

ผลของโลหะปริมาณน้อยบางชนิดและอัตราเร่งต่อการเจริญของไดโนเสาร์ในแฟลกเจลเลต

Prorocentrum micans Ehrenberg



นางสาว เขมวารณ ไชยวงศ์

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2532

ISBN 974-576-642-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

015845

I 175133 15

EFFECTS OF SOME TRACE METALS AND EDTA ON GROWTH OF DINOFLAGELLATE,
PROROCENTRUM MICANS EHRENBERG

Miss Ben.jawun Chaiyawong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Marine Science
Graduate School
Chulalongkorn University

1989

ISBN 974-576-642-9

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของโลหะปริมาณน้อยบางชนิดและอัตราที่ลดการเจริญของ
ไดโนแฟลกเจลเลต Prorocentrum micans Ehrenberg

โดย

นางสาว เภจวรรณ ไชยวงศ์

ภาควิชา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล

อาจารย์ที่ปรึกษา

ศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ ปิยะกาญจน์

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุชนา วิเศษสังข์



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับเป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต



คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชรราษฎร์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ญิฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ ดร. ทวีศักดิ์ ปิยะกาญจน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สุชนา วิเศษสังข์)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ วิมล นานิชการ)

..... กรรมการ
(ดร. ศิริชัย ธรรมวานิช)



แบบจรรยา ไซยวงศ์ : ผลของโลหะปริมาณน้อยบางชนิดและอัตราเอดต่อการเจริญของไดโนแฟลกเจลเลต Proocentrum micans Ehrenberg (EFFECTS OF SOME TRACE METALS AND EDTA ON GROWTH OF DINOFLAGELLATE, PROOCENTRUM MICANS EHRENBURG) อ.ท.ปริกษา : ศ.ดร.ทวีศักดิ์ ปิยะกาญจน์, ผศ.สุชนา วิเศษสิงขร, 89 หน้า.

การศึกษาผลของธาตุโลหะปริมาณน้อย ได้แก่ สังกะสี แมงกานีส โมลิบดีนัม โคบอลต์ และทองแดง ร่วมกับอัตราเอดต่อการเจริญของ Proocentrum micans พบว่า P. micans ที่แยกได้จากน้ำทะเลธรรมชาติ บริเวณชายฝั่งแหลมแท่น จังหวัดชลบุรี สามารถเพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการด้วยน้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารตามสูตรอาหาร modified T1 ภายใต้สภาวะควบคุมในตู้บ่มเชื้อ และเมื่อทดลองแปรผันระดับอัตราส่วนของอัตราเอดต่อปริมาณรวมของธาตุโลหะปริมาณน้อยในส่วนของสารละลาย Mixed trace metals ของสูตรอาหาร modified T1 ให้เพิ่มขึ้นเป็นอัตราส่วน 2:1 3:1 5:1 10:1 15:1 และ 20:1 พบว่าที่ระดับอัตราส่วนอัตราเอดต่อปริมาณรวมของธาตุโลหะปริมาณน้อยเท่ากับ 2:1 เหมาะสมต่อการเจริญของ P. micans ส่วนผลของการเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยทั้ง 5 ชนิด ไปพร้อม ๆ กัน ในระดับที่เพิ่มขึ้นจากระดับความเข้มข้นเดิมที่เตรียมตามสูตรอาหาร modified T1 เป็น 2 เท่า 4 เท่า 6 เท่า 8 เท่า และ 10 เท่า โดยที่ระดับอัตราส่วนของอัตราเอดต่อปริมาณรวมของธาตุโลหะปริมาณน้อยคงที่เท่ากับ 2:1 พบว่า P. micans มีอัตราการเจริญไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทดลองเพิ่มสารละลายกรดซิลิเกตที่ระดับความเข้มข้น 10 นาโนโมลาร์ลงในสูตรอาหาร modified T1 พบว่าสารละลายกรดซิลิเกต 10 นาโนโมลาร์ ไม่มีผลต่อการเจริญของ P. micans ตามเงื่อนไขของสภาวะควบคุมในการทดลองในครั้งนี้

จากผลการทดลองในครั้งนี้จะกล่าวได้ว่า P. micans สามารถเพาะเลี้ยงได้ในน้ำเลี้ยงเซลล์ที่มีการเพิ่มสารอาหารสูตร modified T1 โดยที่อัตราส่วนของอัตราเอดต่อปริมาณรวมของธาตุโลหะปริมาณน้อยและปริมาณความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยทั้ง 5 ชนิดที่เตรียมตามสูตรอาหาร modified T1 เหมาะสมต่อการเจริญของ P. micans

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล
 สาขาวิชา ชีววิทยาทางทะเล
 ปีการศึกษา 2531

ลายมือชื่อนิสิต วัฒนวรรณ วัฒนวงศ์
 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ทวีศักดิ์ ve. my ✓



BENJAWUN CHAIYAWONG : EFFECTS OF SOME TRACE METALS AND EDTA ON GROWTH OF DINOFLAGELLATE, PROROCENTRUM MICANS EHRENBERG. THESIS ADVISOR : PROF. TWESUKDI PIYAKARNCHANA, Ph.D., ASIST. PROF. SUCHANA WISESSANG. 89 PP.

This experiment was carried out on the effects of some trace metals such as zinc, manganese, molybdenum, cobalt and copper, which organic chelator EDTA on growth of a dinoflagellate, Prorocentrum micans. This species was isolated from the natural sea water collected from Ang-Sila, Chonburi Province and made unialgal culture. The culture was inoculated into enriched sea water medium called modified T1 and incubated in the incubator at control condition in the laboratory.

Increase of chelator-metals mole ratio and trace metal concentration did not yield any statistical significant difference growth rate of P. micans over the normal level of modified T1 medium. When 10 nM selenic acid was added to modified T1 medium. It showed not any effect to the growth of P. micans.

From the present experimental results it can be said that modified T1 medium can enhance growth rate of P. micans and the level of metal and chelator-metals mole ratio seem to be the most suitable.

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล.....
สาขาวิชาชีววิทยาทางทะเล.....
ปีการศึกษา2531.....

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
14/11/2531

กิตติกรรมประกาศ



ขอกราบขอบพระคุณท่านอาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ประธานกรรมการ และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาช่วยให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มาโดยตลอดจนสำเร็จไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ Dr. Takashi Ishimaru จาก Ocean Research Institute, University of Tokyo ที่ได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ พี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ได้ช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ให้เสร็จสิ้นไปด้วยดี

และขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งได้ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์

ท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบุพการีและญาติพี่น้อง ที่ได้ให้กำลังใจและความช่วยเหลือและสนับสนุนทางการศึกษามาโดยตลอด



สารบัญ

| | หน้า |
|-----------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | จ |
| กิตติกรรมประกาศ | ฉ |
| สารบัญตาราง | ช |
| สารบัญรูป | ญ |
| สารบัญภาพ | ฎ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ | 1 |
| 2 สํารวจเอกสาร | 9 |
| 3 อุปกรณ์และวิธีการ | 25 |
| 4 ผลการทดลอง | 33 |
| 5 วิจารณ์ผลการทดลอง | 54 |
| 6 สรุปผลและข้อเสนอแนะ | 67 |
| เอกสารอ้างอิง | 71 |
| ภาคผนวก | 82 |
| ประวัติผู้เขียน | 89 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | | หน้า |
|----------|--|------|
| 1 | ความเข้มข้นของธาตุซิลิเนียมในน้ำทะเล | 19 |
| 2 | อัตราการเจริญเฉลี่ย (growth constant) และเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่า (doubling time) ของ <i>P. micans</i> เมื่อได้รับอิทธิพลของการเพิ่มสารอาหาร modified T1 (nsw+T1) และน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ได้เพิ่มสารอาหาร (nsw) | 37 |
| 3 | ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเจริญของ <i>P. micans</i> แบบวิธีวิเคราะห์โควาเรียนซ์ เมื่อได้รับอิทธิพลของการเพิ่มสารอาหารในน้ำเลี้ยงเซลล์ (nsw+T1) และน้ำเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ได้เพิ่มสารอาหาร (nsw) | 83 |
| 4 | อัตราการเจริญเฉลี่ยและเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่าของ <i>P. micans</i> เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารสูตร modified T1 โดยแปรผันระดับอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio | 41 |
| 5 | ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเจริญของ <i>P. micans</i> แบบวิธีโควาเรียนซ์เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารสูตร modified T1 โดยแปรผันระดับอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio | 84 |
| 6 | อัตราการเจริญเฉลี่ยและเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่าของ <i>P. micans</i> เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารที่แปรผันระดับความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยเพิ่มขึ้น | 47 |
| 7 | ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเจริญของ <i>P. micans</i> แบบวิธีโควาเรียนซ์ เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารสูตร modified T1 ที่แปรผันระดับความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยเพิ่มขึ้น | 85 |

| ตารางที่ | หน้า |
|----------|--|
| 8 | อัตราการเจริญเฉลี่ยและเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นสองเท่าของ <u>P. micans</u> เมื่อได้รับอิทธิพลของธาตุซิลิเนียมร่วมกับสารอาหาร modified T1 53 |
| 9 | ตารางวิเคราะห์ความแตกต่างอัตราการเจริญของ <u>P. micans</u> แบบวิธี โคควา เรียนซ์ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำเลี้ยงที่ได้รับอิทธิพลของธาตุซิลิเนียม 86 |
| 10 | สารอาหารสูตร Plymouth Erdschreiber Solution 87 |
| 11 | สารอาหารสูตร Allen and Nelson 87 |
| 12 | ตารางเปรียบเทียบองค์ประกอบและความเข้มข้นของสารประกอบใน สูตรอาหาร T1 Medium และ modified T1 57 |
| 13 | ค่าคงที่ความเสถียรภาพของสารประกอบคีเลเตอร์และธาตุโลหะ เมื่อ รวมกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อน 59 |
| 14 | เปรียบเทียบอัตราส่วนของ EDTA ต่อปริมาณรวมของธาตุโลหะปริมาณ น้อยใน Trace Metal-I 61 |
| 15 | สูตรอาหาร "K" medium 88 |

สารบัญรูป

| รูปที่ | | หน้า |
|--------|--|------|
| 1 | เส้นกราฟมาตรฐานของ <u>Procoentrum micans</u> จากความสัมพันธ์ระหว่างค่า fluorescence number กับค่าจำนวนเซลล์ ; ___ : ค่าที่ได้จากการทำนายตามสมการเชิงเส้นตรง ; + : ค่าที่ได้จากการนับจำนวนเซลล์ | 35 |
| 2 | การเจริญของ <u>P. micans</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเจริญเทียบกับเวลา (วัน) เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารสูตร modified T1 ; ◻ : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่ไม่ได้เพิ่มสารอาหาร ; + : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหาร | 36 |
| 3 | การเจริญของ <u>P. micans</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเจริญเทียบกับเวลา (วัน) เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารที่มีระดับอัตราส่วน Chelate-metal mole ratio 2:1 (◻), 3:1 (+), 5:1 (◊), 10:1 (Δ), 15:1 (X) และ 20:1 (▽) ตามลำดับ | 40 |
| 4 | อัตราการเจริญเฉลี่ยของ <u>P. micans</u> เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารที่แปรผันระดับอัตราส่วน Chelate-metal mole ratio 2:1, 3:1, 5:1, 10:1, 15:1, 20:1 | 42 |
| 5 | การเจริญของ <u>P. micans</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเจริญเทียบกับเวลา (วัน) เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารที่มีการแปรผันระดับความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยเพิ่มขึ้นเป็น 1 เท่า (◻), 2 เท่า (+), 4 เท่า (◊), 6 เท่า (Δ), 8 เท่า (X) และ 10 เท่า (▽) ของระดับความเข้มข้นธาตุโลหะปริมาณน้อยตามสูตรอาหาร modified T1 | 46 |

| | | |
|---|---|----|
| 6 | อัตราการเจริญเฉลี่ยของ <u>P. micans</u> เมื่อได้รับอิทธิพลของสารอาหารที่แปรผันระดับความเข้มข้นของธาตุโลหะปริมาณน้อยเพิ่มขึ้นเป็น 1 เท่า, 2 เท่า, 4 เท่า, 6 เท่า, 8 เท่า และ 10 เท่าของระดับความเข้มข้นธาตุโลหะปริมาณน้อยตามสูตรอาหาร modified T1 | 48 |
| 7 | การเจริญของ <u>P. micans</u> แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเจริญเทียบกับเวลา (วัน) เมื่อได้รับอิทธิพลของธาตุซิลิเนียมร่วมกับสารอาหารสูตร modified T1 ; + : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 2:1 ; ◊ : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 2:1 และเพิ่มสารละลาย H_2SeO_3 ; Δ : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 3:1 ; x : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 3:1 และเพิ่มสารละลาย H_2SeO_3 | 50 |

- 8 อัตราการเจริญเฉลี่ยของ P. micans เมื่อได้รับอิทธิพลของธาตุซิลิเนียมร่วมกับสารอาหารสูตร modified T1 ที่ระดับอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 2:1 และ 3:1 โดยแปรผันการใส่และไม่ใส่สารละลาย H_2SeO_3 ; nsw+T1(2:1) : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 2:1 ; nsw+T1(2:1)+Se : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 2:1 และเพิ่มสารละลาย H_2SeO_3 ; nsw+T1(3:1) : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 3:1 ; nsw+T1(3:1)+Se : น้ำเลี้ยงเซลล์ที่เพิ่มสารอาหารโดยมีอัตราส่วนของ Chelate-metal mole ratio = 3:1 และเพิ่มสารละลาย H_2SeO_3 51

สารบัญ

| ภาพที่ | หน้า |
|--------|---|
| 1 | ลักษณะเซลล์ <u>Prorocentrum micans</u> ก. ขณะเซลล์อายุ 8 วันหลังจากการถ่ายเชื้อ (กำลังขยาย 100 เท่า) ข. ขณะเซลล์อายุ 14 วันหลังจากการถ่ายเชื้อ (กำลังขยาย 400 เท่า) .. 11 |
| 2 | <u>Prorocentrum micans</u> เมื่อถ่ายภาพโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แบบสแกน แสดงแ่งขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไปบริเวณผิวของลำตัว และ Trichocyst pores 12 |
| 3 | การแพร่กระจายของ <u>Prorocentrum micans</u> 14 |
| 4 | การแพร่กระจายตามความลึกในแนวตั้งของ selenate และ selenite เปรียบเทียบกับ phosphate และ silicate ใน มหาสมุทรแปซิฟิกตอนเหนือ 20 |
| 5 | ความสามารถในการแตกตัวเป็นไอออนอิสระของ EDTA โดยจะแปรผัน ไปตามค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายตัวกลาง 23 |
| 6 | โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างธาตุโลหะ กับ EDTA 23 |