บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

คีโตซีรอส และคลอเรลลา

คีโตซีรอส (*Cheatoceros* sp.) และคลอเรลลา (*Chlorella* sp.) เป็นแพลงก์ตอนพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารหลักในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน เพราะเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เหมาะสมต่อการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อน แต่ในการเพาะเลี้ยงส่วนใหญ่มักประสบปัญหาหลากหลายสาเหตุ เช่น คุณภาพหัวเชื้อไม่ดี ไม่แข็งแรงพอ หรือเกิดจากสภาพแวดล้อม เช่น แสง อุณหภูมิ สารอาหาร และความเค็ม

คีโตซีรอส

คีโตเซอรอส (*Chaetoceros* sp.) เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มของไดอะตอมมีบทบาทสำคัญในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน โดยเฉพาะในการอนุบาลลูกกุ้งทะเลนิยมใช้เป็นอาหารในช่วงระยะซูเอี้ย เนื่องจากมีขนาดเหมาะสม เพาะขยายพันธุ์ในปริมาณมากได้ง่าย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (Lavens and Sorgeloos, 1996)

อนุกรมวิธานของคีโตซีรอส

Division Chromophyta

Class Bacillariophyceae (ไดอะตอม)

Order Biddulphiales

Suborder Biddulphiineae

Family Chaetocerotaceae

Genus *Chaetoceros*

ลักษณะทั่วไปของคีโตซีรอส

คีโตซีรอสมีลักษณะเซลล์รูปไข่จนถึงกลม ขนาดเล็ก และมีซิตี้ 4 เส้น โดยทั่วไปลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว บางชนิดเป็นเส้นสาย

คลอเรลล่า

อนุกรมวิธานของคลอเรลล่า

Division Chlorophyta

Class Trebouxiophyceae

Order Chlorellales

Family Chlorellaceae

Genus *Chlorella*

ลักษณะทั่วไปของคลอเรลลา

คลอเรลลาเป็นแพลงก์ตอนในกลุ่มแพลงก์ตอนสีเขียว มีขนาดเล็กมาก ลักษณะกลม มีสีเขียว มีนิวเคลียสค่อนข้างใหญ่ และมีผนังเซลล์ที่ค่อนข้างแข็ง มีคลอโรพลาส์รูปถ้วยอยู่ริมเซลล์

การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอน

Fox (1983) กล่าวว่าการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนเซลล์เดียวที่ไม่มีการปนเปื้อน โดยมีปัจจัยอาหารและสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมสาหร่ายจะแบ่งเซลล์แบบทวีคูณ โดยมีการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนแบ่งเป็น 5 ระยะ ได้แก่

ระยะที่1 lag phase เป็นระยะปรับสภาพ และเหนี่ยวนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ของแพลงก์ตอนเพื่อเข้าสู่ระยะที่ 2

ระยะที่ 2 exponential phase เป็นระยะที่แพลงก์ตอนมีการเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วและมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ วุฒิชัย และวาสนา (2553) กล่าวว่าการเลี้ยง *Thalassiosira* spp. ในระยะนี้จะอยู่ประมาณวันที่ 4 ของการเลี้ยง ปริมาณเซลล์เฉลี่ยอยู่ในช่วง 7.6 - 11.4x10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 1 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการนำไปอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อน

ระยะที่ 3 phase of declining relative growth เป็นระยะที่จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนลดลงซึ่งมีสาเหตุจากปัจจัยหลายประการ เช่น อาหารไม่เพียงพอ การใช้คาร์บอนไดซ์ออกไซด์และออกซิเจนของแพลงก์ตอน ปริมาณความเข้มแสงที่ลดลงเนื่องจากเงาของเซลล์แพลงก์ตอน เป็นต้น

ระยะที่ 4 stationary phase เป็นระยะที่จำนวนเซลล์ของแพลงก์ตอนลดลงใกล้เคียงกับจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น

ระยะที่ 5 death phase ระยะนี้เกิดเนื่องจากปริมาณอาหารไม่เพียงพอกับการเจริญเติบโตและอัตราเมตาบอลิซึมเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 1 จำนวนเซลล์ไดอะตอม *Thalassiosira* spp. เฉลี่ย (x10^5 ต่อมิลลิลิตร) ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ (mass culture)

ความเค็ม	ระยะเวลา (วัน)					
(ppt)	1	2	3	4	5	6
30	1.44±0.31^a	5.17±1.38^a	8.18±0.40^a	11.47±3.63^a	23.08±3.81^a	17.50±1.39^a
25	1.68±0.14^a	3.50±0.39^a	9.15±4.13^a	8.75±0.25^a	14.27±2.25^b	16.25±0.66^a
20	1.55±0.18^a	3.30±0.02^a	13.00±4.09^a	10.33±0.94^a	15.25±1.75^b	12.33±2.60^a
15	1.35±0.24^a	3.50±0.82^a	3.14±1.08^b	7.61±3.65^a	9.66±4.34^b	8.46±7.65^a

ที่มา : วุฒิชัย และวาสนา (2553)

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของคีโตซีรอส และคลอเรลลา

1.ปริมาณของสารอาหาร

สารอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอน ธาตุอาหารที่เป็นตัวจำกัดการเจริญเติบโตที่สำคัญ คือ ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส

2.แสง

แพลงก์ตอนพืชใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อดึงพลังงานมาใช้ในการเจริญเติบโต เมื่อปริมาณแสงมากขึ้นแพลงก์ตอนพืชก็มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จนถึงความเข้มแสงระดับหนึ่ง (light saturation) และเมื่อระดับความเข้มแสงที่สูงกว่าระดับนี้ อัตราการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนจะลดลง

3.อุณหภูมิ

Cho *et al.* (2007) รายงานว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นไม่เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของ *Chlorella ellipsoidea* ซึ่งทำให้ความหนาแน่นของเซลล์ต่ำ ที่อุณหภูมิ 30°C ดังตารางที่ 2 เนื่องจากสาหร่ายแต่ละชนิดสามารถเจริญเติบโตอยู่ได้ในสภาพอุณหภูมิที่แตกต่างกันเมื่อมีสภาพอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจึงส่งผลให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายลดลง

ตารางที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และความหนาแน่นเซลล์สูงสุดของ *Chlorella ellipsoidea*

Temperature (°C)	Salinity	SGR	Maximum density (10^6 cells/mL)
15	10	$0.37 \pm 0.013^{e,f}$	131.7 ± 12.36^{a}
	20	$0.36 \pm 0.010^{e,f,g}$	$115.2 \pm 7.60^{a,b}$
	30	0.31 ± 0.004^{g}	$097.3 \pm 1.78^{b,c}$
20	10	$0.40 \pm 0.002^{d,e,f}$	$112.5 \pm 6.91^{a,b}$
	20	$0.37 \pm 0.007^{e,f}$	$113.3 \pm 11.94^{a,b}$
	30	$0.35 \pm 0.009^{f,g}$	087.3 ± 5.49^{c}
25	10	0.60 ± 0.042^{a}	010.2 ± 0.99^{e}
	20	$0.41 \pm 0.017^{d,e}$	041.2 ± 15.80^{d}
	30	$0.45 \pm 0.006^{c,d}$	$103.1 \pm 27.11^{b,c}$
30	10	$0.48 \pm 0.078^{b,c}$	2.6 ± 0.44^{e}
	20	0.52 ± 0.044^{b}	012.9 ± 1.80^{e}
	30	$0.44 \pm 0.030^{c,d}$	050.8 ± 10.69^{d}

ที่มา : Cho *et al.* (2007)

4. ความเค็ม

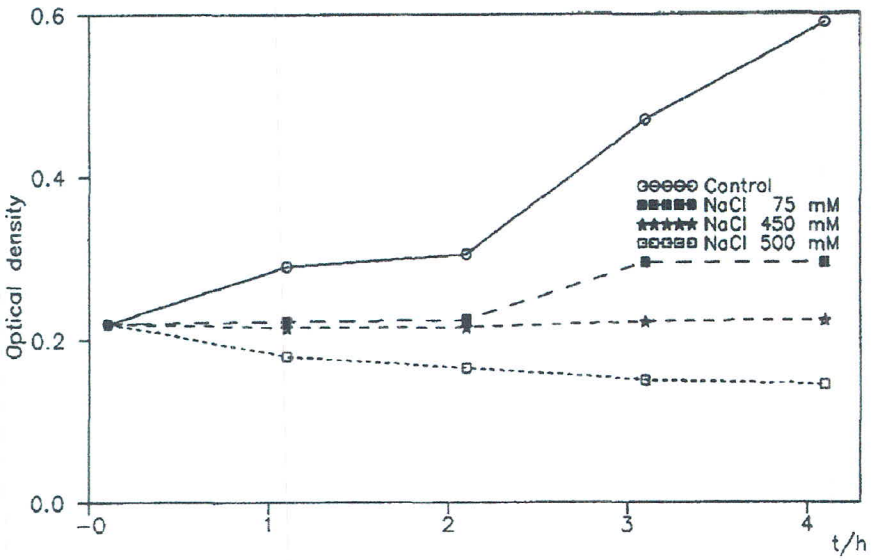
ความเค็มของน้ำ หมายถึง ปริมาณของแข็งหรือเกลือแร่ต่างๆ ที่ละลายน้ำ โดยเฉพาะปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเค็มจะมีหน่วยเป็นกรัมต่อปริมาตรน้ำ 1 ลิตร หรือส่วนในพัน

Fetzer and Deubel (2006) กล่าวว่าความเค็มเป็นส่วนสำคัญในการในการควบคุมการเจริญเติบโตและการแพร่กระจายของแพลงก์ตอนในระบบนิเวศทางทะเลและระบบนิเวศน้ำกร่อย ซึ่งส่งผลต่อระบบการควบคุมปริมาณน้ำภายในเซลล์ เมื่อความเค็มเพิ่มขึ้น แพลงก์ตอนต้องมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม

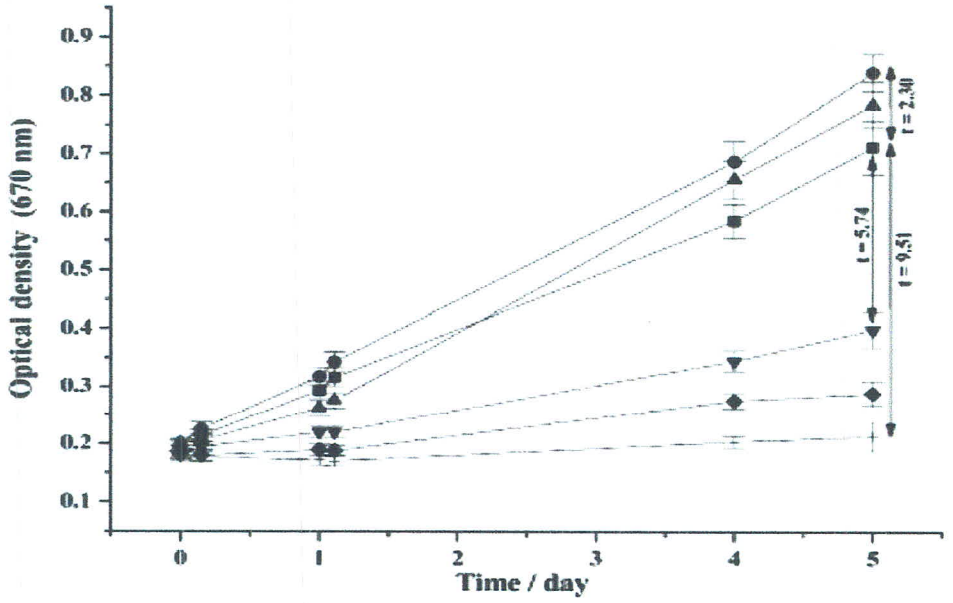
ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอน

Loseva *et al.* (1995) ได้ศึกษาผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา โดยเลี้ยงคลอเรลล่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่แตกต่างกัน พบว่าความหนาแน่นเซลล์คลอเรลล่าลดลงที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 450 และ 500 mM (ภาพที่1) จำนวนเซลล์

คงที่เกือบเท่ากับเซลล์เริ่มต้น อาจเป็นไปได้ว่าคลอเรลล่าหยุดการแบ่งเซลล์ เป็นกระบวนการป้องกันเซลล์จากสภาพแวดล้อมที่มีความเค็ม



ภาพที่ 1 ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา
ที่มา : Loseva *et al.* (1995)

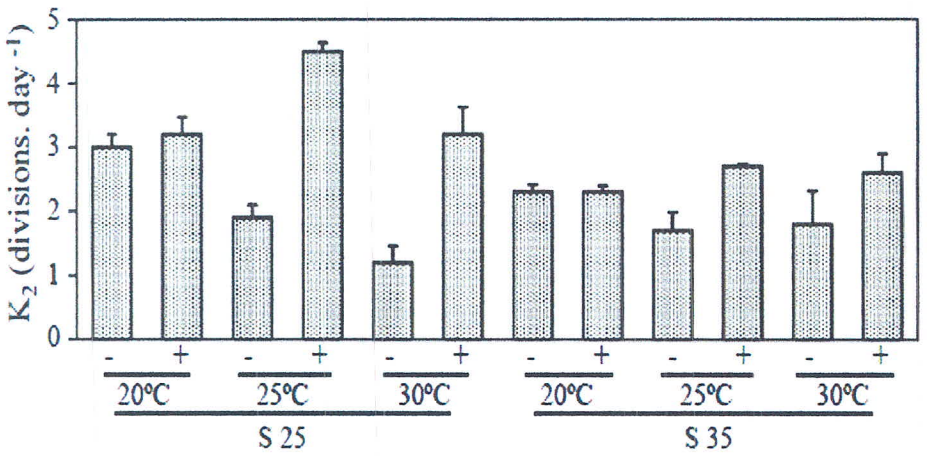


(■) Control; (●) 50 mM NaCl; (▲) 200 mM NaCl; (▼) 500 mM NaCl
(♦) 550 mM NaCl; (+) 600 mM NaCl

ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นของ NaCl ต่อการเจริญเติบโตของคลอเรลลา
ที่มา : Alyabyev *et al.* (2007)

Alyabyev *et al.* (2007) กล่าวว่า ในการเจริญเติบโตของคลอเรลลาที่ระดับความเค็มต่างกัน ดังภาพที่ 2 พบว่าคลอเรลลาในวันที่ 5 ของการเลี้ยง ความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ที่ระดับความเค็มต่ำ (50 mM) เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ที่ 200 mM NaCl ความหนาแน่นเซลล์ใกล้เคียงกับชุดควบคุม และที่ระดับความเค็มที่สูงกว่านี้ ความหนาแน่นเซลล์จะลดลงใกล้เคียงกับความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น

Araujo and Garcia (2005) ทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *Chaetoceros wighamii* ภายใต้ความแตกต่างของอุณหภูมิ ความเค็ม และการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าคีโตเซอรอสมีแนวโน้มการเจริญเติบโตสูงที่ระดับความเค็ม 25 ppt (ภาพที่ 3) และการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ลงไปในการเลี้ยง ส่งผลให้การเจริญเติบโตของคีโตเซอรอสสูงขึ้น



ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตของ *Chaetoceros wighamii* ภายใต้ความแตกต่างของอุณหภูมิ ความเค็ม และการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์

ที่มา : Araujo and Garcia (2005)