



ชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง
สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี
และจังหวัดสงขลา

Reproductive Biology and Some Chemical Compositions of Phom Nang Strain
Genus *Gracilaria* from Cultivation Pond in
Pattani and Songkhla Provinces

ปาริฉัตร สังข์ทอง
Parichat Sangtong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
of Master in Fishery Science and Technology
Prince of Songkla University
2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



ชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง
สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี
และจังหวัดสงขลา

Reproductive Biology and Some Chemical Compositions of Phom Nang Strain
Genus *Gracilaria* from Cultivation Pond in
Pattani and Songkhla Provinces

ปาริฉัตร สังข์ทอง
Parichat Sangtong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
of Master in Fishery Science and Technology
Prince of Songkla University
2563
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อเรื่อง ชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสายพันธุ์สาหร่าย
 ผมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี และจังหวัดสงขลา

ผู้เขียน นางสาวปาริฉัตร สังข์ทอง

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

คณะกรรมการสอบ

.....
 (รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

.....ประธานกรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.อนงค์ จีร์ภัทร์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....กรรมการ
 (รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย เหลืองธูปราณีต) (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย เหลืองธูปราณีต)

.....กรรมการ
 (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลธิ์ ชีวะเศรษฐกรรม)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง

.....
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟารุ่งแสง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณ
บุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือ

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวปาริฉัตร สังข์ทอง)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน
และไม่ได้ถูกใช้ในการยืนยันขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวปาริฉัตร สัมชทอง)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	ชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสายพันธุ์สาหร่าย ผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี และจังหวัดสงขลา
ผู้เขียน	นางสาวปาริฉัตร สังข์ทอง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีประมง
ปีการศึกษา	2562

บทคัดย่อ

สาหร่ายวุ้น *Gracilaria* ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการสกัดวุ้นและการบริโภค การศึกษาชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี และจังหวัดสงขลา เพื่อใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการเลี้ยงและการเพาะพันธุ์ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิต ที่เก็บเกี่ยวจากบ่อเลี้ยงช่วงปี 2560 จำนวน 34 ตัวอย่าง ในจังหวัดสงขลาและปัตตานี มาทำตัวอย่างอัดแห้งสำหรับศึกษาโครงสร้างภายในภายนอก โดยการแยกชนิดและลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ด้วยตาเปล่าและภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วยวิธีตัดขวางเนื้อเยื่อ และศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมโดยใช้ DNA และตัวอย่างบางส่วนนำไปตรวจสอบคุณค่าโภชนาการและธาตุอาหาร รวมทั้งมีการตรวจสอบคุณภาพน้ำจากบ่อเลี้ยงบางส่วน จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายวุ้นที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ *Gracilaria fisheri* S1 มาศึกษาการกระตุ้นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยใช้ต้นอ่อนจากทะเลสาบสปอร์ 30 ต้น ที่มีความสูง 2 ซม. เลี้ยงในพลาสติกขนาด 1 ลิตร ในห้องปฏิบัติการ สภาวะในการกระตุ้น ที่ละปัจจัยคือระดับความเค็ม 10, 20 และ 30 ppt ความเข้มแสง 20, 40 และ 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 0 และ 1% และความเข้มข้นของฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือไซโตไคนิน 6-benzyladenine และออกซิน 0.00, 0.05, 0.10 และ 0.50 mg L^{-1} การตรวจสอบซีสโทคาร์ปช่วงเริ่มต้นทำด้วยตาเปล่าในระหว่างการเลี้ยง และภาคตัดขวางเพื่อตรวจสอบลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ในช่วงเวลาสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง และได้ทดสอบประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงควอนตัมระบบการสังเคราะห์แสง II (Fv/Fm)

ผลการศึกษาพบสาหร่ายที่เลี้ยงมี 2 ชนิด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก คือ *Agarophyton tenuistipitata* (*Gracilaria tenuistipitata*) และ สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ *Gracilaria fisheri* S1 และ สาหร่ายหัวหยิก *Gracilaria fisheri* S2 ซึ่งทั้งสองชนิดได้มีการยืนยันด้วยวิธีการทางพันธุกรรมเป็นสาหร่ายชนิดเป็น *Agarophyton tenuistipitata* สำหรับชนิดแรก และ *Gracilaria changii* สำหรับ ชนิดหลังทั้งสองสายพันธุ์ จากการตรวจสอบคุณค่าโภชนาการของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด 3 สายพันธุ์ พบว่ามีปริมาณสารอาหารแตกต่างกัน *G. fisheri* S2 มีปริมาณโปรตีนและไขมันมากที่สุดร้อยละของน้ำหนักแห้งเท่ากับ 16.51 ± 0.14 และ 21.11 ± 0.41 ตามลำดับ *G. fisheri* S1 และ *G. fisheri* S2 มีปริมาณไขมันเท่ากับร้อยละ 0.54 ± 0.30 แต่สาหร่าย *G. fisheri* S1 มีปริมาณเยื่อใยมากที่สุด

ร้อยละ 22.01 ± 0.13 ส่วนสำหรับ *G. tenuistipitata* มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและความชื้นมากที่สุด ร้อยละ 58.01 ± 1.33 และ 6.31 ± 1.07 นอกจากนี้ยังพบ เหล็กในปริมาณร้อยละ 23.160 ± 2.141 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

ผลของปัจจัยทางกายภาพและทางเคมีที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศใน *G. fisheri* S1 พบว่าที่ ความเค็ม 20 ppt และความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ซีสโทคาร์ปได้ปรากฏให้เห็นเร็วใน สัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนในสภาวะการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืช ไม่สามารถสังเกตเห็นการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศในสาหร่าย การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการใช้แสง จากการเลี้ยงภายใต้ปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ความเค็ม ความเข้มแสง คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืช มีค่า F_v/F_m อยู่ในช่วง $0.54 \pm 0.09 - 0.63 \pm 0.14$, $0.46 \pm 0.11 - 0.56 \pm 0.18$, $0.49 \pm 0.09 - 0.65 \pm 0.07$ และ $0.50 \pm 0.15 - 0.60 \pm 0.09$ ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการกระตุ้นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ *G. fisheri* S1 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ นิยมเลี้ยง ควรใช้ความเค็มและปัจจัยความเข้มแสง ในขณะที่ คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืชอาจยับยั้งการสืบพันธุ์แบบมีเพศของสาหร่าย

Thesis Title	Reproductive Biology and Some Chemical Compositions of Phom Nang Strain Genus <i>Gracilaria</i> from Cultivation Pond in Pattani and Songkhla Provinces
Author	Miss Parichat Sangtong
Major Program	Fishery Science and Technology
Academic Year	2019

ABSTRACT

The agarophytic seaweed, *Gracilaria* is used as a raw material for agar extraction and consumption. A study on reproductive biology and some chemical compositions of Phom Nang strain genus *Gracilaria* from cultivation pond in Pattani and Songkhla province were conducted for the information to support the culture and the propagation. Thirty-four samples were collected from harvested production from earthen ponds in 2018 for study on external internal structures. Reproductive organs were observed with naked eyes and under a microscope on the cross-section of thalli and genetic characteristics using DNA were confirmed. The nutritional values were recorded for all. Water parameters from some ponds were determined. The most popular culture species, *Gracilaria fisheri* S1, then selected to study the stimulation of sexual reproduction by using 30 seedlings of 2 cm high from tetraspore to grow in a 1-liter flask with an armed tube to allow air inlet. The conditions to stimulate the reproductions by separating were salinity levels of 10, 20, and 30 ppt, the light intensity of 20, 40, and 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, the concentration of carbon dioxide 0 and 1%, and the concentration of plant hormones, namely cytokinin 6-benzyl adenine and auxin of 0.00, 0.05, 0.10 and 0.50 mg L^{-1} . The examination of the initial cystocarp of reproduction was observed by the naked eye during the cultured period and cross-section to investigate under the microscope on the characteristics of the reproductive cell was done in the final time. An efficiency of quantum yield of photosynthesis system II (Fv / Fm) was measured.

The taxonomic structures revealed that there are 2 species, 3 strains of *Gracilaria* from cultured ponds, namely *Agarophyton tenuistipitata* (*Gracilaria tenuistipitata*), *Gracilaria fisheri* S1, and *Gracilaria fisheri* S2. The DNA information was

declared in the same of *Agarophyton tenuistipitata* for prior species but declared as different species, *Gracilaria changii* for both strains of *G. fisheri*. Examining nutritional values was found to have different nutrient contents. The *G. fisheri* S2, had the highest protein and ash content with of 16.51 ± 0.14 and 21.11 ± 0.41 %, respectively. In *G. fisheri* S1 and *G. fisheri* S2 had the same fat content of $0.54 \pm 0.30\%$. The fiber in *G. fisheri* S1 contained a most maximum of 22.01 ± 0.13 % while the most carbohydrate and moisture in *G. teunistipitata* was a most maximum of 58.01 ± 1.33 and $6.31 \pm 1.07\%$.

The effect of stimulating by the physical and chemical factors on the sexual reproduction in *G. fisheri* S1, the cystoscopy was observed in all conditions of salinity and light intensity. At 20 ppt salinity and light intensity $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$, cystocarp showed that fastest in week 2 of culturing as a convex surface from the thallus surface. The male completed male structure and cystocarp were observed when there was a cross-section. Under the condition of filling carbon dioxide and both plant hormones were unavailable to observed sexual reproduction of in this alga. From culturing under various factors: light intensity, carbon dioxide and plant hormones provided Fv/Fm in the range of 0.54 ± 0.09 - 0.63 ± 0.14 , 0.46 ± 0.11 - 0.56 ± 0.18 , 0.49 ± 0.09 - 0.65 ± 0.07 and 0.50 ± 0.15 - 0.60 ± 0.09 respectively. This study suggests that the stimulated sexual reproduction of *G. fisheri* S1 which was popular strain should be used salinity and light intensity factors while chemicals such as carbon dioxide and plant hormones may inhibit the sexual reproduction of the alga.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องชีววิทยาการสืบพันธุ์และองค์ประกอบทางเคมีบางประการของสาหร่ายแพลงก์ตอนสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง จังหวัดปัตตานี และจังหวัดสงขลา จัดทำขึ้นจากการสนใจศึกษาในเรื่องสาหร่ายทะเลที่เป็นสาหร่ายเศรษฐกิจของประเทศไทย เพื่อให้ประกอบหลักสูตร เผยแพร่ความรู้แก่ผู้สนใจ ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ระพีพร เรืองช่วย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคชัย เหลืองธูปราณีต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะนำแนวทางในการดำเนินการทั้งการปฏิบัติ ทดลอง และรูปแบบการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ อนงค์ จิรภัทร์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชลธี ชีวะเศรษฐกรรม กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะนำแนวทางในการแก้ไขรูปแบบการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอบคุณแหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

1) ทุนสาขาความเป็นเลิศทางการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างยั่งยืน (Discipline of Excellence (DoE) in Sustainable Aquaculture มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัด สงขลา

2) ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี และบุคลากรวิชาเทคโนโลยีการประมงทุกท่าน ในการให้ความช่วยเหลืองานวิจัย และอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ ตลอดจนพื้นที่ในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา อีกทั้งขอขอบคุณกำลังใจที่สำคัญจากครอบครัว ทำวันนี้ ขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

ปาริฉัตร สังข์ทอง

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	(5)
ABSTRACT	(7)
กิตติกรรมประกาศ	(9)
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(12)
รายการภาพประกอบ	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
2. วัตถุประสงค์การวิจัย	2
3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1. ชีววิทยาลักษณะทั่วไปของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	3
2. อนุกรมวิธาน	4
3. ลักษณะภายในของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	4
4. ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้	5
5. ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย	7
6. ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ	9
7. วงจรชีวิตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	9
8. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	11
9. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	20
10. ปัญหาการเลี้ยงสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	23
11. คุณค่าสารอาหารและการใช้ประโยชน์ของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	23
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	27
1. ศึกษาลักษณะจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	27
2. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	32

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี	36
บทที่ 4 ผลการวิจัย	38
1. ผลการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	38
2. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	46
3. ผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง	56
บทที่ 5 วิจัยผลการศึกษา	58
1. การศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	58
2. ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	61
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา	64
1. การจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	64
2. การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	65
3. ข้อเสนอแนะ	66
เอกสารอ้างอิง	67
ภาคผนวก	78
ประวัติผู้เขียน	132

รายการตาราง

รายการตารางที่		หน้า
1	ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	12
2	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	13
3	แสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	14
4	สารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	15
5	ความเค็มที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	17
6	อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	18
7	แสงและช่วงที่ได้รับแสงที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	19
8	คุณค่าโภชนาการและแร่ธาตุของสาหร่าย <i>Gracilaria</i> บางชนิด	25
9	ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิดในสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	26
10	วิธีการจัดจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนางสกุล <i>Gracilaria</i>	28
11	การจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สาหร่ายผสมนางสกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	41
12	คุณภาพน้ำจากบ่อเลี้ยงสาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i>	43
13	คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i>	43
14	ธาตุอาหารบางชนิดในสาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> และในน้ำจากบ่อเลี้ยง	44
15	ค่า (L^* , a^* และ b^*) ของสาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i>	45
16	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงด้วยระดับความเค็มต่างกัน	47
17	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเข้มแสงที่ต่างกัน	49
18	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงด้วยการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์	52
19	การตรวจสอบการก่อตัวของซิสโทคาร์ป (cystocarp) ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ภายใต้ระดับความเค็ม ความเข้มแสง และความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่ต่างกัน	55
20	เปรียบเทียบการจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	60
21	การจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนางสกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	64

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ตัวอย่างสาหร่ายวุ้นหรือสาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria</i>	4
2	ภาคตัดขวางแททลัส a ชั้นคอร์เท็กซ์ (cortex layers) b. ชั้นเมดูลา (medulla layers)	5
3	ลักษณะสเปอร์มาแทนเจียม แบบ chorda type	6
4	ลักษณะสเปอร์มาแทนเจียม แบบ textorii type	6
5	ลักษณะสเปอร์มาแทนเจียม แบบ verrucose type	7
6	การพัฒนาของคาร์โพโกเนียม (carpogonium)	7
7	ส่วนประกอบของซิสโทคาร์ป (cystocarp)	8
8	การพัฒนาของอับเทรสปอร์ (tetrasporangium)	9
9	วงจรชีวิตของสาหร่าย <i>Gracilaria</i>	10
10	พื้นที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายผมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	27
11	ตัวอย่างอัดแห้งสาหร่ายผมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> จากบ่อเลี้ยง	27
12	ขั้นตอนการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction)	31
13	วิธีการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด	31
14	วิธีการเตรียมต้นพันธุ์อ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	32
15	วิธีการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ใน flask ขนาด 1,000 mL	33
16	รูปแบบการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	34
17	วิธีการวิเคราะห์ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย	35
18	ลักษณะสาหร่าย <i>Agarophyton tenuistipitatum</i>	39
19	ลักษณะสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	40
20	ลักษณะสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S2	41
21	การเจริญเติบโตของต้นอ่อนสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ระดับ ความเค็มต่าง ๆ	46
22	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มต่างกัน	48
23	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงด้วยความเข้มแสงต่างกัน	50
24	ลักษณะของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์	51
25	การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงโดยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์	53

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
26	ลักษณะของต้นสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ที่เติมฮอร์โมนพืช	54
27	การพัฒนา cystocarp ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ในขั้นตอนต่าง ๆ	55
28	ระยะเวลาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	56
29	ค่า Fm/Fv ของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1 ภายใต้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆ	57
30	ไดอะแกรมการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล <i>Gracilaria</i> และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	65

สารบัญภาคผนวก

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวกที่ 1 การศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายพม nang สกุล <i>Gracilaria</i>	80
1. การจำแนกลักษณะสายพันธุ์สาหร่ายพม nang สกุล <i>Gracilaria</i>	80
2. วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอาหาร (AOAC, 2000)	90
3. วิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายและในน้ำ	107
4. การวัดสี	108
ภาคผนวกที่ 2 การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	111
1. สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย	111
2. การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1	111

รายการตารางภาคผนวก

รายการตารางที่		หน้า
1	การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria tenuistipitata</i>	80
2	การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria fisheri</i> S1	83
3	การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria fisheri</i> S2	86
4	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. tenuistipitata</i>	101
5	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	101
6	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S2	101
7	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. tenuistipitata</i>	102
8	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	102
9	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S2	102
10	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. tenuistipitata</i>	103
11	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	103
12	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่างสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S2	103
13	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria</i>	104
14	ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยอาหารในตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง <i>Gracilaria</i>	105
15	การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในสายพันธุ์สาหร่าย <i>Gracilaria</i>	107
16	การวัดสีของสาหร่าย <i>G. tenuistipitata</i>	108
17	การวัดสีของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S1	109
18	การวัดสีของสาหร่าย <i>G. fisheri</i> S2	109
19	สูตรอาหาร MGM (Modified Guillard's Medium) ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย	111
20	การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็มที่แตกต่างกัน	111

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

รายการตารางที่		หน้า
21	การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่แตกต่างกัน	112
22	การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์	113
23	การเจริญเติบโตของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงด้วยการเพิ่มฮอร์โมนพืช	113
24	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 10 ppt	115
25	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 20 ppt	116
26	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 30 ppt	117
27	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $20 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	118
28	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	119
29	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	120
30	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 0 %	121
31	ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 %	121
32	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเค็ม 10 ppt	122

รายการตารางภาคผนวก (ต่อ)

รายการตารางที่		หน้า
33	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเค็ม 20 ppt	123
34	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเค็ม 30 ppt	124
35	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเข้มแสง 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	125
36	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเข้มแสง 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	126
37	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$	127
38	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ Auxin 0.05	128
39	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> S1 ที่ Auxin 0.10	129
40	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ Auxin 0.50	130
41	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ ไซโตไคนิน (BA) 0.05	131
42	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ ไซโตไคนิน (BA) 0.10	132
43	ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย <i>Gracilaria fisheri</i> ที่ ไซโตไคนิน (BA) 0.50	133

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายวุ้น หรือสาหร่ายผมนาง ในสกุล *Gracilaria* เป็นสาหร่ายที่มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจ มีบทบาทสำคัญต่อมนุษย์และสัตว์เลี้ยงโดยการนำไปบริโภคเป็นอาหารโดยตรงแล้วยังใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง สี ยารักษาโรค สิ่งทอ การถ่ายภาพ และยังใช้ประโยชน์ในการนำมาเป็นอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ และจุลชีพในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ และสาหร่ายวุ้นยังเป็นที่ต้องการในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตวุ้นและมีแนวโน้มว่าจะมีความต้องการที่เพิ่มมากขึ้น (Kain and Destombe, 1995) สาหร่ายสกุลนี้พบมีการแพร่กระจายในหลายประเทศ เช่น ชิลี จีน มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม ไทย อินโดนีเซีย และไต้หวัน สำหรับประเทศไทยพบแพร่กระจายอยู่ตามชายฝั่งทะเลอ่าวไทยและอันดามัน บริเวณจังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี สงขลา และปัตตานี (สุรภีร์, 2543) ประเทศไทยยังคงส่งออกสาหร่ายผมนางไปขายต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันประเทศไทยต้องนำเข้าสาหร่ายและวุ้นเพิ่มมากขึ้นในแต่ละปี (ระพีพร, 2552) จากสาเหตุที่สาหร่ายวุ้นที่ได้มาจากการเก็บในธรรมชาติมีแนวโน้มที่จะลดลงเรื่อย ๆ (Mantri et al., 2009) จึงมีการเพาะเลี้ยงในบ่อดินซึ่งเป็นการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ในหลาย ๆ ประเทศ รวมทั้งในประเทศไทย (Chen, 1990; Shang, 1976; Crichley, 1998; Chirapart and Lewmanomont, 2004) แต่การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นมักประสบปัญหาการเกิดโรคไอซ์-ไอซ์ และการเกิดอพิไฟต์ (Santelises and Doty, 1989) ซึ่งสามารถแก้ปัญหาโดยการคัดเลือกสายพันธุ์ที่หลากหลายทนต่อโรคและอพิไฟต์ โดยการปรับปรุงพันธุ์ผ่านการสืบพันธุ์แบบ meiosis จึงจะทำให้ได้สาหร่ายสายพันธุ์ที่หลากหลาย ทนโรค และเจริญเติบโตดี เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงต่อไป ทั้งนี้ การเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria* ในบ่อพบเซลล์สืบพันธุ์ยาก หรือไม่การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (McHugh, 2003) ดังนั้นการศึกษาลักษณะชนิดและชีววิทยาการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยงซึ่งมีมากในจังหวัดสงขลาและจังหวัดปัตตานี และศึกษาอิทธิพลของ ความเค็ม ความเข้มแสง คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืชที่มีผลต่อการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ภายในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่หลากหลายสำหรับการเพาะเลี้ยง และทราบเทคนิคช่วยกระตุ้นให้เกิดเซลล์สืบพันธุ์เพื่อให้การเลี้ยงสาหร่ายนี้มีประสิทธิภาพและมีผลผลิตที่สูงขึ้น

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาชนิดของสาหร่าย *Gracilaria* spp. จากบ่อเลี้ยง ด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา สารพันธุกรรมของสาหร่าย และองค์ประกอบทางเคมี

2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ได้แก่ ความเค็ม ความเข้มแสง คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืช

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ทราบชนิดและสายพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria* spp. จากบ่อเลี้ยง

3.2 ทราบสภาวะปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงและการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของสาหร่ายเพื่อให้มีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยง และการขยายสายพันธุ์ที่มีความแข็งแรง

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ชีวิตวิทยาลักษณะทั่วไปของสาหร่าย *Gracilaria*

สาหร่ายวุ้น หรือสาหร่ายผมนาง *Gracilaria* เป็นสาหร่ายทะเลสีแดง ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากเป็น พืชที่มีวุ้น (agarophyte) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักอยู่บริเวณผนังเซลล์และช่องว่างระหว่างเซลล์ สามารถนำมาสกัดวุ้น (agar) ได้ ลักษณะของแทลลัส หรือต้นสาหร่าย มักแตกเป็นพุ่ม แทลลัสอวบน้ำ มีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด รูปทรงตั้งตรง เรียวยาว ทรงกระบอก (terete) และแบนค่อนข้างแบน (compress) ผิวแทลลัสมีลักษณะอวบน้ำ และมีรากเล็ก ๆ เป็นส่วนแปะยึด หรือ โฮลด์ฟาสต์ (holdfast) เมื่อหลุดออกจากที่เกาะยึดแล้ว จะไม่สามารถเกาะใหม่ได้อีก มีการเจริญเติบโตแตกแขนงได้หลายลักษณะ เช่น แบบคู่ (dichotomous) แบบสลับ (alternate) แบบด้านเดียว (secund) หรือแตกแขนงแบบไม่เป็นระเบียบ (irregular) ปลายแขนงมีทั้งปลายแหลม ปลายมน หรือ ปลายตัด ส่วนโคนแขนงบางชนิดอาจคอดหรือเรียวเล็ก (ระพีพร, 2552) ความยาวของแทลลัสจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแต่ละชนิดตั้งแต่ 4-35 เซนติเมตร (cm) เส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5-4.0 มิลลิเมตร (mm) (Santelices and Doty, 1989) มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก จึงทำให้มีรูปร่างและสีสันท่างกันออกไป ซึ่งเกิดจากพันธุกรรม และสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติที่ขึ้นอยู่กับสีของสาหร่ายที่เห็น เช่น สีดำ แดง น้ำตาล ม่วงเข้ม เหลือง เขียว และสีอื่น ๆ ขึ้นอยู่กับรงควัตถุ เนื่องจากประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอ ดี และคาโรทีนอยด์ ซึ่งมีหลายชนิด ได้แก่ lutein, zeaxanthin, violaxanthin, neoxanthin, และ taraxanthin นอกจากนี้ยังมี phycobilin (กาญจนภาชน์, 2536)

2. อนุกรมวิธาน ตาม Algaebase, 2018

Phylum: Rhodophyta

Class: Florideophyceae

Order: Gracilariales

Family: Gracilariaceae

Tribe: Gracilarieae

Genus: *Agarophyton* (Gurgel, J.N. Norris and Fredericq)

Crassa (Gurgel, J.N. Norris and Fredericq)

Crasiphycus (Gurgel, J.N. Norris, Fredericq and Gurgel)

Gracilaria (Greville)

Gracilariophila (Setchell and H.L. Wilson)

Hydropuntia (Montagne)

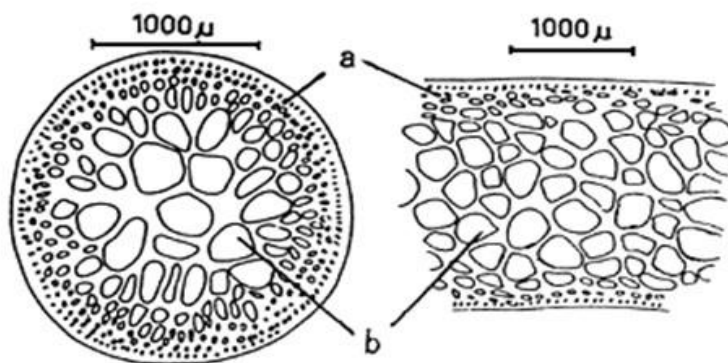


ภาพที่ 1 ตัวอย่างสาหร่ายวุ้นหรือสาหร่ายผมนาง *Gracilaria*

3. ลักษณะภายในของสาหร่าย *Gracilaria*

ลักษณะภายในของสาหร่าย *Gracilaria* เมื่อตัดขวางแทลลัสจะประกอบด้วยเซลล์พาราเควอมาเทียม (pseudoparenchyma) ลักษณะกลม เซลล์ด้านนอกมีขนาดเล็กกว่าเซลล์ด้านใน ชั้นเซลล์ส่วนนอกหรือชั้นคอร์เท็กซ์ (cortex layer) ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก 2-3 ชั้นเซลล์ ซึ่งมีรงควัตถุอยู่มาก มีนิวเคลียสอันเดียว หรือหลายอัน ถัดเข้าไปเรียกว่า ชั้นเซลล์ส่วนใน หรือชั้นเมดัลลา (medulla layer) ประกอบด้วยเซลล์ขนาดใหญ่ และไม่มีรงควัตถุ เป็นเซลล์ที่มีผนังเซลล์บาง และมีช่องว่างระหว่างเซลล์มากเซลล์จะค่อย ๆ ใหญ่ขึ้นเมื่อเข้าสู่ด้านใน ซึ่งจะมีการจัดเรียงตัวแตกต่างกัน ในแต่ละชนิด ภาคตัดตามยาวผ่านชั้นคอร์เท็กซ์ จะเห็นเซลล์ยอด (apical cell) และตัวเชื่อมรอยเว้า (pit connection) ซึ่งจะเกิดเมื่อมีการแบ่งเซลล์จะปรากฏอยู่ระหว่างเซลล์ทั้งหมด แสดงว่ารูปแบบการ

เจริญเติบโตไม่ได้เกิดแต่เฉพาะเซลล์ปลายยอดเพียงอย่างเดียว แต่จะเกิดขึ้นตลอดทั้งแนวปลายยอด ส่วนการแตกแขนง มีจุดเริ่มต้นมาจากเซลล์ในชั้นคอร์เท็กซ์ (Lewmanomont and Ogawa, 1995)



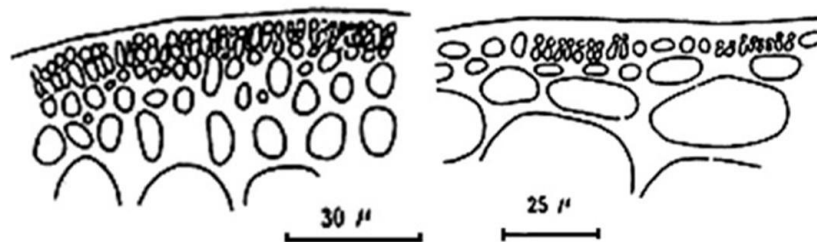
ภาพที่ 2 ภาคตัดขวางของแทลลัส a. ชั้นคอร์เท็กซ์ (cortex layers) b. ชั้นเมดูลา (medulla layers)

ที่มา: Abbott and Norris (1986)

4. ลักษณะของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ หรือเรียกว่า สเปออร์มาแทนเจียม (spermatangium) มีลักษณะเป็นแอ่งทำหน้าที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์คือ สเปออร์มาเทียม (spermatium) สามารถสร้างได้ทั้งแทลลัส ยกเว้นส่วนปลายยอด 2-5 มิลลิเมตร สเปออร์มาแทนเจียมเกิดจากเซลล์รอบนอกสุดของชั้นคอร์เท็กซ์ ลักษณะจะมีสีเข้มกว่า และมีนิวเคลียสขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติทั่วไป เมื่อมีการสร้างสเปออร์มาแทนเจียมจะมีการแบ่งเซลล์ตามขวางหรือตามยาวกับผิวของแทลลัส ถ้าแบ่งตามขวางบริเวณผิวของแทลลัสจะเห็นสเปออร์มาแทนเจียมแพร่ขยายเฉพาะบริเวณผิวชั้นคอร์เท็กซ์ ถ้าหากมีการแบ่งเซลล์แบบตามยาวสเปออร์มาแทนเจียม จะมีลักษณะแตกแขนงลึกลงไปจนเป็นแอ่ง สเปออร์มาแทนเจียมแบ่งออกได้ 3 แบบ ได้แก่ chorda type, textorii type, verrucosa type (Yamamoto, 1978; Bird, 1995; Bouzon *et al.*, 2000)

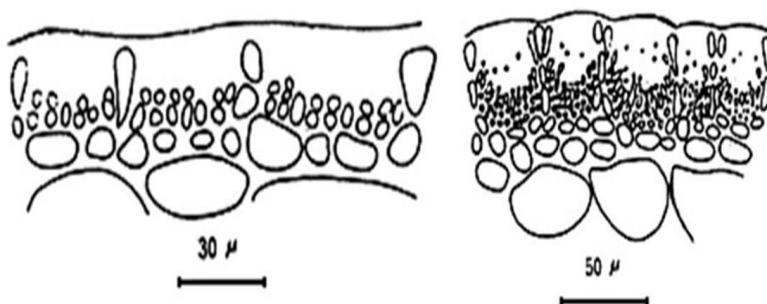
4.1 แบบคอร์ดตา (chorda type) สาหร่ายที่เป็นต้นแบบ ได้แก่ *Gracilaria chorda* เซลล์จะสร้างสเปออร์มาแทนเจียม โดยการแบ่งเซลล์ตามขวางที่ผิวของแทลลัส จะเห็นสเปออร์มาแทนเจียมเกิดขึ้นตามผิวด้านนอกของแทลลัสอย่างต่อเนื่อง ภาคตัดขวางของแทลลัสจะเห็นสเปออร์มาแทนเจียมแผ่ขยายเฉพาะบริเวณผิวด้านหน้าของชั้นคอร์เท็กซ์ แต่ถ้ามีการแบ่งเซลล์แบบไม่ต่อเนื่องกัน ทำให้สเปออร์มาแทนเจียมที่เกิดขึ้นที่ผิวด้านนอกของแทลลัส ไม่ต่อเนื่องกันหรือแยกออกเป็นกลุ่ม sori เรียกว่า symmetrica type (Bird and McLachlan, 1984)



ภาพที่ 3 ลักษณะสเปอร์มาแทนเจียม แบบ chorda type

ที่มา: Abbott and Norris (1986)

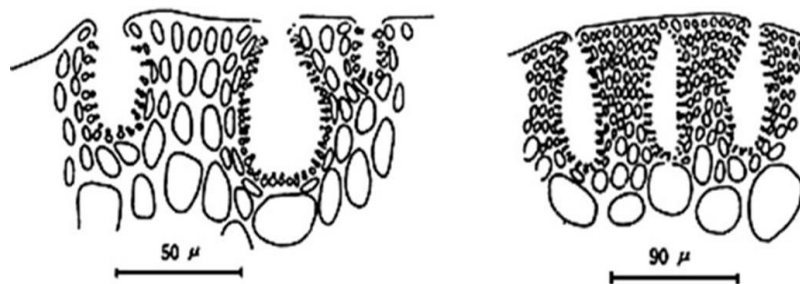
4.2 แบบเทกซ์ทอริโอ (textorii type) สาหร่ายที่เป็นต้นแบบ ได้แก่ *Gracilaria textorii* เซลล์แม่จะสร้างสเปอร์มาแทนเจียม โดยการแบ่งเซลล์ตามยาว จะเห็นสเปอร์มาแทนเจียมเกิดขึ้นจากเซลล์ของชั้นคอร์เท็กซ์ ในลักษณะเป็นแอ่งหรือโพรง (conceptacle) ตื้น ๆ ตามผิวของแทลลัส ภาคตัดขวางของแทลลัส จะเห็นสเปอร์มาแทนเจียม อยู่ตามพื้นแอ่งรูปถ้วย



ภาพที่ 4 ลักษณะสเปอร์มาแทนเจียม แบบ textorii type

ที่มา: Abbott and Norris (1986)

4.3 แบบเวอร์รุโคซา (verrucosa type) สาหร่ายต้นแบบ ได้แก่ *Gracilaria verrucosa* เซลล์จะสร้างสเปอร์มาแทนเจียม โดยการแบ่งเซลล์ตามยาวของชั้นคอร์เท็กซ์ขยายลึกลงไปของ subcortex แคบและยาวเป็นรูปไข่ เมื่อมองภาคตัดขวางของแทลลัสจะเห็นสเปอร์มาแทนเจียม เกิดขึ้นตามผนังด้านข้างและตามพื้นนั้น polycavernosa type หรือ henriquesiana type

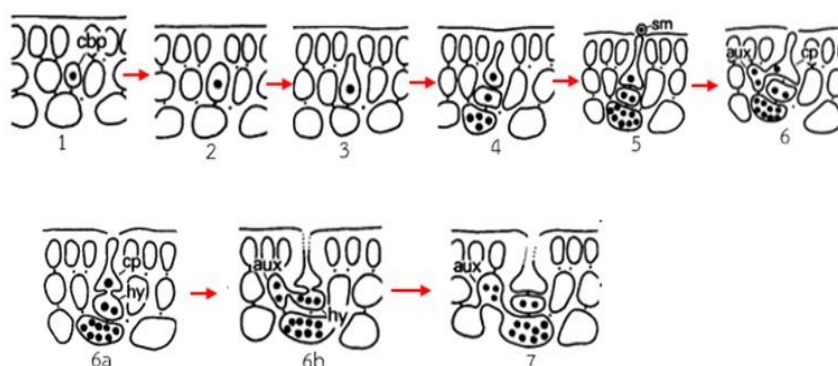


ภาพที่ 5 ลักษณะสเปอรมาแทนเจียม แบบ verrucose type

ที่มา: Abbott and Norris (1986)

5. ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย

ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย หรือเรียกว่า คาร์โพโกเนียม เกิดบริเวณชั้นคอร์เท็กซ์ จะมีการแบ่งเซลล์ตามยาวกับผิวของแทลลัส โดยเซลล์ที่อยู่ด้านใต้จะทำหน้าที่เป็นเซลล์ค้ำจุน (supporting cell) ส่วนเซลล์ที่อยู่ด้านบนจะแบ่งออกเป็น 2 เซลล์ โดยแบ่งออกเป็นไฮโปจินัส (hypogynous cell) และอีกเซลล์ด้านบนสุดเป็นโทรโคจिन (trichogyne) ซึ่งทำหน้าที่รับเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatium) ที่ลอยตามน้ำมาเกาะ เซลล์ที่มีโทรโคจินจะมีนิวเคลียส 2 อัน สำหรับเซลล์ค้ำจุน ระยะแรกจะมีนิวเคลียส 1-2 อัน แต่เมื่อเซลล์แก่เต็มที่จะมีนิวเคลียส 4-9 อัน เมื่อเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้มาเกาะบนโทรโคจิน จะทำให้เซลล์เปิดออกให้เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้จะเข้าไปผสมกับนิวเคลียสของคาร์โพโกเนียมได้เป็นไซโกต (zygote) จะสร้างท่อเชื่อม เพื่อให้นิวเคลียสลงมาอยู่ในเซลล์ฐาน (basal cell) ซึ่งเป็นเซลล์ที่เกิดจากเซลล์ค้ำจุน เรียกว่า เซลล์ออกซิเลเรีย (auxiliary cell) หรือก่อนไซโกตจะย้ายไปรวมกับเซลล์ฐานจะสร้างท่อเชื่อม เพื่อย้ายนิวเคลียสของไซโกตลงมาอยู่ในเซลล์ไฮโปจินัสก่อน แล้วจึงค่อยสร้างท่อเชื่อมเพื่อย้ายไปรวมกับเซลล์ฐาน ส่วนโทรโคจินจะฝ่อไปสุดท้ายเซลล์ออกซิเลเรียจะสร้างท่อเชื่อมไปรวมกับเซลล์ค้ำจุนกลายเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ และเจริญไปเป็นอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (Yamamoto, 1978; Bird, 1995)



ภาพที่ 6 การพัฒนาของคาร์โพโกเนียม (carpogonium)

ที่มา: Yamamoto (1978)

5.1 อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (cystocarp) มีลักษณะเป็นปุ่มกลมมนหรือครึ่งวงกลมกระจายอยู่ทั่วไปบริเวณผิวของแทลลัส สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ภายในซิสโทคาร์ปประกอบด้วยเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ ซิสโทคาร์ปเกิดขึ้นหลังจากที่มีการผสมพันธุ์ระหว่างนิวเคลียสของสเปอรมาเจียมกับคาร์โพโกเนียม ส่วนประกอบต่าง ๆ ได้แก่ เพอริคาร์ป (pericarp) เส้นใยโกนิโมบลาสต์ (gonimoblast) คาร์โพสปอร์ (carpospore) เส้นใยส่งอาหาร (nutritive filament) และช่องเปิด (ostiole) (Bird and McLachlan, 1984; FAO, 1990; Bird, 1995; Xu *et al.*, 2008)

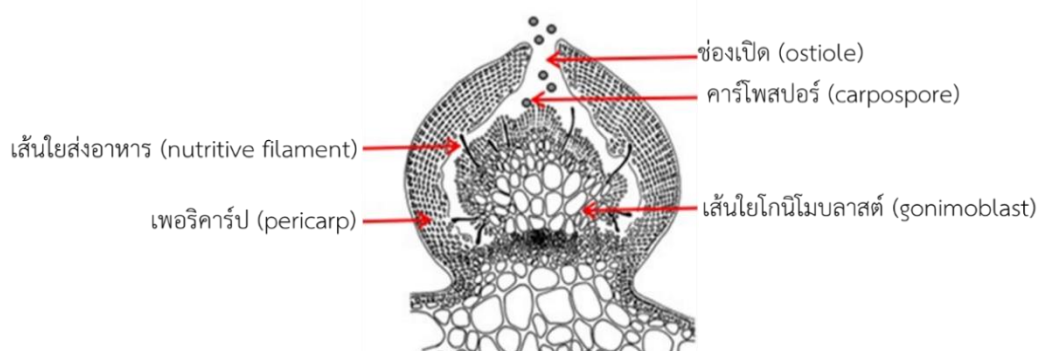
5.1.1 เพอริคาร์ป (pericarp) อยู่บริเวณชั้นนอกสุดของซิสโทคาร์ป ทำหน้าที่เป็นเปลือกหุ้มเส้นใยโกนิโมบลาสต์ ซึ่งเกิดจากเซลล์ที่เป็นหมันอยู่ด้านใต้ของคาร์โพโกเนียมและชั้นคอร์เท็กซ์มาล้อมรอบคาร์โพโกเนียม เพอริคาร์ปประกอบด้วยเซลล์หลายชั้น แต่ละเซลล์มีตัวเชื่อมรอยเว้าและเรียงตัวกันเป็นแถว เซลล์ชั้นนอกสุดจะมีรงควัตถุกระจายอยู่

5.1.2 เส้นใยโกนิโมบลาสต์ (gonimoblast) มีลักษณะเป็นเส้นใยอยู่ตรงกลางของซิสโทคาร์ป ตรงปลายของแต่ละเส้นจะทำหน้าที่สร้างคาร์โพสปอแรนเจียม (carposporangium) จะให้ 1 คาร์โพสปอร์

5.1.3 คาร์โพสปอร์ (carpospore) จะอยู่ภายในคาร์โพสปอแรนเจียม ตรงปลายของเส้นใยโกนิโมบลาสต์ คาร์โพสปอร์เกิดจากเซลล์ของเส้นใยโกนิโมบลาสต์ เมื่อเซลล์มีการพัฒนาจนสมบูรณ์ จะมีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ซึ่งพร้อมจะปล่อยออกทางช่องเปิดต่อไป

5.1.4 เส้นใยส่งอาหาร (nutritive filament) เป็นเส้นใยที่เชื่อมโยงระหว่างเซลล์ในเส้นใยโกนิโมบลาสต์กับเพอริคาร์ป เส้นใยส่งอาหารสร้างมาจากขอบของเนื้อเยื่อโกนิโมบลาสต์ ซึ่งพบได้ในกราซูลาเรียบางชนิด

5.1.5 ช่องเปิด (ostiole) เป็นช่องที่เป็นทางออกของคาร์โพสปอร์ อยู่บริเวณตรงกลางของเพอริคาร์ปของซิสโทคาร์ป เมื่อมีการปล่อยสปอร์ออกไปแล้ว ช่องเปิดจะดูกว้างขึ้น



ภาพที่ 7 ส่วนประกอบของซิสโทคาร์ป (cystocarp)

ที่มา: Yamamoto (1978)

6. ลักษณะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

ลักษณะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกว่า เททระสปอร์ (tetraspore) เกิดจากกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติมาอยู่เรียงกันซึ่งสามารถพบกระจายอยู่ทั่วไปบนผิวของแทลลัส ยกเว้นบริเวณฐานและส่วนยอด อับเททระสปอร์มีรูปร่าง กลม หรือ รี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-55 ไมโครเมตร (μm) มีจุดกำเนิดมาจากเซลล์ผิวหนังด้านในของชั้นคอร์เท็กซ์ที่มีขนาดและตำแหน่งเหมือนกับเซลล์ปกติ แต่มีหน้าที่เปลี่ยนไป เซลล์แม่เกิดจากการแบ่งตัวตามขวาง มี 1 นิวเคลียส หลังจากนั้นเซลล์จะเพิ่มขนาดใหญ่ขึ้น และมีการแบ่งเซลล์เพิ่มอีก 2 ครั้งแบบกากบาท (cruciate) ทำให้ได้เททระสปอร์ 4 เททระสปอร์ (Yamamoto, 1978; Bird and McLachlan, 1984; Bird, 1995; Plastino and Oliveira, 1988)



ภาพที่ 8 การพัฒนาของเททระสปอร์ (tetrasporangium)

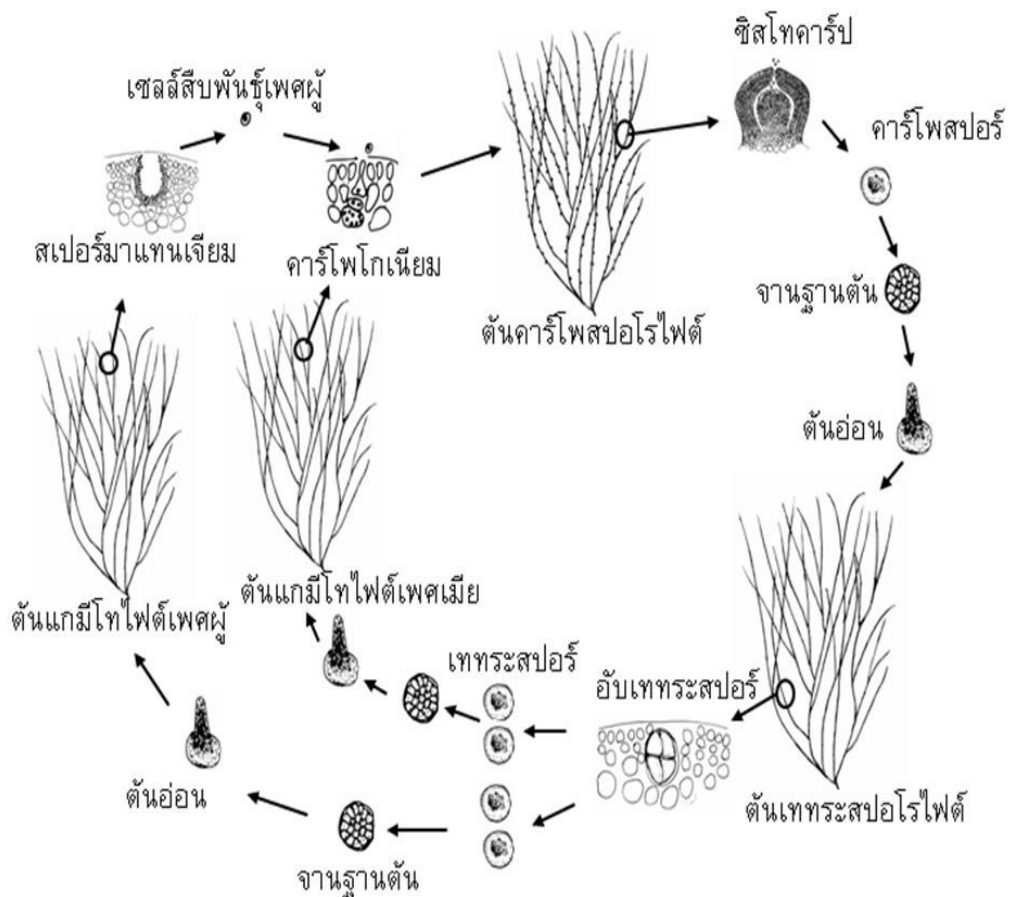
ที่มา: Abbott and Norris (1986)

7. วงจรชีวิตของสาหร่าย *Gracilaria*

สาหร่าย *Gracilaria* มีวงจรชีวิตที่ค่อนข้างซับซ้อนเป็นแบบพอลิไซโฟเนีย (polysiphonia type) ซึ่งมีระยะแกมีโทไฟต์ (gametophyte phase) เป็นแฮพลอยด์ (n) และระยะเททระสปอโรไฟต์ (tetrasporophyte phase) เป็นดิพลอยด์ ($2n$) (Plastino and Oliveira, 1988; Littler *et al.*, 1987; Prolifrone *et al.*, 2006) ในวงจรชีวิตแบบไตรวัฏภาค (triphasic type) มี 3 ระยะ ได้แก่ ระยะแกมีโทไฟต์ (gametophyte phase) ระยะคาร์โพสปอโรไฟต์ (carposporophyte phase) และระยะเททระสปอโรไฟต์ (tetrasporophyte phase) การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เกิดขึ้นโดยต้นแกมีโทไฟต์เพศผู้ (male gametophyte) จะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ หรือเรียกว่า สเปิร์มาเทียม (spermatium) ออกมาเป็นจำนวนมาก จะมีประสิทธิภาพประมาณ 5 ชั่วโมง ซึ่งจะเคลื่อนที่โดยการพัดพาของกระแสน้ำ เพื่อไปผสมกับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย หรือเรียกว่า คาร์โพโกเนียม (carpogonium) (Engel *et al.*, 1999) บนต้นแกมีโทไฟต์เพศเมีย (female gametophyte) ได้เป็นไซโกต (zygote) มีการสร้างเส้นใยไคโนบลาสต์ที่เป็นดิพลอยด์ ($2n$) จะแบ่งเซลล์จนทำให้ผิวของแทลลัสนูนขึ้น ซึ่งพัฒนาไปเป็นซิสโทคาร์ป (cystocarp) ระยะนี้เรียกว่าระยะคาร์โพสปอโรไฟต์ ที่เสมือนปรสิตรที่อยู่บนต้นแกมีโทไฟต์เพศเมีย (Xu *et al.*, 2008) โดยที่เส้นใยไคโนบลาสต์จะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) เพื่อสร้างสปอร์ที่เป็นดิพลอยด์ ($2n$) บริเวณปลายของเส้นใยเป็นจำนวนมาก เรียกว่า คาร์โพสปอร์ (carpospore) ซึ่งมีส่วนของผนังผลที่เป็นแบบแฮพลอยด์ (n) หุ้มอยู่ด้วย

เมื่อแก่เต็มที่คาร์โพสปอร์แรนเจียมจะมีการแตกออกและปล่อยคาร์โพสปอร์ (carpospore) ออกมาผ่านช่องเปิด และเจริญเติบโตไปเป็นต้นไม่มีเพศแบบดิพลอยด์ ($2n$) เรียกว่า ต้นเททระสปอโรไฟต์ (tetrasporophyte) เมื่อถึงระยะสืบพันธุ์ เซลล์ที่อยู่ในชั้นคอร์เท็กซ์ของต้นเททระสปอโรไฟต์ จะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (meiosis) จะได้สปอร์เป็นแฮพลอยด์ (n) เรียกว่า เททระสปอร์ ซึ่งจะเจริญไปเป็นต้นแกมีโทไฟต์เพศเมีย 2 ต้น และแกมีโทไฟต์เพศผู้ 2 ต้น โดยต้นแกมีโทไฟต์และต้นเททระสปอโรไฟต์ จะมีลักษณะรูปร่างเหมือนกัน (isomorphic) (Bird, 1995)

วงจรชีวิตจะครบสมบูรณ์ภายในประมาณ 5-6 เดือน ขึ้นอยู่กับชนิดและสภาพแวดล้อมของการเลี้ยง สำหรับวงจรชีวิตในห้องปฏิบัติการอาจมีลักษณะแตกต่างกันออกไป เช่น คาร์โพสปอร์อาจเจริญเติบโตเป็นต้นที่สามารถสร้างได้ทั้งเททระสปอร์และสปอร์มาแทนเจียม (Little *et al.*, 1987) หรือเททระสปอร์จะเจริญไปเป็นต้นแกมีโทไฟต์เพศผู้เพียงอย่างเดียวถ้าหากแยกสปอร์มาเลี้ยงโดยไม่ให้อากาศ ซึ่งจะสร้างเซลล์สปอร์มาแทนเจียมได้หลัง 3 เดือนไปแล้ว ดังนั้นสภาพแวดล้อม จึงเป็นปัจจัยสำคัญในการผสมพันธุ์กันระหว่างสปอร์มาแทนเจียมและคาร์โพโกเนียม หรือการสร้างอับเททระสปอร์



ภาพที่ 9 วงจรชีวิตของสาหร่าย *Gracilaria*
ที่มา: ระพีพร (2552)

8. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria*

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ เช่น ปัจจัยของแสง อุณหภูมิ ความเค็ม สารอาหาร และฮอร์โมน ปัจจัยสิ่งแวดล้อมมีอิทธิพลที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ของสาหร่าย เพื่อใช้ในการพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายต่อไป

8.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต *Gracilaria* ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายล้วน ส่วนใหญ่เป็นปัจจัยที่มีผลร่วมกัน ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ความเข้มแสง และสารอาหาร มีการศึกษาดังนี้

Choi *et al.* (2006) ศึกษาผลของอุณหภูมิ และความเค็ม ในสาหร่าย *Gracilaria chorda* และ *G. verrucosa* ในประเทศเกาหลี ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 10-30 °C และที่ความเค็ม 5-35 ppt ผลการศึกษาพบว่า *G. chorda* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 °C และความเค็ม 25 ppt ส่วน *G. verrucosa* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 17-30 °C และความเค็ม 15-30 ppt

Xu *et al.* (2009) ศึกษาผลของความเค็ม อุณหภูมิ และความเข้มแสง ในสาหร่าย *Gracilaria tenuistipitata* และ *G. lichenoides* ในประเทศจีน ผลการศึกษาพบว่า *G. tenuistipitata* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเค็ม 24 ppt อุณหภูมิ 20 °C และความเข้มแสง 200 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ส่วน *G. lichenoides* มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเค็ม 30 ppt อุณหภูมิ 32 °C และความเข้มแสง 240 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Raikar *et al.* (2001) ทำการศึกษาผลของความเค็ม อุณหภูมิ และแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria* spp. ในประเทศญี่ปุ่น มาเลเซีย และอินเดีย พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโต ที่ความเค็มระหว่าง 25-35 ppt อุณหภูมิ 20-30 °C และอยู่ในช่วง 60-80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

ส่วนสารอาหารที่มีความสำคัญในการพัฒนาการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria* ได้แก่ แมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) ฟอสเฟต (PO_4^-) แอมโมเนีย (NH_4^-) ไนเตรท (NO_2^{3-}) และอีดีทีเอ (EDTA) ที่มีความสำคัญแต่ไม่จำเป็น (ระพีพร, 2552) อย่างไรก็ตามการแยกปัจจัยที่สำคัญของสาหร่าย ในการเจริญเติบโตแต่ละปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ความเข้มแสง และสารอาหาร มีรายละเอียดดังข้างล่าง

8.1.1 ความเค็ม สาหร่าย *Gracilaria* จะเจริญเติบโตในความเค็มที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 พบว่าสาหร่าย *Gracilaria* จะเจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็มระหว่าง 14-35 ppt

ตารางที่ 1 ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	ความเค็มที่ เหมาะสม (ppt)	อ้างอิง
<i>G. tenuistipitata</i>	Dongshan Island และ Fujian	20	Xu <i>et al.</i> (2009)
	South China	14-27	Chen and Zhang (1999)
<i>G. lichenoides</i>	Dongshan Island	30	Xu <i>et al.</i> (2009)
<i>G. varrucosa</i>	Korea	15-30	Choi <i>et al.</i> (2006)
<i>G. chorda</i>	Korea	25	Choi <i>et al.</i> (2006)
<i>G. vermiculophylla</i>	Nagasaki, Japan	35	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. arcuata</i>	Nagasaki, Japan	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. incurvata</i>	Nagasaki, Japan	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. textorii</i>	Nagasaki, Japan	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. lichenoides</i>	Penang, Malaysia	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. edulis</i>	Mandapam, India	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. foliifera</i>	Gophath, India	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. corticata</i>	Diu, Brazil	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. birdiae</i>		30	Marinho-Soriano <i>et al.</i> (2009)

8.1.2 อุณหภูมิ สาหร่าย *Gracilaria* จะเจริญเติบโตในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2 พบว่าสาหร่าย *Gracilaria* ในเขตร้อนจะเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 25-30 °C ส่วนสาหร่าย *Gracilaria* ในเขตอบอุ่นจะมีอุณหภูมิอยู่ที่ระหว่าง 12-32 °C

ตารางที่ 2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	อุณหภูมิที่เหมาะสม (°C)	อ้างอิง
<i>G. tenuistipitata</i>	Dongshan Island และ Fujian	24	Xu <i>et al.</i> (2009)
<i>G. tenuistipitata</i>	South China	20-30	Chen and Zhang (1999)
<i>G. lichenoides</i>	Dongshan Island	32	Xu <i>et al.</i> (2009)
<i>G. varrucosa</i>	Korea	17-30	Choi <i>et al.</i> (2006)
<i>G. chorda</i>	Korea	25	Choi <i>et al.</i> (2006)
<i>G. vermiculophylla</i>	Nagasaki, Japan	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. arcuata</i>	Nagasaki, Japan	20	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. incurvata</i>	Nagasaki, Japan	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. textorii</i>	Nagasaki, Japan	20	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. lichenoides</i>	Penang, Malaysia	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. edulis</i>	Mandapam, India	30	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. foliifera</i>	Gophath, India	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. corticata</i>	Diu, India	25	Raikar <i>et al.</i> (2001)
<i>G. lemaneiformis</i>	China	12-23	Yang <i>et al.</i> (2015)

8.1.3 แสง สาหร่าย *Gracilaria* จะเจริญเติบโตที่ความเข้มแสงแตกต่างกัน ดังตารางที่ 3 พบว่าสาหร่าย *Gracilaria* ในเขตร้อนจะเจริญเติบโตได้ดีที่ความเข้มแสงระหว่าง 60-80 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ส่วนสาหร่าย *Gracilaria* ในเขตอบอุ่นพบที่ความเข้มแสงอยู่ระหว่าง 60-250 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

ตารางที่ 3 แสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	แสงที่เหมาะสม ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	อ้างอิง
<i>G. tenuistipitata</i>	Dongshan Island และ Fujian	200	Xu <i>et al.</i> , 2009
<i>G. lichenoides</i>	Dongshan	240	Xu <i>et al.</i> , 2009
<i>G. birdiae</i>	Island	250	Marinho-Soriano <i>et al.</i> , 2009
<i>G. vermiculophylla</i>	Brazil	80	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. arcuate</i>	Nagasaki, Japan	80	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. incurvate</i>	Nagasaki, Japan	60	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. textorii</i>	Nagasaki, Japan	60	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. lichenoides</i>	Nagasaki, Japan	80	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. edulis</i>	Penang,	60	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. foliifera</i>	Malaysia	80	Raikar <i>et al.</i> , 2001
<i>G. corticata</i>	Mandapam, India Gophath, India Diu, India	80	Raikar <i>et al.</i> , 2001

8.1.4 สารอาหาร สารอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria* สาหร่ายจะเจริญเติบโตได้ในสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria* spp.

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	สารอาหาร ($\mu\text{mol/L}$)	อ้างอิง
<i>G. lemaneiformis</i>	ทะเลจีน	NH_4^- 2.96 NO_3^- 1.37	Yang <i>et al.</i> , 2006
<i>G. lemaneiformis</i>	ทะเลจีน	NO_2^- 0.60 PO_4^- 3.76	Yang <i>et al.</i> , 2006
<i>G. birdiae</i>	Brazil	PO_4^- 1.54	Marinho-Soriano <i>et al.</i> , 2009
<i>G. birdiae</i>	Brazil	NH_4^- 8.04 NO_3^- 0.44	Marinho-Soriano <i>et al.</i> , 2009
<i>G. tenuistipitata</i>	Guangdong	ไนโตรเจน (N) 4.0	Yang <i>et al.</i> , 2015
<i>G. parvispora</i>	Fujian	แอมโมเนีย 0.2-4.0	Yang <i>et al.</i> , 2015
<i>G. lemaneiformis</i>	Fujian	N/P 50/3-400/25	Yang <i>et al.</i> , 2015

8.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ *Gracilaria* ปัจจัยแวดล้อมหลักๆ ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ และแสง ซึ่งการศึกษาปัจจัยดังกล่าวมีผลดังนี้

ระพีพร และกาญจนภาชน (2536) ศึกษาการกระตุ้นการปล่อยคาร์โบไฮเดรตของสาหร่ายวัน 2 ชนิด คือ *Gracilaria tenuistipitata* และ *Gracilaria fisheri* จากจังหวัดปัตตานี โดยนำสาหร่าย ที่มีซิสโทคาร์ป มาทำการกระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ โดยมีปัจจัยในการกระตุ้น คือ ความเค็ม การผึ่งบาง เวลา และปัจจัยร่วมระหว่างอุณหภูมิและความเค็ม ผลการศึกษาพบว่า *G. tenuistipitata* มีการปล่อยสปอร์มากที่สุดที่ความเค็ม 20 ppt อุณหภูมิ 25 °C และ *G. fisheri* มีการปล่อยสปอร์มากที่สุดที่ความเค็ม 25 ppt อุณหภูมิ 25 °C

Ye *et al.* (2006) ศึกษาการพัฒนาของต้น เทตระสปอร์ของสาหร่าย *Gracilaria lemaneiformis* ภายในห้องปฏิบัติการ ศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ และแสงที่มีผลต่อการปล่อยและพัฒนาของ เทตระสปอร์ การศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิแตกต่างกันที่ 10, 15, 25, และ 30 °C มีผลต่อการพัฒนาการงอกของเทตระสปอร์ และที่ความเข้มแสง 30 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ต่อมา Zhou *et al.* (2013) ศึกษาปัจจัยของความเค็ม แสง และอุณหภูมิ ที่มีผลต่อการปล่อยและพัฒนาสปอร์ ของสาหร่าย *G. lemaneiformis* พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการปล่อย คาร์โบไฮเดรต คือ 35 ppt, 15 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ช่วงเวลารับแสง มีด:สว่าง 8:16- 14:10 ชั่วโมง 20 °C และสภาวะที่เหมาะสมต่อการปลดปล่อย เทตระสปอร์ คือ 35 ppt, 15 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ช่วงเวลารับแสง มีด:สว่าง 8:16- 14:10 ชั่วโมง 25 °C ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาคาร์โบไฮเดรต คือ 25 ppt, 45 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ช่วงเวลารับแสง มีด:สว่าง 12:12 ชั่วโมง 25 °C และสภาวะที่เหมาะสมในการปฏิสนธิของต้น แกมีโตไฟต์เพศผู้และเพศเมีย อยู่ที่ 30 ppt, 15-45 $\mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ช่วงเวลารับแสง มีด:สว่าง 12:12 ชั่วโมง 25 °C

Karina *et al.* (2013) ศึกษาการปล่อยคาร์โบไฮเดรตและการพัฒนาของคาร์โบไฮเดรตในสาหร่าย *Gracilaria gracilis* จากทางตะวันตกเฉียงใต้มหาสมุทรแอตแลนติก ประเทศอาเจนติน่า โดยศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ ภายใต้การควบคุม อุณหภูมิ แสง และช่วงเวลาของแสง มีด: สว่าง พบว่าทั้ง 3 วิธี มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด และที่อุณหภูมิ 13 °C และความเข้มแสง มีด:สว่าง 12:12 ชั่วโมง มีการปล่อยสปอร์มากที่สุด อย่างไรก็ตามการแยกปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของแต่ละปัจจัย คือ อุณหภูมิ ความเค็ม และความเข้มแสง มีรายละเอียดดังข้างล่าง

8.2.1 ความเค็ม ความเค็มที่เหมาะสมของสาหร่าย *Gracilaria* ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จะมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความเค็มที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	ความเค็มที่ เหมาะสม (ppt)	อ้างอิง
<i>G. tenuistipitata</i>	Batu Laut, Malaysia	5-15 (carospores)	Yu <i>et al.</i> , 2013
<i>G. edulis</i>	Port Dickson, Malaysia		Yu <i>et al.</i> , 2013
<i>G. gracilis</i>	Argentina	30 (ปล่อยและพัฒนา สปอร์)	Michetti <i>et al.</i> , 2013
<i>G. tenuistipitata</i>	อ่าวปัตตานี	20 (ปล่อยสปอร์)	ระพีพร และกาญจนภาชน์, 2536
<i>G. fisheri</i>	อ่าวปัตตานี	25 (ปล่อยสปอร์)	ระพีพร และกาญจนภาชน์, 2536
<i>G. lemaneiformis</i>	China	25 (tetraspore) 30 (carospore)	Zhou <i>et al.</i> , 2013
	China	35 (tetraspore)	Zhou <i>et al.</i> , 2013

8.2.2 อุณหภูมิ ต่อการสืบพันธุ์และพัฒนาสปอร์ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่าย โดยการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายจะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิเท่ากันหรือต่ำกว่าการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	อุณหภูมิที่เหมาะสม (°C)	อ้างอิง
<i>G. gracilis</i>	Argentina	13 และ 18 (ปล่อยและพัฒนาสปอร์)	Michetti <i>et al.</i> , 2013
<i>G. pacifica</i>	Caribbean	21 (ปล่อยและพัฒนาสปอร์)	Garza <i>et al.</i> , 2000
<i>G. lemaneiformis</i>	China	10-30 (tetraspore)	Ye <i>et al.</i> , 2006
<i>G. tenuistipitata</i>	อ่าวปัตตานี	25 (ปล่อยสปอร์)	ระพีพร และกาญจนภาชน์, 2536
<i>G. fisheri</i>	อ่าวปัตตานี	25 (ปล่อยสปอร์)	ระพีพร และกาญจนภาชน์, 2536
<i>G. tenuistipitata</i>	Batu Laut, Malaysia	25±2 (carpospore)	Yu <i>et al.</i> , 2013
<i>G. edulis</i>	Port Dickson, Malaysia	25±2 (carpospore)	Yu <i>et al.</i> , 2013

8.2.3 แสง การสร้างและพัฒนาสปอร์ของสาหร่าย *Gracilaria* แสงและช่วงเวลาการให้แสงจะมีความสำคัญในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ แต่การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์จะเกิดขึ้นที่ความเข้มแสงต่ำ เมื่อต้นอ่อนเจริญเติบโตจะใช้ความเข้มแสงเพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสงและช่วงที่ได้รับแสงที่เหมาะสมต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *Gracilaria*

ชนิดของสาหร่าย	แหล่งอาศัย	แสงและช่วงการให้แสง ที่เหมาะสม ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	อ้างอิง
<i>G. cornea</i>	Mexico	20 (ปลดปล่อย carpospore) 8:16 ชั่วโมง (สว่าง: มืด)	Guzman-Uriostegui <i>et al.</i> , 1999
<i>G. lemaneiformis</i>	China	30 และ 45 (tetraspore) 12:12 ชั่วโมง (สว่าง: มืด)	Ye <i>et al.</i> , 2006
<i>G. lemaneiformis</i>	China	15 (carpospore)	Zhou <i>et al.</i> , 2013
<i>G. verrucosa</i>	Northern France	30 (ปล่อยสปอร์จาก tetraspore)	Destombe <i>et al.</i> , 1993
<i>G. tenuistipitata</i>	Batu Laut, Malaysia	10 (carpospore) 12:12 ชั่วโมง (สว่าง: มืด)	Yu <i>et al.</i> , 2013
<i>G. edulis</i>	Port Dickson, Malaysia	5 (carpospore) 12:12 ชั่วโมง (สว่าง: มืด)	Yu <i>et al.</i> , 2013

9. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria*

สาหร่าย *Gracilaria* มักพบมากในพื้นที่ชายฝั่งทะเลที่ได้รับอิทธิพลน้ำขึ้นน้ำลง (Intertidal) พื้นที่น้ำตื้นบริเวณชายฝั่ง (shallow subtidal) ส่วนใหญ่เจริญเติบโตในแหล่งน้ำกร่อยที่มีความเค็มไม่สูงมาก และบริเวณใกล้ชายฝั่งที่คลื่นลมไม่แรงมาก เช่น บริเวณแนวกันคลื่น เนื่องจากลำต้นของสาหร่ายเปราะบางและแตกหักง่ายจึงไม่สามารถเจริญเติบโตในบริเวณที่คลื่นลมแรง สาหร่ายมักจะเจริญเติบโตในพื้นที่ที่เป็นโคลนเลนเนื้อละเอียด และดินโคลนปนทราย หรือโคลนเลนบริเวณปากแม่น้ำ นอกจากนี้ที่ดังกล่าวสาหร่ายสามารถขึ้นได้ในบริเวณรอบนอกของเกาะต่าง ๆ หรืออาจพบในบริเวณพื้นที่ปิด เช่น การเลี้ยงในบ่อดิน (Kim, 1970)

9.1 การเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria* ในทะเลเปิด

การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นในทะเลเป็นวิธีที่นิยม เนื่องจากมีต้นทุนต่ำกว่าการเลี้ยงบนพื้นดิน การเลี้ยงจะทำบริเวณอ่าวตอมนบนเขตน้ำกร่อย หรือบริเวณเขตน้ำตื้นตามแนวปะการัง แต่ไม่สามารถเลี้ยงได้ตลอดทั้งปี เพราะคุณภาพน้ำในทะเลไม่แน่นอน มีการเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล และไม่สามารถควบคุมได้ ดังนั้น การเลี้ยงด้วยวิธีนี้ จึงจำเป็นต้องคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่เหมาะสม เป็นชนิดที่ทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม และอุณหภูมิได้ดีกว่า สถานที่ในการทำฟาร์มในทะเล จะต้องเป็นบริเวณที่มีคุณภาพน้ำที่ดี มีที่กำบังคลื่นลม ควรเป็นพื้นที่ที่มีค่าแรงงานต่ำ สามารถเลี้ยงด้วยวิธีการเลี้ยงแบบผูกบนราวเชือก และการเลี้ยงแบบแขวนไว้กับแพ ซึ่งการเลี้ยงแต่ละวิธีขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของพื้นที่ โดยใช้ท่อนพันธุ์ หรือสปอร์ในการเริ่มต้นเลี้ยง โดยการเลี้ยงในทะเลเปิดมี 2 วิธี ได้แก่ การเลี้ยงแบบแขวน และการปลูกหรือหว่านพื้น (Santelices and Doty, 1989; Critchley and Ohno, 1998)

9.1.1 การเลี้ยงแบบแขวน มักทำบริเวณที่มีระดับน้ำค่อนข้างลึก มีคลื่นลม หรือสภาพแวดล้อมค่อนข้างแปรปรวน การเลี้ยงแบบแขวน ได้แก่ การเลี้ยงบนราวเชือก การเลี้ยงแบบแขวนไว้ใต้แพ โดยการนำเอาสาหร่ายวุ้นผูกไว้เป็นกลุ่มแขวนไว้กับหลักไม้แนวราบ หรือแขวนไว้ใต้แพตามแนวตั้ง การเลี้ยงแบบนี้จะสะดวกกับการจัดการ เมื่อเกิดสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม สามารถเคลื่อนย้ายได้สะดวก เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตได้ระยะหนึ่ง จะเก็บเกี่ยวผลผลิตได้โดยการตัดปลายยอดที่ยาว การเลี้ยงแบบนี้สามารถจัดการได้ง่าย และเก็บเกี่ยวได้ง่าย ต้นพันธุ์สาหร่ายได้มาจากการปักจีสปอร์โดยนำเชือกหรือตาอวนล่อให้สปอร์มาติด หรือการนำชิ้นส่วนของแทลัสสาหร่ายมาผูกติดกับเชือกให้เป็นแนว (Santelices and Doty, 1989; Critchley and Ohno, 1998)

9.1.2 การเลี้ยงติดพื้น การทำให้สาหร่ายคงอยู่บนพื้นท้องน้ำโดยการผูกสาหร่ายไว้กับวัสดุที่มีน้ำหนัก ก้อนหิน หรือ กุ้งพลาสติกที่บรรจุทราย ทำในพื้นที่ห่างฝั่งออกไป ในบริเวณน้ำท่วมตลอดเวลา จึงต้องผูกสาหร่ายไว้กับวัสดุต่าง ๆ สำหรับพื้นที่ราบใกล้ชายฝั่งในขณะน้ำลงพื้นจะแห้ง

เป็นบริเวณกว้าง สามารถปลูกสาหร่ายลงดิน แล้วใช้ตาข่ายขนาดตา 10 มิลลิเมตร คลุมไว้ในระยะแรก (Santelices and Doty, 1989; Critchley and Ohno, 1998)

9.2 การเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria* ในบ่อซีเมนต์

การเลี้ยงสาหร่ายวิธีนี้ไม่เหมาะสมที่จะใช้เลี้ยงเชิงพาณิชย์เพื่อใช้สาหร่ายสกัดวุ้นเพราะระบบการเลี้ยงนี้มีต้นทุนสูงจากการสูบน้ำให้ไหลหมุนเวียนในระบบ และการให้อากาศเกือบตลอดเวลา ทำให้ราคาขายสาหร่ายจำเป็นต้องสูงตามไปด้วย ส่วนใหญ่ใช้เลี้ยงสาหร่ายผสมนางชนิดที่ต้องการบริโภคสด หรือชนิดที่ต้องการสกัดยา หรือสารออกฤทธิ์ ฟาร์มเลี้ยงควรอยู่ใกล้ทะเลเพื่อให้สามารถสูบน้ำมาใช้ได้สะดวก บ่อเลี้ยงจะทำด้วยซีเมนต์, ไฟเบอร์ หรือ วัสดุอื่น ถึงแม้จะมีรูปต่าง ๆ เช่น สีเหลี่ยม รูปกรวย สามเหลี่ยม หรือ รูปไข่ (Critchley and Ohno, 1998)

9.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria* จากสปอร์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายวุ้นจากสปอร์ยังไม่แพร่หลาย เนื่องจากมีความยุ่งยากในการกระตุ้นให้สาหร่ายปล่อยสปอร์ แต่การเลี้ยงโดยใช้สปอร์ยังมีความจำเป็น โดยเฉพาะในพื้นที่ที่เลี้ยงโดยใช้ท่อนพันธุ์สาหร่ายเดิมซ้ำ ๆ ท่อนพันธุ์สาหร่ายจะแก่ส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้นจึงต้องเริ่มเลี้ยงใหม่จากสปอร์ เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์สาหร่ายที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และการเลี้ยงจากสปอร์ทำให้สาหร่ายมีส่วนแปะยึด (holdfast) ที่สามารถยึดเกาะกับวัสดุไม่หลุดได้ง่าย แต่การเลี้ยงจากสปอร์จะใช้เวลาในการเลี้ยงนานกว่าการใช้ท่อนพันธุ์ 2-4 เดือน ดังนั้นการดักจับสปอร์จากธรรมชาติจึงเป็นที่นิยม แต่อาจทำให้มีสปอร์ของสาหร่ายชนิดอื่นปะปน (ระพีพร, 2552)

9.4 การเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria* ในบ่อดิน

การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นในบ่อดินประสบความสำเร็จในเชิงเศรษฐกิจเนื่องจากสาหร่ายกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดี นิยมเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ บ่อเลี้ยงต้องอยู่ในพื้นที่ใกล้กับทะเล และมีค่าแรงงานถูก สาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อจะมีวงจรชีวิตต่างจากธรรมชาติ คือไม่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เนื่องจากในบ่อเลี้ยงมีปัจจัยสภาพแวดล้อมที่จำกัดกว่าในธรรมชาติ แต่ผู้เลี้ยงจะขยายพันธุ์สาหร่ายจากท่อนพันธุ์ซึ่งได้มาจากธรรมชาติ หรือจากบ่อเลี้ยงพื้นที่ใกล้เคียง การเลี้ยงสาหร่ายผสมนางในบ่อดินสามารถเลี้ยงและเก็บเกี่ยวได้ตลอดทั้งปี (ระพีพร, 2552)

ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน ประสบความสำเร็จในการเลี้ยงสาหร่ายวุ้นในบ่อดิน โดยเลี้ยงในจีนและที่เกาะไต้หวัน ทั้งสองพื้นที่มีความแตกต่างกันคือ การเลี้ยงในจีนจะมีค่าแรงงานต่ำ ส่วนการเลี้ยงในไต้หวันจะเป็นการเลี้ยงแบบหลากหลายร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่น จึงมีความคุ้มทุน นอกจากนี้ยังมีการเลี้ยงในประเทศ เวียดนาม ไทย และอินโดนีเซีย ที่เพิ่งเริ่มเลี้ยง บ่อเลี้ยงจะเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาดบ่อ 0.7–1.0 เฮกเตอร์ (7,000–10,000 m² หรือ 4.38–6.25 ไร่) มีการถ่ายเทน้ำเข้าออกภายในบ่อเพื่อปรับระดับน้ำเข้าออกภายในบ่อ โดยบ่อควรตั้งอยู่บริเวณใกล้ชายฝั่งที่มีน้ำทะเลขึ้นลง เพื่อให้มีการถ่ายเทน้ำเข้าและออกจากบ่อ เป็นบ่อดินโคลนปนทรายหรือเลนผสมทราย เพื่อให้มีสารอินทรีย์

หากพื้นเป็นทรายอย่างเดียว สาหร่ายที่ขึ้นอยู่อาจจะถูกฝังกลบลงได้ง่าย ดังนั้นในบริเวณที่มีลมแรง และมีพื้นเป็นทราย บ่อเลี้ยงควรมีขนาดเล็ก และบ่อควรจะลึกกว่าบ่อเลี้ยงทั่วไป นอกจากนี้บ่อเลี้ยงควรอยู่ในบริเวณที่สามารถหาน้ำทะเลและน้ำจืดผ่านเข้ามาใช้งานได้เพียงพอ โดยน้ำจืดจะใช้เพื่อเจือจางเมื่อน้ำทะเลมีความเค็มสูงขึ้น ในกรณีที่พื้นบ่อเก่า ควรปล่อยน้ำทิ้ง แล้วจึงกำจัดวัชพืชที่มีในบ่อออก จากนั้นทำการตากบ่อไว้หลายวันเพื่อให้พื้นบ่อแห้ง หากจำเป็นต้องลงปูนขาว เพื่อกำจัดวัชพืชที่เหลือ และช่วยปรับ pH ของน้ำให้ใกล้เคียง 8 แล้วจึงเติมน้ำทะเลเข้าบ่อ อาจต้องเติมน้ำจืดเพื่อควบคุมความเค็มให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม สำหรับบ่อใหม่ จำเป็นต้องปรับ pH ของน้ำให้ใกล้เคียง 8 เช่นกัน โดยเฉพาะบ่อบริเวณป่าชายเลนเขตร้อน ซึ่งในขณะที่สร้างบ่อ สารอินทรีย์ที่อยู่ในดินสัมผัสกับอากาศทำให้ pH ของน้ำต่ำลงมากจึงต้องใช้เวลาในการปรับ pH และต้องควบคุมคุณภาพน้ำให้คงที่ ก่อนที่จะนำสาหร่ายลงเลี้ยง (Shang, 1976; Chen, 1990; FAO, 1991; Critchley and Ohno, 1998)

การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นในบ่อดิน ส่วนใหญ่ใช้วิธีการหว่านกับพื้น ต้นพันธุ์ควรเลือกจากบ่อเลี้ยงที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ซึ่งจะให้ผลดีกว่านำต้นพันธุ์มาจากแหล่งธรรมชาติโดยตรง หากนำมาจากแหล่งอื่นที่ไกลออกไปมาก การลำเลียงต้นพันธุ์มายังบ่อเลี้ยงต้องไม่ให้โดนแดดเผา หรือโดนลมแรง ความหนาแน่นเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการหว่านเลี้ยง คือ 0.4–0.5 Kg/m² โดยนำสาหร่ายใส่แพลลอยน้ำฉีกให้เป็นชิ้นเล็ก แล้วโยนหว่านให้กระจายให้มากที่สุด ให้สาหร่ายจมลงสู่ก้นพื้น โดยหว่านตอนเช้าหรือตอนฟ้าครึ้ม สาหร่ายวุ้นหว่านลงไปในระยะแรกจะอยู่ในลักษณะกึ่งแขวนลอย หากมีลมแรงอาจต้องใช้ช้อนช่วยคลุมพื้นบ่อในช่วงแรก เพื่อช่วยพยุงแพลลัสให้อยู่ในพื้นที่เดิม การดูแลระหว่างบ่อเลี้ยง ได้แก่ การตรวจสอบการเจริญเติบโตของสาหร่าย การเปลี่ยนถ่ายน้ำ การให้อาหาร เมื่อหว่านสาหร่ายลงในบ่อ 3–4 วัน แพลลัสจะตั้งตรงขึ้นเพื่อเจริญเติบโตต่อไป ดังนั้นในการจัดการประจำวันจะต้องสังเกตเจริญเติบโตของสาหร่าย ว่ามีการแตกแขนงหรือไม่ และตรวจสอบสีของแพลลัส หากผิดปกติอาจวิเคราะห์ได้ว่าขาดสารอาหาร ความเข้มแสงหรือความเค็มไม่เหมาะสม นอกจากนี้จะต้องสังเกตดูต้นไม้ข้างบ่อที่อาจเป็นเงาบังแสงสาหร่ายในบ่อ สาหร่ายวุ้นที่เลี้ยงในบ่อจะมีอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ในช่วงแรกสูงประมาณ 7–15 เปอร์เซ็นต์/วัน เมื่อสาหร่ายมีความหนาแน่นเพิ่มมากในเวลาทีใกล้เคียงจะเกี่ยว ทำให้อัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ลดลง เมื่อได้สาหร่ายหนาแน่น 1–3 Kg/m² จะสามารถเก็บเกี่ยวสาหร่ายได้ (Chen, 1990; FAO, 1991; Chaoyuan *et. al.*, 1993; Critchley and Ohno, 1998)

จิตติมา (2544) ศึกษาการเจริญเติบโตและปริมาณวุ้นของสาหร่ายผสมนาง (*Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata*) ในบ่อเลี้ยง โดยวิธีสอดเส้นเชือก ในช่วงเดือนสิงหาคม 2541-กรกฎาคม 2542 พบสาหร่าย *G. fisheri* มีการเจริญเติบโตดีกว่า *G. tenuistipitata* ทั้งสองชนิดมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดอยู่ที่ 5.40 ± 2.58 % day⁻¹ ในช่วงฤดูร้อนพบว่า *G. tenuistipitata* มีการเจริญเติบโตลดลง ปริมาณวุ้นที่สกัดได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิด มีปริมาณอยู่ที่ 44.13 % ในระหว่างเลี้ยงสาหร่ายผสมนางทั้ง 2 ชนิด เกิดปัญหาอิพิไฟต์และโปรโตซัวเกาะบนแพลลัสของสาหร่าย อัตรา

การเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิดมีความผันแปรตามฤดูกาล ชนิด และสภาวะจำเพาะของบ่อเลี้ยง และพบว่า *G. fisheri* เหมาะสมต่อการเลี้ยงในบ่อดินเพื่อใช้ในการสกัดวุ้น เนื่องจากสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดทั้งปีและมีปริมาณวุ้นสูง

10. ปัญหาของการเลี้ยงสาหร่าย *Gracilaria*

ปัญหาจากต้นพันธุ์สาหร่ายวุ้น โดยการนำต้นพันธุ์สาหร่ายวุ้นจากพื้นที่ต่าง ๆ ทำให้สภาพแวดล้อมมีความแตกต่างกันออกไป ดังนั้นอัตราการรอดของสาหร่ายจึงขึ้นอยู่กับสภาวะการปรับตัวในพื้นที่เลี้ยงใหม่ ควรคำนึงถึงเรื่องของคุณภาพน้ำ องค์ประกอบของดินที่ไม่แตกต่างไปจากเดิมมากนักเพื่อให้สาหร่ายสามารถปรับตัวได้ อายุของสาหร่ายที่มีการเก็บเกี่ยวจากปลายยอด แล้วทิ้งส่วนโคนไว้ การเก็บเกี่ยวในรูปแบบนี้เป็นเวลานานประมาณ 2-3 ปี ทำให้ผลผลิตสาหร่ายลดลง เนื่องจากสาหร่ายมีการเจริญเติบโตจากปลายยอด จึงทำให้ส่วนโคนมีความแก่ ดังนั้นจึงควรหาพันธุ์สาหร่ายมาเลี้ยงใหม่ โดยการเพาะจากสปอร์ หรือล่อสปอร์ในธรรมชาติให้มีการเกาะบนวัสดุต่าง ๆ เช่น เชือก แผ่นพลาสติก หรืออื่น ๆ โดยการเลี้ยงให้สปอร์สาหร่ายโต (ระพีพร, 2552)

การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นในบ่อ มักพบอาการไอซ์-ไอซ์ (ice-ice symptom) มีสาเหตุมาจากการบังแสงกัน หรือการขาดธาตุอาหาร จากการเจริญเติบโตหนาแน่นมาก จึงควรระมัดระวัง ไม่ให้เกิดอาการไอซ์-ไอซ์ ซึ่งอาการสาหร่ายจะเกิดจุดขาวแพร่กระจายทั่วแทสลัส ทำให้ผลผลิตสูญเสียเกือบทั้งหมด วิธีการป้องกัน ควรฉีกหว่านสาหร่ายเป็นระยะ เพื่อให้ได้แสงอย่างทั่วถึง มีการเปลี่ยนน้ำให้สาหร่ายได้รับธาตุอาหาร หรือการปุ๋ย (Santelises and Doty, 1989)

พืชอิงอาศัย เนื่องจากบริเวณที่เลี้ยงสาหร่ายผสมนางมีปริมาณสารอาหารมาก แสงจัด น้ำมีการหมุนเวียนน้อย หรือพื้นที่เลี้ยงมีการเลี้ยงมาเป็นเวลานาน จึงอาจมีการปนเปื้อนจากสาหร่ายขนาดเล็ก กลุ่มพืชอิงอาศัย หรืออีพิไฟต์ (epiphyte) เช่น ไดอะตอม (diatom) และสาหร่ายขนาดใหญ่กลุ่ม เอกโทคาร์ปัส (*Ectocarpus*) อุลวา (*Ulva*) และพอลิซิโฟเนีย (*Polysiphonia*) ทำให้สาหร่ายผสมนางมีการเจริญเติบโตได้ช้า (ระพีพร, 2552)

11. คุณค่าสารอาหารและการใช้ประโยชน์ของสาหร่าย *Gracilaria*

สาหร่ายวุ้น *Gracilaria* เต็มไปด้วยคุณค่าของสารอาหารที่มนุษย์ต้องการ เช่น แหล่งของโปรตีน กรดอะมิโน กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว วิตามิน แร่ธาตุ และเยื่อใยต่าง ๆ (Mabeau and Fleurence, 1993) ทำให้มีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้แก่ ด้านอุตสาหกรรมการผลิตวุ้น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยารักษาโรค และอุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำ และจากความต้องการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายผสมนางเพิ่มขึ้นในหลายพื้นที่ จึงความพยายามในการเพาะเลี้ยง เพื่อใช้ประโยชน์ภายในประเทศและส่งออก สาหร่ายวุ้นที่ตากแห้งจะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมสกัดวุ้น หรือพัฒนาผลิตภัณฑ์โดยการอบแห้ง ปัจจุบันสาหร่ายวุ้นมากกว่า 80 % ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการสกัดวุ้น ที่เหลืออีก 20 % ใช้ในการบริโภค เป็นอาหารสัตว์ ส่วนผสมในเครื่องสำอาง (Chapman and Chapman, 1980) สาหร่ายผสมนางที่ได้จากการอบแห้งหรืออบหยาบ

จะใช้ในการทำสลัดหรือยำสาหร่าย หรือผสมในผลิตภัณฑ์พื้นบ้าน เช่น ข้าวเกรียบ ทำวุ้นต่าง ๆ และ เต้าฮวยฟรุตสลัด (อมมี และคณะ, 2553) ทั้งนี้การนำสาหร่ายไปปรุงอาหารทำได้ทั้งในรูปของสาหร่ายสด และแห้ง และใช้ในการบำบัดน้ำโดยการนำมาเป็นตัวกรองทางชีวภาพ โดยสาหร่ายแต่ละชนิดจะมีคุณค่าทางโภชนาการแตกต่างกันไป ตามสภาพสิ่งแวดล้อมที่อยู่อาศัย เช่น แสง อุณหภูมิ และความเค็ม สาหร่ายวุ้นจะมีการสังเคราะห์แสงเมื่อมีความเข้มแสงมาก (Rebeldo and Pelegrin, 1997) มีคาร์โบไฮเดรต 60-70 % และเถ้า 10-30 % ส่วนไขมันมีในปริมาณต่ำมาก 1-3 % ซึ่งประกอบไปด้วยไขมันไม่อิ่มตัว 61 % ได้แก่ กรดลิโนลินิก (linolenic acid) และ กรดโอเลอิก (oleic acid) ไขมันอิ่มตัว 39 % ได้แก่ กรดปาล์มมิติก (palmetic acid) เป็นต้น (Norziah and Ching, 2000) นอกจากนี้ สาหร่ายวุ้นยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acids หรือ EAA) ที่มีมากในสาหร่าย ได้แก่ กรดกลูตามิก (glutamic acid) ลูซีน (leucine) อาร์จินิน (arginine) และอะลานีน (alanine) สาหร่ายวุ้นยังมีวิตามินซี, ไอโอดีน ฟอสฟอรัส, แมงกานีส, และสังกะสีในปริมาณสูง (Rebeldo and Pelegrin, 1997) ดังนั้นจึงเหมาะที่จะเป็นอาหารเสริมสุขภาพ ปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุของสาหร่ายบางชนิด การใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเพื่อบริโภคนั้น มีความหลากหลาย และแตกต่างกันออกไปในแต่ละประเทศ และวัฒนธรรมแต่ละท้องถิ่น (Wen *et al.*, 2006; Hong *et al.*, 2007) ทั้งนี้ผลผลิตหลักของสาหร่ายวุ้น จะใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตวุ้น ซึ่งการผลิตวุ้นมีมากมายหลายเกรด ขึ้นอยู่กับคุณภาพของสาหร่าย ส่วนใหญ่การใช้งานในอุตสาหกรรม แบ่งเป็น 3 เกรด คือ วุ้นเกรดเอ หรือวุ้นบริสุทธิ์ เป็นวุ้นที่มีความบริสุทธิ์สูง ในงานอิเล็กทรอนิกส์ วุ้นเกรดบี หรือวุ้นเกรดแบคทีเรีย เป็นวุ้นมาตรฐานที่ใช้ในทางจุลชีววิทยา ส่วนวุ้นเกรดซี หรือวุ้นเกรดอาหารเป็นวุ้นที่ใช้เป็นอาหารสำหรับการบริโภค (Durairatnam, 1987; Armisen, 1995; Murano, 1995) แต่สาหร่ายวุ้นต่างชนิดกัน จะมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน (Kim and Shin, 2017) ดังนั้นจึงมีการศึกษาคุณค่าสารอาหารบางชนิดที่แตกต่างกันเพื่อจะจำแนกชนิดของสาหร่ายวุ้น ที่ทำการเพาะเลี้ยงในพื้นที่ต่างกัน จะทำให้มีคุณค่าทางเคมีที่แตกต่างกัน ทั้งนี้องค์ประกอบโดยประมาณ (proximate composition) ที่เป็นหลักได้แก่ โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเกลือแร่ มีความแตกต่างกันดังตารางที่ 8 และ 9

ตารางที่ 8 คุณค่าโภชนาการและแร่ธาตุของสาหร่าย *Gracilaria* บางชนิด

Nutritional items	<i>G. fisheri</i> ¹ (g/100g dry wt.)	<i>G. acerosa</i> ² (g/100g dry wt.)	<i>G. tenuistipitata</i> ^{1,2} (g/100g dry wt.)
Moisure	5.2-5.7	-	3.3-3.9
Protein	11.6	6.3	6.9-22.3
Fat	1.7-2.7	1.0	1.0-3.6
Ash	21.4-22.9	20.4	7.9-26.5
Fiber	57.5-64.0	11.2	35.5-60.2
Ca	82-182	7.91	1.04
P	237-245	-	-
Na	165-438	0.42	1.16
K	4,389-10,794	2.73	1.08
Mg	485-303	0.82	0.58
Fe	61.0-90.0	-	-
Cu	0.2-0.3	-	-
Zn	1.0-2.2	22.33	37.13

¹Benjama and Masniyom (2012), ²Hong *et al.* (2007)

ตารางที่ 9 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิดในสาหร่าย *Gracilaria*

Essential amino acid	<i>G. fisheri</i> ¹ (mg/100g dry wt.)	<i>G. acerosa</i> ² (mg/100g dry wt.)	<i>G. tenuistipitata</i> ^{1,2} (mg/100g dry wt.)
Arginine	0.52-0.92	Nd	1.27-1.38
Leucine	0.56-0.73	0.16	0.67-1.61
Isoleucine	0.39-0.52	0.51	0.15-1.00
Lysine	0.17-0.40	0.78	0.51-1.02
Phenylalanine	0.52-0.58	0.71	0.78-1.11
Threonine	0.49-0.64	0.62	0.71-1.23
Valine	0.17-0.40	0.39	0.69-1.12

¹Benjama and Masniyom (2012), ²Hong *et al.* (2007)

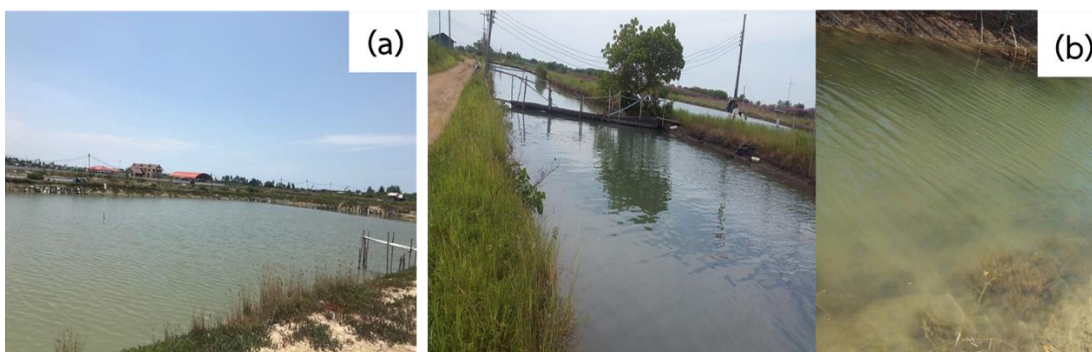
Nd= no data

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

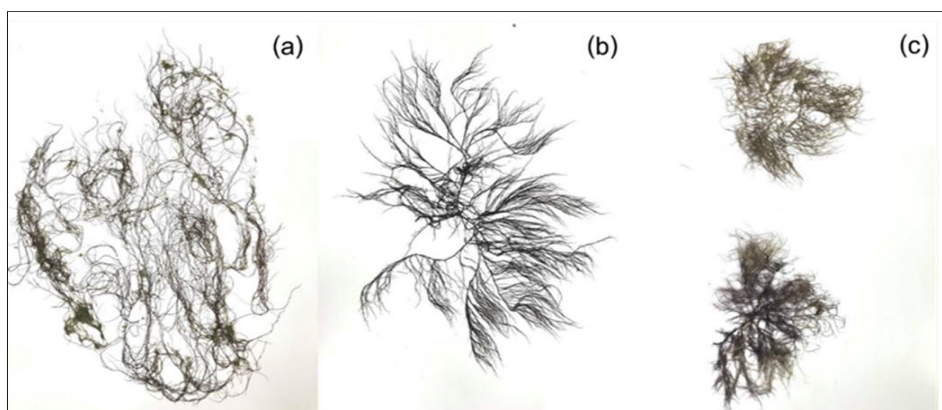
1. ศึกษาลักษณะและจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

สำรวจพื้นที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* ในปีพ.ศ. 2560 ได้แก่ บ่อเลี้ยง อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี สายพันธุ์ที่พบ คือ สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก และบ่อเลี้ยงอำเภอรโนด จังหวัดสงขลา สายพันธุ์ที่พบ คือ สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ และสาหร่ายผสมนางหัวหยิก



ภาพที่ 10 สำรวจพื้นที่เก็บตัวอย่างสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง ในปี พ.ศ. 2560 (a) อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี (b) อำเภอรโนด จังหวัดสงขลา

โดยเก็บรวบรวมตัวอย่างสาหร่ายจากบ่อเลี้ยงจำนวน 34 ตัวอย่าง ทำความสะอาดสาหร่ายกำจัดสิ่งปนเปื้อน เช่น หอย เศษหิน ดิน โคลน และสิ่งปนเปื้อนอื่น ๆ จากนั้นนำตัวอย่างอัดแห้งบนแผ่นกระดาษ (herbarium) เพื่อศึกษาโครงสร้างภายนอกและภายใน ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม (DNA) และอบแห้งสาหร่ายที่ 60 °C เพื่อศึกษาลักษณะทางเคมีอาหาร

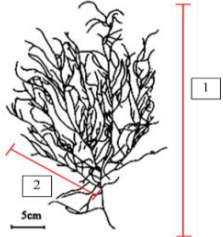
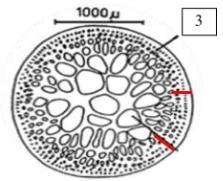
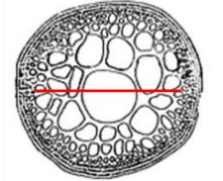
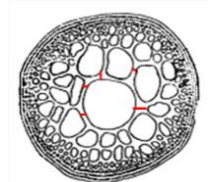


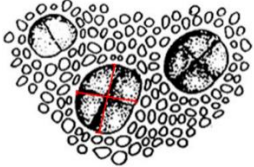
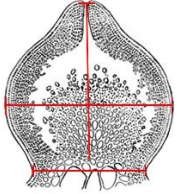
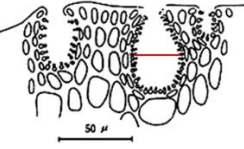
ภาพที่ 11 ตัวอย่างอัดแห้งสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง (a) สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก (*G. tenuistipitata*) (b) สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ (*G. fisheri* S1) (c) สาหร่ายผสมนางหัวหยิก (*G. fisheri* S2)

1.1 วิธีการจำแนกลักษณะสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria*

การจำแนกลักษณะสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* โดยศึกษาลักษณะภายนอก ลักษณะภายใน และโครงสร้างการสืบพันธุ์ของสาหร่าย จัดจำแนกดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 วิธีการจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง *Gracilaria*

ลักษณะ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
1. ความสูงของแทลลัส (cm)	- วัดจากส่วนฐานถึงปลายสุดของแทลลัส	
2. ขนาดความกว้างของแขนง (cm)	- ตรวจวัดบริเวณตำแหน่งของความยาวแขนงแต่ละแขนงหารสอง	
ตัดแปลงจาก Abbott <i>et al.</i> (1991)		
3. จำนวนชั้นเซลล์คอร์เทกซ์ (n°)	มีจำนวนตั้งแต่ 2-4 ชั้นเซลล์	
ตัดแปลงจาก Abbott and Norris (1986)		
4. ขนาดชั้นเซลล์เมดูลา (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลางตามแนวแกนที่ยาวที่สุดของเซลล์	
ตัดแปลงจาก Abbott and Norris (1986)		
5. ความกว้างของ intercellular space (μm)	อยู่ระหว่างชั้นเซลล์เมดูลา	
ตัดแปลงจาก Abbott and Norris (1986)		

ลักษณะ	คำอธิบาย	ภาพประกอบ
6. ความยาวและความกว้างของ tetrasporangium width (μm)	- ความยาวของเททระสปอแรงเจียมตามแนวแกนที่ยาวที่สุด - ความกว้างแนวตั้งฉากกับความยาวเททระสปอแรงเจียม	 ตัดแปลงจาก Abbott and Norris (1986)
7. ความคอดของฐานของ cystocarp ความยาวและความกว้าง (μm)	- ตรวจวัดตรงจุดที่ กว้างที่สุดจาก median sections - ตรวจวัดจากฐานของ gonimoblast ถึงปลายยอดของ ostiole - ความกว้างบริเวณฐานของ cystocarp	 ตัดแปลงจาก Abbott et al. (1991)
8. รูปแบบของ spermatangium ความยาวและความกว้าง (μm)		 ตัดแปลงจาก Abbott et al. (1991)

1.2 การวิเคราะห์ทางชีวโมเลกุล (DNA) เพื่อจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria*

การจำแนกชนิดทางพันธุกรรม (DNA) โดยใช้ชุดสกัดไนโตรเจนเหลว DNeasy Plant Fungi Isolation Kit (Norgen, Cannada) PCR ได้แก่ ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') ตรงข้ามกัน และ ITS (5'-GGAAGTAAAAGTC GTAACAAGG-3') เป็นไพรเมอร์ไปข้างหน้า (White et al., 1990) การขยาย PCR ดำเนินการตามวิธีที่ Mosier et al. (2006) PCR ทั้งหมดจะถูกคั้นด้วยอิเล็กโทรโฟรีซิสใน agarose 1% เพื่อตรวจสอบผลผลิตและขนาด การทำ PCR ให้บริสุทธิ์โดยใช้ NucleoSpin and Gel PCR Clean-up kit (Norgen, Cannada) PCR ที่ บริ สุทธิ์ แล้วจะนำไปจัดลำดับเชิงพาณิชย์ (Macrogen, South Korea) ตรวจสอบลำดับทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม BioEdit v7.0 แล้วส่งไปจัดลำดับนิวคลีโอไทด์ ใช้ฐานข้อมูลของศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ประเทศเกาหลีใต้ เพื่อระบุชนิดสาหร่ายข้อมูลเป็นบวก หากลำดับคิวรีแสดง > เอกลักษณะ 99% พร้อมลำดับดีเอ็นเอจากสายพันธุ์ในฐานข้อมูล

1. การเตรียมไลเซต (lysate)

a. วางเนื้อเยื่อสำหรับ ≤ 100 mg ลงในครกบดสารที่บรรจุไนโตรเจนเหลวแล้วบดให้สำหรับละเอียด ถ่ายเนื้อเยื่อสำหรับไปยังหลอด microcentrifuge tube และเติม Lysis Buffer L 500 μ L และ RNase A 1 μ L

b. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 °C เป็นเวลา 10 นาที และเขย่าหลอด 2 หรือ 3 ครั้ง

c. เติม Binding Buffer I 100 μ L ผสมให้เข้ากันและปั่นในน้ำแข็งเป็นเวลา 5 นาที

d. ดูดไลเซท และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 2 นาที ที่ความเร็ว 20,000 \times g (~14,000 RPM)

e. ดูดส่วนที่ใสไปยังหลอด microcentrifuge ที่ปราศจาก DNAase โดยใช้ปิเปต

f. เพิ่มเอทานอล 70% ลงในไลเซทที่เก็บไว้ ผสมให้เข้ากัน

2. Binding of Column

a. ประกอบ Spin Column (grey O-ring) เข้ากับหลอดรวบรวม 1 หลอด

b. ดูดไลเซท 650 μ L กับเอทานอล ลงบน Spin Column และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาที ที่ความเร็ว 10,000 \times g (~10,000 RPM) ทิ้งส่วนใสและเก็บหลอด Spin Column

3. การล้าง Column Wash

a. เติมสารละลาย SolutionWN 500 μ L และปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 1 นาที ที่ความเร็ว 20,000 \times g (~14,000 RPM) และทิ้งส่วนใสหลอดรวบรวม

b. ล้างด้วยสารละลาย Solution A 500 μ L และปั่นเหวี่ยง 1 นาที ที่ความเร็ว 20,000 \times g (~14,000 RPM) และทิ้งส่วนใส ทำซ้ำอีกครั้ง

d. ปั่นเหวี่ยง Spin column เป็นเวลา 2 นาที ที่ 20,000 \times g (~14,000 RPM) เพื่อให้ส่วน DNA แห้ง และทิ้งน้ำใสในหลอดรวบรวม

4. DNA Elution

a. วาง Spin column ในหลอดรวบรวมและเติม Elution 1.7 mL

b. เติม Elution Buffer B 100 μ L พักไว้เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

c. นำไปปั่นเหวี่ยงเวลา 1 นาที ความเร็ว 10,000 \times g (~10,000 RPM) ทิ้งส่วนใสหลอดรวบรวม และปั่นเหวี่ยง 1 นาที ที่ 20,000 \times g (~14,000 RPM)

5. การเก็บรักษา DNA

การเก็บรักษา DNA บริสุทธิ์สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิ 2-8 °C นาน 2-3 วัน สำหรับการเก็บระยะยาวควรเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C

วิธีการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction)

1. ปรับสภาพ DNA

ปรับปริมาตรตัวอย่างที่มีน้อยกว่า 30 μ L ให้ได้ปริมาตร 50-100 μ L ด้วยน้ำกลั่น

2. Bind DNA

วาง Nucleospin และ PCR Clean-up ไว้ใน Collection Tube (2 mL) และโหลดตัวอย่างได้ 700 μ L นำไปปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 วินาที ที่ 11,000 \times g ยกเลิกการไหลผ่านและวางคอลัมน์กลับเข้าไปในหลอดรวบรวม

3. การล้าง (Wash silica membrane)

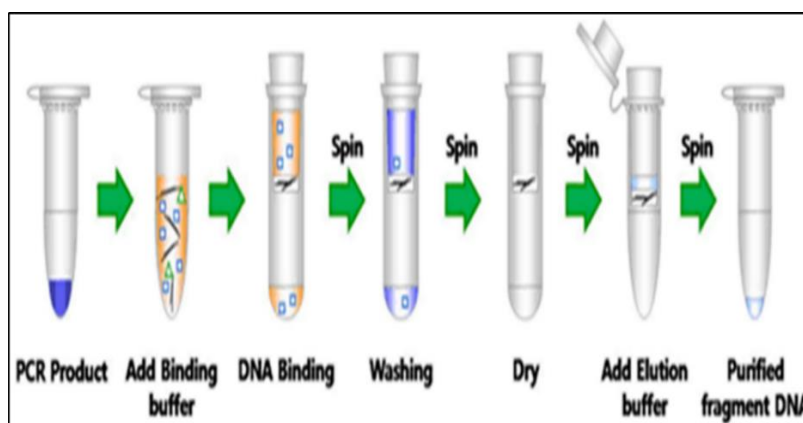
เพิ่ม Buffer NT3 700 μ L ไปยัง Nucleospin และ PCR clean-up ปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 30 วินาที ที่ความเร็ว 11,000 \times g ยกเลิกการไหลผ่านและวางคอลัมน์กลับเข้าไปในหลอดรวบรวม

4. การทำให้แห้ง (Dry silica membrane)

นำไปปั่นเหวี่ยง 1 นาที ที่ความเร็ว 11,000 \times g เพื่อขจัด Buffer NT3 ออกอย่างสมบูรณ์ ตรวจสอบ spin column ให้แน่ใจว่าไม่ได้สัมผัสกับ Buffer NT3 ในขณะที่เอาออก

5. Elute DNA

วาง Nucelospin Gel และ PCR clean-up Column ลงในหลอด microcentrifuge ใหม่ 1.5 mL เพิ่ม Buffer NE 15-30 μ L และพักไว้ที่อุณหภูมิห้อง (18-25 $^{\circ}$ C) เป็นเวลา 1 นาที นำไปปั่นเหวี่ยง 1 นาที ที่ความเร็ว 11,000 \times g



ภาพที่ 12 ขั้นตอนการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction)

1.3 การวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณธาตุอาหารบางชนิด

1.3.1 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

นำตัวอย่างสาหร่าย *Gracilaria* spp. ที่เก็บจากบ่อเลี้ยง ในพื้นที่ อำเภอมะนัง จังหวัดปัตตานี และพื้นที่ อำเภอรอนดง จังหวัดสงขลา มาวิเคราะห์หาปริมาณคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย และเถ้า โดยนำสาหร่ายผมนางที่ได้จากบ่อเลี้ยงมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และนำไปอบด้วยเครื่องอบแบบเป่าลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 $^{\circ}$ C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จนสาหร่ายแห้ง จากนั้นนำตัวอย่างมาทำตามขั้นตอนของแต่ละการวิเคราะห์สำหรับการตรวจสอบปริมาณคุณค่าทางโภชนาการในสาหร่าย โดยวิธีของ AOAC (2000)

1.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด

นำตัวอย่างสาหร่าย *Gracilaria* spp. และน้ำที่ได้จากบ่อเลี้ยงสาหร่ายทั้ง 2 พื้นที่ มาตรวจสอบ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารบางชนิด ได้แก่ แคลเซียม (Ca), แมงกานีส (Mn), โครเมียม (Cr), คอปเปอร์ (Cu), เหล็ก (Fe), สังกะสี (Zn), นิกเกิล (Ni) และแคดเมียม (Cd) โดยการนำ

สาหร่ายที่ได้เก็บจากบ่อเลี้ยงมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และนำไปอบด้วยเครื่องอบแบบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จนสาหร่ายแห้งจากนั้นนำไปย่อยตามขั้นตอนเพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายแล้วนำไปวิเคราะห์โลหะหนักด้วยเครื่อง AAS (100) โดยวิธี AOAC (2000)

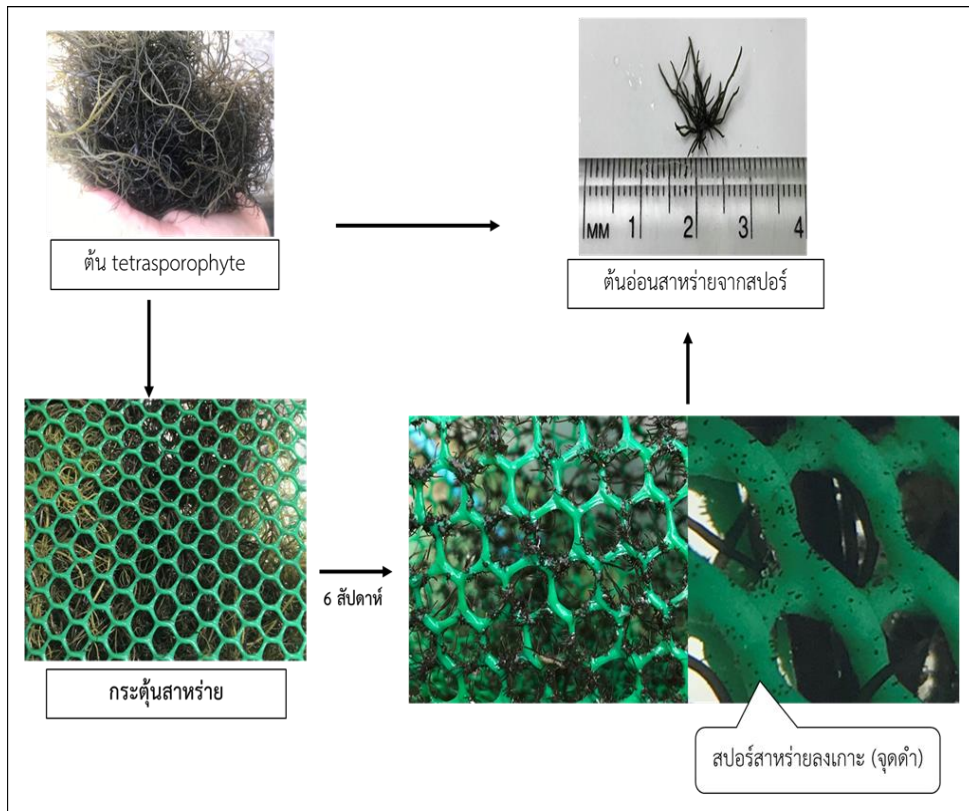


ภาพที่ 13 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด

2. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

2.1 การเตรียมต้นพันธุ์ของสาหร่าย *G. fisheri* S1

เก็บรวบรวมต้นพันธุ์ระยะ tetrasporophyte ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 จากบ่อดินในอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา ภาคใต้ของประเทศไทย ทำความสะอาดต้นพันธุ์โดยใช้ฟู่กันและล้างในน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลายครั้งเพื่อกำจัดสิ่งปนเปื้อนและ epiphytes ที่มองเห็นได้ออก ตัวอย่างที่ทำความสะอาดแล้วจะนำไปพักในถังขนาด 0.5 ตัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ก่อนที่จะนำสาหร่ายไปกระตุ้นเพื่อให้ปล่อยเทรสปอร์ ตามวิธีของ (Michetti *et al.*, 2013) หลังจากทำการกระตุ้นสาหร่ายแล้วจึงนำสาหร่ายไปเลี้ยงบนแผ่นพลาสติกวางผึ่งในถัง (ภาพที่ 14) เติมน้ำทะเล ภายในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25 °C แสง 12:12 ชั่วโมง สว่าง: มืด และ เติมน้ำอาหาร Modified von Stosch (Grund) Medium (MGM) 1 mL L⁻¹ (Andersen *et al.*, 2005) เพื่อกระตุ้นการปล่อยสปอร์ หลังจากสองสัปดาห์นำต้นพันธุ์สาหร่ายออกและเลี้ยงสปอร์ที่เกาะกับแผ่นพลาสติกต่อไป จนกระทั่งต้นอ่อนสาหร่ายมีขนาดประมาณ 2 ซม. (6 สัปดาห์) คัดต้นอ่อนออกจากแผ่นพลาสติก วัดขนาด ชั่งน้ำหนัก และนับจำนวนต้นก่อนนำไปทดลอง



ภาพที่ 14 วิธีการเตรียมต้นพันธุ์สาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

2.2 ผลของความเค็มต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ต้นอ่อนของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงภายใต้ระดับความเค็มต่าง ๆ (10, 20 และ 30 ppt) ความหนาแน่นเริ่มต้น 0.7 g L^{-1} (Yu *et al.*, 2013) เลี้ยงในขวดก้นกลมขนาด 1 L ที่มีหลอดต่อสำหรับให้อากาศ การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง ที่อุณหภูมิ $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ภายใต้ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ให้แสง 12:12 ชั่วโมง มีด:สว่าง เต็มอาหาร MGM ทุกสัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักรวมสาหร่ายจากการเลี้ยง ทุกสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์ และวัดความยาว ($n = 30$) ทก 2 สัปดาห์ ตรวจสอบการก่อตัวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียบนผิวแทลัสส์ ด้วยตาเปล่าในส่วนที่นูนขึ้น ในขณะที่เปลี่ยนน้ำเลี้ยงทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย cystocarp และตรวจสอบความสมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียโดยการตัด section ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง



ภาพที่ 15 วิธีการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ใน flask ขนาด 1,000 mL

2.3 ผลของความเข้มแสงต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ในการประเมินความเข้มแสงของต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่ใช้เพื่อการเพาะเลี้ยง ภายใต้ระดับความเข้มแสงในระดับที่แตกต่างกัน ได้แก่ 20, 40 และ 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ที่ความหนาแน่นเริ่มต้น 0.7 g L^{-1} (Yu *et al.*, 2013) เลี้ยงในขวดก้นกลม 1 ลิตร ที่มีหลอดต่อสำหรับให้อากาศ การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง ในน้ำความเค็ม 20 ppt ที่อุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 12:12 ชั่วโมง มีด:สว่าง เติมอาหาร MGM ทุกสัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักรวมสาหร่ายจากการเลี้ยง ทุกสัปดาห์ นาน 7 สัปดาห์ และวัดความยาว ($n = 30$) ทุก 2 สัปดาห์ ตรวจสอบการก่อตัวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียบนผิวแทลลัส ด้วยตาเปล่าในส่วนที่นูนขึ้น ในขณะที่เปลี่ยนน้ำเลี้ยงทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย cystocarp และตรวจสอบความสมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียโดยการตัด section ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

2.4 ผลของการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

ในการทดลองนี้ทำการเพาะเลี้ยงในถังพลาสติกกลมใสขนาด 10 L เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 cm ความสูงขนาด 40 cm (ภาพที่ 16) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ คาร์บอนไดออกไซด์จะถูกส่งไปยังถังเลี้ยงที่ความเข้มข้น 0 และ 1% (v/v) ที่อัตราการไหล 1 L min^{-1} (โดยใช้ CO_2 บริสุทธิ์ผสมกับอากาศก่อนจะส่งไปใช้ในถังเลี้ยง ตาม Mercado *et al.*, 1999 ช่องส่งอากาศจะถูกวางไว้ที่ด้านล่างถังเพาะเลี้ยงเลี้ยงด้วยน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 10 L ความเค็ม 20 ppt อุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 12:12 ชั่วโมง มีด:สว่าง เติมอาหาร MGM ทุกสัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักรวมสาหร่ายจากการเลี้ยง ทุกสัปดาห์ นาน 4 สัปดาห์ และวัดความยาว ($n = 30$) ทุก 2 สัปดาห์ ตรวจสอบการก่อตัวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียบนผิวแทลลัส ด้วยตาเปล่าในส่วนที่นูนขึ้น ในขณะที่เปลี่ยนน้ำเลี้ยงทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย cystocarp และตรวจสอบความสมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียโดยการตัด section ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง



ภาพที่ 16 รูปแบบการศึกษาผลของคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย *G. fisheri* S1

2.5 ผลของฮอร์โมนพืชต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *G. fisheri* S1

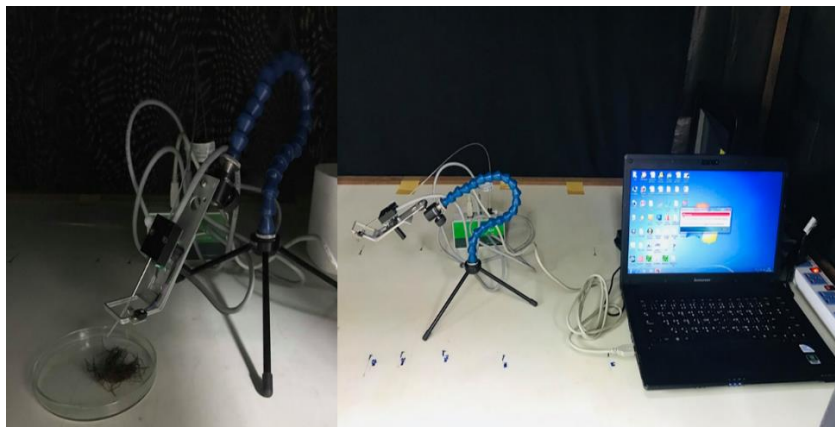
ในการศึกษาใช้ฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือ 6-benzyladenine และออกซิน โดยความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชแต่ละชนิดต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0.000, 0.050, 0.100 และ 0.500 mg L⁻¹ (ตาม Yong *et al.*, 2014; Yokoya *et al.*, 2004) เลี้ยงในขวดก้นกลม 1 ลิตร ที่มีหลอดต่อสำหรับให้อากาศ การทดลองทำซ้ำ 3 ครั้ง ในน้ำเค็ม 20 ppt ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 25 °C ให้แสง 12:12 ชั่วโมง มีด:สว่าง เติมน้ำอาหาร MGM ทุกสัปดาห์ ซึ่งน้ำหนักรวมสาหร่ายจากการเลี้ยง ทุกสัปดาห์ นาน 4 สัปดาห์ และวัดความยาว (n = 30) ทุก 2 สัปดาห์ ตรวจสอบการก่อตัวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียบนผิวเซลล์ ด้วยตาเปล่าในส่วนที่นูนขึ้น ในขณะที่เปลี่ยนน้ำเลี้ยงทุกสัปดาห์ บันทึกข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย cystocarp และตรวจสอบความสมบูรณ์ของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียโดยการตัด section ภายใต้อุปกรณ์กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง

3. การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ของสาหร่าย *G. fisheri* S1

อัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) (% d⁻¹) ของสาหร่ายคำนวณตามสูตร $\text{RGR} (\% \text{ d}^{-1}) = 100 (\ln W_t - \ln W_0) t^{-1}$ (วัน) โดย W_0 = น้ำหนักสาหร่ายเริ่มต้น (กรัม), W_t = น้ำหนักสาหร่ายภายหลังเลี้ยง (กรัม) และ t = เวลา (วัน) (Lobban and Harrison, 1994)

4. การสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ภายใต้อุณหภูมิปัจจัยต่าง ๆ

ตัวอย่างสาหร่าย *G. fisheri* ที่เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิปัจจัยต่าง ๆ (ความเค็ม: 10, 20 และ 30 ppt; ความเข้มแสง: 20, 40 และ 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$; คาร์บอนไดออกไซด์: 0 และ 1%, ฮอร์โมนพืช: 0.00, 0.05, 0.10 และ 0.50 mg L⁻¹) เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำไปวัดการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ประสิทธิภาพควอนตัมสูงสุด PSII โดยปรับความเข้มแสงให้อยู่ในที่มีต่อก่อนตรวจวัดเป็นเวลา 30 นาที (maximum quantum efficiency of PSII photochemistry, F_v/F_m) ด้วยเครื่อง Walz Teaching-PAM (PAM-200), Heinz Walz GmbH, เยอรมัน (ภาพที่ 17)



ภาพที่ 17 ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *G. fisheri* S1

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด สีของสาหร่าย และผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเค็ม ความเข้มแสง การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืช ที่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการสังเคราะห์แสง วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน ด้วยวิธีของ Tukey ($p < 0.05$) ตามวิธีการ Steel and Torrie (1960)

6. วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมี

ก. การวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และการวิเคราะห์ธาตุอาหาร

- เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องหมุนเหวี่ยง
- เครื่องผสม
- โถดูดความชื้น
- กระจกป้องกันความชื้น
- อ่างน้ำร้อน
- เครื่อง Atomic Absorption Spectrometric
- เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
- เตาเผา
- เตาให้ความร้อน
- ตู้อบ
- ปิเปต
- ชุดกรอง
- ปีกเกอร์
- ถังมือ
- ขวดวัดปริมาตร
- กระจกทรง NO. 1
- อลูมิเนียมฟรอยด์
- ขวดพลาสติก 500 mL, 1,000 mL (PE)
- เครื่องวัดดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น SHIMADZU UV-160A
- หลอดเนสเลอร์ ขนาด 100 mL

ข. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย ในห้องปฏิบัติการ

- Flask 1 L
- สายออกซิเจน
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

ค. สารเคมีในการวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และการวิเคราะห์ธาตุอาหาร

- 90 % อะซิโตน (Acetone)
- น้ำกลั่น
- กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

ค. สารเคมีในการวิเคราะห์ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย คาร์โบไฮเดรต และการวิเคราะห์ธาตุอาหาร (ต่อ)

- กรดบอริก (H_2BO_3)
- อินดิเคเตอร์ (Fashiro indicator)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- เฮกเซน (C_6H_{14})
- ปีโตเลียมอีเทอร์
- กรดซัลฟิวริก
- กรดไฮโดรคลอริก (H_2SO_4)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
- เอทานอล 95%
- น้ำกลั่น
- กรดไนตริก (HNO_3)
- กรดไฮโปคลอริก ($HClO_4$)
- กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

7. สถานที่

อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการประมง อาคาร 26 คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

บทที่ 4 ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยงทั้ง 2 พื้นที่

พบสาหร่ายผมนาง 3 สายพันธุ์ ได้แก่

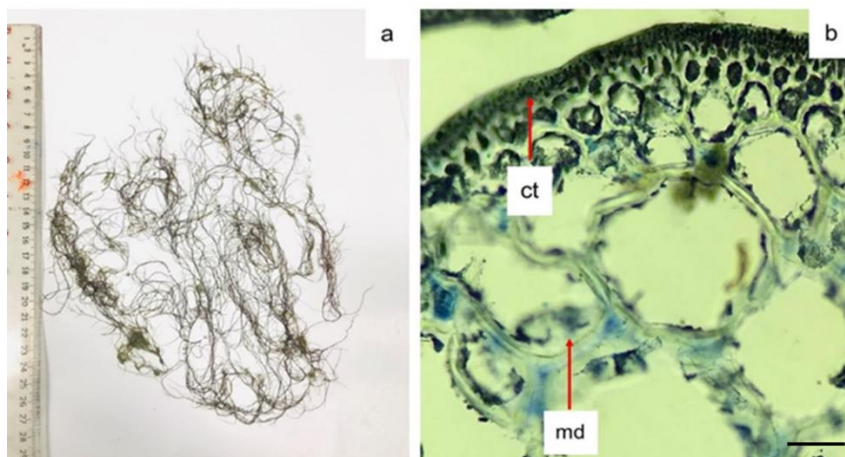
1. *Agarophyton tenuistipitatum* (C.F.Chang et B.-M.Xia) Gurgel, J.N.Norris & Fredericq (*Gracilaria tenuistipitata* C.F.Chang & B.-M.Xia) สาหร่ายผมนางเส้นเล็ก

2. *Gracilaria fisheri* (B.M.Xia & I.A.Abbott) I.A.Abbott, J.Zhang & B.M.Xia 1991 สายพันธุ์ที่ 1 (S1) สาหร่ายผมนางเส้นใหญ่

3. *Gracilaria fisheri* (B.M.Xia & I.A.Abbott) I.A.Abbott, J.Zhang & B.M.Xia 1991 สายพันธุ์ที่ 2 (S2) สาหร่ายผมนางหัวหยิก

สายพันธุ์ที่ 1 *Agarophyton tenuistipitatum* (C.F.Chang et B.M.Xia) Gurgel, J.N.Norris & Fredericq (*Gracilaria tenuistipitata* C.F.Chang & B.M.Xia) สาหร่ายผมนางเส้นเล็ก

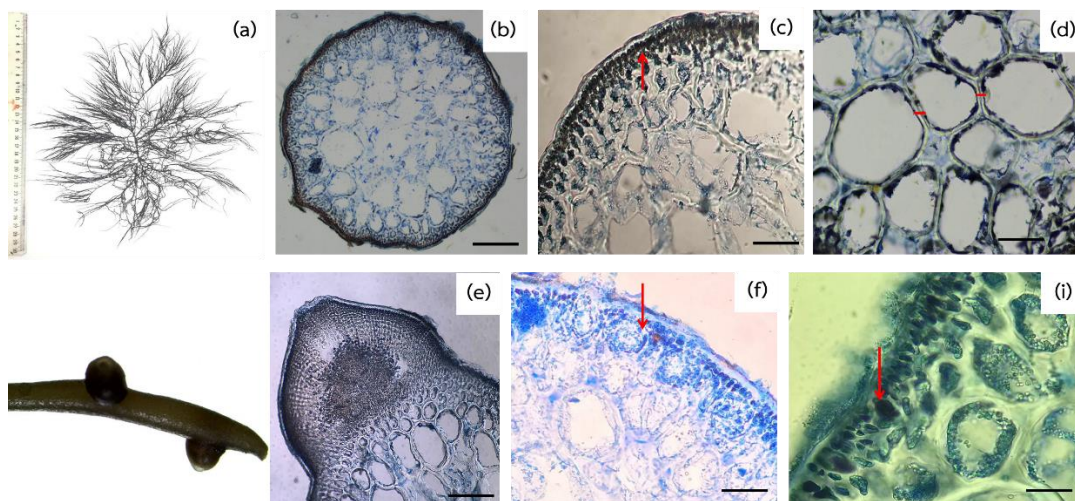
ลักษณะของแทลลัสบอบบางขดงอความยาวประมาณ 18.9 ± 1.4 cm มองดูคล้ายเส้นผม สีของแทลลัสที่พบเห็น คือ สีดำ น้ำตาลแดง และสีแดง แทลลัสแตกแขนงน้อยบริเวณใกล้ฐานแตกแขนงแบบสลับจากแกนกลาง แขนงที่แตกมีลักษณะคล้ายแขนงหลัก โคนฐานแทลลัสเรียวบางมาก แทลลัสมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 521.9 ± 88.9 μm แตกแขนง 1-2 ครั้ง เมื่อตัดขวางแทลลัสพบชั้นคอร์เท็กซ์มี 1-2 ชั้น เป็นเซลล์มีลักษณะกลมเป็นจุดเล็ก ๆ บริเวณนอกสุดที่ผิวของแทลลัส ชั้นเมดูลาขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 126.6 ± 42.7 μm และผนังเซลล์มีความหนา 25.3 ± 10.4 μm แทลลัสขณะยังสดอยู่จับดูจะ รู้สึกเหนียว จากการศึกษานี้ยังตรวจไม่พบ อวัยวะสืบพันธุ์ หรือเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย สาหร่ายชนิดนี้เรียกกันในท้องถิ่นว่าสาหร่ายผมนางเส้นเล็ก หรือสาย พบในบ่อเลี้ยงจากอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี ลักษณะของสาหร่าย ดังภาพที่ 18



ภาพที่ 18 ลักษณะสาหร่าย *Agarophyton tenuistipitatum* (a) ต้นสาหร่ายอัดแห้ง (b) ภาคตัดขวางแทลลัส (ct= ชั้นคอร์เทกซ์ cortex layers และ md= ชั้นเมดูลา medulla layers) (scale bar = 100 μ m)

สายพันธุ์ที่ 2 *Gracilaria fisheri* S1 สาหร่ายผมนางเส้นใหญ่

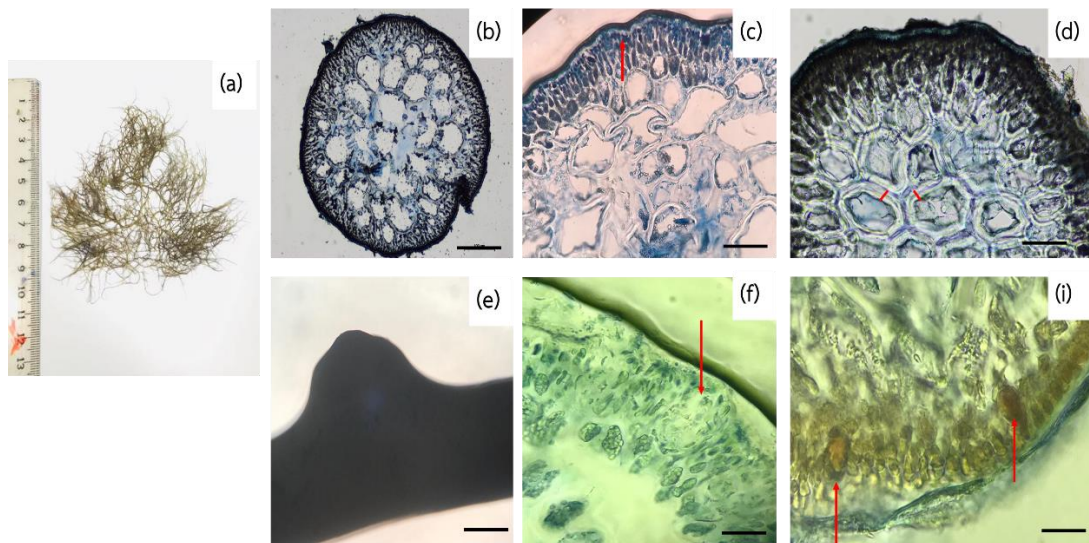
ลักษณะแทลลัสเป็นพุ่มใหญ่ ความสูงของแทลลัสประมาณ 21.8 ± 6.6 cm แตกแขนง 2-3 ครั้ง โดยมีการแตกแขนงแบบสลับหรือแตกแขนงด้านใดด้านหนึ่ง แขนงค่อย ๆ เรียวจากโคนสู่ปลาย อาจไม่มีรอยคอดบริเวณที่แตกแขนง ภาคตัดขวางมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1197.6 ± 238.4 μ m ประกอบด้วยชั้นคอร์เทกซ์ 2-3 ชั้น และมีเม็ดสีภายในชั้นเมดูลาขนาดใหญ่อยู่บริเวณตรงกลางเซลล์มีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 254.1 ± 60.5 μ m ต้นเพศผู้พบสปอมาแทนเจียมลักษณะเป็นแอ่งค่อนข้างกลมรีคล้ายรูปไข่ แบบ verrucosa type บริเวณผนังเซลล์ชั้นคอร์เทกซ์ ส่วนต้นเพศเมีย จะพบกระเปาะสปอร์ หรือเรียกว่า ซิสโทคาร์ป (cystocarp) ลักษณะปุ่มครึ่งวงกลมยื่นออกจากผิวแทลลัส บริเวณฐานไม่คอด ส่วนของโกนิบลาสต์ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก ปลายของโกนิบลาสต์มีอับคาร์โปสปอร์ที่มีลักษณะกลมรี เพอริคาร์ปเซลล์เดียวกันเรียงในแนวนอน ผนังเซลล์ของเพอริคาร์ปจะเห็นไม่ชัดเจน โดยในเซลล์มีคลอโรพลาสต์รูปดาว (Xia and Abbott, 1987) เรียกกันในท้องถิ่นว่า สาหร่ายผมนางเส้นใหญ่ และเป็นที่นิยมเลี้ยงกันมากในพื้นที่อ. ระโนด จ.สงขลา และเป็นสายพันธุ์ที่ทำรายได้สูงสุดในพื้นที่ นอกจากนี้ยังตรวจพบต้นเททรอสปอร์ เกิดจากกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ปกติ พบอยู่บริเวณผิวของแทลลัส มีลักษณะกลม รี มีจุดกำเนิดมาจากด้านในผิวชั้นคอร์เทกซ์ที่มีขนาดตำแหน่งเหมือนกับเซลล์ปกติ สาหร่ายชนิดนี้เรียกกันว่า สาหร่ายผมนางเส้นใหญ่ พบในบ่อเลี้ยงจากอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา ลักษณะของสาหร่ายดังภาพที่ 19



ภาพที่ 19 ลักษณะสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 (a) แทลลัสสาหร่ายอัดแห้ง (b) ภาคตัดขวาง แทลลัส (c) ชั้นคอร์เท็กซ์ (d) ภาคตัดขวางชั้นเมดูลา (e) ลักษณะภายนอกและภาคตัดขวางซิสโทคาร์ป (f) สปอมาแทนเจียม และ (i) เททระสปอร์ (scale bar = 100 μ m)

สายพันธุ์ที่ 3 *Gracilaria fisheri* S2 สาหร่ายผมนางหัวหยิก

ลักษณะแทลลัสเป็นพุ่มเล็ก ความสูงประมาณ 9.6 ± 1.8 cm ปลายโคนจะมีลักษณะหยิก แตกแขนง 2-3 ครั้ง โดยมีการแตกแขนงแบบสลับหรือแตกแขนงด้านใดด้านหนึ่ง มีและไม่มีรอยคอดบริเวณที่แตกแขนง ตัดขวางแทลลัสมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 799.4 ± 158.8 μ m จะประกอบด้วยชั้นคอร์เท็กซ์จำนวน 3 ชั้น ชั้นเมดูลา มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250.7 ± 61.1 μ m อยู่บริเวณตรงกลางเซลล์ มีขนาดผนังเซลล์หนา 38.2 ± 11.5 μ m บนต้นเพศเมียพบกระเปาะสปอร์ หรือ ซิสโทคาร์ป (cystocarp) ลักษณะเป็นตุ่มครึ่งวงกลมยื่นออกมาจากผิวแทลลัส บริเวณฐานไม่คอด ต้นเพศผู้พบมาแทนเจียม ลักษณะเป็นแอ่งค่อนข้างกลมรีคล้ายรูปไข่ แบบ verrucose type บริเวณผนังเซลล์ชั้นคอร์เท็กซ์สาหร่ายชนิดนี้เรียกกันในท้องถิ่นว่า สาหร่ายผมนางหัวหยิก ซึ่งจะไม่ค่อยนิยมเลี้ยงกันในพื้นที่ อ. ระโนด จ.สงขลา เมื่อนำมาตากแห้งเส้นแทลลัสจะมีขนาดเล็กและน้ำหนักเบา นอกจากนี้ยังตรวจพบต้นเททระสปอร์ สาหร่ายชนิดนี้เรียกกันว่า สาหร่ายผมนางหัวหยิก พบในป่าเลี้ยวจากอำเภอรโนด จังหวัดสงขลา ลักษณะของสาหร่ายดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 ลักษณะสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S2 (a) แทลีสสาหร่ายอัดแห้ง (b) ภาคตัดขวาง แทลีส (c) ชั้นคอร์เท็กซ์ (d) ภาคตัดขวางชั้นเมดูลา (e) ลักษณะภายนอกเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (cystocarp) (f) สปอมาแทนเจียม และ (i) เททระสปอร์ (scale bar = 100 μ m)

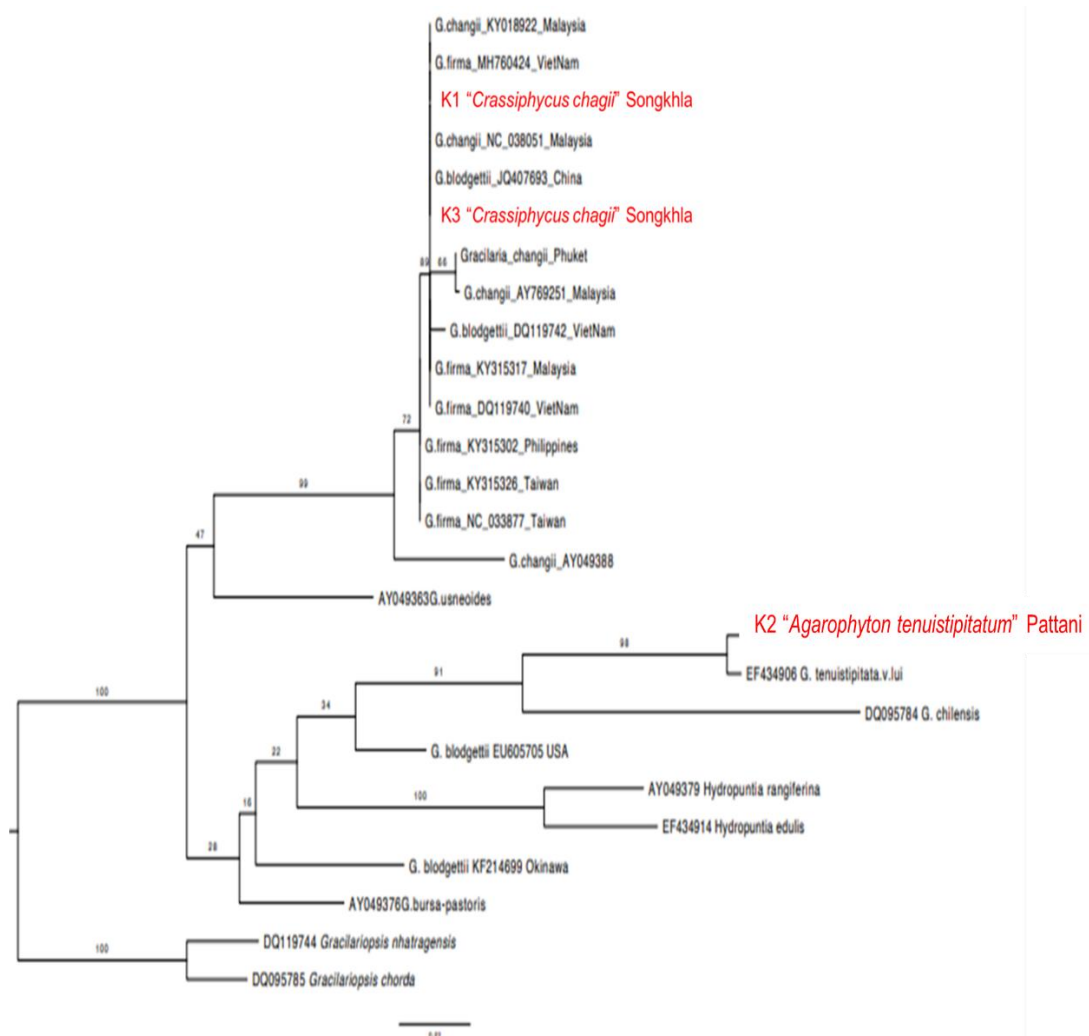
ตารางที่ 11 การจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* จากปอเลี้ยง

รายการ	<i>Agarophyton tenuistipitatum</i>	<i>G. fisheri</i> S1	<i>G. fisheri</i> S2
1. ความสูงแทลลัสและความกว้างของแขนง (cm)	18.9±1.4	21.8±6.6	9.6±1.8
2. จำนวนชั้นคอร์แท็กซ์	2	3	3
3. ขนาดชั้นเมดูลา (µm)	126.6±42.7	254.1±60.5	250.7±61.1
4. ความกว้างผนังเซลล์ (intercell space) (µm)	25.3±10.4	54.8±20.7	38.2±11.5
5. เตตราสปอแรนเจียม	-	-	-
6. อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้	-	verucosa type กว้าง 40-56 µm สูง 44-60 µm	verucosa type กว้าง 40-56 µm สูง 44-60 µm
7. อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย	-	ฐานไม่มีรอยคอด กว้าง 680-700 µm สูง 744-960 µm	ฐานไม่มีรอยคอด กว้าง 590-660 µm สูง 670-861 µm
- ไม่มีข้อมูล			

1.2 การจำแนกสายพันธุ์ทางชีวโมเลกุล (DNA) ของสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

การจำแนกชนิดทางสัณฐานวิทยา โดยการตรวจสอบลักษณะภายนอกและโครงสร้างภายใน รวมถึงอวัยวะสืบพันธุ์ สามารถแยกสาหร่ายได้ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ จำแนกระดับโมเลกุล (DNA) ระบุสาหร่ายออกได้เป็น 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่ 1 สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก *Agarophyton tenuistipitatum* (*Gracilaria tenuistipitata*) และสายพันธุ์ที่ 2 และ 3 สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ และสาหร่ายผสมนางหัวหยิก ระบุเป็นสายพันธุ์เดียวกัน คือ *Crassiphycus changii* แต่ในการศึกษาจะใช้ชื่อตามลักษณะทางพานิชย์ ดังนี้

K1= *Gracilaria fisheri* S1 K2= *Gracilaria tenuistipitata* และ K3= *Gracilaria fisheri* S2



*หมายเหตุ K1 ชนิดที่ 2 *Gracilaria fisheri* S1
 K2 ชนิดที่ 1 *Gracilaria tenuistipitata*
 K3 ชนิดที่ 3 *Gracilaria fisheri* S2

1.3 คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสาหร่าย คุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงสาหร่ายผสมนาง ดังตารางที่ 12
ตารางที่ 12 คุณภาพน้ำจากบ่อเลี้ยงสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria*

Items	<i>G. tenuistipitata</i>	<i>G. fisheri</i> S1	<i>G. fisheri</i> S2
Temperature (°C)	26.7±0.6 ^a	26.7±0.5 ^a	26.7±0.5 ^a
Salinity (ppt)	35.0±8.9 ^b	15.7±2.1 ^a	13.7±1.2 ^a
pH	8.56±1.1 ^a	7.99±0.7 ^a	8.06±0.8 ^a
Phosphate-P (mg L ⁻¹)	0.047±0.006 ^a	0.011±0.004 ^a	0.008±0.003 ^a
Nitrate-N (mg L ⁻¹)	0.073±0.028 ^a	0.045±0.008 ^a	0.110±0.004 ^a

หมายเหตุ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

1.4 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่าย

สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* ที่จากบ่อเลี้ยง มีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกัน โดยสาหร่าย *G. fisheri* S2 มีปริมาณโปรตีนและเถ้ามากที่สุดร้อยละ 16.51±0.14 และ 21.11±0.41 ตามลำดับ *G. fisheri* S1 และ *G. fisheri* S2 มีปริมาณไขมันเท่ากันที่ร้อยละ 0.54±0.30 และ 0.54±0.31 ตามลำดับ แต่สาหร่าย *G. fisheri* S1 มีปริมาณกากใยมากที่สุดร้อยละ 22.01±0.13 ส่วนสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและความชื้นมากที่สุดร้อยละ 58.01±1.33 และ 6.31±1.07 ตามลำดับ (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* (% drywet)

โภชนาการ	<i>G. tenuistipitata</i>	<i>G. fisheri</i> S1	<i>G. fisheri</i> S2
โปรตีน	11.02±0.02 ^a	14.30±0.05 ^b	16.51±0.14 ^c
ไขมัน	0.52±0.28 ^a	0.54±0.30 ^a	0.54±0.31 ^a
เถ้า	9.34±0.26 ^a	12.29±0.20 ^b	21.11±0.41 ^c
กากใย (fiber)	14.80±0.17 ^a	22.01±0.13 ^b	14.60±0.13 ^a
ความชื้น	6.31±1.07 ^b	4.03±0.58 ^a	4.37±0.50 ^a
คาร์โบไฮเดรต*	58.01±1.33 ^c	46.83±0.25 ^b	42.87±0.47 ^a
ปริมาณนูนดิบ	6.82±0.36 ^a	8.10±0.92 ^a	7.88±0.45 ^a

หมายเหตุ * ค่าจากการคำนวณ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.5 การตรวจสอบธาตุอาหารบางชนิดในน้ำและในสาหร่าย

ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* และน้ำที่เก็บรวบรวมจากบ่อเลี้ยงที่ต่างกัน พบธาตุอาหารประเภท Mn, Fe และ Zn ในสาหร่ายมีปริมาณสูง ขณะที่ธาตุอาหารประเภท Cu, Cr, Ca, Pb และ Ni ในน้ำมีปริมาณต่ำกว่าในสาหร่าย (ตารางที่ 14)

ตารางที่ 14 ธาตุอาหารบางชนิดในสาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* และในน้ำจากบ่อเลี้ยง

แหล่ง	ธาตุอาหาร	<i>G. tenuistipitata</i>	<i>G. fisheri</i> S1	<i>G. fisheri</i> S2
สาหร่าย (mg g ⁻¹ drywet)	Cu	0.031±0.370 ^a	0.0360±0.01 ^a	0.023±0.005 ^a
	Mn	7.970±0.02 ^b	6.869±0.321 ^a	7.450±0.161 ^b
	Cr	0.020±0.003 ^b	0.01±0.003 ^a	0.007±0.004 ^a
	Fe	23.160±2.141 ^b	3.530±0.560 ^a	6.580±1.400 ^a
	Zn	0.780±0.01 ^a	0.590±0.161 ^a	0.706±0.290 ^a
	Ca	0.004±0.005 ^a	0.001±0.002 ^a	0.000 ^a
	Pb	0.10±0.040 ^b	0.041±0.024 ^{ab}	0.009±0.010 ^a
	Ni	0.03±0.010 ^b	0.002±0.001 ^a	0.001±0.001 ^a
น้ำ (mg L ⁻¹)	Cu	0.066±0.027 ^a	0.182±0.002 ^c	0.139±0.007 ^b
	Mn	0.194±0.003 ^a	0.259±0.003 ^c	0.237±0.003 ^b
	Cr	0.300±0.390 ^a	0.140±0.001 ^a	0.144±0.001 ^a
	Fe	0.418±0.004 ^a	1.069±0.194 ^b	0.568±0.010 ^a
	Zn	0.191±0.012 ^a	0.200±0.009 ^a	0.317±0.003 ^b
	Ca	0.042±0.000 ^a	0.105±0.001 ^b	0.037±0.038 ^a
	Pb	0.461±0.020 ^a	1.422±0.012 ^b	1.406±0.020 ^b
Ni	0.060±0.005 ^a	0.294±0.145 ^b	0.113±0.001 ^{ab}	

หมายเหตุ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

1.6 สีของสาหร่ายพมนาง สกุล *Gracilaria*

การวิเคราะห์ค่าสีของสาหร่ายพมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยงต่างกัน โดยใช้เครื่อง Hunter LAB Colorimeter โดยส่วนของค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ที่เป็นค่าที่นิยม ในการประเมิน ลักษณะปรากฏของตัวอย่างที่ทำการศึกษาโดยค่า L^* ที่เข้าใกล้ 100 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาวหรือสีจาง แต่ถ้าเป็น L^* ที่เข้าใกล้ 0 หมายถึง ตัวอย่างมีความสว่างน้อยลง เป็นสีคล้ำ ส่วนค่า a^* ที่เป็นบวก แสดงว่าตัวอย่าง เป็นสีแดง แต่ค่า a^* ที่เป็นลบ แสดงว่าตัวอย่างเป็น สีเขียว และในค่า b^* ที่เป็นบวกแสดงว่าตัวอย่างเป็นสีเหลือง แต่ถ้าค่า b^* เป็นลบแสดงว่าตัวอย่างเป็น สีนํ้าเงิน (สุนทรี, 2550) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าสีของสาหร่ายพมนาง *Gracilaria* spp. ทั้ง 2 สายพันธุ์ 3 ลักษณะ ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงที่แตกต่างกันจะมีค่า L^* a^* และ b^* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 15) โดยในลักษณะค่า L^* พบว่าสาหร่าย *G. fisheri* S1 มีค่า L^* มากที่สุดเท่ากับ ($L^* = 44.80 \pm 1.76$) ส่วนสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีค่า น้อยที่สุดเท่ากับ ($L^* = 26.14 \pm 0.93$) ตามลำดับ

ค่า a^* ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 มีค่า ($a^* = 2.96 \pm 0.54$) ซึ่งมีค่าแตกต่างมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) รองลงมาคือสาหร่าย *G. fisheri* S2 และสาหร่าย *G. tenuistipitata* โดยมีค่า ($a^* = 1.88 \pm 0.77$) และ ($a^* = 1.66 \pm 0.65$) ตามลำดับ

ค่า b^* ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 มีค่า ($b^* = 16.46 \pm 2.04$) ซึ่งมีค่าแตกต่างมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) รองลงมาคือสาหร่าย *G. fisheri* S2 มีค่า ($b^* = 14.71 \pm 2.21$) และสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีค่า b^* น้อยสุด ($b^* = 1.88 \pm 0.77$)

ตารางที่ 15 ค่า (L^* , a^* และ b^*) ของสาหร่ายพมนาง สกุล *Gracilaria*

ชนิดสาหร่าย	L^*	a^*	b^*
<i>G. tenuistipitata</i>	26.14 ± 0.93^a	1.60 ± 0.65^a	7.04 ± 1.46^a
<i>G. fisheri</i> S1	44.80 ± 1.76^c	2.96 ± 0.54^b	16.46 ± 2.04^c
<i>G. fisheri</i> S2	32.97 ± 3.92^b	1.88 ± 0.77^a	14.71 ± 2.21^b

หมายเหตุ

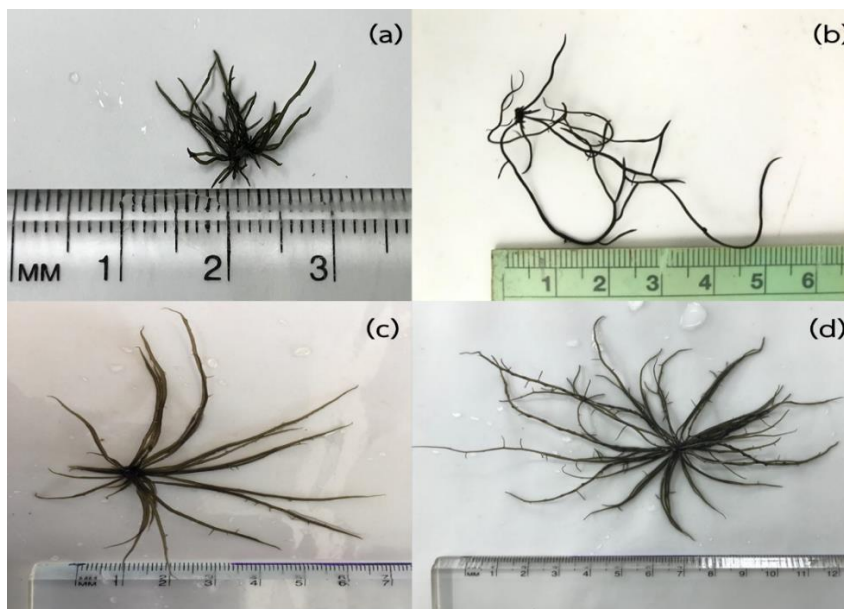
แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

2.1 ผลของความเค็มต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การเกิดซิสโทคาร์ปของต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 พบได้ทุกระดับความเค็ม (ภาพที่ 21) พบการเจริญเติบโตสูงสุดที่ความเค็ม 30 ppt เมื่อการทดลองผ่านไป 4 สัปดาห์ ต้นอ่อนสาหร่ายมีความยาว 8.3 ± 1.7 cm และมีความยาวสูงสุดที่ 17.9 ± 4.6 cm (ตารางที่ 16) ในสัปดาห์ที่ 7 พบว่า cystocarps เกิดเร็วสุดในสัปดาห์ที่ 2 ที่ความเค็ม 20 ppt ความยาวของแทลลัสอยู่ที่ 5.6 ± 1.5 cm ส่วนที่ความเค็ม 10 และ 30 ppt พบสัปดาห์ถัดไปหลังจากการเพาะเลี้ยงด้วยความเค็ม 20 ppt (ภาพที่ 22a) ความยาวของแทลลัสมีอัตราการเจริญเติบโต สูงสุดที่ความเค็ม 30 ppt เฉลี่ยอยู่ที่ 4.50 ± 0.55 % d^{-1} และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 20 และ 10 ppt มีการเจริญเติบโตรองลงมา ความยาวของแทลลัสมีอัตราการเจริญเติบโต เฉลี่ยอยู่ที่ 4.26 ± 0.63 % d^{-1} และ 3.51 ± 0.71 % d^{-1} ตามลำดับ (ภาพที่ 22b) การเจริญเติบโตของสาหร่ายเมื่อสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 7 ที่เลี้ยงด้วยความเค็ม 10, 20 และ 30 ppt เท่ากับ 14.97 ± 0.57 , 17.89 ± 1.14 และ 20.17 ± 1.38 g L^{-1} ตามลำดับ (ภาพที่ 22c) และอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ เท่ากับ 6.25 ± 0.10 , 6.61 ± 0.13 และ 6.91 ± 0.14 % d^{-1} ตามลำดับ (ภาพที่ 22d)



ภาพที่ 21 การเจริญเติบโตของต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงในระดับความเค็มต่าง ๆ (a) 0 สัปดาห์, (b) 2 สัปดาห์, (c) 6 สัปดาห์ และ (d) 7 สัปดาห์

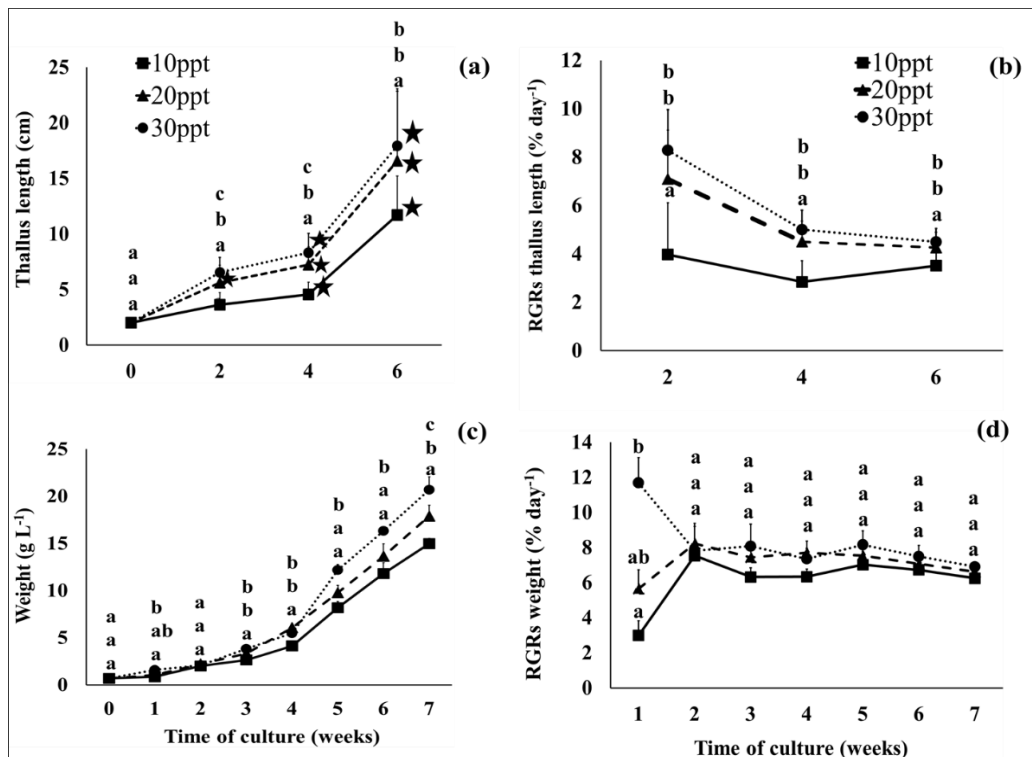
ตารางที่ 16 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ของต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงระดับความเค็มต่างกัน

	สัปดาห์	ความเค็ม (ppt)		
		10	20	30
Thallus length (cm)	0	2.1±0.2 ^a	2.1±0.2 ^a	2.1±0.2 ^a
	2	3.6±1.1 ^a	5.6±1.6 ^b	6.5±1.4 ^c
	4	4.6±1.1 ^a	7.2±1.6 ^b	8.3±1.7 ^c
	6	11.7±3.5 ^a	16.9±5.7 ^b	17.9±5.1 ^b
RGR Thallus length (% d ⁻¹)	2	3.97±2.14 ^a	7.09±2.02 ^b	8.28±1.68 ^b
	4	2.84±0.88 ^a	4.50±0.85 ^b	5.00±0.80 ^b
	6	3.51±0.68 ^a	4.26±0.63 ^b	4.50±0.55 ^b
Thallus weight (g L ⁻¹)	0	0.700 ^a	0.7 ^a	0.7 ^a
	1	0.86±0.05 ^a	1.04±0.1 ^{ab}	1.59±0.47 ^b
	2	2.01±0.03 ^a	2.22±0.29 ^a	2.09±0.07 ^a
	3	2.64±0.28 ^a	3.34±0.08 ^b	3.82±0.23 ^b
	4	4.13±0.52 ^a	6.06±0.41 ^b	5.49±0.30 ^b
	5	8.18±0.66 ^a	9.78±0.78 ^a	12.18±0.58 ^b
	6	11.80±1.15 ^a	13.63±1.35 ^a	16.31±0.32 ^b
	7	14.97±0.57 ^a	17.89±1.15 ^b	20.68±1.39 ^c
RGR thallus weight (% d ⁻¹)	1	3.00±0.84 ^a	5.66±1.07 ^{ab}	11.69±1.44 ^b
	2	7.53±0.11 ^a	8.23±0.97 ^a	7.82±1.56 ^a
	3	6.32±0.52 ^a	7.44±0.11 ^a	8.08±1.26 ^a
	4	6.34±0.44 ^a	7.71±0.24 ^a	7.35±1.02 ^a
	5	7.03±0.23 ^a	7.53±0.23 ^a	8.16±0.79 ^a
	6	6.73±0.24 ^a	7.07±0.24 ^a	7.50±0.62 ^a
	7	6.25±0.08 ^a	6.61±0.13 ^a	6.91±0.14 ^a

หมายเหตุ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

อักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 22 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ (RGR) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงด้วยความเค็มต่างกัน ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ได้รับแสง 12:12 ชั่วโมง มีดิสก์สว่าง อุณหภูมิ $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 7 สัปดาห์: (a) ความยาวของแทลลัส (b) RGR ความยาวของแทลลัส (c) น้ำหนักของแทลลัส และ (d) RGR น้ำหนักแทลลัส สัญลักษณ์รูปดาว หมายถึง การก่อตัวของซิสโทคาร์ป cystocarp: ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2.2 ผลของความเข้มแสงต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การเกิดซิสโทคาร์ปภายใต้ความเข้มแสงที่ระดับต่างกัน พบว่าต้นอ่อนสาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีและมีการสร้าง cystocarp เร็วสุด ที่ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ในสัปดาห์ที่ 2 ขนาดความยาวของแทลลัสเฉลี่ยอยู่ที่ $4.9 \pm 0.8 \text{ cm}$ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 17) ส่วนความเข้มแสง $20 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ และ $40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ มีการเจริญเติบโตต่ำกว่าและเกิดการสร้าง cystocarp ในสัปดาห์ถัดออกไป 1 สัปดาห์ (ภาพที่ 23a) ค่าเฉลี่ย RGR ความยาวของแทลลัส อยู่ระหว่าง $3.86 \pm 0.55 - 4.60 \pm 0.73 \text{ \% day}^{-1}$ (ภาพที่ 23b) ในขณะที่น้ำหนักสาหร่าย อยู่ระหว่าง $15.63 \pm 1.24 - 21.11 \pm 1.05 \text{ g L}^{-1}$ (ภาพที่ 23c) และพบว่าค่าเฉลี่ย RGR การเจริญเติบโตสาหร่าย หลังจากการทดลอง 7 สัปดาห์ เท่ากับ $6.33 \pm 0.17, 6.72 \pm 0.05$ และ $6.95 \pm 0.10 \text{ \% day}^{-1}$ (ภาพที่ 23d)

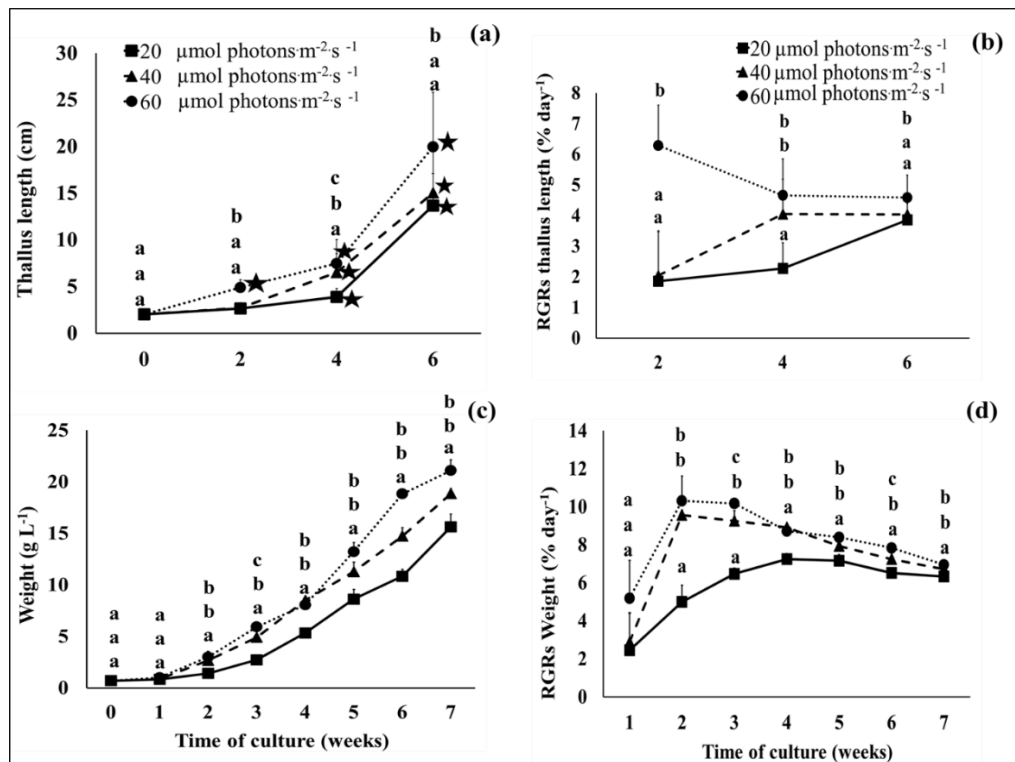
ตารางที่ 17 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ของต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ระดับความเข้มแสงต่างกัน

	สัปดาห์	ความเข้มแสง ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		
		20	40	60
Thallus length (cm)	0	2.0±0.2 ^a	2.0±0.2 ^a	2.0±0.2 ^a
	2	2.7±0.6 ^a	2.7±0.6 ^a	4.9±0.8 ^b
	4	3.9±0.9 ^a	6.5±2.0 ^b	7.8±2.8 ^c
	6	13.7±3.4 ^a	15.0±4.4 ^a	20.0±5.9 ^b
RGR Thallus length (% d ⁻¹)	2	1.85±1.61 ^a	2.04±1.46 ^a	6.29±1.31 ^b
	4	2.28±0.83 ^a	4.05±1.14 ^b	4.66±1.19 ^b
	6	3.86±0.55 ^a	4.04±0.59 ^a	4.60±0.73 ^b
Thallus weight (g L ⁻¹)	0	0.70 ^a ±0.00	0.70 ^a ±0.00	0.70 ^a ±0.00
	1	0.84±0.11 ^a	0.86±0.09 ^a	1.01±0.14 ^a
	2	1.42±0.17 ^a	2.67±0.10 ^b	3.00±0.54 ^b
	3	2.73±0.17 ^a	4.91±0.53 ^b	5.93±0.17 ^c
	4	5.34±0.44 ^a	8.51±0.18 ^b	8.07±0.45 ^b
	5	8.62±0.96 ^a	11.28±0.92 ^b	13.23±0.89 ^b
	6	10.84±0.67 ^a	14.74±0.81 ^b	18.84±0.35 ^b
RGR thallus weight (% d ⁻¹)	1	2.46±1.98 ^a	2.89±1.50 ^a	5.19±2.00 ^a
	2	5.00±0.87 ^a	9.57±0.27 ^b	10.32±1.31 ^b
	3	6.47±0.30 ^a	9.26±0.53 ^b	10.17±0.14 ^c
	4	7.25±0.29 ^a	8.92±0.07 ^b	8.73±0.20 ^b
	5	7.16±0.33 ^a	7.94±0.24 ^b	8.39±0.19 ^b
	6	6.52±0.15 ^a	7.25±0.13 ^b	7.84±0.04 ^c
	7	6.33±0.17 ^a	6.72±0.05 ^b	6.95±0.10 ^b

หมายเหตุ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

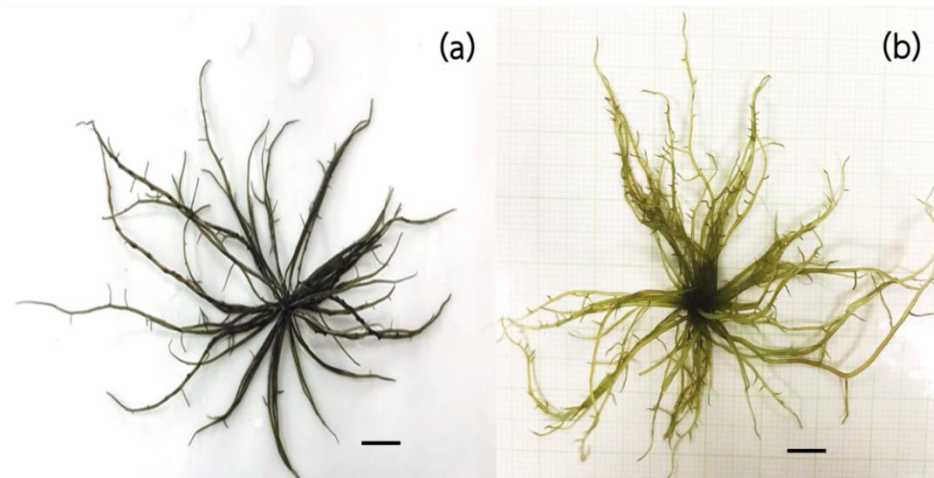
อักษรที่แตกต่างกันในแถบเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 23 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (RGR) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงต่างกัน น้ำทะเลความเค็ม 20 ppt ได้รับแสง 12:12 ชั่วโมง มีด: สว่าง อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 7 สัปดาห์ (a) ความยาวของแทลลัส, (b) RGR ความยาวของแทลลัส, (c) น้ำหนักของแทลลัส และ (d) RGR น้ำหนัก สัญลักษณ์รูปดาว หมายถึง การก่อตัวของซิสโทคาร์ป cystocarp ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2.3 ผลการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) 1% ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *G. fisheri* S1 พบว่าคาร์บอนไดออกไซด์ 1% มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 24) สาหร่ายมีการเจริญเติบโตในสัปดาห์ที่ 2 ความยาวของแทลลัสเฉลี่ยเท่ากับ 5.4 ± 0.9 cm (ภาพที่ 25a) อัตราความยาวของแทลลัสเฉลี่ยอยู่ที่ 12.82 ± 4.37 % day⁻¹ (ภาพที่ 25b) และชุดควบคุมมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เร็วสุดในสัปดาห์ที่ 2 ส่วนน้ำหนักเฉลี่ยของสาหร่าย (ภาพที่ 25c) และ อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายที่เพาะเลี้ยง (ภาพที่ 25d) โดยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% และชุดควบคุม พบว่ามีแนวโน้มที่คล้ายกันกับความยาวของแทลลัส และ RGR ความยาวแทลลัส



ภาพที่ 24 ลักษณะของต้นสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ (a) ชุดควบคุม (b) ชุดที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% หลังจากการเลี้ยง 4 สัปดาห์ (scale bar =1cm)

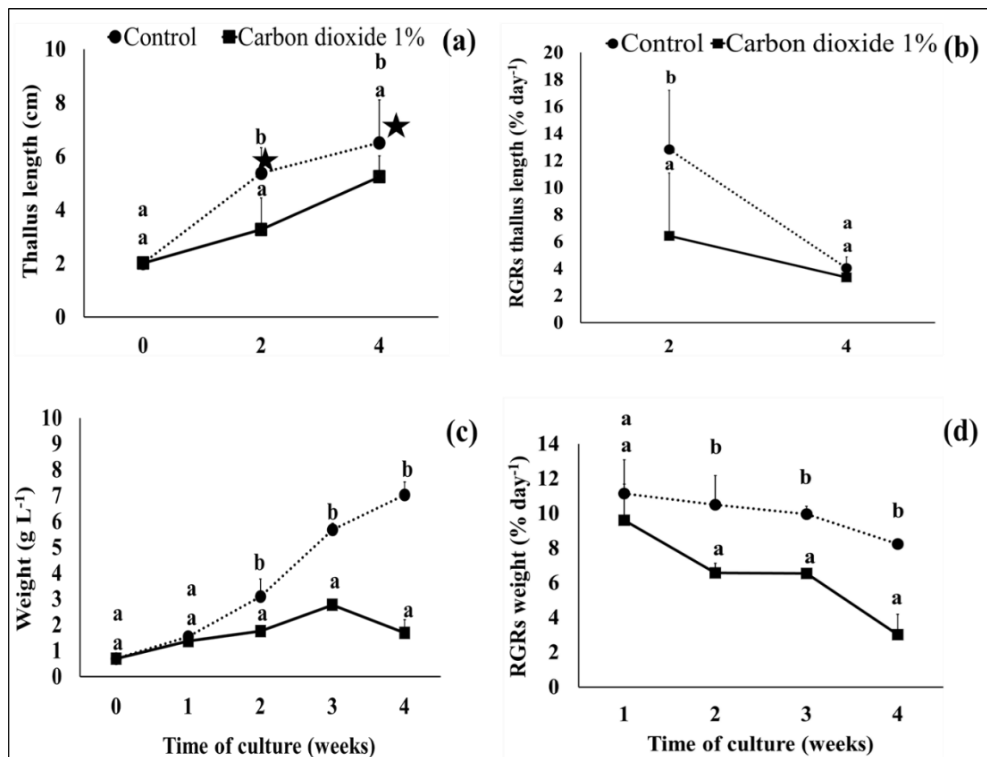
ตารางที่ 18 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ต้นอ่อนสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงด้วยการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์

รายการ	สัปดาห์	คาร์บอนไดออกไซด์ (%)	
		0	1
Thallus length (cm)	0	2.0±0.2 ^a	2.0±0.2 ^a
	2	5.4±0.9 ^b	3.2±1.2 ^a
	4	6.5±1.6 ^b	5.2±1.7 ^a
RGR Thallus length (% d ⁻¹)	0	-	-
	2	12.82±4.37 ^b	6.42±3.35 ^a
	4	4.04±0.83 ^a	4.66±0.53 ^a
Thallus weight (g L ⁻¹)	0	0.70 ^a ±0.00	0.70 ^a ±0.00
	1	1.54±0.19 ^a	1.38±0.21 ^a
	2	3.10±0.14 ^b	1.76±0.67 ^a
	3	5.68±0.06 ^b	2.77±0.24 ^a
	4	7.03±0.51 ^b	1.69±0.49 ^a
RGR thallus weight (% d ⁻¹)	0	-	-
	1	11.13±1.94 ^a	9.60±2.08 ^a
	2	10.50±1.68 ^b	6.57±0.55 ^a
	3	9.95±0.45 ^b	6.54±0.11 ^a
	4	8.23±0.29 ^b	3.02±1.16 ^a

หมายเหตุ

แสดงข้อมูลเป็น ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

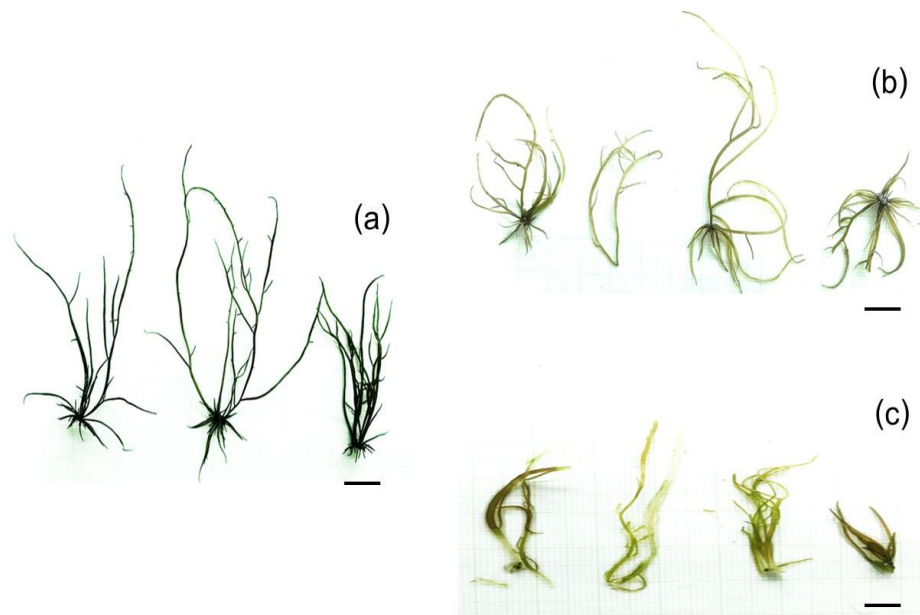
อักษรที่แตกต่างกันในแถบเดียวกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 24 การเจริญเติบโตและอัตราการเจริญเติบโตสัมพันธ์ (RGR) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เลี้ยงโดยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% น้ำทะเลความเค็ม 20 ppt ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ได้รับแสง 12:12 ชั่วโมง มีด: สว่าง อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์: (a) ความยาวของแทลลัส (b) อัตราความยาวของแทลลัส (c) น้ำหนักของแทลลัส และ (d) อัตราการเจริญเติบโตของแทลลัส สัญลักษณ์รูปดาว หมายถึง การก่อตัวของซิสโทคาร์ป cystocarp ตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

2.4 ผลของฮอร์โมนพืชต่อเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

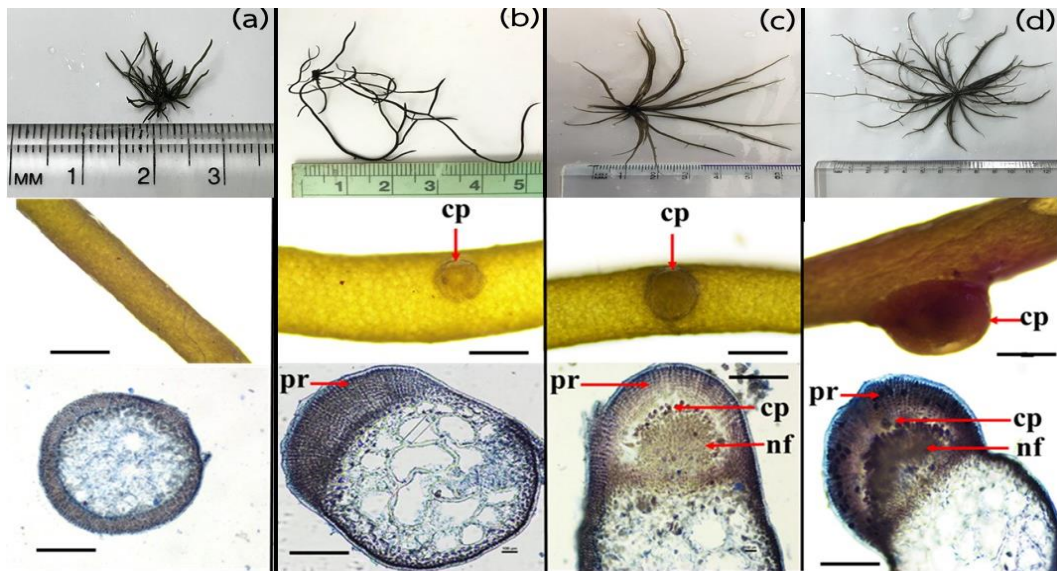
ในการทดลองไม่พบการสร้างซิสโทคาร์ป ในชุดควบคุมที่เติมอาหาร MGM และชุดการทดลองที่เติมฮอร์โมนพืช ไซโทไคนิน ((BA) 6-benzyladenine) และออกซิน (Auxin) พบว่ามีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ทำให้การทดลองได้สิ้นสุดลงภายในเวลา 3 สัปดาห์ เนื่องจากแทลลัสของสาหร่ายอ่อนแอมาก และสีของแทลลัสซีดในทุกระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนพืช (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 25 ลักษณะของต้นสาหร่าย *G. fisheri* S1 ที่เพิ่มฮอร์โมนพืช (a) ชุดควบคุม (b) ชุดที่เพิ่มฮอร์โมนพืช: (6- benzyladenine) และ (c) ชุดที่เพิ่มฮอร์โมนพืช: (ออกซิน) หลังจากการเลี้ยง 3 สัปดาห์ (scale bar =1cm)

2.5 ลักษณะการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *G. fisheri* S1

สาหร่ายมีการก่อตัวของซิสโทคาร์ป (cystocarps) ซึ่งเกิดขึ้นภายใต้ปัจจัยความเค็มและความเข้มแสง ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้เมื่อแทลลัสมีความยาว 4.6 ± 1.1 cm การพัฒนาของซิสโทคาร์ป (ภาพที่ 27a) โดยมีปุ่มนูนยื่นออกมาบริเวณผิวของแทลลัสเริ่มเห็นได้ในสัปดาห์ที่ 2 (ภาพที่ 27b) ซิสโทคาร์ปมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์และมีการก่อตัวของ carospores ในสัปดาห์ที่ 6 (ภาพที่ 27c) จากนั้นในสัปดาห์ที่ 7 ซิสโทคาร์ปมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์และได้มีการปล่อย carospores แล้วบางส่วน (ภาพที่ 27d) ระยะเวลาการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แสดงดังภาพที่ 28 และตารางที่ 19

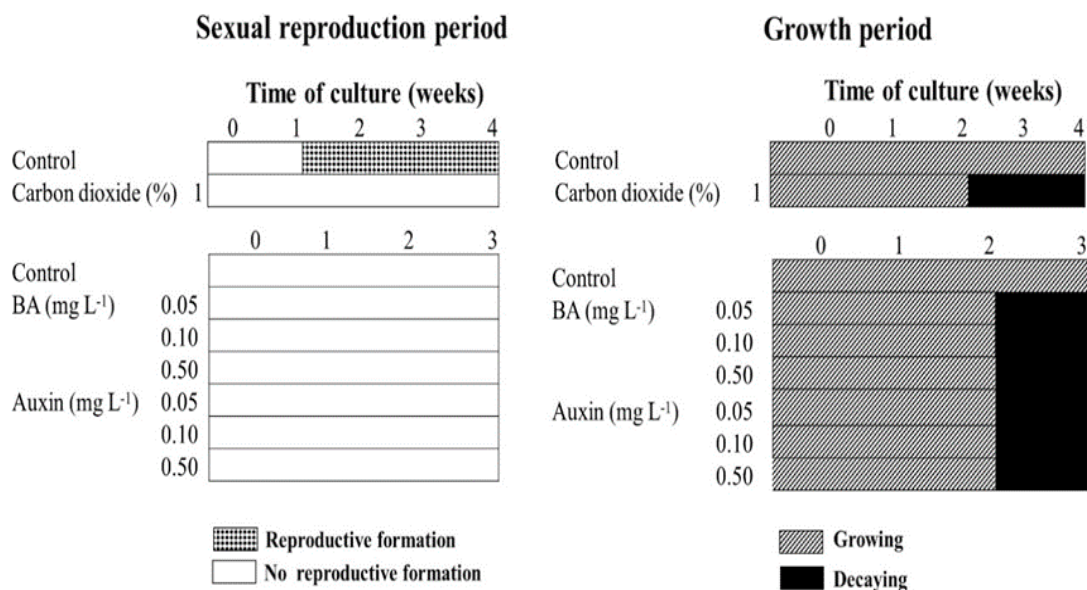


ภาพที่ 27 การพัฒนาซิสโทคาร์ป (cystocarp) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ในขั้นตอนต่าง ๆ และภาคตัดขวาง (แถวบน= แทลีสทั้งหมด, แถวกลาง= ชั้นส่วนแทลลัส, แถวล่าง= ภาคตัดขวางซิสโทคาร์ป) (a), สัปดาห์ที่ 0, (b) สัปดาห์ที่ 2, (c) สัปดาห์ที่ 6 และ (d) สัปดาห์ที่ 7 (pr= pericarp, cp = carpospore, nf = nutritive filament; scale bar in middle = 100 μm and below = 50 μm)

ตารางที่ 19 การตรวจสอบการก่อตัวของซิสโทคาร์ป (cystocarp) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ภายใต้ระดับความเค็ม ความเข้มแสง และความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่แตกต่างกัน

การทดลอง	ความเค็ม (ppt)	ความเข้มแสง ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	คาร์บอนไดออกไซด์ (%)	เริ่มพบ cystocarp (weeks)	สิ้นสุดการทดลอง (weeks)	ความยาวแทลลัส (cm)
1	10	60	0	3	6	4.6 \pm 1.1
	20	60	0	2	6	5.6 \pm 1.6
	30	60	0	3	6	8.3 \pm 1.7
2	20	20	0	3	6	3.9 \pm 0.9
	20	40	0	3	6	6.5 \pm 2.0
	20	60	0	2	6	5.2 \pm 0.9
3	20	60	0	2	4	5.4 \pm 1.9
	20	60	1	-	-	3.3 \pm 1.7

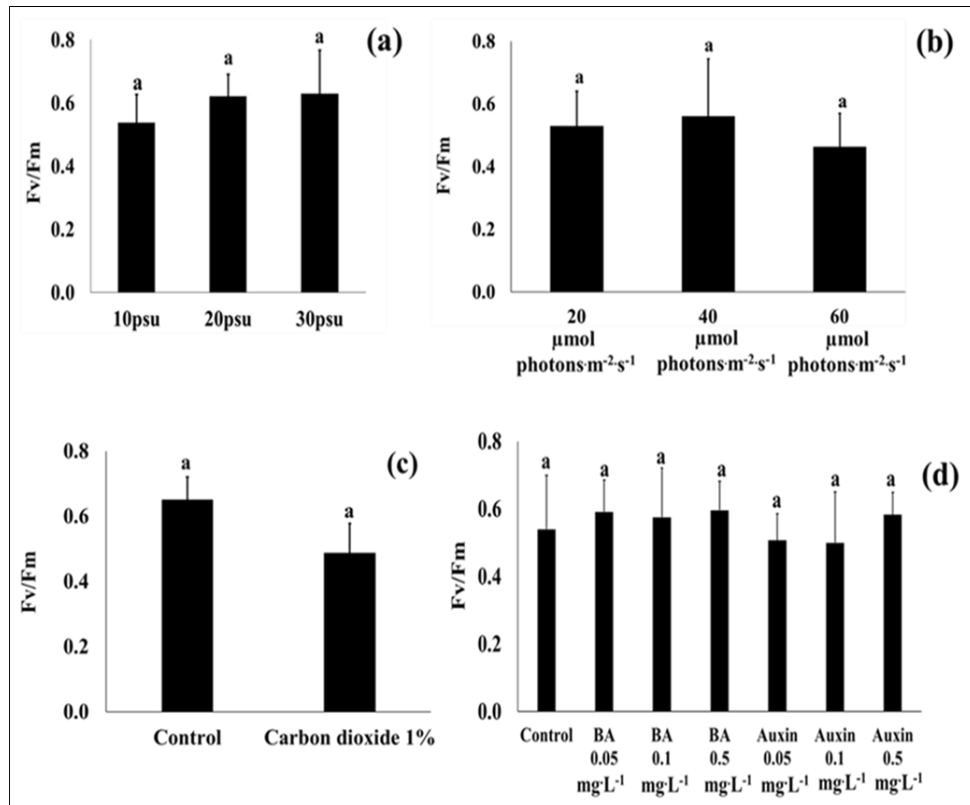
- ไม่พบ



ภาพที่ 28 ระยะเวลาการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการเจริญเติบโตของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 % และปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชทั้ง 2 ชนิด ได้แก่ ไซโทโคนิน (BA) และ ออกซิน (Auxin)

3. ผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสง (photosynthesis efficiency, Fv/Fm)

ผลของอัตราส่วนที่บ่งบอกถึงประสิทธิภาพควอนตัม photosystem II (Fv / Fm) ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 หลังสิ้นสุดการทดลองได้แก่ปัจจัยความเค็ม ความเข้มแสง คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมน ค่าอยู่ในช่วง 0.54 ± 0.09 - 0.63 ± 0.14 , 0.46 ± 0.11 - 0.56 ± 0.18 , 0.49 ± 0.09 - 0.65 ± 0.07 และ 0.50 ± 0.15 - 0.60 ± 0.09 ตามลำดับ (ภาพที่ 28)



ภาพที่ 29 ค่า Fv / Fm ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ภายใต้ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ (a) ความเค็ม (b) ความเข้มแสง (c) คาร์บอนไดออกไซด์ และ (d) ฮอโมนพืช ตัวอักษรที่แตกต่างกันเหนือแถบแสดง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการศึกษา

1. การศึกษาชนิดของสายพันธุ์สาหร่ายผมนางสกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

การศึกษาจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง โดยการตรวจสอบลักษณะภายนอกและลักษณะภายในรวมถึงอวัยวะการสืบพันธุ์ของสาหร่าย พบว่าสามารถแบ่งสาหร่ายออกได้ 3 สายพันธุ์ ได้แก่

1. สาหร่ายผมนางเส้นเล็ก (*Gracilaria tenuistipitata*) แทลีสมีขนาดเล็กบอบบางคล้ายเส้นผม ชั้นคอร์เท็กซ์ 1-2 ชั้น แต่ไม่พบอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย สอดคล้องเช่นเดียวกับ กาญจนภานัน (2536) ซึ่งอธิบายไว้ว่า แทลีสของสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีลักษณะเป็นเส้นผอมบางยาวเส้นตรงหรือเยียดตรง แตกแขนงเป็นเส้นสั้น ๆ บอบบาง อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เป็นแองต์สั้น ๆ แบบ *textorii*-type อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียลักษณะ กระจเปาะคล้ายดอกบัวตูม โคนคอดเว้า มีขนาดใหญ่เท่ากับเส้นผ่านศูนย์กลางของแขนงหรือใหญ่กว่า *pericarp* บางเซลล์มีลักษณะกลม *gonimoblast* ประกอบด้วยเซลล์ขนาดใหญ่ *absorbing filament* อยู่ด้านข้าง และ *Prud'homme van Reine and Trono* (2001) อธิบายว่าสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีจำนวนชั้นคอร์เท็กซ์ 1-2 ชั้น ลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10-23 μm ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย *cystocarp* จะยื่นออกมาจากผิวแทลีส ขนาดความสูง 830-950 μm บริเวณฐานคอด ภายในประกอบด้วยชั้นเซลล์พาเรเนคิงมาขนาดใหญ่ เชื่อมต่อกับชั้นผนังผล (*pericarp*) โดยสายเซลล์ส่งอาหาร (*nutritive filament*) และคาร์โบสปอร์มีจะรูปร่างกลม

2. สาหร่ายผมนางเส้นใหญ่ *Gracilaria fisheri* S1 ลักษณะแทลีสเป็นพุ่มใหญ่ ชั้นคอร์เท็กซ์ 2-3 ชั้น พบซิโทคาร์ป บริเวณฐานไม่คอด ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ลักษณะเป็นแองต์แบบ *verrucose type* กาญจนภานัน (2536) ซึ่งอธิบายไว้ว่า สาหร่าย *G. fisheri* ลักษณะแทลีสอวบน้ำ ต้นเป็นพุ่ม มีการแตกแขนงของบริเวณโคน 2-3 ครั้ง โคนแขนงคอด ปลายแขนง เรียวแหลม รากมีขนาดเล็ก ลักษณะเป็นรูปถ้วย ทำหน้าที่ยึดเกาะ อวัยวะสืบพันธุ์เป็นถุง แบบ *verrucose-type* หรืออยู่รวมเป็นกลุ่มแบบ *poly-cavernosa-type* ส่วน *cystocarp* รูปร่างคว่ำ เซลล์ด้านในประกอบด้วยเพอริคาร์ปหนา มีเซลล์ 9-14 แถว เซลล์แถวนอกมี เซลล์แถวในค่อนข้างแบน เซลล์โกนิโมบลาสต์ ลักษณะยาว และ *Prud'homme van Reine and Trono* (2001) พบว่าเมื่อตัดขวางชั้นคอร์เท็กซ์จะพบชั้นเซลล์ 3-4 ชั้นเซลล์ ชั้นเมดัลลามีขนาดใหญ่และมีเม็ดสีอยู่ด้วย อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้จะเป็นแองต์ค่อนข้างกลม เมื่อโตเต็มที่จะมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 40-63 \times 43-50 μm ส่วนอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียกระจเปาะจะเป็นรูปกรวยหรือครึ่งวงกลม ปุ่มยื่นออกมาจากผิว เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 μm บริเวณฐานไม่คอด

3. สาหร่ายผมนางหัวหยิก *Gracilaria fisheri* S2 จากการศึกษาลักษณะโครงสร้างภายนอกทำให้พบว่ามีคามผิดปกติไปจากการศึกษาที่ผ่านมา จึงศึกษาโครงสร้างภายในโดยการตัดขวางเนื้อเยื่อ

ซึ่งลักษณะภายในและอวัยวะสืบพันธุ์มีความคล้ายสาหร่าย *Gracilaria fisheri* กาญจนภาชนัน (2536) และ Prud'homme van Reine and Trono, (2001)

การศึกษาในระดับจีโนมเลกุล (DNA) ระบุสาหร่าย ได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก (*Gracilaria tenuistipitata*) ส่วนสาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่และสาหร่ายผสมนางหัวหยิก ระบุเป็นชนิดเดียวกัน (*Crassiphycus changii*)

ตารางที่ 20 เปรียบเทียบการจำแนกลักษณะสัณฐานวิทยาเพื่อตรวจสอบสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

รายการ	<i>Gracilaria tenuistipitata</i>			<i>Gracilaria fisheri</i>			
	Prud'homme van Reine and Trono, 2001	กาญจนภาพจน์, 2536	การศึกษา ครั้งนี้	Prud'homme van Reine and Trono, 2001	กาญจนภาพจน์, 2536	การศึกษาครั้งนี้ <i>G. fisheri</i> S1	การศึกษาครั้งนี้ <i>G. fisheri</i> S2
1. ความสูงแทลลัสและความกว้างของแขนง (cm)	20-40	21-54	18.9±1.4	15-30	13-45	21.8±6.6	9.6±1.8
2. จำนวนชั้นคอร์แทกซ์	1-2	-	2	3-4	-	3	3
3. ขนาดชั้นเมดูลา (µm)	225-390	-	126.6±42.7	240-560	-	254.08±60.48	250.7±61.1
4. ความกว้างผนังเซลล์ (intercell space) (µm)	10-13	-	25.3±10.4	-	-	54.82±20.68	38.2±11.53
5. เตตราสปอแรนเจียม (µm)	18-30× 30-46	-	-	-	-	-	-
6. เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (µm)	13-23 textorii type	textorii type	-	40-63×43-50	• verrucose type • poly- cavernosa -type	กว้าง 40-56 สูง 44-60	กว้าง 40-56 สูง 44-60
7. เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (µm)	สูง 830-950 ฐานคอดเว้า	ฐานคอดเว้า	-	0.7 mm ฐานไม่คอด	-	กว้าง 680-700 สูง 744-960 ฐานไม่คอด	กว้าง 590-660 สูง 670-861 ฐานไม่คอด

1.2 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและปริมาณแร่ธาตุบางชนิด

การศึกษาทางโภชนาการอาหารสาหร่ายผมนาง สกุล *Gracilaria* ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าสาหร่าย *G. fisheri* S2 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด และสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีปริมาณโปรตีนน้อยสุด จากการศึกษาของ Benjama and Masniyom (2012) ศึกษาคุณค่าทางอาหารของสาหร่าย *G. tenuistipitata* และ *G. fisheri* ในพื้นที่อ่าวปัตตานี ภาคใต้ ประเทศไทย ระหว่างฤดูร้อน และฤดูฝน ในปี 2006 พบว่าความชื้นของสาหร่ายทั้งสองชนิด ทั้งสองช่วงฤดู มีค่าความชื้นอยู่ในช่วง 3.0-5.5 % ของน้ำหนักแห้ง ค่าโปรตีนของสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีปริมาณสูงกว่า สาหร่าย *G. fisheri* Fleurence (1999) รายงานว่าสาหร่ายทะเลสีแดงและสาหร่ายทะเลสีเขียวจะมีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงกว่าตั้งแต่ 10-47 % ของน้ำหนักแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล สกุล *Sargassum* จะมีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 5.4 % ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณโปรตีนของสาหร่ายขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ฤดูกาลและสิ่งแวดล้อมที่อยู่ของสาหร่าย (Ito and Hori, 1989) ส่วนของปริมาณไขมันในการศึกษาครั้งนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน มีปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 0.52-0.54 % ของน้ำหนักแห้ง Benjama and Masniyom (2012) ได้ศึกษาปริมาณไขมันในสาหร่าย *G. tenuistipitata* และ *G. fisheri* เช่นเดียวกัน พบสาหร่ายมีปริมาณไขมันสูงกว่า อยู่ในช่วงประมาณ 2.2-2.8 % ของน้ำหนักแห้ง Fleurence (1999) ได้รายงานค่าไขมันของสาหร่ายทะเล อยู่ในช่วง 1-3% ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณเถ้าของสาหร่ายจากการศึกษามีค่าแตกต่างกัน อยู่ในช่วง 9.3- 21.11% ของน้ำหนักแห้ง จากการรายงานของ USDA (2001) พบว่าปริมาณเถ้าในสาหร่ายทะเลจะมีค่าสูงกว่าในพืชบกประมาณ 5-10% ของน้ำหนักแห้ง แต่ความแตกต่างปริมาณเถ้าขึ้นอยู่กับชนิด และปัจจัยสิ่งแวดล้อม (Nisizawa *et al.*, 1987; Ruperez, 2002) ส่วนปริมาณเยื่อใยของสาหร่ายทะเลจะมีสารโพลีแซคคาไรด์จำนวนมากซึ่งประกอบด้วยเยื่อใยที่สามารถละลายน้ำได้ และไม่สามารถละลายน้ำได้ (Lahaye, 1991) ซึ่งส่วนของปริมาณเยื่อใยในสาหร่ายทะเลจะมีปริมาณสูงกว่าในพืชบก (Prosky *et al.*, 1992; Wong and Cheung, 2000)

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุบางชนิดในสาหร่ายและน้ำจากบ่อเลี้ยง พบปริมาณธาตุเหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) และ สังกะสี (Zn) ปริมาณสูงกว่าในน้ำ และพบว่าปริมาณ Fe ในสาหร่ายผมนางเส้นเล็ก *Agarophyton tenuistipitata* (*G. tenuistipitata*) มีสูงสุด จากการศึกษาของ Ruperez (2002) ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายทะเลสีแดง พบปริมาณ Fe อยู่ในช่วง 10-18 mg 100g⁻¹ และ ปริมาณ Mn อยู่ในช่วง 2-5 mg 100g⁻¹ USDA (2019) รายงานว่าปริมาณ Cu และ Zn ที่พบสาหร่ายทะเล อยู่ที่ 3.335 และ 3.900 mg 100g⁻¹ ส่วนปริมาณ Fe อยู่ที่ 24.950 mg 100 g⁻¹ ทั้งนี้ปริมาณธาตุอาหารที่ต่างกันอาจจะขึ้นกับสายพันธุ์ สภาพแวดล้อมและแหล่งที่อยู่แตกต่างกันของสาหร่าย

2. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

จากการศึกษาโดยการนำต้นอ่อนของสาหร่าย *G. fisheri* S1 ความยาวเริ่มต้นประมาณ 2 cm เลี้ยงที่ความเค็มต่างกัน ๆ ได้แก่ 10, 20 และ 30 ppt พบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงการเจริญเติบโตแตกต่าง

กันในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และที่ความเค็ม 30 ppt มีการเจริญเติบโตดีที่สุด พบมีการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ cystocarp เร็วที่สุดในสัปดาห์ที่ 2 ที่ความเค็ม 20 ppt ส่วนที่ความเค็ม 10 และ 30 ppt มีการสร้าง cystocarp ในสัปดาห์ถัดไป จากการศึกษาในระดับความเค็มพบว่าสอดคล้องกับการศึกษาของ Zhou *et al.* (2013) โดยศึกษาผลของความเค็มต่อการพัฒนาและการปลดปล่อย carpospores ของสาหร่าย *G. lemaneiformis* พบว่าที่ความเค็ม 30-35 ppt ปลดปล่อยคาร์โพสปอร์ดีที่สุดใน การศึกษาของ Choi *et al.* (2006) ศึกษาผลกระทบของความเค็มต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *G. verrucosa* และ *G. chorda* จากประเทศเกาหลี พบว่าความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิด ความเค็มอยู่ในช่วงตั้งแต่ 5-35 ppt และช่วงที่เหมาะสมตั้งแต่ 15-30 ppt เช่นเดียวกับ McLachlan and Bird (1986) ได้รายงานว่าสาหร่ายสกุล *Gracilaria* จะมีสีเขียวและตายลงเมื่อความเค็มน้อยกว่า 15 ppt และ Kumar *et al.* (2010) รายงานว่าสาหร่าย *Gracilaria corticata* ที่เลี้ยงภายในความเค็มต่ำกว่า 15 ppt แทลัสจะมีความอ่อนแอ

การเจริญเติบโตและก่อกำเนิดของ cystocarp ภายใต้ความเข้มแสงที่แตกต่างกัน ของสาหร่าย *G. fisheri* S1 พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่ความเข้มแสง $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ และพบว่าสาหร่ายมีการก่อกำเนิดของ cystocarp เร็วในสัปดาห์ที่ 2 ส่วนที่ความเข้มแสง 20 และ $40 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ พบมีการก่อกำเนิดของ cystocarp ในสัปดาห์ถัดไป จากการศึกษาพบสอดคล้องกับ Zhou *et al.* (2013) ช่วงความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตตลอดจนถึงการขยายพันธุ์ของสาหร่าย อยู่ในช่วง $15-45 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ แสงและอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย (McLachlan and Bird, 1986; Pakker *et al.*, 1995) ซึ่งอุณหภูมิตั้งแต่ $25-30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทะเล ในมหาสมุทรแคริบเบียนเขตร้อน (Pakker *et al.*, 1995) นอกจากนี้สาหร่าย *Gracilaria* spp. ที่ได้ศึกษาจากประเทศญี่ปุ่น มาเลเซียและอินโดนีเซีย มีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มแสงเพิ่มขึ้นจาก 10 เป็น $60 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Reddy *et al.*, 2003; Raikar *et al.*, 2001; Beer and Levy, 1983)

ในการศึกษาการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1% ในการศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *G. fisheri* S1 พบว่าคาร์บอนไดออกไซด์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการก่อกำเนิดของเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของสาหร่ายเมื่อเทียบกับชุดควบคุม คือไม่เติมคาร์บอนไดออกไซด์ และยังพบว่าสาหร่ายที่เลี้ยงด้วยการเติมคาร์บอนไดออกไซด์ แทลัสของสาหร่ายมีความอ่อนแอแลทลัสจะเปลี่ยนสีไปเป็นสีเขียว (ภาพที่ 24) ในการให้คาร์บอนไดออกไซด์ทำให้คลอโรฟิลล์ของสาหร่ายลดลงแม้ในระดับต่ำ ในการศึกษา นี้เราจะใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เพียง 1% ซึ่งมีความเข้มข้นที่ต่ำ Chen *et al.* (2018) ได้รายงานไว้ว่าคาร์บอนไดออกไซด์ 1% เพิ่มการเจริญเติบโตของสาหร่าย Xu *et al.* (2008; 2010) และ Zou and Gao (2009) ได้รายงานว่าการเพิ่มก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายวุ้น *G. lemaneiformis* มีผลทำให้สาหร่ายมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น จากรายงานได้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ แต่ในการศึกษาได้มีการเพิ่มของคาร์บอนไดออกไซด์ 1% ในระยะเวลาสั้นจึงทำให้คาร์บอนไดออกไซด์ไปยับยั้งการ

เจริญเติบโตของสาหร่าย การให้คาร์บอนไดออกไซด์ อย่างต่อเนื่องมีผลต่อระดับ pH ของน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายยิ่งให้ในระยะเวลาสั้น pH จะยิ่งลดลงจนมีสภาพเป็นกรด ทำให้สาหร่ายสูญเสียคลอโรพลาสต์ แต่ถ้าให้ระยะสั้นที่พอเหมาะสาหร่ายจะสามารถเจริญเติบโตและคืนสภาพได้ Ryan-Stoneham and Tong (2000)

ส่วนการเพิ่มฮอร์โมนพืชในสาหร่ายพบว่าไม่มีผลต่อการสร้างซิสโทคาร์ป (cystocarp) ทั้งในตัวอย่างที่เลี้ยงด้วยอาหาร MGM การเพิ่มฮอร์โมนพืชประกอบด้วยอาหารฮอร์โมน 2 ชนิด ได้แก่ ไซโตไคนิน (6-benzyladenine) และออกซิน การศึกษาสิ้นสุดลงภายใน 3 สัปดาห์ เนื่องจากเซลล์มีความอ่อนแอและสีของเซลล์มีความขุ่นระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาที่ผ่านมา Yokoya *et al.*, 2004 ได้รายงานว่าไซโตไคนิน (cytokinins) มีอิทธิพลต่อการแบ่งเซลล์และกิจกรรมการเผาผลาญ (Evans, 1984) ออกซิน 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) มักจะนำมาใช้ในการกระตุ้นการสร้างแคลลัส แต่ส่วนใหญ่จะใช้ร่วมกันระหว่างไซโตไคนินและออกซิน เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตจากยอดและการเพาะก้านดอก โดยใช้ภายใต้ไซโตไคนินสูงต่ออัตราส่วนออกซิน (5:1 mg L⁻¹) (Yokoya 2000; Hayashi *et al.*, 2008) พบว่าสาหร่ายมีสร้างเนื้อเยื่อการงอกใหม่จากแกนของสาหร่าย (Hayashi *et al.*, 2008) ไซโตไคนินและออกซินมีผลต่อการแบ่งเซลล์ การพัฒนา และการแยกเซลล์ไซมาติกเพื่อผลิตสายพันธุ์ใหม่ทางพันธุกรรมของสาหร่าย (Yan and Wang 1990; Dai *et al.*, 1993; Cheney *et al.*, 1998) สาหร่ายสีแดง *Kappaphycus alvarezii* โดยเพิ่มไซโตไคนิน และออกซินในอัตราส่วน (2.5:1.0 mg L⁻¹) พบว่ามีผลต่อการเจริญเติบโตและการฟื้นฟู ยืดตัวของเนื้อเยื่อ Yong *et al.* (2014) นอกจากนี้ การใช้ออกซินยังช่วยเพิ่มโปรตีนในการพัฒนารูปร่าง (morphogenesis) และกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงการแสดงออกทางพันธุกรรม แต่จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนพืชทั้งสองชนิด ได้แก่ ไซโตไคนิน (6-benzyladenine) และ ออกซิน มีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *G. fisheri* S1

ผลจากการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการสังเคราะห์แสง (photosynthesis) พบว่าสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงอยู่ในช่วง (Fv/Fm) 0.4-0.6 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Liu *et al.*, 2018 โดยศึกษาผลของการเติมเซเลไนต์ (selenite) ในสาหร่าย *Gracilaria lemaneiformis* ที่ความเข้มข้น 0, 200, 500 และ 800 mg L⁻¹ พบว่าสาหร่ายมีการสังเคราะห์แสงในช่วง (Fv/Fm) 0.4-0.5 เนื่องจากเซเลไนต์ จะเป็นตัวป้องกันการสังเคราะห์แสงของสาหร่าย *G. lemaneiformis* ที่เติมคาร์บอนไดออกไซด์มีค่า photosynthesis (Fv/Fm) ที่ปริมาณต่ำ (Chen *et al.*, 2015)

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

1. การจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

จากการจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง โดยศึกษาลักษณะ และศึกษาโครงสร้างภายในของสาหร่าย ตามอนุกรมวิธานที่เคยศึกษามาก่อนหน้านี้ และศึกษาลักษณะทางกายภาพ สามารถแบ่งออกได้ดังตารางที่ 21 จากการศึกษาทางอนุกรมวิธานสามารถแยกสาหร่ายออกได้ทั้งหมด 3 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก (*Gracilaria tenuistipitata*) 2. สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ (*Gracilaria fisheri* S1) และ 3. สาหร่ายผสมนางหัวหยิก (*Gracilaria fisheri* S2) เมื่อศึกษาทางชีวโมเลกุล (DNA) สามารถจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายออกได้ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. สาหร่ายผสมนางเส้นเล็ก *Agarophyton tenuistipitata* (*Gracilaria tenuistipitata*) และ 2. สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่ และสาหร่ายผสมนางหัวหยิก ชนิดเดียวกัน คือ *Crassiphycus changii*

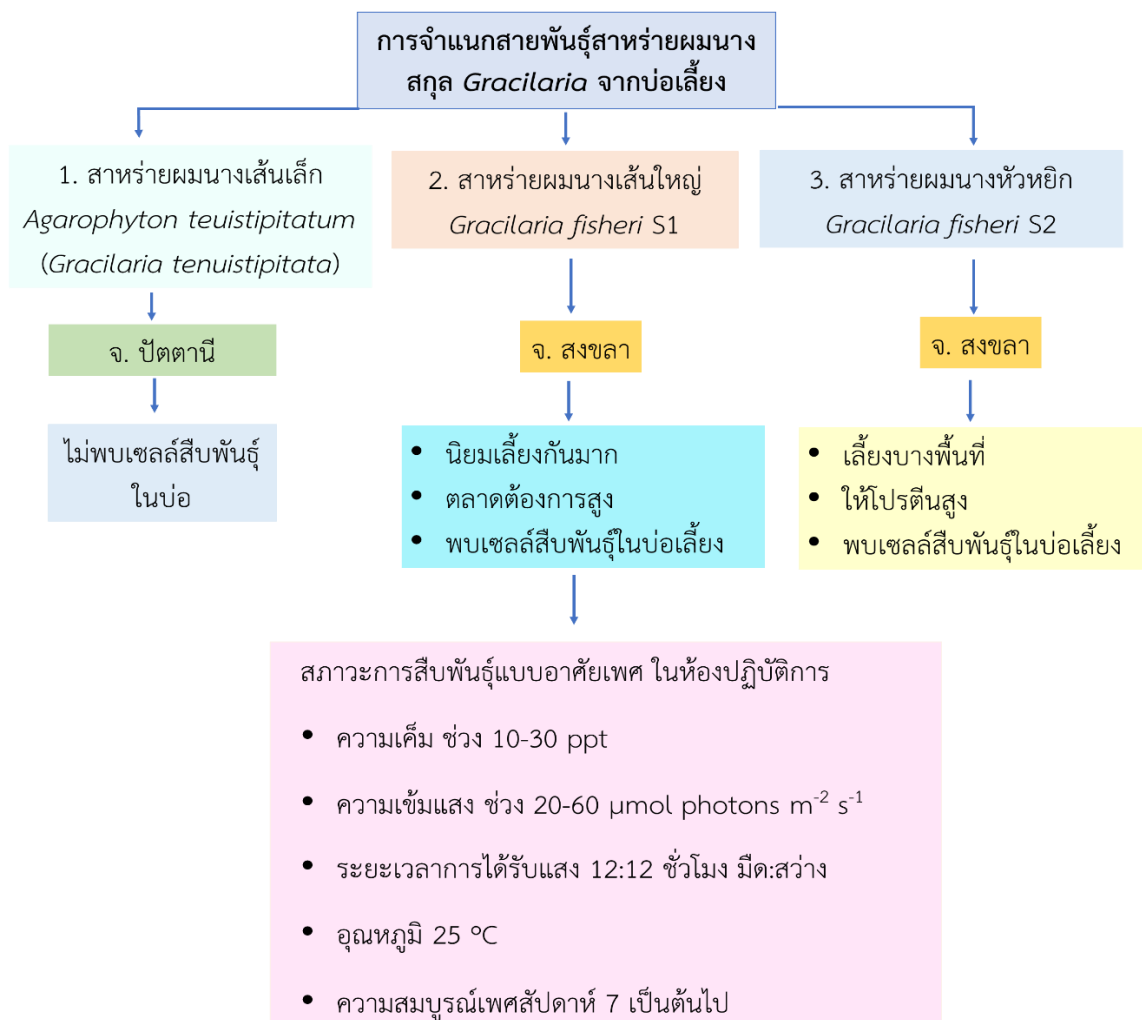
ตารางที่ 21 การจำแนกสายพันธุ์สาหร่ายผสมนาง สกุล *Gracilaria* จากบ่อเลี้ยง

	สาหร่ายผสมนางเล็ก	สาหร่ายผสมนางเส้นใหญ่	สาหร่ายผสมนางหัวหยิก
Physical Characteristics	<i>Agarophyton tenuistipitatum</i>	<i>Gracilaria fisheri</i>	<i>Gracilaria fisheri</i>
DNA	<i>Agarophyton tenuistipitatum</i>	<i>Crassiphycus changii</i>	<i>Crassiphycus changii</i>
Nutritional Chemical	-	-	-
Species	<i>Agarophyton tenuistipitatum</i>	<i>Gracilaria fisheri</i>	<i>Gracilaria fisheri</i>

- ไม่สามารถจำแนกชนิดได้

2. การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

จากการศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการก่อตัวของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่ผสมพันธุ์แล้ว หรือ ซีสโทคาร์ป (cystocarps) พบว่าสาหร่ายมีการเจริญเติบโตและเกิด cystocarp ได้ดีภายใต้สภาวะปัจจัยสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ความเค็ม และความเข้มแสง โดยมองเห็น cystocarp ภายในสัปดาห์ที่ 2 ที่ความยาวแทลลัสอยู่ที่ 4.6 ± 1.1 cm มีการพัฒนาของ cystocarp โดยจะมีปุ่มนูนออกมาบริเวณผิวของแทลลัส ภายในสัปดาห์ที่ 6 cystocarp จะมีการพัฒนาอย่างสมบูรณ์และมีการก่อตัวของ carpospore หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 7 พบว่า cystocarp มีการปล่อย carpospore และการเพิ่มคาร์บอนไดออกไซด์ และการเติมฮอร์โมนพืช สาหร่ายไม่มีการก่อตัวของ cystocarp และมีการเจริญเติบโตลดต่ำลง สีของแทลลัสจะซีดลงจนเป็นสีขาว ขาดและตายลง ดังนั้นปัจจัยของความเค็ม และความเข้มแสง เป็นปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้



ภาพที่ 30 ไดอะแกรมการจำแนกสายพันธุ์และการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *G.fisheri* S1

3 ข้อเสนอแนะ

3.1 ในการจำแนกชนิดสาหร่ายผมนางจากบ่อเลี้ยง ควรศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในโดยการตัด section และการตรวจสอบทางพันธุกรรม (DNA) จึงจะสามารถยืนยันได้แน่นอน

3.2 ควรมีการศึกษาปัจจัยทางเคมีอื่น ๆ นอกเหนือจาก คาร์บอนไดออกไซด์ และฮอร์โมนพืช (ไซโตไคนิน และออกซิน) ที่มีผลต่อการสร้างเซลล์พันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

3.3 ควรมีการศึกษาปัจจัยการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 รวมทั้งศึกษาการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศของสาหร่ายชนิดอื่น เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรม และวงจรชีวิตที่ครบสมบูรณ์ต่อการรักษาสายพันธุ์ไว้สำหรับการเพาะเลี้ยงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- กาญจนภาชน์ ลีวมโนมนต์. 2536. สาหร่ายวุ้นสกุล *Gracilaria* ในประเทศไทย The Genus *Gracilaria* of Thailand. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. 303-312.
- จิตติมา หมั่นกิจ. 2544. การเจริญเติบโตและปริมาณวุ้นของสาหร่ายทะเลสกุลกราซีลาเรีย, *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในสภาพบ่อธรรมชาติ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์, สาขาวิทยาศาสตร์การประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ระพีพร เรืองช่วย. 2552. สาหร่ายวุ้น กราซีลาเรีย เทคนิคการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีประสิทธิภาพ The Agarphyte *Gracilaria*: A Practical Cultivation Technique, ครั้งที่ 1, โรงพิมพ์ ไมตรีบริการ, ปัตตานี, หน้า 54-63.
- ระพีพร เรืองช่วย และ กาญจนภาชน์ ลีวมโนมนต์. 2536. การกระตุ้นการปล่อยคาร์โบสปอร์ของ สาหร่ายวุ้น *Gracilaria tenuistipitata* (Chang and Xia) และ *G. fisheri* (Abbott, Zhang and Xia). ใน การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 3-6 กุมภาพันธ์ 2536. 313-319.
- ระพีพร เรืองช่วย, โชคชัย เหลืองธวัชประณีต, นิรัตติศัย เพชรสุภา, และพายัพ มาศนิยม. 2549. การ เลี้ยงสาหร่ายผสมนาง (*Gracilaria* spp.) เพื่อเป็นอาชีพทางเลือกใหม่สำหรับชาวประมง พื้นที่บ้านในอ่าวปัตตานี. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย, กรุงเทพมหานคร, 40-64.
- สุนทรี สมแสง. 2550. การเปรียบเทียบการเปลี่ยนสีของลึนจี (พันธุ์กวางเจา) ที่ถนอมด้วยความดันสูง ยิงและความร้อน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สุรภีร์ วรวิภาชี. 2543. การวิเคราะห์คุณค่าอาหารของสาหร่ายผสมนาง (*Gracilaria fisheri*) ใน ทะเลสาบสงขลาที่ตากแห้งในระยะเวลาต่างกัน. วารสารดวงแก้ว. 7(2), 52-63.
- อมมี เบญจมะ, ระพีพร เรืองช่วย, นิรัตติศัย เพชรสุภา, โชคชัย เหลืองธวัชประณีต และพายัพ มาศ นิยม. 2553. การพัฒนาผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่มจากสาหร่ายสกุลกราซีลาเรียเพื่อชุมชนบริเวณ อ่าวปัตตานี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(3/1 (พิเศษ)), 545-548.
- Abbott, I.A. and Norris, J.N. 1986. Taxonomy of Economic Seaweeds: with reference to some Pacific and Caribbean species. California Sea Grant College, La Jolla. pp. 127-156.
- Abbott, I.A., Zhang, J. and Xia, B. 1991. *Gracilaria mixta*, sp. nov. and Other Western Pacific Species of the Genus (Rhodophyta: Gracilariaceae). Pacific Science. 45(1), 12-27.

- Andersen, R.A., Berges, J.A. and Harrison, P.J. 2005. Appendix a-recipes for freshwater and seawater media. In: Algal culturing techniques (ed. R.A. Anderson), pp. 429-538. Elsevier Academic Press, Burlington, U.S.A.
- AOAC. 2000. Association of official Analytical Chemists 14th, Association official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Armisen, R. 1995. World-wide use and importance of *Gracilaria*. Journal of Applied Phycology. 7, 231-243.
- Beer, S. and Levy, I. 1983. Effects of photon fluence rate and light spectrum composition on growth, photosynthesis and relation in *Gracilaria* sp. Journal of Phycology. 19, 516-522.
- Benjama, O and Masniyom, P. 2012. Biochemical composition and physicochemical properties of two red seaweeds (*Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. Songklanakarin Journal of Science and technology. 34(2), 223-230.
- Bird, C.J. 1995. A review of recent taxonomic concepts and developments in the Gracilariaceae (Rhodophyta). Journal of Applied Phycology. 7, 255-267.
- Bird, C.J. and McLachlan, J. 1984. Taxonomic of *Gracilaria*: Evaluation of some aspects of reproductive structure. Developments in Hydrobiologia. 116-117(1), 41-46.
- Bird, C.J. and McLachlan, J. 1986. The effect of salinity on distribution of species of *Gracilaria* Grev. (Rhodophyta, Gigartinales): an experimental assessment. Botanica Marina. 29, 231-238.
- Bixler, H.J. and Porse, H. 2010. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. Journal of Applied Phycology. 23, 321-335.
- Bouzon, Z.L., Miguens, F. and Oliveira, E.C. 2000. Male gametogenesis in the red algae *Gracilaria* and *Gracilariopsis* (Rhodophyta, Gracilariales). Cryptogamie Algologie. 21(1), 33-47.
- Buschmann, A.H., Westermeier, R. and Retamales, C.A. 1995. Cultivation of *Gracilaria* on the sea-bottom in southern Chile: a review. Journal of Applied Phycology. 7, 291-301.

- Chaoyuan, W., Li, R., Lin, G., Wen, Z., Dong, L., Zhang, J., Huang, X., Wei, S. and Lan, G. 1993. Some aspects of the growth of *Gracilaria tenuistipitata* pond culture. *Hydrobiologia*. 260(1), 339-343.
- Chapman V.J. and Chapman, D.J. 1980. *Seaweeds and Theirs Uses*. 3rd ed., Chapman and Hall, London, UK. pp. 308-334.
- Chen, B., Zou, D. and Jiang, H. 2015. Elevated CO₂ exacerbates competition for growth and photosynthesis between *Gracilaria lemaneiformis* and *Ulva lactuca*. *Aquaculture*. 443, 49-55.
- Chen, B., Zou, D., Du, H. and Ji, Z. 2018. Carbon and nitrogen accumulation in the economic seaweed *Gracilaria lemaneiformis* affected by ocean acidification and increasing temperature. *Aquaculture*. 482, 176-182.
- Chen, C.S. and Zhang, J.R. 1999. A discussion on the techniques of artificial cultivation of *Gracilaria tenuistipitata* var. liui in Fujian. *Journal of Jimei University*. 4(2), 65-71.
- Chen, L. 1990. *Aquaculture in Taiwan*. The Alden Press, Oxford, England. 273p.
- Cheney, D., Rudolph, B., Wang, L.Z., Metz, B., Watson, K., Roberts, K., and Levine, I. 1998. Genetic manipulation and strain improvement in commercially valuable red seaweed. In: Le Gal H, Halvorson O (eds) *New developments in marine biotechnology*, Plenum, New York, pp. 101-104.
- Chirapart, A., Munkit, J. and Lewmanomont, K. 2006. Change in yield and quality of agar from the agarophytes, *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* var. liui cultivated in earthen ponds. *Kasetsart Journal of Nature Science*. 40(2), 529-540.
- Choi, H.G., Kim, Y.S., Kim, J.H., Lee, S.J., Park, E.J., Ryu, J. and Nam, K.W. 2006. Effects of temperature and salinity on the growth of *Gracilaria verucosa* and *G. chorda*, with the potential for mariculture in Korea. *Journal of Applied Phycology*. 18, 269-277.
- Critchley, A.T. and Ohno, M. 1998. *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta): An Economically Important Agarophyte. In Critchley, A. T. and Ohno, M. (Edition), *Seaweed Resources of the World*. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan. pp. 89-112.

- Dai, J., Zhang, Q. and Bao, Z. 1993. Genetic breeding and seedling raising experiments with *Porphyra* protoplasts. *Aquaculture*. 111, 139-145.
- Denis, C., Morançais, M., Li, M., Deniaud, E., Gaudin, P., Wielgosz-Collin, G., Barnathan, G., Jaouen, P. and Fleurence, J. 2010. Study of the chemical composition of edible red macroalgae *Grateloupia turuturu* from Brittany (France). *Food Chemistry*. 119, 913-917.
- Destombe, C., Godin, J., Nocher, M., Richerd, S. and Valer, M. 1993. Differences in response between haploid and diploid isomorphic phases of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyta: Gigartinales) exposed to artificial environmental conditions. *Hydrobiologia*. 260(1), 131-137.
- Durairatnam, M. 1987. Studies of the yield of agar, gel strength and quality of agar of *Gracilaria edulis* (Gmel.) Silva from Brazil. *Hydrobiologia*. 41, 509-512.
- Engel, C.R., Wattier, R., Destombe, C. and Valero, M. 1999. Performance of non-motile male gametes in the sea: analysis of paternity and fertilization success in a natural population of a red seaweed, *Gracilaria gracilis*. *Proceedings of The Royal Society of London*. 266, 1879-1886.
- Evans, M.L. 1984. Functions of hormones at the cellular level of organization. In: Scott TK (ed.) *Encyclopaedia of plant physiology, new series*, vol 10. Springer, Berlin, pp. 23-80.
- FAO. 1990. *Training Manual on Gracilaria Culture and Seaweed Processing in China*. Zhanjiang Fisheries College, People's Republic of China. 73-85.
- FAO. 1991. *Training course on Gracilaria Culture and Processing*. Report on the In-Service UNDP-FAO, VIE86/001, 1-66.
- Fleurence, J. 1999. Seaweed proteins: biochemical nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 10, 25-28.
- Fredericq, S. and Hommersand, M.H. 1989. Proposal of the *Gracilariales* (Rhodophyta) based on an analysis of the reproductive development of *Gracilaria verrucosa*. *Journal Phycology*. 12, 153-158.
- Garza S.F., Zertuche, G.J.A. and Chapman, D.J. 2000. Effect of temperature and irradiance on the release, attachment and survival of spores of *Gracilaria pacifica* Abbott (Rhodophyta). *Botanica Marina*. 43(3), 205-212.

- Glenn, E.P., Moore, D., Fitzsimmons, K. and Azevedo, C. 1996. Spore culture of the edible red seaweed, *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta). *Aquaculture*. 142, 59-74.
- Guzman-Uriostegui, A. and Robledo, D. 1999. Factors affecting sporulation of *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta) carposporophytes from Yucatan, Mexico. *Hydrobiologia*. 398, 285-290.
- Hayashi, L., Yokoya, N.S., Kikuchi, D.M. and Oliveira, E.C. 2008. Callus induction and micropropagation improved by colchicine and phytohormones in *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae). *Journal of Applied Phycology*. 20, 653-659
- Hong, D.D., Hien, H.M. and Son, P.N. 2007. Seaweed from Vietnam used for functional food, medicine and biofertilizer. *Journal of Applied Phycology*. 19(6), 817-826.
- Ito, K. and Hori, K. 1989. Seaweed: chemical composition and potential uses. *Food Review International*. 5, 101-144.
- Kain, J.M. and Destombe, C. 1995. A review of the life history, reproduction and phenology of *Gracilaria*. *Journal of Applied Phycology*. 7, 269-281.
- Karina, M.M., Martin, L. and Leonardi, P. 2013. Carpospore release and sporeling development in *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from the southwestern Atlantic coast (Chubut, Argentina). *Journal of Applied Phycology*. 25(6), 1917-1924.
- Khreauthong, S., Praiboon, J. and Chirapart, A. 2018. Photosynthetic response of *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia to irradiance, temperature and salinity variation. *Journal of Fisheries and Environment*. 42, 52-61.
- Kim, D.H. 1970. Economically important seaweeds in Chile-I. *Gracilaria*. *Botanica Marina*. 13(2), 140-162.
- Kumar, M., Kumari, P., Gupta, V., Reddy, C.R.K. and Jha, B. 2010. Biochemical responses of red alga *Gracilaria coticata* (Gracilariales, Rhodophyta) to salinity induced oxidative stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 391, 27-34.

- Kim, Y.W. and Shin, H.J. 2017. Introduction of alkali soaking and microwave drying processes to improve agar quality of *Gracilaria verrucosa*. Korean Journal of Chemical Engineering. 34(12), 3163-3169.
- Lahaye, M. 1991. Marine algae as sources of fibres: Determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some, sea vegetables. Journal of Science and Food Agriculture. 54, 587-594.
- Lewmanomont, K. and Ogawa, H. 1995. Common Seaweeds and Seagrasses Thailand. Promotion Technology Co., Ltd., Bangkok. 163 p.
- Littler, M.M., Littler, D.S. and Taylor, P.R. 1987. Functional similarity among isomorphic life-history phases of *Polycavernosa debilis* (Rhodophyta, Gracilariaceae). Journal of Applied Phycology. 23(3), 501-506.
- Liu, Z., Wang, Q., Zou, D. and Yang, Y. 2018. Effects of selenite on growth, photosynthesis and antioxidant system in seaweed, *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). Algal Research. 36, 115-112.
- Lobban, C.S. and Harrison, P.J. 1994. Seaweed ecology and physiology, Cambridge University Press, Cambridge. 169-202 pp.
- Mabeau, S. and Fleurence, J. 1993. Seaweed in food Products: biochemical and nutritional aspects. Trend in Food Science and Technology. 4(4), 103-107.
- Mantri, V.A., Thakur, M.C., Kumar, M., Reddy, C.R.K. and Jha, B. 2009. The carpospore culture of industrially important red alga *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta). Aquaculture. 297, 85-90.
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A. and Moreira, W.S.C. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweed. Bioresource Technology. 97, 2402-2406.
- Marinho-Soriano, E., Nunes, S.O., Carneiro, M.A. and Pereira, D.C. 2009. Nutrients' removal from aquaculture wastewater using the macroalgae *Gracilaria birdiae*. Biomass and Bioenergy. 33(2), 327-331.
- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N.M. and Muhammed K. 2009. Nutrient content of tropical edible seaweed, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. Journal of Applied Phycology. 21, 75-80.

- McDermid, K.J. and Stuercke, B. 2003. Nutritional composition of edible Hawaiian seaweeds. *Journal of Applied phycology*. 15, 513-524.
- McLachlan, J. and Bird, C.J. 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aquatic Botany*. 26, 27-49.
- Mercado, J.M., Gordillo, F.J.L., Niell, F.X. and Figueroa, F.L. 1999. Effects of different levels of CO₂ on photosynthesis and cell components of the red alga *Porphyra leucosticte*. *Journal of Applied Phycology*. 11, 455-461.
- Michetti, K.M., Martin, L.A. and Leonardi, P.I. 2013. Carpospore release and sporeling development in *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from the southwestern Atlantic coast (Chubut, Argentina). *Journal of Applied Phycology*. 25, 1917-1924.
- Mosier, A.C., Murray, A.E. and Fritsen c.H. 2006. Microbiota within the perennial ice cover of Lake Vida, Antarctica. *FEMS Microbiol Ecol*. 59, 274-288.
- Murano, E. 1995. Chemical structure and quality of agars from *Gracilaria*. *Journal of Applied Phycology*. 7, 245-254.
- Nisizawa, K., Noda, H., Kikuchi, R. and Watanabe, T. 1987. The main seaweed foods in Japan. *Hydrobiologia*. 151/152, 5-29.
- Norziah, M.H. and Ching, C.Y. 2000. Nutritional composition of edible seaweed *Gracilaria changii*. *Food Chemistry*. 68(1), 69-76
- Pakker, H., Breeman, A.M., Prud'homme van Reine, W.F. and Van den Hock, C. 1995. A comparative study of temperature responses of Caribbean seaweed from different biogeographic groups. *Journal of Phycology*. 31, 499-507.
- Plastino, E.M. and Oliveira, E.C. 1988. Deviations in the life history of *Gracilaria* sp. (Rhodophyta, Gracilariales), from Coquimbo, Chile, under different culture conditions. *Hydrobiologia*. 164(1), 67-64.
- Prolifrone, M., Masi, F.D. and Gargiulo, G. 2006. Alternative pathways in the life history of *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from Northeastern Sicily (Italy). *Aquaculture*. 261(3), 1003-1013.

- Prosky, L., Asp, N.G., Schweizer, T.F., DeVries, J.W. and Furda, I. 1992. Determination of insoluble, soluble dietary fibre in foods and food products: Collaborative study. *Journal of the Association of official Analytical Chemists International*. 75, 360-367.
- Prud'homme van Reine, W.F. and Trono Jr, G.C. 2001. *Plant Resources of South-East Asia*. No. 15(1) Cryptogams: Algae. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands. 318 pp.
- Raikar, R.V., Lima, M. and Fujita, Y. 2001. Effect of temperature, salinity and light intensity on the growth of *Gracilaria* spp. (Gracilariales, Rhodophyta) from Japan, Malaysia and India. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*. 30(2), 98-104.
- Rebeldo, D. and Pelegrin, Y.F. 1997. Chemical and mineral composition of six potentially edible seaweed species of Yucatan. *Botanica Marina*. 44(4), 301-306.
- Reddy, C.R.K., Kumar, G.R.K., Siddhanta A.K., Tewari, A. and Eswaran, K. 2003. In vitro somatic embryogenesis and regeneration of somatic embryos from pigmented callus of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Gigartinales). *Journal of Phycology*. 39, 610-616.
- Ruperez, P. 2002. Mineral content of edible marine seaweed. *Food Chemistry*. 79, 23-26.
- Ruperez, P. and Saura-Calixto, F. 2001. Dietary fibre and physicochemical properties of edible Spanish seaweed. *European Food Research Technology*. 212, 349-354.
- Ryan-Stoneham, T. and Tong, C.H. 2000. Degradation kinetics of chlorophyll in peas as a function of pH. *Journal of Food Science*. 65(8), 1296-1302.
- Ryder, E., Nelson, S.G., Mckee, C., Glenn, E.P., Fitzsimmons, K. and Napolean, S. 2004. Effect of water motion on the cultivation of the economic seaweed *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) on Molokai, Hawaii. *Aquaculture*. 238(1-4), 207-219.
- Sanchez-Machado, D.I., Lopez-Hernandez, J. and Paseiro-Loseada, P. 2004. Fatty acids, total lipid, protein and contents of processed edible seaweeds. *Food Chemistry*. 85, 439-444.
- Santelices, B. and Doty, M. S. 1989. A review of *Gracilaria* farming. *Aquaculture*. 78(2), 95-133.

- Shang, Y.C. 1976. Economic aspects of *Gracilaria* culture in Taiwan. *Aquaculture*. 8(1), 1-7.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1960. Principles and Procedures of Statistics (With special Reference to the Biological Sciences). McGraw- Hill Book Company, New York, Toronto, London. 481 p
- Tseng, C.K. and Xia, B.M. 1999. On the *Gracilaria* in the Western Pacific and the Southeastern Asia Region. *Botanica Marina*. 42, 209-217.
- USDA. 2001. Nutrient Database for Standard Reference, Release 14, Agricultural Research Service, Beltsville Human Nutrition Research Centre, Maryland, U.S. Department of Agriculture (USDA), U.S.A.
- Wen, X., Peng, C., Zhou, H., Lin, Z., Lin, G., Chen, S. and Lin, P. 2006. Nutritional composition and assessment *Gracilaria lemaneiformis* Bory. *Journal Integrative Plant Biology*. 48(9), 1047-1053.
- Wong, K. and Cheung, P.C. 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds. Part 1- proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical. *Food Chemistry*. 7, 475-482.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, Inc., New York, pp. 315-322.
- Xia, B. and Abbott. 1987. New species of *Polycavernosa* Chang & Xia (Gracilariaceae, Rhodophyta) from the western Pacific. *Phycologia*. 26(4), 405-418.
- Xu, D., Zhu, J.Y., He, Y., Cheng, X.J., Zhang, W.Y. and Zhang, X.C. 2008. Structure of reproductive apparatus of *Gracilaria/Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Science China Life Sciences*. 51(12), 1137-1143.
- Xu, Z., Zou, D. and Gao, K. 2010. Effects of elevated CO₂ and phosphorus supply on growth, photosynthesis and nutrient uptake in the marine macroalga *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Botanica Marina*. 53, 123-129.
- Xu, Z.G., Zou, D.H., Zhang, X. and Liu, S.X. 2008. Effects of increased atmospheric CO₂ and N supply on growth, biochemical compositions and uptake of nutrients in *Gracilaria lemaneiformis* (Rhodophyta). *Acta Ecologica Sinica*. 28, 3752-3759.

- Xu, Y., Wei, W. and Fang, J. 2009. Effects of salinity, light and temperature on growth rates of two species of *Gracilaria* (Rhodophyta). *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*. 27(2), 350-355.
- Yamamoto, H. 1987. Systematic and anatomical study of the genus *Gracilaria* in *Memoirs of Faculty of Fisheries, Hokkaido University*. 25, 97-152.
- Yan, X. and Wang, S. 1990. The effect of colchicine on the growth and development of the somatic cells from *Porphyra haitanensis*. *Marine Science*. 17, 24-28.
- Yang, Y.E., Fei, X.G., Song, J.M., Hu, H.Y., Wang, G.C. and Chung, I.K. 2006. Growth of *Gracilaria lemaneiformis* under different cultivation conditions and its effects on nutrient removal in Chinese coastal waters. *Aquaculture*. 254(1-4), 248-255.
- Yang, Y.F., Chai, Z.Y., Wang, Q., Chen, W.Z., He, Z. and Jiang, S. 2015. Cultivation of seaweed *Gracilaria* in Chinese coastal waters and its contribution to environmental improvements. *Algal Research*. 9, 236-244.
- Ye, N., Wang, H. and Wang, G. 2006. Formation and early development of tetraspores of *Gracilaria lemaneiformis* (Gracilaria, Gracilariaceae) under laboratory conditions. *Aquaculture*. 254, 219-226.
- Yeong, H.Y., Phang, S.M., Reddy, C.R.K. and Khalid, N. 2014. Production of clonal planting materials from *Gracilaria changii* and *Kappaphycus alvarezii* through tissue culture and culture and of *G. changii* explants in airlift photobioreactors. *Journal of Applied Phycology*. 26(2), 729-746.
- Yokoya, N.S. 2000. Apical callus formation and plant regeneration controlled by plant growth regulators on axenic culture of the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycological Research*. 48, 133-142.
- Yokoya, N.S., John, A. and Luchi, A.E. 2004. Effects of plant growth regulators on callus formation, growth and regeneration in axenic tissue culture of *Gracilaria tenuistipitata* and *G. perplexa* (Gracilariales, Rhodophyta). *Phycological Research* 52: 244-254.
- Yong, W.T.L., Ting, S.H., Yong, Y.S., Thien, V.Y., Wong, S.H., Chin, W.L., Rodrigues, K.F. and Anton, A. 2014. Optimization of culture conditions for direct regeneration

- of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae). *Journal of Applied Phycology*. 26, 1597-1606.
- Yong, W.T.L., Ting, S.H., Yong, Y.S., Thien, V.Y., Wong, S.H., Chin, W.L., Rodrigues, K.F., and Anton, A. 2014. Optimization of culture conditions for direct regeneration of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae). *Journal of Applied Phycology*. 26, 1597-1606.
- Yu, C.H., Lim, P.E. and Phang, S.M. 2013. Effects of irradiance and salinity on the growth of carpospore-derived tetrasporophytes of *Gracilaria edulis* and *Gracilaria tenuistipitata* var *liui* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*. 25(3), 787-794.
- Zemke-White, W.L. and Ohno, M. 1999. World seaweed utilization: An end-of-century summary. *Journal of Applied Phycology*. 11, 369-376.
- Zhou, W., Zhenghoung, S. Wang, J. and Chang, L. 2013. An orthogonal design for optimization of growth conditions for all life history stages of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta). *Aquaculture*. 392-395, 98-105.
- Zou, D. and Gao, K. 2009. Effects of elevated CO₂ on the red seaweed *Gracilaria lemaneiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) growth at different irradiance levels. *Phycologia*. 48(6), 510-517.

ภาคผนวก 1

การศึกษาสายพันธุ์สาหร่ายพมนาง สกุล *Gracilaria*1. การจำแนกลักษณะสายพันธุ์สาหร่ายพมนาง สกุล *Gracilaria*

การจำแนกชนิดสาหร่ายจากบ่อเลี้ยงในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี และ อำเภอ ระโนด จังหวัดสงขลา โดยการศึกษาลักษณะภายนอกและภายในโดยการตัดขวางแทลลัส เพื่อวัดขนาดเซลล์ต่าง ๆ แสดงดังตารางภาคผนวกที่ 1

ตารางภาคผนวกที่ 1 การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายพมนาง *Gracilaria tenuistipitata*

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลางแทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลางชั้นเมดิลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
1	21.2	573.91	122.83	46.7
2	22.1	460.55	103.33	44.95
3	19.5	497.65	169.87	49.35
4	18.7	928.81	111.39	45.59
5	19.6	757.28	139.56	42.62
6	20.1	567.11	173.55	38.93
7	21.5	520.33	107.78	50.53
8	17.2	771.81	73.96	37.64
9	18.9	506.98	85.75	36.25
10	19.8	456.72	66.22	39.02
11	18.8	487.56	87.65	21.14
12	18.9	442.37	98.61	22.3
13	22.3	522.91	87.43	27.51
14	21.1	463.55	101.62	21.41
15	19.7	497.65	192.43	13.78
16	21.3	528.81	120.46	26.95
17	21.2	557.28	120.42	32.15
18	18.9	567.11	118.43	25.13
19	17.2	520.33	107.21	40.17
20	19.1	471.81	163.47	38.12
21	19.2	506.98	154.22	7.57
22	18.2	456.72	165.87	9.34

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
23	18.3	487.56	132.41	5.53
24	18	442.37	135.62	9.51
25	18	567.11	170.74	6.34
26	18.1	520.33	170.24	6.45
27	18.2	471.81	170.2	7.57
28	18.3	506.98	195.56	8.65
29	16.5	456.72	125.27	8.43
30	18	487.56	173.82	14.53
31	16.1	489.43	183.44	21.14
32	16.2	487.31	161.77	28.88
33	18	424.35	175.98	55.8
34	18.1	443.23	67.54	42.3
35	18	444.56	95.14	34.7
36	18.2	571.38	79.29	21.56
37	18	487.35	78.59	20.89
38	18	487.57	86.13	28.66
39	18	442.67	64.86	21.07
40	18	576.32	74.56	19.36
41	17.6	556.73	73.16	42.06
42	17.3	573.91	72.24	32.96
43	17.4	460.55	174.93	33.08
44	17.3	497.65	131.3	32.54
45	18.2	928.81	169.01	28.18
46	18.3	757.28	176.44	31.21
47	18.1	567.11	174.97	23.23
48	18.2	520.33	115.43	26.94
49	18.1	771.81	165.21	34.93
50	18.2	506.98	174.98	31.03
51	17.2	456.72	105.31	23.55
52	20.2	487.56	124.4	18.14
53	19.6	442.37	103.46	17.42
54	18.9	522.91	102.52	16.54
55	22.3	557.28	193.96	14.38

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
56	20.3	567.11	137.57	16.51
57	21	520.33	102.38	21.62
58	18.2	571.81	81.7	22.24
59	21.1	506.98	202.38	24.32
60	18.7	456.72	205.37	21.61
61	18.9	487.56	81.76	22.27
62	18.8	442.37	82.91	26.51
63	18.2	522.91	117.77	28.48
64	18	463.55	252.86	20.61
65	18.3	497.65	153.06	25.42
66	17.2	528.81	151.11	29.37
67	17.1	557.28	239.54	16.71
68	17.3	567.11	124.24	16.43
69	18	520.33	127.24	18.42
70	17.2	522.31	102.56	20.12
71	18	552.33	106.43	10.37
72	18	552.33	124.33	16.41
73	18	541.32	122.37	16.52
74	18	542.41	131.26	19.87
75	18.2	552.33	106.15	10.2
76	18.2	552.33	127.24	20.41
77	18.3	552.33	178.56	20.87
78	18	463.55	173.56	22.31
79	17	497.65	164.32	21.42
80	17	528.81	165.43	27.68
81	18.1	557.28	178.53	27.71
82	18.2	567.11	108.31	21.9
83	18.6	520.33	108.22	31.75
84	19.1	471.81	96.62	20.41
85	19.3	506.98	87.3	22.61
86	19.7	456.72	64.3	29.87
87	20.1	487.56	122.86	28.75

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
88	18.7	442.37	107.95	28.75
89	20.1	567.11	173.84	28.82
90	22.5	520.33	144.39	29.57
91	18.6	471.81	121.95	30.41
92	20.2	506.98	87.3	29.27
93	19.7	456.72	64.15	27.52
94	21.2	487.56	65.7	26.42
95	19.5	432.21	83.15	28.51
96	20.1	442.56	70.96	29.35
97	21.7	444.55	94.87	22.47
98	21.3	422.32	76.54	21.52
99	20.3	436.23	76.57	20.56
100	19.8	461.32	88.42	20.26
ค่าเฉลี่ย	18.9	521.9	126.6	25.3
SD	1.4	88.9	42.7	10.4

ตารางภาคผนวกที่ 2 การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายผมนาง *Gracilaria fisheri* S1

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
1	16	1518.5	177.16	27.68
2	18	1278.76	179.07	27.71
3	18.6	1350.56	180.93	21.9
4	15.7	1544.69	152.52	31.75
5	18.5	1428.14	116.99	26.29
6	41.5	1515.14	158.97	26.53
7	10.7	1198.78	111.1	26.15
8	16.5	1438.57	219.1	17.84
9	18.3	1438.57	167.9	33.8
10	16.7	1277.58	126.26	27.71
11	15.5	1205.6	252.69	25.26
12	24.2	1297.48	272.82	28.43

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลีส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมทัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
13	14	1402.37	266.67	27.12
14	18.3	1036.77	322.31	26.81
15	29.3	1063.95	314.98	30.62
16	23.6	1368.48	203.57	32.14
17	19.2	1019.05	171.31	34.75
18	15.5	1042.34	277.54	30.61
19	22.2	1072	369.64	32.87
20	25.5	1039.21	363.79	34.51
21	30.2	1205.6	232.85	45.46
22	34.8	1297.48	233.14	85.63
23	32.2	1402.37	301.56	60.25
24	49.3	1036.77	384.27	51.84
25	15.3	1063.95	373.5	53.89
26	15.5	1368.48	178.02	63.89
27	17	1019.05	236.95	87.66
28	15	1042.34	212.05	99.63
29	15.2	1072	281.61	76.12
30	21.6	1039.21	253.55	56.94
31	17	1021.33	352.58	84.67
32	17.6	1039.21	311.11	95.78
33	15.3	1205.6	253.56	96.11
34	16.7	1297.48	283.21	89.73
35	21.7	1402.37	274.3	84.21
36	20.6	1036.77	362.4	64.52
37	17.2	1063.95	301.52	89.26
38	15.5	1368.48	289.65	80.76
39	20.1	1019.05	289.65	63.46
40	17	1042.34	238.86	72.52
41	22.6	1072	312.85	63.96
42	25	1039.21	224.77	57.57
43	14.5	1518.5	232.7	62.38
44	23.6	1278.76	202.15	42.38
45	21.2	1350.56	211.17	81.7

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลล์ (µm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมทัลลา (µm)	ขนาดผนังเซลล์ (µm)
46	16	1544.69	211.19	82.91
47	13.5	1428.14	274.72	77.77
48	16.5	1515.14	325.35	63.65
49	17.7	1198.78	285.08	52.7
50	18.5	1438.57	237.38	65.38
51	30.6	1438.57	243.53	65.53
52	24.3	1277.58	351.03	83.55
53	28.4	1205.6	332.72	65.55
54	27.1	1297.48	245.96	63.65
55	28	1402.37	257.02	71.89
56	25.4	1036.77	194.81	71.89
57	20.1	1063.95	238.23	46.43
58	22.2	1368.48	246.71	59.67
59	30.6	1019.05	295.35	80.71
60	34.5	1042.34	261.42	41.75
61	16.7	1072	278.64	58.49
62	17.3	1039.21	268.93	41.39
63	14.3	1205.6	287.42	55.39
64	14.6	1297.48	251.62	42.76
65	15	1402.37	252.34	43.39
66	13.6	1036.77	259.87	39.19
67	20.6	1063.95	287.31	47.39
68	21.7	1368.48	295.42	41.76
69	22.4	1019.05	297.35	43.42
70	28.5	1042.34	271.34	44.79
71	26.1	1072	212.36	40.82
72	24.3	1039.21	287.64	55.76
73	25.7	1011	261.97	43.56
74	28.2	102.34	257.43	52.09
75	27.4	1011.35	316.42	58.91
76	27.6	1063.95	327.67	59.43
77	18.9	1368.48	361.52	60.72

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดิลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
78	21.2	1019.05	354.93	71.11
79	25.4	1042.34	395.12	72.34
80	26.1	1072	217.74	44.43
81	30.7	1039.21	222.48	44.48
82	31.5	1518.5	212.78	31.69
83	32.6	1278.76	216.54	36.65
84	28.7	1350.56	246.16	58.01
85	25.3	1544.69	258.97	41.37
86	16.4	1428.14	294.02	43.94
87	25.7	1515.14	199.24	49.67
88	28.9	1198.78	198.63	32.07
89	17.5	1438.57	238.24	41.72
90	13.5	1438.57	194.19	67.63
91	17.4	1277.58	197.19	93.74
92	21.6	1110.86	196.42	32.07
93	16.2	1020.12	161.63	93.11
94	18.3	899.65	164.73	81.63
95	24.3	1031.23	257.03	74.71
96	15.7	1011.24	215.64	59.71
97	19.8	1502.34	216.42	61.62
98	21.6	122.35	256.43	33.07
99	25.4	1241.56	232.46	56.04
100	30.6	1321.65	251.92	58.01
ค่าเฉลี่ย	21.8	1197.5	254.1	54.8
SD	6.6	238.35	60.5	20.7

ตารางภาคผนวกที่ 3 การจำแนกลักษณะขนาดของสาหร่ายพมนาง *Gracilaria fisheri* S2

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลลัส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดิลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
1	9.5	954.89	177.16	12.77
2	8.3	935.24	179.07	18.96
3	9.6	991.97	180.93	21.22

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลล์ (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
4	9.7	964.78	152.52	38.43
5	8.4	915.94	116.99	44.81
6	11.1	922.17	158.52	41.42
7	10.5	895.52	116.99	42.57
8	16.2	881.57	158.97	29.8
9	10.6	929.35	111.1	32.83
10	10.4	961.62	219.1	25.47
11	11.1	573.91	167.9	28.9
12	12.4	460.55	126.9	45.66
13	8.6	497.65	252.69	43.33
14	9.5	928.81	272.82	41.14
15	9.7	757.28	266.67	45.63
16	9.9	567.11	322.31	35.55
17	8.7	520.33	314.98	22.56
18	8.4	771.81	203.57	30.42
19	9.6	506.98	171.31	45.41
20	8.7	456.72	277.54	38.68
21	14.2	527.11	369.64	25.41
22	10.1	601.39	363.79	31.43
23	9.2	864.27	232.85	48.81
24	10.3	710.12	233.14	36.02
25	10.2	626.12	301.56	27.71
26	10.5	635.11	384.27	37.35
27	10	772.17	373.5	44.24
28	10.2	768.29	178.02	30.51
29	10.3	681.32	236.95	30.1
30	10.1	871.22	212.05	36.95
31	9.6	882.31	281.61	24.96
32	10.3	889.67	253.55	27.25
33	10.3	887.43	352.58	36.33
34	10.7	901.33	311.11	40.42
35	9.8	923.46	253.56	37.1

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลล์ส (μm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมดัลลา (μm)	ขนาดผนังเซลล์ (μm)
36	11.6	914.33	283.21	41.41
37	10.5	896.73	274.3	37.46
38	10.4	893.47	362.4	31.67
39	10.6	893.67	301.52	42.59
40	11.5	913.34	289.65	42.97
41	8.9	954.89	238.86	19.04
42	12.5	935.24	312.85	25.47
43	6.5	991.97	224.77	28.68
44	6.5	964.78	232.7	38.08
45	9.1	915.94	202.15	40.39
46	9.5	922.17	211.17	36.57
47	9.8	895.52	211.99	40.98
48	10.6	881.57	274.74	27.15
49	11.2	929.35	325.35	34.15
50	12.1	961.62	285.08	38.15
51	11.6	573.91	237.38	33.44
52	9.8	460.55	243.53	29.33
53	7.6	497.65	251.03	27.45
54	6.5	928.81	332.72	26.64
55	8.7	983.65	245.96	39.95
56	10.1	781.33	257.02	36.06
57	11.2	601.39	194.81	30.51
58	10.6	864.27	238.23	23.81
59	9.8	710.12	246.71	31.43
60	10.7	626.12	295.37	33.61
61	7.1	635.11	261.42	27.15
62	7.2	772.17	278.56	36.36
63	8.3	768.29	261.64	23.23
64	8.3	681.32	268.93	31.17
65	8	871.22	287.42	26.49
66	12	876.44	251.62	66.7
67	13.5	877.63	252.61	61.43

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลล์ (µm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมทัลลา (µm)	ขนาดผนังเซลล์ (µm)
68	6.7	983.43	252.34	55.54
69	7.9	774.35	259.87	45.9
70	8.6	787.56	287.31	70.82
71	6.4	876.54	295.42	49.9
72	9	876.53	297.35	70.82
73	6.5	928.81	271.35	49.86
74	8.8	757.28	271.34	63.54
75	11.2	767.11	212.36	47.97
76	9.5	720.33	287.64	41.18
77	8.7	771.81	261.97	39.77
78	10.1	506.98	257.43	33.92
79	7.5	456.72	316.42	54.84
80	9.4	527.11	327.67	54.61
81	7.2	601.39	361.52	47.3
82	7.7	864.27	354.93	66.39
83	9.5	710.12	362.94	45.32
84	6.2	626.12	217.74	43.44
85	8.7	635.11	222.48	60.45
86	5.5	772.17	212.78	30.1
87	9.7	768.29	216.54	36.95
88	11	681.32	246.16	50.46
89	8.7	871.22	258.97	58.84
90	7.7	936.51	294.02	24.96
91	9.3	987.42	199.24	27.25
92	8.2	939.61	198.63	36.33
93	7.6	987.34	198.63	40.42
94	12	987.33	238.24	37.1
95	11.6	879.57	194.19	41.41
96	7.8	978.36	197.19	37.23
97	10.5	924.35	196.42	40.42
98	6.5	972.44	161.63	37.1
99	12	978.36	164.73	28.87

ต้นที่	ความสูงต้น (cm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง แทลล์ (µm)	เส้นผ่านศูนย์กลาง ชั้นเมทัลลา (µm)	ขนาดผนังเซลล์ (µm)
100	10.5	797.36	257.03	36.02
ค่าเฉลี่ย	9.6	799.4	250.7	38.2
SD	1.8	158.8	61.1	11.5

2. วิธีการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอาหาร (AOAC, 2000)

2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

หลักการ

ปริมาณความชื้น (Moisture Content) เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณความชื้นเป็นตัวบ่งบอกถึงปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและส่งผลกระทบต่อระยะเวลาในการเก็บรักษาของอาหาร โดยมักใช้ปริมาณความชื้นในการกำหนดราคาซื้อขายที่ยุติธรรมต่อทั้งผู้ซื้อและผู้ขาย เช่น การวัดความชื้นของข้าวเปลือก เพื่อกำหนดราคารับซื้อ หรือควบคุมความชื้นของอาหารผง เช่น นมผง ที่หากมีความชื้นมากไปจะทำให้เกิดการจับตัวกันเป็นก้อนและเกิดการเสื่อมเสียได้ง่าย ในฐานะผู้ซื้อย่อมไม่ต้องการวัตถุดิบหรือสินค้าที่มีความชื้นสูง จึงต้องมีการควบคุมความชื้น เป็นต้น

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีการอบแห้งเป็นการหาน้ำหนักของตัวอย่างอาหารที่หายไปเนื่องจากการระเหยของน้ำที่มีอยู่ในอาหารภายหลังจากการให้ความร้อนแก่อาหารเพื่อระเหยน้ำจนหมดหรืออาจกล่าวได้ว่าปริมาณความชื้น คือ ปริมาณน้ำในอาหารที่ระเหยออกไปภายหลังจากการให้ความร้อนแก่อาหารจนหมด ซึ่งปริมาณความชื้นที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้นอกจากน้ำแล้วยังรวมถึงสารประกอบอื่น ๆ ที่ระเหยได้ (volatile matter) เช่น กรดบางชนิดหรือน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีการอบแห้งสามารถแบ่งได้เป็นหลายวิธีตามลักษณะของเครื่องมือที่ใช้ในการให้ความชื้น เช่น การอบแห้งโดยใช้ตู้อบไฟฟ้า (Air Over Method) ตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ (Vacuum Over Method) การอบแห้งด้วยไมโครเวฟ (Microwave Over Method) รังสีอินฟราเรด (Infrared drying) และฮาโลเจน (Halogen drying) นอกจากนี้ใช้การอบแห้งแล้วยังสามารถวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในอาหารได้โดยวิธีการอื่น เช่น การกลั่นหรือไทเทรต เป็นต้น

การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยวิธีอบแห้งในตู้อบไฟฟ้าเป็นการใช้ความร้อนแบบลมร้อนในการทำให้ระเหยออกจากตัวอย่าง โดยเมื่อความร้อนสัมผัสกับอาหารความร้อนจากอากาศจะถูก

ถ่ายเทไปยังผิวของชิ้นอาหารและทำให้น้ำในอาหารเปลี่ยนสถานะจากของเหลวกลายเป็นไอ ไอน้ำจะแพร่ผ่านชั้นของอาหารและถูกพาออกไปพร้อมกับการเคลื่อนที่ของอากาศร้อน ทำให้ความดันไอของอากาศที่ผิวของอาหารลดลง เกิดความแตกต่างของความดันไอน้ำของความชื้นในอาหารกับอากาศร้อน ซึ่งเป็นแรงผลักดันทำให้น้ำในอาหารระเหยออกมา ข้อดีของการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ คือ สามารถตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างพร้อมได้จำนวนมากและใช้กับตัวอย่างที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนข้อเสียของการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ คือ ใช้เวลานาน และตัวอย่างอาจดูความชื้นจากอากาศภายหลัง การทำแห้งก่อนที่จะนำไปชั่งน้ำหนักอาจส่งผลที่คลาดเคลื่อนจากความเป็นจริง นอกจากนี้การให้ความร้อนสูงเกินไปอาจทำให้ตัวอย่างเสียสภาพได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบวิธีการและเรียนรู้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นของอาหารโดยวิธีอบแห้งในตู้อบไฟฟ้า (Air Over Method)
2. เพื่อทราบปริมาณความชื้นของอาหารชนิดต่าง ๆ และเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของแต่ละชั้น

วิธีการทดลอง

1. อบอุ่นสำหรับหาปริมาณความชื้นพร้อมฝาในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลานาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น วางทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนักและบันทึกผล
2. อบอุ่นอะลูมิเนียมช้อนเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักที่ได้
3. เตรียมตัวอย่างที่บดจนมีขนาดเล็กเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวทำให้ระเหยน้ำได้ง่าย
4. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 3-4 กรัม (บันทึกเป็นน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ) ใส่ในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (ทำซ้ำตัวอย่าง 3 ซ้ำ)
5. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้า โดยเปิดภาชนะ ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา ปิดฝาภาชนะ นำออกจากตู้อบและวางไว้ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงจนเท่าอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนักบันทึกผล
6. นำไปอบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักที่ได้

7. คำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% น้ำหนัก)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลัง}) (\text{กรัม}) \times 100}{\text{น้ำหนักก่อนอบ(กรัม)}}$$

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

หลักการ

เถ้า คือ สารประกอบอนินทรีย์ที่เหลือจากการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงเผาอาหารเพื่อสลายสารประกอบอินทรีย์ในอาหารให้หมดไป ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในอาหารจะเผาทำลายสารอินทรีย์ (organic matter) ซึ่งปริมาณเถ้าในอาหารสามารถบ่งบอกถึงปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ที่มีอยู่ในอาหาร เช่น การผลิตแป้งสาลีที่มีการเติมแร่เหล็ก การวิเคราะห์หาปริมาณแร่เหล็กในแป้งจะต้องเผาแป้งให้เป็นเถ้าก่อนจะนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแร่เหล็กต่อไป แต่ทั้งนี้เนื่องจากอาจมีส่วนประกอบของแร่ธาตุบางชนิดสูญหายไปจากการระเหยขณะเผาด้วยความร้อนสูง นอกจากนี้ปริมาณเถ้ายังเป็นเครื่องบ่งชี้คุณภาพของอาหารบางชนิดได้ โดยสามารถใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนของแร่ธาตุในอาหารซึ่งโดยทั่วไปปริมาณเถ้าในอาหารแต่ละชนิดค่อนข้างคงที่ หากพบว่าปริมาณเถ้าในอาหารสูงผิดปกติ แสดงว่าอาจมีการปลอมปนในอาหาร เช่น การปนเปื้อนของทรายในข้าว เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบวิธีการและเรียนรู้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในอาหาร
2. เพื่อทราบปริมาณเถ้าที่มีอยู่ในอาหารแต่ละชนิด

วิธีการทดลอง

1. เเผด้วยกระบี่อบเคลือบพร้อมฝาในเตาอบที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทซ์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-35 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาลดลง จากนั้นนำถ้วยกระบี่อบออกจากเตาเผา ใส่ในโถดูดความชื้น วางทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนักบันทึกผล
2. เเผด้วยกระบี่อบเคลือบซ้ำอีกครั้ง 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักที่ได้
3. เตรียมตัวอย่างที่บดแล้ว ชั่งน้ำหนักให้ได้ประมาณ 3-4 กรัม (บันทึกเป็นน้ำหนักก่อนเผา) ใส่ในถ้วยกระบี่อบเคลือบที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (ทำซ้ำตัวอย่างทั้ง 3 ซ้ำ)

4. นำถ้วยกระเบื้องที่ใส่ตัวอย่างไปเผาที่อุณหภูมิ 550 °C จนกระทั่งหมดควันและตัวอย่างเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทาอ่อน

5. เมื่อครบกำหนดเวลาปิดสวิทช์ แล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิในเตาลดลง จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผานำไปใส่ในโถดูดความชื้น โดยปิดฝาแต่ละตัวอย่าง ปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนักบันทึกผล

6. นำไปบดซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักที่ได้

7. คำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (\% น้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา(กรัม)}}$$

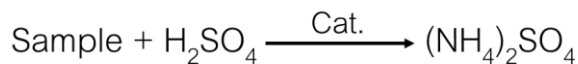
2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน

หลักการ

โปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหารจึงทำได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีในอาหาร แล้วคูณด้วยค่าแฟคเตอร์ (F) ซึ่งการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธีเจลดดาห์ล (Kjeldahl Method) ประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 3 ขั้นตอนหลัก คือ ขั้นตอนการย่อย การกลั่นและการไทเทรต

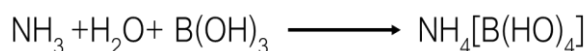
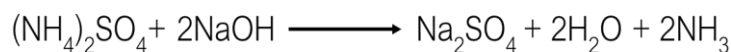
2.3.1 ขั้นตอนการย่อย (Digestion)

โปรตีนขั้นตอนการเปลี่ยนสารประกอบไนโตรเจนที่มีในอาหารให้อยู่ในรูปของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ โดยต้มตัวอย่างอาหารในกรดซัลฟิวริกเข้มข้น (H_2SO_4) ที่อุณหภูมิสูงและเร่งปฏิกิริยา ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) เช่น ทองแดง (Cu) ซีลีเนียม (Se) หรือปรอท (Hg) เพื่อให้ตัวอย่างถูกย่อยได้เร็วขึ้น เติมนโปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) เพื่อเพิ่มจุดเดือดของกรดซัลฟิวริก ซึ่งหลังจากการย่อยไนโตรเจนในตัวอย่างอาหารจะถูกเปลี่ยนไปอยู่ในรูปเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต



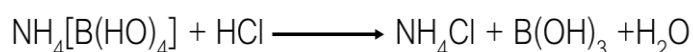
2.3.2 ขั้นตอนการกลั่น (Distillation)

เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนแอมโมเนียมซัลเฟตไปเป็นก๊าซแอมโมเนีย (NH_3) และกลั่นเก็บในสารละลายกรดบอริก (Boric acid) เพื่อนำไปไทเทรตหาปริมาณไนโตรเจนต่อไป โดยนำสารละลายใสที่ได้จากการย่อยมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) แอมโมเนียมซัลเฟตจะถูกดเปลี่ยนในสภาพเป็นเบส อยู่ในรูปของก๊าซแอมโมเนียมที่ระเหยได้ นำมากลั่นเพื่อก๊าซแอมโมเนียมออกมาดักจับก๊าซแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดบอริกเพื่อนำไปไทเทรตหาปริมาณไนโตรเจนต่อไป



2.3.3 ขั้นตอนการไทเทรต (Titration)

ไทเทรตหาปริมาณไนโตรเจน โดยนำสารละลายกรดบอริกที่จับก๊าซแอมโมเนียไว้มาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน โดยใช้ mixed indicator เป็น indicator ซึ่งแอมโมเนีย 1 โมลจะทำปฏิกิริยาพอดีกับไฮโดรคลอริก 1 โมล



ซึ่งปริมาณสารละลายมาตรฐานกรดที่ใช้ในการไทเทรต สามารถคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดได้ และคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยนำปริมาณไนโตรเจนที่ได้มาคูณด้วยแฟกเตอร์ (Conversion factor, F) อย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนที่คำนวณได้จะสูงกว่าค่าที่เป็นจริงเสมอ ทั้งนี้เนื่องจากการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนโดยวิธีการคำนวณเจลดาล์สนั้นจะมีสารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ ที่ไม่ใช่โปรตีนรวมอยู่ด้วย ดังนั้นโปรตีนที่ได้จากการวิเคราะห์โดยวิธีนี้เป็น crude protein หรือโปรตีนหยาบ

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบวิธีการและเรียนรู้เทคนิควิธีวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในอาหาร
2. เพื่อทราบปริมาณโปรตีนที่มีในตัวอย่างอาหาร

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน 1-5 กรัม (ขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง ถ้าตัวอย่างมีปริมาณโปรตีนมากให้ใช้ตัวอย่างน้อย) ใส่ลงในหลอดย่อย (kjeldahl flask) เติม mixed catalyst ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ อัตราส่วน 1:10) จำนวน 10 กรัม (CuSO_4 0.91 กรัม, K_2SO_4 9.09 กรัม) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร และใส่ Boiling chip 2-3 เม็ด (การเติมกรดซัลฟิวริกให้ทำในตู้ดูดควัน โดยนำหลอดย่อยใส่ใน insert rack นำไปเตรียมในตู้ดูดควัน)

2. นำ insert rack ที่มีหลอดย่อยวางครบทุกช่องวางประกอบเข้ากับเครื่องย่อย และเปิดเครื่องกำจัดไอน้ำ ตั้งอุณหภูมิในการย่อยตัวอย่างที่อุณหภูมิ 150 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250 °C ทำการย่อยตัวอย่างจนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 30 นาที รอให้ไอน้ำถูกดูดไปจนหมดและทิ้งไว้ให้เย็น

3. เปิดน้ำเข้าเครื่องกลั่น เปิดสวิทซ์เครื่องกลั่น รอสัญญาณที่เครื่องเปลี่ยนจาก H เป็น P

4. ตรวจสอบปริมาณน้ำกลั่นและสารละลาย NaOH 15% ในถัง ตลอดจนสายน้ำกลั่นและสาย NaOH ว่าจุ่มในถังถูกต้องหรือไม่ กดปุ่ม H_2O และ NaOH ให้น้ำกลั่นและสารละลาย NaOH ไหลเต็มสาย โดยอาจใช้หลอดย่อยโปรตีนรองรับ

5. เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อยที่วางทิ้งไว้จนเย็นแล้วประมาณ 75 mL ให้ปริมาตรรวมในหลอดเท่ากับ 100 mL จากนั้นหลอดย่อยมาต่อเข้ากับเครื่องกลั่น

6. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 mL ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกเข้มข้น 4% ปริมาตร 25 mL หยด mixed indicator 2-3 หยด วางไว้ที่ตำแหน่งรองรับเครื่องกลั่น โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจมอยู่ในสารละลาย

7. ตั้ง program เครื่องกลั่น โดย

- กด program
- Step 1 เติมน้ำกลั่น (น้ำกลั่นไหลประมาณ 10 mL/วินาที) หากเติมน้ำกลั่นข้างนอกเองตั้งเป็น 0
- Step 2 เติมสารโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40% 50 mL ตั้งเวลาประมาณ 7 วินาที (สารละลาย NaOH ไหลประมาณ 10 mL/วินาที)
- Step 3 รอทำปฏิกิริยา ไม่ต้องตั้งค่า เวลาเป็น 0

- Step 4 การกลั่น ตั้งเวลาประมาณ 7 นาที (420 วินาที)

Steam ตั้งเวลา 70 วินาที

- Step 5 ดูดทิ้ง ตั้งเวลา 30 วินาที

8. กด Run เครื่องจะเริ่มทำงานตาม step ที่ตั้งโปรแกรมไว้ โดยที่ Step 2 เมื่อเติมสารละลาย NaOH ลงไป สารละลายในหลอดจะเปลี่ยนจากสารละลายสีเขียวใสเป็นสีดำหรือสีน้ำเงินเข้ม หากสารละลายไม่เปลี่ยนสีให้เติมสารละลาย NaOH เพิ่มโดยกดปุ่ม NaOH จนสารละลายในหลอดค่อยเปลี่ยนสีเป็นสีดำหรือสีน้ำเงินเข้ม

9. หลังกลั่นเสร็จเครื่องจะหยุดทำงาน นำหลอดย่อยสารละลายกรดบอริกในขวดรูปชมพู่ออก ล้างส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในภาชนะรองรับ และกลั่นล้างระบบทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนตัวอย่าง โดยใส่น้ำกลั่นในหลอดย่อยแล้วทำการกลั่นจะไม่เติมต่างประมาณ 3 นาที (วางขวดรูปชมพู่เปล่าในตำแหน่งที่รองรับ)

10. ไทเทรตสารละลายกรดบอริกด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู (ทำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

11. ทำ blank ตามวิธีข้อ 1-10 โดยไม่ใส่ตัวอย่าง (หลังกลั่น blank ไม่เปลี่ยนสี)

12. หลังกลั่นตัวอย่างหลังกลั่นตัวอย่างสุดท้ายเสร็จ ให้ล้างส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่น และกลั่นล้างระบบเช่นเดียวกับข้อ 9 พร้อมเช็คทำความสะอาดเครื่องทั้งหมด

13. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนจากสูตร

$$\text{ปริมาณไนโตรเจน (\%น้ำหนัก)} = \frac{(A-B) \times N \text{ HCl} \times 14.007 \times 100}{\text{Wt. sample} \times 1000}$$

ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = ปริมาณไนโตรเจน × F

A คือ ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (mL)

B คือ ปริมาณสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรต blank (mL)

N คือ ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

Wt คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

F คือ แฟคเตอร์ (Conversion factor)

14.007 คือ น้ำหนักสมมูลของไนโตรเจน

2.4 การวิเคราะห์ไขมัน

หลักการ

ไขมันเป็นส่วนหนึ่งที่พบในอาหารแทบทุกประเภท มีบทบาทสำคัญในการกำหนดลักษณะทางกายภาพของอาหาร เช่น กลิ่นรส (flavour), เนื้อสัมผัส (texture) และความรู้สึกในปาก (mouth feel) นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร ซึ่งสาเหตุที่ทำให้อาหารเกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงปรารถนา (off-flavour) ได้

เนื่องจากไขมันมีสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในอาหารจึงแยกสกัดไขมันออกจากตัวอย่างอาหารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ เช่น บีโตนีลียมอีเทอร์ (petroleum ether) หรือไดเอทิลอีเทอร์ (diethyl ether) ซึ่งตัวอย่างอาหารนำมาวิเคราะห์จะต้องเป็นตัวอย่างที่แห้ง เนื่องจากจะขัดขวางการชะไขมันออกจากตัวอย่างของตัวทำละลาย ทำให้สกัดไขมันได้ไม่ดี และตัวอย่างต้องบดละเอียดเพื่อเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสกับตัวทำละลาย โดยการสกัดจะใช้เวลามากหรือน้อยขึ้นกับปริมาณไขมันในตัวอย่าง ภายหลังจากการสกัดนำไประเหยแยกตัวทำละลายออกสารสกัดที่ได้เรียกว่า ether extracted หรือ crude fat ซึ่งจะมีสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่ไขมัน เช่น เม็ดสีต่าง ๆ หรือ วิตามิน ที่ละลายในไขมันปนอยู่ด้วย แต่มีปริมาณน้อยมากเมื่อเทียบกับสารที่เป็นไขมัน อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีนี้ไม่สามารถสกัดไขมันที่อยู่ในรูปที่เป็นสารเชิงซ้อนกับโปรตีนหรือคาร์โบไฮเดรต เช่น lipoprotein หรือ glycoproteins ออกมาได้ จะต้องย่อยสลายพันธะที่เชื่อมโยงต่อไขมันกับโมเลกุลเหล่านี้ก่อนออกจากกัน ซึ่งอาจใช้วิธีการย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) เพื่อปลดปล่อยไขมันให้อยู่ในรูปที่สารละลายอินทรีย์สามารถออกมาได้ง่าย ซึ่งจะช่วยให้ประสิทธิภาพของการสกัดไขมันได้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อทราบวิธีการและเรียนรู้เทคนิคการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่างด้วยเครื่องสกัดไขมัน
2. เพื่อทราบถึงปริมาณไขมันที่มีอยู่ในตัวอย่าง

วิธีการทดลอง

1. อบถ้วยพร้อมลูกแก้วที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยพร้อมลูกแก้ว
3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ใส่กระดาษกรอง 1-2 กรัม ท่อให้หมดขีด ใส่ในใส่กรอง (thimble) ที่เตรียมไว้ใส่ในเครื่อง Soxhlet
4. นำถ้วยพร้อมลูกแก้วที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้วมาเติมปิโตรเลียม อีเทอร์ ประมาณ ¾
5. เปิดเครื่องปรับอุณหภูมิที่ 130 °C เปิดน้ำเข้าเครื่อง เปิดวาล์ว เลื่อนปุ่มไปที่ Boiling ต้มให้เดือด 45 นาที
6. เลื่อนปุ่มไปที่ washing เพื่อล้างตัวอย่าง 10 นาที
7. ปิดวาล์ว เปิดสวิตช์อากาศ เลื่อนปุ่มไปที่ Recover เพื่อล้างให้สารละลายออกไป 5 นาที
8. ปิดเครื่อง อากาศและน้ำ แล้วเลื่อนปุ่ม Recover กลับที่เดิม นำถ้วยออกจากเครื่อง แล้วนำไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 1 คืน
9. นำถ้วยออกใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำชั่งน้ำหนัก

การวิเคราะห์ไขมัน

$$\text{การคำนวณ \% ไขมัน} = \frac{(b-a) \times 100}{W}$$

a= น้ำหนักของบีกเกอร์ (Aluminum extraction beaker)

b= น้ำหนักของบีกเกอร์ (Aluminum extraction beaker) และไขมันหลังการอบ

W= น้ำหนักตัวอย่าง

2.5 การวิเคราะห์เยื่อใย

หลักการ

เยื่อใย คือส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ยาก ซึ่งเป็นส่วนของผนังเซลล์พืช ประกอบด้วย เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (แต่ลิกนินไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต) สารเหล่านี้ทนต่อการย่อยด้วยกรด

และต่าง การวิเคราะห์หาเยื่อใย ทำได้โดยการนำอาหารที่สกัดเอาไขมันออกแล้ว มาต้มกับกรดอย่างอ่อน ๆ โดยสารอินทรีย์ที่เหลือ เรียกว่า โปรตีน แป้ง น้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตบางอย่างจะละลายในกรดและต่าง ส่วนกากหรือสารอินทรีย์ที่เหลือ เรียกว่าเยื่อใย ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยเซลลูโลส นอกจากนี้ยังมี เฮมิเซลลูโลส และลิกนินรวมอยู่ด้วยเล็กน้อย

วัตถุประสงค์

สามารถใช้อุปกรณ์ เครื่องมือ และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์เยื่อใยในวัตถุดิบหรืออาหารสัตว์น้ำได้

วิธีการทดลอง

1. นำถ้วยกุชครูซิเบลไปอบที่อุณหภูมิ 135 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (ถ้าถ้วยกุชครูซิเบลสกปรกมากให้นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 °C ประมาณ 3 ชั่วโมง)
2. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1-2 กรัม (เป็นตัวอย่างที่ผ่านการสกัดไขมัน) ในถ้วยกุชครูซิเบล แล้วนำมาวางต่อกับเครื่องย่อยเยื่อใย เลื่อนคันโยกด้านหน้า ไปที่ตำแหน่ง closed
3. เติมสารละลายกำมะถันเข้มข้น 1.25% ที่อุณหภูมิบนเครื่องทำความร้อนประมาณ 150 mL หยด ออกทานอล 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองขณะเดือด
4. เปิดเครื่องหล่อเย็นและเครื่องย่อยเยื่อใย เปิดความร้อนจนสุดสเกล และเลื่อนวาล์วทุกตัวให้อยู่ในตำแหน่งปิด ต้มให้สารละลายเดือดเต็มที่ แล้วลดความร้อนลง ต้มนานประมาณ 30 นาที จากนั้นปิดเครื่องแล้วกรองสารละลายออกโดยเลื่อนปุ่มไปที่ vacuum
5. ล้างตัวอย่างด้วยน้ำอุ่น 3 ครั้ง โดยเติมน้ำอุ่นลงไปแล้วเลื่อนปุ่มไปที่ vacuum เพื่อกรองน้ำออกตรวจสอบโดยใช้กระดาษลิตมัสสีม่วง
6. ย่อยตัวอย่างต่อด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 150 mL หยดออกทานอล 2-3 หยด เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองขณะเดือด
7. เปิดเครื่องหล่อเย็นและเครื่องย่อยเยื่อใย เปิดความร้อนจนสุดสเกล และเลื่อนวาล์วทุกตัวให้อยู่ในตำแหน่งปิด ต้มให้สารละลายเดือดเต็มที่ แล้วลดความร้อนลง ต้มนานประมาณ 30 นาที จากนั้นปิดเครื่องแล้วกรองสารละลายออกโดยเลื่อนปุ่มไปที่ vacuum
8. ล้างตัวอย่างด้วยน้ำอุ่น 3 ครั้ง โดยเติมน้ำอุ่นลงไปแล้วเลื่อนปุ่มไปที่ vacuum เพื่อกรองน้ำออก

9. ย้ายถ้วยกระดาษที่เคลือบที่ชุดสกัดเย็น ล้างตัวอย่างด้วยอะซิโตน

10. นำถ้วยกระดาษที่เคลือบที่อุณหภูมิ 135 °C นาน 30 นาที และวางไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น บันทึกน้ำหนัก

11. นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง วางไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วบันทึกน้ำหนัก

การคำนวณหาเยื่อใย

$$\text{เยื่อใย (\%)} = \frac{(W_2 - W_3) \times 100}{W_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_2 = น้ำหนักถ้วยกระดาษที่เคลือบและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

W_3 = น้ำหนักถ้วยกระดาษที่เคลือบและน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย *G. tenuistipitata*

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน. ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง เผา (g)	นน.ตัวอย่าง หลังเผา (g)	ปริมาณเถ้า (% นน.)
1	23.4615	1.0580	23.5627	0.1012	9.5652
2	24.8101	1.0606	24.9090	0.0989	9.4003
3	22.9869	1.0568	23.0826	0.0957	9.0556
ค่าเฉลี่ย					9.3404
SD					0.26

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย *G. fisheri* S1

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน. ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง เผา (g)	นน.ตัวอย่าง หลังเผา (g)	ปริมาณเถ้า (% นน.)
1	24.2709	1.0562	24.4038	0.1329	12.4881
2	26.8489	1.0543	26.9763	0.1274	12.0838
3	25.6351	1.0563	25.7651	0.1300	12.3071
ค่าเฉลี่ย					12.2930
SD					0.20

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าในตัวอย่างสาหร่าย *G. fisheri* S2

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน. ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง เผา (g)	นน.ตัวอย่าง หลังเผา (g)	ปริมาณเถ้า (% นน.)
1	24.2659	1.0804	24.4902	0.2243	20.7608
2	24.1190	1.0888	24.3537	0.2347	21.5558
3	22.7255	1.0853	22.9543	0.2288	21.008
ค่าเฉลี่ย					21.1082
SD					0.41

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย *G. tenuistipitata*

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง อบ (g)	นน.ตัวอย่าง หลังอบ (g)	ปริมาณ ความชื้น (% นน.)
1	14.8241	1.0155	15.7685	0.9444	7.0015
2	13.7650	1.0187	14.7138	0.9488	6.8617
3	13.8957	1.0111	14.8555	0.9598	5.0737
ค่าเฉลี่ย					6.3123
SD					1.07

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย *G. fisheri* S1

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง อบ (g)	นน.ตัวอย่าง หลังอบ (g)	ปริมาณ ความชื้น (% นน.)
1	15.3472	1.0090	16.3209	0.9737	3.4985
2	15.1922	1.0888	16.2327	1.0335	4.6419
3	14.8859	1.0859	15.9035	1.0176	3.9536
ค่าเฉลี่ย					4.0313
SD					0.58

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในตัวอย่างสาหร่าย *G. fisheri* S2

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน.ภาชนะ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ตัวอย่าง+ ภาชนะหลัง อบ (g)	นน.ตัวอย่าง หลังอบ (g)	ปริมาณ ความชื้น (% นน.)
1	15.7650	1.0575	16.1625	0.3975	4.0284
2	15.8957	1.0553	16.3829	0.4872	4.9465
3	14.7957	1.0517	15.8038	1.0081	4.1457
ค่าเฉลี่ย					4.3735
SD					0.50

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่งสำหรับ *G. tenuistipitata*

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน. ปีกเกอร์ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ปีกเกอร์ + ไขมันหลังอบ (g)	นน.ไขมัน (g)	ความชื้น (% นน.)
1	144.7769	3.0342	144.8020	0.0251	0.8272
2	145.3240	0.0575	145.3323	0.0083	0.2715
3	145.3178	3.0833	145.3323	0.0145	0.4703
ค่าเฉลี่ย					0.5230
SD					0.28

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่งสำหรับ *G. fisheri* S1

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน. ปีกเกอร์ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ปีกเกอร์ + ไขมันหลังอบ (g)	นน.ไขมัน (g)	ความชื้น (% นน.)
1	142.4762	3.0510	142.5027	0.0265	0.8685
2	141.9045	3.0380	141.9127	0.0082	0.2699
3	141.8972	3.0174	141.9117	0.0145	0.4805
ค่าเฉลี่ย					0.5397
SD					0.30

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในตัวอย่งสำหรับ *G. fisheri* S2

ตัวอย่าง (ซ้ำที่)	นน. ปีกเกอร์ (g)	นน.ตัวอย่าง (g)	นน.ปีกเกอร์ + ไขมันหลังอบ (g)	นน.ไขมัน (g)	ความชื้น (% นน.)
1	144.8894	3.0504	144.0161	0.0267	0.8752
2	142.8328	3.0662	142.8441	0.0113	0.2680
3	142.8213	3.0403	142.8441	0.0228	0.4769
ค่าเฉลี่ย					0.5400
SD					0.31

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่ายผมนาง *Gracilaria*

Standardization HCl 0.0979 N					
ซ้ำที่	นน. สาร	ปริมาตร HCl1	ปริมาตร HCl2	ค่าที่ได้	
1	0.1335	26.20	0.10	0.0958	
2	0.1326	25.80	0.10	0.0966	
3	0.1325	25.70	0.10	0.0969	
			เฉลี่ย	0.0964	
			SD	0.0006	
ซ้ำที่	ชื่อตัวอย่าง	นน. ตัวอย่าง	ปริมาณ HCl (0.0964 N)	ค่าที่ได้ (% Nitrogen)	ค่าที่ได้ (% protein)
1	B1	0.0000	0.20	0.0000	0.0000
2	B2	0.0000	0.20	0.0000	0.0000
		ค่าเฉลี่ย	0.20		
ซ้ำที่	ชื่อตัวอย่าง	นน. ตัวอย่าง	ปริมาณ HCl (0.0964 N)	ค่าที่ได้ (% Nitrogen)	ค่าที่ได้ (% protein)
1	Whole milk std.	1.5228	40.80	3.6000	22.9681
ชื่อตัวอย่าง	ซ้ำที่	นน. ตัวอย่าง	ปริมาณ HCl (0.0964 N)	ค่าที่ได้ (% Nitrogen)	ค่าที่ได้ (% protein)
<i>G. tenuistipitata</i>	1	3.0061	39.50	1.7653	11.0329
	2	3.0079	39.50	1.7642	11.0263
	3	3.0088	39.40	1.7592	10.9950
			เฉลี่ย	1.7647	11.0181
			SD	0.0007	0.0203

ชื่อตัวอย่าง	ซ้ำที่	นน. ตัวอย่าง	ปริมาณ HCl (0.0964 N)	ค่าที่ได้ (% Nitrogen)	ค่าที่ได้ (% protein)
<i>G. fisheri</i> S1	1	3.0035	50.90	2.2793	14.2457
	2	3.0093	51.30	2.2929	14.3304
	3	3.0071	51.20	2.2900	14.3128
			เฉลี่ย	2.2874	14.2963
			SD	0.0072	0.0447
<i>G. fisheri</i> S2	1	3.0080	58.80	2.6305	16.4408
	2	3.0084	58.70	2.6257	16.4105
	3	3.0016	59.50	2.6676	16.6726
			เฉลี่ย	2.6281	16.5080
			SD	0.0034	0.1434

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยอาหารในตัวอย่างสายพันธุ์สาหร่ายพมมานาง *Gracilaria*

ตัวอย่าง	ซ้ำที่	นน. cru1	นน. cru2	นน. ตัวอย่างแห้ง	นน. ตัวอย่างเปียก	นน.หลัง	นน.หลัง	นน.หักลบ	นน.หลัง	นน.หลัง	นน.เถ้า	% ใยอาหาร	
						ไล่	ไล่		เผา 1	เผา 2			
						ความชื้น	ความชื้น						
						1	2						
<i>G. tenuistipitata</i>	1	29.1267	29.1262	3.0833	3.2910	29.6247	29.6243	0.4981	29.1383	29.1380	0.0118	14.7765	
	2	28.4958	28.4950	3.0342	3.2386	29.0050	29.0045	0.5095	28.5307	28.5303	0.0353	14.6420	
	3	28.9039	28.9035	3.0575	3.2635	29.4068	29.4066	0.5031	28.9185	28.9180	0.0145	14.9716	
												ค่าเฉลี่ย	14.7967
												SD	0.17

ตัวอย่าง	ซ้ำที่	นน. cru1	นน. cru2	นน. ตัวอย่าง แห้ง	นน. ตัวอย่าง เปียก	นน.หลัง ไล่ ความชื้น 1	นน.หลัง ไล่ ความชื้น 2	นน.หัก ลบ	นน.หลัง เผา 1	นน.หลัง เผา 2	นน.เถ้า	% ใยอาหาร
<i>G. fisheri</i> S1	1	28.7522	28.7515	3.0174	3.1403	29.4699	29.4690	0.7175	28.7758	28.7755	0.0240	22.0841
	2	28.5715	28.5698	3.0510	3.1752	29.2935	29.2928	0.7230	28.5923	28.5915	0.0217	22.0866
	3	27.4379	27.4371	3.0380	3.1617	28.1546	28.1540	0.7169	27.4633	27.4628	0.0257	21.8616
											ค่าเฉลี่ย	22.0108
											SD	0.13
<i>G. fisheri</i> S2	1	28.3755	28.3753	3.0403	3.1796	28.8519	28.8516	0.4763	28.3832	28.3830	0.0077	14.7379
	2	29.9076	29.9069	3.0504	3.1901	30.3749	30.3745	0.4676	29.9124	29.9122	0.0053	14.4916
	3	30.9055	30.0940	3.0602	3.2004	30.5719	30.5709	0.4769	30.1060	30.1048	0.0108	14.5639
											ค่าเฉลี่ย	14.5978
											SD	0.13

ค่าความชื้น

<i>G. tenuistipitata</i>	<i>G. fisheri</i> S1	<i>G. fisheri</i> S2
6.3123	3.9126	4.3798
6.3123	3.9126	4.3798
6.3123	3.9126	4.3798

3. วิธีการเตรียมตัวอย่างเพื่อทดสอบปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายและในน้ำ

3.1 วิธีการเตรียมตัวอย่างสาหร่าย

ตัวอย่างสาหร่าย 1 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งน้ำหนักใส่ในบีกเกอร์ Pyrex ขนาด 500 mL เติม HNO_3 10 mL คนให้ตัวอย่างซ้า ๆ หลังจากนั้นเติม 3 mL ของ HClO_4 60% วางบน Hot plate ให้ความร้อนอย่างซ้า ๆ จนกระทั่งฟองจางไป ให้ความร้อนต่อจนกระทั่ง HNO_3 เกือบระเหยจะมีควันสีขาว เกิดขึ้นจึงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ให้ความร้อนต่อจนกว่าไอเป็นสีขาวของ HClO_4 จึงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL โดยการเติม HCl (1+1)

3.2 วิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำ

กรองน้ำ 100 mL เติม HNO_3 3 mL วางบน Hot plate ให้ความร้อนซ้า ๆ จนกระทั่งเหลือปริมาตรน้ำ 50 mL เติม HNO_3 3 mL วางบน Hot plate ให้ความร้อนซ้า ๆ จนกระทั่งเหลือปริมาตรน้ำประมาณ 20 mL จึงวางทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรน้ำด้วยน้ำกลั่น 25 mL นำตัวอย่างน้ำไปตรวจสอบปริมาตรธาตุ

ตารางภาคผนวกที่ 15 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในสายพันธุ์สาหร่าย *Gracilaria*

	ปริมาณ (mg/DW)							
	Cu	Cr	Mn	Fe	Zn	Ca	Pb	Ni
bank	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Std1	0.212	0.091	0.268	0.226	0.234	0.253	0.250	0.256
Std2	0.389	0.171	0.471	0.419	0.360	0.490	0.469	0.356
Std3	0.574	0.240	0.725	0.567	0.561	0.656	0.651	0.467
Std4	0.747	0.324	0.910	0.684	0.699	0.803	0.750	0.562
Std5	1.020	0.404	1.085	0.793	0.910	0.862	0.920	0.632
Std6	1.049	-	1.177	-	-	0.970	1.026	-
<i>G.tenuistipitata</i>	0.063	0.027	7.971	23.42	0.771	0	0.051	0.003
	0.739	0.022	7.941	20.90	0.780	0.003	0.092	0.002
	0.139	0.024	7.998	25.15	0.784	0.009	0.127	0.002
ค่าเฉลี่ย	0.314	0.024	7.967	23.157	0.778	0.004	0.090	0.027
SD	0.370	0.003	0.024	2.137	0.007	0.005	0.038	0.011
<i>G.fisheri</i> S1	0.043	0.012	7.080	3.679	0.627	0.004	0.121	0.016
	0.028	0.007	6.498	2.917	0.732	0	0.067	0.038
	0.037	0.009	7.028	4.006	0.411	0	0.035	0.026
ค่าเฉลี่ย	0.036	0.009	6.869	3.534	0.590	0.001	0.041	0.002
SD	0.008	0.003	0.322	0.559	0.164	0.002	0.024	0.001

	ปริมาณ (mg/DW)							
	Cu	Cr	Mn	Fe	Zn	Ca	Pb	Ni
<i>G. fisheri</i> S2	0.023	0.010	7.492	6.321	0.965	0	0.017	0.002
	0.018	0.003	7.277	5.360	0.757	0	0	0
	0.028	0.008	7.581	8.064	0.397	0	0.010	0.001
ค่าเฉลี่ย	0.023	0.007	7.450	6.582	0.706	0.000	0.009	0.001
SD	0.005	0.004	0.156	1.371	0.287	0.000	0.009	0.001

4. การวัดสี

นำตัวอย่างสาหร่ายสดที่เตรียมไว้ชั่งน้ำให้แห้ง แล้วนำไปใส่ถุงพลาสติกใส วัดสีด้วยเครื่อง Hunter Lab วัดค่าสีของตัวอย่าง อ่านค่าสีโดยใช้ระบบ CIE Lab โดยค่าที่วัดได้จะเป็น L* a* และ b*

ตารางภาคผนวกที่ 16 การวัดสีของสาหร่าย *G.tenuistipitata*

<i>G.tenuistipitata</i>	L*	a*	b*
1	28.47	-0.66	11.99
2	25.89	1.86	6.61
3	26.01	1.76	6.12
4	26.56	1.73	6.15
5	26	1.87	6.07
6	26.31	1.86	7.07
7	24.56	1.89	6.24
8	25.73	1.7	6.81
9	24.79	1.85	6.47
10	26.44	1.86	6.54
11	25.36	1.96	6.33
12	25.99	1.78	7.14
13	26.35	1.75	6.77
14	26.77	1.37	7.61
15	26.94	1.49	7.63
ค่าเฉลี่ย	26.14	1.60	7.04
SD	0.93	0.65	1.46

ตารางภาคผนวกที่ 17 การวัดสีของสาหร่าย *G.fisheri* S1

<i>G.fisheri</i> S1	L*	a*	b*
1	43.34	3.08	20.96
2	43.37	2.58	15.04
3	40.33	3.09	14.83
4	45.53	3.57	18.52
5	43.14	2.93	14.84
6	44.91	2.58	15.22
7	45.39	2.76	13.72
8	45.36	2.23	14.58
9	46.94	3.01	16.75
10	44.86	2.67	16.5
11	46.33	3.4	15.96
12	46.93	3.47	18.29
13	45.06	2.86	15.8
14	43.94	2.02	16.28
15	46.53	4.13	19.62
ค่าเฉลี่ย	44.80	2.96	16.46
SD	1.76	0.54	2.04

ตารางภาคผนวกที่ 18 การวัดสีของสาหร่าย *G.fisheri* S2

<i>G. fisheri</i> S2	L*	a*	b*
1	31.83	1.69	12.87
2	37.04	2.3	16.49
3	35.05	1.38	14.06
4	29.7	0.08	12.11
5	35.05	0.97	12.06
6	29.7	1.87	14.75
7	31.35	1.76	14.57
8	29.42	2.91	18.32
9	33.52	2.02	14.58
10	37.1	1.89	14.63
11	33.29	1.6	14.37
12	33.94	3.27	19.75
13	39.54	2.43	15.47

<i>G. fisheri</i> S2	L*	a*	b*
14	34.38	1.68	14.83
ค่าเฉลี่ย	32.97	1.88	14.71
SD	3.92	0.77	2.21

ภาคผนวก 2

การศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียของสาหร่าย
Gracilaria fisheri S1

1. สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย

ตารางภาคผนวกที่ 19 สูตรอาหาร MGM (Modified Guillard's Medium) ที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย
Gracilaria fisheri S1 โดยใช้อัตรา 1 mL/น้ำ 1 L

Chemical	MW	Mol/L	Chemical/L
NaNO ₃	84.99	0.1	42.5g
Na ₂ H ₂ PO ₄	141.96	30	4.26
FeSO ₄	151.91	1	0.15
Na ₂ EDTA (C ₁₀ H ₁₄ O ₈ Na ₂ .2H ₂ O)	372.24	500	37.2
MnCl ₂	125.84	1mol	0.01258mg

2. การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1

ตารางภาคผนวกที่ 20 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็มที่
แตกต่างกัน

ความเค็ม (ppt)	สัปดาห์							
	0	1	2	3	4	5	6	7
10								
ซ้ำ 1	0.7	0.91	2.04	2.88	4.73	8.92	12.77	15.46
ซ้ำ 2	0.7	0.87	2.01	2.33	3.87	7.98	12.11	14.35
ซ้ำ 3	0.7	0.81	1.98	2.71	3.78	7.65	10.53	15.11
ค่าเฉลี่ย	0.70	0.86	2.01	2.64	4.13	8.18	11.80	14.97
SD	0.00	0.05	0.03	0.28	0.52	0.66	1.15	0.57
20								
ซ้ำ 1	0.7	1.13	2.45	3.27	6.49	10.51	14.11	18.32
ซ้ำ 2	0.7	1.01	1.89	3.33	5.68	8.96	14.67	16.59
ซ้ำ 3	0.7	0.98	2.31	3.42	6.01	9.87	12.11	18.76

ความเค็ม (ppt)	สัปดาห์							
	0	1	2	3	4	5	6	7
ค่าเฉลี่ย	0.70	1.04	2.22	3.34	6.06	9.78	13.63	17.89
SD	0.00	0.08	0.29	0.08	0.41	0.78	1.35	1.15
30								
ซ้ำ 1	0.7	1.19	2.11	3.89	5.81	12.14	16.35	20.72
ซ้ำ 2	0.7	2.11	2.15	3.56	5.44	11.62	15.98	22.04
ซ้ำ 3	0.7	1.46	2.02	4.01	5.21	12.78	16.61	19.27
ค่าเฉลี่ย	0.70	1.59	2.09	3.82	5.49	12.18	16.31	20.68
SD	0.00	0.47	0.07	0.23	0.30	0.58	0.32	1.39

ตารางภาคผนวกที่ 21 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่แตกต่างกัน

แสง ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	สัปดาห์							
	0	1	2	3	4	5	6	7
20								
ซ้ำ 1	0.7	0.88	1.24	2.93	5.21	8.96	11.43	16.26
ซ้ำ 2	0.7	0.71	1.58	2.65	5.83	7.54	10.98	14.21
ซ้ำ 3	0.7	0.92	1.43	2.61	4.98	9.36	10.11	16.43
ค่าเฉลี่ย	0.70	0.84	1.42	2.73	5.34	8.62	10.84	15.63
SD	0.00	0.11	0.17	0.17	0.44	0.96	0.67	1.24
40								
ซ้ำ 1	0.7	0.95	2.58	5.11	8.32	11.87	14.23	18.61
ซ้ำ 2	0.7	0.77	2.78	4.31	8.67	10.22	15.67	19.42
ซ้ำ 3	0.7	0.86	2.66	5.32	8.54	11.76	14.32	18.53
ค่าเฉลี่ย	0.70	0.86	2.67	4.91	8.51	11.28	14.74	18.85
SD	0.00	0.09	0.10	0.53	0.18	0.92	0.81	0.49
60								
ซ้ำ 1	0.7	1.15	3.53	5.89	8.54	13.26	18.61	21.01
ซ้ำ 2	0.7	0.87	2.45	5.78	8.01	12.33	18.67	20.11
ซ้ำ 3	0.7	1.02	3.02	6.12	7.65	14.1	19.24	22.2
ค่าเฉลี่ย	0.70	1.01	3.00	5.93	8.07	13.23	18.84	21.11
SD	0.00	0.14	0.54	0.17	0.45	0.89	0.35	1.05

ตารางภาคผนวกที่ 22 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์

คาร์บอนไดออกไซด์ (%)	สัปดาห์				
	0	1	2	3	4
0					
ซ้ำ 1	0.7	1.77	3.49	6.31	7.12
ซ้ำ 2	0.7	1.48	3.48	5.30	6.42
ซ้ำ 3	0.7	1.36	2.32	5.42	7.54
ค่าเฉลี่ย	0.70	1.54	3.10	5.68	7.03
SD	0.00	0.21	0.67	0.55	0.57
1					
ซ้ำ 1	0.7	1.52	1.90	2.73	1.14
ซ้ำ 2	0.7	1.16	1.75	2.84	1.77
ซ้ำ 3	0.7	1.46	1.63	2.73	2.15
ค่าเฉลี่ย	0.70	1.38	1.76	2.77	1.69
SD	0.00	0.19	0.14	0.06	0.51

ตารางภาคผนวกที่ 23 การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงด้วยการเพิ่มฮอร์โมนพืช

ชนิดฮอร์โมนพืช (mg/L)	สัปดาห์			
	0	1	2	3
0				
ซ้ำ 1	0.7	0.93	2.01	2.81
ซ้ำ 2	0.7	0.98	2.41	3.02
ซ้ำ 3	0.7	0.89	2.06	3.67
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.93	2.16	3.17
SD	0	0.05	0.22	0.45
Auxin 0.05				
ซ้ำ 1	0.7	0.89	0.82	0.62
ซ้ำ 2	0.7	0.91	1.99	0.54
ซ้ำ 3	0.7	0.87	1.09	0.49
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.89	1.30	0.55
SD	0	0.02	0.61	0.07

ชนิดฮอร์โมนพืช (mg/L)	สัปดาห์			
	0	1	2	3
Auxin 0.10				
ซ้ำ 1	0.7	0.93	1.78	0.61
ซ้ำ 2	0.7	0.89	1.27	0.32
ซ้ำ 3	0.7	0.96	1.22	0.51
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.93	1.42	0.48
SD	0	0.04	0.31	0.15
Auxin 0.50				
ซ้ำ 1	0.7	0.93	1.1	0.24
ซ้ำ 2	0.7	0.88	0	0
ซ้ำ 3	0.7	0.86	0.45	0.16
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.89	0.52	0.13
SD	0	0.04	0.55	0.12
6-benzyladenine 0.05				
ซ้ำ 1	0.7	0.91	1.14	0.51
ซ้ำ 2	0.7	0.87	1.1	0.26
ซ้ำ 3	0.7	0.81	1	0.31
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.86	1.08	0.36
SD	0	0.05	0.07	0.13
6-benzyladenine 0.10				
ซ้ำ 1	0.7	0.86	1.24	0.71
ซ้ำ 2	0.7	0.82	1.97	0.82
ซ้ำ 3	0.7	0.87	1.24	0.6
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.85	1.48	0.71
SD	0	0.03	0.42	0.11
6-benzyladenine 0.50				
ซ้ำ 1	0.7	0.82	0.75	0.31
ซ้ำ 2	0.7	0.79	0.25	0.11
ซ้ำ 3	0.7	0.82	0.23	0.17
ค่าเฉลี่ย	0.7	0.81	0.41	0.20
SD	0	0.02	0.29	0.10

ตารางภาคผนวกที่ 24 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 10 ppt

ต้นที่	สัปดาห์			
	0	2	4	6
1	1.5	3	5.3	12
2	2	2	3.5	10
3	2	3	3	12
4	2	3	3.5	13
5	2.3	5	2.3	12
6	2	3	5.5	12
7	2.2	4.2	6.2	12
8	2	3	4.3	12
9	2.1	3.3	4.4	12
10	1.8	5.6	5.5	13
11	2	5.3	4.2	12
12	2.5	5.2	4.3	13
13	2	5.3	4.8	16
14	2	5	4.7	18
15	2.3	3	3.6	18
16	1.9	3.6	3.9	17
17	2.1	3.5	3.8	9
18	2	3.8	4.2	9
19	2	2.8	7.3	9
20	2	4	6.4	9
21	2	5	4.2	9
22	2.3	3.1	3.5	5
23	2	3	6.3	8
24	2	3.2	4.2	7
25	2.1	5	4.3	8
26	2	4	3.5	5
27	1.8	2.5	4.5	17
28	1.9	2	5.4	14
29	1.8	2.2	5.1	15
30	2	2.6	5.2	13
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	3.6±1.1	4.6±1.1	11.7±3.5

ตารางภาคผนวกที่ 25 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 20 ppt

ต้นที่	สัปดาห์			
	0	2	4	6
1	1.5	5.3	5.7	18
2	2	3.2	5.5	14
3	2	5	5.8	18
4	2	5.5	8.3	16
5	2.3	5.2	7.2	14.2
6	2	6.5	9.6	14.3
7	2.2	8.9	6.4	13.2
8	2	6.1	4.5	12.3
9	2.1	8.2	5.6	12.4
10	1.8	5.6	8.6	12.3
11	2	5.7	8.6	12.5
12	2.5	7.3	9	14.1
13	2	6.4	8	14.2
14	2	7	8.1	14.1
15	2.3	6.5	3.8	9.8
16	1.9	4	7.2	10.6
17	2.1	4.1	7.3	12.3
18	2	4.8	7.2	27
19	2	5	6	25
20	2	7.2	6.4	22
21	2	8	10.1	29.2
22	2.3	6.3	9	28.6
23	2	4.3	9.1	27.3
24	2	4	9.2	23.5
25	2.1	4.3	7.5	14.1
26	2	4.2	6	19.6
27	1.8	3	5.6	14.5
28	1.9	4.5	9.1	13.2
29	1.8	8.2	5.6	18.3
30	2	4	7.1	12.5
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	5.6±1.6	7.2±1.6	16.9±5.7

ตารางภาคผนวกที่ 26 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายในความเค็ม 30 ppt

ต้นที่	สัปดาห์			
	0	2	4	6
1	1.5	5.3	8	19
2	2	3.2	8.2	22
3	2	5.7	7.4	24
4	2	4.3	4.2	26
5	2.3	6	7.4	25
6	2	6	5.1	26
7	2.2	6	8.9	25
8	2	7.3	9.3	32
9	2.1	8.2	11.1	16
10	1.8	8.1	11.6	17
11	2	8.3	12.1	19
12	2.5	8.4	10.1	20
13	2	6.4	9.8	20
14	2	7	9.7	18.6
15	2.3	6.5	7	19.8
16	1.9	7	6.7	12.1
17	2.1	6.7	8.1	12.1
18	2	7.1	9.5	12.5
19	2	7.3	9.4	16
20	2	7.2	9.3	14.4
21	2	8	7.3	14.3
22	2.3	6.3	7.8	14.6
23	2	4.3	6.5	15
24	2	5.8	6.7	14.3
25	2.1	5.5	8.7	14.4
26	2	7.3	7.9	14.2
27	1.8	7.1	8.6	14.5
28	1.9	7.4	8.3	15
29	1.8	8.2	7	22
30	2	4	7.6	28
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	6.5±1.4	8.3±1.7	18.8±5.3

ตารางภาคผนวกที่ 27 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $20 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

ต้นที่	สัปดาห์			
	1	2	3	4
1	1.5	3	5.3	12
2	2	2	3.5	10
3	2	3	3	12
4	2	3	3.5	13
5	2.3	5	2.3	12
6	2	3	5.5	12
7	2.2	4.2	6.2	12
8	2	3	4.3	12
9	2.1	3.3	4.4	12
10	1.8	5.6	5.5	13
11	2	5.3	4.2	12
12	2.5	5.2	4.3	13
13	2	5.3	4.8	16
14	2	5	4.7	18
15	2.3	3	3.6	18
16	1.9	3.6	3.9	17
17	2.1	3.5	3.8	9
18	2	3.8	4.2	9
19	2	2.8	7.3	9
20	2	4	6.4	9
21	2	5	4.2	9
22	2.3	3.1	3.5	5
23	2	3	6.3	8
24	2	3.2	4.2	7
25	2.1	5	4.3	8
26	2	4	3.5	5
27	1.8	2.5	4.5	17
28	1.9	2	5.4	14
29	1.8	2.2	5.1	15
30	2	2.6	5.2	13
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	3.6±1.1	4.6±1.1	11.7±3.5

ตารางภาคผนวกที่ 28 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $40 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

ต้นที่	สัปดาห์			
	1	2	3	4
1	1.5	5.3	5.7	8.9
2	2	3.2	5.5	9.3
3	2	5	5.8	8.6
4	2	5.5	3.3	13.2
5	2.3	5.2	6	18.5
6	2	6.5	4	19.1
7	2.2	8.9	9.4	20.5
8	2	6.1	5.1	29.2
9	2.1	8.2	5.3	19
10	1.8	5.6	4.9	12
11	2	5.7	4.2	15
12	2.5	7.3	4.3	15
13	2	6.4	5.1	18.3
14	2	7	7.3	16.4
15	2.3	6.5	6.4	9.8
16	1.9	4	7.2	9
17	2.1	4.1	6	10.5
18	2	4.8	6.1	17.1
19	2	5	6.2	19
20	2	7.2	6.2	14
21	2	8	11	14
22	2.3	6.3	9	14
23	2	4.3	9.1	14
24	2	4	9.2	15.3
25	2.1	4.3	7.5	14
26	2	4.2	6.7	14
27	1.8	3	8.1	14.7
28	1.9	4.5	9.4	17.3
29	1.8	8.2	8.4	19.3
30	2	4	3	12
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	2.7±0.6	6.5±2.0	15.0±4.4

ตารางภาคผนวกที่ 29 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสงที่ $60 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

ต้นที่	สัปดาห์			
	1	2	3	4
1	1.5	5	8	10.2
2	2	3.1	7.5	19.7
3	2	3.1	6.4	15.3
4	2	3.4	8.8	17.6
5	2.3	5.4	6.4	20.4
6	2	5.6	10.1	21
7	2.2	5.4	10.3	20
8	2	7.2	11.8	29
9	2.1	3.5	11.1	28
10	1.8	4.6	8.1	29
11	2	5.2	8.9	19.6
12	2.5	5	5	22.4
13	2	4.8	5	24.3
14	2	4.7	9.6	28.7
15	2.3	4.4	9.5	24
16	1.9	5.6	5	23
17	2.1	4	8.9	22
18	2	5	7.6	21
19	2	5.1	9.1	20
20	2	5	5	21
21	2	5	5.5	20
22	2.3	5	6	17
23	2	5	5.2	16.7
24	2	5.5	5	13.5
25	2.1	5.8	8.6	23
26	2	5.2	8	22
27	1.8	5.3	17.2	9
28	1.9	5	7.1	8
29	1.8	5	4	8
30	2	5	5	25.4
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	4.9±0.8	7.8±2.8	20.0±5.9

ตารางภาคผนวกที่ 30 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 0 %

ต้นที่	สัปดาห์		
	0	2	4
1	2	2.5	5
2	1.5	5.3	5.7
3	2	3.2	5.5
4	2	5	5.8
5	2	5.5	8.3
6	2.3	5.2	7.2
7	2	6.5	9.6
8	2.2	5.7	6.4
9	2	6.1	4.5
10	2.1	5.9	5.6
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	5.4±0.9	6.5±1.6

ตารางภาคผนวกที่ 31 ความยาวเซลล์ของต้นอ่อนสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่เลี้ยงภายใต้การเติมคาร์บอนไดออกไซด์ 1 %

ต้นที่	สัปดาห์		
	0	2	4
1	2	3.5	4.5
2	1.5	5.6	4.6
3	2	3.2	5.5
4	2	2.1	4.3
5	2	3	4.5
6	2.3	2.8	6.1
7	2	2	5.3
8	2.2	4.3	4.5
9	2	2.4	6.1
10	2.1	4	6.2
ค่าเฉลี่ย±SD	2.0±0.2	3.3±1.2	5.2±0.8

ตารางภาคผนวกที่ 32 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเค็ม 10 ppt

Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
D		Device Nr: #1				
SCHS		Chart Start				
FO	360	32	86	0.628	0	0.628
FO	361	57	134	0.575	0	0.575
FO	362	59	125	0.528	0	0.528
FO	363	67	146	0.541	0	0.541
FO	364	47	102	0.539	0	0.539
FO	365	46	84	0.452	0	0.452
FO	366	37	74	0.5	0	0.5
FO	367	69	97	0.289	0	0.289
FO	368	61	105	0.419	0	0.419
FO	369	65	165	0.606	0	0.606
FO	370	61	121	0.496	0	0.496
FO	371	58	141	0.589	0	0.589
FO	372	50	112	0.554	0	0.554
FO	373	31	68	0.544	0	0.544
FO	374	93	208	0.553	0	0.553
FO	375	95	246	0.614	0	0.614
FO	376	88	185	0.524	0	0.524
FO	377	89	305	0.708	0	0.708

ตารางภาคผนวกที่ 33 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเค็ม 20 ppt

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
13:18:44	SCHS		Chart Start				
13:18:54	FO	439	33	96	0.656	0	0.656
13:19:02	FO	440	47	129	0.636	0	0.636
13:19:11	FO	441	43	136	0.684	0	0.684
13:19:16	FO	442	70	174	0.598	0	0.598
13:19:24	FO	443	41	88	0.534	0	0.534
13:19:46	FO	445	51	103	0.505	0	0.505
13:20:01	FO	447	75	200	0.625	0	0.625
13:20:09	FO	448	53	123	0.569	0	0.569
13:20:18	FO	449	41	129	0.682	0	0.682
13:20:24	FO	450	50	167	0.701	0	0.701
13:20:30	FO	451	20	56	0.643	0	0.643
13:20:48	FO	453	63	142	0.556	0	0.556
13:21:04	FO	454	22	69	0.681	0	0.681
13:21:11	FO	455	76	242	0.686	0	0.686
13:21:17	FO	456	39	124	0.685	0	0.685

ตารางภาคผนวกที่ 34 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเค็ม 30 ppt

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
13:25:41	SCHS		Chart Start				
13:25:54	FO	476	62	193	0.679	0	0.679
13:26:01	FO	477	40	102	0.608	0	0.608
13:26:17	FO	479	76	188	0.596	0	0.596
13:26:33	FO	481	59	254	0.768	0	0.768
13:26:41	FO	482	65	201	0.677	0	0.677
13:26:45	FO	483	54	305	0.823	0	0.823
13:26:52	FO	484	75	199	0.623	0	0.623
13:26:57	FO	485	50	141	0.645	0	0.645
13:27:04	FO	486	106	372	0.715	0	0.715
13:27:18	FO	487	58	202	0.713	0	0.713
13:27:30	FO	489	55	169	0.675	0	0.675
13:27:41	FO	491	19	59	0.678	0	0.678
13:28:07	FO	494	91	246	0.63	0	0.63

ตารางภาคผนวกที่ 35 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเข้มแสง 20 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
13:49:37	SCHS		Chart Start				
13:49:41	FO	579	28	57	0.509	0	0.509
13:49:47	FO	580	40	79	0.494	0	0.494
13:49:54	FO	581	41	67	0.388	0	0.388
13:50:07	FO	583	61	135	0.548	0	0.548
13:50:12	FO	584	37	124	0.702	0	0.702
13:50:17	FO	585	52	110	0.527	0	0.527
13:50:26	FO	587	61	89	0.315	0	0.315
13:50:34	FO	588	17	64	0.734	0	0.734
13:50:47	FO	590	68	165	0.588	0	0.588
13:50:53	FO	591	72	124	0.419	0	0.419
13:50:59	FO	592	41	71	0.423	0	0.423
13:51:06	FO	593	31	79	0.608	0	0.608
13:51:11	FO	594	46	114	0.596	0	0.596
13:51:15	FO	595	41	90	0.544	0	0.544
13:51:32	FO	598	59	127	0.535	0	0.535

ตารางภาคผนวกที่ 36 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเข้มแสง 40 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
14:07:36	SCHS		Chart Start				
14:07:56	FO	685	42	106	0.604	0	0.604
14:08:01	FO	686	33	75	0.56	0	0.56
14:08:10	FO	688	22	59	0.627	0	0.627
14:08:16	FO	689	55	139	0.604	0	0.604
14:08:22	FO	690	61	111	0.45	0	0.45
14:08:27	FO	691	48	114	0.579	0	0.579
14:08:33	FO	692	74	205	0.639	0	0.639
14:08:41	FO	693	98	148	0.338	0	0.338
14:08:52	FO	694	67	173	0.613	0	0.613
14:09:01	FO	696	73	240	0.696	0	0.696
14:09:10	FO	698	68	205	0.668	0	0.668
14:09:15	FO	699	66	70	0.057	0	0.057
14:09:22	FO	700	53	102	0.48	0	0.48
14:09:50	FO	702	15	115	0.87	0	0.87
14:09:56	FO	703	40	107	0.626	0	0.626

ตารางภาคผนวกที่ 37 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ความเข้มแสง 60 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
13:56:52	SCHS		Chart Start				
13:56:54	FO	617	55	104	0.471	0	0.471
13:57:00	FO	618	27	80	0.663	0	0.663
13:57:06	FO	619	39	62	0.371	0	0.371
13:57:22	FO	621	45	76	0.408	0	0.408
13:57:28	FO	622	55	106	0.481	0	0.481
13:57:46	FO	625	39	56	0.304	0	0.304
13:57:52	FO	626	40	87	0.54	0	0.54
13:57:56	FO	627	45	86	0.477	0	0.477
13:58:29	FO	631	47	90	0.478	0	0.478
13:58:35	FO	632	25	80	0.688	0	0.688
13:58:56	FO	635	43	69	0.377	0	0.377
13:59:06	FO	636	64	118	0.458	0	0.458
13:59:13	FO	637	71	152	0.533	0	0.533
13:59:20	FO	638	43	78	0.449	0	0.449
13:59:29	FO	639	56	107	0.477	0	0.477
13:59:35	FO	640	33	70	0.529	0	0.529

ตารางภาคผนวกที่ 38 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ Auxin 0.05

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm	
	D		Device Nr: #1					
11:30:54	SCHS		Chart Start					
11:31:08	FO	52	58	127	0.543	0	0.543	
11:32:06	FO	56	83	205	0.595	0	0.595	
11:32:21	FO	58	61	109	0.44	0	0.44	
11:32:29	FO	59	73	153	0.523	0	0.523	
11:32:36	FO	60	74	126	0.413	0	0.413	
11:32:43	FO	61	69	127	0.457	0	0.457	
11:32:57	FO	62	71	136	0.478	0	0.478	
11:33:04	FO	63	74	113	0.345	0	0.345	
11:33:11	FO	64	85	167	0.491	0	0.491	
11:33:22	FO	65	50	91	0.451	0	0.451	
11:33:30	FO	66	57	114	0.5	0	0.5	
11:33:49	FO	68	92	237	0.612	0	0.612	
11:34:06	FO	70	40	99	0.596	0	0.596	
11:34:23	FO	72	65	148	0.561	0	0.561	
11:34:39	FO	74	57	144	0.604	0	0.604	

ตารางภาคผนวกที่ 39 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* S1 ที่ Auxin 0.10

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
11:46:24	SCHS		Chart Start				
11:47:52	FO	103	44	115	0.617	0	0.617
11:48:12	FO	104	60	68	0.118	0	0.118
11:48:21	FO	105	58	130	0.554	0	0.554
11:48:28	FO	106	56	78	0.282	0	0.282
11:48:34	FO	107	62	151	0.589	0	0.589
11:48:41	FO	108	37	61	0.393	0	0.393
11:48:47	FO	109	67	187	0.642	0	0.642
11:48:53	FO	110	38	64	0.406	0	0.406
11:49:01	FO	111	42	80	0.475	0	0.475
11:49:13	FO	112	114	186	0.387	0	0.387
11:49:28	FO	114	61	184	0.668	0	0.668
11:49:38	FO	115	80	252	0.683	0	0.683
11:49:46	FO	116	106	219	0.516	0	0.516
11:49:54	FO	117	56	127	0.559	0	0.559
11:50:02	FO	118	38	86	0.558	0	0.558
11:50:09	FO	119	35	77	0.545	0	0.545

ตารางภาคผนวกที่ 40 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ Auxin 0.50

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm	
	D		Device Nr: #1					
11:58:18	SCHS		Chart Start					
11:58:24	FO	135	60	134	0.552	0	0.552	
11:58:34	FO	136	48	127	0.622	0	0.622	
11:58:40	FO	137	77	182	0.577	0	0.577	
11:58:48	FO	138	68	181	0.624	0	0.624	
11:58:57	FO	139	45	93	0.516	0	0.516	
11:59:05	FO	140	26	86	0.698	0	0.698	
11:59:19	FO	141	81	168	0.518	0	0.518	
11:59:27	FO	142	78	228	0.658	0	0.658	
11:59:34	FO	143	77	196	0.607	0	0.607	
11:59:42	FO	144	72	174	0.586	0	0.586	
11:59:50	FO	145	28	80	0.65	0	0.65	
11:59:59	FO	146	36	69	0.478	0	0.478	
12:00:07	FO	147	60	146	0.589	0	0.589	
12:00:16	FO	148	86	167	0.485	0	0.485	

ตารางภาคผนวกที่ 41 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ไซโตโคนิน (BA) 0.05

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm	
	D		Device Nr: #1					
12:25:41	SCHS		Chart Start					
12:25:46	FO	210	61	184	0.668	0	0.668	
12:25:53	FO	211	53	143	0.629	0	0.629	
12:26:02	FO	212	48	121	0.603	0	0.603	
12:26:08	FO	213	60	168	0.643	0	0.643	
12:26:14	FO	214	63	138	0.543	0	0.543	
12:26:27	FO	216	33	60	0.45	0	0.45	
12:26:32	FO	217	38	79	0.519	0	0.519	
12:26:43	FO	219	34	202	0.832	0	0.832	
12:27:05	FO	222	27	59	0.542	0	0.542	
12:27:19	FO	224	56	112	0.5	0	0.5	
12:27:26	FO	225	48	115	0.583	0	0.583	
12:27:32	FO	226	53	123	0.569	0	0.569	
12:27:40	FO	227	70	178	0.607	0	0.607	

ตารางภาคผนวกที่ 42 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ไซโตไคนิน (BA) 0.10

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm	
	D		Device Nr: #1					
12:33:42	SCHS		Chart Start					
12:34:04	FO	244	61	156	0.609	0	0.609	
12:34:10	FO	245	55	61	0.098	0	0.098	
12:34:16	FO	246	51	138	0.63	0	0.63	
12:34:29	FO	247	96	211	0.545	0	0.545	
12:34:35	FO	248	51	130	0.608	0	0.608	
12:34:41	FO	249	38	128	0.703	0	0.703	
12:34:48	FO	250	109	249	0.562	0	0.562	
12:34:54	FO	251	57	142	0.599	0	0.599	
12:35:02	FO	252	74	188	0.606	0	0.606	
12:35:09	FO	253	63	139	0.547	0	0.547	
12:35:15	FO	254	47	105	0.552	0	0.552	
12:35:21	FO	255	64	204	0.686	0	0.686	
12:35:28	FO	256	59	161	0.634	0	0.634	
12:35:57	FO	258	52	160	0.675	0	0.675	

ตารางภาคผนวกที่ 43 ค่าการสังเคราะห์แสง photosynthesis ของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* ที่ไซโตไคนิน (BA) 0.50

Time	Type	No.	1: F	1: Fm'	1: Y (II)	1: ETR	1: Fv/Fm
	D		Device Nr: #1				
12:06:46	SCHS		Chart Start				
12:06:55	FO	163	48	109	0.56	0	0.56
12:07:03	FO	164	45	155	0.71	0	0.71
12:07:10	FO	165	59	181	0.674	0	0.674
12:07:16	FO	166	61	127	0.52	0	0.52
12:07:32	FO	167	50	113	0.558	0	0.558
12:07:40	FO	168	53	111	0.523	0	0.523
12:07:48	FO	169	47	134	0.649	0	0.649
12:07:55	FO	170	55	175	0.686	0	0.686
12:08:03	FO	171	30	74	0.595	0	0.595
12:08:09	FO	172	55	110	0.5	0	0.5
12:08:18	FO	173	43	164	0.738	0	0.738
12:08:27	FO	174	45	85	0.471	0	0.471
12:08:34	FO	175	47	25	-	-	-
12:08:43	FO	176	51	117	0.564	0	0.564

