ผลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและความเค็มต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

Influence of Salinity, Nitrogen and Phosphorus on Cyanobacteria Growth

ธนพล สิทธิพล ลักษิกา สุภา สุภาณี จันทร์ศิริ สิทธิชัย ใจขาน จิราภรณ์ หลาบคำ และ สมเจตน์ ทองดำรงธรรม*

Thanaphon Sitthiphon, Laksika Supa, Supanee Junsiri, Sitthichai Chaikhan, Chiraporn lapkham and Somjate Thongdamrongtham[1*]

กลุ่มวิชาสาธารณสุขศาสตร์ สาขาอนามัยสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

Public Health Sciences environmental health College of Medicine and Public Health Ubon Ratchathani University

*E-mail: somjate.t@ubu.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยของไนโตรเจน ฟอสฟอรัสและความเค็มที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในงานวิจัย คือ ไซยาโนแบคทีเรียชนิด *Microcystis aeruginosa* จากบ่อบำบัดน้ำเสียแบบเติมอากาศ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทำการทดลองโดย เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ให้แสงสว่างไม่น้อยกว่า 2,000 ลักซ์ ออกซิเจน 4-6 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 3 ซ้ำ ทำการทดลอง โดยทำการศึกษาผลของธาตุอาหารต่อการเจริญเติบโตที่ 7 ชุดการทดลอง ที่สูตรอาหาร N:P เท่ากับ 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 25:1 และ 50:1 มิลลิกรัมต่อลิตรและระดับความเค็มต่อการเจริญเติบโต 6 ชุดการทดลอง ที่ระดับความเค็ม 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.25 และ 0.30 พีพีที เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย คือ แบบบันทึกผลการทดลอง และเครื่องมือทางห้องปฏิบัติการ โดยสถิติวิเคราะห์ใช้การทดสอบสมมติฐานคือ One-way ANOVA

ผลการศึกษาพบว่า ที่ปริมาณไซยาโนแบคทีเรียเริ่มต้น 10 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยธาตุอาหารที่สัดส่วน N:P = 15:1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียเจริญเติบโตมากที่สุด เฉลี่ย 18 ± 4.16 ไมโครกรัมต่อลิตร รองลงมาคือสัดส่วน N:P = 10:1 เฉลี่ย 16 ± 4.61 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่าการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P = 0.392) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในส่วนของผลความเค็มต่อการเจริญเติบโตไซยาโนแบคทีเรียที่ปริมาณเริ่มต้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยใช้ธาตุอาหารสัดส่วน N: P = 15:1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ที่ระดับความเค็มที่ 0.10 พีพีที ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด เฉลี่ย 161 ± 33.94 ไมโครกรัมต่อลิตร รองลงมาที่ระดับความเค็มที่ 0.15 พีพีที เฉลี่ย 130 ± 20.40 ไมโครกรัมต่อลิตร และเมื่อทดสอบทางสถิติพบว่า การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P-value 0.05 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังนั้นเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียจะพบว่า ปริมาณไนโตรเจนและฟอสฟอรัส และความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย โดยจะมีสัดส่วนและค่าที่เหมาะสมที่แสดงให้เห็นการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

คำสำคัญ: ไซยาโนแบคทีเรีย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ความเค็ม ธาตุอาหาร

Abstract

This study seeks to investigate the nitrogen factor. Phosphorus and salinity impact cyanobacterial proliferation. The sample utilized in this investigation is *Microcystis aeruginosa* cyanobacteria. Cultivation was conducted for 7 days at the illumination of not less than 2,000 lux, oxygen at 4-6 mg/l, and with three replicates in the aerated lagoon at Ubon Ratchathani University. Seven experimental sets with N:P ratios of

1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 25:1 and 50:1 mg/L and salinity per growth for six experiments with salinities of 0, 0.05, 0.10, 0.15, and 0.25 ppt were used to examine the influence of nutrients on growth. The statistical analysis employed a One-way ANOVA hypothesis test.

At an initial concentration of 10 ug/L of cyanobacteria, it was discovered that the highest growth of nutrients at N:P = 15:1 mg/L, with an average of 18 ± 4.16 ug/L. The next highest growth was at N: P = 10:1, with an average of 16 ± 4.61 ug/L. When compared to the control, the growth of the cyanobacteria was not statistically significant (P = 0.392) at the 0.05 significance level. Study findings on the effect of salinity at an initial concentration of 100 ug/L of cyanobacteria on cyanobacterial proliferation Using N: P = 15:1 milligram per liter of nutrients, it was determined that cyanobacteria grew well at a salinity level of 0.10 ppt, with an average concentration of 161 ± 33.94 ug/L, followed by a salinity level of 0.15 ppt, with an average concentration of 130 ± 20.40 ug/L. The proliferation of cyanobacteria varied significantly, with a P-value of 0.05 at the 0.05 significance level. Consequently, when contemplating the growth of cyanobacteria, we must take this into account. Nitrogen and phosphorus were discovered to have no significant effect on plant growth. However, there will be a proportional spectrum that exhibits healthy expansion. In addition, there is a salinity range in which cyanobacteria thrive. Therefore, when considering the growth of cyanobacteria, it can be observed that nitrogen, phosphorus, and salinity have an effect on growth, the growth of cyanobacteria is influenced by proportions and appropriate values that demonstrate the most pronounced growth effectively.

Keywords: Cyanobacteria, Nitrogen, Phosphorus, Salinity, Nutrients

บทนำ

ไซยาโนแบคทีเรีย หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Blue green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีสารรงควัตถุภายในเซลล์สามารถสังเคราะห์แสงผ่านระบบรับแสง (Photo system) และผลิตออกซิเจนออกสู่สิ่งแวดล้อมได้ (El-Gamal, 2020) สาหร่ายชนิดนี้สามารถพบได้ในสิ่งแวดล้อมที่มีความหลากหลาย ได้แก่ พื้นดินที่มีความชื้น บ่อน้ำ แม่น้ำ และทะเล สามารถเจริญเติบโตได้เร็ว (สุรศักดิ์และบงกช, 2555) การเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของสาหร่าย เป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นในแหล่งน้ำที่มีปริมาณธาตุอาหารจำพวกสารประกอบฟอสฟอรัส และไนโตรเจน ซึ่งธาตุอาหารเหล่านี้จำเป็นต่อการเจริญเติบโตสำหรับแพลงตอนพืช สาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงมากขึ้นเมื่อมีสาหร่ายในปริมาณที่มากเกินไปร่วมกับสารอินทรีย์แล้ว ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางระบบนิเวศน์ทางน้ำขึ้น คือ ยูโทรฟิเคชั่น ส่งผลให้ในช่วงเวลากลางคืนระดับออกซิเจนลดลงเป็นอย่างมาก ทำให้สัตว์น้ำตายในเวลาเพียงชั่วข้ามคืน นักวิทยาศาสตร์ประเมินว่าแหล่งน้ำที่เกิดการบลูมของแพลงก์ตอนพืชจะมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่า 40 ไมโครกรัมต่อลิตร และถ้าปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่า 100 ไมโครกรัมต่อลิตร โอกาสที่ปลาในแหล่งน้ำจะตายจะมีสูงมาก เนื่องจากเกิดปัญหาขาดแคลนออกซิเจน (Florida, 2000)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดยูโทรฟิเคชั่นในแหล่งน้ำ ได้แก่ ความขุ่น ค่าบีโอดี ค่าออกซิเจนละลายน้ำ ค่าความเข้มข้นคลอโรฟิลล์ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัสทั้งหมด (Yang et al., 2008) คุณภาพน้ำตามระดับสารอาหาร (Trophic status) และคุณภาพน้ำทั่วไปที่เกิดการยูโทรฟิเคชั่นมี 6 ระดับ ได้แก่ 1) สารอาหารต่ำ (Oligotrophic status) คุณภาพน้ำดี (Clean) 2) สารอาหารต่ำถึงปานกลาง (Oligo-mesotrophic status) คุณภาพน้ำดีถึงปานกลาง (Clean-moderate) 3) สารอาหารปานกลาง (Mesotrophic status) คุณภาพน้ำปานกลาง (Moderate) 4) สารอาหารปานกลางถึงสูง (Meso-eutrophic

status) คุณภาพน้ำปานกลางถึงไม่ดี (Moderate-polluted) 5) สารอาหารสูง (Eutrophic status) คุณภาพน้ำไม่ดี (Polluted) และ 6) สารอาหารสูงมาก (Hypereutrophic status) คุณภาพน้ำไม่ดีมาก (Very polluted) (วิมลรัตน์, 2555) การวิเคราะห์ปัจจัยจำกัด (Limiting Factors) ของธาตุอาหารพืช ในแหล่งน้ำสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน และทั้งฟอสฟอรัสร่วมกับไนโตรเจนเป็นปัจจัยจำกัด การพิจารณาหาปัจจัยจำกัดมี 2 แนวทาง คือ การพิจารณาจากอัตราส่วนปริมาณไนโตรเจนรวม ต่อปริมาณฟอสฟอรัสรวม และการพิจารณาปริมาณฟอสฟอรัสรวม (Florida, 2000) ถ้าแหล่งน้ำมีค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณ ไนโตรเจนรวมต่อปริมาณฟอสฟอรัสรว น้อยกว่า 10 แสดงว่าไนโตรเจนเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ถ้าแหล่งน้ำมีค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณไนโตรเจนรวมต่อปริมาณฟอสฟอรัสรวม ระหว่าง 10 ถึง 17 แสดงว่าไนโตรเจนหรือฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชและถ้าแหล่งน้ำมีค่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณไนโตรเจนรวมต่อปริมาณฟอสฟอรัสรวมมากกว่า 17 แสดงว่า ฟอสฟอรัสเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช ถ้าพิจารณาจากปริมาณปริมาณฟอสฟอรัสรวมเพียงอย่างเดียว พบว่า ถ้าในแหล่งน้ำมีปริมาณฟอสฟอรัสรวมเกินกว่า 100 ไมโครกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มที่ไนโตรเจนจะเป็นปัจจัยจำกัดเพราะฟอสฟอรัสมีปริมาณมาก แต่ถ้าในแหล่งน้ำมีปริมาณฟอสฟอรัสรวมต่ำกว่า 50 ไมโครกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มที่ฟอสฟอรัสจะเป็นปัจจัยจำกัด ทั้งนี้จากการพบปัญหาในระบบบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่มีการเกิดการบลูมของไซยาโนแบคทีเรียมานานกว่า 5 ปี ซึ่งจากการตรวจวิเคราะห์ธาตุอาหารไนโตรเจนในระบบบำบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พบว่าผลการตรวจวิเคราะห์ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงกันยายน 2565 มีค่าอยู่ในช่วง 3.86-52.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (สำนักงานบริหารกายภาพและสิ่งแวดล้อม, 2565) ทั้งนี้จากผลการการวิเคราะห์ที่พบธาตุอาหารในปริมาณที่เกินค่ามาตรฐาน ซึ่งปริมาณธาตุอาหารดังกล่าวส่งผลให้เกิดการยูโทรฟิเคชั่นของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินได้ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาทดลองการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ในสัดส่วนของธาตุอาหาร เช่น ฟอสฟอรัส ไนโตรเจน และความเค็มของน้ำในระดับที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่แตกต่างกัน โดยทำการเก็บตัวอย่างสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรียจากบ่อบัดน้ำเสียมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ซึ่งมีวัตถุประสงค์การวิจัยเพื่อศึกษาผลของปริมาณไนโตรเจน และฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย และศึกษาผลของความเค็มของน้ำต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย เพื่อนำผลที่ได้จากการศึกษาทดลองมาใช้เป็นแนวทางในการควบคุมปริมาณธาตุอาหาร และความเค็มของน้ำ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่าย และลดการแพร่กระจายไปยังแหล่งน้ำอื่นใกล้เคียง

วิธีการวิจัย

การทดลองที่ 1 ผลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ต่อการเจริญเติบโตไซยาโนแบคทีเรีย

1. เตรียมสารอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่ายโดยใช้สูตรอาหารที่มีธาตุอาหารไนโตรเจน และฟอสฟอรัสตามสัดส่วนดังต่อไปนี้ N:P เท่ากับ 0:0, 1:1, 5:1, 10:1, 15:1, 25:1 และ 50:1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. เตรียมสูตรอาหารโดยใช้ยูเรีย 46% ปริมาณ 2,173.9 มิลลิกรัม และ P_2O_5 ฟอสฟอรัส 3% ปริมาณ 33,333.3 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 1 ลิตร โดยอัตราส่วนของไนโตรเจน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ 1, 5, 10, 15, 25, 50 มิลลิกรัม คือ 1, 5, 10, 15, 25 และ 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ และอัตราส่วนของฟอสฟอรัสที่ 1 มิลลิกรัม คือ 1 มิลลิลิตร แล้วทำการผสมกันตามสัดส่วนที่กำหนดตามข้อ 1)

3. เตรียมสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย (*Microcystis aeruginosa*) ที่มีค่าคลอโรฟิลล์เริ่มต้นไม่น้อยกว่า 10 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงในสภาพห้องปกติเพื่อให้ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมก่อนเป็นเวลา 7 วัน

4. นำตัวอย่างสาหร่ายใส่ลงไปในน้ำตัวอย่าง 7 ตัวอย่าง รวมชุดควบคุม ที่มีปริมาณน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร และปริมาณสาหร่าย 50 มิลลิลิตร รวมทั้งหมด 500 มิลลิลิตร และเติมสารอาหารที่เตรียมไว้ตัวอย่างละ 1 สูตร ไม่ซ้ำกัน โดยให้ธาตุอาหารทุกวัน วันละ 3 มิลลิลิตร ทำเครื่องหมายกำกับแต่ละตัวอย่าง ทำ 3 ซ้ำการทดลอง โดยทำการควบคุมค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

5. ให้แสงโดยใช้หลอดไฟที่มีค่าความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์ หางจากชุดทดลอง 30 เซนติเมตร โดยใช้อุปกรณ์ในการตั้งเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 6.00-18.00 น. และให้อากาศใช้วิธีการให้ผ่านเครื่องเติมอากาศ ซึ่งปล่อยฟองอากาศ 60 ครั้งต่อ 1 นาที/วัน หรือปริมาตรอากาศที่ 4-6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ควบคุมค่าออกซิเจนที่เหมาะสมให้มีค่ามากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร)

6. บันทึกข้อมูลค่าพีเอช (pH) การนำไฟฟ้า (Conductivity) ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยไม่มีการเปลี่ยนน้ำระหว่างการเลี้ยงสาหร่ายตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน นับตั้งแต่วันเริ่มทำการทดลอง

7. หลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง นำตัวอย่างน้ำที่มีสาหร่ายปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาค่าการเจริญเติบโตโดยวัดจากการวิเคราะห์ค่าคอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll-a) ด้วยวิธีการสกัดและวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยคำนวณตามสูตร

$$\text{Chlorophyll a (ug/L)} = \frac{26.7(\text{corr.664} - \text{corr.665}) \times \text{volume of extract in L}}{\frac{[\text{volume of sample in L}] \times 1\ \text{cm}}{1{,}000}}$$

เมื่อ Corr.664 = ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 750 nm., 664 nm.

Corr.665 = ค่าดูดซับแสงที่ช่วงคลื่น 750 nm., 665 nm.

การทดลองที่ 2 ผลของระดับความเค็ม ต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

1. เตรียมน้ำที่มีความเค็มระดับต่าง ๆ 6 ระดับ คือ 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, และ 0.30 พีพีที ปริมาตร 450 มิลลิลิตร โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดความเค็ม (Salinity multimeter)

2. เตรียมสูตรอาหาร N:P จากการทดลองที่ 1 ที่พบว่า ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ซึ่งได้อัตราส่วน คือ 15:1

3. เตรียมสาหร่ายไซยาโนแบคทีเรีย (*Microcystis aeruginosa*) ที่มีค่าคลอโรฟิลล์เริ่มต้นไม่น้อยกว่า 100 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยเลี้ยงในสภาพห้องปกติเพื่อให้ปรับตัวกับสภาพแวดล้อมก่อนเป็นเวลา 7 วัน

4. นำตัวอย่างสาหร่ายใส่ลงไปในน้ำตัวอย่างที่ความเค็มระดับต่าง ๆ 6 ตัวอย่าง รวมชุดควบคุม ที่มีปริมาณน้ำ 450 มิลลิลิตร และปริมาณสาหร่าย 50 มิลลิลิตร รวมทั้งหมด 500 มิลลิลิตร และเติมสารอาหาร N:P, 1:1 โดยให้ธาตุอาหารทุกวัน วันละ 3 มิลลิลิตร ทำเครื่องหมายกำกับแต่ละตัวอย่าง ทำ 3 ซ้ำการทดลอง โดยทำการควบคุมค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

5. ให้แสงโดยใช้หลอดไฟที่มีค่าความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์ หางจากชุดทดลอง 30 เซนติเมตร โดยใช้อุปกรณ์ในการตั้งเวลาการให้แสง 12 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 6.00-18.00 น. และให้อากาศใช้วิธีการให้ผ่านเครื่องเติมอากาศ ซึ่งปล่อยฟองอากาศ 60 ครั้งต่อ 1 นาที/วัน หรือปริมาตรอากาศที่ 4-6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ควบคุมค่าออกซิเจนที่เหมาะสมให้มีค่ามากกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตร)

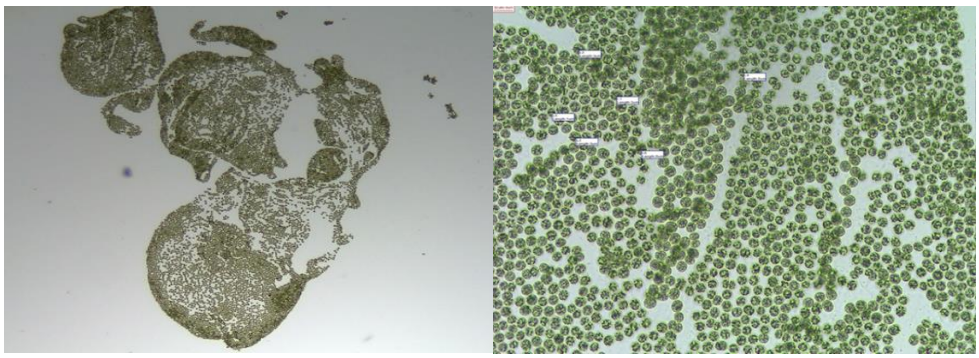
6. บันทึกข้อมูลค่าพีเอช (pH) การนำไฟฟ้า (Conductivity) ออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยไม่มีการเปลี่ยนน้ำระหว่างการเลี้ยงสาหร่ายตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 7 วันนับตั้งแต่วันเริ่มทำการทดลอง

7. หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองนำตัวอย่างน้ำที่มีสาหร่ายปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไปวิเคราะห์หาค่าการเจริญเติบโต โดยวัดจากการวิเคราะห์ค่าคลอโรฟิลล์ เอ ด้วยวิธีการสกัดและวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยคำนวณตามสูตรการทดลองที่ 1 หลังจากนั้นวิเคราะห์ข้อมูลทดสอบสมมติฐานความแตกต่างของปริมาณธาตุอาหารและความเค็มต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์ ด้วยสถิติ One-way ANOVA

ผลการวิจัย

ลักษณะโดยทั่วไปของไซยาโนแบคทีเรีย

จากการวิเคราะห์ลักษณะของไซยาโนแบคทีเรีย ที่เก็บตัวอย่างจากระบบบำบัดน้ำเสียพบว่า เป็นสาหร่ายที่จัดอยู่ในสปีชีส์ *Microcystis aeruginosa* มีลักษณะเป็นเซลล์ที่มีขนาดเล็ก แต่เมื่อมีการรวมตัวและจับกลุ่มกัน จะสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าซึ่งมีลักษณะสีเขียวและลอยตัวอยู่บนผิวน้ำเมื่อได้รับแสงสว่าง ทั้งนี้เมื่อนำไปวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการโดยการส่องกล้องจุลทรรศน์จะพบว่า มีลักษณะเป็นทรงกลม ไม่มีเส้นสาย อยู่รวมกลุ่มเป็นโคโลนี ไม่มีราก ไม่มีลำต้น มีสีเขียวแกมน้ำเงิน ดังภาพที่ 1

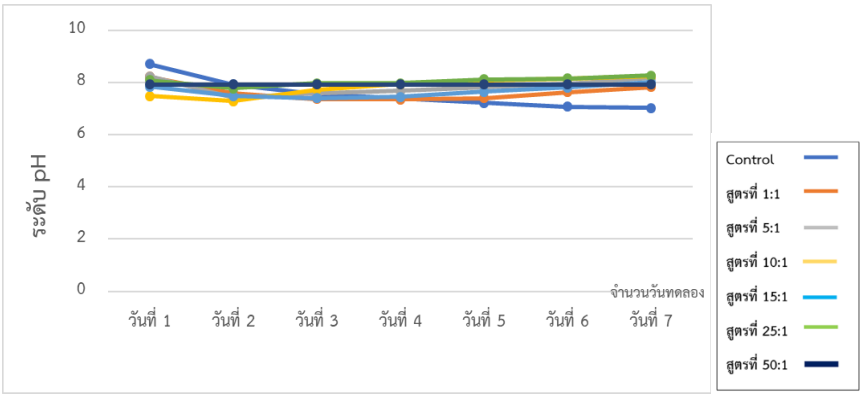


A B

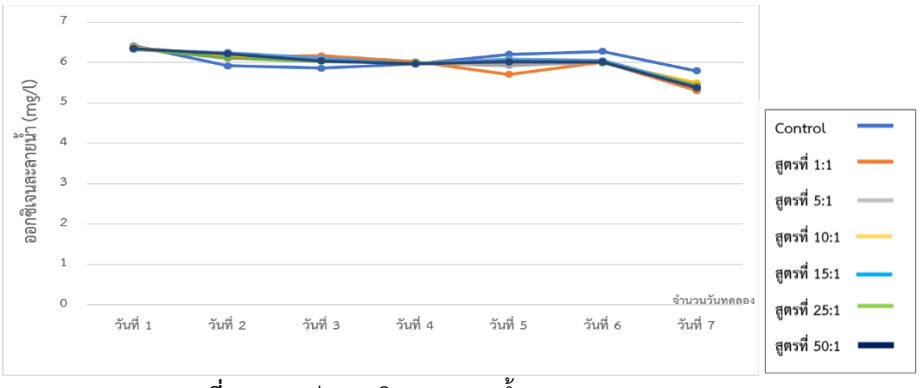
ภาพที่ 1 ภาพถ่ายกลองจุลทรรศน์ ของไซยาโนแบคทีเรีย กำลังขยายที่ 4X(A) และกำลังขยายที่ 40X(B)

ผลการทดลองอัตราส่วนธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

1. ผลของค่าพารามิเตอร์ในการทดลอง (ค่าพีเอช และค่าออกซิเจนละลาย) พบว่า ค่าพีเอชของน้ำตัวอย่างที่ใช้เลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียพบว่า มีค่าเฉลี่ย = 8 ± 0.30 มีค่าอยู่ในช่วง 7-9 ซึ่งพบว่า ค่าพีเอชอยู่ในระดับที่เป็นตามที่กำหนดไว้ในการวิจัย ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) พบว่า มีค่าเฉลี่ย = 6 ± 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ในช่วงระหว่าง 5-6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าออกซิเจนละลายน้ำอยู่ในระดับปกติตามข้อกำหนดของการทดลอง ดังภาพที่ 2 และ 3

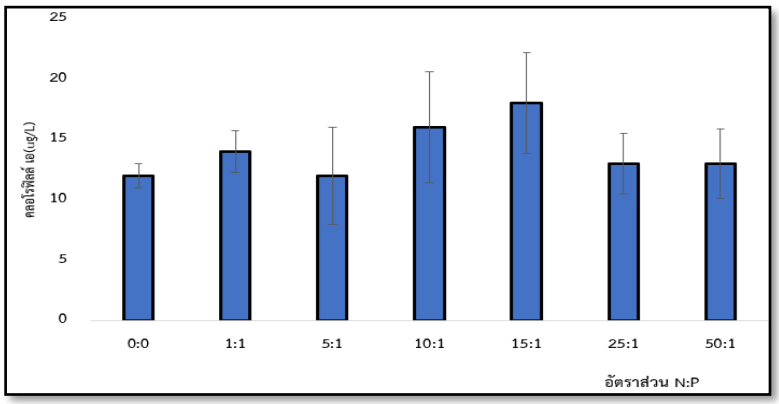


ภาพที่ 2 แสดงค่าพีเอช ของชุดการทดลอง



ภาพที่ 3 แสดงค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของชุดการทดลอง

2. ผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll-a) ของการทดลองอัตราส่วนธาตุอาหารไนโตรเจนและฟอสฟอรัสต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียพบว่า ที่ระดับอัตราส่วนธาตุอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส 15:1 มีปริมาณไซยาโนแบคทีเรียสูงสุด รองลงมาคือที่สัดส่วน 10:1 และ 1:1 ตามลำดับ ดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll-a)
ที่แสดงถึงการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียในแต่ละสูตรธาตุอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส

3. วิเคราะห์ข้อมูลทดสอบสมมติฐานความแตกต่างของปริมาณค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์ เอ ของชุดการทดลองทั้งหมดด้วยสถิติ One-way ANOVA

เมื่อทำการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียจากสัดส่วนอาหารทั้ง 7 สูตร โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์ เอ ของชุดการทดลองพบว่า มีค่าความแตกต่างทางสถิติ P = 0.392 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งสรุปได้ว่าปริมาณสัดส่วนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสทั้ง 7 สูตร มีผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 1

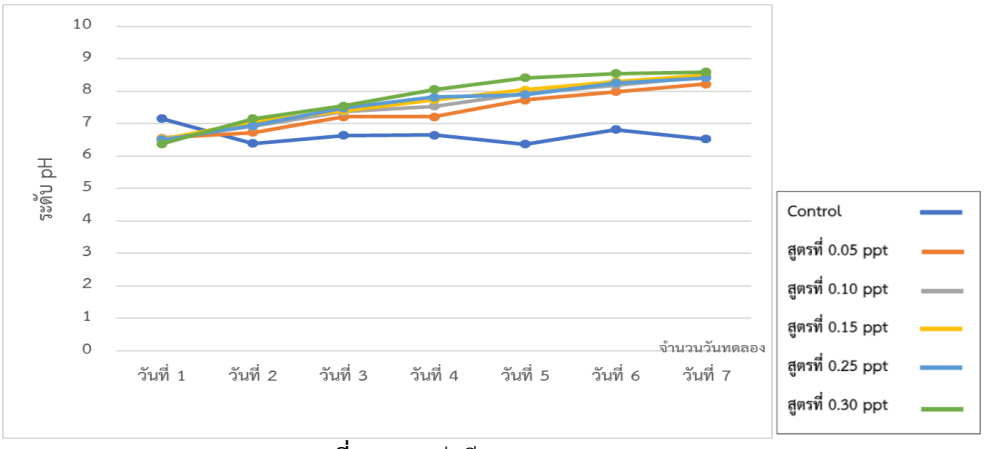
ตารางที่ 1 แสดงผลการวิเคราะห์การเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์ เอ ของชุดการทดลองทั้งหมดกับกลุ่มควบคุมด้วยสถิติ One-way ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.00	6	12.00	1.135	.392
Within Groups	148.00	14	10.57		
Total	220.00	20			

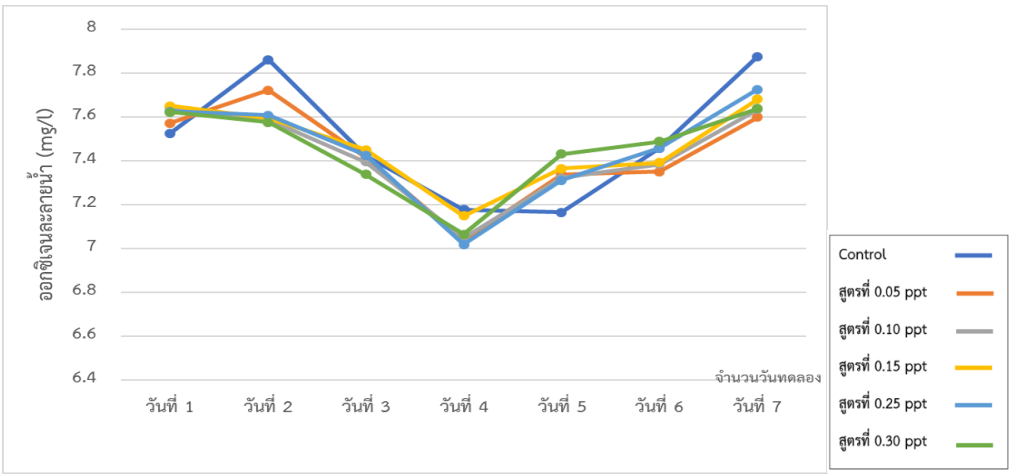
ผลการทดลองระดับความเค็ม ต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

ผลของค่าพารามิเตอร์ในการทดลอง (ค่าพีเอช ค่าออกซิเจนละลาย)

ค่าพีเอชของน้ำตัวอย่างที่ใช้เลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียพบว่า มีค่าเฉลี่ย = 7 ± 1.00 มีค่าอยู่ในช่วง 6-9 ซึ่งพบว่าค่า pH อยู่ในระดับปกติ และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของน้ำตัวอย่างที่ใช้เลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียพบว่า มีค่าเฉลี่ย = 7 ± 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร อยู่ในช่วงระหว่าง 7-8 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งพบว่าค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) เป็นไปตามตามข้อกำหนดของการทดลอง ดังภาพที่ 5-6



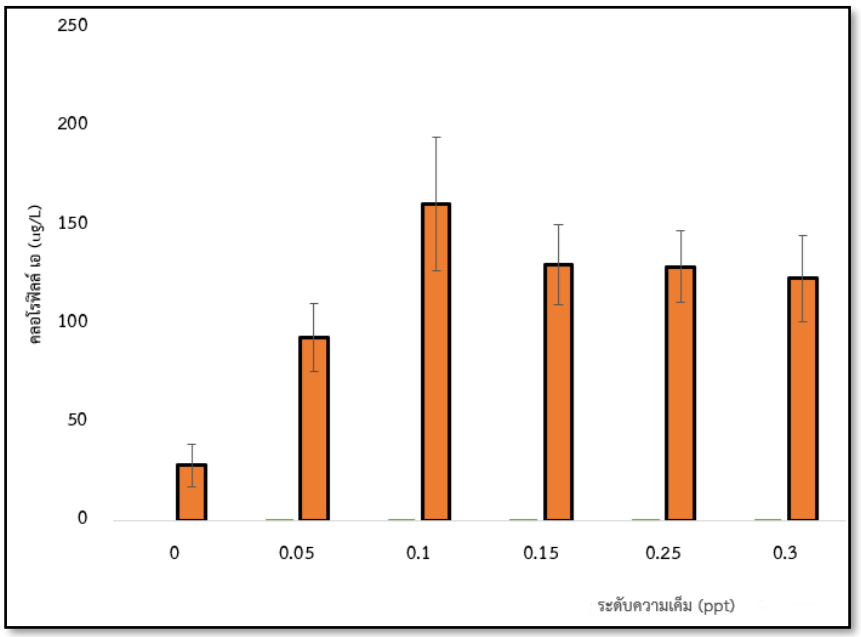
ภาพที่ 5 แสดงค่าพีเอช ของชุดการทดลอง



ภาพที่ 6 แสดงค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ของชุดการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll - a) ของการทดลองระดับความเค็มต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย

ผลจากการทดลองพบว่า ระดับความเค็มที่ 0.10 พีพีที ปริมาณไซยาโนแบคทีเรียมากที่สุดที่ 161 ไมโครกรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ระดับความเค็ม 0.15, 0.25 พีพีที ที่ปริมาณ 130 และ 129 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แสดงปริมาณความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll-a) ที่แสดงถึงการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียในแต่ละระดับความเค็ม

วิเคราะห์ข้อมูลทดสอบสมมติฐานความแตกต่างของระดับความเค็มต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์ เอ ด้วยสถิติ One-way ANOVA

เมื่อทำการวิเคราะห์การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียจากระดับความเค็มทั้ง 6 ระดับโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์ เอ ของชุดการทดลอง พบว่ามีค่าความแตกต่างทางสถิติ (P-value < 0.05) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งสรุปได้ว่าความเค็มใน 5 ระดับที่ 0.05, 0.1, 0.15, 0.25 และ 0.3 มีผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 2

ตาราง 2 แสดงผลการวิเคราะห์การเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ยคลอโรฟิลล์ เอ ของชุดการทดลองทั้งหมดด้วยสถิติ One-way ANOVA

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31499.11	5	6299.82	13.548	.000
Within Groups	5580.00	12	465.00		
Total	37079.11	17			

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

1. จากการทดลองผลของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียกลุ่ม Microcystis aeruginosa พบว่า สัดส่วนที่ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ N:P = 15:1 โดยมีค่าเฉลี่ย 18 ± 4.16 ug/l ซึ่งปริมาณธาตุอาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการบลูมของไซยาโนแบคทีเรีย สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rollwagen-Bollens et al. (2022) ได้กล่าวว่า การปรับปรุงสารอาหารส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งทั้งฟอสฟอรัสและไนโตรเจนนับเป็นปัจจัยที่สำคัญของการเจริญเติบโตและมีความสัมพันธ์กับปริมาณของคลอโรฟิลล์ (Mamun and An, 2017); (Jargal et al., 2021); (Preisner et al., 2020) จากการทดลองนี้ใช้เวลาในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ในการควบคุมเป็นสิ่งสำคัญ เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และออกซิเจนละลายน้ำต้องใกล้เคียงกับสภาพแวดล้อมจริง ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจาก แสงและออกซิเจนจัดเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียภายในเซลล์ เพื่อสร้างอาหาร สำหรับใช้ในการเจริญเติบโต (Lucas and Prat, 2014) ค่าพีเอชได้กำหนดในช่วง 6.99-8.98 เนื่องจากพีเอชของน้ำมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของพืชหากค่าพีเอชต่ำหรือสูงเกินไปพืชก็ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดี (ไมตรีและจารุวรรณ, 2528) นอกจากนี้พบว่าความเข้มข้นของธาตุอาหารมีผลต่อการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรีย ซึ่งจะใช้ในการสังเคราะห์แสงเพื่อดำรงชีวิต หากความเข้มข้นต่ำเกินไปไซยาโนแบคทีเรียก็จะหยุดการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liu et al., (2011) ได้ศึกษาอัตราส่วนของไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายขนาดเล็ก และได้นำเสนอไว้ว่าอัตราส่วนประมาณ 16N:1P บ่งชี้อัตราส่วนขององค์ประกอบโดยเฉลี่ยของแพลงก์ตอนพืช และอัตราส่วนเริ่มต้นของความเหมาะสมของธาตุอาหารในระบบจะช่วยเพิ่มชีวมวลของสาหร่าย ซึ่งอัตราส่วน N:P เท่ากับ 16 ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายแสดงผลผลิตของเซลล์สูงสุดและการเจริญเติบโตแบบเอ็กซ์โพเนนเชียลที่ยาวที่สุด ทั้งนี้ในการเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรียในการวิจัยนี้พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์มีจำนวนลดลงที่อัตราส่วน N:P 5:1 และตั้งแต่ 25:1 เป็นต้นไป ซึ่งเป็นผลมาจากหลายปัจจัย ได้แก่ ระยะเวลาในการปรับตัว และปริมาณธาตุอาหาร ซึ่งเป็นผลทำให้ปริมาณไซยาโนแบคทีเรียลดจำนวนลง สอดคล้องกับงานวิจัยของสมพรและคณะ (2547) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างอะคีนีตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดที่ตรึงไนโตรเจนได้ ได้กล่าวไว้ว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 6 สายพันธุ์ มีค่าเฉลี่ยมวลชีวภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยเพิ่มมากที่สุดที่ 18 วัน และหลังจากนั้นจากนั้นจะเริ่มลดลง

2. จากการทดลองผลของระดับความเค็มต่อการเจริญเติบโตไซยาโนแบคทีเรียพบว่า ระดับความเค็มที่ 0.10 ppt ทำให้ไซยาโนแบคทีเรียมีการเจริญเติบโตมากที่สุด เฉลี่ย 161 ± 34.00 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งไซยาโนแบคทีเรียเจริญเติบโตได้มากที่สุดที่ระดับความเค็ม 0.10 พีพีที และสามารถเจริญเติบโตได้ในช่วง 0.15-0.30 พีพีที ซึ่งไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของชนัดดา (2552) ได้ศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ และได้นำเสนอไว้ว่าสาหร่ายเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในระดับความเค็ม 0.05 พีพีที สาหร่ายที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่ำ (0.0-0.15 พีพีที) มีการเจริญเติบโตสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงในระดับความเค็มสูง (0.25-0.35 ppt) และเมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของระดับความเค็มในแต่ละช่วงด้วยกันพบว่า การเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียไม่ต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจาก *M. aeruginosa* มีขีดจำกัดของความทนทานต่อความเค็ม และอัตราการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมได้ดี (Melero-Jiménez et al., 2020) โดยจากการศึกษานี้พบว่า ความเค็มเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณไซยาโนแบคทีเรียเพิ่มขึ้น โดยมีการควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อไซยาโนแบคทีเรีย เช่น ความเข้มแสงที่ใช้ในการเลี้ยงไม่น้อยกว่า 2,000 ลักซ์ (Lucas and Prat, 2014) และออกซิเจนละลายน้ำซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์แสงของไซยาโนแบคทีเรียเนื่องจากออกซิเจนหากอยู่ในระดับต่ำ การขาดแคลนออกซิเจนในน้ำทำให้พืชไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Dai et al., 2016)

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. ผลการวิจัยในครั้งนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุง ระบบบำบัดน้ำเสียของมหาวิทยาลัย โดยลดการปนเปื้อนไนโตรเจน และฟอสฟอรัสในแหล่งกำเนิดก่อนเข้าสู่ระบบบำบัด หรือให้มีการบำบัดไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ให้อยู่ในระดับต่ำ เพื่อลดการเกิดการบลูมของไซยาโนแบคทีเรีย และควบคุมความเค็มของน้ำ เพื่อจำกัดปัจจัยการบลูมของไซยาโนแบคทีเรีย

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของไซยาโนแบคทีเรียในทุกช่วงฤดูกาล เพื่อจำแนกชนิด และการบลูมว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ และเพิ่มระยะเวลาในการทดลองเพื่อให้ไซยาโนแบคทีเรียมีการปรับตัวต่อธาตุอาหารให้มากขึ้น เพื่อจะได้เห็นแนวโน้มในการเจริญเติบโตที่ชัดเจนขึ้นรวมทั้งอัตราการตายของไซยาโนแบคทีเรีย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทีมวิจัย และวิทยาลัยแพทยศาสตร์และการสาธารณสุข มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ช่วยอำนวยความสะดวก และให้ใช้สถานที่ห้องปฏิบัติการได้อย่างสะดวกตลอดการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ชนัดดา เกตุมา, ชัชรีแก วสุรลิขิต, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิด และประยูร หงส์รัตน์. (2552). ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก (*Ulva intestinalis* Linnaeus) ในห้องปฏิบัติการ. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47* (น. 81-88). https://kukrdb.lib.ku.ac.th/proceedings/kucon/search_detail/result/ 11430.

ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และจารุวรรณ สมศิริ. (2528). *คุณสมบัติของน้ำและวิธีวิเคราะห์ สำหรับการวิจัยทางการประมง*. กรุงเทพฯ: สถาบันประมงน้ำจืดแห่งชาติ.

วิมลรัตน์ กถาเสนีย์. (2555). *รายงานฉบับสมบูรณ์การพัฒนาชุดตรวจสอบยูโทรฟิเคชั่นในแหล่งน้ำจืดอย่างง่าย*. กรุงเทพฯ: กรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติประเทศไทย.

สมพร ชุนหลือชานนท, เอกธิดา ไชยรินทร และชุติมณฑ สถิรพิพัฒนกุล. (2547). การเจริญเติบโตและการสร้างอะคีนีตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดที่ตรึงไนโตรเจนได. *วารสารเกษตร*, *20*(3), 204-214.

สุรศักดิ์ ละลอกน้ำ และบงกช บุญบรพงษ์. (2555). ศักยภาพของไซยาโนแบคทีเรียในอนาคตประเทศไทย. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้, 3*(2), 149-154.

สำนักงานบริหารกายภาพ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. (2565). *รายงานผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำทิ้ง*. อุบลราชธานี: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

El-Gamal, A. A. (2020) Biological importance of marine algae. *Saudi Pharmaceutical Journal, 18*(1), 1-25. https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001.

Dai, R., Wang, P. and Jia, P., Zhang, Y., Chu, X. and Wang, Y. (2016). A review on factors affecting microcystins production by algae in aquatic environments. *World J Microbiol Biotechnol*, *35*(51). https://doi.org/10.1007/s11274-015-2003-2.

Florida LakeWatch. (2000). *A beginner;s guide to water management-Nutrients*. USA: University of Florida, Florida. USA.

Rollwagen-Bollens, G., Connelly, K. A., Bollens, S. M., Zimmerman, J., Coker, A. (2022). Nutrient control of phytoplankton abundance and biomass, and microplankton assemblage structure in the lower Columbia River (Vancouver, Washington, USA). *Water, 14*(10), 1599. https://doi.org/10.3390/w14101599

Jargal, N., Atique, U., Mamun, M. and An, K. G. (2021). Seasonal and long-term connections between trophic status, sestonic chlorophyll, nutrients, organic matter, and monsoon rainfall in a multipurpose reservoir. *Water, 13*(13), 1720. https://doi.org/10.3390/w13131720.

De Lucas, M. and Prat, S. (2014). PIFs get BRright: PHYTOCHROME INTERACTING FACTORs as integrators of light and hormonal signals. *New Phytologist*, *202*(4), 1126-1141. https://doi.org/10.1111/nph.12725.

Mamun, M. and An, K. G. (2017). Major nutrients and chlorophyll dynamics in Korean agricultural reservoirs along with an analysis of trophic state index deviation. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, *10*(2), 183-191. https://doi.org/10.1016/j.japb.2017.04.001.

Melero, J., Martín, C., García-Sánchez, M. J., Bañares-España, E. and Flores-Moya, A. (2020). The limit of resistance to salinity in the freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosais* modulated by the rate of salinity increase. *Ecology and Evolution, 10*(11), 5045-5055. https://doi.org/10.1002/ece3.6257.

Preisner, M., Neverova-Dziopak, E. and Kowalewski, Z. (2020). Analysis of eutrophication potential of municipal wastewater. *Water Science and Technology, 81*(9), 1994-2003. https://doi.org/10.2166/wst. 2020.254.

Yang, Xe., Wu, X., Hao, Hl. and He, Zl.(2008). Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, *9*, 197-209. https://doi.org/10.1631/jzus.B0710626.

Liu, Y., Li, L. and Jia, R. (2011). The optimum resource ratio (N:P) for the growth of Microcystis aeruginosa with abundant nutrients. *Procedia Environmental Sciences, 10*, 2134-2140. https://doi.org/10.1016/j.proenv.2011.09.334.