หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

การอภิปรายผลการทดลอง

1. การแยกสายพันธุ์สาหร่ายสไปรูไลน่า

สาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) ทั้งสองสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองอันได้แก่ สายพันธุ์ที่ได้จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา กับสายพันธุ์ ซึ่งแยกจากน้ำในบ่อเลี้ยงเต่านั้นมีลักษณะเป็น unialgal culture ไม่มีการปนเปื้อนของสาหร่ายชนิดอื่น แต่จะมีแบคทีเรียและราบางชนิดปนเปื้อนอยู่บ้าง การปนเปื้อนดังกล่าวไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลน่าขณะทำการทดลองแต่อย่างใด เนื่องจากสาหร่ายสามารถเจริญได้ดีมากในการทดลอง การแยกสาหร่ายให้เป็น unialgal culture นี้เป็นการประยุกต์ใช้วิธีของ Hoshaw and Rosowski (1973) อย่างไรก็ตามผู้เขียนได้เคยทำการทดลองด้วยวิธีเช่นเดียวกันนี้ และพบว่าไม่สามารถใช้แยกสาหร่ายสไปรูไลน่าซึ่งได้จากแหล่งน้ำธรรมชาติอื่น ๆ เช่น บ่อเลี้ยงปลา บ่อน้ำทิ้งจากบ้านเรือน หรือน้ำจากบ่อธรรมชาติอื่นที่มีสาหร่ายสไปรูไลน่าในปริมาณน้อย ๆ ได้ในสภาวะการทดลองที่ใช้อยู่ อย่างไรก็ตามสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์นับว่ามีความทนทานพอที่จะใช้วิธีดังกล่าวในการทดลอง สาหร่ายจากโครงการส่วนพระองค์เป็นสาหร่ายที่ใช้ในการทดลองในโครงการต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับสาหร่ายสไปรูไลน่า โดยทำการเลี้ยงในลักษณะบ่อใหญ่ จึงมีการปนเปื้อนของสาหร่ายหรือไดอะตอมหลายชนิด ดังนั้นการนำมาแยกทำ unialgal จึงเป็นไปได้ง่าย ส่วนสาหร่ายสไปรูไลน่าจากน้ำในบ่อเลี้ยงเต่านั้นพบว่ามีสาหร่ายสไปรูไลน่าเป็น dominant species ในแหล่งน้ำก่อนนำมาทำ unialgal ได้นำมาเลี้ยงในอาหารสูตรมาตรฐานของ Zarrouk ก่อน สาหร่ายจึงสามารถเจริญได้ดี

จากการศึกษาโครงสร้างภายนอกของ trichome ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของสาหร่ายสไปรูไลน่าทั้งสองสายพันธุ์พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน (รูปที่ 2, 3) นอกจากสาหร่ายจากบ่อน้ำเลี้ยงเต่าจะมีขนาดของ trichome เล็กกว่า สาย trichome ของสาหร่ายทั้งสองมีลักษณะเป็น Spiral เมื่อเจริญเต็มที่จะมีจำนวนเกลียวอยู่ระหว่าง 2-4 เกลียว สำหรับสาหร่ายจากสวนจิตรลดาซึ่งเป็นสไปรูไลน่าที่มีขนาดใหญ่ ในสายที่สมบูรณ์เต็มที่อาจมีได้ถึง 5-6 เกลียว ขนาดของ trichome เมื่อทำการเพาะเลี้ยงในความเข้มแสง 2500 ลักซ์สำหรับสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา มีความยาว trichome ระยะห่างระหว่างเกลียว และความกว้างของเกลียวอยู่ในช่วง 354-480, 107-154 และ 87-95 ไมโครเมตรตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์จากบ่อเลี้ยงเต่า ขนาดของ

trichome มีค่า 175-212, 64-83 และ 40-46 ไมโครเมตรตามลำดับ

การเก็บข้อมูลโดยวัดการดูดกลืนแสง (optical density) ที่ความยาวคลื่นแสง 560 นาโนเมตร และวัดค่าโปรตีนทั้งหมด (total protein) ซึ่งเป็นวิธีการทดสอบทางชีวเคมีของ Lowry พบว่าเป็นการแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงการเจริญของสาหร่ายได้ทั้งสองวิธี ดังนั้นเพื่อให้การเสนอข้อมูลไม่ซ้ำซ้อน จึงได้เลือกใช้ข้อมูลของการดูดกลืนแสงในการแสดงผลการเจริญของสาหร่าย สาเหตุในการเลือกใช้ข้อมูลของการดูดกลืนแสงเนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ใช้เวลาน้อยและเป็นที่ยอมรับทั่วไป ในการศึกษาการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลน่าในระดับห้องปฏิบัติการ Venkataraman (1983) กล่าวว่าความแม่นยำของการวัดการเจริญของสาหร่ายด้วยวิธีนี้ ขึ้นอยู่กับความถูกต้องของวิธีการวัดความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่าง ขนาดและการกระจายตัวของสาหร่ายในสารละลาย นอกจากนี้การเลือกความยาวคลื่นของแสงที่ใช้ในการวัด ต้องไม่อยู่ในช่วงความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงของรงควัตถุของสาหร่าย เช่นในกรณีของสาหร่ายสไปรูไลน่าให้เลือกใช้ความยาวคลื่นที่ 560 นาโนเมตร ฯลฯ Venkataraman ยังได้กล่าวว่าการวัดการดูดกลืนแสงมีความสะดวกรวดเร็วกว่าการวัดการเจริญโดยใช้น้ำหนักแห้งของสาหร่าย แม้จะให้ผลดีใกล้เคียงกันก็ตาม

2. ผลของแสงที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย

แสงนับว่ามีผลต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลน่า จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มแสงต่ำสุดที่ใช้ในการทดลองคือ 2500 ลักซ์ สาหร่ายมีอัตราการเจริญต่ำสุด โดยการเจริญเป็นไปอย่างช้า ๆ ตั้งแต่เริ่มวันแรกจนถึงวันสุดท้ายของการทดลอง แนวโน้มของการเจริญจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ ในระดับที่ค่อนข้างจะคงที่ เมื่อเปรียบเทียบกับผลของการเจริญของ 5000, 7500 และ 10000 ลักซ์ ซึ่งสาหร่ายสามารถเจริญขึ้นอย่างรวดเร็วแสงทั้งสาม ความเข้มนี้นับว่าเพียงพอต่อการเจริญของสาหร่ายโดยสาหร่ายสามารถเจริญนานได้จนถึงประมาณวันที่ 8 สำหรับสาหร่ายจากสวนจิตรลดาและวันที่ 10 สำหรับสาหร่ายจากน้ำในบ่อเลี้ยงเต่าความหนาแน่นของสาหร่ายก็เริ่มเป็นจำกัดการเจริญ Ciferri (1983) กล่าวว่าการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูไลน่าในห้องปฏิบัติการ ความเข้มแสงที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 8000-10000 ลักซ์ Venkataraman (1983) ใช้แสงความเข้ม 7000 ลักซ์ในการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูไลน่าในห้องปฏิบัติการ ในการทดลองครั้งนี้ความเข้มแสงเพียง 5000 ลักซ์ ก็นับว่าเพียงพอที่จะทำให้สาหร่ายสไปรูไลน่าเจริญได้อย่างดีเทียบเท่าความเข้มแสงที่ 7500 หรือ 10000 ลักซ์ อย่างไรก็ตามในการทดลองขั้นต่อ ๆ ไปเราได้เลือกใช้ความเข้มแสง 10000 ลักซ์ในการทดลอง เพราะนอกจากจะให้อัตราการเจริญสูงสุดแล้วในการทดลองชุดต่อ ๆ ไปนี้จำเป็นต้องใช้จำนวนขวดในการทดลองเพิ่มขึ้น การเปิด

ให้แสงที่ความเข้มเพียง 5000 หรือ 7500 ลักซ์นั้นจะไม่เพียงพอเนื่องจากมีการบังกันของขวดทดลองดังนั้นจึงเลือกเปิดไฟให้ความเข้มแสงเต็มที่ประมาณ 10000 ลักซ์ เมื่อวางขวดทดลองมากขึ้นแล้วทำการวัดความเข้มแสง จะพบว่าปริมาณความเข้มแสงที่ตกมาถึงที่ตั้งของขวดจะอยู่ในช่วงประมาณ 6000 - 7000 ลักซ์ เท่านั้น

แสงนอกจากจะมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเจริญของสาหร่ายอันเป็นผลมาจากการสังเคราะห์แสงแล้ว การตอบสนองต่อแสงในด้านอื่น ๆ ไม่ชัดเจนเนื่องจากไม่ได้ทำการศึกษา เช่น อิทธิพลของแสงต่อการลอยตัวของสาหร่ายเนื่องจากมีการกวนให้อากาศโดยเครื่องปั๊มอากาศตลอดเวลา อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตที่น่าสนใจคือ ในการเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการครั้งนี้ พบว่าเมื่อใดก็ตามที่การเจริญของสาหร่ายเริ่มคงที่หรือลดลง จะพบสาหร่ายบางส่วนเกาะกันและรวมกันเป็นก้อน ๆ และเกิดการตกตะกอนทำให้จำนวนสาหร่ายที่แขวนลอยอยู่ในน้ำลดจำนวนลง (สังเกตค่าการดูดกลืนแสงจะลดลง) นอกจากนี้สีของสาหร่ายที่เกาะกันเป็นก้อนเริ่มซีดลงอาจเนื่องมาจากรงควัตถุในเซลล์เริ่มลดลง ดังนั้นการสังเคราะห์แสงย่อมลดลงตาม สาหร่ายที่มีลักษณะเช่นนี้เมื่อเลี้ยงต่อไปถึงระยะหนึ่งจะมีลักษณะเช่นนี้ทั้งขวด และจะตายไปในที่สุด

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อขนาด trichome ของสาหร่ายสไปรูไลน่ายังมีไม่มาก Richmond (1983) กล่าวว่าปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมมีผลต่อลักษณะรูปร่างของสาหร่ายขนาดเล็กเป็นอย่างมาก การเปลี่ยนแปลงขนาดรูปร่างนี้มีบทบาทสำคัญต่อการเลี้ยงสาหร่ายในระดับอุตสาหกรรมโดยเฉพาะในสาหร่ายสไปรูไลน่า ทั้งนี้เพราะความยาวของ trichome จะมีความสัมพันธ์กับวิธีการเก็บเกี่ยวสาหร่ายว่าจะทำได้ยากง่ายเพียงใด ในการทดลองเรื่องอิทธิพลของแสงที่มีต่อขนาดของ trichome ในสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์พบว่าจะมีผลการทดลองตรงกันข้าม สาหร่ายสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดาที่ความเข้มแสงต่ำ (2500 ลักซ์) ทำให้ขนาดของ trichome ใหญ่ขึ้น ในขณะที่ความเข้มแสงสูงขนาด trichome เล็กลง [รูปที่ 9-11 (ก) และตารางที่ 3-5 (ก) ในภาคผนวก] ในการศึกษาของ Hoffman และ Demoulin (1985) พบว่าสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว family Scytonemataceae มีความยาวของเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อลดความเข้มแสง อย่างไรก็ตามสาหร่ายอีกสายพันธุ์คือสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) จากบ่อน้ำเลี้ยงเต่าเมื่อเลี้ยงในความเข้มแสงสูงตั้งแต่ 5000-10000 ลักซ์ ขนาดของ trichome จะมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อเลี้ยงในความเข้มแสงต่ำ 2500 ลักซ์ โดยความเข้มแสงที่ 7500 ลักซ์ทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่มากกว่าความเข้มแสงอื่น ๆ [รูปที่ 9-11 (ข) และตารางที่ 3-5 (ข)] จากการทดลองจะเห็นว่าขนาดเริ่มต้นของการทดลองแต่ละความเข้มแสงของสาหร่ายไม่เท่ากัน แต่อย่างไรก็ตามก็นับว่าไม่แตกต่างกันมากนัก ทั้งนี้คงนับว่าเป็นปัญหา

ของเชื้อเริ่มต้น ซึ่งในความเป็นจริงได้มีการควบคุมสภาวะในการเลี้ยงและอายุของเชื้อเริ่มต้นให้ใกล้เคียงกัน ในสาหร่ายสายพันธุ์จากสวนจิตรลดาสังเกตพบว่าตั้งแต่เริ่มวันแรกของการทดลองถึงวันที่การเจริญเริ่มลดลง ขนาดของ trichome ไม่ว่าจะเป็นความยาว ระยะห่างระหว่างเกลียว และความกว้างของเกลียวมีความแตกต่างกันน้อย แต่ในช่วงที่การเจริญเริ่มคงที่ คือหลังจากมีการเจริญสูงสุดแล้วนั้น จำนวนประชากรสาหร่ายมีความหนาแน่นขึ้น ช่วงนี้จะพบว่าความยาวของ trichome เริ่มลดลงในขณะที่ระยะห่างระหว่างเกลียวและความกว้างของเกลียวไม่เปลี่ยนแปลง

3. ผลของความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย

การปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของสารละลายอาหาร ที่ใช้ในเลี้ยงสาหร่ายไม่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา แต่มีผลต่อการเจริญของสาหร่ายจากน้ำในบ่อเลี้ยงเต่าเมื่อปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ 7 และ 11 โดยพบว่าที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของสารละลายอาหารที่ 11 สาหร่ายสไปรูไลน่ามีอัตราการเจริญได้ต่ำสุด เมื่อดูการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายอาหารประกอบ พบว่าสารละลายอาหารมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 10.98 - 11.87 ผลการทดลองดังกล่าวนับว่าสอดคล้องกับรายงานของ Ciferri (1983) ซึ่งกล่าวว่าที่ความเป็นกรด-ด่างของสารละลายอาหารที่ 11.3 จะพบว่าสาหร่ายมีการเจริญน้อย สาหร่ายสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา นับว่ามีความสามารถทนทาน แม้ว่าในค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารสูงมากกว่า 11 ก็พบว่ามีการเจริญเป็นปกติ [รูปที่ 12 (ก) และ 13] ผลการวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายอาหารทั้งที่เติมสาหร่ายและไม่เติมสาหร่าย ทำให้เราอธิบายการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้สมการของ Schneider ได้เป็นอย่างดี ตามที่ Fox (1983) ได้กล่าวไว้ถึงระบบบัฟเฟอร์ของสารละลายอาหารในรูปของ CO_2 - H_2CO_3 - HCO_3^- - CO_3^{2-} system จะเห็นว่าผลการทดลองค่าความเป็นกรด-ด่างที่ปรับไว้เริ่มต้นเป็น 7, 8, 10 หรือ 11 จะพยายามที่จะปรับสมดุลค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่าประมาณ 9 การทดลองพบว่าในช่วงต้นที่สาหร่ายมีการเจริญนั้น ความเป็นกรด-ด่างจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ แสดงว่ามีได้การใช้แหล่งคาร์บอนซึ่งอาจเป็นคาร์บอนในรูป HCO_3^- หรือการที่ HCO_3^- เปลี่ยนไปเป็น CO_2 ดังที่ Fox ได้กล่าวไว้ก็ตาม จะเกิด OH^- ขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายอาหารสูงขึ้นตาม มีข้อน่าสังเกตว่าประมาณวันที่ 8 หรือ 10 ของการทดลองค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มอยู่ในช่วงที่ค่อนข้างจะคงที่การเพิ่มขึ้นมีน้อย (รูปที่ 17) เมื่อดูเปรียบเทียบกับกราฟการเจริญโดยวัดการดูดกลืนแสง (รูปที่ 12) จะพบว่าเป็นช่วงที่สาหร่ายเริ่มมีการเจริญลดลงเช่นกัน ดังที่ Foxได้แนะนำให้ใช้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารดูความต้องการปริมาณคาร์บอนว่าเพียงพอหรือไม่ โดย

เมื่อใดที่ค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้นถึง 10 นั่นย่อมแสดงว่าปริมาณคาร์บอนไม่เพียงพอ

ผลการเปลี่ยนแปลงขนาด trichome ของสาหร่ายอันเนื่องมาจากการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นต่าง ๆ กัน ไม่ปรากฏเด่นชัดเท่าใดนัก แม้ว่าสาหร่ายสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นของสารละลายอาหารที่ 11 ขนาดของ trichome จะเล็กกว่าเมื่อสารละลายปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นค่าอื่น ๆ ก็ตาม ส่วนสาหร่ายจากบ่อน้ำเลี้ยงเต่าแม้ว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นจะมีผลทำให้การเจริญแตกต่างกันที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นบางค่า แต่ก็ไม่ทำให้ขนาด trichome โดยเฉลี่ยแตกต่างกัน

4. ผลของความเค็มที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย

การศึกษาถึงอิทธิพลของความเค็ม ที่มีต่อสาหร่ายสไปรูไลน่า โดยให้มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในสูตรอาหาร ในปริมาณ 0, 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30 และ 35 กรัมต่อลิตร ในขณะที่อาหารสูตรมาตรฐานของ Zarrouk มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพียง 1 กรัมต่อลิตรเท่านั้น ผลการทดลองพบว่าความเค็มในช่วงที่ทำการทดลองไม่ทำให้การเจริญหรือการเพิ่มจำนวนของสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์แตกต่างกัน แม้ว่าอาหารไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์หรือมีการเติมโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 35 กรัมต่อลิตรก็ตาม (รูปที่ 19-22) ดังนั้นสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์น่าจะจัดเป็นสาหร่ายที่ทนความเค็ม (halotolerant algae) ได้พวกหนึ่ง ผลการทดลองดังกล่าวนับว่าสอดคล้องกับการศึกษาของใจทิพย์ พินิจค้า (2532)ซึ่งพบว่าสาหร่ายสไปรูไลน่าสามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ 20 และ 30 กรัมต่อลิตร แต่การเจริญดังกล่าวลดลงเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลานานขึ้น สาหร่ายที่ทนความเค็มนี้จะมีกลไกลการตอบสนองที่ทำให้มีการปรับตัวจึงสามารถเจริญในอาหารที่มีความเค็มสูงได้ (Richmond, 1986) Warr และคณะ (1985) ทำการศึกษาเพื่อดูการทนทานและการปรับตัวของ Spirulina platensis พบว่า ความเค็มถึง 150% ของความเค็มในน้ำทะเลมีผลต่อการเจริญ และการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายน้อยมาก ทั้งนี้เนื่องจากการที่ S. platensis สามารถปรับตัวโดยการสะสมคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอย่าง glucosyl glycerol ในเซลล์เพื่อตอบสนองต่อการเพิ่มของความเข้มภายนอกเซลล์ได้ การสะสม glycosyl glycerol ของสาหร่ายสไปรูไลน่าดังกล่าวก็ได้มีการศึกษาพบในสาหร่ายสไปรูไลน่า ซึ่งเก็บมาจากน้ำทะเลเหนือ (North Sea) โดยการศึกษาของ Stal และ Reed ในปี 1987 เช่นกัน

อย่างไรก็ตาม Terekhova และคณะ (1986) ได้ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญ และการทำงานของเอนไซม์ใน S. platensis พบว่าการเติมโซเดียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 400 mM (23.38 กรัมต่อลิตร) ทำให้การเจริญและ

กิจกรรมของเอนไซม์ ribulose diphosphate corboxylase ลดลง ในขณะที่การทำงานของเอนไซม์ phosphoenolpyruvate carboxylase เพิ่มขึ้น และในการศึกษาของ Vonshak และคณะ (1988) พบว่าสาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) ซึ่งได้รับอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 0.5 M (29.22 กรัมต่อลิตร) หรือในความเข้มข้นเกลือที่สูงกว่าสาหร่ายจะหยุดการเจริญ โดยพบว่าการสังเคราะห์แสงและการหายใจได้ถูกยับยั้ง

โดยทั่วไปน้ำทะเลมีเกลืออยู่ประมาณ 3 % (30 กรัมต่อลิตร , Giese, 1979) หรือ 35 กรัมต่อลิตร (Fox, 1983) จากคุณลักษณะการทนต่อความเค็มดังกล่าว Fox (1983) ได้คิดอาหารสูตรน้ำทะเล (Sea Water Cuture Medium) เพื่อใช้เลี้ยงสไปรูไลน่าในห้องปฏิบัติการ ในอาหารสูตรดังกล่าวมีเกลืออยู่ในปริมาณ 7 กรัมต่อลิตร Fox พบว่าสาหร่ายสไปรูไลน่าสามารถเจริญเติบโตได้ดี นับเป็นการพัฒนาการเลี้ยงสไปรูไลน่าหนทางหนึ่ง เนื่องจากอาหารสูตรน้ำทะเลนี้มีการเติมสารประกอบอื่น ๆ ในปริมาณเล็กน้อยเท่านั้น

ข้อดีอีกอันหนึ่งของสาหร่ายที่ทนต่อความเค็มตามการศึกษาของ Gimmler (1981) พบว่าสาหร่ายที่ทนความเค็มสูงนั้นมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่อเซลล์มากกว่าสาหร่ายที่ทนความเค็มต่ำซึ่งทำให้สามารถเจริญได้ดีในที่มีความเข้มแสงสูงขึ้น ดังนั้นสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์ซึ่งสามารถทนความเค็มได้สูงนี้ นับได้ว่าเป็นสายพันธุ์ที่เหมาะที่จะนำมาเพาะเลี้ยงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศไทย ซึ่งอยู่ในเขตร้อน และได้รับแสงซึ่งมีความเข้มมากเกือบตลอดทั้งปี

จากการทดลองอิทธิพลที่ความเค็มมีผลต่อขนาดของ trichome ผลการทดลองค่อนข้างจะชัดเจนโดยเฉพาะความยาวของ trichome ทั้งในสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา และจากบ่อน้ำเลี้ยงเต่า กล่าวคือ สาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) ที่เลี้ยงในสารละลายอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์สูงตั้งแต่ 5 - 35 กรัมต่อลิตร ความยาวของ trichome ยาวกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงเมื่อสารละลายอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ต่ำในช่วง 0-1 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 23-28 และตารางที่ 14-19 ในภาคผนวก) มีการศึกษาพบการเปลี่ยนแปลงขนาดของสาหร่ายสไปรูไลน่าอันเนื่องมาจากอิทธิพลของความเค็มในการศึกษาของใจทิพย์ พินิจค้า (2532) เช่นเดียวกัน สาเหตุอาจเนื่องจากเซลล์ของสาหร่ายที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเค็มสูงได้มีการสะสมสารบางชนิด ซึ่งทำให้ของเหลวภายในเซลล์มีความเข้มข้นมากกว่าสภาพแวดล้อมภายนอก เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำจากเซลล์สู่ภายนอก (Richmond, 1986 อ้างถึงใน ใจทิพย์ พินิจค้า, 2532) ดังนั้นการที่สาหร่ายมีขนาดเกลียวใหญ่ขึ้นจึงเนื่องจากเซลล์มีขนาดเพิ่มขึ้น ซึ่งเนื่องมาจาก

การละลายสารบางชนิดภายในเซลล์มีมาก จนกระทั่งมีความเข้มข้นมากกว่าอาหารภายนอก จึงทำให้น้ำแพร่เข้าสู่เซลล์ (ใจทิพย์ พินิจค้า, 2532)

5. ผลของปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่มีต่อการเจริญ

การศึกษาปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ปริมาณ 1.05, 2.10, 4.20, 8.40, 16.80, 33.60 และ 50.40 กรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็น 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 และ 3 เท่าของปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ใช้ในอาหารสูตรมาตรฐานของ Zarrouk ตามลำดับ ในสาหร่ายสไปรูไลน่าทั้งสองสายพันธุ์ โซเดียมไบคาร์บอเนตในปริมาณ 1.05 กรัมต่อลิตรทำให้สาหร่ายมีการเจริญต่ำสุด อย่างไรก็ดีการเจริญของสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์ในช่วง 4-6 วันแรก ไม่ทำให้การเจริญของสาหร่ายที่เลี้ยงในโซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาณต่าง ๆ แตกต่างกัน แต่หลังจากช่วงต้นของการเลี้ยงสาหร่ายมีการเจริญลดลง แสดงว่าปริมาณคาร์บอนย่อมเป็นตัวจำกัดการเจริญของสาหร่ายในอาหารที่มีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตน้อย โดยเฉพาะเมื่อเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตเพียง 1.05 กรัมต่อลิตร ในการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูไลน่าเพื่อเป็นเชื้อเริ่มต้นสำหรับเลี้ยงในบ่อ Fox (1983) ได้ใช้อาหารสูตรน้ำทะเลซึ่งมีแอมโมเนียมไบคาร์บอเนต (NH_4HCO_3) ในปริมาณเพียง 0.125 กรัมต่อลิตร ก็พบว่าสาหร่ายเจริญได้ช้ามาก จึงได้มีการให้อากาศซึ่งเป็นการช่วยเพิ่ม CO_2 ที่มีในอากาศให้ละลายในน้ำมากขึ้น เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญ

ในอาหารสูตร CFTRI มีปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต 4.2 กรัมต่อลิตร ก็พบว่าสาหร่ายสามารถเจริญได้อย่างเป็นปกติ (Venkataraman, 1983) แต่สูตรอาหารดังกล่าวเหมาะสำหรับการเลี้ยงสาหร่ายเพื่อใช้ศึกษาหรือทดลอง ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ จากผลการทดลองปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ทำให้สาหร่ายเจริญได้สูงสุด คือ 33.60 กรัมต่อลิตร ที่ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต 50.40 กรัมต่อลิตรไม่ทำให้การเจริญของสาหร่ายเพิ่มขึ้นได้อีก ในการทดลองขั้นต่อไปจึงเลือกใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตในปริมาณ 33.60 กรัมต่อลิตรในอาหาร แม้ว่าปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต 33.60 กรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้โซเดียมไบคาร์บอเนตมีปริมาณเป็น 2 เท่าของปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตในสูตรอาหารมาตรฐานของ Zarrouk จะไม่ทำให้ผลการทดลองแตกต่างจากปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่ 16.80 และ 50.40 กรัมต่อลิตร เนื่องจากผลการทดลองที่ผ่านมาพบว่าการใช้โซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาณ 16.80 กรัมต่อลิตร สาหร่ายจะเริ่มถูกจำกัดการเจริญในช่วงประมาณวันที่ 10 ของการทดลอง ดังนั้นเพื่อไม่ให้ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตเป็นปัจจัยจำกัดการเจริญในช่วง 14 วันของการทดลองจึงเลือกใช้ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต 33.60 กรัมต่อลิตรดังกล่าว

จากการทดลองในสาหร่ายสายพันธุ์จากบ่อเลี้ยงเต่า ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตที่แตกต่างกันไม่ทำให้ขนาดของสาหร่ายแตกต่างกันอย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามในสาหร่ายสไปรูไลน่าสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่เท่ากับในอาหารสูตรมาตรฐานของ Zarrouk พบว่าทำให้สาหร่ายมีความยาวของ trichome ยาวกว่าที่ปริมาณโซเดียมไบคาร์บอเนตอื่น ๆ ส่วนระยะห่างระหว่างเกลียว และความกว้างของเกลียว มีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก

6. ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของสาหร่าย

การศึกษาเปลี่ยนแหล่งไนโตรเจน ที่เหมาะสมต่อการเจริญของสาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) โดยใช้โซเดียมไนเตรต ไดแอมโมเนียมทาร์เทรต ยูเรีย และไม่เติมแหล่งไนโตรเจนนั้น ผลการทดลองในสาหร่ายทั้งสองสายพันธุ์ แสดงค่อนข้างจะชัดเจนถึงผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย โซเดียมไนเตรตซึ่งใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหารของ Zarrouk และ CFTRI เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะที่สุด และได้รับเลือกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการทดลองต่อไป ในขณะที่ไดแอมโมเนียมทาร์เทรตและยูเรีย ทำให้การเจริญของสาหร่ายเป็นไปได้น้อยมาก โดยเฉพาะไดแอมโมเนียมทาร์เทรตไม่สามารถเป็นแหล่งไนโตรเจน ในการเลี้ยงสาหร่ายสไปรูไลน่า Richmond (1986) รายงานว่า NH_4^+ สามารถทำให้สาหร่ายเจริญได้ดีเท่ากับ NO_3^- แต่การใช้ไนโตรเจนในรูป NH_4^+ อาจเกิดผลข้างเคียงเนื่องจากการเกิดแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ขึ้นในอาหาร ซึ่งจะส่งผลต่อการลดการเจริญของสาหร่าย Soong (1980) ได้รายงานว่า ยูเรีย แอมโมเนีย หรือแอมโมเนียมซัลเฟต สามารถนำมาเลี้ยงสาหร่ายได้ สำหรับการทดลองชุดที่ไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจนในสารอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายกลับพบว่าสาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ในช่วง 6 วันแรกของการทดลองสำหรับสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา และในสายพันธุ์จากบ่อน้ำเลี้ยงเต่าดูเหมือนว่าสาหร่ายจะเจริญได้อย่างปกติ ผลการทดลองดังกล่าวอธิบายได้จากสมมุติฐานที่ว่าปริมาณไนโตรเจนที่มีในเชื้อเริ่มต้นที่เติมลงไปในการทดลอง ทำให้สาหร่ายสามารถเจริญอยู่ได้ เนื่องจากในการทดลองมีการเติมเชื้อเริ่มต้นที่เลี้ยงในอาหารเหลวตามสูตรอาหารของ Zarrouk ในปริมาณ 10% หรือปริมาณ 100 มิลลิลิตร ไนโตรเจนในส่วนนี้เองซึ่งเป็นไนโตรเจนในรูปของโซเดียมไนเตรต ที่สาหร่ายนำไปใช้ในการดำเนินชีวิตต่อไปได้ระยะหนึ่ง

7. ผลของปริมาณไนโตรเจนที่มีต่อการเจริญของสาหร่าย

การศึกษาปรับปริมาณโซเดียมไนเตรต ($NaNO_3$) ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนโดยปรับปริมาณโซเดียมไนเตรตเป็น 0, 0.625, 1.25, 2.50, 12.50 และ 25.00 กรัมต่อลิตร ทำให้มีโซเดียมไนเตรตเป็น 0, 0.25, 0.5, 1, 5 และ 10 เท่าของ

ปริมาณโซเดียมไนเตรตที่ใช้ในสูตรอาหารของ Zarrouk ในการทดลองชั้นนี้ได้มีการกำจัดปริมาณไนโตรเจนในเชื้อเริ่มต้นที่เติมในลักษณะของอาหารเหลวในการทดลอง (ดูวิธีการในวิธีการดำเนินการทดลอง) ผลการทดลองพบว่าการทดลองชุดที่ไม่มีการเติมไนโตรเจนในอาหาร สาหร่ายไม่สามารถเจริญได้ แม้ว่าในสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา สาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) จะสามารถเพิ่มการเจริญได้จนถึงวันที่ 4 ของการทดลอง (รูปที่ 39) ซึ่งอาจเนื่องมาจากการใช้รงควัตถุ phycocyanin ซึ่งมีอยู่ในเซลล์เป็นแหล่งคาร์บอน ดังที่ Richmond (1986) ได้เคยรายงานไว้ก็เป็นได้ Bussiba และ Richmond (1980) ได้พบว่าในเซลล์ของ S. platensis เอนไซม์ Protease ซึ่งสามารถย่อย phycocyanin จะถูกกระตุ้นให้ทำงานเมื่อขาดแคลนธาตุไนโตรเจน ส่วนในการทดลองชุดที่เติมโซเดียมไนเตรตในปริมาณมากถึง 25 กรัมต่อลิตร สาหร่ายสไปรูไลน่า (Spirulina sp.) ทั้งสองสายพันธุ์ไม่สามารถเจริญได้ สาเหตุอาจจะเกิดความเป็นพิษต่อการทำงานของเซลล์ของสาหร่ายก็เป็นได้ ในการทดลองของสาหร่ายสายพันธุ์จากโครงการส่วนพระองค์ สวนจิตรลดา ปริมาณโซเดียมไนเตรตที่ทำให้สาหร่ายมีการเจริญสูงสุดคือ 1.25 กรัมต่อลิตร แต่ก็ไม่ได้ทำให้ผลการเจริญแตกต่างจากโซเดียมไนเตรตที่ปริมาณ 0.625-12.5 กรัมต่อลิตร ในสูตรอาหารของ CFTRI ใช้โซเดียมไนเตรตในปริมาณ 1.50 กรัมต่อลิตร (Venkataraman, 1985) ก็พบว่าสาหร่ายสไปรูไลน่าสามารถเจริญได้อย่างปกติ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย