

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสาหร่ายที่มีถิ่นอาศัยแพร่กระจายได้ในหลายบริเวณ ทั้งในทะเล แหล่งน้ำจืด และบนบก โดยสามารถอาศัยอยู่ได้ในที่มีอุณหภูมิสูง บริเวณที่มีแสงน้อย และมีความทนต่อรังสีอัลตราไวโอเล็ตสูงกว่าสาหร่ายชนิดอื่น (Lal and Lal, 1988 ; Whitton, 1996) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้จากอากาศ และสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของสารประกอบแอมโมเนีย (NH_3) โดยเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase enzyme) (สมพร, 2541) จึงมีความสำคัญต่อระบบนิเวศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งดินในเขตร้อน เช่นในนาข้าว (Vymazal, 1995) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี จึงพบเห็นเจริญอยู่ทั่วไปโดยเฉพาะในนาข้าวพบปริมาณมาก เพราะมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมคือมีแสงแดด น้ำ อุณหภูมิที่สูงและแร่ธาตุต่างๆ พอเพียงต่อการเจริญเติบโต เป็นผลให้มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวมากกว่าดินที่ทำการเกษตรอื่นๆ (Roger and Kulasooriya, 1980 ; สมพร และคณะ, 2527)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดอาศัยอยู่ในนาข้าวตลอดฤดูกาล โดยเจริญอยู่บริเวณราก ลำต้น และใบพืช บางส่วนเจริญเป็นกลุ่ม (colony) อยู่ใต้ผิวดินได้แก่ *Nostoc* บางชนิดเป็นแพลงก์ตอนพืช (phytoplankton) (Catling, 1992) จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลพบว่า มีผลต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยในช่วงต้นฤดูฝนมีจำนวนสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินน้อย และมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วแต่มีจำนวนชนิดน้อย ส่วนในฤดูร้อนพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญอยู่ชั้นล่างของดิน (Heckman, 1979) สาหร่ายโดยปกติพบบริเวณผิวดินเป็นส่วนใหญ่ จนถึงระดับความลึก 5-10 เซนติเมตร เมื่อลึกไปกว่านี้ปริมาณสาหร่ายลดลงอย่างรวดเร็วเนื่องจากแสงสว่างลดลง โดยทั่วไปในดินเขตร้อนพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากที่สุด รองลงไปคือสาหร่ายสีเขียว และไดอะตอมตามลำดับ (ศุภมาส, 2529)

สาหร่ายมีปริมาณและองค์ประกอบชนิด (species composition) แปรปรวนไปตามฤดูกาล ซึ่งปัจจัยทางกายภาพและเคมีที่ควบคุมการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้แก่ ความเข้มแสง อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30-35 °C pH ค่อนข้างเป็นด่าง (pH 7.5-10) ปริมาณฟอสฟอรัส (phosphorus) และไนโตรเจน (nitrogen) ในระดับความเข้มข้นต่ำ นอกจากนี้โมลิบดีนัม (Molybdenum) และเหล็ก (Iron) ยังเป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบหลักของ nitrogenase enzyme

ที่มีส่วนสำคัญในการตรึงก๊าซไนโตรเจน (ศิริเพ็ญ, 2537) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยทางชีวภาพที่ควบคุมการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินคือ การที่สัตว์อื่นเช่น หอย ปลา ฯลฯ กินสาหร่ายจนทำให้สาหร่ายที่เป็น colony เหลือปริมาณน้อยกว่าพวกที่ไม่เป็น colony (Roger *et al.*, 1993) ในบางครั้งพบว่าปลา กินสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เป็นเส้นสาย (filament) มากกว่าพวกที่เป็นเซลล์เดี่ยว (unicellular) (Rakshit *et al.*, 1999)

ปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้ในดินนาข้าวมีปริมาณ 10^1 - 10^7 เซลล์/กรัมดินแห้ง โดยปริมาณมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ pH และฟอสฟอรัสที่ใส่ประโยชน์ได้ ในสภาวะที่แห้ง ความเข้มแสง และอุณหภูมิที่สูง อาจยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้ (Roger *et al.*, 1993)

ในนาข้าวมีการใช้สารเคมีเพื่อกำจัดวัชพืช แมลงศัตรูพืช ซึ่งอาจยับยั้งการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน การศึกษาวิจัยผลของยาฆ่าแมลง carbofuran ต่อการเจริญของ *Anabaena doliolum* ที่ได้จากนาข้าว พบว่าที่ความเข้มข้นของ carbofuran 80 mg/l และ 100 mg/l สามารถยับยั้งการเจริญของสาหร่ายมากกว่า 50% เนื่องจากการทำให้การทำงานของ nitrogenase ลดลง 38 % และความเป็นพิษสูงสุดเมื่อ pH 4-6 (Hammouda, 1999) ในส่วนของยากำจัดวัชพืชนั้นมีการวิจัยโดยใช้ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid ทดสอบกับสาหร่ายพบว่าลดการเจริญเติบโต และกระบวนการชีวเคมี ของสาหร่ายที่ความเข้มข้น 100 mg/l และ 1000 mg/l ซึ่งอาจเกิดจากการยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง และการหายใจของสาหร่าย การทดสอบกับ *Anabaena* และ *Oscillatoria* พบว่าที่ความเข้มข้นสูงมีผลต่อการเจริญของ *Anabaena* และ *Oscillatoria* ไม่มากเมื่อเทียบกับสาหร่ายกลุ่มอื่น (Kobraei and White, 1996) การศึกษาอิทธิพลของ propanil ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจน โดยใช้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 8 สายพันธุ์ พบว่า propanil มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์มีความทนทานต่อสารพิษได้แตกต่างกัน (พงศ์เทพ และนวรรตน์, 2531) ซึ่งยากำจัดวัชพืชมีฤทธิ์อยู่ได้นานในสภาวะที่มีสารอาหารต่ำเมื่อเทียบกับสภาวะที่มีสารอาหารสูง หรือปานกลาง (Pratt and Barreiro, 1998)

การจำแนกหมวดหมู่ (Classification)

การจัดอนุกรมวิธานของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Desikachary, 1959 ; Sze, 1997)

Division Cyanophyta

Class Cyanophyceae

Order Chroococcales

Family Chroococcaceae

Order Chamaesiphonales

Order Pleurocapsales

Order Nostocales

Family Oscillatoriaceae

Family Nostocaceae

Family Scytonemataceae

Family Rivulariaceae

Order Stigonematales

Family Stigonemaceae

การศึกษาและวิจัยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าว

รายงานการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวในประเทศไทยมีไม่มากนัก โดยมากเป็นการศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่สามารถตรึงไนโตรเจนในนาข้าว เพื่อนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้สูง ทนทานต่อสภาพแวดล้อมมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพในนาข้าว จากรายงานการสำรวจความหลากหลายของสาหร่ายในนาข้าว ตำบลน้ำแพร่ อำเภอหางดง จังหวัดเชียงใหม่ พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 6 genera ได้แก่ *Merismopedia*, *Gloeotrichia*, *Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium* และ *Gloeocapsa* จากการสำรวจนี้สรุปว่า สภาพแวดล้อมในนาข้าวมีความเหมาะสมในการเจริญเติบโตของสาหร่าย (พัชรวิ, 2541) การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในนาข้าวบริเวณตำบลทุ่งด้อม ยุหว่า และบ้านแม อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 6 genera ได้แก่ *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Merismopedia*, *Myxosarcina*, *Phormidium* และ *Microcystis* (อุศณาภรณ์, 2542) และการศึกษาในนาข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 5 families, 8 genera, 11 species ได้แก่ *Agmenellun*, *Anacystis*, *Oscillatoria*, *Spirulina*, *Anabaena*, *Unident*, *Entophysalis* และ *Gloeotrichia* (Heckman, 1979)

มีการศึกษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนในนาข้าว จากดินนาภาคเหนือ และภาคกลางของไทย ดินนาข้าวของภาคกลางแยกได้ *Anabaena*, *Nostoc*, *Gloeotrichia* และ *Tolypothrix* ส่วนดินนาภาคเหนือได้แก่ *Anabaena*, *Nostoc* และ *Gloeotrichia* (สมพร และคณะ, 2527) สมถวิล (2531) ได้ศึกษาการแพร่กระจายและคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้เพื่อนำมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ พบว่ามีการแพร่กระจายของสาหร่ายค่อนข้างสูงในบริเวณภาคเหนือและภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการแพร่กระจายน้อย ส่วนภาคใต้มีการแพร่กระจายน้อยที่สุด พบทั้งหมด 12 genera ได้แก่ *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Fischerella*, *Gloeotrichia*, *Hapalosiphon*, *Mastigocladus*, *Nostoc*, *Rivularia*, *Scytonema*, *Stigonema* และ *Tolypothrix* สาหร่ายที่มีการแพร่กระจายมากที่สุดคือ *Calothrix* รองลงมาได้แก่ *Nostoc* และ *Anabaena* ส่วนสาหร่ายที่แพร่กระจายน้อยที่สุดคือ *Gloeotrichia*, *Rivularia*, *Stigonema* และ *Fischerella* เฉพาะในเขตภาคเหนือพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 11 genera ได้แก่ *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Fischerella*, *Gloeotrichia*, *Hapalosiphon*, *Mastigocladus*, *Nostoc*, *Scytonema*, *Stigonema* และ *Tolypothrix* สาหร่ายที่มีการแพร่กระจายสูงสุดคือ *Calothrix* โดยที่ *Gloeotrichia* น้อยที่สุด

การสำรวจการแพร่กระจายของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ในจังหวัดมหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ ร้อยเอ็ด และบุรีรัมย์ สามารถคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ดี และพบได้บ่อย 7 species คือ *Anabaena ambigua*, *A. oscillarioides*, *A. iyengarii*, *Nostoc ellipsosporum*, *N. spongiaeform*, *N. paludosum* และ *Aphanizomenon flos-aquae* (สุมลวรรณ และคณะ, 2538) การศึกษาผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางระบบนิเวศต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรจุลินทรีย์ที่ตรึงไนโตรเจน ในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง พบจำนวนประชากรของ *Nostoc* 60.0 % *Anabaena* 33.3 % และ *Stigonema* 6.7 % (หนึ่ง และคณะ, 2542) ชนิดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวของประเทศไทยที่พบได้บ่อยคือ *Aulosira* spp., *Scytonema mirabile*, *Gloeotrichia natans*, *G. pisum*, *Tolypothrix penicellata*, *Cylindrospermum majus*, *Nostoc* spp. และ *Anabaena* spp (Catling et al., 1987) ขณะนี้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่พบในประเทศไทยทั้งหมดมี 39 genera 209 species (Lewmanomont et al., 1995)

การสำรวจสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในดินนาข้าวบริเวณ Jogjakarta ประเทศอินโดนีเซีย พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 5 families 27 genera เช่น *Anabaena*, *Nostoc*, *Gloeotrichia*, *Scytonema*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Chroococcus*, *Microcystis* ฯลฯ (Jutono, 1973) ส่วนในประเทศไทยพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้งหมด 84 species โดยพบสาหร่าย

ที่สร้างเฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) 14 genera 42 species และที่ไม่สร้าง heterocyst 17 genera 42 species สาหร่ายที่พบอยู่อย่างแพร่หลายได้แก่ *Fischerella*, *Nostoc* และ *Calothrix* (Khan *et al.*, 1994) การสำรวจสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวเพื่อผลิตปุ๋ยชีวภาพในดินนาข้าวประเทศเนปาล เขต Narayani พบ *Anabaena*, *Westiellopsis*, *Calothrix*, *Nostoc* และ *Phormidium* ส่วนเขต Bagmati พบ *Anabaena*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Westiellopsis*, *Pithophora* และ *Scytonema* จากการทดลองพบว่า *Anabaena* และ *Nostoc* ให้อายุแก่ข้าวได้สูงสุด (Prasad and Prasad, 1997) และการสำรวจสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และคุณภาพน้ำในพื้นที่ดินนาบริเวณ Udaipur ประเทศอินเดีย พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 12 genera 21 species โดยพบว่าคุณสมบัติน้ำมีความสัมพันธ์กับนิเวศวิทยาของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Kapoor and Leenta, 1998)

ปัจจัยทางกายภาพและเคมี ที่มีอิทธิพลต่อสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

อุณหภูมิ (Temperature)

อุณหภูมิของน้ำเปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิอากาศ และความเข้มแสง อุณหภูมิของแหล่งน้ำยังขึ้นกับช่วงของวันและฤดูกาล มีผลต่อปฏิกิริยาเคมีในน้ำ รวมทั้งควบคุมอัตราการสังเคราะห์แสง อัตราการหายใจ และมีผลโดยตรงต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (ประเทือง, 2534 ; ศิริเพ็ญ, 2543) Roger (1996) กล่าวว่าอุณหภูมิของน้ำและดินในนาข้าวขึ้นอยู่กับการแผ่รังสีดวงอาทิตย์ ได้แก่ ความเข้มแสง ลม อุณหภูมิอากาศ ความหนาแน่นของต้นข้าว และพืชน้ำที่ปกคลุม รวมทั้งความลึก และการไหลของน้ำ โดยที่เมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงทำให้สิ่งแวดล้อมในน้ำเปลี่ยนไป มีผลโดยตรงต่อแหล่งกักตุนพืช (ลัดดา, ไม่ปรากฏปีที่พิมพ์) สาหร่ายเกือบทุกชนิดเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-25 °C (Stevenson *et al.*, 1996) ซึ่งแหล่งน้ำจืดโดยทั่วไปสาหร่ายสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วง 25-30 °C (Boney, 1975) เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสาหร่ายสีเขียวเป็นกลุ่มที่เด่นเนื่องจากทนในช่วงอุณหภูมิที่กว้าง ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นกลุ่มที่เด่น เพราะสามารถทนอุณหภูมิสูง โดยที่อุณหภูมิ 35-45 °C มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากที่สุด (Waite, 1984 ; Whitton, 1996)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าวเจริญเติบโตได้ดีเมื่ออุณหภูมิอยู่ในช่วง 30-35 °C แต่ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 40 °C อาจะยับยั้งการเจริญเติบโตได้ (Roger and Kulasoorya, 1980) อุณหภูมิมีผลต่อประชากรสาหร่ายในดิน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตในนาข้าว โดยในนาข้าวพบว่ามีอุณหภูมิที่สูงและมีการผันแปรตลอดเวลา สิ่งมีชีวิตในนาข้าวจะปรับตัวให้เหมาะสมกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้บางขณะอาจอาศัยอยู่ใต้ดิน (Fernando, 1995)

จากการศึกษาผลของปัจจัยทางกายภาพที่มีต่อ *Anabaena* ในนาข้าว พบว่าผลกระทบทางกายภาพมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *Anabaena* โดยที่อัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนที่ระดับ 47 °C ไม่มีการเจริญเติบโตของ *Anabaena* (Sinha and Hider, 1996)

Desikachary (1959) ได้จำแนกช่วงอุณหภูมิที่สาหร่ายอาศัยอยู่ดังนี้

1. Hypothermae อาศัยในบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 18 °C
2. Hliarothermae อาศัยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 18-30 °C
3. Euthermae อาศัยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-50 °C
4. Acrothermae อาศัยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 50-70 °C
5. Hyperthermae อาศัยในอุณหภูมิที่มากกว่า 70 °C

หรืออาจจำแนกแบ่งอีกแบบหนึ่งคือ

1. Euthermophilae อาศัยในมีช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-80 °C
2. Mesothermophilae อาศัยในมีช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-30 °C
3. Hypothermophilae อาศัยในอุณหภูมิน้อยกว่า 15 °C

ความขุ่น (Turbidity)

ความขุ่นของน้ำเกิดจากสิ่งแขวนลอย ซึ่งอาจเกิดจากสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ แพลงก์ตอน และสิ่งมีชีวิตเล็กๆ ซึ่งสามารถกั้นทางเดินของแสงในน้ำ สิ่งเหล่านี้จะไปทำให้เกิดการกระจาย (scattered) และดูดซึมแสง (absorbed) สิ่งแขวนลอยที่เป็นความขุ่นขึ้นกับการสัมผัสของน้ำที่ไหลผ่านผิวดิน (มันลิน, 2540) อนุภาคที่แขวนลอยเป็นสาเหตุให้แสงที่ส่องลงไปใต้น้ำเกิดการกระจายและดูดซึมบางส่วนไว้ ทำให้แสงที่ส่องไปในน้ำที่ระดับความลึกมากขึ้นมีปริมาณลดลง เมื่อเปรียบเทียบน้ำที่ใสสะอาดแสงผ่านได้มาก และลดลงในน้ำที่ขุ่น (นันทนา, 2539 ; Gomosta and Vergara, 1987)

ฝนที่ตกลงมาในนาข้าวมีส่วนทำให้น้ำขุ่นเพิ่มขึ้นได้ ซึ่งส่งผลให้แสงผ่านน้ำได้น้อยลง อาจพบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้น้อย ทำให้กิจกรรมการตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายลดลง (ธงชัย, 2535) ช่วงที่มีวัชพืชเจริญน้ำอาจใสได้ น้ำที่ใสสามารถขุ่นได้ทันทีหลังจากการไถเตรียมดินเพื่อการปลูกข้าว หรือในช่วงการปักดำ น้ำในนาข้าวหากมีความขุ่นมาก ทำให้การสังเคราะห์แสงลดลง ดังนั้นปริมาณออกซิเจนก็ลดลงด้วย (Fernando, 1995) ช่วงเวลาที่เกิดน้ำท่วมน้ำมีความขุ่นมาก ทำให้ความเข้มแสงมีน้อยจนเกิดการขาดแคลนแสงได้ ซึ่งอาจจะจำกัดหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย ทั้งทางตรงและทางอ้อม (Roger, 1996)

แสง (Light)

ปริมาณความเข้มของแสงขึ้นอยู่กับฤดูกาล ตำแหน่งทางภูมิศาสตร์ การปกคลุมของเมฆ และความหนาแน่นของต้นพืชที่ปกคลุม โดยที่หลังจากการปลูกข้าว 15 วัน ความเข้มแสงลดลง 50 % หลังจากปลูกข้าว 30 วัน ความเข้มแสงลดลง 85 % และหลังจากปลูกข้าว 60 วัน ความเข้มแสงลดลง 95 % (Roger, 1996) ความเข้มของแสงที่สูงหรือต่ำมีความสัมพันธ์กับชนิดของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยในนาข้าวประเทศมาเลเซีย *Cylindrospermum* เจริญอย่างมากเมื่อได้รับความเข้มแสงเต็มที่ (มากกว่า 100 klux) และพบสาหร่ายอาศัยอยู่ใต้ผิวดินเมื่อมีความเข้มแสงมากกว่า 80,000 Lux เพื่อหลีกเลี่ยงแสงที่มีความเข้มสูง (Roger and Kulasooriya, 1980 ; Roger, 1996) โดยปกติสามารถพบสาหร่ายได้ทั่วไปในดิน โดยสาหร่ายมีปริมาณมากบริเวณผิวดิน เนื่องจากมีแสงเพียงพอ แต่อาจพบสาหร่ายได้ที่ความลึก 15-20 เซนติเมตร ซึ่งปริมาณแสงไม่เพียงพอในกระบวนการสังเคราะห์แสง (Wood, 1989)

ความเข้มแสงเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ทำให้สาหร่ายมีการแข่งขันกัน พบว่าในสภาพที่มีฟอสฟอรัส และแสงมากเกินไป *Anabaena* เจริญได้ดีเป็นประชากรเด่น ส่วนในสภาพที่ความเข้มแสงต่ำประชากรของ *Aphanizomenon* มีปริมาณเพิ่มขึ้นจนเด่น (De Nobel et al., 1995) จากการศึกษาองค์ประกอบของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในนาข้าว ในสภาพจำกัดความเข้มแสง พบว่าความเข้มแสงสามารถเปลี่ยนแปลงประชากรของสาหร่ายที่เป็นชนิดเด่นคือ *Nostoc*, *Anabaena* และ *Calothrix* และมีผลต่ออัตราการตรึงไนโตรเจน (Quesada et al., 1998)

การประเมินสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง *Anabaena* ในสภาพที่ความเข้มแสงจำกัด พบว่าเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตของ *Anabaena* ก็เพิ่มขึ้นในทุกสายพันธุ์ (Rapala and Sivonen, 1998) การศึกษาช่วงคลื่นแสงต่างๆ ที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของ nitrate reductase และการสร้างสารสี (pigmentation) ของ *Anabaena* พบว่าช่วงคลื่นแสง UV (280-400 nm.) และช่วงคลื่นที่พืชใช้ในการสังเคราะห์แสง (PAR, 400-700 nm.) ทำให้ประสิทธิภาพของ nitrate reductase ดีที่สุด ส่วนการสร้างสารสี พบว่าสารสีมีความเข้มสูงเมื่อได้รับช่วงคลื่นแสงสีฟ้า (450 nm.) เขียว (521 nm.) เหลือง (580 nm.) และ PAR (Sinha et al., 1998) มีการศึกษาการดูดซับฟอสเฟตของ *Phormidium laminosum* พบว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน *Phormidium laminosum* มีความต้องการแสงเพื่อใช้เป็นพลังงานกระตุ้นการถ่ายทอดอิเล็กตรอน เป็นพลังงานในการดูดซับฟอสเฟต (Prieto et al., 1997) นอกจากนี้แสงยังมีผลต่อการเคลื่อนที่ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินซึ่ง Hader et al. (1998) กล่าวว่าแสงสว่างและรังสี UV-B มีอิทธิพลต่อการเคลื่อนที่ในแนวตั้ง (vertical migration) ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ความชื้นของดิน (Soil Moisture)

ความชื้นในดินหมายถึง ความชื้นที่อยู่ในรูปของน้ำ ซึ่งเป็นของเหลวที่ถูกดินดูดยึดไว้ ทำให้ดินโดยทั่วไปมีความชื้นเสมอ ความชื้นมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตของพืช (นงลักษณ์, 2537) ความชื้นควบคุมการทำงานของสิ่งมีชีวิตในดิน เมื่อความชื้นในดินมากเกินไป ทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซจำกัด อาจเกิดสภาวะขาดออกซิเจนในดิน สาหร่ายโดยทั่วไปพบได้ในดินที่มีความชื้นพอเพียง มีแสงส่องถึง แต่สามารถอยู่รอดได้ในสภาวะที่แห้งแล้ง (Primer and Schmidt, 1964)

ความชื้นเป็นปัจจัยจำกัดในการเจริญของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน แต่ Akinete ของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถทนทานอยู่ในสภาพที่แห้งเป็นเวลานานได้ พบว่าในดินนาข้าวที่แห้งมี *Nostoc* แพร่กระจายมากกว่าดินชื้น (Roger et al., 1993) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความทนทานต่อความแห้งแล้งได้สูงเช่น *Nostoc* บาง species สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาพแห้งได้เป็นเวลานานเช่น *Nostoc muscorum* สามารถเจริญได้อีกครั้ง เมื่อให้ความชื้นแก่ดินที่ทิ้งไว้นานถึง 79 ปี และการศึกษาการเจริญของ akinete ที่เก็บรักษาเป็นเวลานาน 7 ปี ในสภาวะที่แห้งเมื่อเพิ่มความชื้นพบว่า akinete สามารถเจริญได้ในอัตรา 90 % แสดงว่า akinete สามารถทนทานในสภาพที่แห้งได้นาน (ออมทรัพย์, 2540 ; Sili et al., 1994)

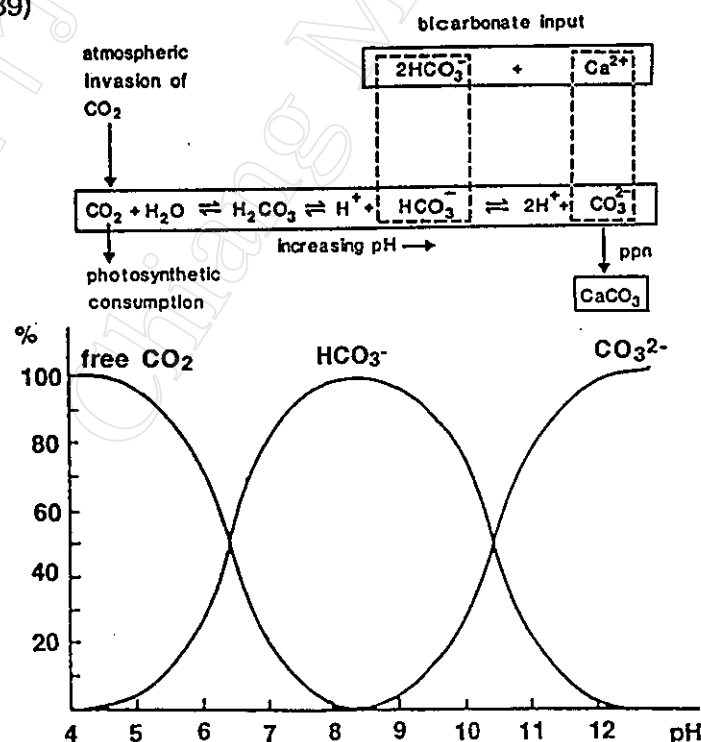
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

pH เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศแหล่งน้ำ โดย H^+ เป็นตัวบ่งบอกความเป็นกรด-ด่างของน้ำ และเป็นตัวควบคุมการละลายของคาร์บอนไดออกไซด์ แอมโมเนีย เหล็ก และ trace elements และยังส่งผลโดยตรงต่อการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต (ศิริเพ็ญ, 2543) การที่ดินมีน้ำท่วมขัง และเกิดการรั่วซึม ทำให้ pH ของดินเปลี่ยนแปลงไป การแปรปรวนของ pH มีผลกระทบต่อกิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินอย่างมาก (ไพบูลย์, 2528) โดยที่เมื่อ pH ของน้ำลดลงน้อยกว่า 4 หรือ 5 จำนวนชนิดของสิ่งมีชีวิตจะถูกจำกัดอยู่เพียงน้อยชนิด (Goldman and Horne, 1983) Fernando (1995) รายงานว่าในนาข้าว pH มีการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอน ซึ่งโดยปกติแล้ว pH ของน้ำในรอบวันไม่ควรเปลี่ยนแปลงเกิน 2 หน่วย (เปี่ยมศักดิ์, 2538) ในเวลากลางคืน pH ของน้ำลดต่ำลงมาก เนื่องจากการหายใจของสาหร่าย และสิ่งมีชีวิตในน้ำปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ออกมา เมื่อรวมกับน้ำเกิดเป็นกรดคาร์บอนิก (H_2CO_3) ทำให้น้ำมีสภาพเป็นกรด (Thind and Rowell, 1999) pH เป็นปัจจัยที่สำคัญเพราะสาหร่ายแต่ละชนิดมีความต้องการ pH ในระดับที่แตกต่างกัน สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่มี pH เป็นกลางจนถึงเป็นด่าง ในสภาพดินที่เป็นกรดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเจริญเติบโตได้ไม่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่เมื่อ pH ต่ำกว่า 5.2 (สมศักดิ์, 2528 ; ลัดดา, 2540)

สมถวิล (2531) ทำการสำรวจสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนในนาข้าวพบว่า pH 7.0-7.9 มีการแพร่กระจายของสาหร่ายสูง ที่ระดับ pH ต่ำและสูงกว่า 7.0-7.9 มีการแพร่กระจายของสาหร่ายลดลง โดยที่ระดับ pH 4.0-4.9 มีการแพร่กระจายน้อยกว่า pH อื่นๆ ซึ่งในสภาพที่ pH ต่ำ (pH 3) หรือสูงเกินไป (pH 11) ทั้ง *Anabaena*, *Calothrix* และ *Nostoc* ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ หรือเจริญเติบโตได้น้อยมาก (วิทยา, 2539)

ความเป็นด่างของน้ำ (Alkalinity)

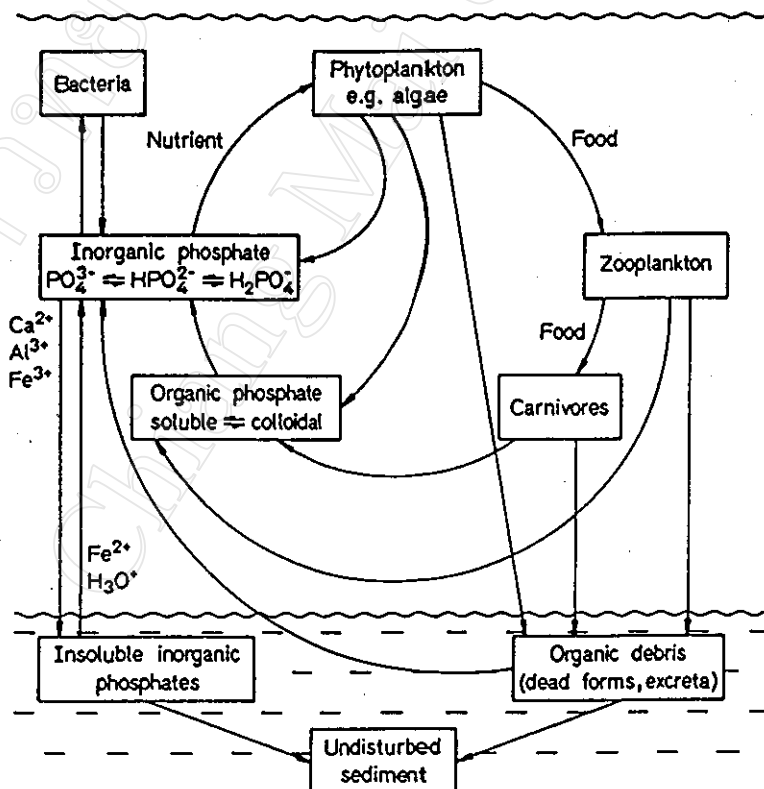
Alkalinity คือความสามารถของน้ำที่จะรับ H^+ เพื่อทำให้กรดเป็นกลาง สามารถบอกถึงปริมาณไอออนของคาร์บอเนต (CO_3^{2-}) ไบคาร์บอเนต (HCO_3^-) และไฮดรอกไซด์ (OH^-) และมีความสัมพันธ์อย่างมากกับปริมาณแคลเซียมและ pH (รูป 1) ถ้าค่าความเป็นด่างสูงจะมีปริมาณแคลเซียมมาก (ศิริเพ็ญ, 2530 ; มั่นสิน และไพพรรณ, 2539) แหล่งน้ำในธรรมชาติพบ HCO_3^- และ CO_3^{2-} เป็นส่วนมาก สำหรับ OH^- พบได้น้อยมาก ค่าความเป็นด่างที่ประกอบด้วยสารประกอบทั้ง 3 รูปเรียกว่าความเป็นด่างทั้งหมด (Total alkalinity) ซึ่งค่าในธรรมชาติที่พบโดยทั่วไปอยู่ในช่วง 10-200 mg/l แต่จะต้องไม่เกิน 1,000 mg/l (นันทนา, 2539 ; ศิริเพ็ญ, 2530) ในการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายมีความต้องการ CO_2 ในปริมาณมาก หาก CO_2 ถูกใช้จนหมดจะต้องดึง CO_2 ออกจาก HCO_3^- ทำให้น้ำมีค่า pH สูง อาจสูงถึง 10 หรือ 11 ซึ่งสาหร่ายไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (มั่นสิน และไพพรรณ, 2539)



รูป 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ Carbon dioxide-carbonate-bicarbonate system ในแหล่งน้ำจืด (ที่มา : Reynolds, 1984 ; Vymazal, 1995)

ฟอสฟอรัส (Phosphorus)

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุที่มีการสะสมอยู่ในดิน หินแร่ หรือแหล่งสะสมอื่นๆ ซึ่งสามารถปลดปล่อยออกมาในรูปที่ละลายน้ำได้ ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นต่อพืชและสาหร่าย ซึ่งจัดเป็นสารอาหารที่เป็นปัจจัยจำกัด (ศิริเพ็ญ, 2543 ; Mason, 1996) วัฏจักรฟอสฟอรัสไม่มีการหมุนเวียนสู่บรรยากาศเพราะไม่ได้อยู่ในสถานะก๊าซ การหมุนเวียนธาตุอาหารเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์เนื่องจากฟอสฟอรัสจะอยู่ในดินก้นแหล่งน้ำ (รูป 2) ฟอสฟอรัสมีความสำคัญในกระบวนการชีวเคมีและสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินแต่ละชนิดก็มีความต้องการฟอสฟอรัสไม่เท่ากัน (สมพร และคณะ, 2534) แหล่งน้ำธรรมชาติมีปริมาณสารอินทรีย์ฟอสฟอรัสสูงกว่าอนินทรีย์ฟอสฟอรัส แต่สาหร่ายต้องการใช้ในรูปของอนินทรีย์มากกว่า สารอินทรีย์ฟอสฟอรัสจัดเป็นแหล่งเบื้องต้นของฟอสฟอรัส ซึ่งจะแตกตัวเป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ orthophosphate (PO_4^{3-}) ซึ่งเมื่อพืชดูดฟอสฟอรัสไปใช้อนุมูลฟอสเฟตจากอนินทรีย์ฟอสฟอรัสจะถูกปล่อยออกมาชดเชย (จงรักษ์, 2536 ; ลัดดา, 2540)



รูป 2 วัฏจักรฟอสฟอรัสในแหล่งน้ำ (ที่มา : Vymazal, 1995)

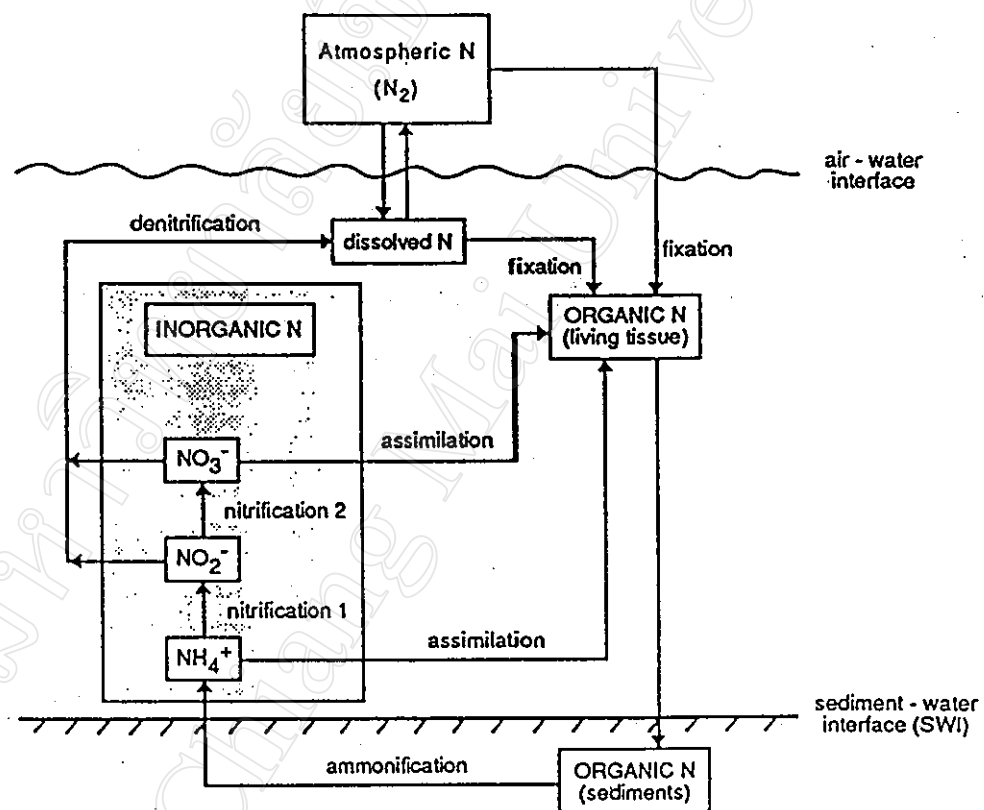
ถ้าไม่มี pH สูงจะทำให้ฟอสเฟตยึดกับอนุภาคดิน ในดินที่มีปริมาณเหล็กและอะลูมิเนียมสูง ทำให้ฟอสฟอรัสอยู่ในรูปเกลือ ซึ่งสาหร่ายไม่สามารถนำไปใช้ได้ (ศิริเพ็ญ, 2537) พื้นที่ดินนามักมี วัชพืชเจริญมาก และมีการระบายน้ำไม่ดีทำให้ฟอสฟอรัสมีโอกาสสะสมอยู่ในรูปเกลืออนินทรีย์ใน สัดส่วนที่สูง (ไพบุลย์, 2528) ดินเหนียวและดินเหนียวปนทรายสามารถดูดซับฟอสฟอรัสในน้ำได้ โดยทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำค่อยๆ ลดลง จนถึงระดับที่ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสใน ดินเท่ากับในน้ำ ดินที่ระดับความลึกตั้งแต่ผิวดินถึงระดับ 5 เซนติเมตร มีความสามารถดูดซับ ฟอสเฟตได้ดีที่สุด และดูดซับได้น้อยหรือไม่มีเลยที่ระดับความลึกมากกว่า 20 เซนติเมตร (Shrestha and Lin, 1996) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการใส่ปุ๋ยเคมีในนาข้าว ความเข้มข้นของ ฟอสฟอรัสในน้ำสูงขึ้นหลังจากใส่ปุ๋ย 2 สัปดาห์ จากนั้นความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในน้ำจะลดลง จนระดับคงที่หลังจากใส่ปุ๋ย 1 เดือน (Wang et al. 2001) ถ้าในสถานะที่บริเวณผิวดินไม่มี ออกซิเจน ทำให้มีการปลดปล่อยฟอสฟอรัสออกมา (Whitton and Rother, 1987 ; Jonse and Poplawski, 1998 ; Hechy, 2000)

สาหร่ายที่เจริญเติบโตในนาข้าวที่มีการชลประทาน พบว่าไนโตรเจนไม่ได้เป็นปัจจัยจำกัด ขณะที่ฟอสฟอรัสอาจเป็นปัจจัยจำกัด (Fernando, 1995) Quesada and Valiente (1996) รายงานว่าปริมาณออโรฟอสเฟต (orthophosphate) มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับสาหร่ายสีเขียว แกรมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจน การเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีความสัมพันธ์กับ ปริมาณฟอสฟอรัสที่อยู่ในดิน โดยสามารถเจริญเติบโตได้ในดินที่มีฟอสฟอรัสน้อยกว่า 0-5 mg/l และสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้นเมื่อมีฟอสฟอรัสสูงกว่า 6 mg/l (Roger and Kulasooriya, 1980)

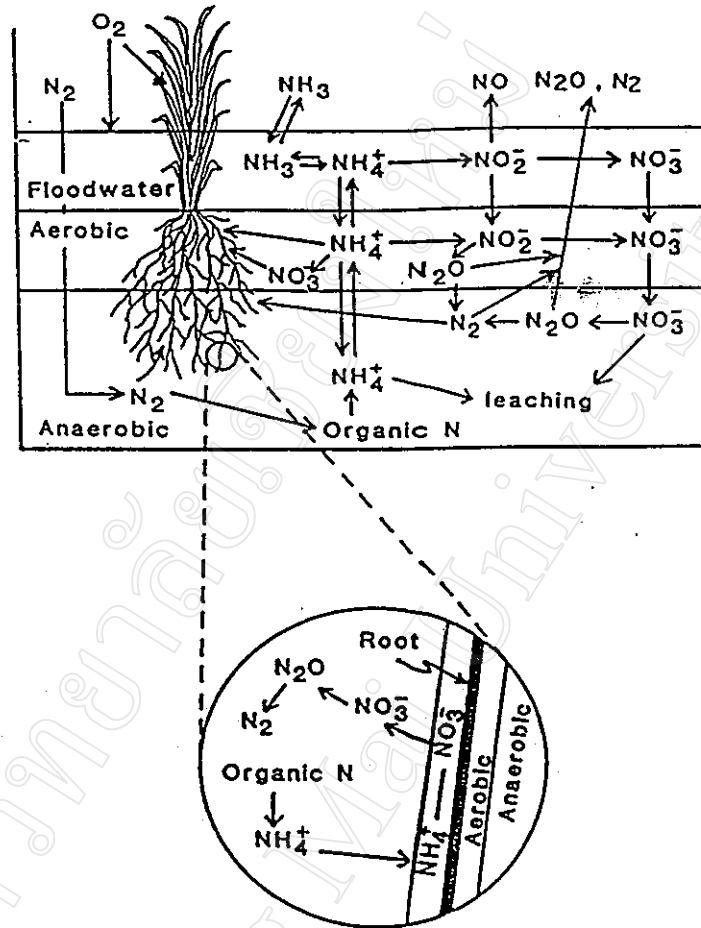
ไนโตรเจน (Nitrogen)

ไนโตรเจนเป็นสารประกอบหลักของกรดอะมิโน และโปรตีน ซึ่งมีความสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต สารประกอบอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ละลายในน้ำอยู่ในรูปแอมโมเนีย (ammonia, NH_3) ไนไตรท์ (nitrite, NO_2^-) และ ไนเตรต (nitrate, NO_3^-) โดยทั่วไปในแหล่งน้ำจืดมีสารเหล่านี้อยู่น้อยมาก อาจใช้บ่งชี้ความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งน้ำได้ แหล่งน้ำธรรมชาติมี nitrate ประมาณ 0.3 mg/l (เปี่ยมศักดิ์, 2538) วัฏจักรไนโตรเจนมีความซับซ้อนมาก และเป็นวัฏจักรที่สมบูรณ์โดยแท้จริง (รูป 3) การหมุนเวียนต้องสัมพันธ์กับสารอินทรีย์หลายชนิด มีสิ่งมีชีวิตเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถใช้ ไนโตรเจนได้ในรูปของก๊าซ (สมสุข, 2524 ; ศิริพรต, 2534) ในบางครั้งพบว่าไนโตรเจนเป็นปัจจัย จำกัดที่สาหร่ายขาดไม่ได้ สาหร่ายดูดซึม ammonia ไปใช้ก่อน เมื่อ ammonia หหมดแล้วจึงใช้ nitrite และ nitrate โดยการลดออกซิเจนให้เป็น ammonia ก่อนโดยใช้เอนไซม์ nitrite-nitrate reductase (ศิริเพ็ญ, 2537) ความเข้มข้นของอนินทรีย์ไนโตรเจนที่ใช้ในการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีปริมาณ ต่ำกว่า 100 ppb อาจเป็นปัจจัยจำกัดในการเจริญเติบโต (Goldman and Horne, 1983) ไนโตรเจน

ในดินส่วนใหญ่อยู่ในรูปของสารอินทรีย์ 97-99 % ของปริมาณไนโตรเจนในดิน โดยทั่วไปดินชั้นบน (surface soil) มีไนโตรเจน 0.08-0.04% ไนโตรเจนในดินที่พืชดูดไปใช้ประโยชน์อยู่ในรูป nitrate และ ammonium ซึ่งในดินมีปริมาณน้อยมาก และมักเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการ denitrification (จงรักษ์, 2536) Shrestha and Ladha (1998) ทำการตรวจปริมาณ nitrate ในดินที่ปลูกข้าว พบว่าในฤดูฝน nitrate บางส่วนไหลซึมลงใต้ดิน ทำให้ดินมีการสูญเสีย nitrate (รูป 4)



รูป 3 วงจรไนโตรเจนในแหล่งน้ำ (ที่มา : Heathwaite, 1993)



รูป 4 การเปลี่ยนรูปของไนโตรเจนในนาข้าว (ที่มา : Vymazal, 1995)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหลายชนิดที่พบในนาข้าวและบริเวณผิวดิน มีความสำคัญในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศสู่นาข้าว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Order Nostocales มีความสำคัญต่อการตรึงไนโตรเจนในระบบนิเวศ *Anabaena* และ *Aphanizomenon* สามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่อไนโตรเจนมีปริมาณต่ำ คือต่ำกว่า $300 \mu gN/l$ การตรึงไนโตรเจนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางครั้งมากถึง 50 % ของไนโตรเจนทั้งหมดของแต่ละปีที่ผ่านมาในทะเลสาบ (Watanabe and Lee, 1977 ; Reynolds, 1984) นอกจากนี้ *Cyanosyce* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ไม่มี heterocyst บางครั้งสามารถตรึงไนโตรเจนได้เช่นกัน โดยเกิดขึ้นในช่วงที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ หรือไม่มีออกซิเจน (Schneegeurt et al., 1997) ในแหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอาหารต่ำ (oligotrophic)

มีการตรึงไนโตรเจนได้น้อย แหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอาหารปานกลาง (mesotrophic) มีการตรึงไนโตรเจนสูงสุด ส่วนแหล่งน้ำที่มีปริมาณสารอาหารมาก (eutrophic) มีการตรึงไนโตรเจนต่ำหรือไม่มีการตรึงไนโตรเจน เนื่องจากปริมาณสารประกอบไนโตรเจนในแหล่งน้ำเพียงพอกับความต้องการของสาหร่าย ดังนั้นถ้ามีปริมาณไนโตรเจนสูงจะยับยั้งการตรึงไนโตรเจนได้ (Sprent and Sprent, 1990)

การศึกษาผลของอาหารเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะ ammonia และ nitrate ต่ออัตราการเจริญและจำนวน heterocyst ของ *Anabaena* spp. พบว่าจำนวนของ heterocyst สัมพันธ์กับปริมาณสารอาหารในอาหารเพาะเลี้ยง โดยเมื่อปริมาณ ammonia-nitrogen และ nitrate-nitrogen ต่ำ ปริมาณของ heterocyst ซึ่งเป็นเซลล์ที่ใช้ในการตรึงไนโตรเจนจะเพิ่มขึ้น (ประกิต, 2536) Valiente et al. (1997) พบว่าปริมาณของ ammonium มีความสำคัญต่อการตรึงไนโตรเจนในระบบนิเวศนาข้าว ถ้าความเข้มข้นของ ammonium มากกว่า 0.5 mM สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ nitrogenase ที่ใช้ในการตรึงไนโตรเจน Patterson and Bolis (1995) ทำการเพาะเลี้ยง *Scytonema ocellatum* พบว่า ammonia ปริมาณ 2.5 mM สามารถยับยั้งการเจริญได้ ถ้ามี ammonium อยู่ในสิ่งแวดล้อมเพียง 10 μ M สามารถยับยั้งการทำงานของยีน ที่ควบคุมการตรึงไนโตรเจน และทำให้การตรึงไนโตรเจนลดลง โดยที่จุลินทรีย์หันไปใช้ ammonium ในสภาพแวดล้อมแทนการตรึงไนโตรเจนซึ่งต้องใช้พลังงานมากกว่า (สมพร, 2541) การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาด จำนวนของ heterocyst กับปริมาณสารอาหาร พบว่า *Anabaena cylindrica* และ *A. siamensis* มีขนาดของ heterocyst ที่ความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ ammonia-nitrogen และ nitrate-nitrogen โดยที่ความยาวของ heterocyst เพิ่มขึ้นเมื่อมีไนโตรเจนสูง และเมื่อปริมาณ ammonia-nitrogen และ nitrate-nitrogen น้อย เซลล์ปกติจะมีการเปลี่ยนแปลงเป็น heterocyst มากขึ้น (ศิริเพ็ญ, 2542)

การประเมินประชากรของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในดิน

การประเมินปริมาณสาหร่ายที่อยู่ในดินใช้วิธี Most Probable Number (MPN) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้นับปริมาณของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในดิน สามารถวัดปริมาณของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้ถึงแม้ว่ามีปริมาณน้อยเมื่อเทียบกับวิธีอื่นๆ (Roger et al., 1991) โดยการทำเจือจางดิน (soil dilution) เพื่อประเมินประชากรสาหร่ายทั้งหมด (Venkataraman, 1981) สาหร่ายในดินโดยทั่วไปพบไม่เกิน 10^4 เซลล์ต่อดินแห้ง 1 กรัม แต่สามารถมีปริมาณได้ 100 – 50,000 เซลล์ต่อดินแห้ง 1 กรัม นอกจากนี้การนำสาหร่ายมาทำ plate count เป็นการนับและจำแนกจุลินทรีย์อีกวิธีหนึ่ง ทำให้ทราบจำนวนสาหร่ายในดิน สามารถแยกเชื้อบริสุทธิ์ออกมาได้ (ศุภมาศ, 2529)