

บทที่ 3

ผลการทดลอง

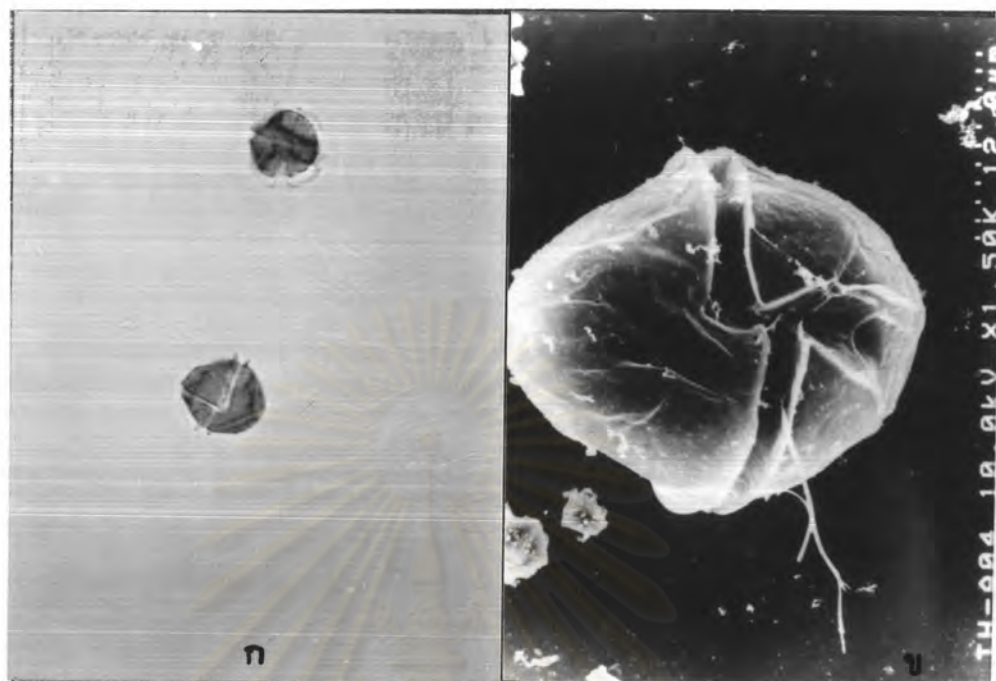
ผลการศึกษาการเติบโตของ *Alexandrium minutum* และ *A. cohorticula*

จากการศึกษาการเติบโตของ *A. minutum* (รูปที่ 4) พบว่ามีค่าคงที่ของการเติบโต (growth constant) เฉลี่ยเท่ากับ 0.24 วัน^{-1} และเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็น 2 เท่า (doubling time) 2.89 วัน จากความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น 4.79×10^2 เซลล์/มล. ได้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 1.84×10^4 เซลล์/มล. (ตารางที่ 7 และรูปที่ 6)

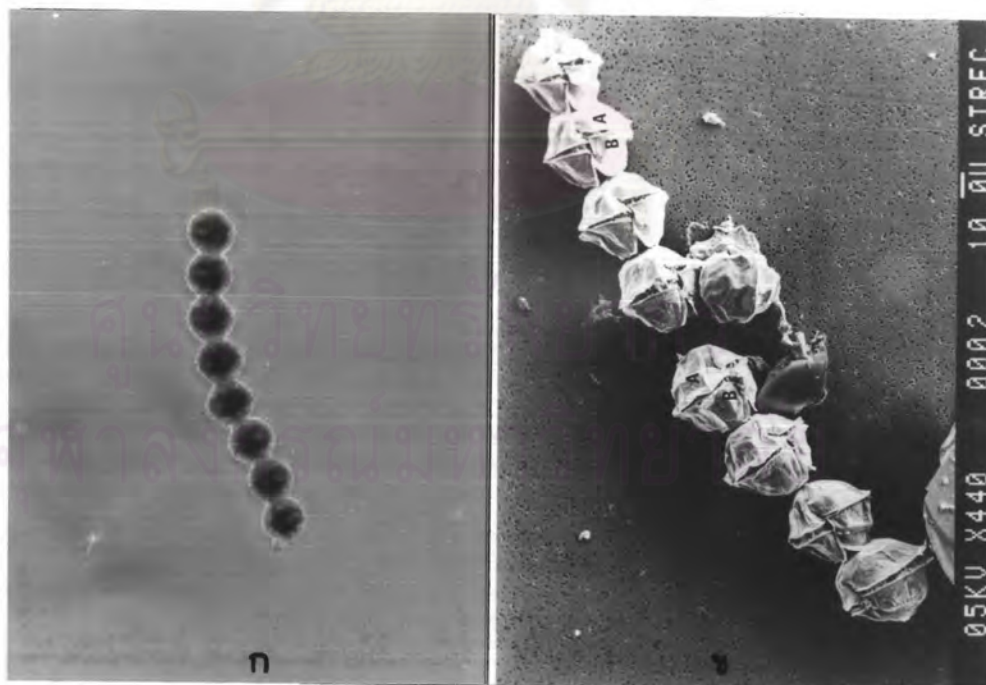
และจากการศึกษาการเติบโตของ *A. cohorticula* (รูปที่ 5) พบว่ามีค่า growth constant เฉลี่ยเท่ากับ 0.28 วัน^{-1} และ ค่า doubling time 2.48 วัน จากความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น 4.08×10^2 เซลล์/มล. ได้ความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 2.54×10^4 เซลล์/มล. (ตารางที่ 7 และรูปที่ 6)

ตารางที่ 7 ค่าคงที่ของการเติบโตเฉลี่ยและเวลาที่ใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็น 2 เท่าของ *Alexandrium minutum* และ *A. cohorticula*

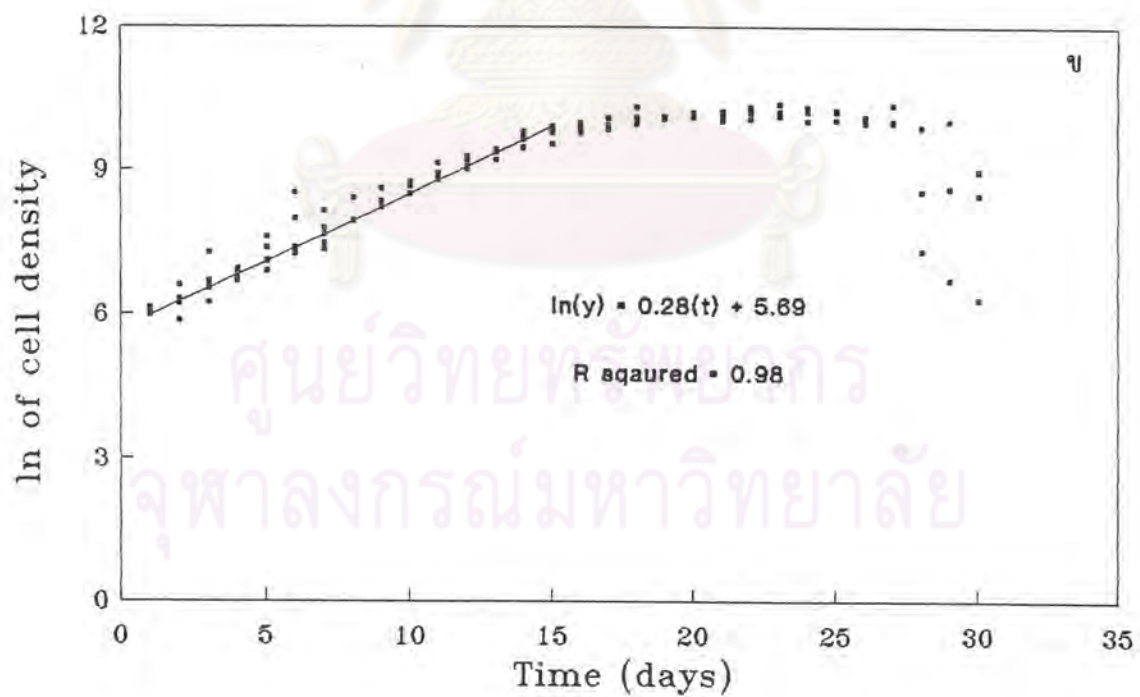
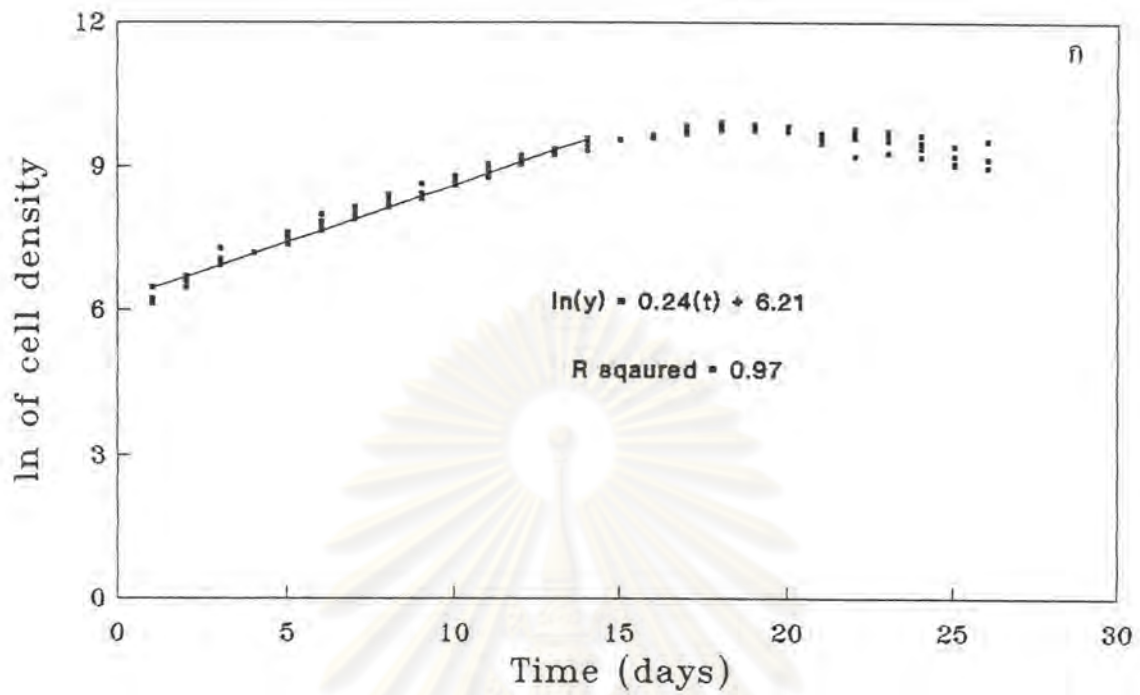
<i>Alexandrium</i> spp.	Growth Constant $K \pm \text{SD} (\text{day}^{-1})$	Doubling time (days)
<i>A. minutum</i>	0.24 ± 0.01	2.89
<i>A. cohorticula</i>	0.28 ± 0.01	2.48



รูปที่ 4 ลักษณะของเซลล์ของ *Alexandrium minutum* จากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (ก) และจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ข)



รูปที่ 5 ลักษณะของเซลล์ของ *Alexandrium cohorticula* จากกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา (ก) และจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (ข)



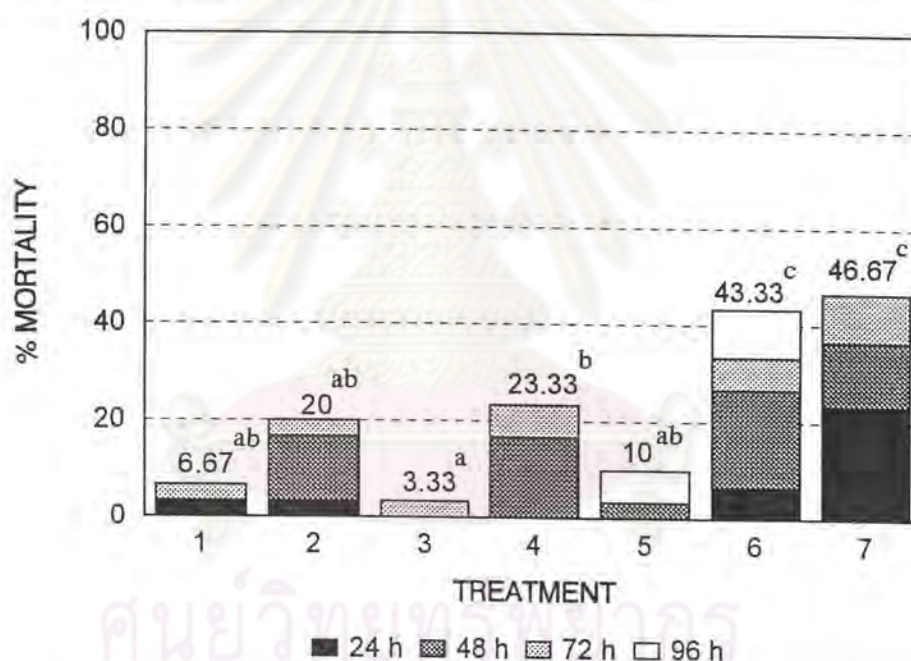
รูปที่ 6 กราฟแสดงรูปแบบการเติบโตตามความสัมพันธ์ระหว่างค่า ln ของความหนาแน่นเซลล์ (ln y) กับระยะเวลา (วัน) ของ *A. minutum* (ก) และ *A. cohorticula* (ข)

ผลของ *A. minutum* และ *A. cohorticula* ที่มีต่อปลานิลและกึ่งกุลาคำ

การทดลองที่ 1 ผลของ *A. minutum* ต่อปลานิล

การทดลองที่ 1.1 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อการตายของปลานิล

ปลานิลเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 8 ในชุดที่ 6 และ 7 ที่มีความหนาแน่นเซลล์ 6.52×10^3 และ 1.26×10^4 เซลล์/มล. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 2-7) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 46.67% ในชุดที่ 7 และต่ำสุดที่ 3.33% ในชุดที่ 3 ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์ 8.77×10^2 เซลล์/มล. ขณะที่ชุดที่ 1 (ชุดควบคุม) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสม 6.67% ดังรูปที่ 7



รูปที่ 7 กราฟแสดงผลของความหนาแน่นของ *A. minutum* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 1.1)

ค่า superscript ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าความหนาแน่นของ *A. minutum* ที่ทำให้ปลานิลตาย 50% ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96 h-LC_{50}) เท่ากับ 6.59×10^3 เซลล์/มล. (ตารางที่ 8) และพบด้วยว่าในระยะเวลาการทดลองที่ 48 ชั่วโมง มีค่า 48 h-LC_{50} เท่ากับ 9.70×10^3 เซลล์/มล. (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลาชนิดที่ความหนาแน่น *A. minutum* ต่างๆกัน ในเวลา 96 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cell/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	30	2	28	2	164	166	1.20
2	342	2.53	30	6	24	8	136	144	5.56
3	877	2.94	30	1	29	9	112	121	7.44
4	1404	3.15	30	7	23	16	83	99	16.17
5	2937	3.47	30	3	27	19	60	79	24.05
6	6516	3.81	30	13	17	32	33	65	49.23
7	12648	4.10	30	14	16	46	16	62	74.19

หมายเหตุ * = แสดงวิธีการคำนวณดังตัวอย่างในภาคผนวก

n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive 96 h-LC₅₀ = $\log 3.81 + \frac{50-32.79}{74.19-49.23} [4.10-3.81]$

74.19-49.23

= $\log 3.81895$

= 6590.92 เซลล์/มล.

ดังนั้น 96 h-LC₅₀ = 6.59×10^3 เซลล์/มล.

ตารางที่ 9 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลที่ความหนาแน่น *A. minutum* ต่างๆกัน ในเวลา 48 ชั่วโมง*

Treatment	Concentration (cells/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	30	1	29	1	179	180	0.56
2	342	2.53	30	5	25	6	150	156	3.85
3	877	2.94	30	0	30	6	125	131	4.58
4	1404	3.15	30	5	25	11	95	106	10.38
5	2937	3.47	30	1	29	12	70	82	14.63
6	6516	3.81	30	8	22	20	41	61	32.79
7	12648	4.10	30	11	19	31	19	50	62.00

หมายเหตุ * = แสดงวิธีการคำนวณดังตัวอย่างในภาคผนวก

n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$48 \text{ h-LC}_{50}^* = \log \frac{3.81 + \frac{50-32.79}{62-32.79}}{4.10-3.81}$$

$$= \log \frac{3.98692}{0.29}$$

$$= \log 13.7480$$

$$= 1.1373$$

$$\text{ดังนั้น } 48 \text{ h-LC}_{50} = 9.70 \times 10^3 \text{ เซลล์/มล.}$$

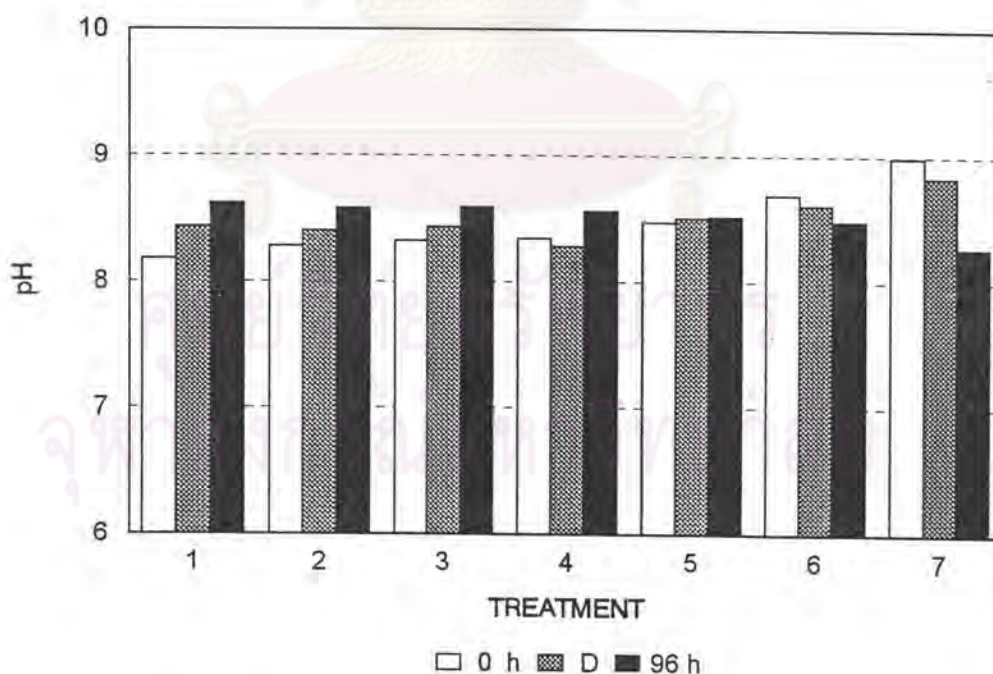
อุณหภูมิของน้ำขณะทดลอง 25 - 27 ° ซ และความเค็ม 15 ppt
ค่าปัจจัยคุณภาพน้ำอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องระหว่างการทดลอง ได้แสดงเป็นกราฟแท่ง และใช้สัญลักษณ์ในสามช่วงเวลา ดังนี้

1. 0 h = เมื่อเริ่มการทดลอง ชั่วโมงที่ 0
2. D = เมื่อสัตว์ทดลองเริ่มตาย ณ ชั่วโมงใด ๆ จากตารางที่ 6 ในภาคผนวก ก
3. 96 h = เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่วโมงที่ 96

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ระหว่างการทดลองมีค่า pH อยู่ในช่วง 8.18 - 8.99 รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่า pH มากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลองค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) pH มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 8

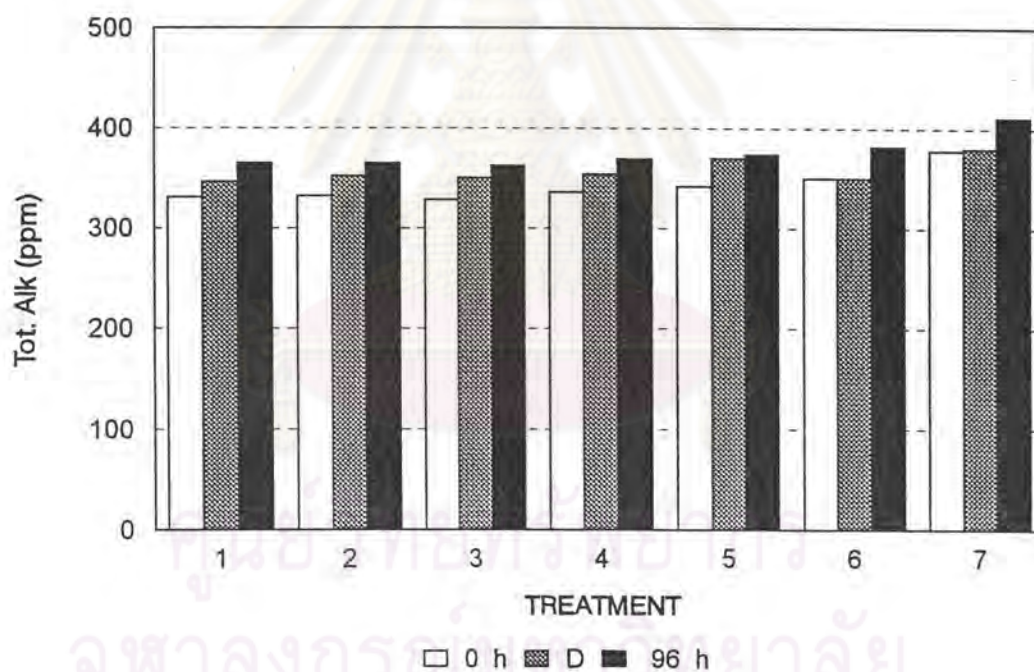


รูปที่ 8 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

ความเป็นด่างทั้งหมด (Tot. Alk)

ระหว่างการทดลองมีค่า Tot. Alk อยู่ในช่วง 328 - 411 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีแนวโน้มมากขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในทุกชุดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีแนวโน้มมากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 1-7 และมากขึ้นในทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 9

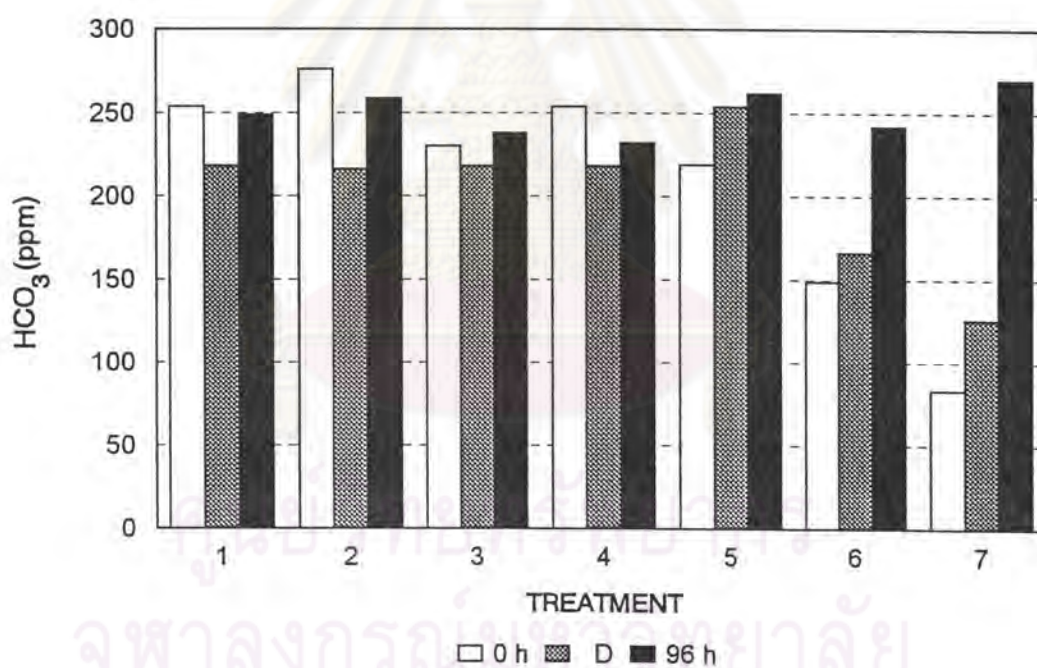


รูปที่ 9 กราฟแสดงค่าความเป็นด่างทั้งหมดแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

ไบคาร์บอเนต (HCO_3)

ระหว่างการทดลองมีค่า HCO_3 อยู่ในช่วง 83 - 276 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) ชุดการทดลองที่ 3 - 7 มีค่ามากกว่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เว้นชุดที่ 2 มีค่ามากกว่า ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เว้นชุดที่ 6 - 7 มีการเปลี่ยนแปลงมาก คือ มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) HCO_3 มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 10

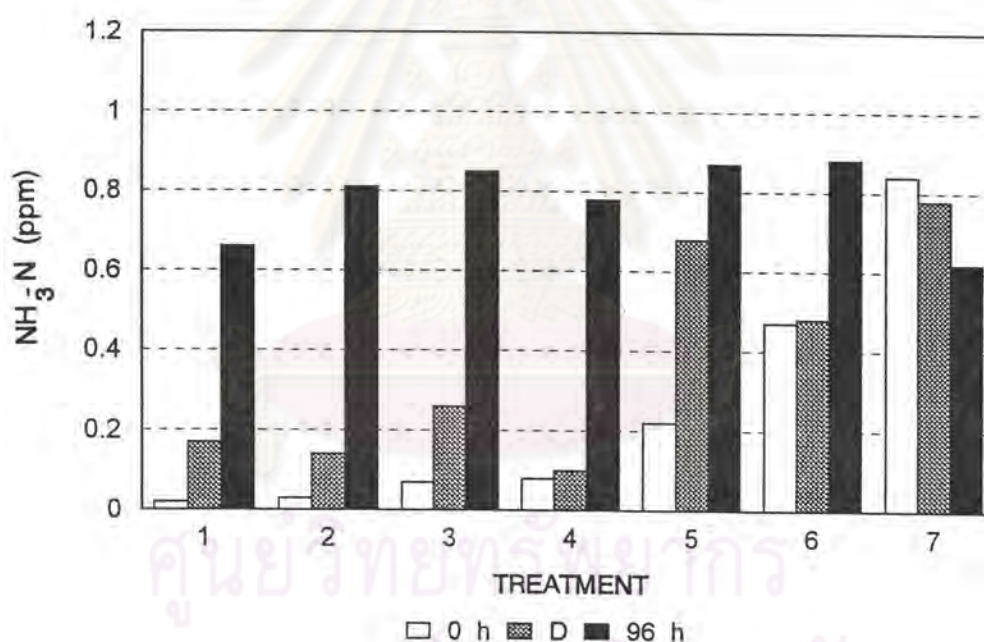


รูปที่ 10 กราฟแสดงค่าไบคาร์บอเนตแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

แอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NH_3 อยู่ในช่วง 0.02 - 0.88 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในชุดที่ 1 - 6 และ ชุดที่ 7 คือ มีค่าเพิ่มขึ้น และลดลงตามระยะเวลาการทดลอง ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมีค่าเพิ่มมากขึ้นจากค่าเริ่มต้นการทดลองในทุกชุดทดลองเว้นชุดการทดลองที่ 7 มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม และมีค่าน้อยกว่าค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 11

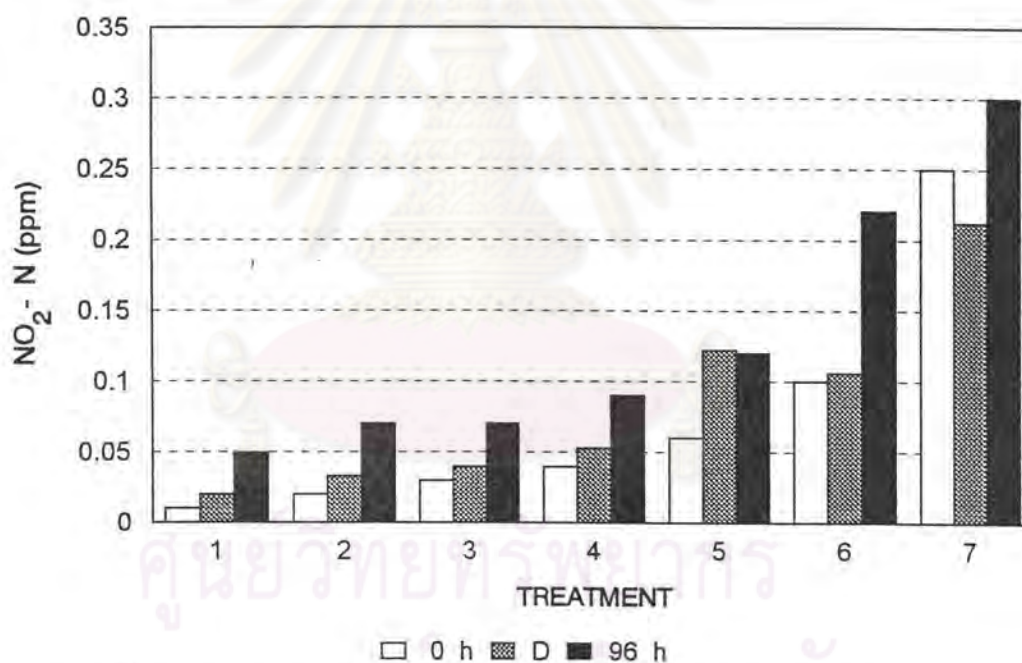


รูปที่ 11 กราฟแสดงค่าแอมโมเนียแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

ไนโตรท์ (NO₂-N)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO₂ อยู่ในช่วง 0.01 - 0.30 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมีค่าเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น ดังรูปที่ 12

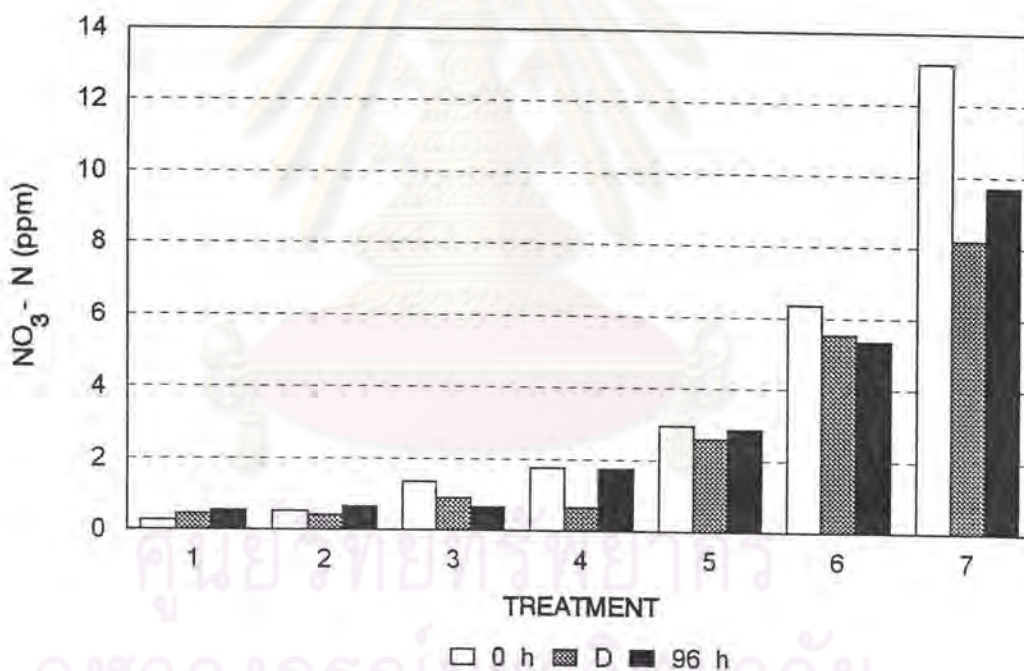


รูปที่ 12 กราฟแสดงค่าไนโตรท์แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

ไนเตรท ($\text{NO}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO_3 อยู่ในช่วง 0.28 - 13.16 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เว้นชุดที่ 7 และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดการทดลองที่ 2 เท่ากับชุดการทดลองที่ 3 และมีค่าลดลงในชุดการทดลองที่ 3 ถึง 7 และมีค่าเพิ่มขึ้นในชุดการทดลองที่ 1-2 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น ดังรูปที่ 13

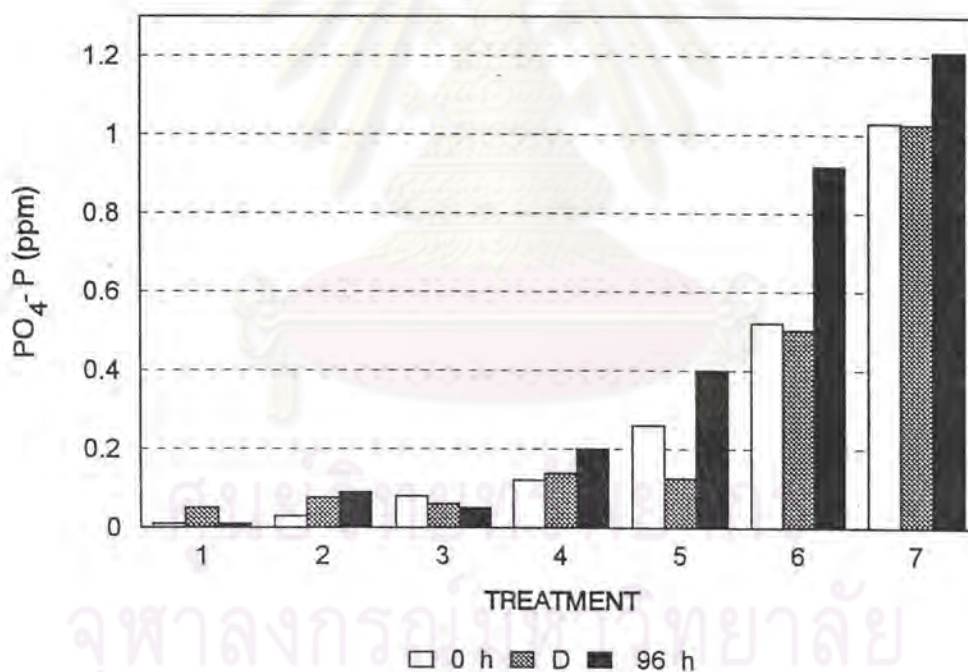


รูปที่ 13 กราฟแสดงค่าไนเตรทแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

ออร์โธฟอสเฟต ($\text{PO}_4\text{-P}$)

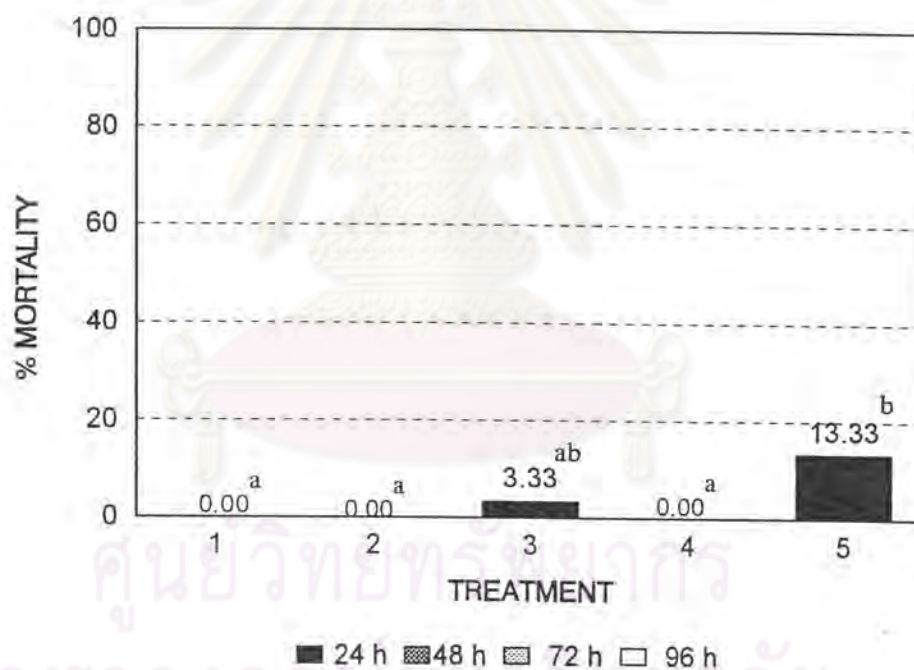
ระหว่างการทดลองมีค่า PO_4 อยู่ในช่วง 0.01 - 1.21 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 5 - 7 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ระหว่างการทดลอง โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(96 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ยกเว้นชุดการทดลองที่ 3 น้อยกว่าชุดการทดลองที่ 2 และมีค่าเพิ่มมากขึ้นทุกชุดการทดลอง ยกเว้นชุดที่ 3 เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 กราฟแสดงค่าออร์โธฟอสเฟตแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 1.1

การทดลองที่ 1.2 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* ต่อการตายของปลานิล ปลานิลเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 6 ในชุดที่ 5 ที่มีความหนาแน่นเซลล์ 1.70×10^4 เซลล์/มล. ดังแสดงในตารางที่ 3 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 3-5) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 13.33% ในชุดการทดลองที่ 5 และต่ำสุดที่ 3.33% ในชุดการทดลองที่ 3 ที่มีสารสกัดจากเซลล์ 4.25×10^7 เซลล์ตามลำดับ ขณะที่ชุดควบคุม (ชุดที่ 1 และ 2) และชุดที่ 4 ที่มีสารละลายที่ปราศจากเซลล์ ไม่มีการตายของปลา ดังรูปที่ 15



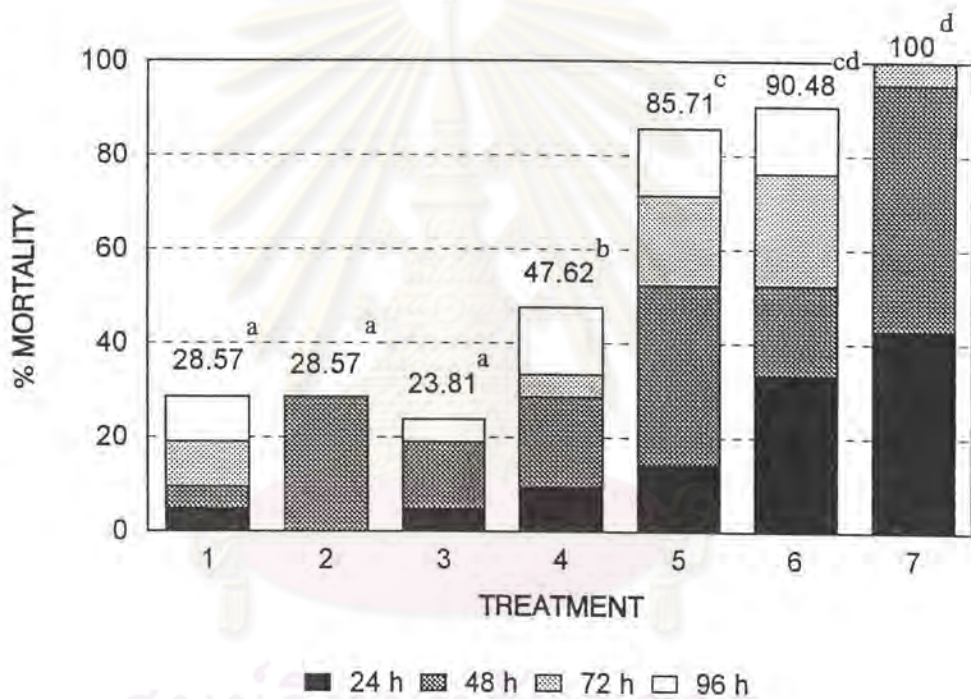
รูปที่ 15 กราฟแสดงผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 1.2)

ค่า superscript ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 2 ผลของ *A. minutum* ต่อกิ้งกูดาคำ

การทดลองที่ 2.1 ผลของความหนาแน่น *A. minutum* ต่อการตายของกิ้งกูดาคำ

กิ้งกูดาคำเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 6 ในชุดที่ 6 และ 7 ที่ความหนาแน่นเซลล์ 6.76×10^3 และ 1.51×10^4 เซลล์/มล. ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 2-7) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 100.00% ในชุดที่ 7 และต่ำสุดที่ 23.81% ในชุดที่ 3 ตามลำดับ ขณะที่ชุดที่ 1 (ชุดควบคุม) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสม 28.57% ดังรูปที่ 16



รูปที่ 16 กราฟแสดงผลของความหนาแน่นของ *A. minutum* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของกิ้งกูดาคำ ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 2.1)

ค่า superscript ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าความหนาแน่นของ *A. minutum* ที่ทำให้กิ้งกูดาคำตาย 50% ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96 h - LC_{50}) เท่ากับ 1.09×10^3 เซลล์/มล. (ตารางที่ 10) และพบด้วยว่าในระยะเวลาการทดลองที่ 48 ชั่วโมง (48 hr- Lc_{50}) มีค่าเท่ากับ 2.76×10^3 เซลล์/มล. (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกิ้งกูดาค่าที่ความหนาแน่น *A. minutum* ต่างๆกัน ในเวลา 96 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cell/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0 (control)	0	21	6	15	6	62	68	8.82
2	378	2.58	21	6	15	12	47	59	20.34
3	762	2.88	21	5	16	17	32	49	34.69
4	1476	3.17	21	10	11	27	16	43	62.79
5	3696	3.57	21	18	3	45	5	50	90.00
6	6759	3.83	21	19	2	64	2	66	96.97
7	15099	4.18	21	21	0	85	0	85	100.00

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$96 \text{ h-LC}_{50} = \log 2.88 + \frac{50-34.69}{62.79-34.69} [3.17-2.88]$$

$$= \log 3.03800$$

$$= 1091.45$$

$$= 1091.45$$

ดังนั้น $96 \text{ h-LC}_{50} = 1.09 \times 10^3$ เซลล์/มล.

ตารางที่ 11 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกิ้งกูดาค่าที่ความหนาแน่น *A. minutum* ต่างๆกัน ในเวลา 48 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cells/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	21	2	19	2	87	89	2.25
2	378	2.58	21	6	15	8	68	76	10.53
3	762	2.88	21	4	17	12	53	65	18.46
4	1476	3.17	21	6	15	18	36	54	33.33
5	3696	3.57	21	11	10	29	21	50	58.00
6	6759	3.83	21	11	10	40	11	51	78.43
7	15099	4.18	21	20	1	60	1	61	98.36

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$48 \text{ h-LC}_{50} = \log 3.17 + \frac{50-33.33}{58-33.33} [3.57-3.17]$$

$$= \log 3.44$$

$$= 2756.05$$

$$= 2756.05$$

ดังนั้น $48 \text{ h-LC}_{50} = 2.76 \times 10^3$ เซลล์/มล.

อุณหภูมิของน้ำขณะทดลอง 25 - 27 ° ซ และความเค็ม 15 ppt

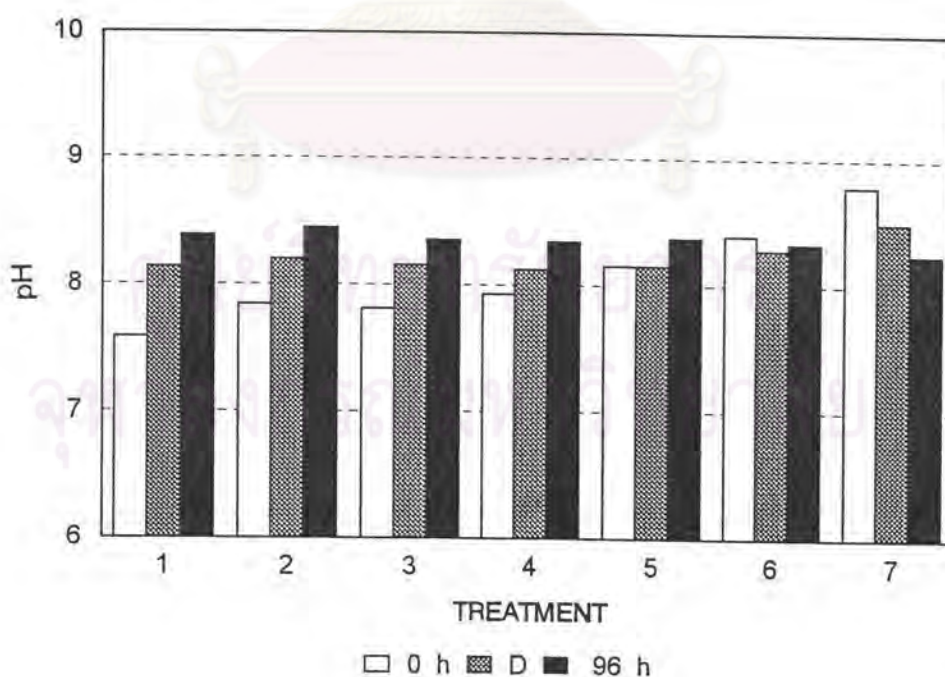
ค่าปัจจัยคุณภาพน้ำอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องระหว่างการศึกษาทดลอง ได้แสดงเป็นกราฟแท่ง และใช้สัญลักษณ์ในสามช่วงเวลา ดังนี้

1. 0 h = เมื่อเริ่มการทดลอง ชั่วโมงที่ 0
2. D = เมื่อสัตว์ทดลองเริ่มตาย ณ ชั่วโมงใด ๆ จากตารางที่ 13 ในภาคผนวก ก
3. 96 h = เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่วโมงที่ 96

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ระหว่างการทดลองมีค่า pH อยู่ในช่วง 7.58 - 8.79 รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่า pH มากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลองค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง โดยชุดที่ 1 - 5 มีค่าเพิ่มขึ้น และชุดที่ 6 - 7 มีค่าลดลง เมื่อเทียบกับค่าเมื่อเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 17

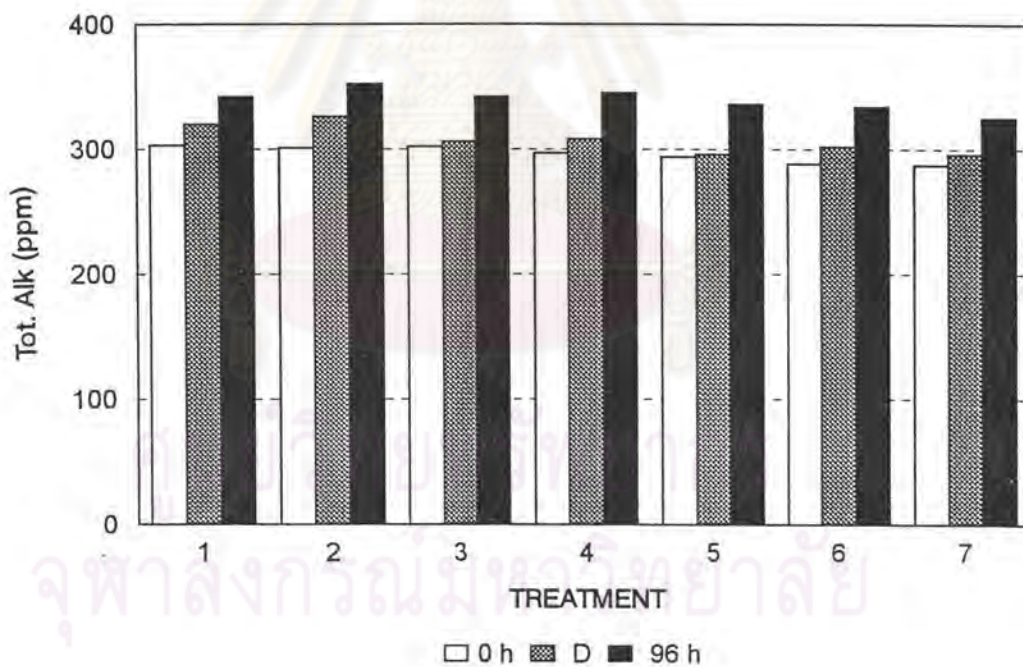


รูปที่ 17 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

ความเป็นด่างทั้งหมด (Tot. Alk)

ระหว่างการทดลองมีค่า Tot. Alk อยู่ในช่วง 287 - 352 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีแนวโน้มมีค่าน้อยลงเล็กน้อยตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง ทุกชุดการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีการเปลี่ยนแปลงให้มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจากเมื่อเริ่มการทดลองในทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 18

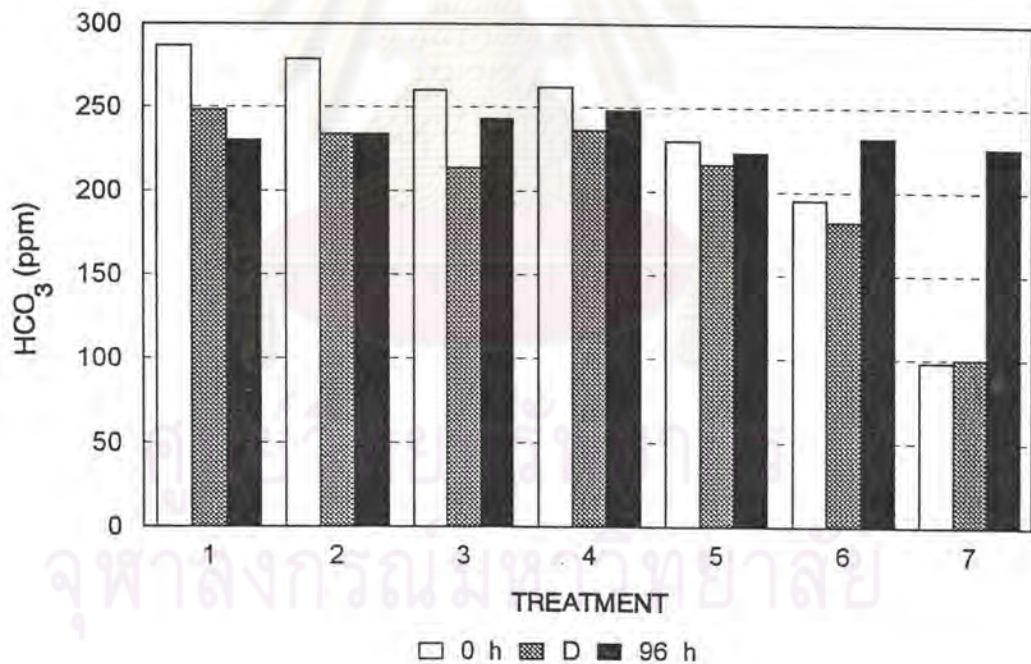


รูปที่ 18 กราฟแสดงค่าความเป็นด่างทั้งหมด แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

ไบคาร์บอเนต (HCO_3)

ระหว่างการทดลองมีค่า HCO_3 อยู่ในช่วง 98 - 287 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าน้อยลงตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เว้นชุดที่ 7 โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ค่า HCO_3 มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 19

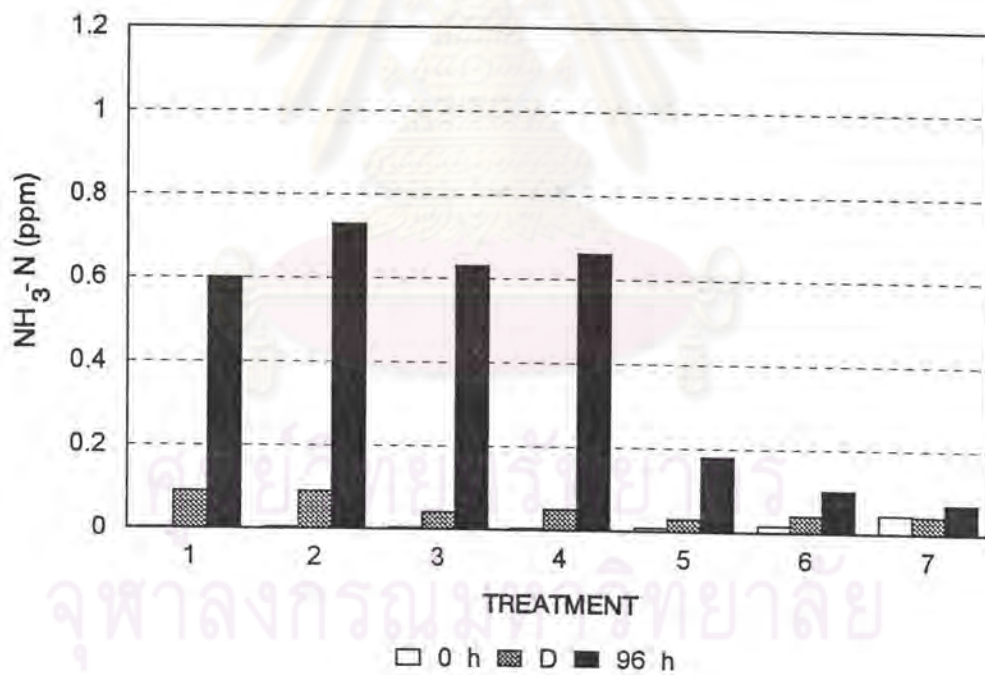


รูปที่ 19 กราฟแสดงค่าไบคาร์บอเนต แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

แอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NH_3 อยู่ในช่วง 0.002 - 0.73 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุมโดยชุดการทดลองที่ 2 ถึง 4 มีค่าเท่ากัน ระหว่างการทดลอง ทุกชุดการทดลอง มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าแตกต่างกัน โดยชุดการทดลองที่ 2 ถึง 4 มีค่ามากกว่าชุดควบคุม ขณะที่ชุดการทดลองที่ 5 ถึง 7 มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม แต่ทุกชุดการทดลองมีค่ามากขึ้นเมื่อเทียบกับเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 20

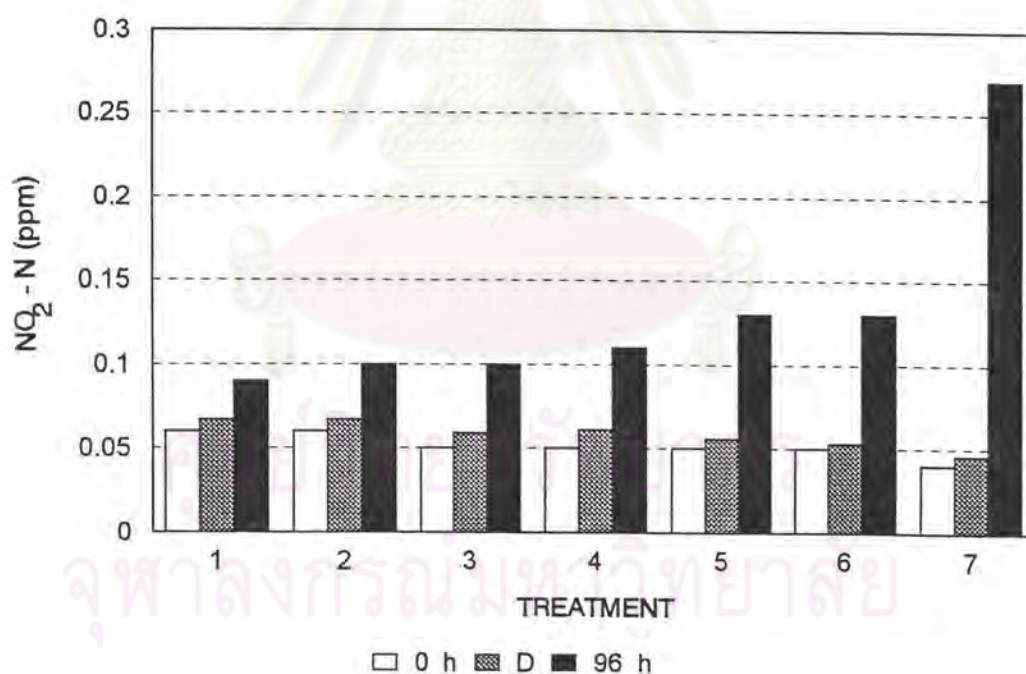


รูปที่ 20 กราฟแสดงค่าแอมโมเนีย แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

ไนโตรท์ (NO₂-N)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO₂ อยู่ในช่วง 0.04 - 0.27 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าน้อยลงเล็กน้อยตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดการทดลองที่ 2 เท่ากับชุดควบคุม และชุดการทดลองที่ 3 ถึง 6 มีค่าเท่ากัน ระหว่างการทดลอง ทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเพิ่มมากขึ้นในทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 21



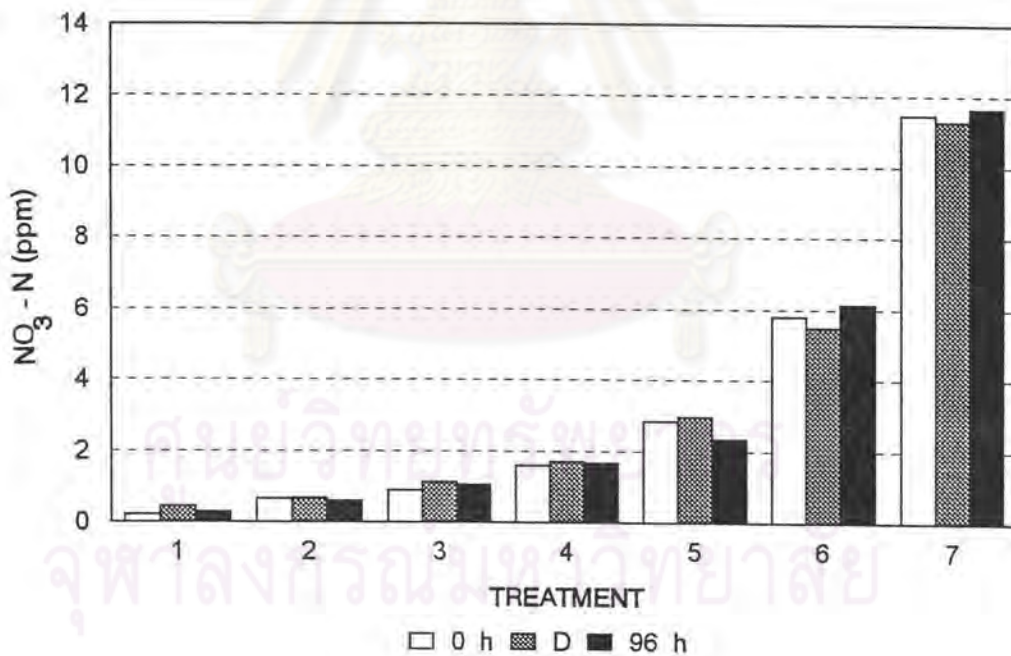
รูปที่ 21 กราฟแสดงค่าไนโตรท์ แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

ไนเตรท ($\text{NO}_3^- \text{ N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO_3^- อยู่ในช่วง 0.22 - 11.65 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดการทดลองที่ 1-5 มีค่าลดลงเล็กน้อย และชุดการทดลองที่ 6-7 มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่

22

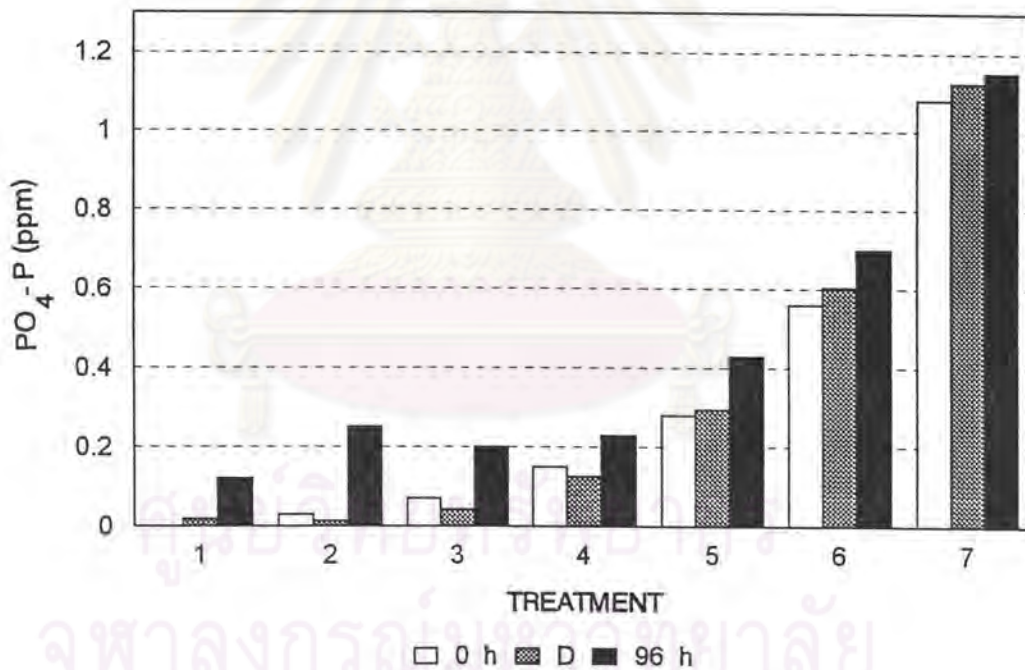


รูปที่ 22 กราฟแสดงค่าไนเตรท แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

ออร์โธฟอสเฟต ($\text{PO}_4\text{-P}$)

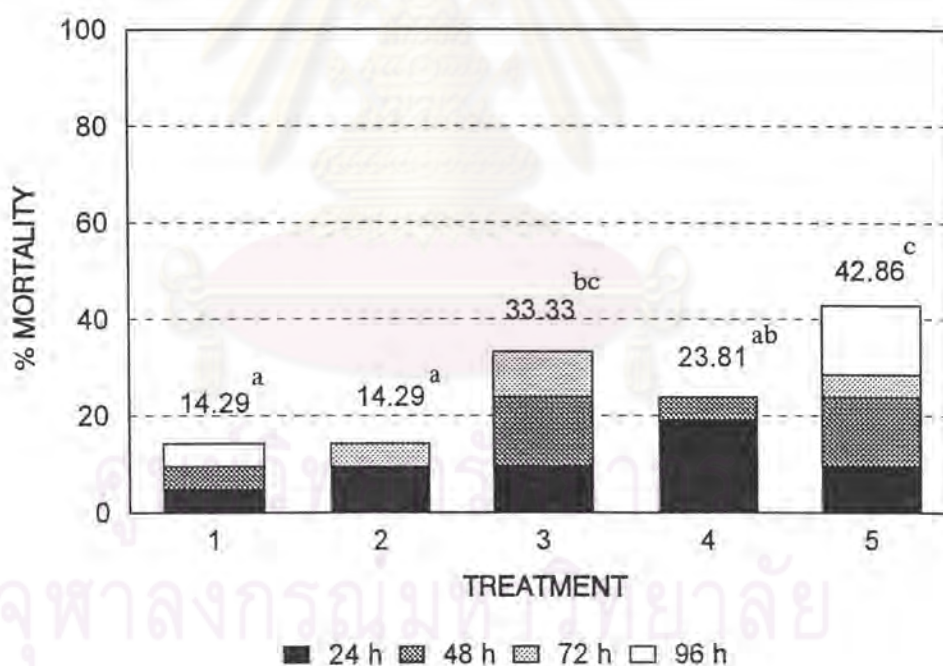
ระหว่างการทดลองมีค่า PO_4 อยู่ในช่วง 0.00 - 1.15 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 12 - 14 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดการทดลองที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และมีค่าเพิ่มมากขึ้นทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 23



รูปที่ 23 กราฟแสดงค่าออร์โธฟอสเฟต แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 2.1

การทดลองที่ 2.2 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* ต่อการตายของกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 6 ในชุดการทดลองที่ 3 และ 5 ที่มีสารสกัดจาก เซลล์จำนวน 4.45×10^5 เซลล์ และมีความหนาแน่นเซลล์ที่ 1.56×10^3 เซลล์/มล. ตามลำดับ ดังแสดง ในตารางที่ 10 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 3-5) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสม สูงสุด 42.86% ในชุดการทดลองที่ 5 และต่ำสุดที่ 23.81% ในชุดการทดลองที่ 4 ซึ่งเป็นสารละลาย ที่ปราศจากเซลล์ ขณะที่ชุดควบคุม (ชุดที่ 1 และ 2) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมเท่ากันที่ 14.29% ดังรูปที่ 24



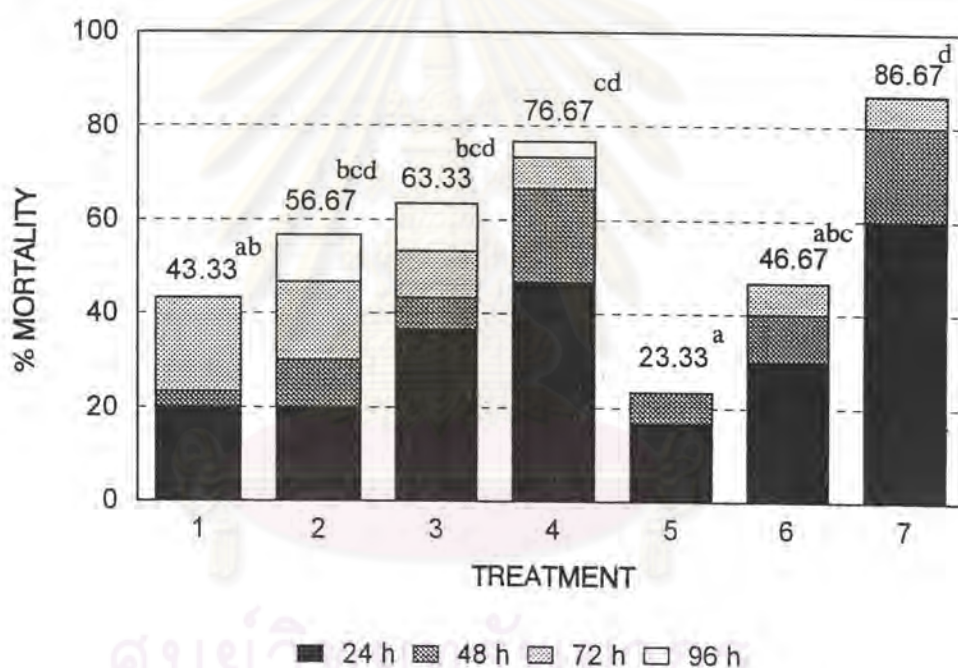
รูปที่ 24 กราฟแสดงผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. minutum* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 2.2)

ค่า superscript ที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 3 ผลของ *A. cohorticula* ต่อปลานิล

การทดลองที่ 3.1 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อการตายของปลานิล

ปลานิลเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 2 ในทุกชุดการทดลอง ซึ่งมีความหนาแน่นของเซลล์ต่างๆ กันตั้งแต่ 81 เซลล์/มล. ถึง 2.40×10^3 เซลล์/มล. ยกเว้นชุดควบคุม ดังตารางที่ 15 ในภาคผนวก ก เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 2-7) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 86.67% ในชุดที่ 7 ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์ 2.40×10^3 เซลล์/มล. และต่ำสุดที่ 23.33% ในชุดที่ 5 ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์ 5.28×10^2 เซลล์/มล. ขณะที่ชุดที่ 1 (ชุดควบคุม) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสม 43.33% ดังรูปที่ 25



รูปที่ 25 กราฟแสดงผลของความหนาแน่นของ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 3.1)

ค่า superscript ที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าความหนาแน่นของ *A. cohorticula* ที่ทำให้ปลานิลตาย 50% ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96 h-LC_{50}) เท่ากับ 1.39×10^2 เซลล์/มล. (ตารางที่ 12) และพบด้วยว่าในระยะเวลาการทดลองที่ 48 ชั่วโมง มีค่า 48 h-LC_{50} เท่ากับ 3.87×10^2 เซลล์/มล. (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 12 แสดงการหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลที่ความหนาแน่น *A. cohorlicula* ต่างๆกัน ในเวลา 96 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cells/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	30	13	17	13	81	94	13.83
2	81	1.91	30	17	13	30	64	94	31.91
3	135	2.13	30	19	11	49	51	100	49.00
4	222	2.35	30	23	7	72	40	112	64.29
5	582	2.76	30	7	13	79	33	112	70.54
6	1305	3.12	30	14	16	93	20	113	82.30
7	2397	3.38	30	26	4	119	4	123	96.75

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$96 \text{ h-LC}_{50} = \log 2.13 + \frac{50-49.00}{64.29-49.00} (2.35-2.13)$$

$$= \log 2.14439$$

$$= 139.44$$

ดังนั้น $96 \text{ h-LC}_{50} = 1.39 \times 10^2$ เซลล์/มล.

ตารางที่ 13 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลานิลที่ความหนาแน่น *A. cohorricula* ต่างๆกัน ในเวลา 48 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cells/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	30	5	25	5	120	125	4
2	81	1.91	30	9	21	14	95	109	12.84
3	135	2.13	30	13	17	27	74	101	26.73
4	222	2.35	30	20	10	47	57	104	45.19
5	582	2.76	30	7	23	54	47	101	53.47
6	1305	3.12	30	12	18	66	24	90	73.33
7	2397	3.38	30	24	6	90	6	96	93.75

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$48 \text{ h-LC}_{50} = \log \frac{2.35 + \frac{50-45.19}{53.47-45.19}}{(2.76-2.35)}$$

$$= \log 2.588176$$

$$= 3.87.41$$

ดังนั้น $48 \text{ hr-LC}_{50} = 3.87 \times 10^2$ เซลล์/มล.

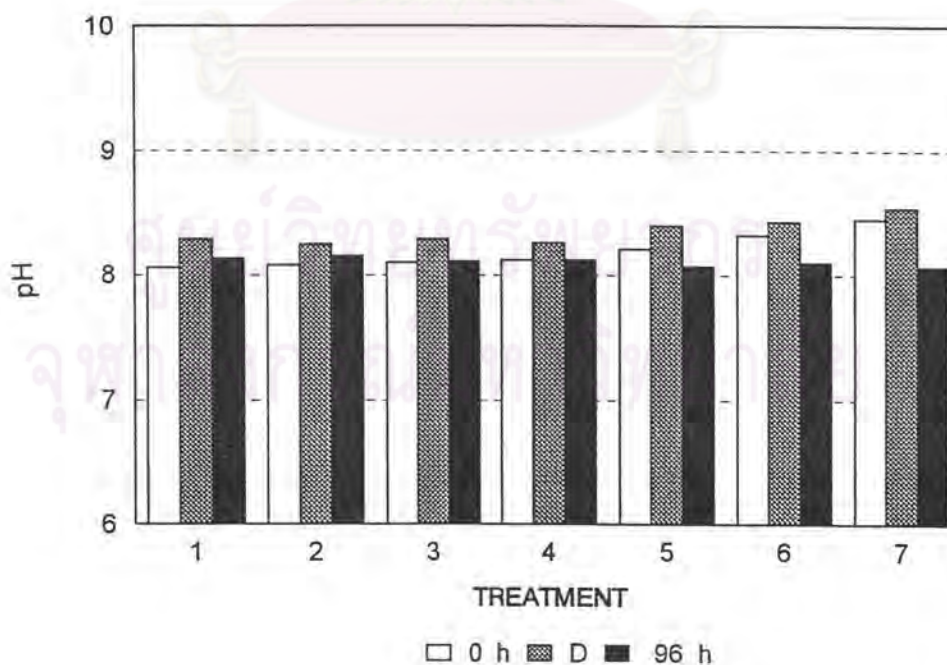
อุณหภูมิของน้ำขณะทดลอง 25 - 27 °ซ และความเค็ม 30 ppt
ค่าปัจจัยคุณภาพน้ำอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องระหว่างการทดลอง ได้แสดงเป็นกราฟแท่ง และ
ใช้สัญลักษณ์ในสามช่วงเวลา ดังนี้

1. 0 h = เมื่อเริ่มการทดลอง ชั่วโมงที่ 0
2. D = เมื่อสัตว์ทดลองเริ่มตาย ณ ชั่วโมงใด ๆ จากตารางที่ 20 ในภาคผนวก ก
3. 96 h = เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่วโมงที่ 96

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ระหว่างการทดลองมีค่า pH อยู่ในช่วง 8.56 - 8.54 รายละเอียดดังตารางที่ 19-21 ใน
ภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่า pH มากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม
ระหว่างการทดลองค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีการ
เปลี่ยนแปลงให้มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 26

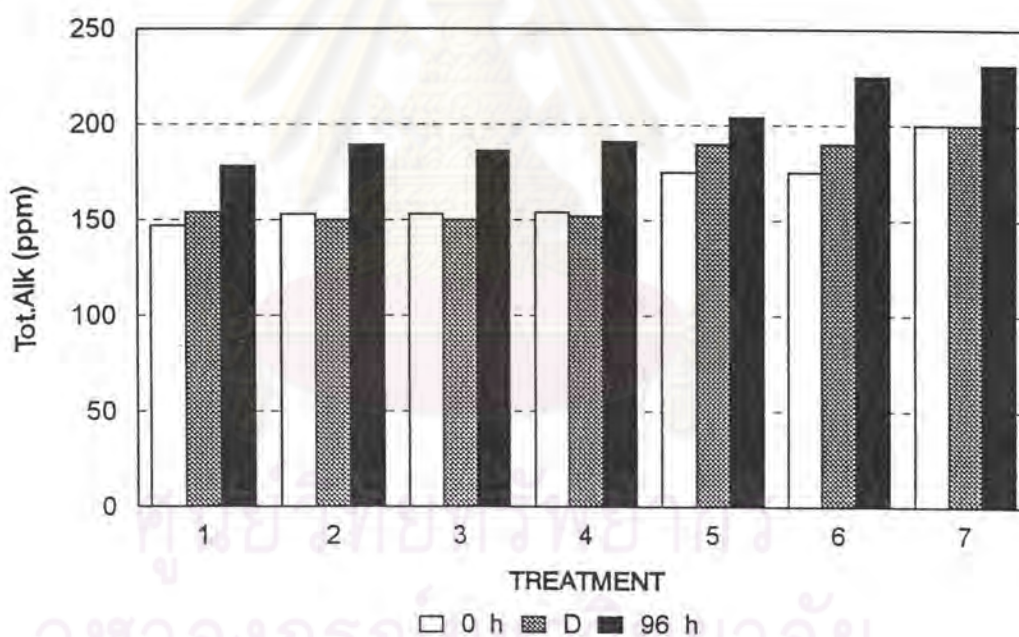


รูปที่ 26 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่างแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

ความเป็นด่างทั้งหมด (Tot. Alk)

ระหว่างการทดลองมีค่า Tot. Alk อยู่ในช่วง 147 - 231 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 19 - 21 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดที่ 2 เท่ากับชุดที่ 3 และชุดที่ 5 เท่ากับชุดที่ 6 ระหว่างการทดลอง ทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 27

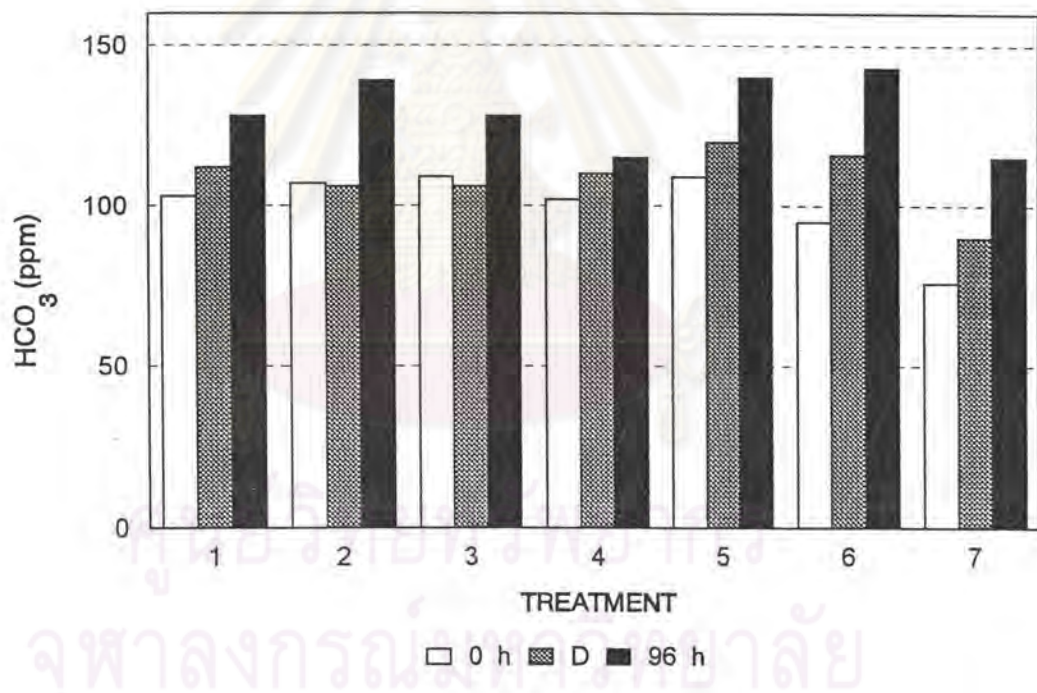


รูปที่ 27 กราฟแสดงค่าความเป็นด่างทั้งหมดแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

ไบคาร์บอเนต (HCO_3)

ระหว่างการทดลองมีค่า HCO_3 อยู่ในช่วง 76-143 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 19 - 21 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) ชุดที่ 2, 3 และ 5 มีค่ามากกว่า และชุดที่ 4, 6 และ 7 มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) HCO_3 ชุดที่ 2, 5 และ 6 มีค่าน้อยกว่า และชุดที่ 3 มีค่าเท่ากันเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 28

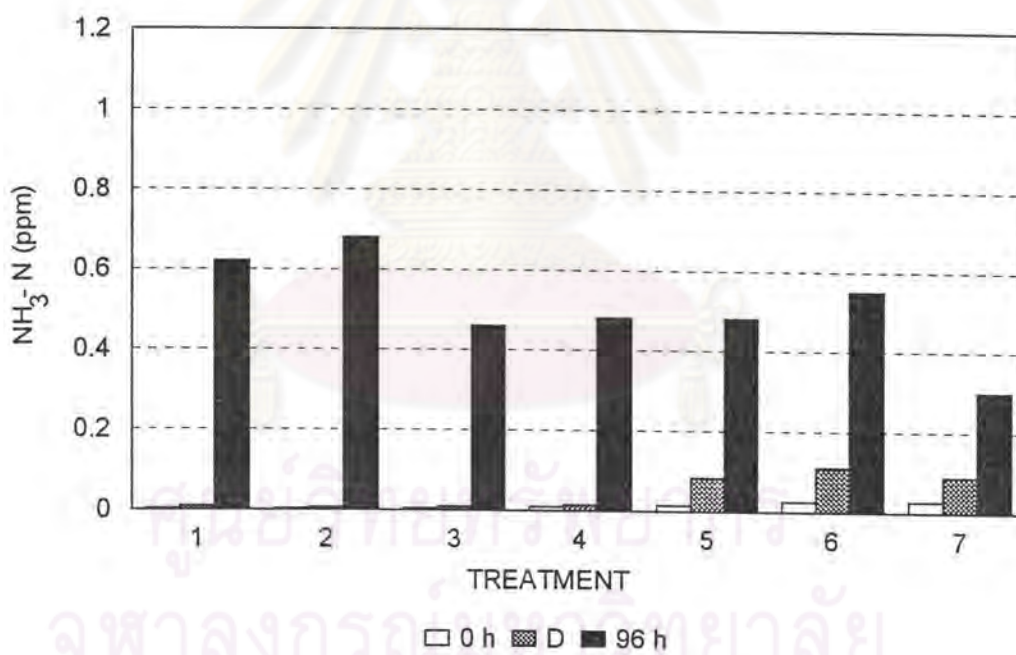


รูปที่ 28 กราฟแสดงค่าไบคาร์บอเนตแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

แอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NH_3 อยู่ในช่วง 0.004 - 0.68 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 19 - 21 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยชุดที่ 2 เท่ากับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง ทุกชุดการทดลองมีค่า มี NH_3 เพิ่มขึ้น เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) ทุกชุดการทดลอง มีค่าน้อยกว่า เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เว้นชุดที่ 2 และทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 29

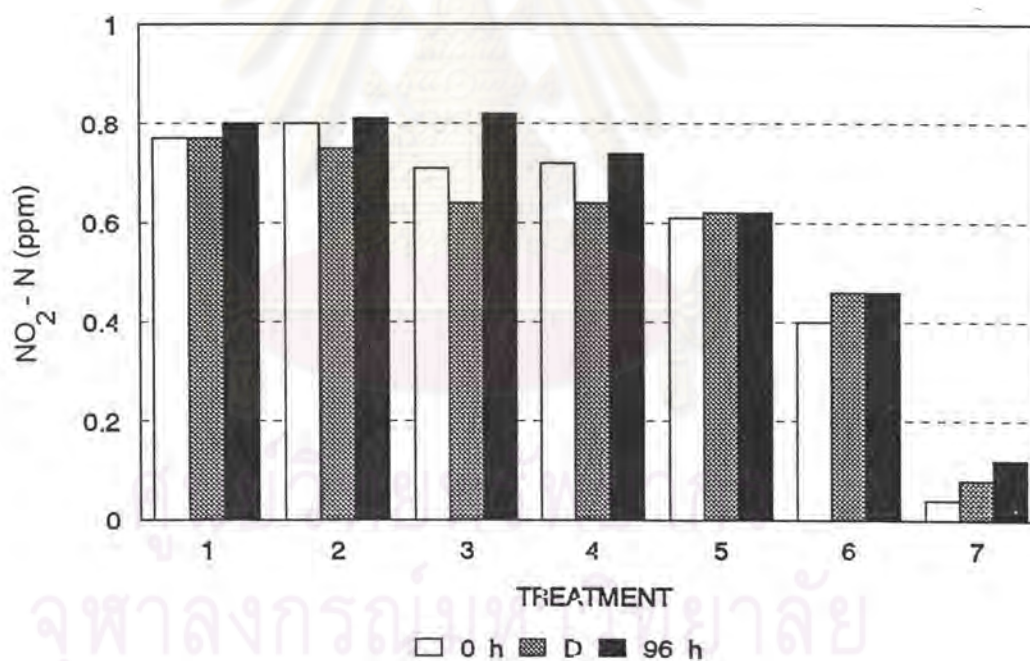


รูปที่ 29 กราฟแสดงค่าแอมโมเนียแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

ไนโตรท์ (NO₂-N)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO₂ อยู่ในช่วง 0.04-0.82 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 19 - 21 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าน้อยกว่าในชุดการทดลอง เว้นชุดที่ 2 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) ชุดที่ 2 และ 3 มีค่ามากกว่าเล็กน้อย และชุดที่ 4 - 7 มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 30

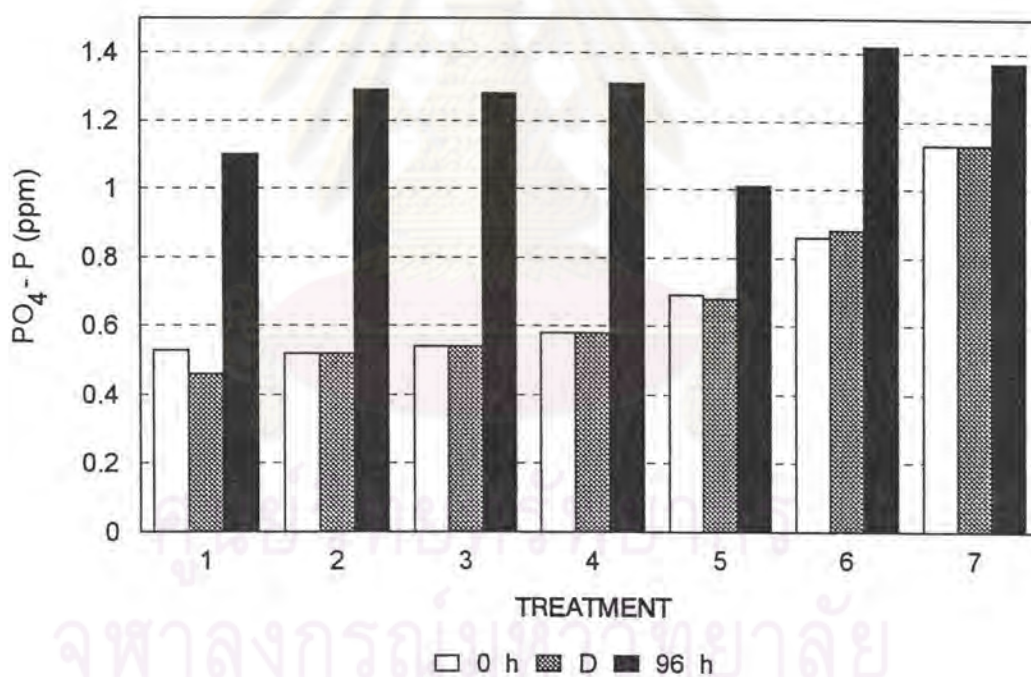


รูปที่ 30 กราฟแสดงค่าไนโตรท์แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

ออร์โธฟอสเฟต ($\text{PO}_4\text{-P}$)

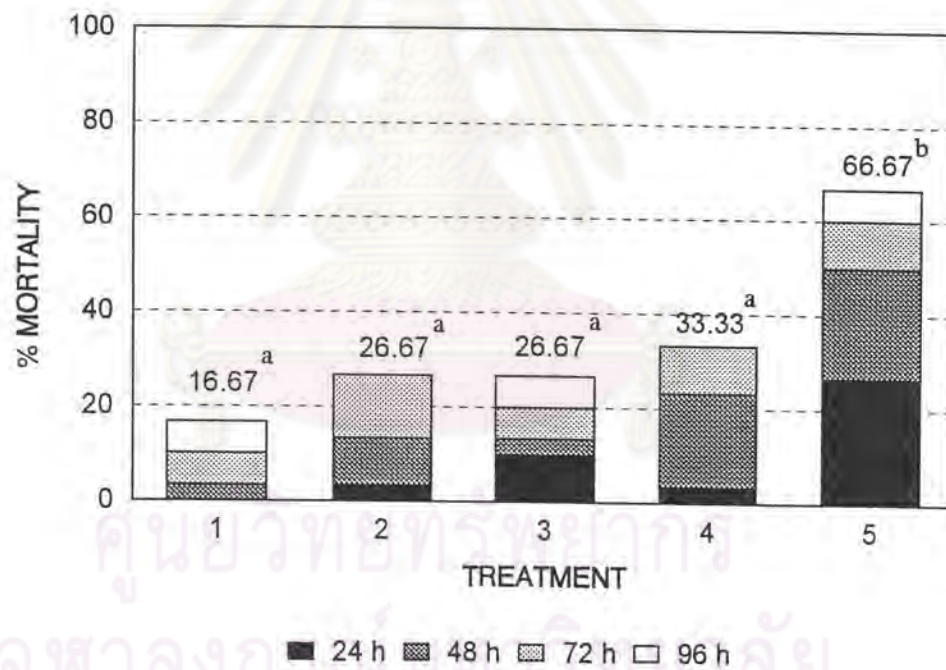
ระหว่างการทดลองมีค่า PO_4 อยู่ในช่วง 0.52 - 1.42 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 19 - 21 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ช่วงปลานิลเริ่มตาย มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง(96 ชั่วโมง) มีค่ามากกว่าทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เว้นชุดการทดลองที่ 5 และทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 31



รูปที่ 31 กราฟแสดงค่าออร์โธฟอสเฟตแต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 3.1

การทดลองที่ 3.2 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อการตายของปลานิล ปลานิลเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 4 ในชุดการทดลองที่ 5 ที่มีความหนาแน่นเซลล์ 5.5×10^3 เซลล์/มล. คังตารางที่ 17 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 3-5) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 66.67% ในชุดที่ 5 และต่ำสุดที่ 26.67% ในชุดที่ 3 ซึ่งมีสารสกัดจากจำนวนเซลล์ 1.40×10^7 เซลล์ ขณะที่ชุดควบคุมที่ 1 และชุดควบคุมที่ 2 มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมเท่ากับ 16.67% และ 26.67% ตามลำดับ ดังรูปที่ 32

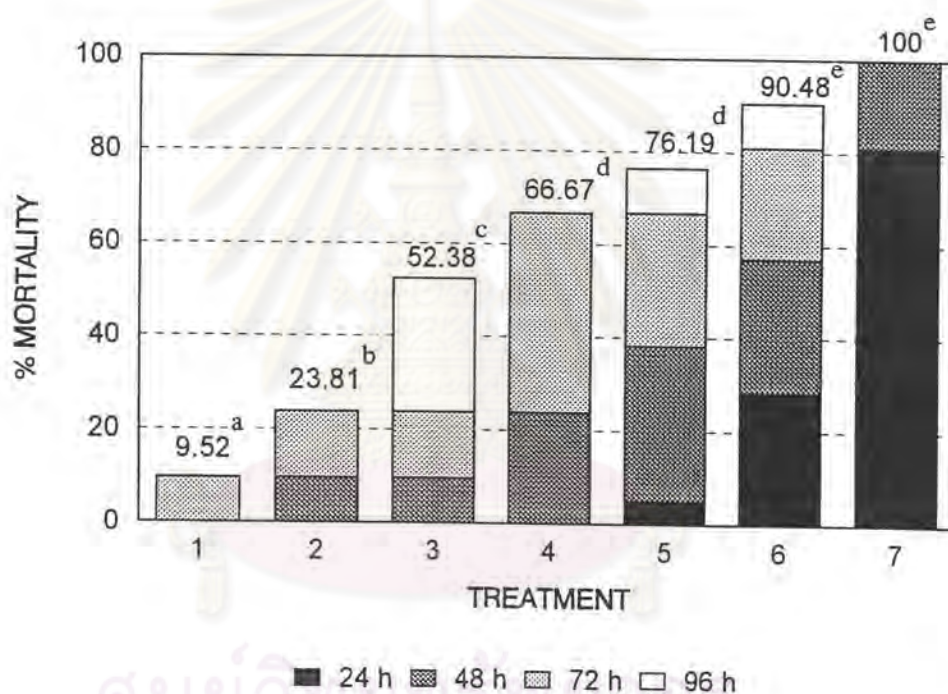


รูปที่ 32 กราฟแสดงผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของปลานิล ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 3.2)

ค่า superscript ที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การทดลองที่ 4 ผลของ *A. cohorticula* ต่อกุ้งกุลาดำ

การทดลองที่ 4.1 ผลของความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่อการตายของกุ้งกุลาดำ
 กุ้งกุลาดำเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 6 ในชุดที่ 7 ที่ความหนาแน่นเซลล์ 5.54×10^3 เซลล์/มล. ดังตารางที่ 22 ในภาคผนวก ก ที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง (ชุดที่ 2-7) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 100.00% ในชุดที่ 7 และต่ำสุดที่ 23.81% ในชุดที่ 2 ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์ 1.73×10^2 เซลล์/มล. ขณะที่ชุดที่ 1(ชุดควบคุม)มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสม 9.52% ดังรูปที่ 33



รูปที่ 33 กราฟแสดงผลของความหนาแน่นของ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำ ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 4.1)

ค่า superscript ที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าความหนาแน่นของ *A. cohorticula* ที่ทำให้กุ้งกุลาดำตาย 50% ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96 h - LC_{50}) เท่ากับ 4.17×10^2 เซลล์/มล. (ตารางที่ 14) และพบด้วยว่าในระยะเวลาการทดลองที่ 48 ชั่วโมง (48 hr- LC_{50}) มีค่าเท่ากับ 1.58×10^3 เซลล์/มล. (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกิ้งก่าดำที่ความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่างๆกัน ในเวลา 96 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cell/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	21	2	19	2	59	61	3.28
2	173	2.24	21	5	16	7	40	47	14.89
3	346	2.54	21	11	10	18	24	42	42.86
4	693	2.84	21	14	7	32	14	46	69.57
5	1385	3.14	21	16	5	48	7	55	87.27
6	2770	3.44	21	19	2	67	2	69	97.10
7	5540	3.74	21	21	0	88	0	88	100.00

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$96 \text{ h-LC}_{50} = \log 2.54 + \frac{50-42.86}{69.57-42.86} (2.84-2.54)$$

$$= \log 2.62019$$

$$= 417.05$$

ดังนั้น $96 \text{ h-LC}_{50} = 4.17 \times 10^2$ เซลล์/มล.

ตารางที่ 15 การหาค่าเปอร์เซ็นต์การตายสะสมของกิ้งกูดดำที่ความหนาแน่น *A. cohorticula* ต่างๆกัน ในเวลา 48 ชั่วโมง

Treatment	Concentration (cell/ml)	Log dose	n	Number dead	Number alive	Accumulated dead	Accumulated alive	Total	Cumulative % mortality
1	0	0	21	0	21	0	97	97	0
2	173	2.24	21	2	19	2	76	78	2.56
3	346	2.54	21	2	19	4	57	61	6.56
4	693	2.84	21	5	16	9	38	47	19.15
5	1385	3.14	21	8	13	17	22	39	43.59
6	2770	3.44	21	12	9	29	9	38	76.32
7	5540	3.74	21	21	0	50	0	50	100.00

หมายเหตุ n = จำนวนสัตว์ทดลองในแต่ละชุดการทดลอง

total = accumulated dead + accumulated alive

$$48 \text{ h-LC}_{50} = \log 3.14 + \frac{50-43.59}{76.32-43.59} (3.44-3.14)$$

$$= \log 3.19876$$

$$= 1580.38$$

ดังนั้น $48 \text{ h-LC}_{50} = 1.58 \times 10^3$ เซลล์/มล.

อุณหภูมิของน้ำขณะทดลอง 25 - 27 ° ซ และความเค็ม 30 ppt

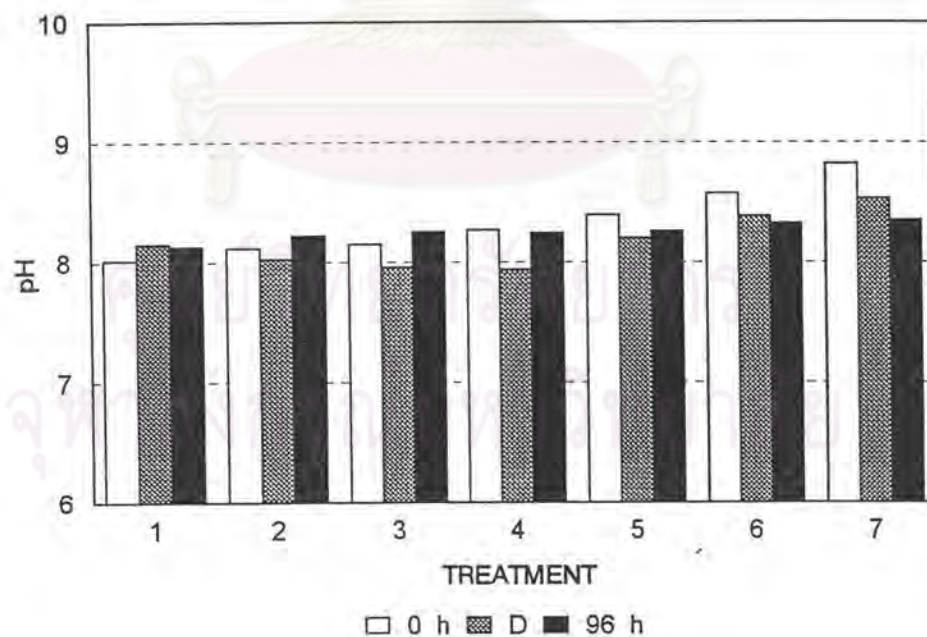
ค่าปัจจัยคุณภาพน้ำอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องระหว่างการทดลอง ได้แสดงเป็นกราฟแท่ง และใช้สัญลักษณ์ในสามช่วงเวลา ดังนี้

1. 0 h = เมื่อเริ่มการทดลอง ชั่วโมงที่ 0
2. D = เมื่อสัตว์ทดลองเริ่มตาย ณ ชั่วโมงใด ๆ จากตารางที่ 27 ในภาคผนวก ก
3. 96 h = เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ชั่วโมงที่ 96

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

ระหว่างการทดลองมีค่า pH อยู่ในช่วง 7.94 - 8.82 รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่า pH มากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลองค่า pH เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าใกล้เคียงกันทุกชุดการทดลอง ดังรูปที่ 34

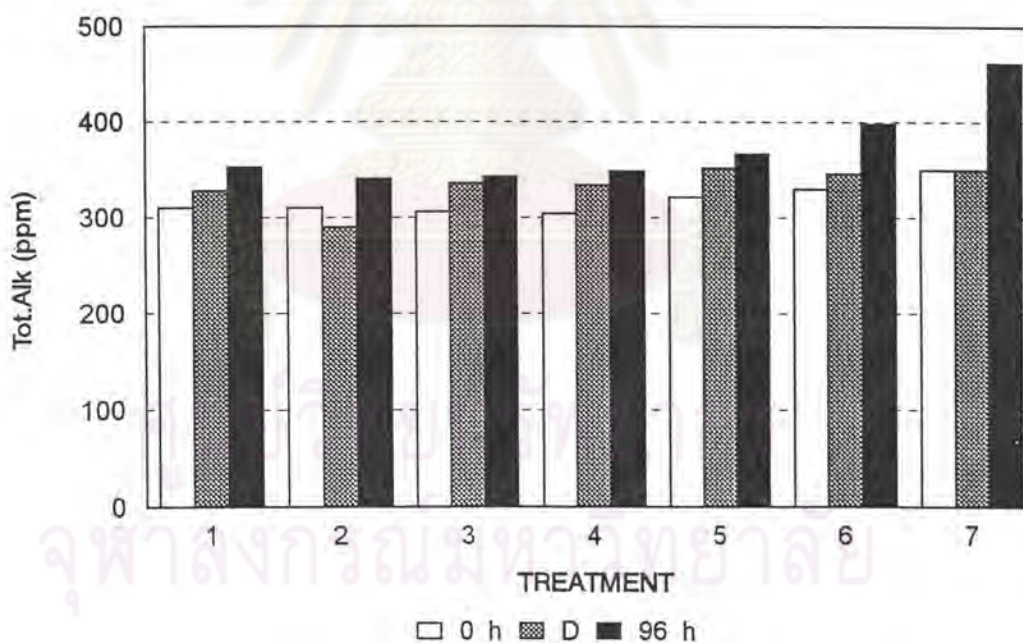


รูปที่ 34 กราฟแสดงค่าความเป็นกรด-ด่าง แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

ความเป็นด่างทั้งหมด (Tot. Alk)

ระหว่างการทดลองมีค่า Tot. Alk อยู่ในช่วง 290 - 462 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าชุดที่ 2 มีค่าเท่ากับ ชุดที่ 3 - 4 มีค่าน้อยกว่า และชุดที่ 5 - 7 มีค่ามากกว่า ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) ชุดที่ 2 - 3 มีค่าน้อยกว่า และชุดที่ 5 - 7 มีค่ามากกว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม และทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 35

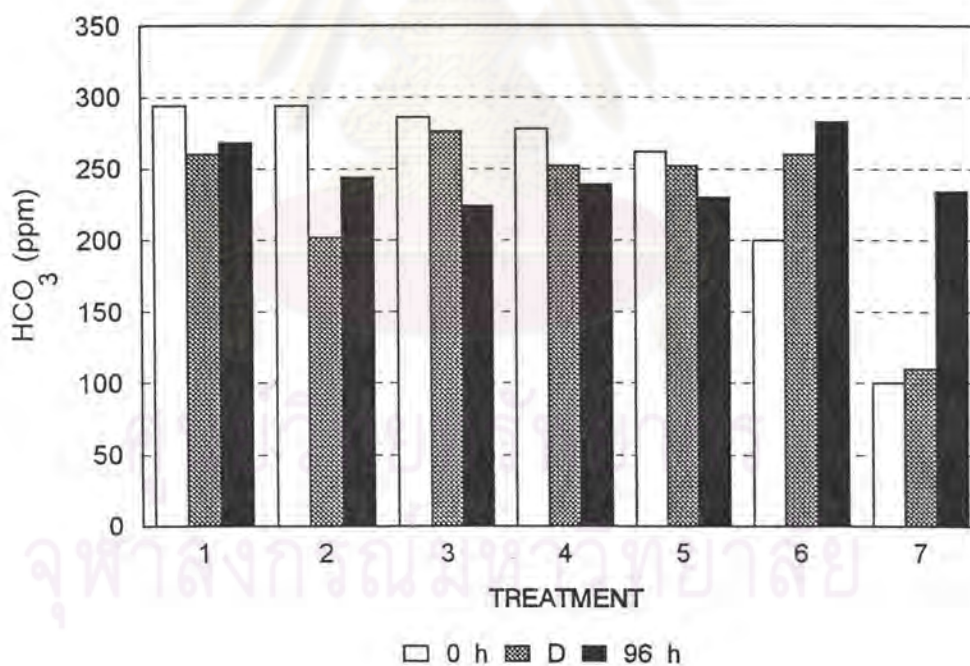


รูปที่ 35 กราฟแสดงค่าความเป็นด่างทั้งหมด แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

ไบคาร์บอเนต (HCO_3)

ระหว่างการทดลองมีค่า HCO_3 อยู่ในช่วง 100 - 294 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าน้อยลงตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เว้นชุดที่ 7 โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทุกชุดการทดลองมีค่า HCO_3 น้อยกว่าในชุดควบคุม เว้นชุดที่ 6 และเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้น พบว่า ชุดที่ 1 - 5 มีค่าลดลง และชุดที่ 6 - 7 มีค่าเพิ่มขึ้น ดังรูปที่ 36

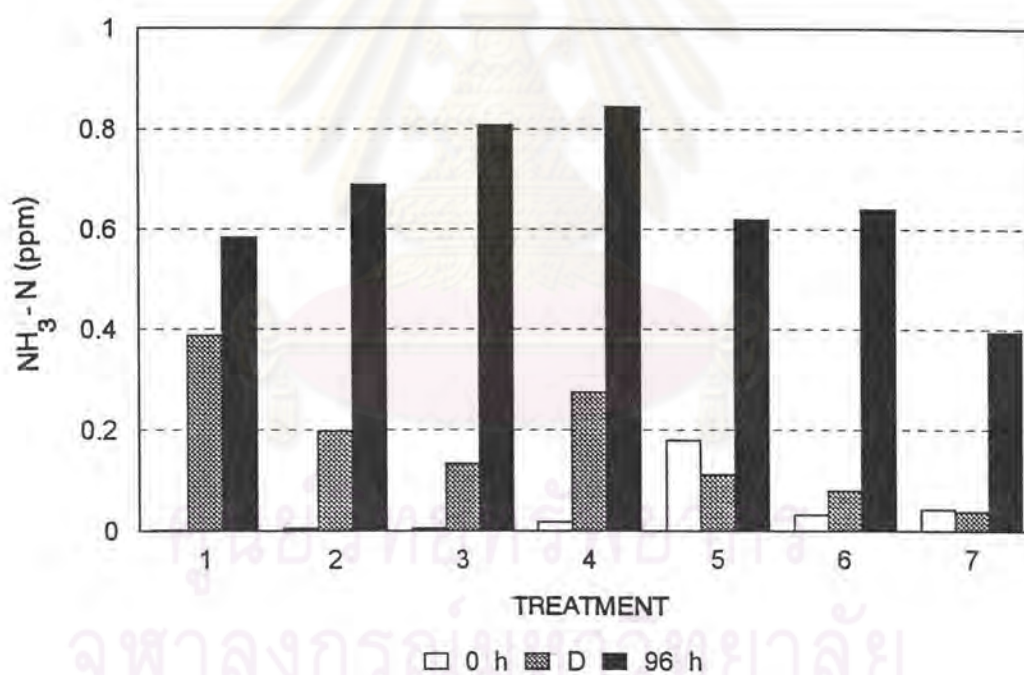


รูปที่ 36 กราฟแสดงค่าไบคาร์บอเนต แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

แอมโมเนีย ($\text{NH}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NH_3 อยู่ในช่วง 0.002 - 0.844 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) ทุกชุดการทดลองมีค่ามากกว่าชุดควบคุม เมื่อถึงกู่ลา คำเริ่มตาย ค่า NH_3 มีค่ามากกว่าค่าเริ่มต้น เว้นชุดที่ 5 และชุดที่ 7 และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) ทุกชุดการทดลองมีค่ามากกว่าชุดควบคุม เว้นชุดที่ 7 และทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 37

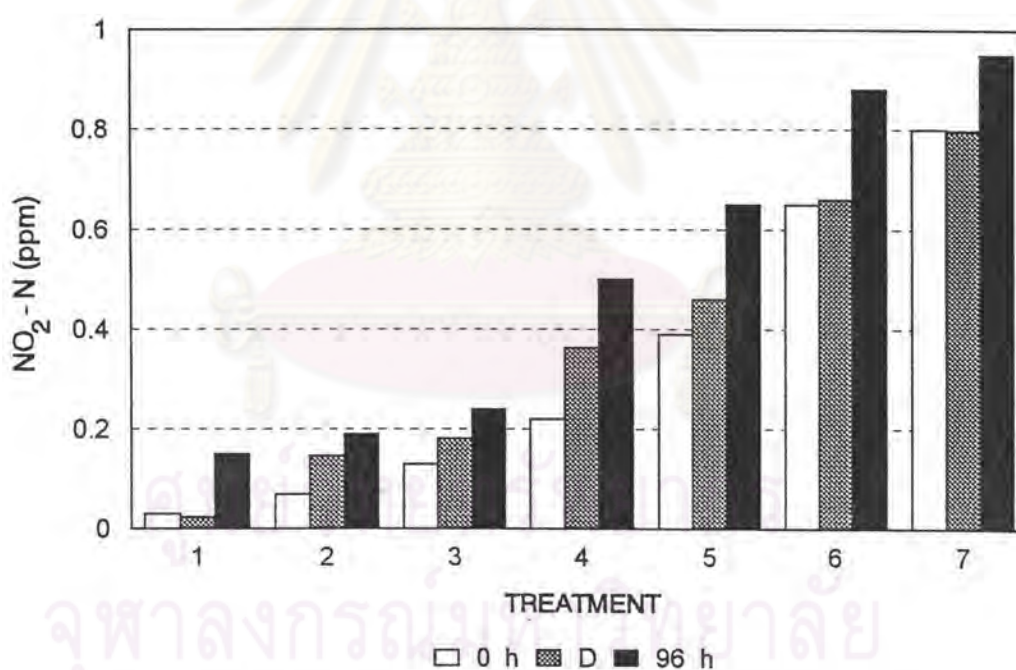


รูปที่ 37 กราฟแสดงค่าแอมโมเนีย แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

ไนโตรท์ ($\text{NO}_2\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO_2 อยู่ในช่วง 0.024 - 0.95 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากกว่าและมากขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อถึงจุดเริ่มต้นการทดลอง NO_2 มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นตามชุดที่ 2 - 7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเพิ่มมากขึ้นในทุกชุดการทดลองเมื่อเทียบกับค่าเริ่มการทดลอง ดังรูปที่ 38

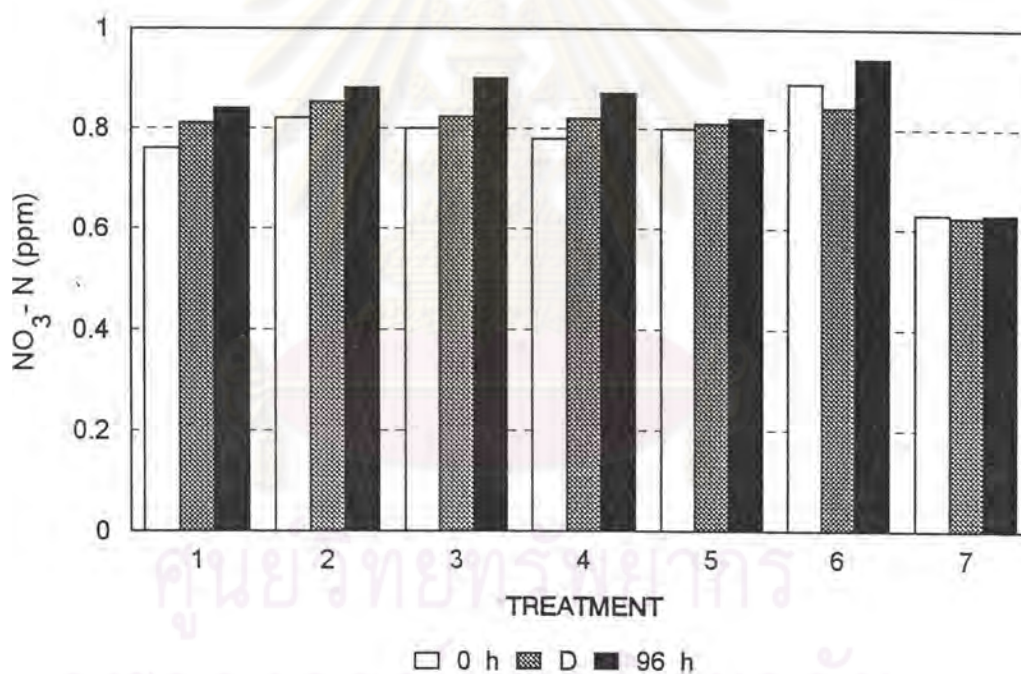


รูปที่ 38 กราฟแสดงค่าไนโตรท์ แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

ไนเตรท ($\text{NO}_3\text{-N}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า NO_3 อยู่ในช่วง 0.625 - 0.94 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) ทุกชุดการทดลองมีค่ามากกว่าชุดควบคุม เว้นชุดที่ 7 ระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) มีค่าเพิ่มขึ้นจากเมื่อเริ่มทดลอง และมีค่ามากกว่าชุดควบคุม เว้นชุดที่ 5 และชุดที่ 7 ดังรูปที่ 39

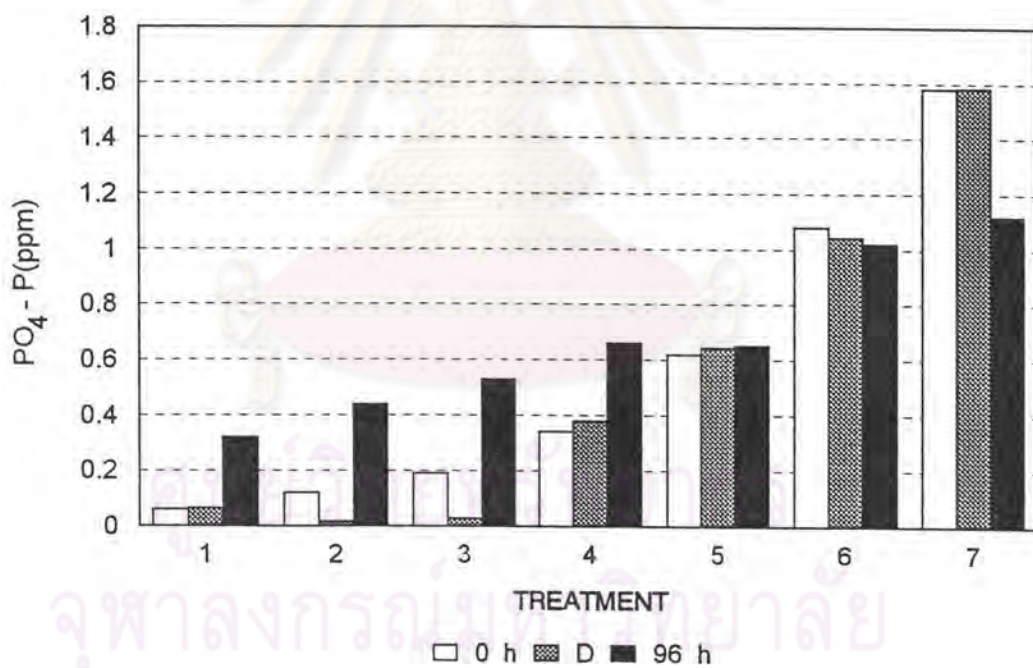


รูปที่ 39 กราฟแสดงค่าไนเตรท แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

ออร์โธฟอสเฟต ($\text{PO}_4\text{-P}$)

ระหว่างการทดลองมีค่า PO_4 อยู่ในช่วง 0.18 - 1.584 ppm รายละเอียดดังตารางที่ 26 - 28 ในภาคผนวก ก

เมื่อเริ่มการทดลอง (0 ชั่วโมง) มีค่ามากขึ้นตามชุดที่ 2-7 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (96 ชั่วโมง) ทุกชุดการทดลองมีค่ามากกว่าชุดควบคุม ชุดที่ 1 - 5 มีค่าเพิ่มขึ้น และชุดที่ 6 - 7 มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นการทดลอง ดังรูปที่ 40

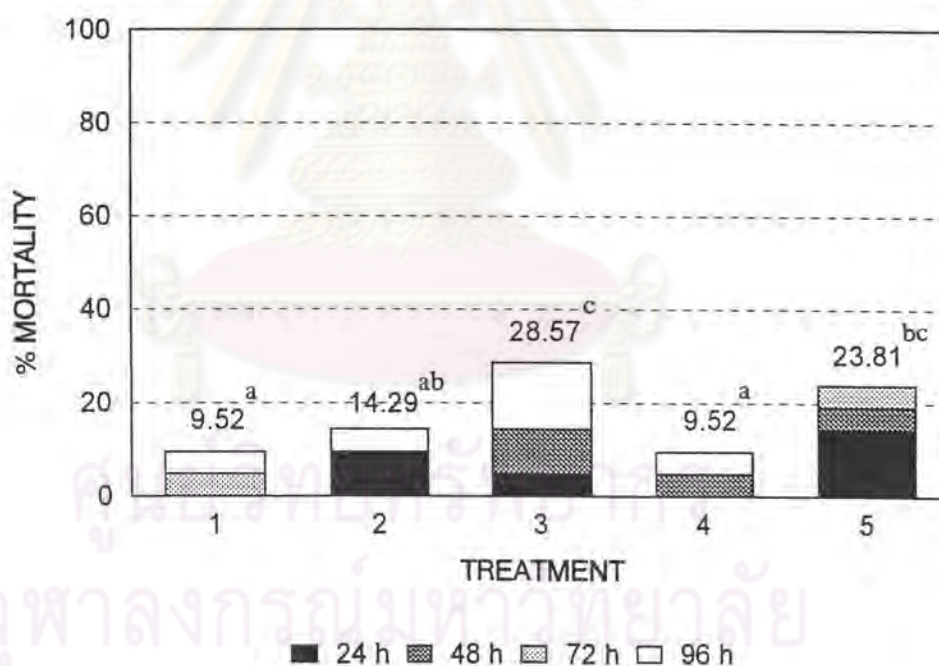


รูปที่ 40 กราฟแสดงค่าออร์โธฟอสเฟต แต่ละช่วงเวลา ในชุดการทดลองที่ 4.1

การทดลองที่ 4.2 ผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อการตายของกุ้งกุลาดำ กุ้งกุลาดำเริ่มตายตัวแรกในชั่วโมงที่ 24 ใน 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ชุดที่ 2 , 3 และ 5 ดังนี้ :

ชุดที่ 2 ซึ่งเป็นชุดควบคุมที่เติมกรดอะซิติก ชุดที่ 3 ซึ่งเป็นสารสกัดจากเซลล์จำนวน 6.90×10^3 เซลล์ และชุดที่ 5 ซึ่งมีความหนาแน่นเซลล์ที่ 1.73×10^2 เซลล์/มล. ดังตารางที่ 24 ในภาคผนวก ก

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 96 ชั่วโมง กลุ่มทดลอง(ชุดที่ 3-5) มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมสูงสุด 28.57% ในชุดที่ 3 และต่ำสุดที่ 9.52% ในชุดที่ 4 ซึ่งเป็นสารละลายที่ปราศจากเซลล์ ขณะที่ชุดควบคุมชุดที่ 1 และ 2 มีอัตราการตายเฉลี่ยสะสมเท่ากับ 9.52% และ 14.29% ตามลำดับ ดังรูปที่ 41



รูปที่ 41 กราฟแสดงผลของสารสกัดจากเซลล์ *A. cohorticula* ต่อเปอร์เซ็นต์การตายเฉลี่ย และการตายเฉลี่ยสะสมของกุ้งกุลาดำในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (การทดลองที่ 4.2)

ค่า superscript ที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิเคราะห์ทางพยาธิวิทยา

ผลการวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพของปลานิลตัวที่เริ่มตายในการทดลองร่วมกับ

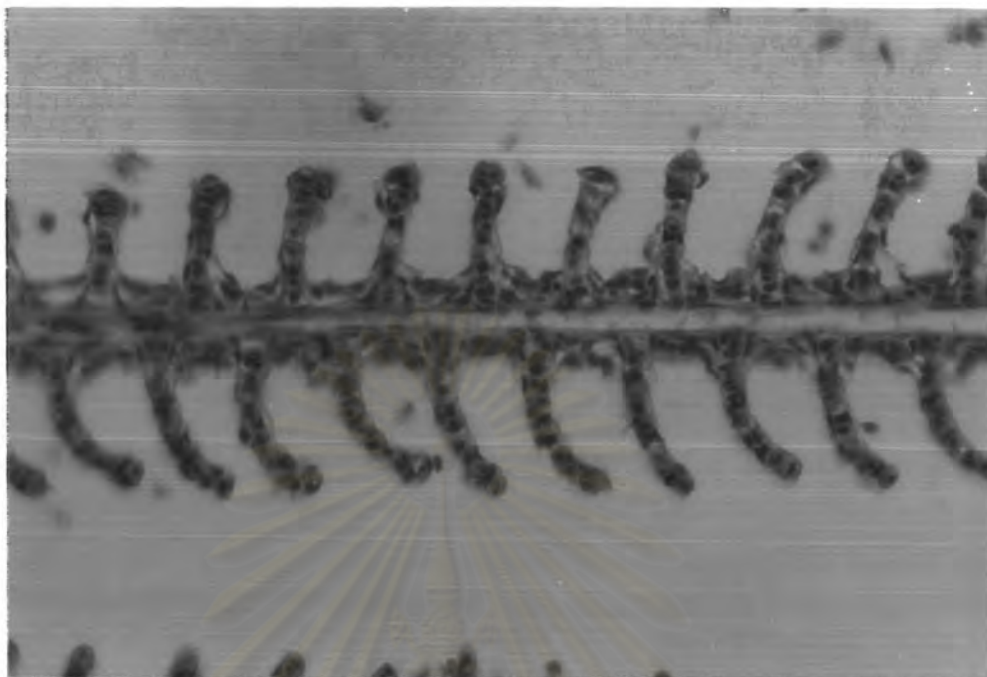
A. minutum หรือ *A. cohorticula* พบว่า ปลานิลในทุกชุดการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเหงือก และไต เมื่อเปรียบเทียบกับปลานิลปกติก่อนการทดลอง โดยเหงือกของปลานิลก่อนการทดลอง มีสภาพปกติ การเรียงตัวของซี่เหงือกขนานกันอย่างมีระเบียบ (รูปที่ 42) แต่หลังจากการทดลอง ในทุกชุดการทดลองรวมทั้งชุดควบคุม พบว่ามีการเรียงตัวของซี่เหงือกต่างไปจากสภาพปกติ คือ เกิดการหนาตัวของเนื้อเยื่อที่ฐานของซี่เหงือก และการเชื่อมติดกันของซี่เหงือก (รูปที่ 43)

เซลล์ไตปกติของปลานิล (เลี้ยงในน้ำจืด) ก่อนนำมาปรับสภาพความเค็มเพื่อการทดลองจะมีลักษณะดังรูปที่ 44 หลังจากการค่อย ๆ ปรับให้อยู่ได้ในความเค็ม 15 ppt และ 30 ppt โดยใช้เวลาประมาณ 2 - 4 สัปดาห์แล้ว พบว่ามีการสะสมของแคลเซียมในท่อไต (nephrocalcinosis) และเกิดมีน้ำในเซลล์ไต (tubular hydropic change) ดังแสดงในรูปที่ 45 หลังจากการทดลองแล้ว ได้ศึกษาสภาพของไตอีกครั้ง พบว่า ไม่แตกต่างไปจากลักษณะก่อนการทดลอง ดังรูปที่ 46

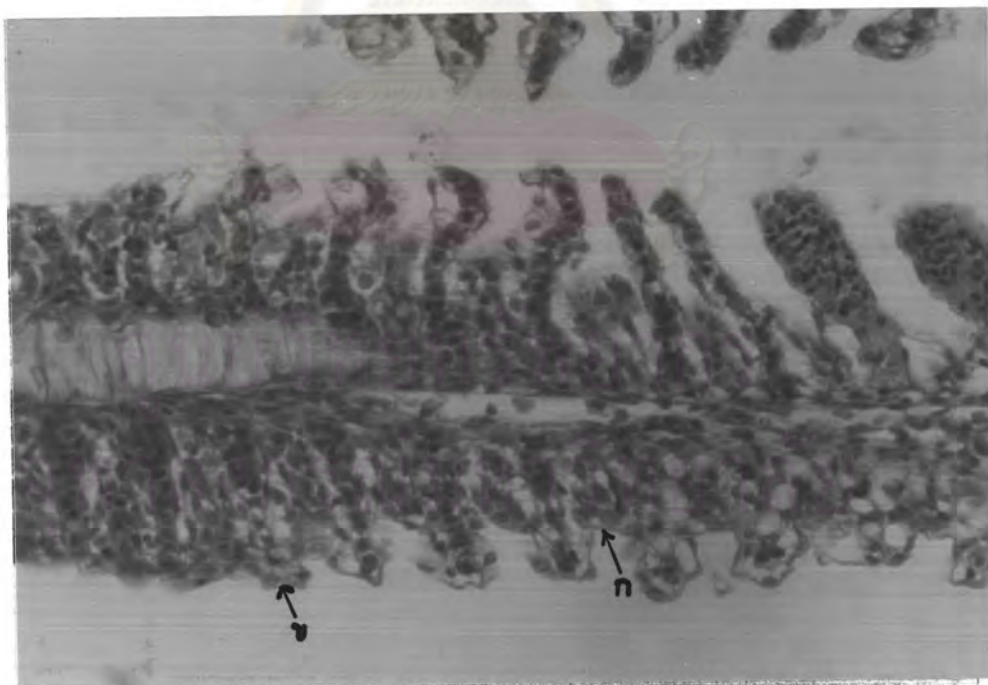
ผลการวิเคราะห์ทางพยาธิสภาพของกุ้งกุลาดำตัวที่เริ่มตายในการทดลองร่วมกับ

A. minutum และ *A. cohorticula* พบว่า กุ้งกุลาดำในชุดการทดลองที่มีเซลล์ *A. minutum* และ *A. cohorticula* ต่างก็มีการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเหงือก เมื่อเปรียบเทียบกับกุ้งกุลาดำในชุดควบคุม โดยเหงือกกุ้งกุลาดำในชุดควบคุมมีสภาพปกติ คือ ซี่เหงือกแยกกันอย่างเด่นชัด (รูปที่ 47) แต่ในชุดทดลองที่มีเซลล์ *A. minutum* และ *A. cohorticula* ต่างก็พบว่า มีเซลล์ *A. minutum* และ *A. cohorticula* แทรกอยู่ตามซี่เหงือก (รูปที่ 48) และมีการอักเสบ (inflammation) ของเหงือกเกิดขึ้น (รูปที่ 49)

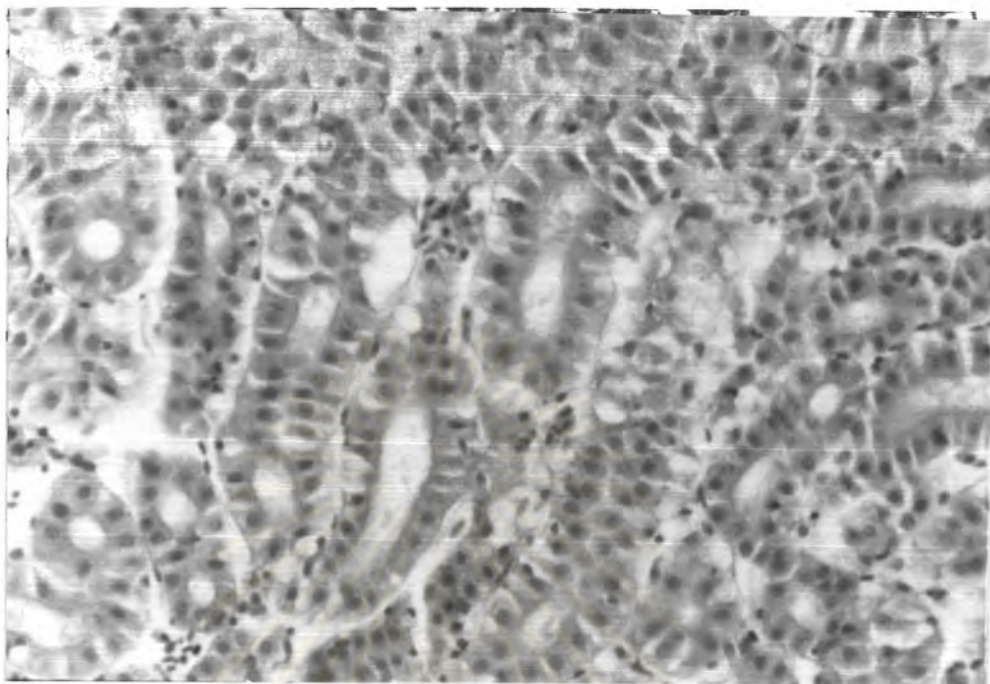
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



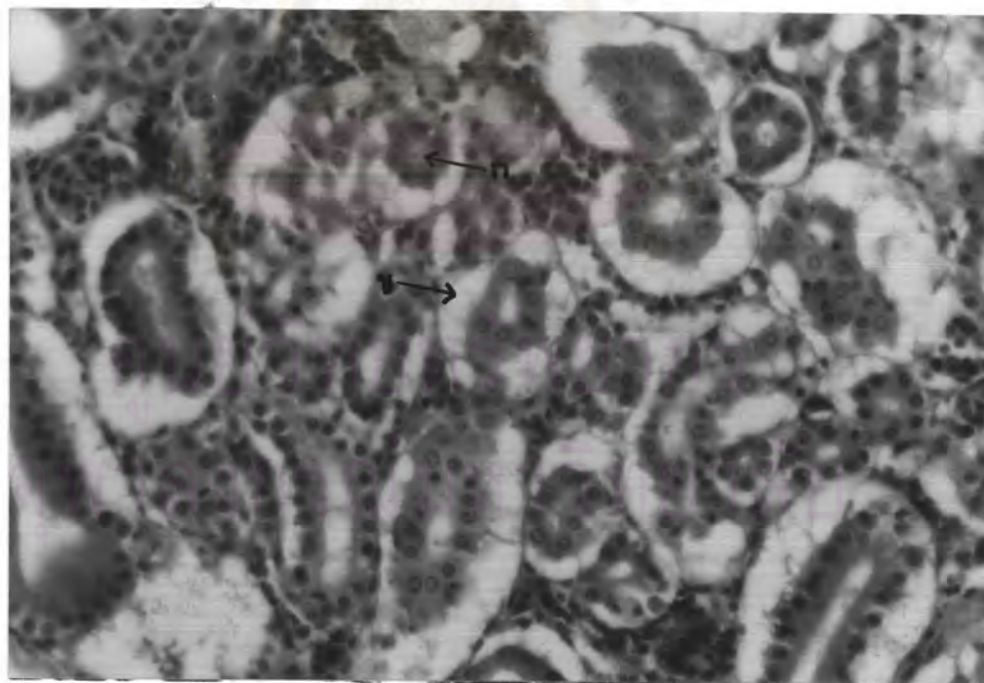
รูปที่ 42 รูปร่างลักษณะของเหงือกที่มีการเรียงตัวอย่างมีระเบียบของปลานิล
ปกติก่อนการทดลองร่วมกับ *A. minutum* และ *A. cohorticula* (x 400)



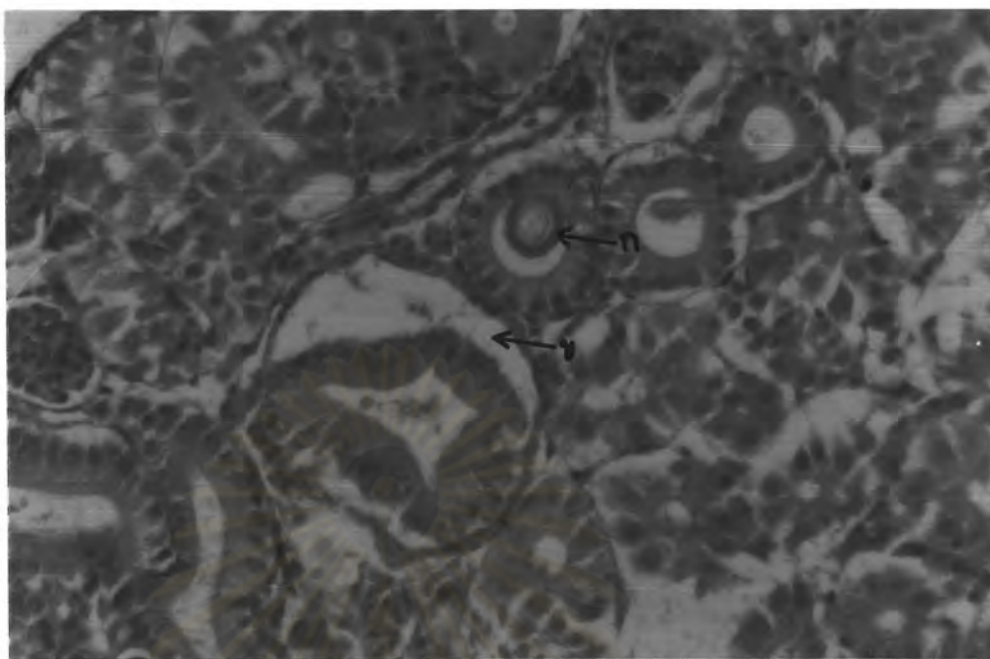
รูปที่ 43 รูปร่างลักษณะของซี่เหงือกที่เกิดการหนาตัวของเนื้อเยื่อที่ฐานของซี่เหงือก
(ก) และการเชื่อมติดกันของซี่เหงือก (ข) ของปลานิลที่ตาย หลังทดลองร่วม
กับ *Alexandrium minutum* และ *A. cohorticula* ในทุกชุดการทดลอง รวม
ทั้งชุดควบคุม (x 400)



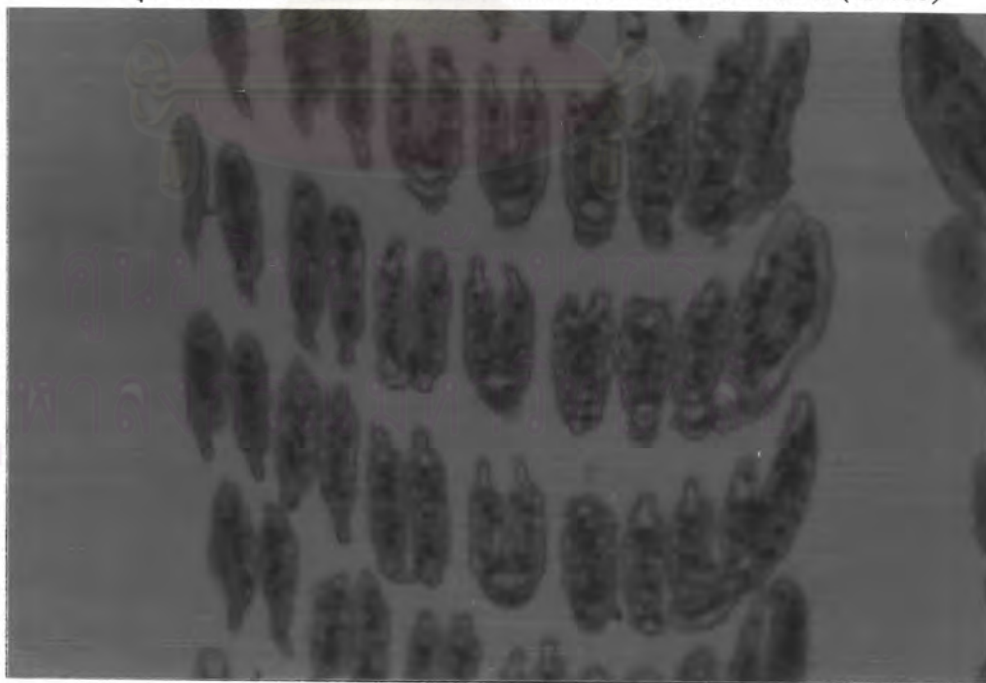
รูปที่ 44 เซลล์ไตปกติของปลานิล(เลี้ยงในน้ำจืด)ก่อนนำมาปรับสภาพความเค็ม
เพื่อการทดลอง (x 400)



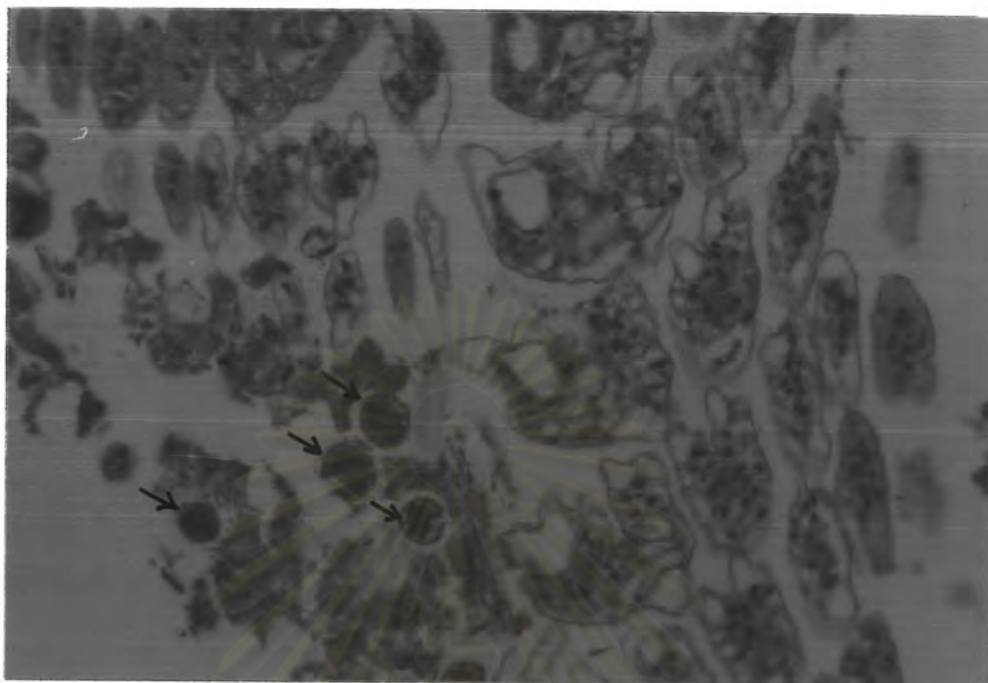
รูปที่ 45 แสดงส่วนเซลล์ไตผิดปกติ มีการสะสมของแคลเซียม (nephrocalcinosis : ก)
และมีน้ำภายในเซลล์ (tubular hydropic change : ข) ของปลานิล หลังปรับ
สภาพความเค็มก่อนการทดลอง (x 400)



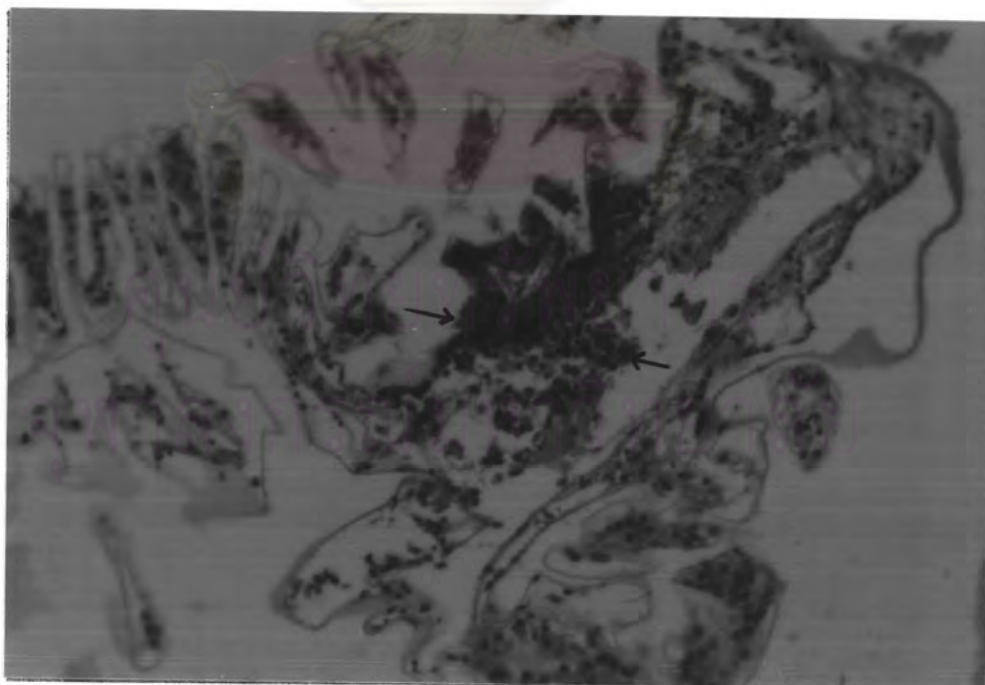
รูปที่ 46 แสดงส่วนเซลล์ไตผิดปกติ มีการสะสมของแคลเซียม (nephrocalcinosis : ก) และมีน้ำภายในเซลล์ (tubular hydropic change : ข) ของปลานิล หลังปรับสภาพความเค็มหลังการทดลองที่ 96 ชั่วโมง โดยจะพบในชุดควบคุม และชุดทดลองร่วมกับ *Alexandrium minutum* และ *A. cohorricula* (x 400)



รูปที่ 47 ลักษณะซีแพ็กที่แยกกันอย่างเด่นชัดของกึ่งกุลาคำปกติในชุดควบคุม (x 200)



รูปที่ 48 ลักษณะเหงือกที่พบเซลล์พลาสต์(สรชี)แทรกอยู่ตามเหงือกของกุ้งกุลาดำ
หลังทดลองร่วมกับ *A. minutum* และ *A. cohorticula* (x 200)



รูปที่ 49 ลักษณะเหงือกอักเสบ(สรชี)ของกุ้งกุลาดำหลังทดลองร่วมกับ
Alexandrium minutum และ *A. cohorticula* (x 200)