บทที่ 1

บทนำ

สาหร่ายไส้ไก่ *Ulva (Enteromorpha) intestinalis* เป็นสาหร่ายสีเขียว มีแทลลัสลักษณะอ่อนนุ่ม และกึ่งโปร่งแสง ผนังเซลล์ 2 ชั้น แทลลัสมีรูปร่างเป็นหลอดกลวง และมีวงจรชีวิตสั้น (Reine and Trono, 2001) พบได้ทั่วไปบริเวณแหล่งน้ำกร่อย ปากแม่น้ำตั้งแต่เขตน้ำขึ้นน้ำลง พบบริเวณพื้นโคลนหรือบนก้อนหินในที่มีธาตุอาหารสูง (Algaebase, 2556) สาหร่ายไส้ไก่เป็นสาหร่ายที่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมในช่วงกว้าง (Kamer and Fong, 2000) ประเทศในแถบเอเชียมีการนำสาหร่ายไส้ไก่ หรือสาหร่ายกลุ่ม *Ulva* spp. มาใช้ประโยชน์หลายด้าน เช่น เป็นอาหารมนุษย์ โดยบดเป็นผงแล้วนำมาโรยหน้าอาหารชนิดต่าง ๆ (Critchley and Ohno, 1998) เนื่องจากสาหร่ายไส้ไก่ มีวิตามิน เกลือแร่ โปรตีนสูง ช่วยกระตุ้นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค ดังนั้นในประเทศฟิลิปปินส์จึงนำมาเป็นอาหารปลานวลจันทร์ (Reine and Trono, 2001) ในประเทศญี่ปุ่นและประเทศจีน นำสาหร่ายกลุ่มนี้มาใช้เป็นยาสมุนไพร และใช้เป็นอาหารคนโดยตรง นอกจากนี้ยังนำมาเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง แชมพู โลชั่น เนื่องจากสาหร่ายกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นตัวต้านจุลชีพ ได้แก่ สารต้านแบคทีเรีย ราอยู่ด้วย และได้เพาะเลี้ยงสาหร่ายกลุ่มนี้กันหลายชนิด (Adey and Purgason, 1998; Briand, 1995; Hasebe and Yamad, 2004) นอกจากนี้ยังสามารถใช้ทำเป็นอาหารสัตว์ และปุ๋ยบำรุงดิน โดยสารอินทรีย์ในสาหร่ายจะช่วยทำให้สภาพดินดีขึ้น และสาร Ulvan ในสาหร่ายไส้ไก่ช่วยไปกระตุ้นการดูดซึมไนโตรเจนของพืช ทำให้สามารถลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีได้ครึ่งหนึ่งของปกติ (Briand *et al.*, 2005)

ประเทศไทยใช้สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในพื้นที่เปิดหรือบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำกร่อย มาเป็นแหล่งของแร่ธาตุ สำหรับเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ และมีการนำสาหร่ายไส้ไก่มาเลี้ยงร่วมกับกุ้งกุลาดำ เพื่อควบคุมคุณภาพน้ำได้ โดยสาหร่ายสามารถดูดซับแอมโมเนีย ไนไตรท์ และฟอสฟอรัสมาใช้ในการเจริญเติบโต และช่วยเพิ่มปริมาณสัตว์หน้าดิน และสิ่งมีชีวิตที่อิงอาศัยเกาะอยู่ที่แทลลัสของสาหร่ายไส้ไก่ ซึ่งกุ้งสามารถกินเป็นอาหารได้ จึงช่วยลดต้นทุนค่าอาหารกุ้งได้ในช่วงเวลาการเลี้ยง 2 เดือนแรก (จริยาวดี และคณะ, 2550) นอกจากนี้ยังใช้สาหร่ายไส้ไก่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (bioindicator) ในแหล่งน้ำธรรมชาติ เป็นวัสดุดูดซับแอมโมเนีย ไนไตรท์ ฟอสฟอรัสในน้ำทิ้งจากการเลี้ยงสัตว์น้ำได้ และช่วยให้ระบบการเลี้ยงปลอดจากสารเคมี อันจะเกิดปัญหาในกุ้งซึ่งมีผลดีต่อผู้บริโภคทำให้แนวทางการเลี้ยงกุ้งระบบเกษตรอินทรีย์โดยเลี้ยงร่วมกับสาหร่ายไส้ไก่ มีความเป็นไปได้ และได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง จากการใช้ประโยชน์ดังกล่าวทำให้มีการเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามด้วยสภาวะแวดล้อมที่หลากหลาย และยังไม่มีรูปแบบการเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ที่แน่นอน แม้ว่าในบางพื้นที่จะมีการนำสาหร่ายไปเลี้ยงร่วมกับกุ้งในบ่อดินไม่สามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ จึงเกิดอุปสรรคต่อระบบการผลิตดังกล่าว การศึกษาการกระตุ้นให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยการเพาะจากสปอร์ในห้องปฏิบัติการที่เป็นต้นแบบจากสายพันธุ์ของไทย เพื่อให้สามารถนำมาเลี้ยงเป็นต้นอ่อน ที่สามารถนำไปเลี้ยงในบ่อดินได้ ทำให้ได้ข้อมูล และรูปแบบการเพาะเลี้ยง

สาหร่ายไส้ไก่ได้อย่างต่อเนื่อง และยั่งยืน และอาจขยายผลให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

1.1 ชีววิทยา

สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ซึ่งมีชื่อเดิมว่า *Enteromorpha intestinalis* (Linnaeus) Nees เนื่องจากข้อมูลทางโมเลกุล และการเลี้ยงได้แสดงให้เห็นว่า สาหร่ายในสกุล *Enteromorpha* และ *Ulva* ไม่มีความแตกต่างด้านเอกลักษณ์ทางวิวัฒนาการ ดังนั้นมีการเปลี่ยนชื่อกลับมาใช้ *Ulva intestinalis* Linnaeus ในปัจจุบัน (จริยาวดี และคณะ, 2550)

สาหร่ายไส้ไก่มีแทลลัสรูปร่างเป็นหลอดกลวง ลอนหรือหยิกสามารถหดหรือพองตัวได้ ย่นเหมือนไส้ไก่ แตกแขนงเป็นกลุ่มหรือเป็นสาย ประกอบด้วยแทลลัสหนา 2 ชั้นเซลล์ (ยุวดี, 2549) ประกอบด้วยเซลล์ที่มีช่องว่างลักษณะหลายเหลี่ยมหรือกลม มีส่วนประกอบของน้ำ และอากาศอยู่ด้วย เรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบไม่ว่าจะเป็นแนวยาวหรือแนวขวาง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเซลล์ 20±1 ไมโครเมตร (μm) หุ้มด้วยคลอโรพลาสต์ ภายในเซลล์มีไพรีนอยด์ (Pyrenoid) 2±0 อัน ทำหน้าที่สะสมแป้ง มีรากเล็ก ๆ ยึดเกาะ ส่วนโคนแคบ และขยายใหญ่ตอนบน เมื่อดูจากที่ผิวของต้น ความยาวแทลลัส 14±2 เซนติเมตร (cm) ความกว้างเฉลี่ย 2±0 มิลลิเมตร (mm) แทลลัสมีสีเขียวใสหรือสีเหลือง (ภาพที่ 1)

1.2 อนุกรมวิธาน

สาหร่ายไส้ไก่ หรือ *Ulva intestinalis* Linnaeus (Algaebase, 2556) มีลำดับทางอนุกรมวิธานดังนี้

Division Chlorophyta

Class Ulvophyceae

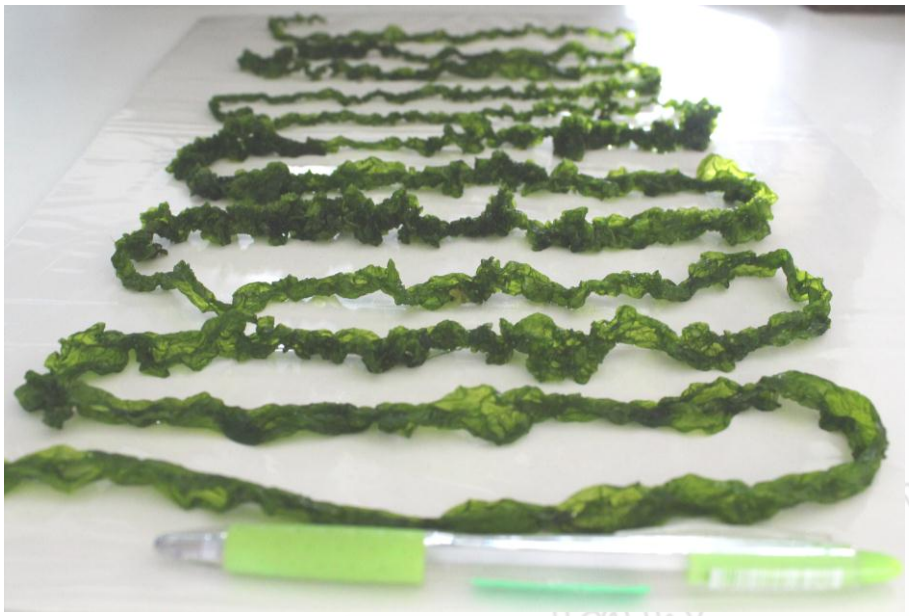
Order Ulvales

Family Ulvaceae

Genus *Ulva*

Species *Ulva intestinalis*

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*

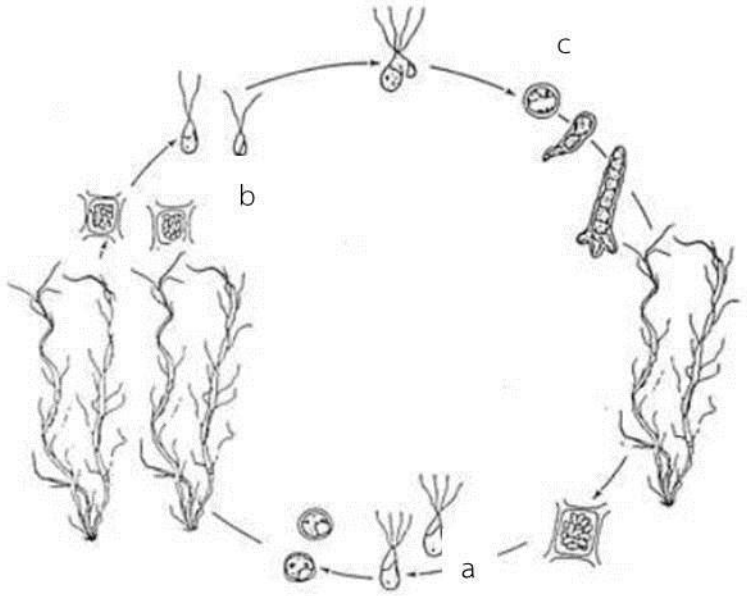
1.3 นิเวศวิทยาของสาหร่ายไส้ไก่

สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* เป็นกลุ่มสาหร่ายสีเขียว สามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็ม และสามารถอยู่ได้ในน้ำจืด 0 psu หรือเท่ากับ 0 ppt ได้ในเวลาที่จำกัดประมาณ 5 วัน (Kamer and Fong, 2000) สาหร่ายไส้ไก่มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงความเค็มได้ บางชนิดขึ้นอยู่ใต้ท้องเรือโดยสารที่แล่นไปมาระหว่างน้ำจืด และน้ำเค็ม ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงความเค็มตลอดเวลา (จริยาวดี และคณะ, 2550) สาหร่ายไส้ไก่พบได้ตามบริเวณปากแม่น้ำ ในพื้นทรายที่มีน้ำจืดไหลซึมเล็กน้อย สาหร่ายจะอาศัยรวมกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น ตามพื้นที่น้ำขึ้นน้ำลง (Lobban and Harrison, 1994) บริเวณที่มีสารอินทรีย์ และแร่ธาตุต่าง ๆ สาหร่ายจะยึดเกาะกับหินหรือปะการัง ซึ่งจะสัมผัสอากาศระหว่างที่น้ำลด สามารถเป็นแหล่งกำบังแก่สัตว์อื่น ผนังเซลล์จะยึดติดกับหินพร้อมกับพืชชนิดอื่น ๆ โดยเซลล์จะขยายออกเมื่อมีน้ำจืดไหลเข้าทำให้น้ำมีความเค็มต่ำ และสามารถอาศัยในน้ำที่มีอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส (°C) หรืออุณหภูมิที่สูงกว่า โดยสาหร่ายชนิดนี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่ไหลผ่านตลอด และสาหร่ายไส้ไก่มีอัตราการเจริญเติบโตดี ภายใต้สภาวะที่มีแสงมาก นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียว *Ulva (Enteromorpha) prolifera* (Muell.) J. Agardh ยังมีการกระจายอย่างกว้างขวางในพื้นที่ระหว่างน้ำขึ้น-น้ำลงของมหาสมุทร (Lin *et al.*, 2008) บางครั้งพบสาหร่ายไส้ไก่สามารถอยู่รวมตัวกับ *Ulva* spp. ชนิดอื่นโดย เมื่อน้ำลดสาหร่ายโผล่พ้นผิวน้ำเมื่อน้ำขึ้นตามปกติสาหร่ายมีการปล่อยสปอร์อย่างรวดเร็ว โดยที่สปอร์จะไปยึดติดกับวัตถุ และเจริญเติบโตต่อไป

1.4 วงจรชีวิตของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva* spp.

วงจรชีวิตส่วนใหญ่ของสาหร่ายจะเป็นแบบไอโซมอร์ฟิคดิพโพลแฮพลอนติก (isomorphic diplohaplontic) (ภาพที่ 2) แทลลัสของสาหร่ายที่เป็นสปอร์โรไฟต์ (sporophyte) จะสร้างซูโอสปอร์ (zoospores) ที่มีแฟลกเจลลัม 4 เส้น และมีแกมีต (gametes) ที่มีเฟลกเจลลัม 2 เส้น การแบ่งนิวเคลียสแบบไมโอซิส (meiosis) เกิดขึ้นในช่วงของการสร้างสปอร์ อาจมีการสืบพันธุ์เฉพาะแบบไม่อาศัยเพศ ในแทลลัสที่สมบูรณ์สามารถสร้างแกมีต และซูโอสปอร์ได้ในท่อนเดียว เมื่อมีการปล่อยสปอร์แล้วผนังเซลล์จะยังคงอยู่ สปอร์จะถูกปล่อยออกประมาณ 30 นาที หลังจากถูกแสงพบสาหร่ายมีการปล่อยสปอร์ปริมาณมากในช่วงน้ำขึ้น-น้ำลง (พระจันทร์เต็มดวง) ระหว่างเดือนกันยายน-ตุลาคม แกมีตจะรวมกันเป็นระยะไซโกต (zygotes) เคลื่อนที่ได้ในช่วงสั้น ๆ บางครั้งอาจพบการสืบพันธุ์แบบพาร์ทีโนเจเนซิส (parthenogenesis) ไซโกตสามารถล่องลอยตามกระแสน้ำไปเจริญเติบโตที่บริเวณต่าง ๆ จากนั้นจะสลัดแส้แล้วยึดเกาะกับภาชนะเป็นกลุ่มที่บริเวณพื้นน้ำ และร่วมกับสาหร่ายชนิดอื่น (Reine and Trono, 2001) สาหร่ายงอกเป็นแทลลัสใหม่ได้ทั้งที่ไม่อาศัยเพศ (ยุวดี, 2549) วงจรชีวิตของสาหร่ายใช้ระยะเวลาเพียงช่วงสั้น ๆ ภายใต้ความเค็มต่ำหรืออุณหภูมิสูง รูปแบบการเจริญเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล (Ohno and Critchley, 1993) และจากการรายงานของ Lin *et al*. (2008) พบว่า การเพาะเลี้ยงโดยตัดท่อนพันธุ์เป็นชิ้นเล็ก ๆ สามารถเพิ่มปริมาณการแพร่พันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศสำหรับ *E. Prolifera* พบว่าสามารถแพร่พันธุ์ได้ในปริมาณมาก และมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างฤดู ซึ่งเป็นปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในสภาพแวดล้อมต่อการอาศัยของ *E. prolifera* การแพร่พันธุ์ของสาหร่าย *E. prolifera* ส่วนมากจะใช้วิธีไม่อาศัยเพศซึ่งสามารถแพร่พันธุ์สาหร่ายได้ปริมาณมากกว่าการอาศัยเพศ

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva* spp.
a: ซูโอสปอร์ที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ
b: แกมีตเป็นเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยแกมีตที่คล้ายกันจะผสมพันธุ์กัน
c: ไซโกตเป็นแกมีตหรือซูโอสปอร์ที่เจริญเติบโตเป็นต้นพันธุ์ต่อไป
ที่มา: Ohno and Critchley (1993)

1.5 ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่

ในประเทศไทยมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์มาช้านานตามพื้นที่ชายฝั่งอ่าวไทย และอันดามัน ในปัจจุบันสาหร่ายมีการนำมาผลิตเป็นอาหารของมนุษย์ และอาหารสัตว์ และใช้ในการบำบัดน้ำ โดยธุรกิจสาหร่ายเติบโตขึ้นอย่างเป็นลำดับ มีการพัฒนาการเลี้ยงตั้งแต่ปี คศ.1986 แต่ไม่เป็นที่นิยมในประเทศไทย (Chirapart, 2006)

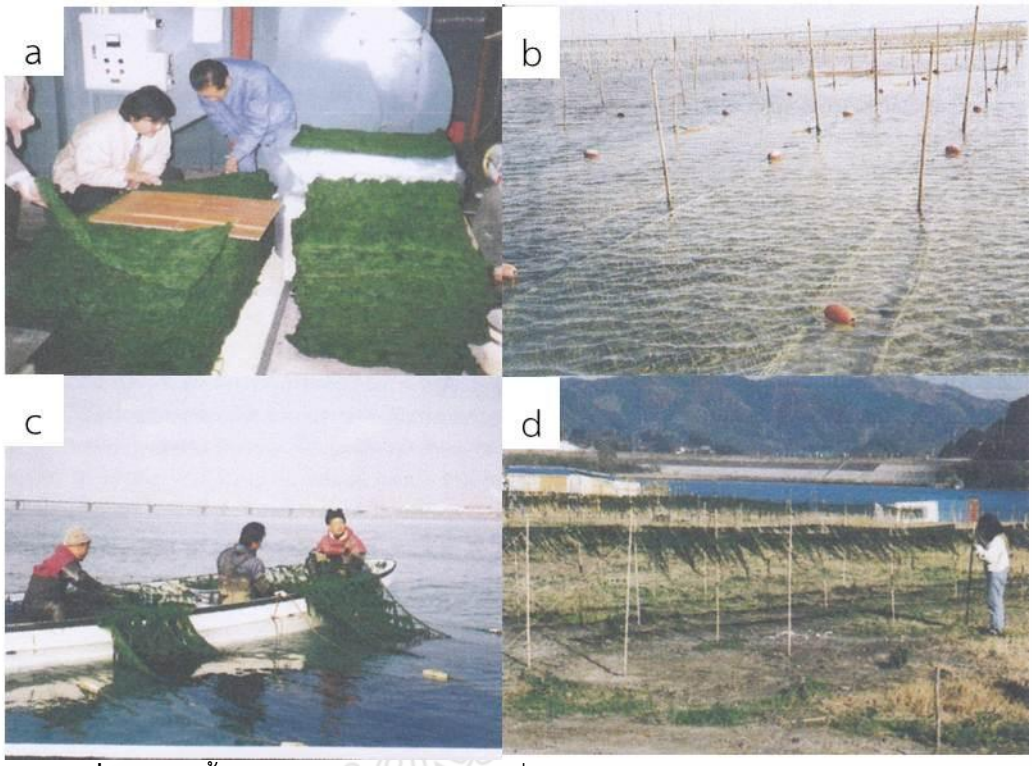
ในฟิลิปปินส์เรียกสาหร่ายไส้ไก่ว่า“lumot”มีการนำสาหร่ายไส้ไก่เลี้ยงร่วมกับปลานวลจันทร์ การเลี้ยงสาหร่ายนี้ในทะเล ทำโดยการล่อสปอร์ด้วยตาข่าย แล้วนำไปเลี้ยงในระดับความเค็มคงที่ ซึ่งผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดี (Reine and Trono, 2001) เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่จะทำการเก็บเกี่ยวด้วยมือ โดยผลิตภัณฑ์ที่คัดด้วยมือจะมีคุณภาพดีกว่าเครื่องจักร และรวบรวมด้วยเครื่องจักร ซึ่งการใช้เครื่องจักรสามารถประหยัดเวลาได้มาก เมื่อรวบรวมสาหร่ายแล้วนำมาทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด และตากให้แห้งด้วยแสงอาทิตย์ จากนั้นนำสาหร่ายแห้งมาบด สาหร่ายจะมีสีเขียวเข้มปนดำ เพื่อผลิตเป็นอาหารต่อไป

ในญี่ปุ่นสาหร่ายสกุล *Ulva* spp. มีชื่อเรียกในภาษาท้องถิ่นว่า “Aonori” เริ่มนิยมเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ตั้งแต่ปี ค.ศ 1985 ทางทิศใต้ของญี่ปุ่นมีการเลี้ยง *Enteromorpha* sp. มากกว่า 30,000 ครัวเรือน สามารถพบตามพื้นที่ชายฝั่ง บริเวณปากแม่น้ำเขตน้ำขึ้นน้ำลง สาหร่ายที่มีคุณภาพ

มีสีเขียวเข้มถึงสีดำ มีการเก็บเกี่ยวเมื่อสาหร่ายโตเต็มวัย โดยในแต่ละปีได้ผลผลิตประมาณ 1,000-2,000 ตันน้ำหนักแห้ง/ปี (ภาพที่ 3a) ซึ่งผลผลิตที่ได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการ (Ohno and Crichley, 1993) มีสาหร่ายสายพันธุ์ใหม่จากเมืองอื่น ๆ แพร่กระจายบริเวณประเทศญี่ปุ่น และในปัจจุบันมีสาหร่ายสกุล *Ulva* spp. (Critchley and Ohno, 1998) แพร่กระจายอย่างแพร่หลายในเกาะมาเลเซีย หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ออสเตรเลีย ชายฝั่งตะวันตกของทวีปอเมริกาเหนือ และมหาสมุทรอินเดีย โดยเกษตรกรในญี่ปุ่นมีการผลิตต้นอ่อนสาหร่ายไส้ไก่ 2 แบบ คือ 1) การนำต้นอ่อนโดยดักจากธรรมชาติโดยใช้ตาข่ายขึงไว้ใต้น้ำ เลือกบริเวณคลื่นลมสงบ ทำการรวบรวมสปอร์ลงเลี้ยงในเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม โดยต้นอ่อนสาหร่ายมีความยาว 1-2 เซนติเมตร 2) การผลิตต้นอ่อนเองในโรงเพาะพันธุ์ เกษตรกรจะเก็บแทลลัสที่โตเต็มที่จากบริเวณชายฝั่ง นำมาเก็บไว้ในที่มืดนาน 30 นาที เมื่อสาหร่ายมีการปล่อยสปอร์ออกมา ทำการย้ายสปอร์ไปเลี้ยงในถังล่อด้วยตาข่าย เมื่อสปอร์เกาะติดตาข่ายแล้วจึงนำไปเลี้ยงกลางแจ้ง ซึ่งวิธีการเลี้ยงเหมือนกับการเลี้ยงสาหร่าย *Monostroma* และ สาหร่าย *Prophyra* ส่วนวิธีการเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ในทะเลมี 2 แบบคือ 1) เลี้ยงบริเวณชายฝั่ง นำอวนที่มีต้นอ่อนสาหร่ายยาวประมาณ 1-2 เซนติเมตร โดยใช้ไม้ยาวล้อมรอบยึดติดตาข่าย ใช้ไม้ไผ่ยึดติดกับพื้น ตาข่ายที่ขึงไว้ต้องไม่โผล่เมื่อน้ำลงต่ำสุด (ภาพที่ 3b) 2) วิธีการเลี้ยงสาหร่ายระบบลอยน้ำ (floating system) เลี้ยงบริเวณน้ำลึกประมาณ 3 เมตร (m) บริเวณปากแม่น้ำที่คลื่นลมสงบ ใช้ตาข่ายขนาดตา 30-50 เซนติเมตร ใช้ทุ่นช่วยให้ตาข่ายลอยน้ำ อยู่ในระดับที่ใต้น้ำที่น้ำลงต่ำสุด เมื่อถึงฤดูเก็บเกี่ยวจะเก็บผลผลิต 2-3 ครั้ง/เดือน มีการเก็บเกี่ยวด้วยมือหรือเครื่องจักร (ภาพที่ 3c) จากนั้นนำสาหร่ายสกุล *Ulva* มาล้างทำความสะอาด และตากแห้งด้วยแสงอาทิตย์หรือเป่าลม (ภาพที่ 4d)

ในเมือง Yoshino และเมือง Tokushima ของประเทศญี่ปุ่นมีการเลี้ยง *Ulva* spp. ในรูปแบบลอยน้ำ (floating-system) ตามบริเวณปากแม่น้ำ ต้นอ่อนได้จากการรวบรวมจากธรรมชาติโดยใช้ตาข่ายขึงไว้ใต้น้ำให้สปอร์มาเกาะเมื่อต้นอ่อนยาว 2-3 เซนติเมตร ทำการเคลื่อนย้ายไปเลี้ยงในบริเวณคลื่นลมสงบ ซึ่งส่วนใหญ่เลี้ยงช่วงต้นเดือนพฤศจิกายน ซึ่งในช่วงฤดูหนาว คือ ช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงต้นเดือนกุมภาพันธ์โดยพบปริมาณต้นอ่อนลดลง ทั้งนี้จากการเลี้ยงในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ และพบในช่วงฤดูใบไม้ผลิช่วงต้นเดือนเมษายนซึ่งพบต้นอ่อนยาว 2-3 เซนติเมตร มีการเลี้ยงบนตาข่าย และทำการรวบรวมช่วงฤดูใบไม้ผลิโดยสาหร่ายเจริญเติบโตจนถึงต้นเดือนพฤษภาคมแล้วจะลดปริมาณลง

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 3 การเลี้ยงสาหร่าย *Ulva* spp. ในญี่ปุ่น:
ผลผลิตของสาหร่าย (a), การเลี้ยงในทะเลเปิด (b)
การเก็บเกี่ยว (c), และการตากแห้ง (d)
ที่มา: Ohno and Critchley (1993)

Prince of Songkla University Pattani Campus

การเลี้ยงสาหร่าย *Ulva* spp. อีกหนึ่งวิธีคือ วิธี “germling cluster method” ซึ่งเป็นวิธีใหม่ที่มีการเลี้ยงในเมือง Muroto เขต Kochi ในญี่ปุ่น ปี 2004 โดยเลี้ยงในถังด้วยน้ำทะเลให้อากาศ ควบคุมอุณหภูมิ และความเค็ม ให้อาหาร ออกแบบการเลี้ยงในระบบถังเพื่อให้ระบบออกมาดีที่สุด มีการเก็บเกี่ยวผลผลิตในรอบปี ผลผลิตที่ได้นำมาเป็นอาหาร ซึ่งในรอบปีพบผลผลิตของ *Ulva* spp. มากในช่วงฤดูหนาวถึงฤดูใบไม้ผลิ ส่วนการเพาะพันธุ์สาหร่ายมีปริมาณสปอร์ลดลงช่วงฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการปล่อยสปอร์ควรมากกว่า 20 องศาเซลเซียส (Hiraoka and Oka, 2008)

การเลี้ยง *Ulva prolifera* มีการตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก ๆ กระตุ้นให้มีการสร้าง และปล่อยสปอร์ หลังจากมีการปล่อยสปอร์แล้วจะรวบรวมสปอร์ไว้ เมื่อสปอร์ได้ปริมาณมากพอ นำมาใส่ในจานเลี้ยง จากนั้นปรับความหนาแน่นของสปอร์ให้ได้ 10,000 สปอร์/อาหาร 1 มิลลิลิตร (mL) นำจานเลี้ยงไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ให้แสง มืด:สว่าง 12:12 ชั่วโมง (ชม.) ด้วยหลอด fluorescent ใช้ท่ออัดอากาศให้ต้นอ่อนลอยหมุนอย่างอิสระ ต้นอ่อนมีความยาว 10 มิลลิเมตร จากนั้นย้ายไปเลี้ยงในถังข้างนอกขนาด 1.5x5.5x0.9 ลูกบาศก์เมตร (7 ตัน) เลี้ยงระยะเวลาหนึ่งสัปดาห์ โดยใช้ต้นอ่อนสาหร่ายน้ำหนักเริ่มต้น 100 กรัม (g) หลังจากเลี้ยงครั้งแรกได้ผลผลิต 1 ตัน/ถัง

ในตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักในแต่ละเดือนของ *U. prolifera* หลังจากการเลี้ยง 1 สัปดาห์ เริ่มเลี้ยงสาหร่ายที่น้ำหนัก 100 กรัม ใน 1 ตัน/ถัง โดยถังที่ใช้เลี้ยงต้นอ่อน *U. prolifera* มีขนาด 1.5x5.5x0.9 ลูกบาศก์เมตร (7 ตัน) ในฤดูหนาวจนถึงฤดูใบไม้ผลิ โดยสาหร่ายมีการสืบพันธุ์ลดลงในช่วงฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง อย่างไรก็ตาม แทลลัสของสาหร่ายที่เลี้ยงในถังมีการเจริญเติบโตตลอดปี ยกเว้นในฤดูร้อน และฤดูใบไม้ร่วง เนื่องจากในฤดูดังกล่าวอุณหภูมิในถังเลี้ยงสาหร่ายเพิ่มขึ้นโดยอุณหภูมิในถังจะสูงในช่วงหน้าร้อน และต่ำในช่วงฤดูหนาว ถึงแม้ว่ามีการรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 12 องศาเซลเซียส (ช่วงอุณหภูมิ 10-14 องศาเซลเซียส) ตลอดปี เพราะฉะนั้นการเจริญเติบโตจะผันแปรตามฤดูกาลที่เปลี่ยน จากการทดลองเลี้ยงสาหร่ายช่วงเดือนเมษายนได้ผลผลิตสูง 2,620 กรัม ผลผลิตของสาหร่ายที่อุณหภูมิต่ำในช่วงฤดูหนาวจะได้ผลผลิตน้อย 540-920 กรัม

ตารางที่ 1 น้ำหนักสาหร่ายในแต่ละเดือนของ *U. prolifera* หลังจากการเลี้ยงที่น้ำหนักเริ่มต้น 100 กรัม ใน 1 ถัง

เดือน	น้ำหนักเปียกสุดท้าย (g)	อุณหภูมิ (°C)
มกราคม	540	8.4-12.2
กุมภาพันธ์	1,100	11.1-15.0
มีนาคม	1,260	10.4-14.1
เมษายน	2,620	13.0-16.5
พฤษภาคม	1,250	14.6-15.6
มิถุนายน	1,330	14.8-16.9
กรกฎาคม	1,300	15.9-18.8
สิงหาคม	1,400	16.0-23.7
กันยายน	940	16.1-20.4
ตุลาคม	1,710	16.2-21.2
พฤศจิกายน	920	11.0-14.5
ธันวาคม	860	9.2-15.0
เฉลี่ย	1,270	

ที่มา: ดัดแปรจาก Masanori and Oka (2006)

สุวรรณา และคณะ (2550) รายงานศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ *U .intestinalis* เปรียบเทียบกับสาหร่าย 2 ชนิดได้แก่ สาหร่ายหนาม *Acanthophora spicifera* และสาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa lentillifera* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ กันพบว่า สาหร่ายไส้ไก่มีการเจริญเติบโตได้ที่ระดับความเค็ม 15 ppt เช่นเดียวกับสาหร่ายหนาม แต่แตกต่างจากสาหร่ายพวงองุ่นที่เจริญเติบโตได้ดีที่ความเค็ม 25 ppt

ทิพวรรณ และคณะ (2552) รายงานผลของการผึ่งแห้งต่อการปล่อยสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* พบว่า เมื่อครบ 24 ชั่วโมง สาหร่ายที่ผึ่งแห้งเป็นเวลา 30 นาที ให้จำนวนสปอร์รวม

Prince of Songkla University Pattani Campus

มากที่สุดคือ 4,879.78±138.62 เซลล์/กรัม รองลงมา คือ 45, 15, 60 นาที และไม่ผ่านการผึ่งแห้ง มีจำนวน 4,392.89±127.83, 4,075±173.44, 2,226.00±122.32 และ 322.00±73.34 เซลล์/กรัม ตามลำดับ สำหรับอัตราการปล่อยสปอร์สูงที่สุดในชั่วโมงที่ 9 โดยสาหร่ายที่ผ่านการผึ่งแห้งเป็นเวลา 30 นาที สามารถปล่อยสปอร์ได้ 1,006.44±7.13 เซลล์/กรัม/ใน3ชั่วโมง จากการศึกษาการพัฒนาของสปอร์สาหร่าย พบว่า สาหร่ายที่อายุ 1 วัน ต้นอ่อนมีขนาดประมาณ 8-10 ไมโครเมตร เมื่อมีอายุ 3 วัน จะมีการแบ่งเซลล์ และมีขนาดใหญ่ขึ้น จากนั้นในสัปดาห์ที่ 2 ต้นอ่อนของสาหร่ายจะเริ่มยืดเซลล์ออกโดยเฉพาะบริเวณโคนของต้นอ่อน จนมีลักษณะเป็นแทลลัสขนาดเล็ก (young thallus) มีความยาวประมาณ 30-50 ไมโครเมตร

Ganesan *et al.* (2010) รายงานถึงผลของรังสีอัลตราไวโอเลตบี (UV–B) และอัลตราไวโอเลตเอ (UV-A) ในการยับยั้งการปล่อยสปอร์ของสาหร่ายทะเลในบริเวณชายฝั่งโดยนำสาหร่าย *U. fasciata* Delile (สาหร่ายสีเขียว) และ *Gracilaria corticata* J. Agardh ให้รับรังสี UV-A และรังสี UV-B โดยแบ่งเวลาตั้งแต่ 10, 20, 30, 45 และ 60 นาที และร้อยละของการยับยั้งการปล่อยสปอร์ดำเนินการในห้องปฏิบัติการ ควบคุมระยะเวลาในการปล่อยสปอร์ ผลการศึกษาการใช้รังสี UV-B เลี้ยงสาหร่าย *U. fasciata* ต่อเนื่องถึง 4 วัน สามารถยับยั้งการปล่อยสปอร์มากถึง ร้อยละ 76 และในสาหร่าย *G. corticata* ระยะเวลา 9 วัน สามารถยับยั้งการปล่อยสปอร์ถึงร้อยละ 55.5 ที่เวลา 60 นาที ในทำนองเดียวกันกับรังสี UV-A มีการแผ่รังสีในสาหร่าย *U. fasciata* และในสาหร่าย *G. corticata* สามารถยับยั้งการปล่อยสปอร์ได้มากถึงร้อยละ 75 และร้อยละ 50 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญระหว่างการยับยั้งการปล่อยสปอร์ และระยะเวลาการวิเคราะห์ความแปรปรวนของผลการทดลองพบว่า การแผ่รังสี UV เพื่อยับยั้งการปล่อยสปอร์ที่เวลา 60 นาที มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับการแผ่รังสี UV ที่ระยะเวลาอื่น ๆ

Lin *et al.* (2008) รายงานถึงการสืบพันธุ์ของ *Enteromorpha prolifera* (Muell.) J. Agardh ซึ่งมีการกระจายอย่างกว้างขวางในเขตระหว่างน้ำขึ้น-น้ำลงของมหาสมุทร มีการศึกษาการเจริญพันธุ์ของ *E. prolifera* พบว่า การเพาะเลี้ยงโดยตัดท่อนพันธุ์เป็นชิ้นเล็ก ๆ สามารถเพิ่มปริมาณการแพร่พันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ สำหรับ *E. prolifera* แสดงให้เห็นว่าสามารถแพร่พันธุ์ได้ในปริมาณมาก และมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ระหว่างฤดู ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่เหมาะสมในสภาพแวดล้อมต่อการอาศัยของ *E. prolifera* การแพร่พันธุ์ของสาหร่าย *E. prolifera* ส่วนมากจะใช้วิธีไม่อาศัยเพศซึ่งสามารถแพร่พันธุ์สาหร่ายได้ปริมาณมาก

Rusig and Cosson (2001) ศึกษาการเพาะพันธุ์จากเซลล์สืบพันธุ์ขนาดเล็กอย่างต่อเนื่องจากโพรโทพลาสต์ ของสาหร่ายสีเขียว *E. intestinal*is โดยได้ทำการศึกษาผลของเอนไซม์ 2 ชนิด คือ cellulase และ Aplysie ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ต่างกัน เพื่อทดสอบผลผลิตโพรโทพลาสต์ของสาหร่าย ผลการทดลอง พบว่าเอนไซม์ที่ดีที่สุดในการทดสอบกระบวนการผลิตเซลล์ และการเกิดโพรโทพลาสต์คือ cellulose r-10 onozukai ร้อยละ 2 และ Aplysie ร้อยละ 2 ใน 0.5 M mannitol โดยลักษณะของโพรโทพลาสต์ที่ปล่อยมีลักษณะทรงกลม จำนวนโพรโทพลาสต์ของสาหร่ายไส้ไก่ สามารถปล่อยได้มากที่สุด 10.0×10^6 โพรโทพลาสต์/กรัมน้ำหนักสด และจะเกาะบนที่ยึดเกาะ การงอกของโพรโทพลาสต์เป็นไปตามปกติของสาหร่ายชนิดนี้ การเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ให้มีประสิทธิภาพ การเลี้ยงบนตาข่ายแบบลอยได้ผลผลิตของต้นอ่อนให้มีคุณภาพที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับ

การพัฒนาวิธีการโพรโทพลาสต์ในวุ้นอัลจินัท การงอกของต้นจากโพรโทพลาสต์ ซึ่งควรเก็บรักษาต้นพันธุ์ เพื่อการเพาะเลี้ยงสาหร่ายชนิดนี้ ขณะที่ Kalita and Tylianov (2003) รายงานถึงผลของอุณหภูมิที่ระดับ 5, 10 และ 15 องศาเซลเซียส และ แสงที่ 40 และ 60 mEm^2s ต่อการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของสาหร่ายสีเขียว *U. fenestrata* จากบริเวณอ่าว Amursky ทางญี่ปุ่น ได้ทำการศึกษาในช่วงเดือนเมษายนถึงกรกฎาคม ปี 2000 โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส และระดับแสง 40 μEm^2s เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย *U. fenestrata* ซึ่งอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงถึง 5 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายเจริญเติบโตถึงร้อยละ 30 และมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในสาหร่าย *U. fenestrata* ทุก ๆ 10 วัน

Sousa *et al*. (2007) รายงานถึงปัจจัยที่ควบคุมการสร้าง และการเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์ในสาหร่ายสีเขียว เนื่องจากผลกระทบของสารอาหาร (ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส) ความเค็ม และแสงในการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ แต่ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสร้าง และการเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์ คือ ความเค็มต่ำโดยความเค็มต่ำ ทำให้การเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ที่ 5 psu หรือเท่ากับ 5 ppt นอกจากนี้เซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่มีความไวต่อ NH_4^+ สูง และการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของอาหารมากกว่าสาหร่ายขนาดใหญ่ ผลการทดลองปัจจัยที่ควบคุมการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายขนาดใหญ่ โดยเฉพาะระยะการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์จากสาหร่ายสีเขียวขึ้นอยู่กับความเค็ม ซึ่งในบริเวณปากแม่น้ำความเค็มมีการเปลี่ยนแปลงในรอบปี มีผลต่อการควบคุมการเจริญเติบโตของเซลล์สืบพันธุ์ และสาหร่ายขนาดใหญ่ของสาหร่ายสีเขียว

นอกจากนี้มีรายงานว่าแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) เป็นธาตุหลักของสิ่งมีชีวิตนำไปใช้ต่อการเจริญเติบโต และการพัฒนาของเซลล์ โดยแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง และการทำงานที่สำคัญของเซลล์พืช โดยมีบทบาทที่สำคัญในการสร้างผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ (Volotovski, 2011) แคลเซียมไอออนมีมากในใบ และลำต้นของพืช ธาตุแคลเซียมมีความจำเป็นต่อพืชสีเขียวทุกชนิด มีบทบาทสำคัญในการแบ่งเซลล์ (พรพิมล, 2552) การแพร่พันธุ์อีกทั้งกระตุ้นการทำงานของเอ็นไซม์ ลดความเป็นพิษของแร่ธาตุตัวอื่น ทำให้ธาตุต่าง ๆ สามารถละลายเป็นอาหารพืชได้ โดยเฉพาะช่วยในการถ่ายเทหมุนเวียนอาหาร และจากการรายงานของจุฑามาศ และธีรพงษ์ (2556) แคลเซียมซึ่งถือเป็นสารส่งสัญญาณ เมื่อพืชได้รับความเครียดจากสิ่งแวดล้อม เช่น ความเค็ม ความแล้ง การเกิดบาดแผล การถูกโจมตีจากเชื้อโรค ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของระดับแคลเซียมไอออน ภายในไซโทซอล (cytosol) อย่างรวดเร็ว เมื่อระดับแคลเซียมไอออนเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสัญญาณแคลเซียมนี้จะถูกถ่ายทอดโดยการทำงานของโปรตีนรับสัญญาณแคลเซียมจะทำงานโดยเข้าจับกับแคลเซียมไอออน แล้วส่งสัญญาณแคลเซียมควบคุมการทำงานของโปรตีนหลายชนิดภายในเซลล์ นอกจากนี้แคลเซียมยังเกี่ยวข้องกับการคายน้ำในสภาพอากาศที่ร้อนต้องให้แคลเซียมมาก โดยสารแคลเซียมที่พืชต้องการในเนื้อเยื่อของพืชปริมาณร้อยละ 0.2 ถึง ร้อยละ 4.0 โดยน้ำหนักแห้ง ถ้าพืชขาดธาตุแคลเซียมทำให้รากเจริญเติบโตได้ไม่ดีอาการปรากฏชัดที่ใบอ่อน และเนื้อเยื่อเจริญ ใบอ่อนหงิกงอ ปลายยอดแห้งตาย รากแตกแขนงมากแต่รากจะสั้น รากเป็นสีน้ำตาล มีลักษณะลื่นเมื่อสัมผัส และส่งผลให้ลำต้นอ่อนแอลง (พรพิมล, 2552) และพืชไม่มีภูมิต้านทานโรค ส่วนพืชที่ได้รับแคลเซียมในปริมาณมากเกินไปอาจเกิดอาการขาดแมกนีเซียมหรือโพแทสเซียมได้

Chan *et al*. (2003) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของสาหร่าย *Enteromorpha crinita* ที่เก็บจากชายฝั่ง Little Palm มาทดลองในห้องปฏิบัติการ ทดสอบการดูดซับธาตุ แคดเมียม (Cd), โครเมียม (Cr), และสังกะสี (Zn) พบว่าสาหร่าย *Enteromorpha crinita* สามารถดูดซับสารสังกะสีได้สูงกว่า โครเมียม และแคดเมียม ตามลำดับ โดยสังกะสีเป็นธาตุที่จำเป็นต่อสิ่งมีชีวิต (Chan *et al*., 2003) แต่ต้องการในปริมาณที่น้อยมาก เนื่องจากสังกะสีเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของเอนไซม์หลายชนิด โดยในน้ำทะเลมีปริมาณสังกะสีน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L) สำหรับเหล็ก (Fe) มีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์เอนไซม์ส่วนสำคัญสำหรับเอนไซม์หลายชนิด และเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรม การขาดสังกะสี (Lobban and Harrison, 1994) โดยทั่วไปแล้วจะทำให้ใบหยุดการเจริญเติบโต ส่วนแมงกานีส (Mn) มีความสำคัญในการสร้างคลอโรพลาสต์ และช่วยกระตุ้นเอนไซม์ และทองแดงมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (พรพิมล, 2552) ทั้งนี้สาหร่ายมีความสามารถในการดูดซับสารอาหารได้ไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับตำแหน่งที่อยู่ของสาหร่าย ระยะเวลาที่สาหร่ายได้รับอิทธิพลจากน้ำขึ้นน้ำลง อุณหภูมิ ฤดูกาล และมลพิษ (Lobban and Harrison, 1994)

1.6 คุณค่าทางโภชนาการ และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสกุล *Ulva*

สาหร่ายสกุล *Ulva* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน (ตารางที่ 2) และโดยเฉพาะแร่ธาตุต่าง ๆ พบแร่ธาตุสูงกว่าร้อยละ 30 ของน้ำหนักแห้ง แร่ธาตุที่พบมากได้แก่ โพแทสเซียม และแคลเซียม (ตารางที่ 3) ในขณะที่ในสาหร่ายไส้ไก่ที่เก็บรวมรวมจากพื้นที่ชายฝั่งปัตตานีทางภาคใต้ของไทย พบว่าแมกนีเซียมมีค่าสูงสุด (Benjama and Masniyom, 2011) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

โภชนาการ	ปริมาณ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง
โปรตีน	12-15 กรัม
ไขมัน	0.3-1.5 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	46-53 กรัม
เถ้า	21-22.6 กรัม
วิตามินเอ	500-1300 IU
วิตามิน B1	0.04-0.6 มิลลิกรัม
กลุ่มวิตามินบีรวม	1-6 มิลลิกรัม
วิตามิน C	10-43.2 มิลลิกรัม
และ folic acid	42.9 ไมโครกรัม

ที่มา: Reine and Trono (2001)

ตารางที่ 3 ปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ในสาหร่ายสกุล *Ulva* ทะเล

แร่ธาตุ	ปริมาณ (ไมโครกรัมของน้ำหนักเปียกของสาหร่าย)
Potassium (K)	5,815.00
Calcium (Ca)	557.00
Titanium (Ti)	8.68
Vanadium (V)	4.12
Chromium (Cr)	2.48
Manganese (Mn)	1.56
Iron (Fe)	156.00
Cobalt (Co)	2.52
Nickel (Ni)	0.08
Copper (Cu)	1.58
Zinc (Zn)	17.00
Gallium (Ga)	0.27
Arsenic (As)	1.94
Selenium (se)	0.48
Bromine (Br)	68.40
Rubidium (Ru)	4.91
Strontium (Sr)	10.20
Zirconium (Zr)	2.71
Molybdenum (Mo)	0.66
Cadmium (Cd)	3.46
Mercury (Hg)	0.29
Lead (Pb)	0.58

ที่มา: ดัดแปรจาก Nisizawa (2002)

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 4 ธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ที่รวบรวมจากอ่าวปัตตานีช่วงฤดูร้อนเดือนเมษายน

ธาตุอาหาร	ปริมาณ (มิลลิกรัม/ร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง)
Mg	4,115.2
K	2,456.8
Ca	794.5
Na	1,711.9
Cl	3,094.0
P	455.7
Na/K ratio	0.55
Cu	0.6
Zn	1.5

ที่มา: ดัดแปรจาก Benjama and Masniyom (2011)

1.7 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.7.1) ศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.2) ศึกษาปัจจัยสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.3) ศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.4) ศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่บนวัสดุที่แตกต่างกัน *U. intestinalis*

Prince of Songkla University Pattani Campus