ผลของอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญของ *Chaetoceros calcitrans*

Effect of Culture Media on the Growth of *Chaetoceros calcitrans*

สุดสายชล หอมทอง* และ วชิราภรณ์ ก้องกังวาลย์
ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Sudsaichon Homthong* and Wachiraporn Kongkangwal
Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่อาหาร F/2 medium Ketchum and Redfield medium Miquel medium Sato and Serikawa medium TMRL medium และ Walne's medium ที่มีผลต่อการเจริญของ *Chaetoceros calcitrans* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ Miquelmedium ทำให้ *C. calcitrans* มีอัตราการเจริญจำเพาะและปริมาณของเซลล์สูงกว่าอาหารชนิดอื่นๆ คือ 0.96 วัน$^{-1}$ และ 4.59 ± 0.38 × 10^{6} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสั้นที่สุดเท่ากับ 0.72 วัน ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อ Miquel medium จึงเป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยง *C. calcitrans* ในระดับห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ : *Chaetoceros calcitrans* อาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการเจริญจำเพาะ

Abstract

The effect of various culture media, F/2 medium, Ketchum and Redfield medium, Miquel medium, Sato and Serikawa medium, TMRL medium and Walne's medium on the growth of *Chaetoceros calcitrans* in the laboratory was investigated. Results showed that specific growth rate and cell density of *C. calcitrans* in Miquel medium were higher than other medium (0.96 day^{-1} and 4.59 ± 0.38 × 10^{6}cell/ml). The minimum generation time of 0.72 day was found using Miquel medium as culture media. It can be concluded that the best of culture medium for *C. calcitrans* in the laboratory scale was Miquel medium.

Keywords : *Chaetoceros calcitrans*, culture media, specific growth rate

***Corresponding author.** E-mail: sudsaich@buu.ac.th

บทนำ

สาหร่ายเป็นแหล่งอาหารที่มีความสำคัญสำหรับสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในน้ำ เนื่องจากเป็นวงจรอาหารขั้นต้นของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากสาหร่ายมีกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการเจริญเติบโตของสัตว์น้ำเช่น โรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย ที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนปลา กุ้ง เป็นต้น ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำนั้น สาหร่ายยังเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารของตัวอ่อน เพื่อให้ตัวอ่อนสามารถอยู่รอดและปรับตัวหรือเจริญเติบโตได้ (Cho *et. al*, 2007) นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งพลังงานและสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาตัวอ่อนของสัตว์น้ำ โดย *Chaetoceros calcitrans* เป็นสาหร่ายไดอะตอมชนิดหนึ่งที่นิยมเพาะเลี้ยงกันแพร่หลาย เนื่องจากหาหัวเชื้อได้สะดวกและเมื่อเจริญเต็มที่แล้วจะยังคงอยู่ได้อีกระยะหนึ่ง โดยที่จะไม่ตายและตกตะกอนทันทีเหมือนกับสาหร่ายชนิดอื่นๆ *Chaetoceros* มีความสำคัญในการประมง เนื่องจากเป็นอาหารของสัตว์น้ำทั้งในธรรมชาติและการเพาะเลี้ยงในบ่อ มีจำนวนชนิดและปริมาณมากทั่วโลก ส่วนใหญ่เป็นชนิดที่พบในทะเลประมาณว่ามีมากกว่า 50 ชนิด ที่พบในทะเลเขตร้อน และพบมากบริเวณชายฝั่งทะเลมากกว่าทะเลลึก (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544) สำหรับการเพาะเลี้ยงสาหร่ายนั้น ปัจจัยต่างๆ เช่น ธาตุอาหาร อุณหภูมิ ความเค็ม แสง เป็นต้น มีผลต่อการเจริญและคุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย (Raghavan, Haridevi, & Gopinathan, 2008) ซึ่งการใช้สารเคมีในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายให้ประสบความสำเร็จนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและระยะการเจริญของสาหร่ายนั้นๆ แม้ว่าสาหร่ายส่วนใหญ่จะใช้แสงเป็นแหล่งพลังงานและยังสามารถใช้สารอนินทรีย์ในการเจริญได้ แต่ยังมีความต้องการสารประกอบอนินทรีย์บางชนิดเป็นตัวกระตุ้นการเจริญ ขณะที่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายขนาดเล็กให้ประสบความสำเร็จจะใช้สารประกอบอนินทรีย์ไม่กี่ชนิดที่มีความจำเป็นต่อการเจริญ มีรายงานว่า Miquel medium (Miquel, 1982) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไดอะตอม เนื่องจากเป็นอาหารที่มีสารประกอบอนินทรีย์ที่ไดอะตอมมีความต้องการใช้ในการเจริญ Walne's medium (Walne, 1974) เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อไดอะตอมอีกชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม ซึ่งใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงไดอะตอมที่มีแฟลกเจลลาและเก็บรักษาเชื้อไดอะตอมในห้องปฏิบัติการ (Rengarajan, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่ามีอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงไดอะตอม เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อ F/2 (Guillard & Ryther, 1962) และ Ketchum and Redfield เป็นสูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายน้ำเค็ม ซึ่งมีการปรับปรุงขึ้นเพื่อเติมลงในน้ำทะเลธรรมชาติที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ซึ่งได้ผลดีในการเพาะเลี้ยงอาหารเลี้ยงเชื้อ Sato and Serikawa medium และอาหารเลี้ยงเชื้อ TMRL เป็นอาหารที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในปริมาณที่สูง มีการปรับปรุงสารบางชนิดเพื่อช่วยในการเจริญของสาหร่ายให้ดีขึ้นและยังมีสารบางชนิดที่เป็นปัจจัยสำคัญในการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย (ลัดดา วงศ์รัตน์ และโสภณา บุญญาภิวัฒน์, 2546) รวมทั้งเป็นอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยง *Skeletonema Costatum* และ *Chaetoceros* เป็นต้น (Gopinathan, 1982) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้สนใจศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญของ *C. calcitrans*

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. สายพันธุ์ของสาหร่าย

Chaetoceros calcitrans จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา

2. การเตรียมเชื้อบนอาหารแต่ละชนิด (Gopinathan, 1982; Creswell, 2010)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบ โดยอาหารที่ใช้ทดสอบต้องเติมวุ้นลงไป 1.5 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ F/2 medium (Guillard & Ryther, 1962) Ketchum and Redfield medium (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544) Miquel medium (Miquel, 1892) Sato and Serikawa medium (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2544) TMRL medium (Gopinathan, 1982) และ Walne's medium (Walne, 1974) นำอาหารแต่ละชนิดไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปเทลงในจานเพาะเชื้อทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงและใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อไดอะตอมตัวอย่างนำมาขีดลงบนอาหารแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ในนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอดเวลา โดยมีความเข้มแสงเท่ากับ 93 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 7-8 วัน สังเกตการเกิดโคโลนีของไดอะตอมในอาหารแต่ละชนิด

3. การทำหัวเชื้อ

เตรียมอาหารแต่ละชนิดที่ปลอดเชื้อใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อไดอะตอมจากข้อ 2 ลงในหลอดอาหารแต่ละชนิดที่เตรียมไว้ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอดเวลา โดยมีความเข้มแสงเท่ากับ 93 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เขย่าวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3-5 วัน

4. การเตรียมเชื้อไดอะตอม (ดัดแปลงจาก Creswell, 2010)

เตรียมอาหารแต่ละชนิดที่ปลอดเชื้อใส่ลงในขวดรูปชมพู่

ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตรเติมเชื้อไดอะตอมจากการทำหัวเชื้อในข้อ 3 ในแต่ละขวด ขวดละ 10 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอดเวลา โดยมีความเข้มแสงเท่ากับ 93 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เขย่าวันละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 1-2 วัน

5. การเพาะเลี้ยงไดอะตอม (ดัดแปลงจาก Creswell, 2010)

เตรียมอาหารแต่ละชนิดที่ปลอดเชื้อใส่ลงในขวดขนาด 1,000 มิลลิลิตร ปริมาตร 600 มิลลิลิตร เติมเชื้อไดอะตอมจากการเตรียมเชื้อไดอะตอมในข้อ 4 ลงในอาหารแต่ละขวด โดยให้เซลล์เริ่มต้นมีเซลล์เท่ากับ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตรหลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอดเวลาโดยมีความเข้มแสงเท่ากับ 93 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และใส่ชุดให้อากาศในแต่ละขวดเพื่อให้อากาศกับสาหร่ายและเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน ตรวจผลการทดลองเป็นเวลา 14 วัน โดยการนับจำนวนเซลล์ด้วย Haemacytometer (วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และสรวง อุดมวรภัณฑ์ (2536) วัดขนาดเซลล์โดยใช้ Micrometer (ชูตา บุญภักดี, 2543) และวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้ pH meter (Banerjee *et.al*, 2011) วัดความสมบูรณ์เซลล์โดยสุ่มเลือกตัวอย่างเซลล์จำนวน 100 เซลล์และดูลักษณะสารสีภายในเซลล์แล้วให้คะแนนสารสีภายในเซลล์เป็นเกรด A, B, C และ F โดยเลือกนับจำนวนเซลล์ที่ได้เกรด A แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเซลล์โดยคำนวณได้จากสมการดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์เซลล์} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่ได้เกรด A}}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}} \times 100$$

6. คำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ และระยะเวลาที่ใช้ ในการแบ่งเซลล์ (วิเชียร กิจปรีชาวนิช, 2539)

6.1 นำปริมาณเซลล์ที่นับได้จากข้อ 5 มาคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะ และคำนวณหาระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย

6.2 การคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะของสาหร่ายสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรงที่มีความชันของเส้นตรง (slope) ดังนั้นเมื่อพล็อตกราฟระหว่าง เวลากับค่า ln ของมวลชีวภาพ โดยให้แกน X เป็นเวลา แกน Y เป็น ln ของมวลชีวภาพ ซึ่งจะได้เส้นตรงช่วงที่เซลล์มีการเจริญในช่วง Log phase ซึ่งจะหาค่าความชันของเส้นตรงในช่วง Log phase ก็จะได้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (Specific growth rate, μ) นอกจากนี้ยังสามารถคำนวณหาอัตราการเจริญจำเพาะได้ดังสูตรคำนวณนี้

$$\mu = \frac{\ln (X_t) - \ln (X_0)}{t - t_0}$$

โดยที่ μ = อัตราการเจริญจำเพาะ

X_t = มวลชีวภาพเมื่อเพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา t ชั่วโมง

X_0 = มวลชีวภาพเมื่อเพาะเลี้ยงเวลล์เป็นเวลา t_0 ชั่วโมง

t = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_t

t_0 = เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์ในช่วง X_0

โดยที่เวลา t, t_0 จะเป็นช่วงเวลาที่เซลล์เจริญอยู่ในช่วง Log phase

6.3 การคำนวณหาระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Genneration time, G) คำนวณได้ดังนี้

$$G = \frac{\ln 2}{\mu}$$

7. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลที่ได้จากการนับเซลล์การวัดขนาดเซลล์ การวัดค่าความเป็นกรดด่างมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้วิธี Tukey ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (Susan, 2005)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการศึกษาการเจริญของ *C. calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าอาหาร Miquel medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ปริมาณเซลล์ของสาหร่ายสูงที่สุดหลังจากเพาะเลี้ยงไว้เป็นเวลา 10 วัน โดยมีปริมาณเซลล์เท่ากับ $4.59\pm0.38\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีปริมาณเซลล์แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สำหรับอาหารที่ให้ปริมาณเซลล์ของสาหร่ายสูงรองลงมาคืออาหาร F/2 medium และอาหาร TMRL medium มีปริมาณเซลล์เท่ากับ $3.49\pm0.20\times10^6$ (ในวันที่ 11 ของการเพาะเลี้ยง) และ $3.3\pm0.20\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ในวันที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ส่วนขนาดของเซลล์ *C. calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดจะอยู่ในช่วง 3-5 ไมโครเมตรและขนาดของเซลล์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ตารางที่ 2) สำหรับความสมบูรณ์ของเซลล์ พบว่าเซลล์มีความสมบูรณ์ในวันที่ 1, 2 และ 3 ความสมบูรณ์ของเซลล์เริ่มลดลงในวันที่ 4 ยกเว้นในอาหาร Miquel medium ความสมบูรณ์ของเซลล์จะเริ่มลดลง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 1 ปริมาณเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดอาหาร	ปริมาณเซลล์ *C. calcitrans* (10^6 เซลล์/มิลลิลิตร) ± SD ในวันต่างๆ ที่เพาะเลี้ยง														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Miquel	0.14±0.03^{b}	0.21±0.09^{b}	0.53±0.13^{b}	0.87±0.05^{b}	1.53±0.02^{b}	1.96±0.03^{b}	2.14±0.11^{b}	2.45±0.09^{b}	3.32±0.07^{b}	4.37±0.30^{b}	4.59±0.38^{b}	4.28±0.28^{b}	3.85±0.07^{b}	2.67±0.12^{b}	1.66±0.11^{b}
TMRL	0.12±0.07^{ab}	0.33±0.01^{ab}	0.47±0.03^{ab}	0.98±0.07^{ab}	1.23±0.11^{ab}	1.53±0.14^{ab}	1.86±0.14^{ab}	2.31±0.11^{ab}	.63±0.21^{ab}	2.91±0.23^{ab}	3.13±0.26^{ab}	3.22±0.20^{ab}	3.3±0.19^{ab}	2.31±0.01^{ab}	1.69±0.05^{ab}
F/2	0.16±0.04^{ab}	0.23±0.06^{ab}	0.57±0.02^{ab}	0.93±0.06^{ab}	1.52±0.15^{ab}	1.87±0.16^{ab}	2.03±0.15^{ab}	2.29±0.14^{ab}	2.65±0.19^{ab}	3.13±0.24^{ab}	3.23±0.18^{ab}	3.49±0.20^{ab}	3.4±0.26^{ab}	3.13±0.25^{ab}	2.4±0.19^{ab}
Ketchem	0.14±0.10a^{ab}	0.31±0.001^{ab}	0.39±0.09^{ab}	0.91±0.04^{ab}	1.34±0.07^{ab}	1.73±0.11^{ab}	2.24±0.14^{ab}	1.98±0.10^{ab}	1.62±0.13^{ab}	1.62±0.11^{ab}	1.68±0.10^{ab}	1.61±0.09^{ab}	1.51±0.07^{ab}	0.93±0.02^{ab}	0.36±0.06^{ab}
Sato	0.16±0.06^{a}	0.34±0.06^{a}	0.57±0.08^{a}	1.26±0.09^{a}	1.45±0.20^{a}	1.78±0.03^{a}	1.36±0.09^{a}	1.43±0.11^{a}	1.37±0.10^{a}	1.45±0.06^{a}	1.13±0.06^{a}	1.07±0.05^{a}	1.2±0.10^{a}	0.87±0.02^{a}	0.25±0.05^{a}
Walne's	0.13±0.09^{a}	0.54±0.04^{a}	1.92±0.01^{a}	1.86±0.18^{a}	1.23±0.05^{a}	1.36±0.12^{a}	1.39±0.06^{a}	1.28±0.09^{a}	1.5±0.10^{a}	1.55±0.14^{a}	1.45±0.14a	1.25±0.02^{a}	1.15±0.05^{a}	0.47±0.18^{a}	0.21±0.14^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a, ab, b ที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ 2 ขนาดเซลล์ของ *Chaetoceros calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดอาหาร	ขนาดเซลล์ของ *C. calcitrans* (ไมโครเมตร) ± SD ในวันต่างๆ ที่เพาะเลี้ยง														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Miquel	4.01±0.02^{a}	3.93±0.01^{a}	4.6±0.01^{a}	4.37±0.02^{a}	4.6±0.09^{a}	4.97±0.03^{a}	4.3±0.06^{a}	4.17±0.05^{a}	4.6±0.08^{a}	5.07±0.00^{a}	4.17±0.05^{a}	4.87±0.01^{a}	4.53±0.02^{a}	4.87±0.01^{a}	4.80±0.04^{a}
TMRL	3.97±0.04^{a}	4.2±0.04^{a}	5.27±0.01^{a}	4.9±0.02^{a}	5.1±0.02^{a}	4.8±0.04^{a}	4.3±0.04^{a}	4.17±0.05^{a}	4.47±0.02^{a}	4.83±0.01^{a}	4.37±0.02^{a}	4.8±0.04^{a}	4.63±0.02^{a}	5±0.01^{a}	4.73±0.06^{a}
F/2	3.81±0.1^{a}	3.97±0.06^{a}	4.57±0.02^{a}	4.13±0.05^{a}	4.23±0.01^{a}	4.9±0.02^{a}	4.07±0.00^{a}	4.57±0.02^{a}	4.9±0.02^{a}	5.03±0.01^{a}	4.9±0.02^{a}	4.73±0.01^{a}	5.03±0.01^{a}	4.63±0.02^{a}	4.8±0.05^{a}
Ketchem	4.1±0.03^{a}	4.03±0.03^{a}	4.17±0.05^{a}	4.43±0.13^{a}	4.97±0.03^{a}	4.23±0.17^{a}	4.13±0.05^{a}	4.33±0.01^{a}	4.73±0.06^{a}	4.2±0.04^{a}	4.8±0.04^{a}	4.77±0.05^{a}	3.77±0.01^{a}	4.13±0.07^{a}	4.27±0.05^{a}
Sato	4.26±0.05^{a}	4.77±0.05^{a}	4.57±0.02^{a}	4.2±0.04^{a}	4.67±0.10^{a}	5.03±0.01^{a}	4.4±0.09^{a}	4.33±0.02^{a}	4.73±0.01^{a}	4.57±0.02^{a}	4.63±0.02^{a}	4.13±0.16^{a}	4.13±0.07^{a}	4.17±0.05^{a}	4.27±0.05^{a}
Walne's	4.31±0.02^{a}	4.5±0.01^{a}	4.93±0.02^{a}	4.5±0.09^{a}	4.17±0.13^{a}	4.47±0.09^{a}	4.63±0.12^{a}	4.47±0.02^{a}	4.2±0.06^{a}	4.5±0.01^{a}	4.9±0.02^{a}	4.13±0.01^{a}	4±0.08^{a}	3.7±0.01^{a}	4.43±0.02^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a ภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ตารางที่ 3 ความสมบูรณ์ของเซลล์ *Chaetoceros calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

ชนิดอาหาร	ความสมบูรณ์ของเซลล์ *C. calcitrans* (%) ในวันต่างๆ ที่ทำการเพาะเลี้ยง														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Miquel	100	100	100	100	100	100	100	99.66	100	96.33	98.66	97.33	90	88.66	77.33
TMRL	100	100	100	100	99.66	100	100	100	99.33	100	97.66	98.66	94.33	87	74.33
F/2	100	100	100	100	99.33	100	99.33	100	97.33	100	99.33	98.33	94	89	84.33
Ketchem	100	100	100	100	92	100	88.96	100	95.66	99	99	98.66	98	89	61
Sato	100	100	100	100	98	99.66	96	100	100	100	99	98.66	80	70.66	55
Walne's	100	100	100	100	92.66	95.66	88.33	97.33	100	100	99.66	96.66	78	73.33	54

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่ใช้เพาะเลี้ยง *Chaetoceros calcitrans*

ชนิดอาหาร	ค่าความเป็นกรดด่าง ± SD ของอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ที่ใช้เพาะเลี้ยง *C. calcitrans*														
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Miquel	7.82±1.44^{c}	7.96±1.42^{c}	8.36±1.53^{c}	8.11±1.48^{c}	8.14±1.49^{c}	7.96±1.46^{c}	8.09±1.49^{c}	8.17±1.47^{c}	8.28±1.51^{c}	8.27±1.51^{c}	8.34±1.53^{c}	7.97±1.44^{c}	8.05±1.55^{c}	8.26±1.51^{c}	8.28±1.52^{c}
TMRL	7.91±1.45^{bc}	7.97±1.44^{bc}	8.28±1.52^{bc}	8.17±1.50^{bc}	8.2±1.50^{bc}	7.97±1.46^{bc}	8±1.47^{bc}	7.96±1.46^{bc}	8.06±1.47^{bc}	8.12±1.49^{bc}	8.09±1.49^{bc}	8.07±1.48^{bc}	8.16±1.49^{bc}	8.24±1.50^{bc}	8.2±1.5^{bc}
F/2	7.83±1.44^{c}	7.97±1.46^{c}	8.17±1.49^{c}	8.11±1.48^{c}	8.14±1.48^{c}	8.16±1.49^{c}	8.25±1.51^{c}	8.27±1.50^{c}	8.31±1.52^{c}	8.6±1.55^{c}	8.4±1.54^{c}	8.23±1.50^{c}	8.12±1.49^{c}	8.11±1.49^{c}	8.09±1.49^{c}
Ketchem	7.79±1.43^{ab}	7.91±1.41^{ab}	8.19±1.53ab	8.06±1.48^{ab}	7.97±1.45^{ab}	8±1.47^{ab}	7.96±1.46ab	8.02±1.47^{ab}	8.05±1.45^{ab}	8.14±1.52^{ab}	8.15±1.50^{ab}	7.81±1.43^{ab}	7.78±1.43^{ab}	7.96±1.46^{ab}	7.82±1.43^{ab}
Sato	7.84±1.44^{ab}	7.9±1.45^{ab}	8.14±1.48ab	7.94±1.46^{ab}	7.96±1.45^{ab}	8.01±1.47^{ab}	8.04±1.48ab	8.04±1.47^{ab}	8.08±1.49^{ab}	8.06±1.52^{ab}	8.01±1.47^{ab}	7.98±1.46^{ab}	7.86±1.44^{ab}	7.94±1.46^{ab}	7.78±1.42^{ab}
Walne's	7.88±1.43^{a}	7.86±1.42^{a}	8.15±1.55^{a}	7.84±1.44^{a}	7.98±1.46^{a}	7.93±1.46a	7.97±1.46^{a}	8.03±1.48^{a}	8.04±1.48^{a}	8.01±1.47^{a}	7.96±1.46^{a}	7.82±1.43^{a}	7.81±1.43^{a}	7.9±1.45^{a}	7.76±1.42^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษร a, ab, b, c ที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 อัตราการเจริญจำเพาะและระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของ *C. calcitrans* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

อาหาร	อัตราการเจริญจำเพาะ (วัน$^{-1}$)	ระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (วัน)
Miquel	0.96	0.72
TMRL	0.3	2.31
F/2	0.37	1.87
Ketchem	0.38	1.82
Sato	0.44	1.56
Walne's	0.69	1.00

ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 3) ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ อยู่ในช่วง 7.5-8.5 (ตารางที่ 4) ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *C. calcitrans* (ลัดดา วงศ์รัตน์ และโสภณา บุญญาภิวัฒน์, 2546) ส่วนอัตราการเจริญจำเพาะและระยะเวลาในการแบ่งเซลล์สองเท่าของสาหร่าย พบว่าอาหาร Miquel medium จะทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดและใช้ระยะในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าแต่ละครั้งสั้นที่สุด รองลงมาคืออาหาร Walne'smedium อาหาร Sato and Serikawa medium ตามลำดับ (ตารางที่ 5) ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *C. calcitrans* ส่วนใหญ่จะมุ่งเน้นในเรื่องของปริมาณเซลล์ที่สูงและใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสั้นที่สุด เมื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบข้อมูลทางสถิติของปริมาณเซลล์ของ *C. calcitrans* ในอาหารชนิดต่างๆ จะเห็นได้ว่าอาหาร Miquel medium เป็นอาหารที่ดีที่สุดต่อการเจริญของ *C. calcitrans* เนื่องจากมีปริมาณเซลล์สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ และใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งสั้นที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rengarajan (1996) ที่กล่าวว่าอาหาร Miquel เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของไดอะตอมและนาโนแพลงก์ตอน สำหรับในอาหาร TMRL medium และอาหาร F/2 medium จากการทดลองนี้จะทำให้สาหร่ายมีปริมาณของเซลล์สูงแต่จะใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่านานกว่าอาหารชนิดอื่นๆ ส่วนอาหาร Ketchum and Redfield medium อาหาร Sato and Serikawa medium และ อาหาร Walne'smedium สาหร่ายจะใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสั้น แต่มีปริมาณของเซลล์ต่ำ อาหาร Miquel medium เป็นอาหารที่ทำให้ *C. calcitrans* สายพันธุ์จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา มีปริมาณเซลล์สูงที่สุดและอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุด รวมทั้งมีระยะเวลาในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้งสั้นที่สุด อาจเนื่องมาจากอาหาร Miquel medium เป็นอาหารที่มีแร่ธาตุต่างๆ ในปริมาณที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *C. calcitrans* สายพันธุ์นี้ เพราะเมื่อนำเอาสูตรอาหารแต่ละชนิดมาเปรียบเทียบกันส่วนใหญ่มีชนิดของธาตุอาหารไม่ต่างกันมากนักต่างกันแต่เพียงปริมาณที่ใช้เท่านั้น สำหรับในอาหาร Walne'smedium นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการสำหรับการบำรุงรักษาหัวเชื้อที่จะนำไปใช้ในบ่อเลี้ยง ซึ่งมักจะใช้ในการเพาะเลี้ยง *Isochrysis, Tetraselmis, Monochrysis* และ *Dicrateria* อาหาร TMRL medium ส่วนใหญ่เป็นอาหารที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงนาโนแพลงค์ตอนกลุ่มแฟลกเจลเลต (Rengarajan, 1996)

การเพาะเลี้ยง *Chaetoceros* ในปัจจุบันมีผู้สนใจทำในเชิงธุรกิจมากขึ้นอาหารที่ใช้นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงมีด้วยกันหลายชนิด เช่น อาหาร Walne's medium อาหาร TMRL medium และอาหาร F/2 medium เป็นต้นเนื่องจากอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดมีราคาต้นทุนสูง ราคาอาหารจึงเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อเลือกใช้อาหารในการเพาะเลี้ยง *Chaetoceros* จากการทดลองเพาะเลี้ยง *C. calcitrans* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าอาหาร Miquel medium มีราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงต่ำที่สุด ตามด้วยอาหาร Sato and Serikawa medium TMRL medium F/2 medium และ Walne'smedium ตามลำดับ ซึ่งอาหาร Walne's medium มีราคาต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสูงที่สุด เนื่องจากแร่ธาตุที่เติมลงไปบางชนิด เช่น ไบโอติน (Biotin) Thiamine HCl และ Cyanocobalamin จะมีราคาสูงจึงทำให้มีต้นทุนในการเพาะเลี้ยงสูงขึ้น ดังนั้นจากผลการทดลองนี้อาหาร Miquel medium จึงเป็นอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยง *C. calcitrans* จากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ในระดับห้องปฏิบัติการ

เนื่องจากให้ปริมาณเซลล์ อัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดและเซลล์ยังสามารถแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าได้เร็วที่สุด รวมทั้งเมื่อเปรียบเทียบราคาต้นทุนของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นๆ

สรุปผลการวิจัย

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. calcitrans* ในอาหารชนิดต่างๆ พบว่าใน Miquel medium ให้ปริมาณเซลล์ของ *C. calcitrans* สูงที่สุดเท่ากับ $4.59\pm0.38\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรรองลงมาคือ F/2 medium ให้ปริมาณเซลล์เท่ากับ $3.49\pm0.20\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร TMRL medium ให้ปริมาณเซลล์เท่ากับ $3.3\pm0.20\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร Ketchum and Redfield medium ให้ปริมาณเซลล์เท่ากับ $2.24\pm0.14\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร Walne' smedium ให้มีปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.92±0.01 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนในอาหาร Sato and Serikawa medium ให้ปริมาณเซลล์น้อยที่สุดเท่ากับ $1.78\pm0.03\times10^6$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับเมื่อนำมาคำนวนหาค่าอัตราการเจริญจำเพาะและระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าของ *C. calcitrans* พบว่าในอาหาร Miquel medium มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุดเท่ากับ 0.96 ต่อวัน ใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสั้นที่สุดเท่ากับ 0.72 วัน ส่วนอาหาร TMRL medium มีอัตราการเจริญจำเพาะต่ำที่สุดเท่ากับ 0.3 ต่อวัน และใช้ระยะเวลาในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าสูงที่สุดเท่ากับ 2.31 วัน

เอกสารอ้างอิง

ชูตา บุญภักดี. (2543). *กล้องจุลทรรศน์และการลงรายการ; ปฏิบัติการชีววิทยาทั่วไป* 1. ชลบุรี: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

วัฒนาลัย ปานบ้านเกร็ด และสรวง อุดมวรภัณฑ์ (2536). *หนังสือคู่มือปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพ "เทคนิคทางอณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรม" เล่มที่ I*. โรงพิมพ์สาธารณสุขมูลฐานอาเซี่ยน มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา.

ลัดดา วงศ์รัตน์ และโสภณา บุญญาภิวัฒน์. (2546). *คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ลัดดา วงศ์รัตน์. (2544). *แพลงก์ตอนพืช*. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิเชียร กิจปรีชาวนิช. (2539). *เอกสารคำสอนวิชาสรีรวิทยาของจุลินทรีย์*. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Banerjee, S., Hew, W. E., Khatoon, H., Shariff, M. & Yusoff, F. Md. (2011). Growth and proximate composition of tropical marine *Chaetoceroscalcitrans* and *Nannochloropsisoculata* cultured outdoors and under laboratory conditions. *African Journal of Biotechnology. 10*, 1375-1383.

Cho, S. H., Ji, S. C., Hur, S. B., Dae, J., Pake, I. S., & Song, Y. C. (2007). Optimum temperature and salinity conditions for growth of green algae *Chlorella ellipsoidea and Nannochlorisoculata. Fisheries Science, 73*, 1050-1056.

Creswell, L. (2010). Phytoplankton culture for aquaculture feed. *Southern Regional Aquaculture Center, 5004*, 1-13

Gopinathan, C. P. (1982). Methods of culturing phytoplankton. In: Manual of research methods for fish and shellfish nutrition. *Centralmarine fisheries research insttitute, 8*, 113-118.

Guillard, R. & Ryther, J. (1962). Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonulaconfervacea* Cleve. *Canadian Journal of Microbiology, 8*, 229-239.

Miquel, P. (1982). De la culture artificielle des diatomees. *ComptesRendus de l'Acadeémie des Sciences, 94*, 1-780.

Raghavan, G., Haridevi, C. K., & Gopinathan, C. P. (2008). Growth and proximate composition of the *Chaetoceroscalcitransf. pumilus* under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. *Aquaculture Research, 39*, 1053-1058.

Rengarajan, K. (1996). Artificial reefs seafarming technologies. *Aquaculture Research, 48*, 120-126

Susan B. G. (2005). Using SPSS for Windows. *Data Analysis and Graphics. 32*, 63.

Walne, P. R. (1974). *Culture of bivalve mollusks: 50'year experience at Conway* West Byfleet : Fishing News [for the Buckland Foundation].

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University