	$13^0$06	$13^0$06
longitude	$100^0$01	$100^0$04	$100^0$06	$100^0$02	$100^0$05	$100^0$08	$100^0$05	$100^0$08

ปีที่ 3

การทำวิจัยนีที่ 3 ปีนี้กำหนดพื้นที่ศึกษาบริเวณด้านตะวันออกของอ่าวไทยตอนในจำนวน 9 สถานี(รูปที่1และตารางที่ 1) ตั้งแต่ชลบุรีถึงศรีราชา โดยทำการเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ตั้งแต่ เดือน กรกฎาคม-ธันวาคม 2554 เนื่องจากเกิดน้ำเปลี่ยนสีในบริเวณนี้บ่อยครั้ง

2. การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อม

ทำการวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อม ที่ระดับความลึก 0.5, 5, 10 และเหนือพื้นดิน 1 เมตร ในแต่ละสถานี โดยใช้เครื่องมือ ดังนี้

ปัจจัยที่ตรวจวัด	เครื่องมือที่ใช้
ความลึก	Deep Sounder
ความโปร่งแสง	Sechi disc
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ(DO),อุณหภูมิ, ความเค็ม, ค่าการนำไฟฟ้า	SCT Meter YIS Model 30
ความเป็นกรด-เบส	pH Meter

3. การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

3.1 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชเพื่อศึกษาเซลล์มีชีวิต

ใช้กระบอกน้ำ Vandorn ขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำปริมาตร 20 ลิตร กรองผ่านถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนลงในขวดขนาดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ทำการบันทึกสถานีเก็บตัวอย่างและวันที่เก็บตัวอย่าง เก็บตัวอย่างในกล่องโฟมเพื่อรักษาอุณหภูมิและนำตัวอย่าง *Noctiluca* ที่มีชีวิตไปตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.2 การเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชและเก็บรักษาตัวอย่างด้วยฟอร์มาลิน

ใช้กระบอกน้ำ Vandorn ขนาด 5 ลิตร เก็บน้ำปริมาตร 20 ลิตร ที่ระดับความตามที่กำหนดไว้ กรองน้ำที่เก็บผ่านถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนลงในขวดพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้ายประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการหาความหนาแน่นของเซลล์ *Noctiluca* และแพลงก์ตอนพืชชนิดต่างๆ ในระดับสกุล

4. การเก็บตัวอย่างน้ำเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำ 500 มิลลิลิตร ที่ความลึกระดับเดียวกันกับตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจากนั้นทำการสุ่มน้ำ 100 มิลลิลิตร กรองผ่าน Glass Microfiber Filter (GF/F) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 25 มิลลิเมตร เก็บตัวอย่างน้ำที่กรองผ่าน GF/F 9 มิลลิลิตร ไว้ในขวดพลาสติกขนาดความจุ 10 มิลลิลิตรจำนวน 2 ซ้ำ ปิดฝาให้สนิท เก็บตัวอย่างไว้ในน้ำแข็งแห้ง และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต แอมโมเนีย ไนไตร์ ไนเตรท และซิลิเกต ในห้องปฏิบัติการด้วยเครื่อง Skalar Auto-nutrient analyzer

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นเซลล์ *Noctiluca* กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและปริมาณสารอาหารโดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson Correlation)

2.2 การศึกษาในห้องปฏิบัติการ

ปีที่ 1

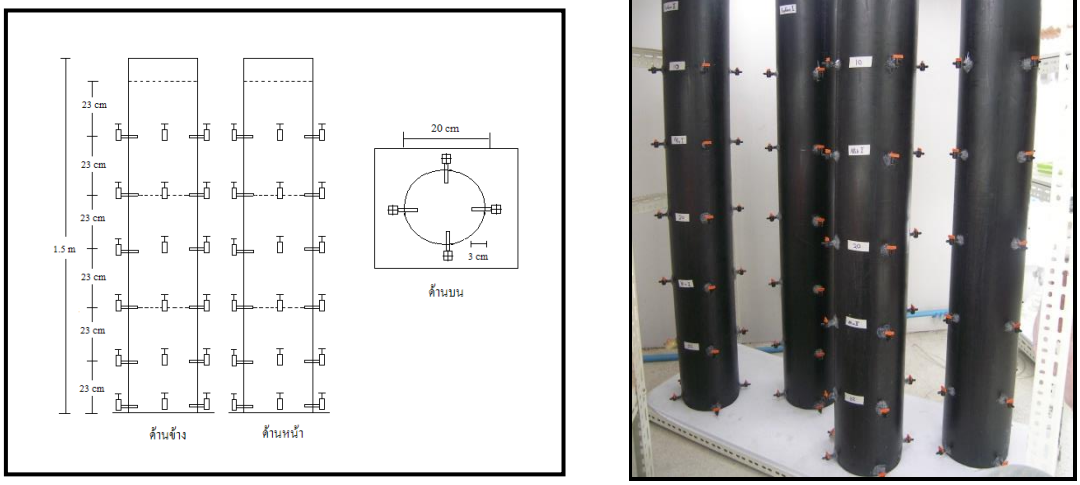
ผลของความเค็มต่อการกระจายในแนวดิ่งของ *Noctiluca*

การอพยพในแนวดิ่งเป็นพฤติกรรมที่สำคัญของแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตบางชนิดในการดำรงชีวิตและเพิ่มจำนวนประชากร โดยมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับพฤติกรรมดังกล่าวหลายปัจจัย เช่น ความเค็ม แสง ธาตุอาหาร อุณหภูมิ เป็นต้น จากข้อมูลการกระจายในแนวดิ่งของ *Noctiluca* บริเวณอ่างศิลา-ศรีราชา พบ ว่าที่ผิวน้ำทะเลบริเวณปากแม่น้ำ เซลล์จะมีความหนาแน่นต่ำหรือบางครั้งไม่พบเลย ในขณะที่เซลล์ที่มีความหนาแน่นมากกว่าจะพบที่ระดับความลึกตั้งแต่ 5–10 เมตร ซึ่งอาจเนื่องจากบริเวณดังกล่าวได้รับอิทธิพลของน้ำจืดจากฝนและจากแม่น้ำบางปะกงในปริมาณมากทำให้ที่ผิวน้ำมีความเค็มต่ำเป็นชั้นมวลน้ำจืดที่ขวางกั้นไม่ให้ *Noctiluca* กระจายที่ผิวน้ำได้ชั่วขณะและอาจจะไม่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *Noctiluca*

ดังนั้นจึงทำการทดลองศึกษาอิทธิพลของความเค็มต่อพฤติกรรมการอพยพในแนวดิ่งของ *Noctiluca scintillans* ในท่อพอลิเอทีลีน ซึ่งอาจจะเป็นกระบวนการหนึ่งที่ควบคุมการเกิดน้ำเปลี่ยนสีของแพลงก์ตอนชนิดนี้

1. การเตรียมอุปกรณ์

ทำการทดลองโดยใช้ท่อพอลิเอทิลีนสีดำความสูง 1.5 เมตรเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตรปลายด้านล่างปิด (รูปที่ 3) กำหนดให้แต่ละชั้นน้ำสูง 46 เซนติเมตร ทำการเจาะรูด้านข้างทั้ง 4 ด้านเพื่อต่อก๊อกสำหรับสุ่มตัวอย่างรูละหนึ่งก๊อก จากนั้นต่อท่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4 เซนติเมตร โดยให้ยื่นเข้าด้านในของท่อยาว 3 เซนติเมตรเพื่อสุ่มตัวอย่าง ก๊อกสุ่มเก็บตัวอย่างนี้จะอยู่ตรงกลางของชั้นความเค็มแต่ละชั้น (10 20 และ 31 psu) และตรงกลางของชั้นน้ำผสมที่เกิดขึ้นทั้ง 2 ชั้น (ระหว่าง 10 กับ 20 psu และระหว่าง 20 กับ 31psu)



รูปที่ 3 แบบจำลองชั้นน้ำในท่อท่อพอลิเอทิลีนสีดำ

2. การเตรียมแพลงก์ตอนพืช

เตรียม *Noctilca* โดยการแยกเซลล์จากธรรมชาติมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ที่ความเค็ม 28 psu (เป็นความเค็มของน้ำทะเลตัวอย่างที่นำมาแยก *Noctilca* เพื่อเพาะเลี้ยง) ให้ได้ปริมาณเซลล์หนาแน่น โดยใช้อาหารสำเร็จรูป Daigo IMK medium (Wako, Japan)

3. การเตรียมน้ำทะเล

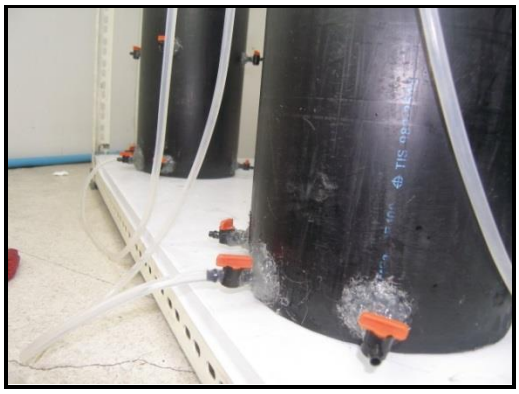
เตรียมน้ำทะเลสำหรับชุดควบคุม (28 psu) และชุดทดลองแบ่งชั้นความเค็ม (10 20 และ 31 psu) โดยนำน้ำทะเลความเค็มสูงจากธรรมชาติมาทำการเจือจางให้ได้ความเค็มตามที่ต้องการ จากนั้นนำไปกรองด้วย กระดาษกรอง GF/C ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

เครื่องแก้วหรืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ตลอดโครงการ ซึ่งใช้ในการเพาะเลี้ยงหรือเกี่ยวข้องกับการเลี้ยง การทำอาหารเลี้ยงเซลล์ ต้องผ่านการทำความสะอาดด้วยการล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด (Detergent) ล้างน้ำ แล้วแช่ในกรดไฮโดรคลอริกที่เข้มข้น 10 % ประมาณ 1 วัน ล้างด้วยน้ำประปาและน้ำกลั่น นำภาชนะที่ทำความสะอาดแล้วไปผ่านการฆ่าเชื้อ ด้วยตู้อบความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.25 บรรยากาศ นาน 20 นาที

4. การเตรียมการทดลอง

นำน้ำทะเลที่ได้จากการเตรียมข้อ 2.3 เติมลงในแบบจำลองคอลัมน์น้ำ(ท่อพอลิเอทิลีน) โดยชุดควบคุมทำการเติมน้ำความเค็ม 28 psu จนเต็มความสูงของระดับที่ทำการศึกษา (138 เซนติเมตร) ในส่วนของชุดทดลอง เริ่มจากการเติมน้ำความเค็ม 10 psu ให้มีความสูง 46 เซนติเมตร จากนั้นทำการเติมน้ำความเค็ม 20 และ 31 ตามลำดับให้มีความสูงชั้นความเค็มละ 46 เซนติเมตร ด้วยวิธีกาลักน้ำลงที่ด้านล่างของท่อ (รูปที่ 4 และ 5) ติดตั้งท่อในห้อง ปฏิบัติการโดยให้ความเข้มแสง 3,200 ลักซ์ ทางด้านบนของท่อและตั้งเวลาการเปิด-ปิดไฟ เพื่อควบคุมเวลาสว่างต่อมืดเป็น 12 : 12 ชั่วโมงในรอบวัน จากนั้นนำตัวอย่างแพลงก์ตอนเติมลงในแบบจำลองด้วยวิธีกาลักน้ำ ทำการปิดด้านบนด้วยพลาสติกใสเพื่อกันการระเหยของมวลน้ำ

รูปที่ 4 การถ่ายน้ำด้วยวิธีกาลักน้ำ



รูปที่ 5 การถ่ายน้ำลงทางด้านล่างของท่อ

5. การดำเนินการทดลอง

แบ่งการทดลองดังนี้

5.1 ชุดควบคุมความเค็ม 28 psu แบ่งเป็นชุดการทดลองที่ปล่อยเซลล์ที่ผิวน้ำและชุดการทดลองที่ปล่อยเซลล์ที่ด้านล่างของท่อ ทำการทดลองชุดละ 1 ซ้ำ โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 104,400 cell ในแต่ละท่อ

5.2 ชุดทดลองแบ่งชั้นความเค็ม แบ่งเป็นชุดการทดลองที่ปล่อยเซลล์ที่ผิวน้ำและชุดการทดลองที่ปล่อยเซลล์ที่ด้านล่างของท่อ ทำการทดลองชุดละ 2 ซ้ำ โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้น 172,500 cell ในแต่ละท่อ

6. การเก็บและการตรวจนับตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างที่ระดับความเค็มต่าง ๆ โดยการไขน้ำจากท่อที่เจาะตามระดับความลึกในชั้นความเค็มต่าง ๆ นำตัวอย่างน้ำมาตรวจวัดความเค็มด้วย refractometer และนับจำนวน *Noctiluca* ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทุกๆ 3 ชั่วโมง ตลอด 24 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุก 3 วัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 7 วัน

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้ one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของความหนาแน่นเซลล์ในแต่ละระดับในแต่ละวัน

ปีที่ 2

1. การศึกษาอิทธิพลของเหยื่อ *Rhodomonas* ต่อพฤติกรรมการอพยพในแนวดิ่งของผู้ล่า

เป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากการวิจัยเรื่องผลของความเค็มต่อการกระจายในแนวดิ่งของ *Noctiluca* ในท่อพอลิเอทิลีน เพื่อศึกษาอิทธิพลของพฤติกรรมการกินอาหารของ *Noctiluca* กับเหยื่อ *Rhodomonas* ที่มีพฤติกรรมเคลื่อนที่ในแนวดิ่ง และอิทธิพลของแสงต่อการเคลื่อนที่ในแนวดิ่งของ *Noctiluca*

1.1 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

ทำการทดลองในท่อพอลิเอทิลีนสีดำทึบแสง ความสูง 1.5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 20 เซนติเมตร ปลายด้านล่างปิด ความสูงของน้ำในท่อ 138 เซนติเมตร กำหนดตำแหน่งที่ใช้ในการสุ่มตัวอย่างช่วงละ 23 เซนติเมตร โดยการเจาะรูด้านข้างทั้ง 4 ด้าน เช่นเดียวกับชุดอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลองผลของความเค็มต่อการกระจายในแนวดิ่งของ *Noctiluca* ในการศึกษาปีที่ 1

การเตรียมน้ำทะเล

น้ำทะเลที่ใช้ตลอดการทดลองนี้เป็นน้ำทะเลที่เก็บมาพร้อมกันกับการเก็บตัวอย่างเซลล์ของ*Noctiluca scintillans* บริเวณนอกฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ทำการกรองน้ำทะเลด้วยแผ่นกระดาษกรอง GF/C ก่อนนำไปใช้ในการเตรียมน้ำสำหรับการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

ใช้น้ำที่กรองแล้วและมีความเค็ม 28 psu สำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิด ทำการเลี้ยงให้ได้ปริมาณเซลล์หนาแน่นเพียงพอต่อการทดลอง โดยเลี้ยงในสูตรอาหารสำเร็จรูป Daigo IMK Medium (Wako, Japan) ซึ่งมีการเตรียมน้ำสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนดังนี้

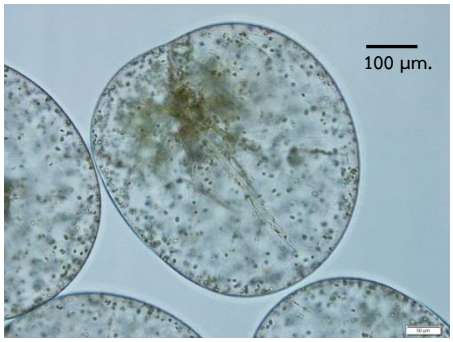
น้ำทะเลความเค็ม 28 psu	1	L
Daigo IMK Medium	0.252	g
Tris (hydroxymethyl) methylamine	1	g
ปรับ pH	8.00	

บรรจุน้ำที่เตรียมในภาชนะ นำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110^{0}C ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 20 นาทีจากนั้นทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สำหรับการทดลองในตู้ที่มีควบคุมอุณหภูมิต้องทำการปรับสภาพ น้ำเลี้ยงให้พร้อมสำหรับการศึกษาโดยนำไปวางในตู้เลี้ยงแพลงก์ตอนเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมแพลงก์ตอนที่ใช้ในการศึกษา

ทำการแยกและเพาะเลี้ยง *Noctiluca* จากบริเวณอ่างศิลาจังหวัดชลบุรี ให้ปราศจากการปน เปื้อน และในการทดลองนี้เลือก *Rhodomonas* เป็นเหยื่อเนื่องจากแพลงก์ตอนพืชชนิดนี้มีการเคลื่อนที่ในแนวดิ่งชัดเจน โดยจะเคลื่อนไปอยู่บริเวณผิวน้ำเมื่อมีแสงและเคลื่อนลงสู่ด้านล่างเมื่อไม่มีแสง นอกจากนี้ *Noctiluca* สามารถกิน *Rhodomonas* ได้เป็นอย่างดี (รูปที่ 6) จึงเป็นเหยื่อที่เหมาะสมในการทดลองนี้

จำนวนเซลล์เริ่มต้นของ *Noctiluca* และ *Rhodomonas* ในท่อที่ใช้ในการทดลองนี้คือ 120,000 และ 24,000,000 เซลล์ตามลำดับ



รูปที่ 6 *Noctiluca scintillans*

รูปที่ 7 *Rhodomonas* sp.

นำน้ำทะเลความเค็ม 28 psu ที่เตรียมเติมลงในแบบจำลองท่อพอลิเอทิลีน จนเต็มความสูงของระดับที่ทำการศึกษา (138 เซนติเมตร) แบ่งเป็น 2 ชุดการทดลองดังนี้

1. ชุดการทดลองในห้องปฏิบัติการ ติดตั้งแบบจำลองท่อพอลิเอทิลีนในห้องปฏิบัติการโดยให้แสงสว่าง 3,500 Lux ทางด้านบนของท่อ ควบคุมเวลาสว่างต่อมืดเป็น 12 : 12 ชั่วโมงในรอบวัน และที่อุณหภูมิ 27±1 $^{\circ}$C

2. ชุดการทดลองภายนอกห้องปฏิบัติการโดยใช้แสงธรรมชาติ ติดตั้งแบบจำลองท่อพอลิเอทิลีนในที่โล่งแจ้งให้ได้รับแสงธรรมชาติ บริเวณทางเชื่อมระหว่างตึกคลุ้มวัชโรบลและตึกธรณีวิทยาชั้น 3 เมื่อนำตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชใส่ลงในแบบจำลองเพื่อทำการทดลองจะทำการปิดด้านบนด้วยพลาสติกใสเพื่อกันการระเหยของน้ำทะเล

1.2 การดำเนินการทดลอง

1.2.1 ชุดการทดลองทั้งในห้องปฏิบัติการและภายนอกห้องปฏิบัติการ

การทดลองในห้องปฏิบัติการและภายนอกห้องปฏิบัติการทำโดยนำเซลล์ *Noctiluca* และ *Rhodomonas* ปล่อยลงในท่อพอลิเอทิลีน โดยแบ่งชุดการทดลองดังนี้

- ชุดควบคุม ปล่อยเฉพาะเซลล์ *Noctiluca* ที่ผิวน้ำ
- ชุดทดลอง ปล่อยเซลล์ทั้ง *Noctiluca* และ *Rhodomonas* ที่ผิวน้ำ

ทำการทดลองทำ 3 ซ้ำในแต่ละชุดการทดลอง

1.2.2 การเก็บและนับตัวอย่างเซลล์

ทำการสุ่มตัวอย่างที่ระดับความลึกต่างๆตามตำแหน่งของท่อที่เจาะไว้ เพื่อตรวจนับ *Noctiluca* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Sedgewick Rafter slide สำหรับตัวอย่าง *Rhodomonas* ทำการตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Haemacytometer ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง เป็นเวลา24 ชั่วโมง

1.3 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ความแตกต่างของความหนาแน่นเซลล์ในแต่ละระดับว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ โดยใช้ One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

2. ผลของอุณหภูมิต่อ red *Noctiluca* ที่แยกจาก Seto Inland Sea ประเทศญี่ปุ่น

เนื่องจากการกระจายของ red *Noctiluca* และ green *Noctiluca* มีความแตกต่างกันตามเขตภูมิอากาศอย่างชัดเจน จึงทำการศึกษาอิทธิพลของปัจจัยอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์คาร์บอนใน red *Noctiluca* เพื่อตอบสมมติฐานที่ตั้งไว้ว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยจำกัดการกระจายของ red *Noctiluca* โดยทำการศึกษากับเซลล์ของ red *Noctiluca* ที่เก็บจาก Seto Inland Sea ประเทศญี่ปุ่นที่ห้องทดลองของ Prof. Dr. Tada, Kagawa University ระหว่างวันที่ 15-19 พฤษภาคม 2552 ได้ทำการล้างเซลล์ *Noctiluca* และแยกเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่า 300 μm เพื่อใช้ในการทดลอง (เนื่องจากเซลล์ส่วนใหญ่มีขนาด 300-400 ไมโครเมตร)

นำเซลล์เติมลงในขวดเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชขนาด 500 ml. ที่มีน้ำทะเลกรองบรรจุอยู่ 250 ml. ให้มีความหนาแน่นเซลล์ 10 cell/ml ทำการทดลอง 3 ซ้ำที่ระดับอุณหภูมิ 12 20 และ 27 °C โดยไม่ให้อาหารแก่ *Noctiluca* ทำการเก็บตัวอย่าง 20 ml. ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48, 72 และ 84 ตามลำดับ กรองเซลล์ด้วย GF/C นำกระดาษกรองไปทำให้แห้งสนิทในภาวะอุณหภูมิต่ำ(freeze dried) จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนในเซลล์ด้วยเครื่อง CHN analyzer (Yanaco, MT-3 CHN analyzer)

ปีที่ 3

1. ผลของอุณหภูมิต่อการเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศใน green *Noctiluca*

ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพื่อให้ทราบว่าการสืบพันธุ์แบบใดมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มปริมาณเซลล์ *Noctiluca* ที่จะพัฒนาไปสู่ปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสี

1.1 การเตรียมเซลล์และน้ำทะเล

เซลล์ *Noctiluca* น้ำทะเล และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง ทำการเตรียมเช่นเดียวกับการทดลองอื่นๆ ในปีที่ 1 และ 2

1.2 การดำเนินการทดลอง

ทำการทดลองภายใต้สภาพแวดล้อมในตู้เลี้ยงแพลงก์ตอนเช่นเดียวกับการทดลองอื่นๆในปีที่ 1 และ 2 แบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด

ชุดที่ 1 ทำการเลี้ยง *Noctiluca* ในขวดกลมขนาด 500 มล. ที่มีน้ำทะเลที่ผ่านการอบนึ่งฆ่าเชื้อและเติมสารอาหารแล้ว มีปริมาตร 250 มล. ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น คือ 6 เซลล์/มล.

ชุดที่ 2 ทำการเลี้ยง *Noctiluca* และให้ *Chattonella* เป็นเหยื่อในขวดกลมขนาด 500 มล. ที่มีน้ำทะเลที่ผ่านการอบนึ่งฆ่าเชื้อและเติมสารอาหารแล้ว มีปริมาตร 250 มล. ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นของ *Noctiluca* และ *Chattonella* คือ 6 และ 300 เซลล์/มล. ตามลำดับ

แต่ละชุดการทดลองจะทำการศึกษาที่ต่างระดับอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25 27 และ 30 °C โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำในแต่ละระดับอุณหภูมิ

1.3 การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง

ทำการสุ่มตัวอย่างทุก 2 วัน นำตัวอย่างเซลล์ *Noctiluca* มาตรวจนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Sedgewick Rafter slide สังเกตุเซลล์ที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและทำการตรวจนับจำนวน

2.การทดลองเรื่องผลผลิตเบื้องต้นของ *N. scintillans* และ *Pedinomonas noctilucae*

ความสัมพันธ์ระหว่างผู้อาศัย *P. noctilucae* กับเจ้าบ้าน *N. scintillans* มีรูปแบบความสัมพันธ์เช่นเดียวกับ zooxanthellae กับปะการังกล่าวคือผู้อาศัยสังเคราะห์แสงและส่งผลผลิตให้กับเจ้าบ้าน ดังนั้นในการตรวจวัดผลผลิตเบื้องต้นที่เกิดจากผู้อาศัยจะทำให้เข้าใจรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่าง *P. noctilucae* กับเจ้าบ้าน *N. scintillans* มากขึ้น

การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่ทำใน *P. noctilucae* เพื่อประมาณการผลผลิตที่ *P. noctilucae* สังเคราะห์ได้ที่ต่างระดับอุณหภูมิ

2.1 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

2.1.1 การเตรียมน้ำทะเล

น้ำทะเลที่ใช้ตลอดการทดลองนี้เป็นน้ำทะเลที่เก็บมาพร้อมกันกับการเก็บตัวอย่างเซลล์ของ *N.scintillans* บริเวณนอกฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี ทำการกรองน้ำทะเลด้วยแผ่นกระดาษกรอง GF/C ก่อนนำไปใช้ในการเตรียมน้ำสำหรับการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชใช้น้ำที่กรองแล้วและมีความเค็ม 28 psu สำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้ง *P. noctilucae* และ *N. scintillans* สีเขียว ทำการเลี้ยง *N. scintillans* ให้ได้ปริมาณเซลล์หนา แน่นเพียงพอต่อการทดลอง โดยเลี้ยงในสูตรอาหารสำเร็จรูป Daigo IMK Medium (Wako, Japan) ซึ่งมีการเตรียมน้ำสำหรับเลี้ยงแพลงก์ตอนตามที่ได้กล่าวไว้ในการทดลองเรื่อง ผลของเหยื่อ *Rhodomonas* sp. ต่อการกระจายในแนวดิ่งของ *Noctiluca* สำหรับ *P.noctilucea* จะทำการลี้ยงในสูตรอาหาร ESMดัดแปลง (Okaichi *et al.*,1990) ดังนี้

น้ำทะเล	1	L
NH_4Cl	1.0	mM
K_2HPO_4	0.1	mM
EDTA-Fe	4.6	µM
EDTA-Mn	6.0	µM
Biotin	1.0	µM
Vitamin B_2	0.1	mg
Vitamin B_{12}	10	µg
pH	4.5	

2.2 การดำเนินการทดลอง

แบ่งชุดการทดลองดังนี้

-ชุดควบคุมการทดลอง ทำการเลี้ยง *P.noctilucae* และ *N. scintillans* ในสูตรอาหารของแต่ละชนิดที่มีความเค็ม 28 psu ให้ความเข้มแสง 3,500 Lux ทางด้านบนของท่อ ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส และควบคุมเวลาสว่างต่อมืดเป็น 12 : 12 ชั่วโมงในรอบวัน

-ชุดการทดลองทำการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชทั้งสองชนิดในตู้เลี้ยงที่อุณหภูมิ 10 15 20 25 และ 27 องศาเซลเซียส และปรับสภาพปัจจัยสิ่งแวดล้อมในตู้เลี้ยงให้เป็นเช่นเดียวกับชุดควบคุมการทดลอง

2.3 การหาผลผลิตเบื้องต้น

ใช้วิธีวิเคราะห์ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในขวดมืด-ขวดสว่างในการหาผลผลิตเบื้องต้นของแพลงก์ตอนพืช (Strickland and Parson, 1972)โดยดำเนินการดังนี้

-ในแต่ละขวด BOD (300 ml) ที่แต่ละระดับอุณหภูมิ *Noctiluca* และ *P. noctilucae* มีความหนาแน่นเป็น 40 และ 52,000เซลล์/มล. ตามลำดับ

-ที่แต่ละระดับอุณหภูมิเมื่อใส่เซลล์แพลงก์ตอนพืชในขวด BOD จะ incubate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจึงทำขวดมืด-ขวดสว่าง โดยขวดมืดจะใช้วัสดุทึบแสงห่อหุ้มขวด BOD ขณะเดียวกันจะตรึงออกซิเจนในขวด initial แล้วจึงทำการ incubate ขวดมืด-ขวดสว่าง ต่อเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ทำการทดลอง 3 ซ้ำทุกระดับอุณหภูมิ

2.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

วิเคราะห์หาปริมาณการละลายออกซิเจนน้ำโดยวิธี Iodometric titration (Winkler method; Winkler, 1888)ในขวดเริ่มต้น ขวดมืด และขวดสว่าง และคำนวณค่าผลผลิตเบื้องต้นโดยใช้สูตรการคำนวณของ Strickland and Parson(1972)