



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การใช้น้ำทิ้งจากนาุ้งเพื่อการเลี้ยงสาหร่ายวันและ

การสกัดวันในประเทศไทย

Application of Effluent from Shrimp Pond for Agarophyte Culture and

Agar Extraction in Thailand

โดย

ผศ. ดร. อนงค์ จีรภัทร์

วิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรกฎาคม พ.ศ. 2543



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การใช้น้ำทิ้งจากนากุ้งเพื่อการเลี้ยงสาหร่ายวุ้นและ

การสกัดวุ้นในประเทศไทย

Application of Effluent from Shrimp Pond for Agarophyte Culture and

Agar Extraction in Thailand

โดย

ผศ. ดร. อนงค์ จีรภัทร์

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรกฎาคม พ.ศ. 2543

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การใช้น้ำทิ้งจากนากังเพื่อการเลี้ยงสาหร่ายวันและ
การสกัดวันในประเทศไทย

ผู้วิจัย

ผศ.ดร. อนงค์ จีรภัทร์

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ศาสตราจารย์กาญจนาภรณ์ ลีวมโนมนต์

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ประเภท ทุนวิจัยหลังปริญญาเอก โครงการเลขที่ PDF 69/2540

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณอนันต์ ตันสุตะพานิช อดีตหัวหน้าสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง เพชรบุรี คุณชูชาติ ชัยรัตน์ หัวหน้าสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเพชรบุรีและคุณคงภพ อัมพลศักดิ์ หัวหน้าหน่วยวิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำจังหวัดเพชรบุรี และเจ้าหน้าที่ทุก ๆ ท่าน ที่กรุณาเอื้อเฟื้อ อำนวยความสะดวกทั้งในเรื่องสถานที่ บ่อทดลอง และห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณ อาจารย์ระพีพร เรืองช่วย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี และครอบครัว ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างสาหร่าย

ขอขอบคุณ คุณจิตติมา หมั่นกิจ คุณนิสราภรณ์ ภักดีพันธ์ คุณวิโรจน์ ภูรัตน์ และ คุณสุกัญญา ภูโปร่ง ที่ทุ่มเทกำลังกายกำลังใจช่วยเหลือทั้งการเตรียมบ่อ เก็บตัวอย่าง ข้อมูลและ วิเคราะห์ตัวอย่าง ทำให้งานวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จอย่างดียิ่ง

ผลงานวิจัยครั้งนี้ขออุทิศให้แด่ดวงวิญญาณของคุณคมกนิต วรไพบุลย์ ศิษย์ผู้ล่วงลับ ที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและข้อมูลให้แก่โครงการวิจัยครั้งนี้

Project Code : PDF4080069

Project Title : การใช้น้ำทิ้งจากนาุ้งเพื่อการเลี้ยงสาหร่ายวันและการสกัดวันในประเทศไทย

Investigators : อนงค์ จิรภัทร์ และ กาญจนภาชนิ ลิ้มโนมนต์

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail Address : ffisanon@nontri.ku.ac.th

Project Period : 3 ปี

สาหร่ายวัน *Gracilaria fisheri* (Xia et Abbott) Abbott, Zhang et Xia และ *G. tenuistipitata* Chang et Xia var. *tenuistipitata* Chang et Xia, ได้นำมาเลี้ยงในสภาพบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง (บ่อที่ 1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (บ่อที่ 2) โดยวิธีการเลี้ยงแบบสอดเส้นเชือก ตั้งแต่เดือนมกราคม 2541 ถึงเดือนกรกฎาคม 2542, โดยทั่วไปสาหร่ายทั้งสองชนิด ซึ่งเลี้ยงในบ่อที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตโดยรวมดีกว่าสาหร่ายวันที่เลี้ยงในบ่อที่ 2, อัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตโดยรวมของ *Gracilaria* ที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 เพิ่มขึ้นในช่วงเดือนที่มีฝน และมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด 3.08 ± 1.14 % ต่อวัน (*G. fisheri*) และ 2.68 ± 1.76 % ต่อวัน (*G. tenuistipitata*) ในเดือนมกราคม 2542, ในทางตรงข้าม ในบ่อที่ 2 สาหร่ายทั้งสองชนิดมีการแปรผันของการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย โดยมีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด 1.85 ± 1.00 % ต่อวัน (*G. fisheri*) และ 1.70 ± 0.49 % ต่อวัน (*G. tenuistipitata*) ในช่วงฤดูฝน (สิงหาคม 2541). หลังจากนั้น *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงทั้งในบ่อที่ 1 และ 2 เริ่มเสื่อมลงอย่างรวดเร็วในช่วงฤดูร้อน, *G. fisheri* และ *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 2 ให้ผลผลิตโดยรวมเป็นน้ำหนักสดสูงสุด 1000 กรัม และ 961 กรัม ตามลำดับ ในเดือนมกราคม 2542 การเจริญเติบโตและผลผลิตโดยรวมของสาหร่ายทั้งสองชนิด แปรผันขึ้นอยู่กับสภาวะจำเพาะของการเลี้ยงในแต่ละบ่อ รวมทั้งสายพันธุ์และฤดูกาล. ผลการวิเคราะห์สมบัติของวันที่สกัดจากสาหร่ายทั้งสองชนิดพบว่า *G. fisheri* ให้ปริมาณวันสูงสุด 44.13 % ในบ่อที่ 1 และ 44.96 % ในบ่อที่ 2 ในขณะที่ *G. tenuistipitata* ให้ปริมาณวันสูงสุด 39.28 % และ 36.50 % ในบ่อที่ 1 และ 2 ตามลำดับ วันที่สกัดจาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 มีค่าความแข็งของวันสูงสุด 740 ± 28 g/cm² ในเดือนกรกฎาคม 2542 ผลจากการศึกษาได้ข้อเสนอนี้ว่า *G. fisheri* สามารถเจริญเติบโตได้ตลอดทั้งปี และเหมาะสมมากกว่า *G. tenuistipitata* ในการนำมาเลี้ยงในสภาพบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง คุณภาพของวันที่สกัดจากสาหร่ายทั้งสองชนิด ไม่เพียงขึ้นอยู่กับสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำแต่ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมอื่น เช่นความเค็มของน้ำทะเล. สาหร่ายวันชนิดนี้ให้ปริมาณวันสูงกว่าเมื่อเทียบกับสาหร่ายสกุล *Gracilaria* ชนิดอื่น และให้สมบัติวันที่เทียบได้กับวันเกรดการค้า สาหร่ายทั้งสองชนิดนี้มีศักยภาพสูงที่จะใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบ เพื่อการผลิตวันในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

Keywords : การเจริญเติบโต, คุณภาพวัน, บ่อเลี้ยงธรรมชาติ, ผลผลิต, สาหร่ายวันไทย

Project Code : PDF4080069

Project Title : Application of Effluent from Shrimp Pond for Agarophyte Culture and Agar Extraction in Thailand

Investigators : Anong Chirapart and Khanjanapaj Lewmanomont

Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University

E-mail Address : ffisanc@nontri.ku.ac.th

Project Period : 3 years

Growth rate determination of the Thai agarophytes, *Gracilaria fisheri* (Xia et Abbott) Abbott, Zhang et Xia and *G. tenuistipitata* Chang et Xia var. *tenuistipitata* Chang et Xia, were conducted by monoline method in natural earthen ponds (800 m² in area) using shrimp effluents (P1) and ambient seawater (P2), from January 1998 to July 1999. Generally, plants of both species cultured in P1 showed a better growth rate and total production than those cultured in P2. Growth rates and total production of *Gracilaria* cultured in P1 increased in the rainy months and reached a maximum value of 3.08 ± 1.14 %day⁻¹ for *G. fisheri* and 2.68 ± 1.76 %day⁻¹ for *G. tenuistipitata* in January 1999. In contrast, growth of both species cultured in P2, projected a slight change in their growth rates, with maximum value of 1.85 ± 1.00 %day⁻¹ for *G. fisheri* and 1.70 ± 0.49 %day⁻¹ for *G. tenuistipitata* attained in the rainy period (August 1998). All plants of *G. tenuistipitata* declined drastically in the following dry season. Total production of *G. fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in P1 showed the highest value of 1000 g wet wt. and 961 g wet wt. in January 1999, respectively. Plants of both species showed fluctuation in growth and total production, depending on specific culture conditions of each pond, alga strain used, and on the season. Agar extracted from both *Gracilaria* species, was analysed. The results showed that the highest agar yields were obtained from *G. fisheri* cultured in ambient seawater (44.96%) and shrimp farm effluent (44.13%). *G. tenuistipitata* yielded only 36.50 % and 39.28 % agar in ambient seawater and shrimp farm effluent, respectively. However, towards the end of the culture period (July 1999), higher gel strength (740 ± 28 g cm⁻²) was obtained from *G. fisheri* cultured in shrimp farm effluent. The results suggest that *G. fisheri* can be grown all year round and is more suitable than *G. tenuistipitata* for earthen pond cultivation using shrimp pond effluents. The agar quality of the Thai agarophytes is depended not only on nutrient enrichment, but also on the other environmental factors such as the salinity of seawater and the agarophytes produced comparable higher yields to other *Gracilaria* species and good agar properties to those of commercial grade agars. These agarophytes have a high potential as an essential source of agar for food industry gels.

Keywords : agar quality, growth, natural culture pond, production, Thai agarophyte

Executive Summary

In the last few years, intensive cultivation of shrimp has expanded considerably in many coastal areas of Thailand. Generally, shrimp culture activities begin in early March and end between November and February. The intensification of shrimp farming has affected the coastal environment of the country. This is because waste water from the shrimp farms usually contain large amounts of nitrogen compounds from shrimp faeces and uneaten feed. Integrated cultivation of the Thai agarophyte *Gracilaria fisheri* with fish has been attempted in outdoor tanks and ponds. However, its production has not been successful. There have been very few reports on seaweed growth in Thailand, particularly on its seasonal changes in relation to environmental factors.

This research project was carried out with the objective of developing *Gracilaria* culture in Thailand, for agar extraction. Two Thai agarophytes, *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* were cultured in natural earthen ponds using shrimp effluent and ambient seawater. Annual growth and production of the algae as affected by changes in environmental conditions, and their chemical compositions (chlorophyll, r-phycoerythrin, C:N ratio) were determined. Yield and agar quality extracted from the cultured agarophytes were examined. The effects of environmental factors and shrimp effluent on growth, growth rate production, agar quality, and chemical composition of the agarophytes cultured in natural earthen ponds were also determined.

The results provide further evidence that the Thai agarophytes can be grown under natural earthen pond conditions using shrimp pond effluent all year-round. *Gracilaria fisheri* showed a better growth, suggesting that this species is more suitable for outdoor cultivation in Thailand. However, growth of the algae has a potential to improve with a higher rate of water exchange.

Algae production can be improved using shrimp effluent in culture ponds giving high yield and quality comparable to commercial agar. However, there are more questions which need further answers. More studies need to be done to improve the techniques of cultivation system to stabilize high production and agar quality of the algae, and to further species and strain selection for yield and quality increase and resistance improvement.

บทนำ

สาหร่ายทะเลสกุล *Gracilaria* เป็นสาหร่ายสีแดงที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ โดยนำมาสกัดวันใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมอาหารกระป๋อง, เครื่องดื่ม, เครื่องสำอางค์, ยา รักษาโรค, อุตสาหกรรมกระดาษ, สิ่งทอ และปิโตรเลียม ตลอดจนนำมาใช้ในงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพ, โดยทั่วไปวันที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆส่วนใหญ่ ได้มาจากสาหร่ายทะเลในสกุล *Gelidium* และสกุล *Gracilaria*, แม้ว่าวันที่ได้จากสาหร่ายสกุล *Gelidium* จัดเป็นวันที่มีคุณภาพสูงกว่าวันที่ได้จากสาหร่ายสกุล *Gracilaria* แต่ด้วยวิธีการใช้ Alkali Treatment ทำให้สามารถปรับคุณภาพของวันจาก *Gracilaria* ให้ดีเทียบเท่าวันจาก *Gelidium* ได้, โดยเหตุที่สาหร่ายสกุล *Gelidium* มีการแพร่กระจายที่จำกัดเฉพาะบางพื้นที่ในบางประเทศ และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับสาหร่ายสกุล *Gracilaria* ซึ่งมีการแพร่กระจายได้ทั่วโลก (cosmopolitan species) ในปริมาณและอัตราการเจริญเติบโตที่สูง อีกทั้งความต้องการใช้วันซึ่งมีเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ตามการขยายตัวของอุตสาหกรรมและการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร ในหลายประเทศจึงได้มีการทำฟาร์มเพาะเลี้ยงสาหร่ายวันสกุล *Gracilaria* ขึ้น.

สำหรับประเทศไทยได้เคยมีรายงานการส่งออกสาหร่ายวันแห้งไปขายยังต่างประเทศในปี พ.ศ. 2537 คิดเป็นมูลค่า 31.4 ล้านบาท โดยประเทศผู้รับซื้อหลักคือญี่ปุ่น อย่างไรก็ตามปริมาณการนำเข้าวันแปรรูปจากสาหร่ายคิดเป็นมูลค่าถึง 354.6 ล้านบาท (กรมศุลกากร, 2537-2539) ซึ่งมีมูลค่ามากกว่าการส่งออกสาหร่ายแห้งหลายเท่า แม้ว่าประเทศไทยจะได้เคยมีความพยายามผลิตวันจากสาหร่ายสกุล *Gracilaria* แต่เนื่องจากการขาดแคลนวัตถุดิบ ซึ่งส่วนใหญ่เก็บเกี่ยวจากแหล่งธรรมชาติ และมีไม่เพียงพอต่อการป้อนเข้าสู่โรงงานอย่างต่อเนื่อง ด้วยเหตุนี้นักวิชาการและคณาจารย์ในหน่วยราชการต่างๆที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ กรมประมง และคณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายวัน รวมถึงปัญหาที่เกิดขึ้น จึงได้มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายวันขึ้น โดยทดลองเลี้ยงสาหร่ายวันด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การเลี้ยงโดยใช้สปอร์, การเลี้ยงโดยวิธีการแขวนเส้นเชือก, การเลี้ยงโดยใช้ตาข่ายแขวนลอย, และการเลี้ยงในบ่อเป็นต้น อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องจากขาดข้อมูลพื้นฐานที่สำคัญ, ขาดความรู้ ความชำนาญ ในด้านเทคนิค, รวมทั้งขาดแคลนผู้เชี่ยวชาญเฉพาะในด้านสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ (marine macroalgae) และประจวบกับในช่วงระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา หน่วยราชการและเอกชนที่เกี่ยวข้องหันไปให้ความสนใจสนับสนุน การพัฒนาอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์น้ำกันอย่างกว้างขวางในทั่วประเทศ ทำให้การศึกษาเพื่อพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายวันต้องหยุดชะงักลง

ในปัจจุบัน ด้วยสาเหตุจากการขยายตัวของอุตสาหกรรมเลี้ยงสัตว์น้ำที่มากเกินไป โดยเฉพาะการเลี้ยงสัตว์น้ำโดยวิธี Intensive farming ซึ่งมีการให้อาหารในปริมาณมาก เพื่อเร่งผลผลิตให้สูงขึ้นในระยะเวลาสั้น ได้ส่งผลกระทบต่อความสมดุลของสภาพแวดล้อมบริเวณชายฝั่งเป็นอย่างมาก

มาก เนื่องจากมีการระบายน้ำทั้งจากการเลี้ยงสัตว์น้ำลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติโดยตรง ซึ่งน้ำทิ้งเหล่านี้ ประกอบด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ รวมทั้งตะกอนแขวนลอยต่างๆในระดับที่สูงจนเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำ ทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตและแพร่ขยายพันธุ์ต่อไปได้ อีกทั้งยังก่อให้เกิดปัญหามลภาวะของน้ำบริเวณชายฝั่งอีกด้วย ปัญหาที่เกิดขึ้นดังกล่าวได้มีการพยายามแก้ไขในหลายวิธี โดยหน่วยราชการในกรมประมงและเอกชนที่เกี่ยวข้อง เช่นการเปลี่ยนจากการเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบเปิดมาเป็นการเลี้ยงสัตว์น้ำในระบบปิด, โดยวิธีนี้สามารถแก้ปัญหามลภาวะของการเลี้ยงสัตว์น้ำได้ในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามปัญหามลภาวะของการปล่อยน้ำเสียลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติยังคงมีอยู่

นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองนำน้ำทิ้งเหลือใช้จากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำธรรมชาติมาใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย เพื่อให้สาหร่ายดูดซับแร่ธาตุอาหารซึ่งเป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ต่างๆ ไปใช้ในการเจริญเติบโต วิธีนี้ได้ริเริ่มขึ้นในปีพ.ศ.2537 โดย ศาสตราจารย์ กาญจนภาสกร ลิ้มโนมนต์ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับสถานีวิจัยเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี, ทำการทดลองเลี้ยงสาหร่ายวันสกุล *Gracilaria* ในบ่อเก็บกักน้ำทิ้งจากนาุ้ง, ซึ่งจากการสำรวจเบื้องต้นพบว่าสาหร่ายวันมีการเจริญเติบโตดี และน้ำที่ได้ภายหลังจากการใช้เลี้ยงสาหร่ายมีสภาพดีขึ้น

จากการศึกษาเบื้องต้นดังกล่าว ทำให้เกิดแนวความคิดที่จะพัฒนาการเลี้ยงสาหร่ายวันขึ้น โดยการใช้ประโยชน์จากน้ำทิ้งดังกล่าวมาใช้ในการพัฒนาการเลี้ยงและเพิ่มผลผลิตสาหร่าย, เพื่อนำผลผลิตของสาหร่ายวันที่ได้มาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างครบวงจร โดยวิธีนี้นอกจากจะสามารถใช้สาหร่ายช่วยในการบำบัดน้ำและตกตะกอนสารแขวนลอยต่างๆของน้ำในบ่อแล้ว ยังเป็นการเพิ่มผลผลิตของสาหร่ายวันโดยใช้ต้นทุนที่ต่ำเมื่อเทียบกับอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์น้ำประเภทอื่น ซึ่งนอกจากจะช่วยแก้ปัญหามลภาวะของแหล่งน้ำแล้วยังได้ประโยชน์จากการแปรรูปสาหร่ายเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆในประเทศด้วย

อย่างไรก็ตามในการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายวัน โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อการสกัดวันใช้ในอุตสาหกรรมประเภทต่างๆ ซึ่งในระบบของการเลี้ยงสาหร่ายไม่ว่าจะเป็นการเลี้ยงในทะเลหรือในสภาพบ่อธรรมชาติ ปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่ต้องพิจารณาถึงก็คือปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมโดยรอบ ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิและความเค็มของน้ำ, ความเข้มแสง, ปริมาณอาหาร และกระแสน้ำ เป็นต้น การผันแปรของการเจริญเติบโตและความหนาแน่นของประชากร รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงในทางสัณฐานวิทยาของสาหร่ายล้วนได้รับอิทธิพลโดยตรงจากสภาวะแวดล้อมที่สาหร่ายเจริญอยู่ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมใด ๆ ที่ให้ผลกระทบต่อการเจริญเติบโต จะส่งผลกระทบต่อสารประกอบไฟโคคอลลอยด์หรือสารประกอบชีวเคมีต่างๆภายในเซลล์ด้วย (McLachlan และ Bird, 1986; Craigie และ Wen, 1984; Daugherty และ Bird, 1988; Christeller และ Laing, 1989).

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารอาหารและอุณหภูมิของน้ำต่อผลผลิตและอัตราการเจริญเติบโตได้เคยมีรายงานไว้ใน *Gracilaria* หลายชนิด (Friedlander และคณะ, 1993; Ekmam และ

Pedersén, 1990). Chirapart และ Ohno (1993a) ได้ทำการเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย *Gracilaria verrucosa* และ *G. salicornia* จากอ่าวมะนิลา ประเทศ Philippines กับสาหร่าย *G. fisheri* และ *G. firma* จากประเทศไทย ซึ่งนำไปทดลองเลี้ยงไว้ในบ่อซีเมนต์กลางแจ้งด้วยระบบ flow through seawater ที่ Usa Marine Biological Institute, Kochi University ประเทศญี่ปุ่น ภายใต้ระบบการเลี้ยงดังกล่าว *G. verrucosa* มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุดต่อวัน 24.35% รองลงมาคือ *G. fisheri* 14.26%, *G. salicornia* 12.71% และ *G. firma* 10.76% โดยที่สาหร่าย 2 ชนิดแรกมีการเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 °C ในขณะที่ 2 ชนิดหลังเจริญเติบโตดีที่สุดที่อุณหภูมิ 27 °C

ผลกระทบของอุณหภูมิต่ออัตราเจริญเติบโตและคุณภาพของวุ้นที่ได้จาก *G. lemaneiformis* (หรือ *Gracilaria* sp. chorda type) ที่เลี้ยงในระบบ closed-recirculating seawater system (aquatron) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายชนิดนี้ อยู่ในช่วง 16-17 °C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่สาหร่ายให้วุ้นที่มีคุณภาพดีที่สุด (Chirapart และคณะ, 1994). นอกจากนี้การผันแปรของปริมาณวุ้น (agar yield) และความแข็งของวุ้น (gel strength) ยังขึ้นกับฤดูกาล, ชนิด, อายุ, และ life stage ของสาหร่ายด้วย (Whyte และคณะ, 1981; Bird และ Ryther, 1990; Pickering และคณะ, 1990; Chirapart และ Ohno, 1993b). โดยทั่วไป ปริมาณวุ้นจะมีค่าลดลงในระหว่างช่วงที่สาหร่ายมีการเจริญเติบโตเร็ว (Christiaen และคณะ, 1987; Christeller และ Laing, 1989; Bird และ Ryther, 1990) และ gel strength จะมีค่าสูงในช่วงที่มีสาหร่ายอุดมสมบูรณ์มากที่สุด (Asare, 1980; Whyte และคณะ, 1981; Lahaye และ Yaphe, 1988; Pickering และคณะ, 1990). วุ้นที่ได้จาก *Gracilaria* บางชนิดอาจพบว่ามีค่า gel strength ต่ำและปริมาณซัลเฟตสูง ในช่วงฤดูร้อนซึ่งมีอุณหภูมิของน้ำทะเลสูง (Hoyle, 1978; Craigie และ Wen, 1984; Cote และ Hanisak, 1986; Christiaen และคณะ, 1987; Chirapart และ Ohno, 1993b). ความเค็มที่สูงและอุณหภูมิที่ต่ำของน้ำทะเล ในช่วงฤดูหนาวมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของค่า gel strength ของวุ้นดังที่มีรายงานจาก *G. lemaneiformis* (หรือ *Gracilaria* sp. chorda type) ที่เจริญในอ่าว Tosa ประเทศญี่ปุ่น (Chirapart และ Ohno, 1993b) และจากการทดลองเลี้ยง *G. verrucosa* strain G-16 ในระบบ green house พบว่ากำลังผลิตของสาหร่ายและ gel strength ของวุ้นต่ำลงเมื่อน้ำทะเลมีความเค็มลดลง (Daugherty และ Bird, 1988).

สารอาหารที่มีอยู่ในน้ำทะเลเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพวุ้นของสาหร่าย จากรายงานการศึกษาการเลี้ยงสาหร่าย *G. tikvahiae* ในระบบควบคุมสภาวะการเลี้ยงพบว่า สาหร่ายที่เลี้ยงอยู่ในสภาวะที่ขาดสารอาหารไนโตรเจน จะให้ปริมาณวุ้นสูงกว่าสาหร่ายที่เลี้ยงและได้รับสารอาหารไนโตรเจนอย่างพอเพียง แต่วุ้นที่ได้มีคุณภาพต่ำ (Bird และคณะ, 1981; Patwary และ van der Meer, 1983; Cote และ Hanisak, 1986) โดยทั่วไปในสภาวะที่มีสารอาหารไนโตรเจนสูง (nitrogen enrichment) และมีแสงเพียงพอ คุณภาพของวุ้นที่ได้จะมีค่า gel strength สูงด้วย ในขณะที่สภาวะเช่นเดียวกันนี้ปริมาณวุ้นให้ความสัมพันธ์ในทางกลับกัน (Ekman และ

Pedersén, 1990) อย่างไรก็ตามบางรายงานพบว่าค่า gel strength ของวุ้นลดลงเมื่อมีการเพิ่มระดับไนโตรเจนในน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยง *Gracilaria* (Christeller และ Laing, 1989)

จากที่กล่าวมาข้างต้น สาหร่ายหลายชนิดในสกุล *Gracilaria* ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาด้านต่าง ๆ ซึ่งแต่ละชนิดให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน สำหรับในประเทศไทยแม้ว่าจะได้เคยมีการศึกษาการเลี้ยงสาหร่ายวุ้น โดยใช้เทคนิคต่าง ๆ (วิวรรณ และ อรุณ, 2537; วิวรรณ และ คณะ, 2538) แต่อย่างไรก็ตามยังขาดการศึกษาข้อมูลพื้นฐานหลายอย่างที่สำคัญ ซึ่งจำเป็นต้องมีการศึกษาวิจัยอย่างละเอียด โครงการวิจัยครั้งนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาฤดูกาลการเจริญเติบโต, อัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตโดยรวมของสาหร่ายที่เลี้ยงได้ รวมทั้งปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของสาหร่าย, องค์ประกอบทางเคมีต่างๆของสาหร่ายที่เลี้ยงได้และคุณภาพของวุ้น ซึ่งข้อมูลพื้นฐานต่างๆที่ได้จากการวิจัยนี้ จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงสาหร่าย และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติให้คุ้มค่าและยั่งยืนสืบไปในอนาคต

วิธีดำเนินการ

การเตรียมบ่อทดลอง

สภาพทั่วไปของบ่อดินที่ใช้ทดลองเลี้ยง 2 บ่อ มีขนาดบ่อละ 0.5 ไร่ (800 m²) ความลึกของแต่ละบ่อประมาณ 150 เซนติเมตร สภาพเดิมเป็นบ่อที่เคยใช้เลี้ยงปลา พื้นบ่อมีสภาพเป็นโคลนและโคลนปนเลน บริเวณขอบบ่อมีต้นชะครามขึ้นโดยรอบ ภายในบ่อมีหอยฝาเดียวจำพวกหอยขึ้นกะอยู่กระจัดกระจายบริเวณพื้นบ่อจำนวนมาก และมีเมล็ดของหญ้าทะเล (*Ruppia maritima* Linnaeus) จมอยู่ในโคลน

ในการเตรียมบ่อดินเพื่อการทดลองเลี้ยงสาหร่าย โดยการทำความสะดวกบ่อ กำจัดพืชน้ำจืดพวกหญ้าทะเล ที่ขึ้นปะปนอยู่ในบ่อ สูบน้ำและโคลนเลนบางส่วนออกจากบ่อ จากนั้นตากบ่อให้แห้งสนิท แล้วปล่อยน้ำเข้าบ่ออีกครั้ง เพื่อให้เมล็ดหญ้าทะเลที่ยังคงหลงเหลืออยู่ในบ่อออกไหม่ สูบน้ำออกและตากบ่ออีกครั้ง ทำสลับกันเช่นนี้ประมาณ 3-4 ครั้ง จนไม่พบหญ้าทะเลขึ้นอีก ภายหลังจากตากบ่อจนแห้งสนิทแล้ว จึงติดตั้งระบบท่อลมที่พื้นบ่อ โดยใช้ท่อ PVC ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7/8 นิ้ว เจาะรูด้วยสว่าน เป็นระยะๆห่างกันประมาณ 1 เมตร ที่ปลายท่อต่อกับท่อปัมลมด้วยสายยาง เพื่อให้อากาศหมุนเวียนภายในบ่อระหว่างการเลี้ยง ท่อลม PVC นี้ถูกยึดติดกับพื้นบ่อโดยใช้ไม้ไผ่ผ่าปลายแยกเป็นแฉก หนีบยึดให้ท่อลมติดกับพื้นบ่อ จากนั้นโรยหินกรวดให้กระจายทั่วพื้นบ่อ เพื่อให้เป็นที่ยึดเกาะของสปอร์สาหร่ายที่อาจถูกปล่อยออกมาจากท่อนพันธุ์ในระหว่างการเลี้ยง หลังจากเตรียมบ่อเรียบร้อยแล้ว จึงสูบน้ำเข้าบ่อทดลอง น้ำที่ใช้ในการทดลองกำหนดให้ บ่อหนึ่งใช้น้ำกึ่งจากการเลี้ยงกุ้ง และอีกบ่อหนึ่งใช้น้ำทะเลธรรมชาติ

การเตรียมตัวอย่างสาหร่ายวัน

เก็บรวบรวมตัวอย่างสาหร่ายวัน 2 ชนิดคือ *Gracilaria fisheri* (Xia et Abbott) Abbott, Zhang et Xia และ *G. tenuistipitata* Chang et Xia var. *tenuistipitata* Chang et Xia จากบริเวณอ่าวปัตตานี จังหวัดปัตตานี นำมาล้างเอาดินตะกอนออกด้วยน้ำทะเล บรรจุใส่กล่องโฟมและนำกลับมากักเลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ ที่สถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี เพื่อให้ตัวอย่างสาหร่ายทั้งสองชนิดปรับตัวและเจริญอยู่ได้ในสภาพแวดล้อมของบ่อทดลองซึ่งเตรียมไว้ข้างต้น โดยใช้ระยะเวลาในการปรับตัวประมาณ 6 เดือน

การเลี้ยงสาหร่ายวัน

การเลี้ยงแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลองคือ

ชุดที่ 1 เลี้ยงสาหร่ายในบ่อดินธรรมชาติ โดยใช้น้ำทั้งจากนาุ้ง น้ำที่ใช้ในการเลี้ยงสาหร่ายนี้ นำมาจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำของหน่วยวิจัยและทดสอบพันธุ์สัตว์น้ำ ซึ่งตั้งอยู่ในเขตของสถานีเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง จังหวัดเพชรบุรี น้ำจากนาุ้งดังกล่าวปริมาตรประมาณ 350 ลูกบาศก์เมตร ถูกปั๊มผ่านตุกรองขนาดช่องตา 2 มิลลิเมตร เพื่อผสมกับน้ำทะเลธรรมชาติ (ประมาณ 650 ลูกบาศก์เมตร) ในบ่อทดลองที่ 1

ชุดที่ 2 เลี้ยงสาหร่ายวันในบ่อดิน โดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติเพียงอย่างเดียว ไม่มีการให้ปุ๋ยหรือสารอาหาร น้ำทะเลธรรมชาติปริมาตรประมาณ 1000 ลูกบาศก์เมตร ปั๊มจากคลองส่งน้ำทะเลโดยตรงผ่านตุกรอง ขนาดช่องตา 2 มิลลิเมตร ลงในบ่อทดลองที่ 2

การเลี้ยงสาหร่ายวันทำโดยใช้วิธีสอดเส้นเชือก (รูปที่ 1) คัดเลือกสาหร่ายวันที่แข็งแรงสมบูรณ์ 50 ตัวอย่างต่อชนิด (น้ำหนักประมาณ 5-10 กรัมต่อตัวอย่าง) นำมาสอดเข้าไปในเกลียวเชือกในลอน ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.3 มิลลิเมตร โดยเว้นระยะห่างของแต่ละท่อนพันธุ์ประมาณ 15 เซนติเมตร น้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 250-500 กรัมต่อความยาวเส้นเชือก 10 เมตร ที่ปลายของเส้นเชือกแต่ละด้านผูกยึดติดกับหลักไม้ ให้สาหร่ายจมอยู่ใต้ผิวน้ำ เหนือระดับพื้นก้นบ่อประมาณ 15 เซนติเมตร และความสูงของระดับน้ำในบ่อทดลองประมาณ 1 เมตร ทำการทดลองทั้งหมด 10 เส้นต่อชนิด ในระหว่างการทดลอง มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำใหม่ในปริมาตร 1 ใน 3 ของน้ำที่ใช้เลี้ยง หรือ 70 % ของปริมาตรน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย ทุกๆสัปดาห์ หรือ ทุกช่วง 7-14 วัน และมีการให้อากาศผ่านท่อลมตลอดเวลา เพื่อให้มีการหมุนเวียนของมวลน้ำและสารอาหาร (รูปที่ 2)

การเก็บเกี่ยวและตรวจวัดการเจริญเติบโต

เก็บเกี่ยวและตรวจชั่งน้ำหนักสดของสาหร่ายวัน ภายหลังจากการเลี้ยงทุกๆ ช่วง 7-14 วัน และคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตสัมพัทธ์ (relative daily growth rate) เป็นเปอร์เซ็นต์ต่อวัน ตามสูตรสมการของ Penniman และคณะ (1986) ดังนี้

$$RGR = \{(W_t/W_0)^{1/t} - 1\} \times 100$$

เมื่อ RGR = relative daily growth rate

W_0 = น้ำหนักสดเริ่มต้น

W_t = น้ำหนักสดภายหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา t วัน

t = เวลา (วัน)

จากนั้นชั่งน้ำหนักกลับสู่น้ำหนักเริ่มต้นเดิมและนำกลับลงเลี้ยง (re-stocked) ต่อไป ตรวจวัดผลผลิตรวมของสาหร่ายวันในรูปของน้ำหนักสดเป็นกรัมทุกๆ เดือน ผลผลิตของตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บเกี่ยวได้นำมาล้างเอาดินตะกอน, เศษหินและสิ่งปนเปื้อนอื่นๆ ออกด้วยน้ำทะเลที่สะอาด จากนั้นทำให้แห้งและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อการวิเคราะห์วันต่อไป

การตรวจวัดปริมาณเมดิคลอโรฟิลล์และไฟโคบิลิน

ตรวจวัดปริมาณเมดิคลอโรฟิลล์ (mg/g tissue, น.น.สด) และไฟโคบิลิน (mg/g tissue, น.น. สด) โดยวิธี Colorimetric ด้วยเครื่อง spectrophotometer ภายหลังจากทำให้เซลล์แตกและสกัดเมดิคลอโรฟิลล์ด้วย acetone สำหรับคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ Mackinney (1941) และด้วยน้ำกลั่นสำหรับไฟโคบิลิน ตามวิธีของ MacColl และ Guard-Friar (1987)

การวัดค่าคาร์บอนและไนโตรเจนในเนื้อเยื่อสาหร่าย

นำตัวอย่างสาหร่ายแห้งมาล้างเอาเกลือออกที่ยังตกค้างอยู่ในตัวอย่างออกให้หมดด้วยประปา จากนั้นทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและเก็บรักษา เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนโดยใช้วิธีของ Walsh และ Beaton (1973)

การตรวจวัดสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของน้ำในบ่อเลี้ยงสาหร่าย

ระหว่างการเลี้ยง ตรวจวัดอุณหภูมิ, ความเค็ม, ความขุ่นของน้ำ (turbidity), ความเป็นด่างของน้ำ (alkalinity), total dissolved inorganic nitrogen (ammonia, nitrite, nitrate) และ phosphate-phosphorus ในน้ำทุกๆ สัปดาห์ ทั้งก่อนและหลังการเก็บสาหร่าย alkalinity และ ammonia-N ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีของ APHA, AWWA และ WPCF (1980), phosphate-phosphorus, nitrate-N และ nitrite-N ตรวจวิเคราะห์ตามวิธีของ Strickland และ Parsons (1972)

การเตรียมตัวอย่างและการสกัดวัน

สาหร่ายวันแห้งที่เตรียมไว้ข้างต้น นำมาแช่ด้วยน้ำจืดเป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อล้างเกลือและสิ่งปนเปื้อนที่ตกค้างอยู่ออกให้หมด จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5-2.0 เซนติเมตร ฟอกสีด้วย acetone 3-4 ครั้ง หรือจนกระทั่ง acetone ไม่มีสีปนออกมาอีก และทำให้แห้งภายใต้อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาไว้เพื่อการสกัดวันต่อไป

1. การทำ Alkali Treatment

นำตัวอย่างสาหร่ายแห้งที่ฟอกสีแล้วข้างต้น 30 กรัม มาบ่มในสารละลาย 5% โซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างด้วยน้ำประปาเป็นเวลา 30 นาที เพื่อล้างส่วนเกินของโซเดียมไฮดรอกไซด์ออก จากนั้นนำมาทำให้เป็นกลาง โดยเขย่าในสารละลาย กรดซัลฟูริก (2%) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างเอากรดออกด้วยน้ำประปาที่สะอาดอีก 12-15 ชั่วโมง

2. การสกัดวัน

นำตัวอย่างสาหร่ายวันแห้งที่เตรียมไว้ในข้อ 1 มาต้ม ในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 30 (น.น./ปริมาตร) โดยใช้ heating mantle ภายใต้สภาวะกลั่นควบแน่นด้วยหลอดคอนเดนเซอร์ (reflux condenser) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง สารละลายวันที่สกัดได้นำมารองผ่านผ้าขาวบาง (muslin cloth) จากนั้นทิ้งไว้ให้แข็งตัวที่อุณหภูมิห้อง (24-26°C) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ -20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาละลายน้ำแข็งออกโดยล้างด้วยน้ำประปาที่สะอาด วันที่ได้นำมาทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง เพื่อการตรวจวัดปริมาณวัน (agar yield)

3. การวิเคราะห์สมบัติของวัน

3.1 สมบัติทางกายภาพ

การตรวจวัดสมบัติทางกายภาพของสารละลายวัน 1.5% โดยเตรียมจากผงวันที่สกัดได้ (crude agar powder) 9 กรัม ต้มในน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร เป็นเวลา 60 นาที นำสารละลายวัน 1.5% มาวัดค่าความหนืด (viscosity) ที่ 80°C ด้วยเครื่อง Brookfield SYNCHRO-ELECTRIC Viscometer (spindle number 3, speed rpm 50, Model RVT, Brookfield Engineering Laboratory, Inc. Stoughton Massachusetts U.S.A), ค่าความแข็งของวัน (gel strength) วัดที่อุณหภูมิ 20°C ด้วยเครื่อง Texture Analyzer (TA.XT 2 Texture Analyzer, SMS Stable Micro Systems, England)

ตรวจวัดค่า Dynamic gelling temperature ของสารละลายวุ้น (1.5%), 10 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองขนาด 15 มม.×120 มม.ที่อุณหภูมิ 20°C, วัดอุณหภูมิขณะที่ผิวหน้าของสารละลายวุ้นเริ่มแข็งตัว

ค่าจุดหลอมเหลวของวุ้น (gel melting point) ตรวจวัดจากสารละลายวุ้น (1.5%) 10 มิลลิลิตร ที่แข็งตัวในหลอดทดลองปิดด้วยฝาเกลียวขนาด 10 มม. × 100 มม. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 20 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวัดค่าจุดหลอมเหลวของวุ้นโดยคว่ำหลอดตัวอย่างวุ้นลงใน water bath ซึ่งปรับให้ค่อยๆเพิ่มความร้อนขึ้น 1°C ต่อนาที บันทึกอุณหภูมิเมื่อวุ้นเหลวตกลงด้านล่างหลอดตัวอย่าง เป็นค่าจุดหลอมเหลวของวุ้น

การวัดปริมาณความชื้นของวุ้น (moisture content) ตัวอย่างวุ้นผงประมาณ 50 มิลลิกรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในตู้ desiccator บันทึกน้ำหนักสุดท้ายในช่วงเวลา 30 นาที หลังจากทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccator

3.2 สมบัติทางเคมี

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ total carbohydrate ของวุ้นโดยวิธี phenol-sulfuric acid method (Dubois *et al.*, 1956) โดยใช้ galactose เป็น standard

ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ 3,6 anhydrogalactose ในวุ้น โดยวิธี resorcinol-acetal method (Yaphe and Arsenault, 1965) โดยใช้ D-fructose เป็น standard

ปริมาณซัลเฟต (sulfate content) ในวุ้น ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Turbidimetric method ภายหลังจากการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก (Craigie *et al.*, 1984)

สมบัติของวุ้นที่สกัดได้นำมาเปรียบเทียบกับสมบัติของวุ้นมาตรฐาน โดยวุ้นมาตรฐานที่นำมาใช้เปรียบเทียบได้จากวุ้นเกรดอาหาร (food grade agar) และวุ้นเกรดเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture grade agar)

ผลการวิจัย

การเจริญเติบโตและผลผลิตรวมของสาหร่ายวันที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายวันทั้งสองชุดการทดลอง ในช่วงเดือนมกราคม 2541 ถึงเดือนกรกฎาคม 2542 แสดงไว้ในตารางที่ 1. ในรอบปีอุณหภูมิที่ผิวน้ำของบ่อดทดลองที่ 1 และ 2 อยู่ในช่วงตั้งแต่ 18 °C ในช่วงปลายฤดูฝน (เดือนกันยายน) จนถึง 35 °C ในฤดูแล้ง (เดือนเมษายน), ความเค็มที่ผิวน้ำในบ่อที่ 1 ซึ่งใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง อยู่ระหว่าง 20-40 ‰ และบ่อที่ 2 ซึ่งใช้น้ำทะเลธรรมชาติ อยู่ระหว่าง 20-45 ‰ ความโปร่งใสของน้ำ (transparency) ในบ่อที่ 1 อยู่ระหว่าง 4-16 ซม. และในบ่อที่ 2 อยู่ระหว่าง 5-22 ซม. ความขุ่นของน้ำ (turbidity) มีค่าระหว่าง 14.60-162.22 mg/l (บ่อที่ 1) และ 13.31-81.23 mg/l (บ่อที่ 2)

สมบัติทางเคมีของน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายในบ่อที่ 1 มีปริมาณ dissolved inorganic nitrogen (Nitrate + Nitrite + Ammonia) มีค่าแปรผันระหว่าง 0.044-2.548 mg/l (บ่อที่ 1) และ 0.037-1.245 mg/l (บ่อที่ 2) ปริมาณ total phosphate-phosphorus มีค่าระหว่าง 0.002-0.059 mg/l (บ่อที่ 1) และ 0.002-0.402 mg/l (บ่อที่ 2), และความเป็นด่าง (alkalinity) ของน้ำมีค่าระหว่าง 53-296 mg/l (บ่อที่ 1) และ 52-255 mg/l (บ่อที่ 2)

การเจริญเติบโตในช่วงแรกของการเลี้ยง (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2541) เพื่อปรับสภาพตัวอย่างสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด บางส่วนของตัวอย่างสาหร่ายที่เลี้ยงเน่าและหลุดหายไป แม้ว่าสังเกตพบสาหร่ายบางส่วนมีการแตกแขนงใหม่ ทั้งในบ่อที่ใช้น้ำทิ้งจากนาุ้ง (บ่อที่ 1) และในบ่อที่ใช้น้ำทะเลธรรมชาติ (บ่อที่ 2) การเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดมีแนวโน้มคล้ายคลึงกัน โดยมีการเจริญเติบโตลดลงในช่วงแรกที่เริ่มนำสาหร่ายลงเลี้ยงในบ่อดทดลองและค่อยๆ เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงกลางเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน 2541 อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิด ทั้งในบ่อที่ 1 และ 2 ค่อนข้างต่ำ และมี epiphytes จำพวกสาหร่ายสีเขียวสกุล *Cladophora*, *Chaetomorpha*, และ *Enteromorpha* ขึ้นปกคลุมผิวทลัสเป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะในบ่อที่ 2 ซึ่งมีความโปร่งใสของน้ำ (5.0 - 13.0 ซม.) สูงกว่าบ่อที่ 1 (5.0 - 11.0 ซม.)

แม้ว่าสาหร่ายวันทั้ง 2 ชนิดจะมีการเจริญเติบโตค่อนข้างต่ำในระยะแรกของการทดลองเลี้ยง (เดือนมกราคม-เมษายน 2541) ซึ่งเป็นช่วงที่มีสภาพอากาศแห้งแล้งและฝนทิ้งช่วงยาวนาน อันเป็นผลกระทบจากปรากฏการณ์ El Nino ทำให้ความเค็มของน้ำเพิ่มสูงมากกว่า 45 ‰ และอุณหภูมิของน้ำสูงกว่า 30 °C การเจริญเติบโตของสาหร่ายวันทั้งสองชนิด เริ่มลดลงอย่างรวดเร็วและตายในช่วงเดือนถัดมา (เดือนพฤษภาคม-กรกฎาคม 2541) อย่างไรก็ตามสาหร่ายวันทั้งสองชนิดเริ่มมีการแตกแขนงใหม่อีกครั้ง เมื่อมีฝนตกลงมาในช่วงปลายเดือนกรกฎาคม 2541 และเจริญเติบโตแข็งแรงอีกครั้งเมื่อความเค็มและอุณหภูมิของน้ำลดลงในช่วงฤดูฝน (สิงหาคม 2541) และช่วงที่อากาศเย็นลงในเดือนพฤศจิกายน 2541 ถึงเดือนมกราคม 2542 (รูปที่ 3-4)

จากรูปที่ 5 และ 6 สาหร่ายวันที่ยืดในบ่อที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงในช่วงฤดูฝน ระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงเดือนตุลาคม 2541 เมื่อความเค็มของน้ำในบ่อที่ 1 อยู่ระหว่าง 20-28 ‰ และในบ่อที่ 2 ระหว่าง 20-30 ‰. *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 1 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด $3.08 \pm 1.14 \% \text{ day}^{-1}$ ($r^2 = 0.53$; $n = 40$) และ $2.68 \pm 1.76 \% \text{ day}^{-1}$ ($r^2 = 0.35$; $n = 40$) ตามลำดับ ในเดือนมกราคม 2542 ในขณะที่ *G. fisheri* และ *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 2 มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด $1.85 \pm 1.00 \% \text{ day}^{-1}$ ($r^2 = 0.16$; $n = 40$) และ $1.70 \pm 0.49 \% \text{ day}^{-1}$ ($r^2 = 0.38$; $n = 40$) ตามลำดับ ในเดือนสิงหาคม 2541 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของสาหร่ายทั้งสองชนิดค่อยๆลดลง และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อความเค็มของน้ำเพิ่มขึ้นเกินกว่า 35 ‰, อุณหภูมิสูงเกินกว่า 30 °C และ ความเป็นด่างของน้ำมากกว่า 160 มิลลิกรัม/ลิตร

สาหร่ายวันที่ยืดในบ่อที่ 1 ให้ผลผลิตโดยรวมสูงกว่าในบ่อที่ 2 (รูปที่ 7) โดยสาหร่ายวัน *G. fisheri* ให้ผลผลิตรวมสูงสุดประมาณ 1000 กรัมน้ำหนักสด (บ่อที่ 1) และ 777 กรัมน้ำหนักสด (บ่อที่ 2) ในเดือนมกราคม 2542 ในขณะที่ผลผลิตรวมของ *G. tenuistipitata* ให้ผลผลิตโดยรวมประมาณ 936 กรัมน้ำหนักสด ในเดือนสิงหาคม 2541 (บ่อที่ 2) และ 961 กรัมน้ำหนักสด ในเดือนมกราคม 2542 (บ่อที่ 1) อย่างไรก็ตามบางช่วงในระยะแรกของการศึกษา (มกราคม-กันยายน 2541) ผลผลิตน้ำหนักสดของสาหร่ายในบ่อที่ 2 มีค่าสูงกว่าในบ่อที่ 1

องค์ประกอบเคมีของสาหร่ายวันที่ยืดได้ แสดงไว้ในรูปที่ 8-9 โดยทั่วไปปริมาณรงควัตถุของสาหร่ายวันที่ยืดในบ่อที่ 2 มีค่าสูงกว่าสาหร่ายวันที่ยืดในบ่อที่ 1 ปริมาณ total chlorophyll ในสาหร่ายทั้งสองชนิด ทั้งในบ่อที่ 1 และ บ่อที่ 2 (รูปที่ 8) มีค่าสูงสุดในเดือนมีนาคม 2542 ปริมาณ total chlorophyll ใน *G. fisheri* มีค่าระหว่าง 0.251-1.194 mg/g tissue (บ่อที่ 1) และระหว่าง 0.265-0.973 mg/g tissue (บ่อที่ 2) และใน *G. tenuistipitata* มีค่าระหว่าง 0.349-1.371 mg/g tissue (บ่อที่ 1) และระหว่าง 0.283-1.293 mg/g tissue (บ่อที่ 2) สำหรับปริมาณ phycobilin ในรูปของ r-phycoerythrin (รูปที่ 9) มีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม ในสาหร่ายทั้งสองชนิด ยกเว้น *G. fisheri* ที่ยืดในบ่อที่ 2 มีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม ปริมาณ phycobilin ใน *G. fisheri* มีค่าระหว่าง 0.006-0.050 mg/g tissue (บ่อที่ 1) และระหว่าง 0.004-0.037 mg/g tissue (บ่อที่ 2) และใน *G. tenuistipitata* มีค่าระหว่าง 0.006-0.059 mg/g tissue (บ่อที่ 1) และระหว่าง 0.005-0.067 mg/g tissue (บ่อที่ 2)

ในการตรวจวัดปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจน และอัตราส่วนคาร์บอน:ไนโตรเจน (C/N ratio) ในเนื้อเยื่อสาหร่ายวันทั้งสองชนิด แสดงไว้ในตารางที่ 2 *G. fisheri* มีค่า total-N ระหว่าง 1.73-2.50% (บ่อที่ 1) และ 1.52-2.42% (บ่อที่ 2) ในขณะที่ *G. tenuistipitata* มีค่าระหว่าง 2.55-3.46% (บ่อที่ 1) และ 2.10-3.15% (บ่อที่ 2), *G. fisheri* มีปริมาณ organic carbon ระหว่าง 18.24-39.97% (บ่อที่ 1) และ 22.32-39.86% (บ่อที่ 2) และ *G. tenuistipitata* มีค่าระหว่าง 19.08-41.73% (บ่อที่ 1) และ 20.01-40.79% (บ่อที่ 2), C/N ratio ในเนื้อเยื่อสาหร่าย *G. fisheri* มีค่าแปรผันระหว่าง 7.51-19.95 ในบ่อที่ 1 และ 9.54-24.71 ในบ่อที่ 2, และในเนื้อเยื่อสาหร่าย *G. tenuistipitata* มีค่า

แปรผันระหว่าง 5.51-14.90 (บ่อที่ 1) และ 6.35-19.03 (บ่อที่ 2), C/N ratio ในเนื้อเยื่อสาหร่ายที่เลี้ยงได้มีค่าสูงในช่วงเดือนสิงหาคม 2541-เดือนมกราคม 2542 และค่อยๆลดลงในเดือนถัดมา

ปริมาณและสมบัติของวันที่สกัดจากสาหร่ายวัน *G. fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและสมบัติวัน ทำในช่วงที่สาหร่ายให้ผลผลิตพอเพียง สำหรับ *Gracilaria tenuistipitata* ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างตั้งแต่เดือนตุลาคม 2541 ถึงเดือนมกราคม 2542 และ *G. fisheri* ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2541 ถึงเดือนมีนาคม และเดือนกรกฎาคม 2542

ปริมาณวัน (agar yield) และสมบัติของวันที่สกัดจากสาหร่ายที่ให้ผลผลิตในช่วงเดือนตุลาคม 2541 ถึงกรกฎาคม 2542 แสดงไว้ในตารางที่ 3 และ 4

ปริมาณวัน (ตารางที่ 3) ของสาหร่ายวันทั้งสองชนิดที่เลี้ยงทั้งในบ่อที่ 1 และ 2 แปรผันเพียงเล็กน้อยตามฤดูกาล วันที่ได้จาก *Gracilaria tenuistipitata* ทั้งในบ่อที่ 1 และ 2 มีปริมาณสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน 2541 และค่อยๆลดลงจนถึงเดือนมกราคม 2542 โดยปริมาณวันที่ได้จากสาหร่ายในบ่อที่ 1 มีค่าแปรผันระหว่าง 32.59 - 39.28 % และ ในบ่อที่ 2 มีค่าระหว่าง 34.97 - 36.98 % และภายใต้สภาวะการเลี้ยงเดียวกัน *G. fisheri* ให้ปริมาณวันสูงกว่า *G. tenuistipitata*. วันที่ได้จาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 มีค่าแปรผันระหว่าง 37.44 % ในเดือนตุลาคม 2541 ถึง 44.96 % ในเดือนกรกฎาคม 2542 และในบ่อที่ 2 มีค่าระหว่าง 36.13 % ในเดือนพฤศจิกายน 2541 และ 44.13 % ในเดือนกรกฎาคม 2542

วันที่สกัดจาก *G. tenuistipitata* ซึ่งเลี้ยงในบ่อที่ 1 มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 15.1 % ในเดือนตุลาคม 2541 ถึง 17.2 % ในเดือนมกราคม 2542 และวันที่ได้จากสาหร่ายชนิดเดียวกันในบ่อที่ 2 มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 14.0 % (เดือนมกราคม 2542) ถึง 16.9 % (เดือนธันวาคม 2541). ปริมาณความชื้นในวันที่สกัดจาก *G. fisheri* มีค่าสูงสุด 18.2 % ในเดือนมีนาคม 2542 (ในบ่อที่ 1) และ 17.7 % ในเดือนกุมภาพันธ์ 2542 (ในบ่อที่ 2). อย่างไรก็ตามปริมาณความชื้นในวันจากสาหร่ายทั้งสองชนิด มีแนวโน้มแปรผันไปตามฤดูกาล (ตารางที่ 3)

สมบัติทางกายภาพ (ตารางที่ 3)

ความแข็งของวัน (gel strength) จาก *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 2 ในช่วงเดือนตุลาคม 2541 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2542 มีค่าสูงกว่าในสาหร่ายชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 ยกเว้นในช่วงเดือนมีนาคม และเดือนกรกฎาคม 2542. ซึ่งมีค่าความแข็งของวันจากสาหร่ายในบ่อที่ 1 สูงกว่าในบ่อที่ 2. วันที่ได้จาก *G. fisheri* มีค่าความแข็งสูงสุด 740.1 g/cm^2 (บ่อที่ 1) และ 638.9 g/cm^2 (บ่อที่ 2) ในเดือนกรกฎาคม 2542 ซึ่งสูงกว่าวันที่สกัดได้จาก *G. tenuistipitata*. ความ

แข็งของวุ้นจาก *G. tenuistipitata* มีค่าสูงสุด 562.4 g/cm^2 (บ่อที่ 1) และ 594.7 g/cm^2 (บ่อที่ 2) ในเดือนธันวาคม 2541.

ความหนืดสัมพัทธ์ของวุ้น (relative viscosity, cps) จาก *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 ในช่วงเดือนตุลาคม 2541 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2542 มีค่าสูงกว่าในสาหร่ายชนิดเดียวกันที่เลี้ยงในบ่อที่ 2 อย่างไรก็ตามในช่วงเดือนตุลาคม 2541 และเดือนมีนาคม 2542 ความหนืดของวุ้นจาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 2 มีค่าสูงกว่าในบ่อที่ 1. *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 1 และ 2 มีค่าความหนืดของวุ้นสูงสุด 39 cps ในเดือนตุลาคม 2541 และ 21 cps ในเดือนตุลาคม และ ธันวาคม 2541 ตามลำดับ ในขณะที่ *G. fisheri* มีค่าความหนืดสูงสุด 31 cps ในเดือนมีนาคม 2542 (บ่อที่ 1) และ 23 cps ในเดือนตุลาคม 2541 และ มีนาคม 2542 (บ่อที่ 2)

วุ้นที่สกัดจากสาหร่าย *Gracilaria tenuistipitata* มีค่า gelling temperature ระหว่าง $45.4 - 46.0^\circ\text{C}$ ในบ่อที่ 1 และ $44.5-49.3^\circ\text{C}$ ในบ่อที่ 2 ในขณะที่ *G. fisheri* มีค่าระหว่าง $47.1-48.8^\circ\text{C}$ ในบ่อที่ 1 และ $46.0 - 48.0^\circ\text{C}$ ในบ่อที่ 2. แม้ว่าวุ้นที่ได้จากสาหร่าย *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 2 ให้ค่า gelling temperature สูงกว่าในบ่อที่ 1 และ วุ้นที่ได้จากสาหร่าย *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 ให้ค่า gelling temperature สูงกว่าในบ่อที่ 2 อย่างไรก็ตาม gelling temperature ของวุ้นเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในสาหร่ายแต่ละชนิดและฤดูกาล

จุดหลอมเหลวของวุ้น (melting temperature) จากสาหร่ายในบ่อที่ 2 โดยทั่วไปมีค่าสูงกว่าในบ่อที่ 1 ยกเว้นในเดือนกรกฎาคม 2542 ซึ่งมีจุดหลอมเหลวของวุ้นจาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 มีค่าสูงกว่า ในบ่อที่ 2. *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 1 มีค่าจุดหลอมเหลวของวุ้นอยู่ในช่วง 85.0°C ในเดือนพฤศจิกายน 2541 ถึง 91.0°C ในเดือนมกราคม 2542 และ ในบ่อที่ 2 มีค่าอยู่ในช่วง 90.1°C ในเดือนตุลาคม 2541 ถึง 92.0°C ในเดือนมกราคม 2542. ภายใต้สภาวะการเลี้ยงเดียวกัน วุ้นที่ได้จาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 มีค่าจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 81.9°C ในเดือนมกราคม 2542 ถึง 87.0°C ในเดือนกรกฎาคม 2542 และ ในบ่อที่ 2 อยู่ในช่วง 82.0°C ในเดือนมีนาคม 2542 ถึง 84°C ในเดือนตุลาคม 2541. วุ้นที่ได้จาก *G. tenuistipitata* มีจุดหลอมเหลวของวุ้นสูงกว่าวุ้นที่ได้จาก *G. fisheri*

สมบัติทางเคมี (ตารางที่ 4)

ภายใต้สภาวะการเลี้ยงในบ่อเดียวกัน วุ้นที่สกัดได้จาก *Gracilaria fisheri* ให้ปริมาณ total carbohydrate สูงกว่า *G. tenuistipitata* โดยในบ่อที่ 1 วุ้นที่ได้จาก *G. fisheri* มีปริมาณสูงสุด 46.09% ในเดือนกรกฎาคม 2542 ในขณะที่วุ้นจาก *G. tenuistipitata* มีปริมาณ total carbohydrate สูงสุด 41.1% ในเดือนพฤศจิกายน 2541 และในบ่อที่ 2 วุ้นที่ได้จาก *G. fisheri* มีปริมาณสูงสุด 45.01% ในเดือนกรกฎาคม 2542 และ *G. tenuistipitata* มีปริมาณ total carbohydrate สูงสุด 40.89% ในเดือนมกราคม 2542

ปริมาณซัลเฟต (sulfate content) ในวันที่สกัดภายหลัง alkali treatment มีค่าต่ำเมื่อเทียบกับวันที่ non alkali treatment จาก *G. fisheri* (3.36 % ในตารางที่ 4). *G. tenuistipitata* มีค่าระหว่าง 0.71 - 0.77% ในบ่อที่ 1 และ 0.63 - 0.64 % ในบ่อที่ 2. *G. fisheri* มีค่าระหว่าง 0.69 - 0.88 % ในบ่อที่ 1 และ 0.62 - 0.86 % ในบ่อที่ 2. โดยทั่วไปปริมาณซัลเฟตในวันที่ได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิดที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 มีค่าสูงกว่าในบ่อที่ 2

จากตารางที่ 4 ปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ของวันที่สกัดจาก *Gracilaria fisheri* มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับวันที่ไม่ผ่าน alkali treatment (14.48 %) วันที่สกัดจาก *G. fisheri* ในบ่อที่ 1 มีปริมาณ 3,6-anhydrogalactose เปลี่ยนแปลงจาก 15.87 - 28.32 % และในบ่อที่ 2 มีค่า 17.43 - 26.62 % ซึ่งมีปริมาณสูงกว่า *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกันในบ่อที่ 1 และ 2. วันที่ได้จาก *G. tenuistipitata* ในบ่อที่ 1 มีค่า 3,6-anhydrogalactose แปรผันในช่วง 15.04 - 22.22 % และ 17.35 - 21.90 % ในบ่อที่ 2. ปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ในวันที่ได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิดมีค่าแปรผันสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับความแข็งของวุ้น (gel strength) และการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของปริมาณ 3,6-anhydrogalactose มีแนวโน้มขึ้นอยู่กับชนิดและปัจจัยสภาวะแวดล้อมจำเพาะของระบบการเลี้ยงในแต่ละบ่อ นอกเหนือจากปริมาณสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย

วิเคราะห์เปรียบเทียบวุ้นมาตรฐาน

สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของวันที่ได้จากสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 โดยใช้ น้ำที่จากนาุ้ง และบ่อที่ 2 โดยใช้ น้ำทะเลธรรมชาติเพียงอย่างเดียว เปรียบเทียบกับสมบัติของวุ้นมาตรฐาน พบว่ามีสมบัติเทียบได้กับวุ้นเกรดอาหาร (ตรานางเงือก) และเกรดเลี้ยงเนื้อเยื่อ PAC และ Bacto Agar ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4

คุณภาพของวันที่ได้จาก *Gracilaria fisheri* ในบ่อที่ 1 และ 2 มีปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ใกล้เคียงกับวุ้นเกรดมาตรฐานอาหาร (ตรานางเงือก 28.61 %) และวุ้นเกรดมาตรฐานเลี้ยงเนื้อเยื่อ (PAC 30.72 %, Bacto Agar 25.87 %) เช่นเดียวกัน ปริมาณซัลเฟตในวันที่สกัดได้มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณซัลเฟตในวุ้นเกรดมาตรฐานอาหารตรานางเงือก (0.61 %) และวุ้นเกรดมาตรฐานเลี้ยงเนื้อเยื่อตรา PAC ของบริษัทวุ้นบริสุทธิ์ (0.55 %) แต่มีค่าต่ำกว่าปริมาณซัลเฟตที่วิเคราะห์ใน Bacto Agar (1.72 %).

บทวิจารณ์

โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายวัน *Gracilaria* ที่เลี้ยงในสภาวะกลางแจ้ง มักเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงปัจจัยแวดล้อมต่างๆ ภายในระบบของการเลี้ยง เช่นความเค็ม, อุณหภูมิ, ความเข้มแสง, ความเข้มข้นของสารอาหารในโตรเจน และฟอสเฟต, ความหนาแน่นของสาหร่าย, อัตราการเปลี่ยนน้ำ, การให้อากาศ, รวมทั้ง pH และสารประกอบอินทรีย์คาร์บอนที่ให้แก่ระบบของการเลี้ยง (Lapointe และ Ryther, 1979; Lapointe, 1981; 1987; Friedlander และคณะ, 1991; Friedlander และคณะ, 1993; Gonen และคณะ, 1993; Chirapart และคณะ, 1994) นอกจากนี้ปริมาณสารอาหารในโตรเจน ยังมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของ *Gracilaria* หลายชนิดที่เลี้ยงภายใต้ระบบดังกล่าว (Haglund และ Pedersén, 1993; Jiménez del Rio และคณะ, 1996, Yamasaki และคณะ, 1997) จากการศึกษาครั้งนี้ อัตราการเจริญเติบโตของ *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับสารอาหารที่มีอยู่ในน้ำ ทั้งจากนาุ้ง จากอัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสาหร่าย แสดงให้เห็นถึงมีการใช้สารอาหารในโตรเจนในน้ำทั้งจากการเลี้ยงกุ้งอย่างพอเพียง เพื่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายวัน *Gracilaria* และไม่มีผลของการจำกัดในโตรเจนต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายวัน ภายใต้สภาวะการเลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ อัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจนในเนื้อเยื่อสาหร่ายวันทั้งสองชนิดมีค่าต่ำในบ่อที่ 1 และบ่อที่ 2 ทั้งนี้เป็นผลมาจากการสะสมสารประกอบในโตรเจนในเนื้อเยื่อของสาหร่าย ซึ่งสัมพันธ์กับสารอาหารในโตรเจนที่มีปริมาณสูงในบ่อที่ 1 (Friedlander และ Levy, 1995). อัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน ที่มีค่าประมาณ 6 บ่งชี้ถึงการเจริญเติบโตที่ดีของ *G. secundata* ซึ่งเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C ภายใต้สภาวะห้องปฏิบัติการใน Uppsala, Sweden (Lignell และ Pedersén 1987). อย่างไรก็ตามเคยมีรายงานพบว่าอัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน ประมาณ 29 เป็นค่าบ่งชี้ถึงการเจริญเติบโตปกติของสาหร่าย *Kappaphycus alvarezii* ที่เลี้ยงในทะเลเปิด (Rui และคณะ, 1990). อัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน ในเนื้อเยื่อของ *G. tikvahiae* ที่มีค่าสูงกว่า 13.5 ชี้ให้เห็นถึงการขาดแคลนในโตรเจน ซึ่งมีผลให้การเจริญเติบโตลดลง (Hanisak, 1987). Friedlander และคณะ (1991) รายงานว่าอัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน มีความสัมพันธ์กลับกันกับความเข้มข้นของสารอาหารแอมโมเนียในอาหารเลี้ยงสาหร่าย และกลับกันกับอัตราการเจริญเติบโต. อย่างไรก็ตามภายใต้สภาวะบ่อดินธรรมชาติอัตราส่วนคาร์บอน : ในโตรเจน ในเนื้อเยื่อสาหร่ายแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์ไม่ชัดเจนกับอัตราการเจริญเติบโต. การเพิ่มขึ้นของอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตรวมของสาหร่าย *Gracilaria* ในบ่อที่ 1 ในช่วงเดือนมกราคม 2542 อาจเป็นสาเหตุมาจากสารอาหารอนินทรีย์ในโตรเจน (dissolved inorganic nitrogen, DIN) ที่เพิ่มขึ้นระหว่างช่วงเวลาดังกล่าว นอกจากนี้ผลผลิตของสาหร่ายในบ่อที่ 2 สูงกว่าในบ่อที่ 1 ระหว่างช่วงแรกของการทดลองเลี้ยง (มกราคม - กันยายน 2541) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความขุ่นของน้ำทะเลที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย ในบ่อที่ 2 ต่ำกว่า (ความเข้มแสงสูง) ในบ่อที่ 1 รวมทั้งในช่วงดังกล่าวระบบการให้อากาศผ่านท่อลมในบ่อที่ 1 มีปัญหาขัดข้อง ทำให้การให้อากาศหยุดชะงัก ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย. การหยุดชะงักการให้

อากาศในระหว่างเลี้ยงสาหร่ายในช่วงฤดูร้อน มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง เนื่องจากขาดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Friedlander และ Levy, 1995). เช่นเดียวกับการเลี้ยง *Gracilaria chilensis* ผลผลิตของสาหร่ายชนิดนี้ลดลงถึง 40 % เมื่อให้อากาศลดลงจาก 10 ชั่วโมงเป็น 5 ชั่วโมงต่อวัน (Ugarte และ Santelices, 1992)

ความผันแปรในการเจริญเติบโตและประชากรของสาหร่าย *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ขึ้นอยู่กับฤดูกาลและสายพันธุ์ของสาหร่าย เช่นเดียวกับที่เคยมีรายงาน ในการทดลองภายใต้ระบบการเลี้ยงกลางแจ้งระยะยาวของสาหร่าย *Gracilaria verrucosa* strain G-16 ใน Florida (Bird และ Ryther, 1990), *G. conferta* ใน Israel (Levy และคณะ, 1990) และ *G. tenuistipitata* ใน Sweden (Haglund และ Pedersen, 1993). นอกจากนี้ความแตกต่างในองค์ประกอบกรดไขมันของสาหร่าย มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปของบ่อที่ 1 และบ่อที่ 2 (Fredriksen และ Rueness, 1989). แม้ว่าการเจริญเติบโตปกติมีแนวโน้ม ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสภาพภูมิอากาศตามฤดูกาล แต่มีข้อยกเว้นในบางฤดูกาล. ในบางเดือนที่สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูงอย่างเด่นชัด (รูปที่ 5, 6) อาจเป็นผลมาจากการเจริญเติบโตที่ดีกว่าของตัวอย่างสาหร่ายใหม่ ซึ่งนำมาเลี้ยงทดแทนตัวอย่างเก่าที่เน่าตายไปในช่วงฤดูแล้ง

การผูกพันในการเจริญเติบโตในแต่ละช่วงของการทดลองเลี้ยง *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* อาจอธิบายได้จากการแข่งขันการเจริญเติบโตของ epiphytes กับสาหร่ายวัน (Hanisak, 1987; Friedlander และคณะ, 1991). และนอกจากนี้ การลดลงของอัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตรวมของสาหร่าย อาจเป็นสาเหตุมาจากความเค็ม, อุณหภูมิ และ ความเป็นด่างของน้ำที่เพิ่มสูงมากเกินไปในช่วงที่อากาศแห้งแล้ง. รวมทั้งการเติมน้ำทะเลและอัตราการเปลี่ยนถ่ายน้ำที่ต่ำ ในบางเดือน ระหว่างช่วงที่ทำการเลี้ยงสาหร่าย อาจไม่พอเพียงต่อการรักษาระดับการเจริญเติบโตในช่วงฤดูร้อน อย่างไรก็ตามจากรายงานการศึกษาของ Vandermeulen และ Gordin (1990) พบว่าการเลี้ยงสาหร่าย *Ulva* ในถังโดยผ่านน้ำทิ้งเข้าสู่ถังเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง ไม่ได้ทำให้การเจริญเติบโตของสาหร่ายดีขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ ภายใต้การเลี้ยงในสภาพบ่อดินธรรมชาติ ปริมาณวันที่สกัดได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิดมีค่าค่อนข้างสูง เมื่อเทียบกับปริมาณวันที่ได้จากสาหร่ายวันชนิดอื่น ที่เคยมีรายงานไว้ เช่น *Gracilaria lemaneiformis* (35.8 %, Chirapart และคณะ, 1995), *Gracilaria chilensis* (22 %, Martinez และ Buschmann, 1996), และ *G. changii* (25 %, Phang และคณะ, 1996). วันที่ได้จาก *G. fisheri* มีปริมาณสูงกว่าที่ได้จาก *G. tenuistipitata* ซึ่งปริมาณวันที่ได้ ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาพบ่อดินธรรมชาติ นอกเหนือจากปัจจัยสารอาหารในโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำ. อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของสารอาหารในโตรเจน ภายใต้ระบบการเลี้ยงสาหร่ายวันที่มีการให้อากาศอย่างเต็มที่ มีผลทำให้การเจริญเติบโตของ *Gracilaria tikvahiae* เพิ่มสูงขึ้น แต่ให้ปริมาณวันลดลง (Bird และคณะ, 1981). นอกจากนี้ คุณภาพของวันมีความสัมพันธ์กับอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายวัน โดยวันที่ได้จาก *G. fisheri* ที่เลี้ยงทั้งบ่อที่ 1

และ 2 มีความแข็งต่ำในช่วงที่สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูง ในเดือนมกราคม 2542. ตรงกันข้ามกับ *Gracilariopsis lemaneiformis* ซึ่งให้วันที่มีคุณภาพดีเมื่อสาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตสูง (Chirapart และคณะ, 1994). อย่างไรก็ตามปริมาณวันที่มีค่าลดลงในช่วงที่สาหร่ายวันที่มีการเจริญเติบโตและผลผลิตสูง (Christiaen และคณะ, 1987; Christeller และ Laing, 1989; Bird และ Ryther, 1990).

วันที่สกัดได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงภายใต้สภาวะสารอาหารในโตรเจนสูง มีจุดหลอมเหลวของวันที่ (melting temperature) และความแข็งของวันที่ (gel strength) สูงกว่าวันที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงในสภาวะสารอาหารในโตรเจนต่ำ (Bird และคณะ, 1981). วันที่ได้จากสาหร่ายวันที่ *G. fisheri* มีจุดหลอมเหลวของวันที่ต่ำกว่า *G. tenuistipitata* และมีความสัมพันธ์กับความแข็งของวันที่สูงขึ้น โดยทั่วไปจุดหลอมเหลวของวันที่เพิ่มขึ้นเมื่อความแข็งของวันที่เพิ่มขึ้น (Matsushashi, 1990).

เป็นที่น่าสังเกตว่า ภายใต้สภาวะการเลี้ยงสาหร่ายวันที่ *G. fisheri* และ *G. tenuistipitata* ในบ่อดินธรรมชาติ วันที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทิ้งจากนาุ้ง ให้ความแข็งของวันที่ต่ำกว่าที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติเพียงอย่างเดียว ปริมาณสารอาหารในโตรเจนที่มีอยู่ในน้ำทิ้งจากนาุ้ง ไม่ให้ผลกระทบชัดเจนต่อการเพิ่มคุณภาพของวันที่ได้ ผลการศึกษาที่คล้ายคลึงกันนี้เคยมีรายงานไว้ใน *Gracilaria sordida* ซึ่งเลี้ยงภายใต้สภาวะควบคุมปัจจัยแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ โดยพบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับในโตรเจนในน้ำที่เลี้ยงสาหร่ายไม่มีผลต่อความแข็งของวันที่ (Christeller และ Laing, 1989) อย่างไรก็ตาม ในช่วงปีที่ 2 ของการเลี้ยง ความแข็งของวันที่ได้จาก *G. fisheri* ที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง กลับมีค่าสูงขึ้นและสูงกว่าวันที่ได้จากสาหร่ายที่เลี้ยงในน้ำทะเลธรรมชาติ ในเดือนกรกฎาคม 2542 ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝน

ความหนืดของวันที่ (relative viscosity) มีความสัมพันธ์ในทางเดียวกับความแข็งของวันที่ ความหนืดของวันที่ได้จากสาหร่ายในบ่อที่ 1 สูงกว่าวันที่ได้จากสาหร่ายในบ่อที่ 2. ความแข็งและความหนืดของวันที่จาก *Gracilaria* ที่เลี้ยงภายใต้ระบบควบคุม (aquatron) มีค่าสูงขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Chirapart และคณะ, 1994) ผลของฤดูกาลต่อความแข็งและความหนืดของวันที่ รวมทั้งปริมาณวันที่ไม่สอดคล้องกับปริมาณ total dissolved inorganic nitrogen, phosphate-phosphorus และความขุ่นของน้ำ (Chirapart และ Ohno, 1993b)

วันที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ มีค่า gelling temperature ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับวันที่เกรดมาตรฐาน Bacto Agar ซึ่งเป็นการบ่งชี้ถึงปริมาณ methoxyl ที่มีอยู่ในวันที่. ปริมาณ methoxyl ในวันที่สูงขึ้นมีผลทำให้ค่า gelling temperature เพิ่มขึ้น (Guisseley, 1970) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถวิเคราะห์หาปริมาณ methoxyl เพื่อนำข้อมูลมายืนยันได้

ในการวิเคราะห์ปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ที่มีอยู่ในวันที่จาก *Gracilaria fisheri* มีค่าเทียบได้กับวันที่เกรดมาตรฐานอาหาร และเกรดเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่มีค่าค่อนข้างต่ำในวันที่จาก *G. tenuistipitata* ปริมาณซัลเฟตในวันที่จากสาหร่ายทั้งสองชนิด ในบ่อที่ 1 มีค่าสูงสอดคล้องกับความ

แข็งของวันที่มีค่าต่ำกว่าในบ่อที่ 2. แม้ว่าปริมาณ 3,6-anhydrogalactose และปริมาณซัลเฟต ในวันจะใช้ในการกำหนดสมบัติของวันที่ผลิตได้ อย่างไรก็ตามความแข็งของวันเพิ่มขึ้นไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจน ด้วยปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ที่สูงและระดับที่ต่ำของปริมาณซัลเฟต (Ree, 1972; Yaphe และ Duckworth, 1972) เช่นเดียวกัน ปริมาณ 3,6-anhydrogalactose ไม่มีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนกับความแข็งของวัน ในขณะที่ปริมาณซัลเฟตมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความแข็งของวัน (Yaphe และ Duckworth, 1972). นอกจากนี้ปริมาณซัลเฟตที่มีค่าสูงในวันที่ถูกสกัดจากสาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อที่ 1 มากกว่าในบ่อที่ 2 อาจเป็นผลมาจากปริมาณซัลเฟอร์ที่มีอยู่ในบ่อดินซึ่งสังเกตได้จากสภาพพื้นบ่อที่เป็นโคลนเลนสีดำ อย่างไรก็ตามข้อมูลยืนยันสมมุติฐานนี้จำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป

ผลจากการศึกษาครั้งนี้ สาหร่ายวันสามารถเจริญเติบโตได้ตลอดปี ภายใต้สภาวะบ่อธรรมชาติโดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้ง. โดย *Gracilaria fisheri* สามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าและเป็นชนิดที่เหมาะสมกับการเลี้ยงในสภาพบ่อดินธรรมชาติมากกว่า *G. tenuistipitata* อย่างไรก็ตาม *G. tenuistipitata* สามารถนำมาเลี้ยงภายใต้สภาพบ่อธรรมชาติได้ 6-7 เดือนต่อปี. การเจริญเติบโตของสาหร่ายวันอาจสามารถปรับปรุงให้ดีขึ้นได้โดยเพิ่มอัตราการเปลี่ยนถ่ายน้ำให้มากขึ้น ดังเช่นที่เคยมีรายงานไว้โดย Friedlander และ Levy (1995). ผลผลิตที่ได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิดสามารถนำมาสกัดวัน ซึ่งให้ปริมาณวันที่สูงกว่าสาหร่ายวันชนิดอื่นที่เคยมีรายงานไว้ และคุณภาพวันเทียบได้กับวันเกรดมาตรฐานอาหาร

สาหร่ายวัน *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* จัดได้ว่าเป็นสาหร่ายทะเล ที่มีศักยภาพอย่างยิ่งในการนำมาเลี้ยงขยายพันธุ์ ไม่เพียงแต่เพื่อเป็นอาหารของสัตว์น้ำ เช่น หอยเป่าฮื้อ แต่ยังสามารถนำมาสกัดวันใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ จากความพยายามศึกษาการเลี้ยงสาหร่ายวันในสภาพบ่อดินธรรมชาติครั้งนี้ โดยใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งและโดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ เพื่อเพิ่มผลผลิตสาหร่ายวัน เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในการสกัดวันนั้น ยังคงมีคำถามที่สำคัญที่ต้องการการศึกษาเพิ่มเติม เช่น เทคนิคในการดูแลเลี้ยงสาหร่ายวัน ให้ได้ผลผลิตและคุณภาพของวันสม่ำเสมอตลอดทั้งปีในสภาพภูมิอากาศที่แปรปรวนของประเทศไทย แม้ว่าการใช้น้ำทิ้งจากการเลี้ยงกุ้งเพื่อเลี้ยงสาหร่ายวัน ทำให้ได้ผลผลิตสาหร่ายเพิ่มขึ้น แต่คุณภาพของวันที่ได้ยังไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นการศึกษา, ปรับปรุงคุณภาพวัน ทั้งในด้านระบบการเลี้ยงสาหร่ายรวมทั้งปัจจัยแวดล้อมจำเพาะ, การศึกษาชนิดและสายพันธุ์ของสาหร่ายวันชนิดอื่น ที่ให้การเจริญเติบโตและคุณภาพวันที่ดีกว่าชนิดเดิม รวมทั้งการปรับปรุงคุณภาพโดยวิธีทางเคมี จึงเป็นหัวข้อที่จำเป็นต้องทำการศึกษา เพื่อการพัฒนาและสามารถใช้ประโยชน์จากสาหร่ายวันในประเทศไทยต่อไป



รูปที่ 1 การเลี้ยงสาหร่ายวุ้นโดยวิธีสอดเส้นเชือก ในภาพตัวอย่างสาหร่ายนำมาสอดใส่เกลียวเชือกในลอนเพื่อนำลงเลี้ยงในบ่อดทดลอง



รูปที่ 2 สภาพบ่อดทดลองเลี้ยงสาหร่ายวุ้นซึ่งติดตั้งระบบท่อลมให้อากาศที่พื้นบ่อ



รูปที่ 3 สาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* ที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทิ้งจากนากุ้ง มีการแตกแขนงใหม่เพิ่มขึ้นและลักษณะทาลัสแข็งแรง มีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อความเค็มและอุณหภูมิน้ำลดลง



รูปที่ 4 สาหร่ายวุ้นที่เลี้ยงโดยใช้น้ำทะเลธรรมชาติ (บ่อที่ 2) มีลักษณะทาลัสแข็งแรงและสีเหลืองเขียว มี epiphytes จำพวกสาหร่ายสีเขียวเกาะจำนวนมาก

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำดิบที่สถานีสูบน้ำดิบประปาเมืองขอนแก่น (ก) และเขื่อนลำนางรอง (ข) ในสภาพน้ำดิบที่สูบน้ำดิบจากแหล่งน้ำดิบ

วันที่ 2541 ถึง 2542 ปีการศึกษา 2542 (ข้อมูล)

วันที่	อุณหภูมิ (°C)		ความเค็ม (‰)		ความขุ่น (NTU)		ความขุ่น (mg/l)		ความเค็ม (mg/l)		PO ₄ -P (mg/l)		DIN (mg/l)	
	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2
พ.ศ. 2541														
23 ม.ค. (ก)	30.7	31.0	31.0	35.0	5.0	10.0	-	-	81.0	110.0	0.010	0.009	0.238	0.222
24 ม.ค. (ข)	31.0	31.0	31.0	34.0	5.0	11.0	-	-	77.0	127.0	0.009	0.009	0.210	0.213
6 ก.พ. (ก)	30.0	31.0	30.0	33.0	11.0	5.0	-	-	116.0	170.0	0.009	0.019	0.235	0.156
8 ก.พ. (ข)	31.0	29.0	31.0	32.0	11.0	5.3	-	-	131.0	118.0	0.003	0.008	0.223	0.196
21 ก.พ. (ก)	32.0	32.0	35.0	40.0	7.0	11.0	-	-	160.0	173.0	0.045	0.028	0.500	0.201
22 ก.พ. (ข)	29.0	29.0	38.0	40.0	8.0	12.0	-	-	167.0	178.0	0.052	0.016	0.326	0.144
6 มี.ค. (ก)	31.0	31.0	28.0	32.0	12.0	13.0	-	-	296.0	243.0	0.033	0.008	0.180	0.186
16 มี.ค. (ก)	31.0	29.0	32.0	32.0	15.0	9.0	-	-	241.0	232.0	0.036	0.042	0.179	0.155
19 มี.ค. (ข)	33.0	33.0	34.0	38.0	9.0	11.0	-	-	198.0	217.0	0.025	0.020	0.177	0.129
3 เม.ย. (ก)	34.0	34.0	38.0	34.0	11.0	8.0	-	-	170.0	212.0	0.029	0.019	0.249	0.330
4 เม.ย. (ข)	29.0	29.0	30.0	26.0	9.0	10.0	-	-	230.0	263.0	0.025	0.025	0.264	0.437
18 เม.ย. (ก)	33.0	32.0	35.0	34.0	11.5	12.0	-	-	179.0	215.0	0.022	0.017	0.290	0.862

ตารางที่ 1 (ต่อ)

จุดวัด	อุณหภูมิ (°C)		ความเค็ม (‰)		ความโปร่งแสง (cm)		ความขุ่นของน้ำ (mg/l)		ความเค็มในถัง (mg/l)		PO ₄ -P (mg/l)		DIN (mg/l)	
	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2
20 เม.ย. (ส)	35.0	34.0	26.0	27.0	10.0	11.0	-	-	244.0	255.0	0.023	0.019	0.286	0.196
26 เม.ย. (ก)	31.0	31.0	30.0	30.0	7.0	7.5	-	-	-	-	-	-	-	-
2 พ.ค. (ส)	33.0	34.0	30.0	28.0	10.0	9.0	-	-	-	-	-	-	-	-
15 พ.ค. (ก)	34.5	34.0	33.0	30.0	14.1	13.3	-	-	147.0	234.0	0.040	0.024	0.327	0.218
24 พ.ค. (ส)	34.0	34.5	28.0	28.0	12.5	13.0	-	-	-	-	-	-	-	-
6 มิ.ย. (ก)	33.0	32.5	30.0	27.0	15.0	12.0	-	-	148.0	204.0	0.035	0.035	0.410	0.258
7 มิ.ย. (ส)	35.0	34.5	-	-	4.5	6.7	-	-	146.0	176.0	0.029	0.022	0.253	0.224
20 มิ.ย. (ก)	33.0	32.5	26.0	30.0	7.5	21.5	-	-	155.0	153.0	0.036	0.045	0.437	0.190
21 มิ.ย. (ส)	33.0	32.5	20.0	34.0	4.5	8.5	-	-	182.0	119.0	0.034	0.037	1.449	0.292
6 ก.ค. (ก)	32.0	33.0	22.0	30.0	26.0	28.0	-	-	146.0	110.0	0.059	0.043	0.373	0.262
8 ก.ค. (ส)	31.0	30.0	35.0	31.0	16.0	27.0	-	-	158.0	144.0	0.055	0.050	0.784	0.232
23 ก.ค. (ก)	34.0	34.0	24.0	35.0	11.0	61.0	67.80	17.29	134.0	121.0	0.050	0.035	0.361	0.342
25 ก.ค. (ส)	-	-	26.0	32.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27 ก.ค. (ก)	34.0	35.0	25.0	30.0	15.0	61.0	50.57	14.54	110.0	109.0	0.057	0.051	0.497	0.195
29 ก.ค. (ส)	32.0	31.0	29.0	35.0	7.0	34.0	44.91	14.77	117.0	103.0	0.044	0.068	2.196	2.527

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ว/ด/ป	อุณหภูมิ (°C)		ความเค็ม (‰)		ความโปร่งแสง (ทม.)		ความขุ่นของน้ำ (mg/l)		ความเป็นด่าง (mg/l)		PO ₄ -P (mg/l)		DIN (mg/l)	
	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2
13 ส.ค. (ก)	30.0	30.0	25.0	30.0	11.0	12.0	49.87	13.31	125.0	132.0	0.052	0.048	0.588	0.504
13 ส.ค. (ล)	30.0	31.0	25.0	29.0	11.0	11.0	50.39	24.53	160.0	135.0	0.047	0.044	0.182	0.150
26 ส.ค. (ก)	21.0	21.0	20.0	21.0	7.0	7.0	109.31	31.12	89.0	100.0	0.019	0.020	0.281	1.245
27 ส.ค. (ล)	25.0	25.0	23.0	25.0	11.0	11.0	59.56	47.53	120.0	125.0	0.019	0.018	0.289	0.200
3 ก.ย. (ก)	19.0	19.0	28.0	22.0	16.0	12.0	54.54	43.39	131.0	125.0	0.058	0.041	1.296	0.263
4 ก.ย. (ล)	19.0	18.0	25.0	27.0	15.0	5.0	38.89	23.53	97.0	91.0	0.019	0.024	0.217	0.211
9 ก.ย. (ก)	23.0	22.0	25.0	25.0	6.0	8.0	38.07	14.77	143.0	126.0	0.019	0.029	0.266	0.222
9 ก.ย. (ล)	31.0	31.0	25.0	28.0	10.0	10.0	40.47	28.32	143.0	150.0	0.021	0.031	0.155	0.174
24 ก.ย. (ก)	31.0	32.0	25.0	27.0	9.0	5.0	37.66	23.36	109.0	155.0	0.022	0.025	0.287	0.114
25 ก.ย. (ล)	32.0	32.0	24.0	23.0	7.0	9.0	52.61	44.91	124.0	143.0	0.021	0.023	0.321	0.175
13 ต.ค. (ก)	32.0	32.0	26.0	20.0	12.0	14.0	29.26	39.83	113.0	110.0	0.044	0.049	0.199	0.173
29 ต.ค. (ก)	29.0	31.0	20.0	23.0	15.0	22.0	27.15	16.29	94.0	150.0	0.011	0.008	0.136	0.264
29 ต.ค. (ล)	29.0	30.0	20.0	26.0	11.0	16.0	43.50	36.26	63.0	80.0	0.009	0.007	0.152	0.158
11 พ.ย. (ก)	29.0	29.0	20.0	30.0	9.0	8.0	25.81	37.20	94.0	141.0	0.013	0.005	0.230	0.114

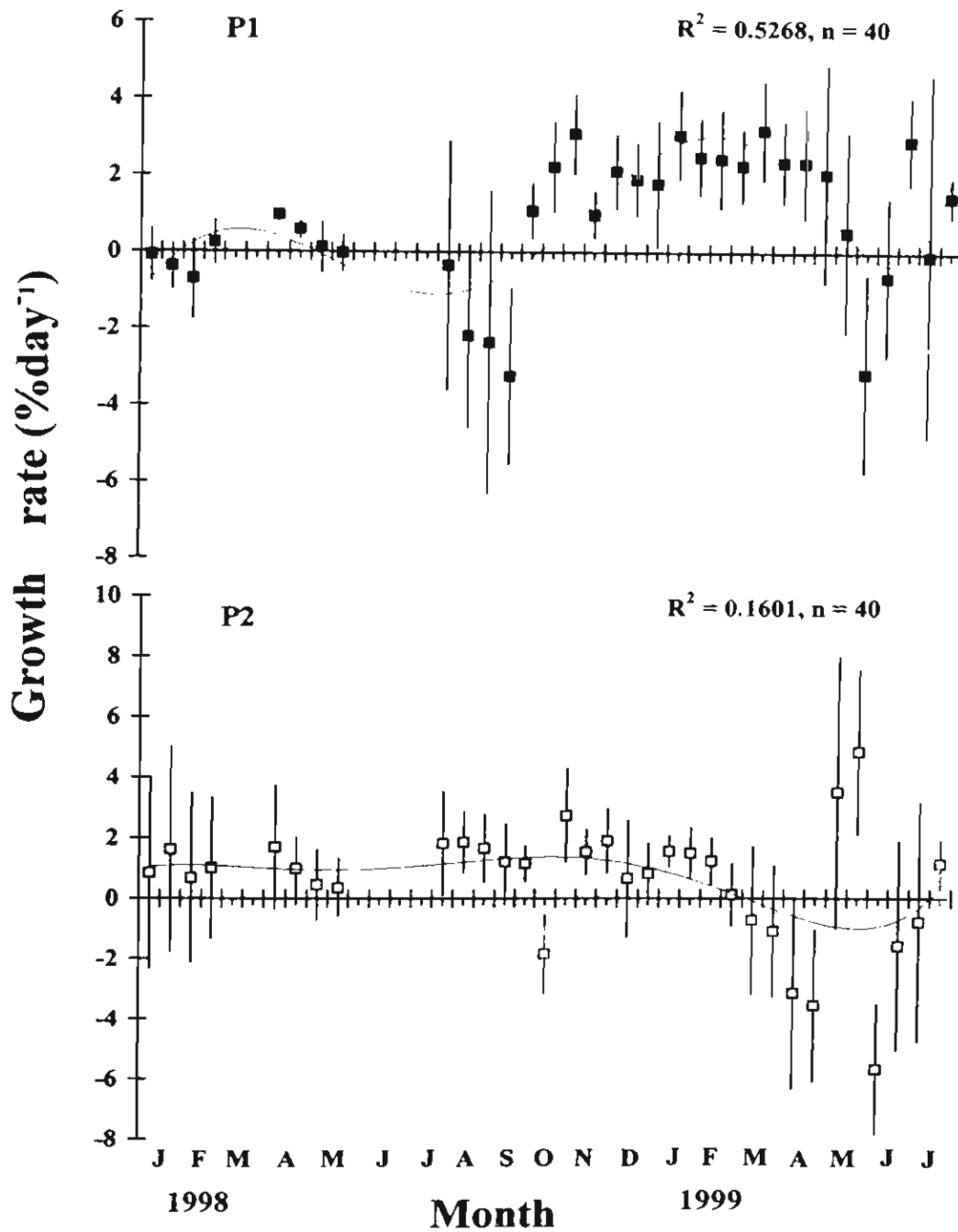
ตารางที่ 1 (ต่อ)

ว/ด/ป	อุณหภูมิ (°C)		ความเค็ม (‰)		ความโปร่งแสง (ซม.)		ความขุ่นของน้ำ (mg/l)		ความเป็นด่าง (mg/l)		PO ₄ -P (mg/l)		DIN (mg/l)	
	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2
11 พ.ย. (ล)	26.0	26.0	25.0	30.0	13.0	14.0	14.60	36.15	86.0	93.0	0.007	0.005	0.145	0.122
3 ธ.ค. (ก)	32.0	32.0	25.0	30.0	20.0	14.0	21.55	40.29	53.0	124.0	0.007	0.004	0.149	0.141
3 ธ.ค. (ล)	30.0	30.0	25.0	30.0	14.0	11.0	33.29	39.01	85.0	71.0	0.004	0.005	0.118	0.151
9 ธ.ค. (ก)	27.0	27.0	27.0	30.0	15.0	5.0	32.33	39.94	117.0	110.0	0.004	0.004	0.105	0.500
9 ธ.ค. (ล)	24.0	24.0	26.0	33.0	13.0	9.0	40.12	41.64	82.0	84.0	0.004	0.004	0.113	0.139
พ.ศ. 2542														
5 ม.ค. (ก)	34.0	34.0	30.0	35.0	15.0	9.0	40.41	56.00	153.0	166.0	0.012	0.005	0.136	0.115
5 ม.ค. (ล)	33.0	33.0	32.0	35.0	12.0	8.0	41.11	69.84	88.0	128.0	0.003	0.004	2.548	0.311
8 ก.พ. (ก)	30.0	30.0	34.0	37.0	4.0	6.0	73.99	81.23	92.0	105.0	0.002	0.003	0.420	0.456
10 ก.พ. (ล)	31.0	31.0	33.0	37.0	4.0	5.0	80.94	72.82	85.0	60.0	0.002	0.402	0.391	0.404
4 มี.ค. (ก)	30.0	30.0	35.0	40.0	7.0	20.0	110.36	23.18	71.0	52.0	0.003	0.002	0.413	0.810
9 มี.ค. (ล)	28.0	27.0	40.0	44.0	4.0	10.0	129.17	43.74	121.0	100.0	0.004	0.002	0.398	0.372
1 เม.ย. (ก)	32.0	32.0	35.0	40.0	11.0	5.0	162.22	63.79	165.0	108.0	0.006	0.003	0.065	0.089
26 เม.ย. (ล)	30.0	30.0	40.0	45.0	13.0	8.0	29.08	47.18	160.0	121.0	0.013	0.004	0.052	0.037
4 พ.ค. (ก)	29.0	29.0	35.0	35.0	9.0	15.0	34.16	26.48	160.0	126.0	0.004	0.004	0.044	0.270
3 มิ.ย. (ก)	30.0	30.0	38.0	40.0	9.0	8.0	46.48	61.14	77.0	105.0	0.003	0.003	0.024	0.019

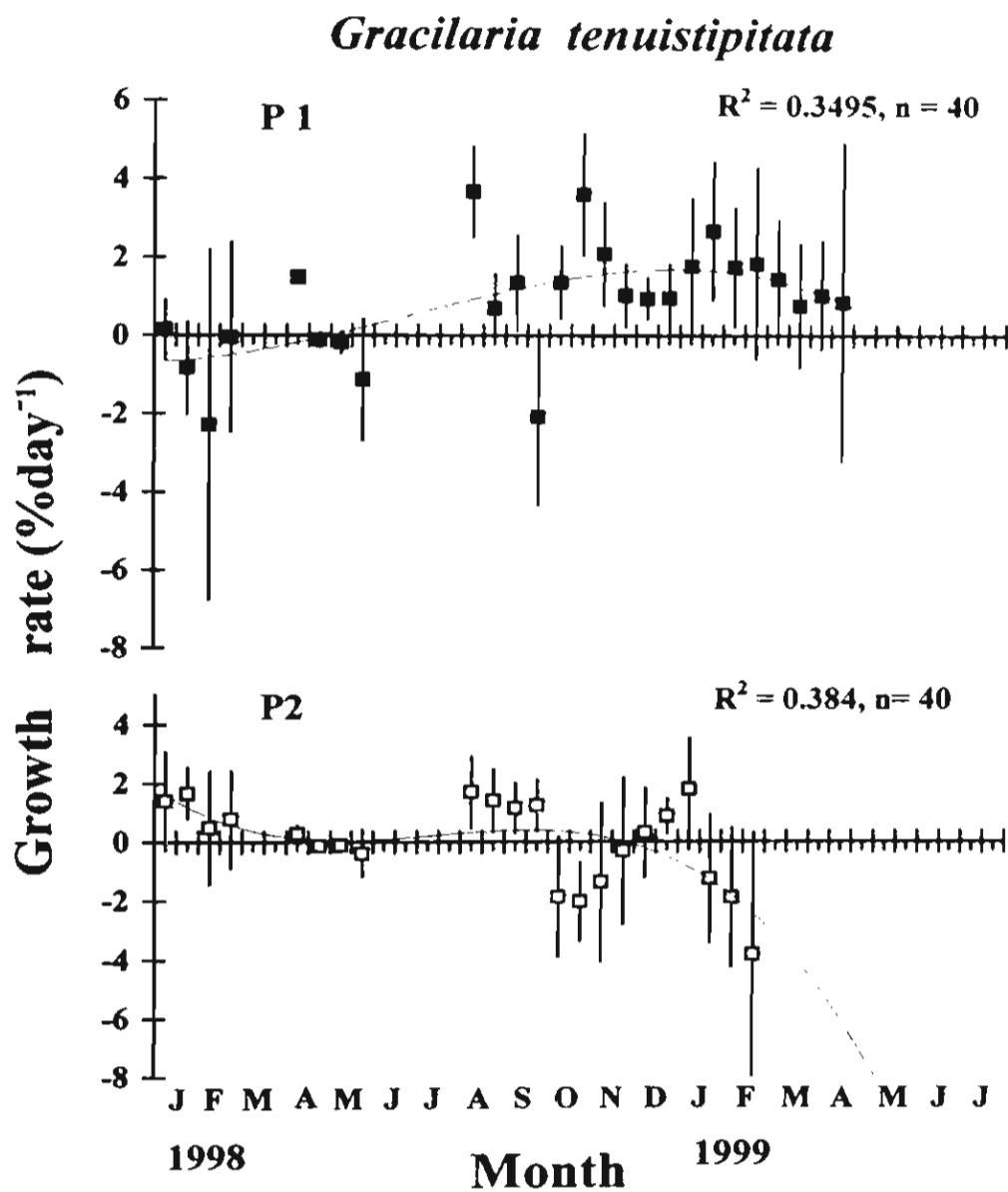
ตารางที่ 1 (ต่อ)

ว/ด/ป	อุณหภูมิ (°C)		ความเค็ม (‰)		ความโปร่งแสง (ซม.)		ความขุ่นของน้ำ (mg/l)		ความเป็นด่าง (mg/l)		PO ₄ -P (mg/l)		DIN (mg/l)	
	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2	บ่อที่ 1	บ่อที่ 2
8 มิ.ย. (ก)	29.0	29.0	40.0	37.0	13.0	8.0	45.02	60.96	100.0	83.0	0.002	0.002	0.018	0.017
27 มิ.ย. (ก)	35.0	35.0	40.0	38.0	13.0	10.0	25.58	69.66	139.0	112.0	0.007	0.004	0.108	0.117
29 มิ.ย. (ส)	31.0	32.0	37.0	42.0	22.0	11.0	38.89	72.53	146.0	116.0	0.005	0.006	0.120	0.137
4 ก.ค. (ก)	33.5	34.0	35.0	38.0	13.0	11.0	34.69	70.60	133.0	106.0	0.005	0.004	0.110	0.093
6 ก.ค. (ส)	30.0	30.0	35.0	38.0	15.0	14.0	29.02	47.30	135.0	120.0	0.010	0.008	0.226	0.077
11 ก.ค. (ก)	32.0	31.0	32.0	33.0	13.5	11.5	32.29	38.42	135.0	118.0	0.007	0.007	0.144	0.061
12 ก.ค. (ส)	32.0	32.0	36.0	40.0	11.0	14.0	35.68	34.28	130.0	123.0	0.009	0.006	0.081	0.062
18 ก.ค. (ก)	33.0	33.0	35.0	40.0	12.0	13.0	46.72	41.75	130.0	123.0	0.008	0.004	0.078	0.054
19 ก.ค. (ส)	31.5	31.5	40.0	40.0	9.0	16.0	36.96	30.77	131.0	130.0	0.009	0.005	0.057	0.082
23 ก.ค.	33.0	32.5	38.0	40.0	9.0	19.0	36.50	27.15	130.0	120.0	0.009	0.006	0.049	0.075

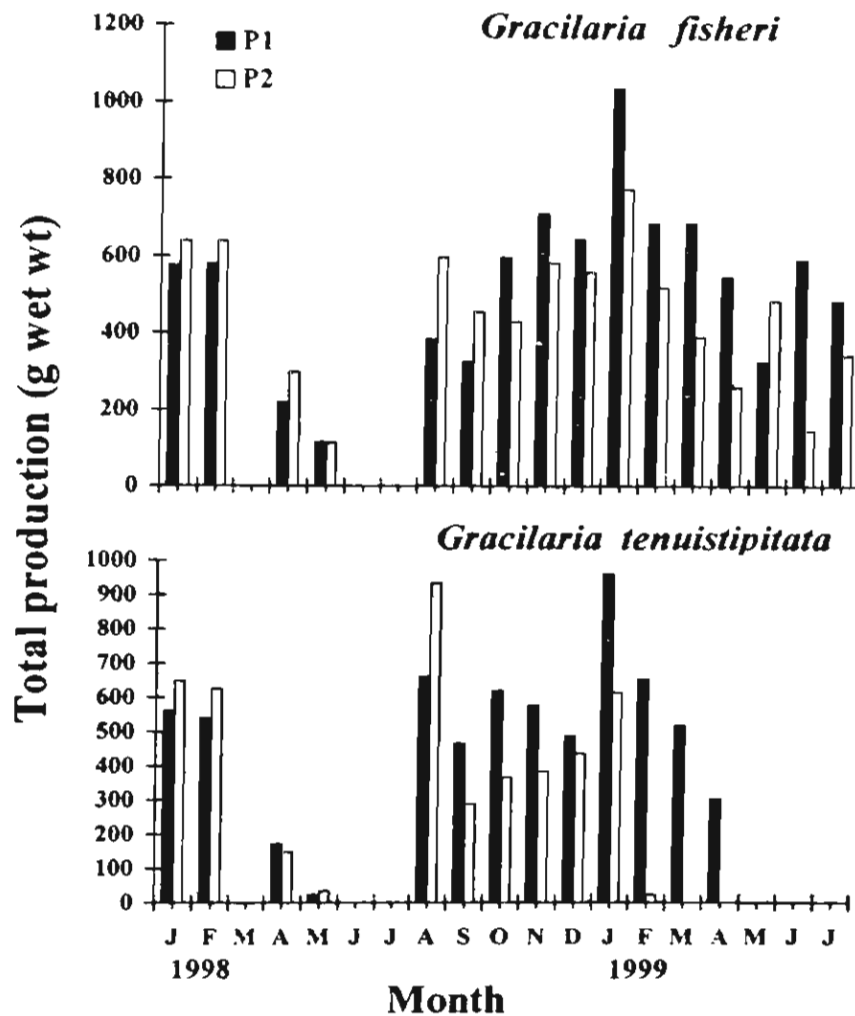
Gracilaria fisheri



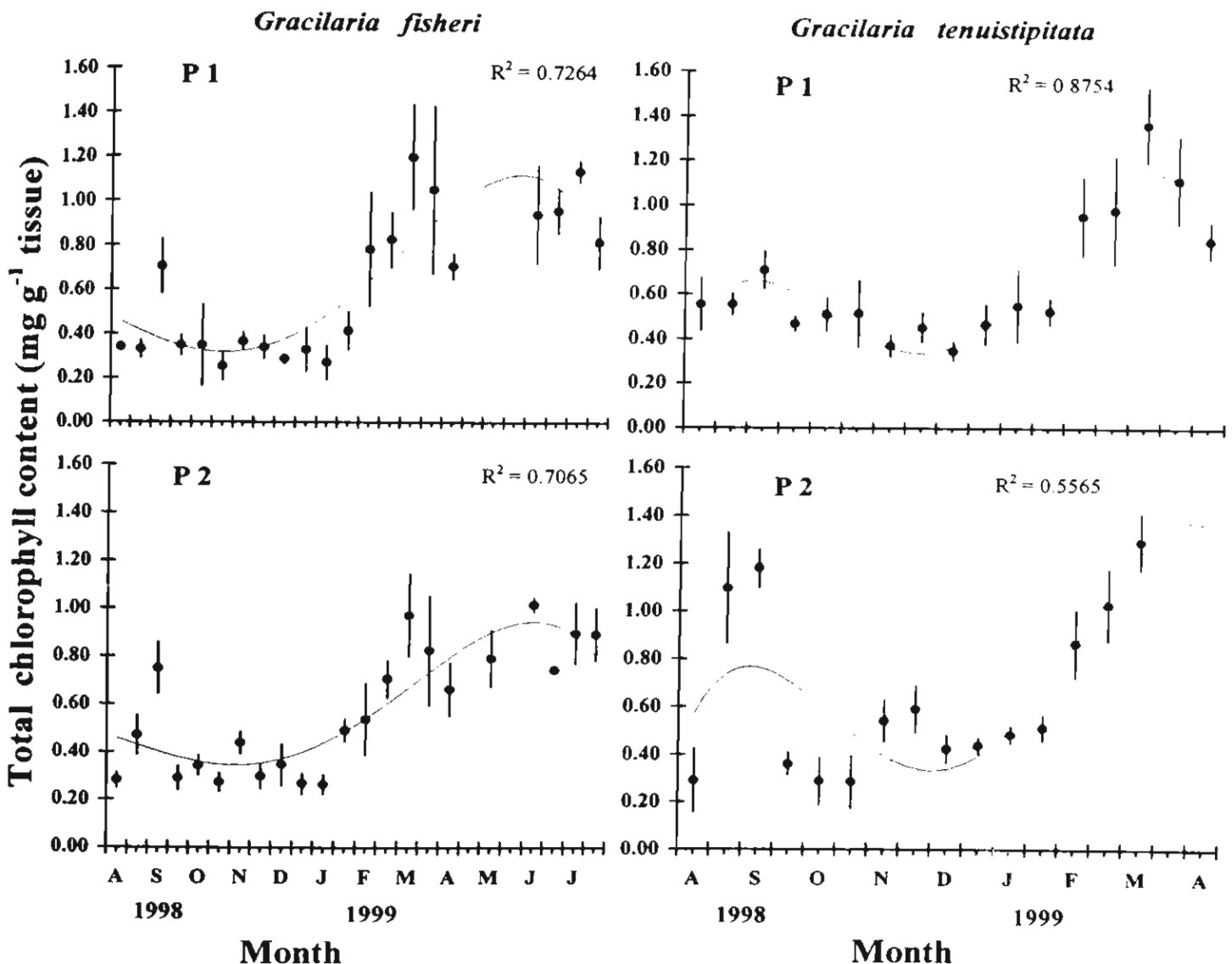
รูปที่ 5 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำ
 ทิ้งจากนาทุ่ง (P1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (P2) ตั้งแต่เดือนมกราคม 2541 ถึงกรกฎาคม 2542.
 ■, □ = ค่าเฉลี่ย, เส้นตรงแนวตั้ง = standard deviation, กราฟเส้นโค้งแสดงแนวโน้มของการ
 เปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต (fitted polynomial regression growth curve, n = 40)



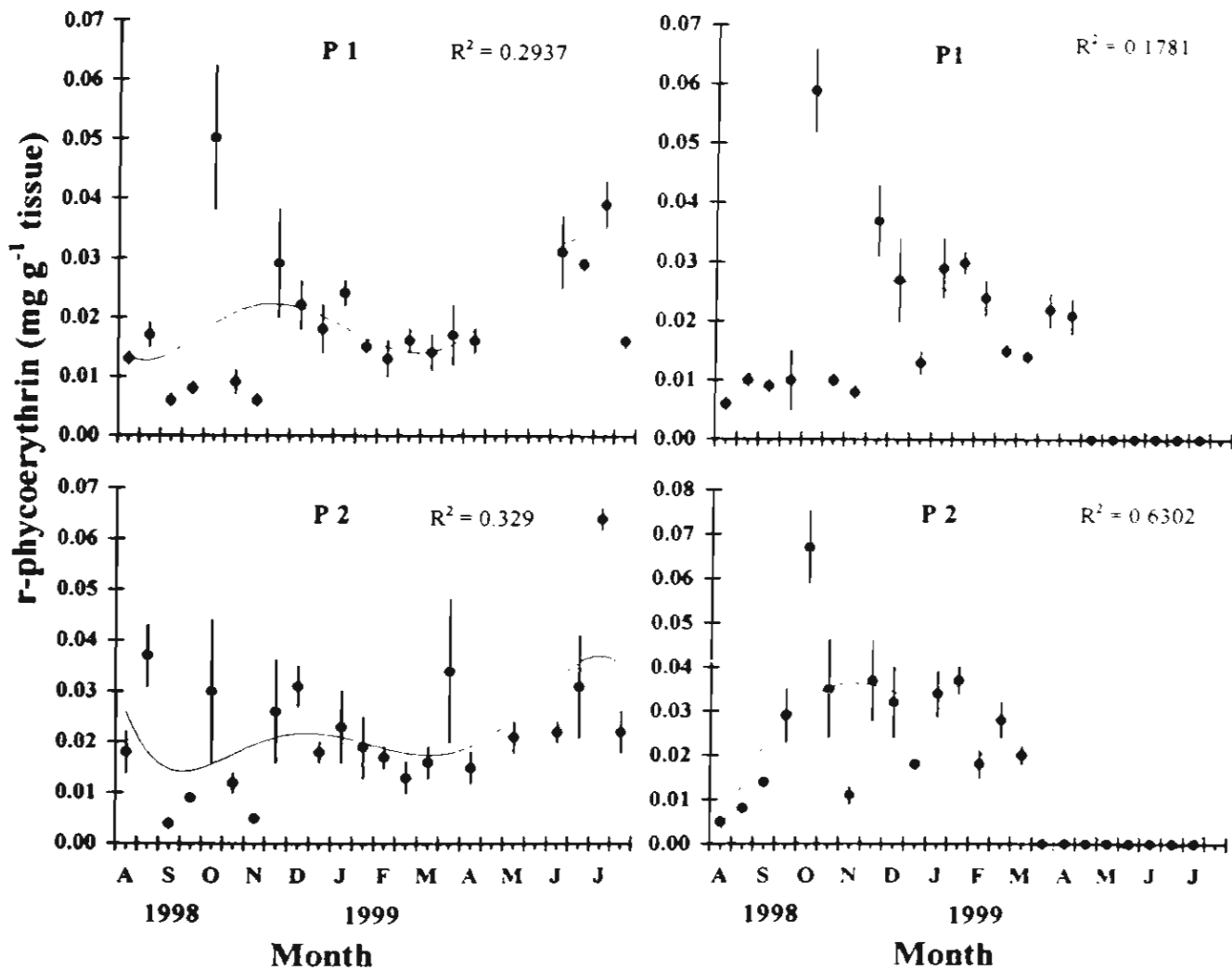
รูปที่ 6 อัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายวัน *Gracilaria tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติ โดยใช้น้ำทั้งจากนาุ้ง (P1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (P2) ตั้งแต่เดือนมกราคม 2541 ถึงกรกฎาคม 2542. ■, □ = ค่าเฉลี่ย, เส้นตรงแนวดิ่ง = standard deviation, กราฟเส้นโค้งแสดงแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต (fitted polynomial regression growth curve, n = 40)



รูปที่ 7 ผลผลิตรวมของสาหร่ายวัน *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำทั้งจากนาทุ่ง (P1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (P2) ตั้งแต่เดือนมกราคม 2541 ถึง กรกฎาคม 2542.



รูปที่ 8 ปริมาณโคโรฟิลล์รวมในสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำทั้งจากนาเกลือ (P1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (P2) ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2541 ถึงกรกฎาคม 2542. ● = ค่าเฉลี่ย, เส้นตรงแนวตั้ง = standard deviation, กราฟเส้นโค้งแสดงแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงปริมาณโคโรฟิลล์ (fitted polynomial regression curve, $n = 5$)

*Gracilaria fisheri**Gracilaria tenuistipitata*

รูปที่ 9 ปริมาณ r-phycoerythrin ในสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยใช้น้ำทั้งจากนาเกลือ (P1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (P2) ตั้งแต่เดือนสิงหาคม 2541 ถึงกรกฎาคม 2542. ● = ค่าเฉลี่ย, เส้นตรงแนวตั้ง = standard deviation, กราฟเส้นโค้งแสดงแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงปริมาณ r-phycoerythrin (fitted polynomial regression curve, $n = 5$)

ตารางที่ 2 ปริมาณ organic carbon, total nitrogen และ C/N ratio ในเนื้อเยื่อสาหร่ายวัน *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในสภาพปอดินธรรมชาติ โดยใช้น้ำทิ้งจากนาุ้ง (บ่อที่ 1) และน้ำทะเลธรรมชาติ (บ่อที่ 2) ระหว่างเดือนสิงหาคม 2541-เดือนกรกฎาคม 2542

เดือนปี	Gracilaria fisheri				Gracilaria tenuistipitata				
	บ่อที่ 1		บ่อที่ 2		บ่อที่ 1		บ่อที่ 2		
	organic carbon (%)	total-N (%)	C/N ratio	organic carbon (%)	total-N (%)	C/N ratio	organic carbon (%)	total-N (%)	C/N ratio
พ.ศ. 2541									
ส.ค.	39.04	2.14	18.24	39.04	1.77	22.05	40.16	2.29	17.53
ก.ย.	31.38	1.89	16.60	39.79	1.61	24.71	38.48	2.10	19.03
ต.ค.	39.79	1.73	23.00	37.55	1.52	24.70	39.60	2.31	17.38
พ.ย.	39.97	2.12	18.85	39.86	1.89	21.08	38.00	3.15	12.53
ธ.ค.	37.36	2.14	17.45	39.79	2.15	18.50	41.35	3.09	13.20
พ.ศ.2542									
ม.ค.	39.12	1.96	19.95	37.18	1.75	21.24	41.73	2.36	16.88
ก.พ.	23.61	2.12	11.14	28.95	2.05	14.12	19.08	2.99	7.73
มี.ค.	30.50	2.50	12.20	27.28	2.42	11.27	21.19	3.15	6.35
เม.ย.	18.24	2.43	7.51	22.32	2.34	9.54	19.23	-	-
พ.ค.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
มิ.ย.	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ก.ค.	43.08	1.07	40.26	43.98	0.85	51.74	-	-	-

หมายเหตุ: - ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 3 ปริมาณวุ้นและสมบัติทางกายภาพของวุ้นที่สกัดจากสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยน้ำทิ้งจากนาุ้งและน้ำทะเลธรรมชาติ

วัน/เดือน/ปี	Agar yield (%)	Gel strength g/cm ²	Viscosity (cps)	Gelling temperature (°C)	Melting temperature (°C)	Moisture content (%)
GT 1						
30 ต.ค. 41	33.49	507.1	39	46.0	90.0	15.74
29 พ.ย. 41	39.28	514.0	24	45.6	85.0	17.20
29 ธ.ค. 41	35.13	562.4	26	45.4	89.8	16.70
30 ม.ค. 42	32.59	552.6	30	46.0	91.0	15.10
GT 2						
30 ต.ค. 41	36.13	543.9	21	47.4	90.1	14.76
29 พ.ย. 41	36.98	573.6	19	44.5	91.1	15.90
29 ธ.ค. 41	36.55	594.7	21	48.8	90.8	16.86
30 ม.ค. 42	34.97	586.8	20	49.3	92.0	14.00
GF1						
30 ต.ค. 41	37.44	587.8	21	47.8	82.7	17.00
29 พ.ย. 41	40.04	556.8	22	47.1	82.8	17.95
29 ธ.ค. 41	39.99	594.1	25	47.4	82.7	16.40
30 ม.ค. 42	38.90	518.6	23	48.8	81.9	15.80
27 ก.พ. 42	42.13	555.8	26	48.1	82.9	16.60
27 มี.ค. 42	37.87	585.8	31	47.6	83.3	18.20
24 ก.ค. 42	44.96	740.1	27	46.3	87.0	16.20
GF2						
30 ต.ค. 41	36.70	591.8	23	46.0	84.0	16.18
29 พ.ย. 41	36.13	609.8	21	46.3	83.6	16.99
29 ธ.ค. 41	41.25	628.4	21	48.0	83.1	16.96
30 ม.ค. 42	42.26	573.2	20	47.4	82.9	16.34
27 ก.พ. 42	41.60	599.9	21	47.6	83.2	17.67
27 มี.ค. 42	43.48	529.5	23	48.0	82.0	15.61
24 ก.ค. 42	44.13	638.9	17	46.4	83.7	15.85
Bacto Agar	-	1104.5	14	39.3	89.8	-
PAC	-	900.1	26.7	46.7	89.9	-
วุ้นทรานานเงือก	-	-	23.3	50.8	93.7	-

หมายเหตุ GT = *Gracilaria tenuistipitata*, GF = *Gracilaria fisheri*, 1 = บ่อที่ 1, 2 = บ่อที่ 2

สมบัติของวุ้นวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ laboratory grade agar: Bacto Agar และ PAC (จากบริษัทวุ้นบริสุทธิ์), food grade agar: วุ้นผงทรานานเงือก (ซื้อจากร้านค้าทั่วไป), - = ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 4 สมบัติทางเคมีของวุ้นที่สกัดจากสาหร่ายวุ้น *Gracilaria fisheri* และ *G. tenuistipitata* ที่เลี้ยงในบ่อดินธรรมชาติโดยน้ำทิ้งจากนาุ้งและน้ำทะเลธรรมชาติ

ตัวอย่าง	วัน/เดือน/ปี	Total carbohydrate (%)	Sulfate content (%)	3,6-AG (%)
GT 1	30 ต.ค. 41	37.66	0.71	19.16
	29 พ.ย. 41	41.1	0.75	22.22
	29 ธ.ค. 41	39.77	0.77	19.05
	30 ม.ค. 42	37.69	0.76	15.04
GT 2	30 ต.ค. 41	38.89	0.63	21.9
	29 พ.ย. 41	39.19	0.64	20.3
	29 ธ.ค. 41	39.39	0.63	19.05
	30 ม.ค. 42	40.89	0.63	17.35
GF1	30 ต.ค. 41	42.07	0.85	20.94
	29 พ.ย. 41	41.37	0.79	15.87
	29 ธ.ค. 41	41.88	0.88	22.07
	30 ม.ค. 42	39.65	0.80	19.83
	27 ก.พ. 42	41.16	0.83	17.96
	27 มี.ค. 42	42.75	0.84	23.97
	24 ก.ค. 42	46.09	0.69	28.32
GF2	30 ต.ค. 41	42.64	0.76	22.15
	29 พ.ย. 41	41.07	0.77	23.54
	29 ธ.ค. 41	42.4	0.75	23.97
	30 ม.ค. 42	40.61	0.76	17.43
	27 ก.พ. 42	40.35	0.76	23.05
	27 มี.ค. 42	41.9	0.86	26.62
	24 ก.ค. 42	45.01	0.62	21.23
	non alkali treatment	-	3.36	14.48
	Bacto Agar	-	1.54	25.87
	PAC	-	0.62	30.72
	วุ้นทรานางเงือก	-	0.61	28.61

หมายเหตุ GT = *Gracilaria tenuistipitata*, GF = *Gracilaria fisheri*, 1 = บ่อที่ 1, 2 = บ่อที่ 2,

non alkali treatment = วุ้นสกัดจาก *G. fisheri*,

สมบัติของวุ้นวิเคราะห์เปรียบเทียบกับ laboratory grade agar: Bacto Agar และ PAC (จากบริษัทวุ้นบริสุทธิ์), food grade agar: วุ้นผงทรานางเงือก (ซื้อจากร้านค้าทั่วไป), - = ไม่มีข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

- กรมศุลกากร. สถิติการค้าระหว่างประเทศของประเทศไทยปี 2537-2539.
- จิวรรณ สิงห์ทวีศักดิ์ และ อรุณี มานะกล้า, 2537. การศึกษาผลผลิตของสาหร่ายเชากวาง (*Gracilaria changii* Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia ที่เลี้ยงในบ่อดิน. เอกสารวิชาการ กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง ฉบับที่ 29/2537, 18 หน้า
- จิวรรณ สิงห์ทวีศักดิ์, บุญส่ง สิริกุล และ อรุณ มีกิริยา, 2538. การเลี้ยงสาหร่ายผสมนาง, *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia, แบบผลผลิตสูงในบ่อดิน. เอกสารวิชาการ กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง ฉบับที่ 58/2538, 25 หน้า.
- American Public Health Association, American Water Works Association & Water Pollution Control Federation (APHA, AWWA & WPCF), 1980. Standard method for the examination of water and waste water, 15th ed. APHA. Washington D. C. 1134 pp.
- Asare, S.O., 1980. Seasonal changes in sulphate and 3,6-anhydrogalactose content of phycocolloids from two red algae. Bot. mar. 23:595-598.
- Bird, K.T., M. D. Hanisak & J. Ryther, 1981 Chemical quality and production of agars extracted from *Gracilaria tikvahiae* grown in different nitrogen enrichment conditions. Bot. mar. 24: 441-444.
- Bird, K.T., J. H. Ryther, 1990. Cultivation of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta) strain G-16 for agar. Proc. Int. Seaweed Symp. 13:347-351.
- Chirapart A. & M. Ohno, 1993a. Growth in tank culture of species of *Gracilaria* from the southeast Asian waters. Bot. mar. 36:9-13.
- Chirapart A. & M. Ohno, 1993b. Seasonal variation in the physical properties of agar and biomass of *Gracilaria* sp. (chorda type) from Tosa Bay, southern Japan. Hydrobiologia 260/261 (Dev. Hydrobiol. 85):541-547.
- Chirapart A., M. Ohno, M., Sawamura & H. Kusunose, 1994. Effect of temperature on growth rate and agar aquality of a new member of Japanese *Gracilaria* in Tosa Bay, southern Japan. Jpn. J. Phycol. (Sorui) 42:325-329.
- Chirapart A., Y. Katou, H. Ukeda, M. Sawamura & H. Kusunose, 1995. Physical and chemical properties of agar from a new member of *Gracilaria*, *G. lemaneiformis* (Gracilariales, Rhodophyta) in Japan. Fisheries Science 61(3):450-454.
- Christeller, J. T. & W. A. Laing, 1989. The effect of environment on the agar yield and gel characteristics of *Gracilaria sordida* Nelson (Rhodophyta). Bot. mar. 32:447-455.

- Christiaan D., T. Sradler, M. Ondarza, M. C. Verdus, 1987. Structures and functions of the polysaccharides from the cell wall of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales). Proc. Int. Seaweed Symp. 12:139-146.
- Cote, G. L. & M. D. Hanisak, 1986. Production and properties of native agars from *Gracilaria tikvahiae* and other red algae. Bot. mar. 29:359-366.
- Craigie, J. S. & Z. C. Wen, 1984. Effects of temperature and tissue age on gel strength and composition of agar from *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). Can. J. Bot. 62: 1665-1670.
- Craigie, J. S., Z. C. Wen & J. P. van der Meer, 1984. Interspecific, intraspecific and nutritionally determined variations in the composition of agars from *Gracilaria* spp. Bot. mar. 27:55-61.
- Daugherty, B. K. & K. T. Bird, 1988. Salinity and temperature effect on agar production from *Gracilaria verrucosa* strain G-16. Aquaculture 75:105-113.
- Dubois, M., K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Robers & F. Smith, 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28:350-356.
- Ekman P. & M. Pedersén, 1990. The influence of photon irradiance, day length, dark treatment, temperature, and growth rate on the agar composition of *Gracilaria sordida* W. Nelson and *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss (Gigartinales, Rhodophyta). Bot. mar. 33:483-495.
- Fredriksen, S. & J. Rueness, 1989. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. Bot. mar. 32: 539-546.
- Friedlander, M. & I. Levy, 1995. Cultivation of *Gracilaria* in outdoor tanks and ponds. J. appl. Phycol. 7: 315-324.
- Friedlander, M., M. D. Krom & A. Ben-Amotz, 1991. The effect of light and ammonium on growth, epiphytes and chemical constituents of *Gracilaria conferta* in outdoor cultures. Bot. mar. 34:161-166.
- Friedlander, M., C. Dawes & I. Levy, 1993. Exposure of *Gracilaria* to various environmental conditions, I. The effect on growth. Bot. mar. 36: 283-288.
- Gonen, Y., E. Kimmel & M. Friedlander, 1993. Effect of relative water motion on photosynthetic rate of the red alga *Gracilaria conferta*. Proc. Int. Seaweed Symp. 14: 493-498.
- Guiseley, K.B., 1970. The relationship between methoxyl content and gelling temperature of agarose. Carbohydr. Res.13:247-256.

- Haglund, K. & M. Pedersén, 1993. Outdoor pond cultivation of the subtropical marine red alga *Gracilaria tenuistipitata* in brackish water in Sweden. Growth, nutrient uptake, co-cultivation with rainbow trout and epiphyte control. J. appl. Phycol. 5: 271-284.
- Hanisak, M. D., 1987. Cultivation of *Gracilaria* and other macroalgae in Florida for energy production. In K. T. Bird & P. H. Benson (eds), Seaweed Cultivation for Renewable Resources. Elsevier, Amsterdam: 191-218.
- Hoyle, M. D., 1978. Agar studies in two *Gracilaria* species (*G. bursa-pastoris* (Gmelin) Silva and *G. coronopifolia* J. Ag.) from Hawaii. II. Seasonal aspects. Bot. mar. 21:347-352.
- Jiménez del Río, M., Z. Ramazanov & G. García-Reina, 1996. *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. Proc. Int. Seaweed Symp. 15: 67-73.
- Lahaye, M. & W. Yaphe, 1988. Effects of seasons on the chemical structure and gel strength of *Gracilaria pseudoverrucosa* agar (Gracilariaceae, Rhodophyta). Carbohydr. Polymers 8:285-301.
- Lapointe, B. E., 1981. The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima*. J. Phycol., 17: 90-95.
- Lapointe, B. E., 1987. Phosphorus and nitrogen limited photosynthesis and growth of *Gracilaria tikvahiae* in the Florida Keys: an experimental field study. Mar. Biol., 93:561-568.
- Lapointe, B. E. & J. H. Ryther, 1979. The effect of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* in mass outdoor culture. Bot. mar. 22: 529-537.
- Levy, I., S. Beer & M. Friedlander, 1990. Growth, photosynthesis and agar in wild-type strains of *Gracilaria verrucosa* and *G. conferta* (Gracilariales, Rhodophyta), as a strain selection experiment. Proc. Int. Seaweed Symp. 13: 381-387.
- Lignell, A. & M. Pedersén, 1987. Nitrogen metabolism in *Gracilaria secundata* Harv. Proc. Int. Seaweed Symp. 12: 431-441.
- MacColl, R. & D. Guard-Friar, 1987. Phycobiliprotein. CRC Press, Florida. 218 pp.
- Mackinney, G., 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140: 315-322.
- Martinez, L. A. & A. H. Buschmann, 1996. Agar yield and quality of *Gracilaria chilensis* (Gigartinales, Rhodophyta) in tank culture using fish effluents. Hydrobiologia 326/327: 343-345.

- McLachlan, J. & C. J. Bird, 1986. *Gracilaria* (Gigartinales, Rhodophyta) and productivity. *Aquatic Bot.* 26:27-49.
- Matsushashi, T., 1990. Agar. *In* P. Harris (ed) *Food Gels*. Elsevier Science Publisher Ltd., London pp. 1-51.
- Patwary, M. U. & J. P. van der Meer, 1983. Genetics of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) IX: some properties of agar extracted from morphological mutant. *Bot. mar.* 26:295-299.
- Penniman, C. A., A. C. Marthieson & C. E. Penniman, 1986. Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. *Bot. mar.* 24:147-154.
- Phang S-M., S. Shaharuddin, H. Noraishah & A. Sasekumar, 1996. Studies on *Gracilaria changii* (Gracilariales, Rhodophyta) from Malaysian mangroves. *Hydrobiologia* 326-327:347-352.
- Pickering, T. D., M. E. Gordon & L. J. Tong, 1990. Seasonal growth, density, reproductive phenology and agar quality of *Gracilaria sordida* (Gracilariales, Rhodophyta) at Mokomoko Inlet, New Zealand. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 13:253-262.
- Ree, D. A., 1972. Shapely polysaccharides. *Biochem. J.* 126:257-273.
- Rui, L., L. Jiajun & C. Y. Wu, 1990. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). *Proc. Int. Seaweed Symp.* 13: 499-503.
- Strickland, J. D. H. & T. R. Parsons, 1972. A practical handbook of sea water analysis, 2nd ed. Fisheries Research Board of Canada Bulletin No. 167, Ottawa 310 pp.
- Ugate R. & B. Santelices, 1992. Experimental tank cultivation of *Gracilaria chilensis* in central Chile. *Aquaculture* 101:7-16.
- Vandermeulen, H. & H. Gordin, 1990. Ammonium uptake using *Ulva* (Chlorophyta) in intensive fishpond systems: mass culture and treatment of effluent. *J. appl. Phycol.* 2: 363-374.
- Walsh, L. M. & J. S. Beaton, 1973. Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 491 pp.
- Whyte, J. N. C., J. R. Englar, R. G. Saunders & J. C. Lindsay, 1981. Seasonal variations in the biomass, quantity and quality of agar, from the reproduction and vegetative stages of *Gracilaria* (verrucosa type). *Bot. mar.* 24: 493-501.
- Yamasaki, S., F. Ali & H. Hirata, 1997. Low water pollution rearing by means of polyculture of larvae of kuruma prawn *Penaeus japonicus* with a sea lettuce *Ulva pertusa*. *Fisheries Science* 63: 1046-1047.

- Yaphe, W. & G. P. Arsenault, 1956. Improved resorcinol reagent for the determination of fructose, and 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides. *Anal. Biochem.* 13:143-148.
- Yaphe, W. & M. Duckworth, 1972. The relationship between structures and biological properties of agars. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 7: 15-22.

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

- Chirapart A. and Lewmanomont K. Growth and production of Thai agarophytes cultured in natural pond using the effluent seawater from shrimp culture. *Hydrobiologia & Developments in Hydrobiology* (in press)

ภาคผนวก

Growth and production of Thai agarophyte cultured in natural pond using the effluent seawater from shrimp culture

Anong Chirapart & Khanjanapaj Lewmanomont

Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

Key words: growth, natural culture pond, production, Thai agarophyte

Abstract

Growth rate determinations of the Thai agarophytes, *Gracilaria fisheri* (Xia *et* Abbott) Abbott, Zhang *et* Xia and *G. tenuistipitata* Chang *et* Xia var. *tenuistipitata* Chang *et* Xia, were conducted by monoline method in natural earthen ponds (800 m² in area) using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2), from January 1998 to July 1999. Generally, plants of both species cultured in P1 showed a better growth rate and total production than those cultured in P2. Growth rates and total production of the *Gracilaria* cultured in P1 increased in the rainy months and reached a maximum value of 3.08 ± 1.14 %d⁻¹ for *G. fisheri* and 2.68 ± 1.76 %d⁻¹ for *G. tenuistipitata* in January 1999. In contrast, growth of both species cultured in P2, projected a slight change in their growth rates, with a maximum value of 1.85 ± 1.00 %d⁻¹ for *G. fisheri* and 1.70 ± 0.49 %d⁻¹ for *G. tenuistipitata* attained in the rainy period (August 1998). All plants of *G. tenuistipitata* declined drastically in the following dry season. Total production of *G. fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in P1 showed the highest value of 1000 g wet wt and 961 g wet wt in January 1999, respectively. Plants of both species showed fluctuation in growth and total production, depending on specific cultured conditions of each pond, algal strain used, and on the season. The results suggest that *G. fisheri* can be grown all year round and is more suitable than *G. tenuistipitata* for earthen pond cultivation using shrimp pond effluents.

Introduction

Thailand is an entirely tropical monsoon country, pronounced wet and dry seasons characterize the climate. The rainy season of the south-west monsoon is usually established from May to September, whereas the dry season of the north-east monsoon begins in November and ends in February (Lewmanomont, 1998). Characteristics of the coast of Thailand are mainly mangrove swamps and muddy to sandy beaches.

In the past few years, intensive cultivation of shrimp has expanded considerably in many coastal areas of Thailand. The activities of shrimp cultivation are almost throughout the year, except for the cold months (December and January). The increase of the intensive farm activities have affected the coastal environment of the country. This is because waste waters from the sea farms usually contain large amounts of nitrogen being excreted by shrimp into the water. Several investigations have considered the nutrient-rich effluents as a nitrogen source in mariculture (Vandermeulen & Gordin, 1990; Haglund & Pedersén, 1993; Jiménez del Río *et al.*, 1996; Yamasaki *et al.*, 1997). They suggested that available nutrient-rich effluents could enhance the growth of marine algae.

Integrated cultivation of the Thai agarophyte *Gracilaria fisheri* with fishes has been attempted in outdoor tanks and ponds (Singthaweesak, 1995; 1996). However, production of the agarophyte has not been successful. There have been very few reported on seaweed growth in Thailand, particularly on its seasonal changes in relation to environmental factors. The present study was carried out to ascertain variations in growth of the Thai agarophytes, *Gracilaria fisheri* (Xia *et al.*) Abbott, Zhang *et al.* and *G. tenuistipitata* Chang *et al.* var. *tenuistipitata* Chang *et al.* cultured under natural earthen pond conditions, using shrimp pond effluents and ambient seawater. Annual growth and production of the algae with changes in environmental conditions, and their chemical compositions (chlorophyll, r-phycoerythrin, C:N ratio) were determined.

Materials and Methods

Natural earthen pond cultivations and plant material

Seaweed cultivation was conducted in natural earthen ponds at the Phetchaburi Coastal Aquaculture Station, Phetchaburi province (lat 100° 05'15" E, long 13° 02'30" N), 250 km south of Bangkok, Thailand. Two ponds (P1 and P2), originally constructed for cultivation of fish, were used in the experiments. The ponds were 800 m² in area and 150 cm deep. The seawater supply was from an extensive shrimp culture pond and from ambient seawater. In experiment 1 the shrimp pond effluents of 350 m³ were filtered with a net (2 mm mesh size) and mixed with 650 m³ of ambient seawater in P1. In experiment 2 the ambient seawater of 1000 m³ was pumped directly through the filter net into P2. Aeration was provided with high-flow compressors supplying air to the different ponds, each having six PVC pipes (10 m length) with outlet, and placed in an interval of 1 m on the bottom. The water exchanges of 70% volume were conducted every 7-14 days.

Gracilaria fisheri (Xia et Abbott) Abbott, Zhang et Xia and *G. tenuistipitata* Chang et Xia var. *tenuistipitata* Chang et Xia were collected from Pattani Bay, in the south-east coast of the Gulf of Thailand. Plants were pre-cultivated by monoline method (Trono, 1987) under both pond conditions as mentioned above, for 6 months prior to the start of the experiments. Fifty algal samples (5-10 g sample⁻¹) were inserted between the braids of the nylon rope (10 m length) at an interval of 15 cm sample⁻¹. Pre-culture and culture experiments were performed in the ponds with initial stocking weight of 500 and 250 g wet wt rope⁻¹ or 5.0 and 2.5 kg wet wt pond⁻¹, respectively, at 100 cm water depth. Algae were suspended in the water column at 15 cm above the muddy bottom.

Harvesting, growth rate and production

Cultivars were harvested every 7-14 days and re-stocked to the same initial weight. Relative daily growth rates were calculated according to the equation (Penniman *et al.*, 1986):

$$\text{RGR} = \{(Wt/Wo)^{1/t} - 1\} \times 100,$$

where RGR = relative daily growth rate; Wo = initial fresh weight; Wt = final fresh weight; and t = time (days). Total production of the algae in g fresh wt was monitored monthly.

Laboratory analyses

During the experiments, determination of surface seawater temperature, salinity, turbidity, alkalinity, $\text{PO}_4\text{-P}$ and total dissolved inorganic nitrogen (ammonia + nitrite + nitrate) were made every working day as one point measurements. Water temperature and salinity were measured using an alcohol thermometer, and refracto-salinometer, respectively. Turbidity of the seawater was recorded at 420 nm with a spectrophotometer (Shimadzu UV-1601). Alkalinity and ammonia-N were determined according to APHA, AWWA & WPCF (1980) and $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{NO}_2\text{-N}$ according to Strickland & Parsons (1972). Determinations of nitrogen and organic carbon concentration, and C:N ratio in the algal tissue were performed with method described by Walsh & Beaton (1973). Samples of fresh material were analyzed for total chlorophyll (Mackinney, 1941) and for r-phycoerythrin (MacColl & Guard-Friar, 1987).

Results

The chemical and physical characteristics of the surface seawater in both experiments are shown in Table 1. Annual temperature of surface seawater in both P1 and P2 ranged from 18°C in the late rainy season (September) to 35°C in the dry season (April). Salinity generally varied from 20 ‰ to 35 ‰ in both P1 and P2, but increased drastically (36-45 ‰) during dry periods. Turbidity varied from 14.60 to 162.22 mg l⁻¹ in P1 and 13.31 to 81.23 mg l⁻¹ in P2. In the natural earthen pond, total dissolved inorganic nitrogen (DIN) concentration was generally higher in P1 than in P2 with values ranging from 0.02-2.55 mg l⁻¹ in P1 and 0.02-2.53 mg l⁻¹ in P2. PO₄-P concentration was from 0.00-0.06 mg l⁻¹ in P1 and 0.00-0.40 mg l⁻¹ in P2. Alkalinity ranged from 53-296 mg l⁻¹ in P1 and 52-255 mg l⁻¹ in P2.

Cultivars of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* showed fluctuation in their growth rates throughout the year (Figs 1, 2). Both agarophytes exhibited variations in growth depending on season, algal strain and specific culture conditions of each pond. Growth of the agarophytes was rather low at the beginning of culture period (January-April 1998), and continued to worsen during unusual dry period due to El Nino, increasing water salinity (>45 ‰) and temperature (>30°C). Cultivars grew again when water salinity and temperature decreased during rainy (August 1998) and cold months (November 1998-January 1999).

Higher growth rate of *Gracilaria* cultured in P1, as indicated by the fitted polynomial regression line, was obtained in the rainy period (August-October 1998) when salinity was between 20-28 ‰ in P1 and 20-30 ‰ in P2. A maximum value for *G. fisheri* ($3.08 \pm 1.14 \%d^{-1}$; $r^2 = 0.53$; $n = 40$) and for *G. tenuistipitata* ($2.68 \pm 1.76 \%d^{-1}$; $r^2 = 0.35$; $n = 40$) was reached in January 1999. Conversely, the regression growth curve of the *Gracilaria* cultured in P2 indicated a peak of maximum growth rate for *G. fisheri*

($1.85 \pm 1.00 \text{ \%d}^{-1}$; $r^2 = 0.16$; $n = 40$) and for *G. tenuistipitata* ($1.70 \pm 0.49 \text{ \%d}^{-1}$; $r^2 = 0.38$; $n = 40$) in the rainy season (August 1998). Growth of both species decreased gradually, then drastically when water salinity exceeded 35 ‰, temperature over 30°C and alkalinity of $>160 \text{ mg l}^{-1}$. *G. fisheri* cultivars could grow and acclimatize to the new culture conditions, but not for *G. tenuistipitata*.

Total production (Fig. 3) of cultivars in P1 obtained higher value than those in P2. *Gracilaria fisheri* showed the highest production of 1000 g wet wt (P1) and 777 g wet wt (P2) in January 1999 while those of *G. tenuistipitata* were 936 g wet wt in August 1998 (P2) and 961 g wet wt in January 1999 (P1). However, production of the algal wet weight was higher in P2 than in P1 during the early part of the study (January- September 1998).

Total chlorophyll content (Fig. 4) was higher for the cultivars in P1 than those in P2. The value for *Gracilaria fisheri* ranged from 0.25-1.19 mg g^{-1} tissue in P1, 0.27-0.97 mg g^{-1} tissue in P2, and for *G. tenuistipitata*, 0.35-1.37 mg g^{-1} tissue in P1 and 0.28-1.29 mg g^{-1} tissue in P2. The maximum values were obtained in the summer month of March 1999. The content of r-phycoerythrin (Fig. 5) in *G. tenuistipitata* increased during rainy and early cold months, and gradually decreased further towards summer. The polynomial regression curve of *G. fisheri* and *G. tenuistipitata* indicated the content of r-phycoerythrin to be in correspondence with the growing period of the algae.

Changes in the tissue C:N ratios of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* are illustrated in Fig. 6. The C:N ratio in *G. fisheri* ranged from 7.51-40.26 in P1 and 9.54-51.74 in P2, and in *G. tenuistipitata* from 5.51-14.90 in P1 and 6.35-19.03 in P2. These ratios in both species were generally lower in P1 than in P2, which corresponded to the higher growth of the plant cultured in P1. However, relationship between the tissue C:N ratios, nutrient and growth rate was not clear among the *Gracilaria* species.

The main interfering epiphytes in our experiments were the blue green alga, *Lyngbya majuscula*, the green algae, *Enteromorpha clathrata*, *Chaetomorpha crassa*, and *Cladophora prolifera*, the seagrass, *Ruppia maritima* and other animals (e.g. tube worm, copepods). They proliferated on the *Gracilaria* and on the bottom of the culture ponds. The epiphytes entangled, entrapped and caused the *Gracilaria* to float, making the plants vulnerable to the high surface summer temperatures. The other animals also entrapped and damaged to tissue of the *Gracilaria*.

Discussion

Growth rate and chemical compositions of *Gracilaria* spp. in outdoor cultures have been reported as a function of salinity, temperature, irradiance, nitrogen and phosphate concentration, plant density, rate of water exchange, aeration, pH and inorganic carbon supply (Lapointe & Ryther, 1979; Lapointe, 1981, 1987; Friedlander *et al.*, 1991; Friedlander *et al.*, 1993; Gonen *et al.*, 1993). Positive correlations between growth rates and nitrogen content have been shown in outdoor cultivation tanks of other *Gracilaria* species (Haglund & Pedersén, 1993; Jiménez del Río *et al.*, 1996; Yamasaki *et al.*, 1997). With respect to the present study, growth rates of *G. fisheri* and *G. tenuistipitata* increased in response to the effluents from extensive shrimp culture pond. The C:N ratio indicated available nutrient in the shrimp pond effluents sufficient for growing the Thai agarophytic *Gracilaria*. This result seems to have no N-limitation effect on the algal growth under the natural earthen pond conditions. Lower C:N ratios obtained in the tissues of both *Gracilaria* species in P1 than in P2, could be caused by the accumulation of nitrogen compounds in the tissues of plants which is related to higher nutrient-N in P1 (Friedlander & Levy, 1995). Tissue C:N ratio of about 6 indicated good growth in *Gracilaria secundata* grown at 25°C under laboratory conditions in Uppsala, Sweden

(Lignell & Pedersen, 1987). However, a C:N ratio of about 29 had been reported as an indicator of normal growth of *Kappaphycus alvarezii* in the open sea cultivation (Rui *et al.*, 1990). A tissue C:N ratio in *G. tikvahiae* higher than 13.5 has been suggested as a sign of nitrogen deficiency which reduces growth (Hanisak, 1987). Friedlander *et al.* (1991) reported that the C:N ratio had an inverse relationship with the ammonium concentration of the culture medium and with growth rate. Under the natural earthen pond conditions, however, the tissue C:N ratio of each *Gracilaria* species was not clearly related with the growth rate. An increment in growth rate and total production of the *Gracilaria* species in P1, observed in January 1999, could be caused by increments in DIN concentration during that period. In addition, higher production of the algae in P2 than in P1 obtained during the early period of culture (January-September 1998), may be caused by lower turbidity of the seawater used (higher light intensity) in P2 than in P1 associated with interrupted aeration in P1.

Furthermore, variations in the growth and population of both *Gracilaria* species were also dependent on season and strain of the algae. Similar results had been reported in long-term experiments in outdoor culture of *Gracilaria verrucosa* strain G-16 in Florida (Bird & Ryther, 1990), *G. conferta* in Israel (Levy *et al.*, 1990), and *G. tenuistipitata* in Sweden (Haglund & Pedersen, 1993). Difference in pigment composition of the *Gracilaria* cultured in P1 and P2 likely arose in response to changes in environmental conditions (Fredriksen & Rueness, 1989). Although there may be general trends in growth due to seasonal changes in climatic factors, there also appears to be exceptions. Markedly higher growth rates were found in some months (Figs 1, 2), probably due to the better growth of the freshly re-stocked samples after the older algae had declined in growth during the dry periods.

Weekly fluctuations in growth of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* may also be explained by the competitive growth of epiphytes (Hanisak, 1987; Friedlander *et al.*, 1991). In addition, reduction in the growth rate and production of the algae may be caused by extremes in salinity, temperature and alkalinity, in dry periods. A weekly addition of seawater and low rate of water exchange in some months, during growing period, may also be insufficient to maintain growth in the summer. However, a previous report by Vandermeulen & Gordin (1990) showed that continuous waste water flow through had not provided better growth of *Ulva* in culture tank.

These present results provide further evidence that the Thai agarophytes can be grown under natural pond conditions using shrimp pond effluents all year round. *Gracilaria fisheri* showed a better growth, suggesting that this species could be more suitable than *G. tenuistipitata* for outdoor cultivation in Thailand. However *G. tenuistipitata* can be cultivated under natural pond conditions for 6-7 months of the year. Growth of the algae may potentially be improved by a higher rate of water exchange as mentioned by Freidlander & Levy (1995).

Acknowledgments

This research was supported by a grant from the Thailand Research Fund (no. PDF/69/2540). The authors wish to thank the Phetchaburi Coastal Aquaculture Station for the permission to work in the station, the staff of the Fishery Genetic Section at the Phetchaburi Coastal Aquaculture Station for all their help with field work and laboratory support. We also thank the graduate students, Miss Jittima Mankit and Miss Nidsaraporn Pugdeepun for assistance in the experiment work.

References

- American Public Health Association, American Water Works Association & Water Pollution Control Federation (APHA, AWWA & WPCF), 1980. Standard method for the examination of water and waste water, 15th ed. APHA. Washington D.C. 1134 pp.
- Bird, K. T. & J. H. Ryther, 1990. Cultivation of *Gracilaria verrucosa* (Gracilariales, Rhodophyta) strain G-16 for agar. Proc. Int. Seaweed Symp. 13: 345-351.
- Fredriksen, S. & J. Rueness, 1989. Culture studies of *Gelidium latifolium* (Grev.) Born et Thur. (Rhodophyta) from Norway. Growth and nitrogen storage in response to varying photon flux density, temperature and nitrogen availability. Bot. mar. 32: 539-546.
- Friedlander, M. & I. Levy, 1995. Cultivation of *Gracilaria* in outdoor tanks and ponds. J. appl. Phycol. 7: 315-324.
- Friedlander, M., M. D. Krom & A. Ben-Amotz, 1991. The effect of light and ammonium on growth, epiphytes and chemical constituents of *Gracilaria conferta* in outdoor cultures. Bot. mar. 34:161-166.
- Friedlander, M., C. Dawes & I. Levy, 1993. Exposure of *Gracilaria* to various environmental conditions, I. The effect on growth. Bot. mar. 36: 283-288.
- Gonen, Y., E. Kimmel & M. Friedlander, 1993. Effect of relative water motion on photosynthetic rate of the red alga *Gracilaria conferta*. Proc. Int. Seaweed Symp. 14: 493-498.
- Haglund, K. & M. Pedersén, 1993. Outdoor pond cultivation of the subtropical marine red alga *Gracilaria tenuistipitata* in brackish water in Sweden. Growth, nutrient uptake, co-cultivation with rainbow trout and epiphyte control. J. appl. Phycol. 5: 271-284.
- Hanisak, M. D., 1987. Cultivation of *Gracilaria* and other macroalgae in Florida for energy production. In K. T. Bird & P. H. Benson (eds), Seaweed Cultivation for Renewable Resources. Elsevier, Amsterdam: 191-218.

- Jiménez del Río, M. , Z. Ramazanov & G. García-Reina, 1996. *Ulva rigida* (Ulvales, Chlorophyta) tank culture as biofilters for dissolved inorganic nitrogen from fishpond effluents. Proc. Int. Seaweed Symp. 15: 67-73.
- Lapointe, B. E., 1981. The effects of light and nitrogen on growth, pigment content, and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima*. J. Phycol., 17: 90-95.
- Lapointe, B. E., 1987. Phosphorus and nitrogen limited photosynthesis and growth of *Gracilaria tikvahiae* in the Florida Keys: an experimental field study. Mar. Biol., 93:561-568.
- Lapointe, B. E. & J. H. Ryther, 1979. The effect of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* in mass outdoor culture. Bot. mar. 22: 529-537.
- Levy, I., S. Beer & M. Friedlander, 1990. Growth, photosynthesis and agar in wild-type strains of *Gracilaria verrucosa* and *G. conferta* (Gracilariales, Rhodophyta), as a strain selection experiment. Proc. Int. Seaweed Symp. 13: 381-387.
- Lewmanomont, K., 1998. The seaweed resources of Thailand. In A.T. Critchley & M. Ohno (eds), Seaweed Resources of the World. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan: 70-78.
- Lignell, A. & M. Pedersén, 1987. Nitrogen metabolism in *Gracilaria secundata* Harv. Proc. Int. Seaweed Symp. 12: 431-441.
- MacColl, R. & D. Guard-Friar, 1987. Phycobiliprotein. CRC Press, Florida. 218 pp.
- Mackinney, G., 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem. 140: 315-322.
- Penniman, C.A., A.C Marthieson. & C. E. Penniman, 1986. Reproductive phenology and growth of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan (Gigartinales, Rhodophyta) in the Great Bay Estuary, New Hampshire. Bot. mar. 24:147-154.

- Rui, L., L. Jiajun & C.Y. Wu, 1990. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). Proc. Int. Seaweed Symp. 13: 499-503.
- Singthaweesak, W., 1995. Polyculture of agarophyte, *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia, with red tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.) in cement tanks. Technical Paper no. 57, Chanthaburi Coastal Aquaculture Development Center, Department of Fisheries. 30 pp. (in Thai)
- Singthaweesak, W., 1996. Effects of harvesting period and density on production of agarophyte, *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia, cultured in seabass tanks. Technical Paper no. 2, Chanthaburi Coastal Aquaculture Development Center, Department of Fisheries. 19 pp. (in Thai)
- Strickland, J. D. H. & T. R. Parsons, 1972. A practical handbook of sea water analysis, 2nd ed. Fisheries Research Board of Canada Bulletin No. 167, Ottawa. 310 pp.
- Trono, G.C. Jr., 1986. Seaweed culture in the Asia Pacific region. RAPA Publication 1987/8. Regional Office for Asia and the Pacific (RAPA), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok, Thailand. 41 pp.
- Vandermeulen, H. & H. Gordin, 1990. Ammonium uptake using *Ulva* (Chlorophyta) in intensive fishpond systems: mass culture and treatment of effluent. J. appl. Phycol. 2: 363-374.
- Walsh, L. M. & J. S. Beaton, 1973. Soil testing and plant analysis. Soil Science Society of America, Inc. Madison, Wisconsin, USA. 491 pp.
- Yamasaki, S., F. Ali & H. Hirata, 1997. Low water pollution rearing by means of polyculture of larvae of kuruma prawn *Penaeus japonicus* with a sea lettuce *Ulva pertusa*. Fisheries Science 63: 1046-1047.

Table 1 Chemical and physical characteristics of the seawater used for cultivation of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* in natural earthen ponds from January 1998 to July 1999. P1= shrimp pond effluents, P2 = ambient seawater.

Date	Temperature (°C)		Salinity (‰)		Turbidity (mg l ⁻¹)		Alkalinity (mg l ⁻¹)		PO ₄ -P (mg l ⁻¹)		DIN(mg l ⁻¹)	
	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2	P1	P2
1998 Jan.	30.7	31.0	31.0	35.0	-	-	81	110	0.01	0.01	0.24	0.22
Jan.	31.0	31.0	31.0	34.0	-	-	77	127	0.01	0.01	0.21	0.21
Feb.	30.0	31.0	30.0	33.0	-	-	116	170	0.01	0.02	0.24	0.16
Feb.	31.0	29.0	31.0	32.0	-	-	131	118	0.00	0.01	0.22	0.20
Feb.	32.0	32.0	35.0	40.0	-	-	160	173	0.05	0.03	0.50	0.20
Feb.	29.0	29.0	38.0	40.0	-	-	167	178	0.05	0.02	0.33	0.14
Mar.	31.0	31.0	28.0	32.0	-	-	296	243	0.03	0.01	0.18	0.19
Mar.	31.0	29.0	32.0	32.0	-	-	241	232	0.04	0.04	0.18	0.16
Mar.	33.0	33.0	34.0	38.0	-	-	198	217	0.03	0.02	0.18	0.13
Apr.	35.0	34.0	26.0	27.0	-	-	244	255	0.02	0.02	0.29	0.20
May	34.5	34.0	34.0	30.0	-	-	147	234	0.04	0.02	0.33	0.22
May	34.0	35.0	28.0	26.0	-	-	146	227	0.03	0.02	0.36	0.34
Jun.	33.0	32.5	30.0	27.0	-	-	148	204	0.04	0.04	0.41	0.26
Jun.	33.0	32.5	26.0	30.0	-	-	155	153	0.06	0.05	0.44	0.19
Jun.	33.0	32.5	20.0	34.0	-	-	182	119	0.03	0.05	1.45	0.29
Jul.	32.0	33.0	22.0	30.0	-	-	146	110	0.06	0.04	0.37	0.26
Jul.	31.0	30.0	35.0	31.0	-	-	158	144	0.06	0.05	0.78	0.23
Jul.	34.0	35.0	25.0	30.0	50.57	14.54	150	109	0.06	0.05	0.50	0.20
Jul.	32.0	31.0	29.0	35.0	44.91	14.77	117	103	0.04	0.07	2.20	2.53
Aug.	30.0	30.0	25.0	30.0	49.87	13.31	125	132	0.05	0.05	0.59	0.50
Aug.	30.0	31.0	25.0	29.0	50.39	24.53	160	135	0.05	0.04	0.18	0.15
Aug.	21.0	21.0	20.0	21.0	109.31	31.12	89	100	0.02	0.02	0.28	1.25
Aug.	25.0	25.0	23.0	25.0	59.56	47.53	120	125	0.02	0.02	0.29	0.20
Sep.	19.0	19.0	28.0	22.0	54.54	43.39	131	125	0.06	0.04	1.30	0.26
Sep.	19.0	18.0	25.0	27.0	38.89	23.53	97	91	0.02	0.02	0.22	0.21
Sep.	23.0	22.0	25.0	25.0	38.07	14.77	143	126	0.02	0.03	0.27	0.22
Sep.	31.0	31.0	25.0	28.0	40.47	28.32	143	150	0.02	0.03	0.16	0.17
Sep.	31.0	32.0	25.0	27.0	37.66	23.36	109	155	0.02	0.03	0.29	0.11
Sep.	32.0	32.0	24.0	23.0	52.61	44.91	124	143	0.02	0.02	0.32	0.18
Oct.	32.0	32.0	26.0	20.0	29.26	39.83	113	110	0.04	0.05	0.20	0.17
Oct.	29.0	31.0	20.0	23.0	27.15	16.29	94	150	0.01	0.01	0.14	0.26
Oct.	29.0	30.0	20.0	26.0	43.50	36.26	63	80	0.01	0.01	0.15	0.16
Nov.	29.0	29.0	20.0	30.0	25.81	37.20	99	141	0.01	0.01	0.23	0.11
Nov.	26.0	26.0	25.0	30.0	14.60	36.15	86	93	0.01	0.01	0.15	0.12
Dec.	32.0	32.0	25.0	30.0	21.55	40.29	53	124	0.01	0.00	0.15	0.14
Dec.	30.0	30.0	25.0	30.0	33.29	39.01	85	71	0.00	0.01	0.12	0.15
Dec.	27.0	27.0	27.0	30.0	32.33	39.94	117	110	0.00	0.00	0.11	0.50
Dec.	24.0	24.0	26.0	33.0	40.12	41.64	82	85	0.00	0.00	0.11	0.14
1999 Jan.	34.0	34.0	30.0	35.0	40.41	56.00	153	166	0.01	0.01	0.14	0.12
Jan.	33.0	33.0	32.0	35.0	41.11	69.84	88	128	0.00	0.00	2.55	0.31
Feb.	30.0	30.0	34.0	37.0	73.99	81.23	92	105	0.00	0.00	0.42	0.46
Feb.	31.0	31.0	33.0	37.0	80.94	72.82	85	60	0.00	0.40	0.39	0.40
Mar.	30.0	30.0	35.0	40.0	110.36	23.18	71	52	0.00	0.00	0.41	0.81
Mar.	28.0	27.0	40.0	44.0	129.17	43.74	121	100	0.00	0.00	0.40	0.37
Apr.	32.0	32.0	35.0	40.0	162.22	68.79	165	108	0.00	0.00	0.07	0.09
Apr.	30.0	30.0	40.0	45.0	29.08	47.18	160	121	0.01	0.00	0.05	0.04
May	29.0	29.0	35.0	35.0	34.16	26.48	160	126	0.00	0.00	0.04	0.27
Jun.	30.0	30.0	38.0	40.0	46.48	61.14	77	105	0.00	0.00	0.02	0.02
Jun.	29.0	29.0	40.0	37.0	45.02	60.96	100	83	0.00	0.00	0.02	0.02
Jun.	35.0	35.0	40.0	38.0	25.58	69.66	139	112	0.01	0.00	0.11	0.12
Jun.	31.0	32.0	37.0	42.0	38.89	72.53	146	116	0.01	0.01	0.12	0.14
Jul.	33.5	34.0	35.0	38.0	34.69	70.60	133	106	0.01	0.00	0.11	0.09
Jul.	30.0	30.0	35.0	38.0	29.02	47.30	135	120	0.01	0.01	0.23	0.08
Jul.	32.0	31.0	32.0	33.0	32.29	38.42	135	118	0.01	0.01	0.14	0.06
Jul.	32.0	32.0	36.0	40.0	35.68	34.28	130	123	0.01	0.01	0.08	0.06

Figure 1. Mean growth rate ($\pm$ SD) of *Gracilaria fisheri* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2) from January 1998 to July 1999. The growth curve (solid line) is best fitted using the polynomial regression ($n = 40$).

Figure 2. Mean growth rate ($\pm$ SD) of *Gracilaria tenuistipitata* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2) from January 1998 to July 1999. The growth curve (solid line) is best fitted using the polynomial regression ($n = 40$).

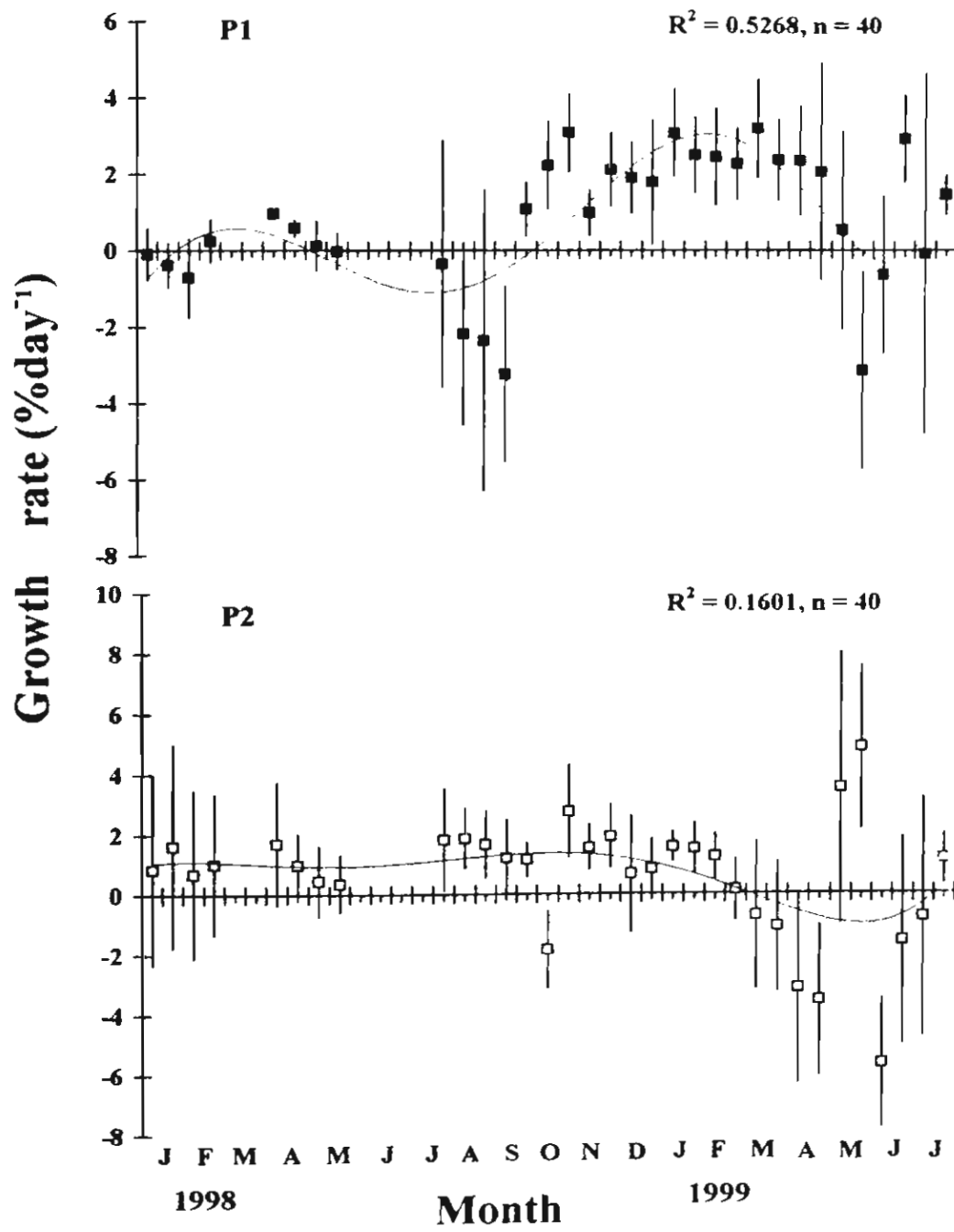
Figure 3. Changes in the total production of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2) from January 1998 to July 1999.

Figure 4. Mean total chlorophyll content ($\pm$ SD) of *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2), from August 1998 to July 1999. The overall pattern of changes in total chlorophyll content (solid line) is best fitted using the polynomial regression ($n = 5$).

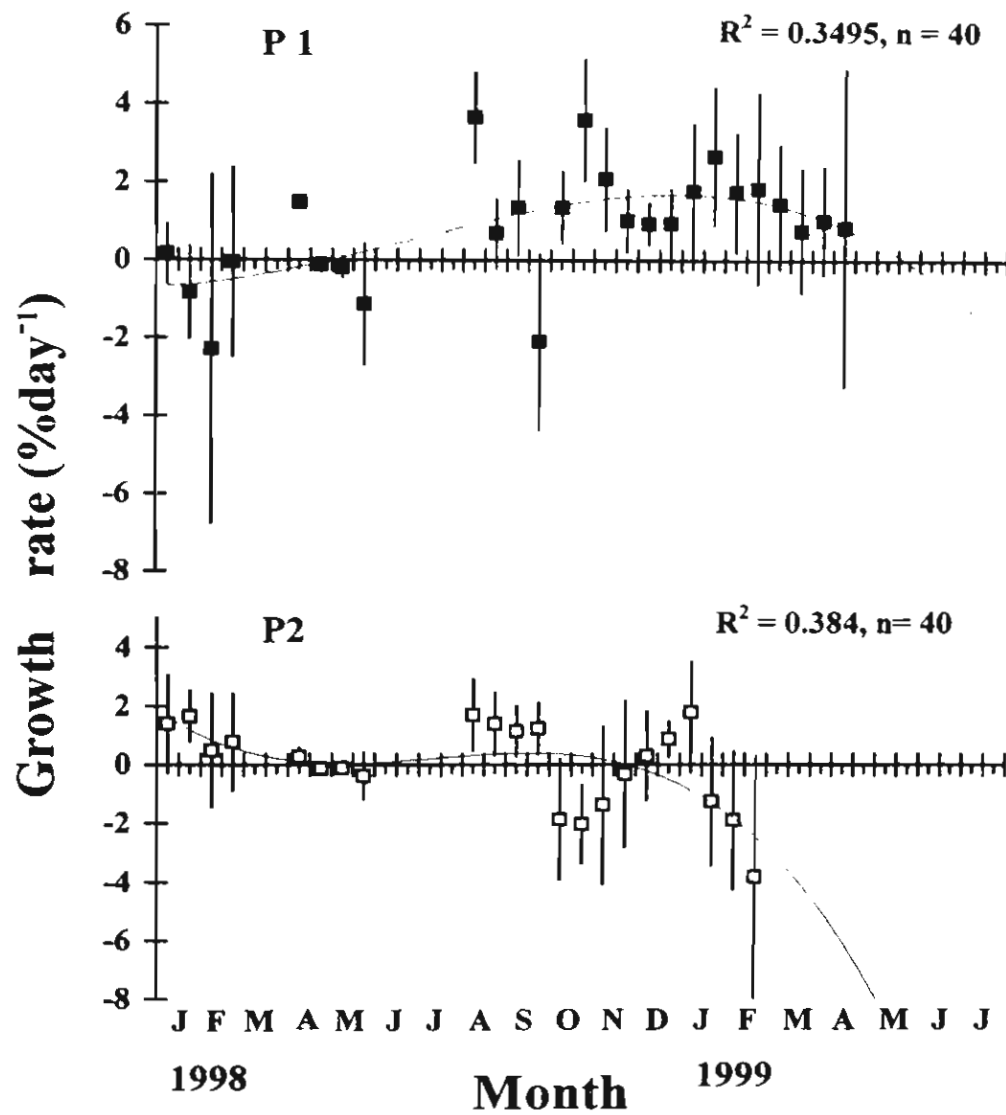
Figure 5. Mean concentration of r-phycoerythrin ($\pm$ SD) in *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2), from August 1998 to July 1999. The overall pattern of changes in concentration of r-phycoerythrin (solid line) is best fitted using the polynomial regression ($n = 5$).

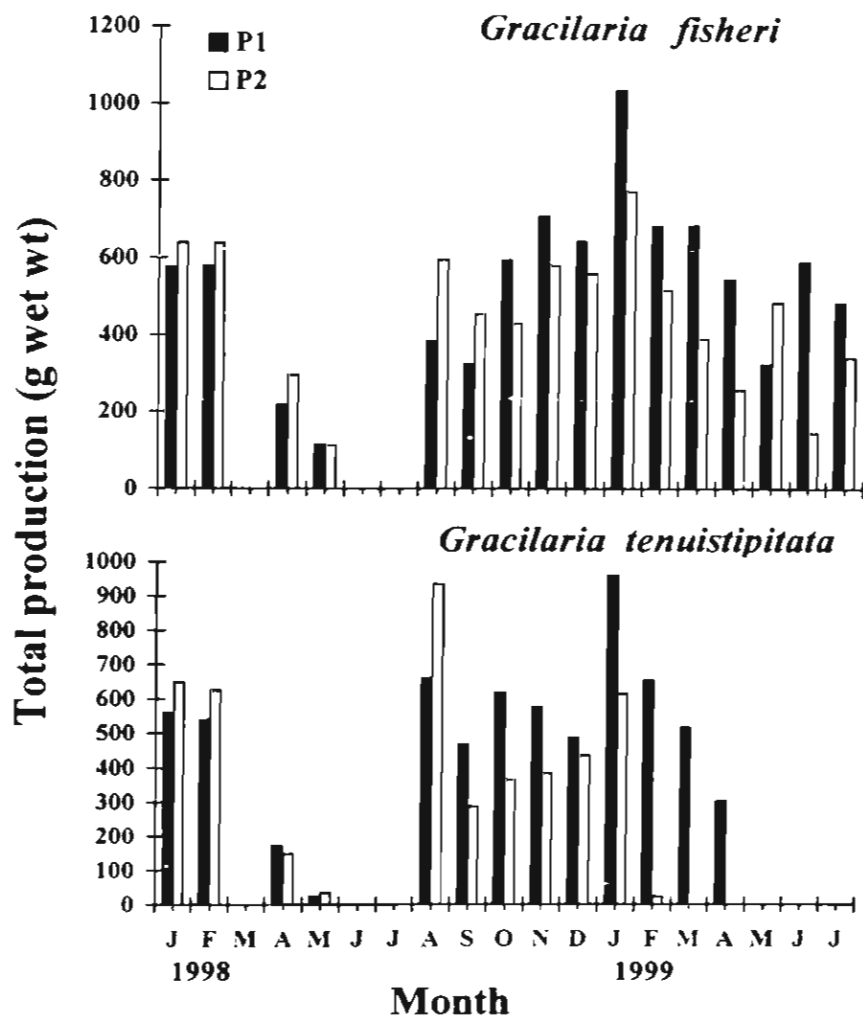
Figure 6. Tissue C:N ratio in *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* cultured in natural earthen pond conditions using shrimp pond effluents (P1) and ambient seawater (P2), from August 1998 to July 1999.

Gracilaria fisheri



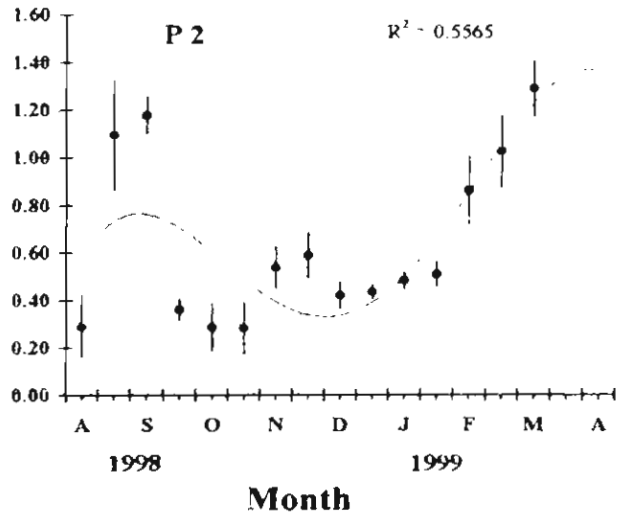
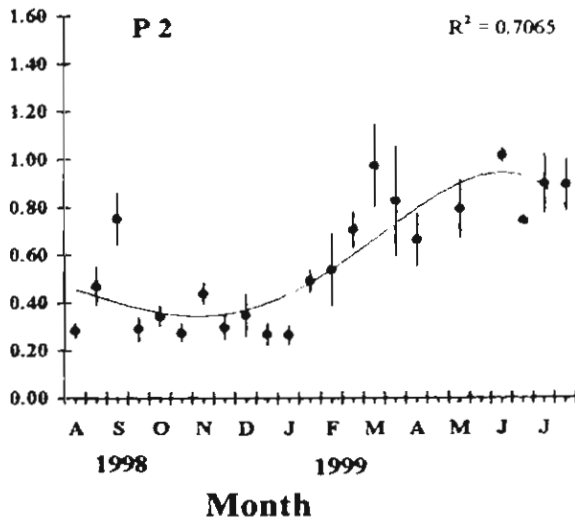
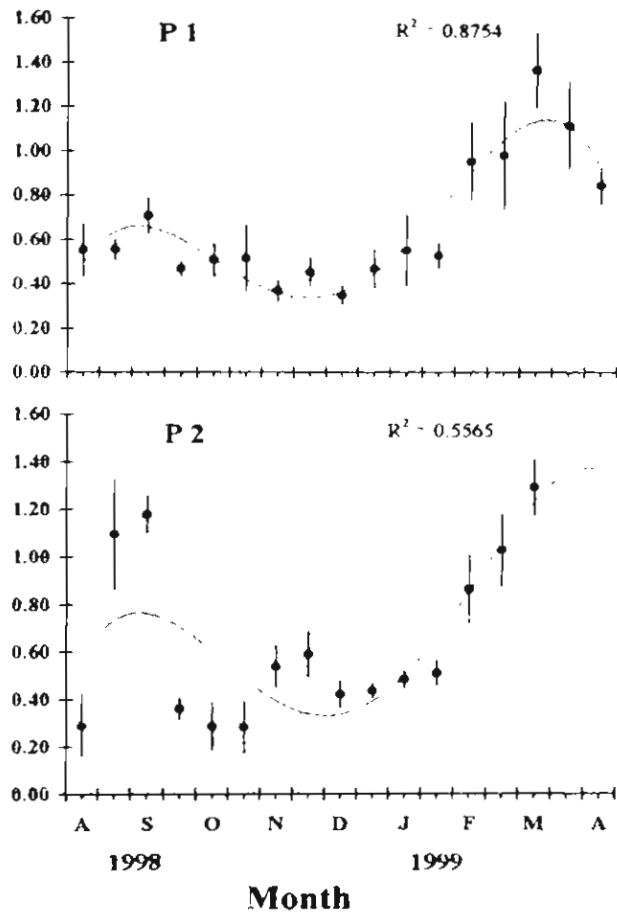
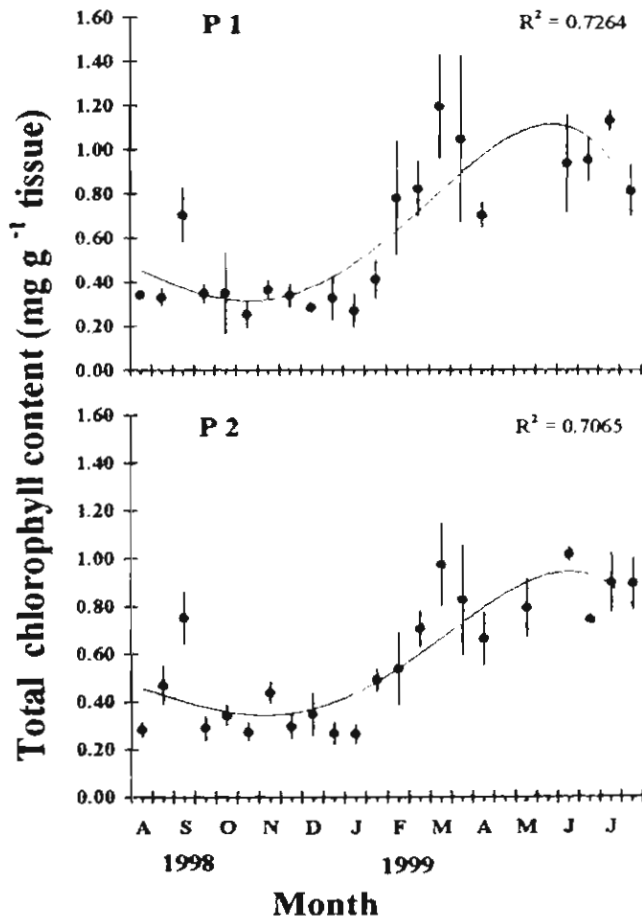
Gracilaria tenuistipitata



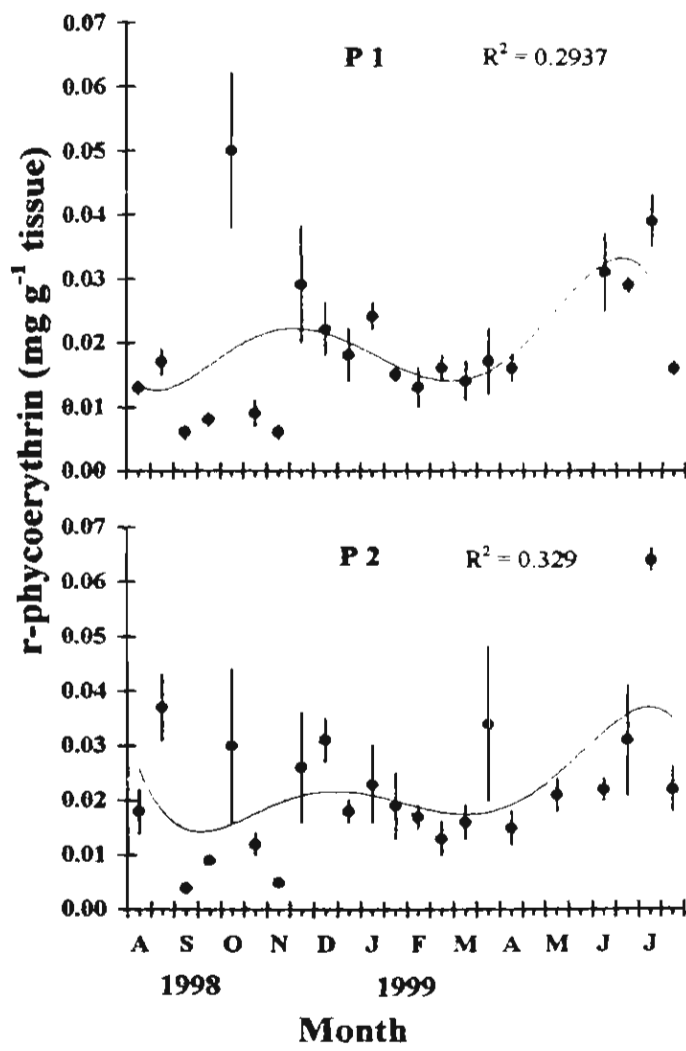


Gracilaria fisheri

Gracilaria tenuistipitata



Gracilaria



Gracilaria

