



โครงการ

## การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ ผลของออกซินต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟต์และ  
สเตรปโตไฟต์บางชนิด  
ชื่อนิสิต นายนิติกร แจ่มสุวรรณ

ภาควิชา พฤกษศาสตร์  
ปีการศึกษา 2561

### คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของโครงการทางวิชาการที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของโครงการทางวิชาการที่ส่งผ่านทางคณะที่สังกัด

The abstract and full text of senior projects in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)  
are the senior project authors' files submitted through the faculty.

ผลของออกซินต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟต์  
และสเตรปโตไฟต์บางชนิด

นิติกร แจ่มสุวรรณ

โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์  
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย  
ปีการศึกษา 2561

Effects of auxin on growth of some chlorophyte and streptophyte algae

Nitikorn Jamsuwan

A Senior Project in Partial Fulfillment of the Requirements  
For the Degree of Bachelor of Science in Botany  
Department of Botany  
Faculty of Science, Chulalongkorn University  
Academic Year 2018

ชื่อเรื่อง	ผลของออกซินต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟด์และสเตรปโตไฟด์บางชนิด
ชื่อนิสิต	นิติกร แจ่มสุวรรณ
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ธัญชัชฎา สัจจาร์ภย์
ปีการศึกษา	2561

ภาควิชาพฤกษศาสตร์ อนุมัติให้โครงการวิทยาศาสตร์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาพฤกษศาสตร์

คณะกรรมการสอบโครงการวิทยาศาสตร์

ธัญชัชฎา สัจจาร์ภย์ .....อาจารย์ที่ปรึกษา  
(อาจารย์ ดร.ธัญชัชฎา สัจจาร์ภย์)

ดร.พรวิมล .....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรวิมล พลวัฒน์)

ดร.กนกวรรณ .....กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	ผลของออกซินต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟต์และสเตรปโตไฟต์ บางชนิด
ชื่อนิสิต	นิติกร แจ่มสุวรรณ
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
สาขาวิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.อัญชิษฐา สัจจารักษ์
ปีการศึกษา	2561

### บทคัดย่อ

ออกซินมีความสำคัญและมีอิทธิพลต่อการพัฒนาทางสรีรวิทยา ส่งผลต่อการงอกใหม่ของเซลล์ การเจริญยืดยาวของเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ และควบคุมการแบ่งเซลล์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าออกซินถือเป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืช และสาหร่ายสีเขียวซึ่งเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีบรรพบุรุษร่วมกัน โดยสาหร่ายสีเขียวประกอบไปด้วยสาหร่ายสองกลุ่มใหญ่ ได้แก่ สาหร่ายคลอโรไฟต์ซึ่งหมายถึงสาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ สาหร่ายสีเขียวอีกกลุ่มคือสาหร่ายสเตรปโตไฟต์ ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวกลุ่มเล็ก ๆ แต่มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับพืช เพื่อที่จะเข้าใจบทบาทของออกซินต่อสาหร่าย ในการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาผลของออกซิน (indole-3-acetic acid, IAA) 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ต่อสาหร่ายกลุ่มคลอโรไฟต์ (*Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp.) และสเตรปโตไฟต์ (*Klebsormidium* sp.) ผลการทดลองพบว่าออกซินที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้ขนาดและความหนาแน่นของเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. และ *Klebsormidium* sp. แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้เซลล์สาหร่ายมีขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. มีการแบ่งเซลล์สูงสุดที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 10.0 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่สาหร่าย *Klebsormidium* sp. มีการแบ่งเซลล์สูงสุดในความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 1.0 ไมโครโมลาร์ อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ทรานสคริปโตมส์ของสาหร่ายสกุลดังกล่าวพบว่าสาหร่ายสกุลดังกล่าวไม่ได้มีโปรตีน ที่ทำหน้าที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนออกซินเช่นเดียวกับพืช ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสาหร่ายสีเขียวและพืชมีกระบวนการตอบสนองต่อออกซินที่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: สาหร่ายสีเขียว, ออกซิน, *Chlorella*, *Klebsormidium*, *Scenedesmus*

Title	Effects of auxin on growth of some chlorophyte and streptophyte algae
Student name	Nitikorn Jamsuwan
Program	Botany
Department	Botany
Advisor	Dr. Anchittha Satjaruk
Academic year	2018

---

### Abstract

Auxin is important to plant growth, development, and physiology by affecting cell growth, cell expansion, and cell division. Plants and green algae form a monophyletic relationship sharing a common ancestor. Green algae consist of two main green lineages 1) chlorophyte algae that represent the majority of the green algal diversity and 2) streptophyte algae, a smaller green algal group known to be closely related to land plants. To gain understanding of effects of auxin on green algae, we treated chlorophyte algae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus* sp. and a streptophyte alga *Klebsormidium* sp. with six auxin (indole-3-acetic acid, IAA) concentrations: 0, 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, and 100.0  $\mu\text{M}$ . Results showed that IAA at 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 and 100.0  $\mu\text{M}$  significantly affected cell size and cell density of *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., and *Klebsormidium* sp. 50.0  $\mu\text{M}$  and 100.0  $\mu\text{M}$  IAA significantly increased cell size of the algae. *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus* sp. exhibited the highest cell division rate when treated with 10.0  $\mu\text{M}$  IAA while *Klebsormidium* sp. exhibited the highest cell division rate 1.0  $\mu\text{M}$  IAA. However, by analyzing algal transcriptomes of algal genera, we did not find proteins known to be associating in plant auxin response, suggesting that green algae and land plants might use different mechanisms to respond to exogenous IAA

Keywords: Auxin, *Chlorella*, Green algae, *Klebsormidium*, *Scenedesmus*

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่าย ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.อัญชิษฐา สัจจรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการวิทยาศาสตร์ ที่กรุณาให้คำแนะนำสั่งสอน ให้คำปรึกษาเกี่ยวกับการทำโครงการวิทยาศาสตร์ และกรุณาช่วยเหลือเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รสริน พลวัฒน์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ ที่กรุณาเสียสละเวลาเป็นกรรมการสอบโครงการวิทยาศาสตร์พร้อมทั้งให้คำแนะนำ ช่วยตรวจสอบแก้ไขให้โครงการวิทยาศาสตร์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัญชลี ใจดี สำหรับอุปกรณ์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ในการปฏิบัติงานในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณโครงการการเรียนการสอนเพื่อประสบการณ์ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และภาควิชาพฤกษศาสตร์คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาสับสนุนทุนวิจัย

ขอขอบพระคุณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงสาหร่ายและปฏิบัติการไบโอฟีท ที่กรุณาให้ใช้อุปกรณ์และสถานที่สำหรับการศึกษาวิจัย ในโครงการวิทยาศาสตร์นี้

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่านและผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกคนที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในทุกด้านอย่างเต็มที่

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ	ฉ
สารบัญ	ช
สารบัญภาพ	ซ
สารบัญตาราง	ฎ
บทที่	
1 บทนำ	1
2 การตรวจเอกสาร	3
3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการศึกษา	8
4 ผลการศึกษา	13
5 อภิปรายผล	52
6 สรุปผล	57
ภาคผนวก	58
เอกสารอ้างอิง	69



## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i>	4
2	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp.	4
3	ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย <i>Klebsormidium</i> sp.	4
4	ผลการทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ดังต่อไปนี้ 23S rDNA (Forward primer: p23SrV_f1 และ Reverse primer: p23SrV_r1) <i>rbcl</i> (Forward primer: RH1 และ Reverse primer: 1385R), 18S rDNA(Forward primer: SR-1 และ Reverse primer: SR-2)	14
5	ความหนาแน่นเฉลี่ยของ <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	32
6	อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 14 วัน	33
7	ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	34
8	อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 14 วัน	35
9	ขนาดของเซลล์สาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์	36
10	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	37
11	ความหนาแน่นเฉลี่ยของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	39
12	อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน	39
13	ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์	41

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
14	ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	41
15	อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน	42
16	อัตราส่วนความกว้างเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน	42
17	ขนาดของเซลล์สำหรับ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์	43
18	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสำหรับ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	44
19	ความหนาแน่นเฉลี่ยของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	46
20	อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน	46
21	ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	48
22	ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	48
23	อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน	49
24	อัตราส่วนความกว้างเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน	49

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
25	ขนาดของเซลล์สาหร่าย <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์	50
26	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	51

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล <i>Chlorella</i>	26
2	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล <i>Scenedesmus</i>	26
3	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล <i>Klebsormidium</i>	27
4	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>rbcL</i> ของสาหร่ายสกุล <i>Chlorella</i>	28
5	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน <i>rbcL</i> ของสาหร่ายสกุล <i>Klebsormidium</i>	29
6	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rDNA ของสาหร่ายสกุล <i>Chlorella</i>	30
7	blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rDNA ของสาหร่ายสกุล <i>Scenedesmus</i>	31
8	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	58
9	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	59
10	ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ <i>Chlorella vulgaris</i> ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	60
11	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	61
12	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย <i>Scenedesmus</i> sp ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	62
13	ค่าเฉลี่ยความกว้างเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน	63

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
14	ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ <i>Scenedesmus</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน	64
15	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	65
16	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 1.0 10.0 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	66
17	ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	67
18	ค่าเฉลี่ยความกว้างเซลล์ของ <i>Klebsormidium</i> sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน	68

## บทที่ 1 บทนำ

ฮอร์โมนพืชเป็นสารเคมีที่ควบคุมการเจริญและการพัฒนาของพืช เพื่อตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ฮอร์โมนที่พืชสร้างนั้นประกอบด้วย 5 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ ออกซิน จิบเบอเรลลิน ไซโตไคนิน เอทิลีน และ กรดแอบไซซิก โดยแต่ละชนิดมีโครงสร้าง หน้าที่การทำงาน และผลต่อพืชแตกต่างกัน (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

ออกซินเป็นฮอร์โมนที่แพร่กระจายทั่วไปในพืช โดยจะมีความเข้มข้นสูงที่เนื้อเยื่อเจริญ ได้แก่ บริเวณปลายยอดและปลายราก ใบอ่อน ช่อดอกที่กำลังเจริญ เมล็ดที่กำลังงอก เอ็มบริโอ และ ผลที่กำลังเจริญ (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556) เนื่องจากบริเวณดังกล่าวเป็นบริเวณที่มีการสังเคราะห์ออกซิน โดยชนิดของออกซินที่มีจำนวนมากที่สุด คือ indole-3-acetate acid (IAA) (Davies, 2004)

ออกซินมีความสำคัญและมีอิทธิพลต่อการพัฒนาของพืช เช่น การงอกของเมล็ด การเจริญยืดยาวของเซลล์ การขยายตัวของเซลล์ การควบคุมการแบ่งเซลล์ การพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นอวัยวะต่าง ๆ เช่น ราก ใบ รวมถึงการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืชอื่น เช่น เอทิลีน (Ludwing-wuller, 2011) ในทางสรีรวิทยาฮอร์โมนนี้มีอิทธิพลต่อการตอบสนองของพืชต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น การเบนเข้าหาแสง (phototropism) ซึ่งเป็นผลจากการที่เนื้อเยื่อพืชด้านที่ได้รับแสงและไม่ได้รับแสงระดับฮอร์โมนออกซินที่แตกต่างกันทำให้เนื้อเยื่อดังกล่าวมีการเจริญในอัตราส่วนที่ต่างกันเกิดเป็นการเบนเข้าหาแสง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าออกซินเป็นฮอร์โมนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นอย่างมาก (Davies, 2004)

พืชและสาหร่ายสีเขียวเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์แบบมาจากชาติพันธุ์เดียวกัน (monophyletic relationship) ซึ่งหมายถึงการที่พืชและสาหร่ายสีเขียวทั้งหมดมีบรรพบุรุษร่วมกัน โดยสาหร่ายสีเขียวนี้ประกอบไปด้วยสาหร่ายสองกลุ่มใหญ่ ได้แก่ สาหร่ายกลุ่มคลอโรไฟต์ ซึ่งหมายถึงสาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ซึ่งประกอบไปด้วยสาหร่ายที่อยู่ในคลาส Prasinophyceae Chlorophyceae Ulvophyceae และ Trebouxiophyceae สาหร่ายสีเขียวอีกกลุ่มคือสาหร่ายสเตรปโตไฟต์ ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียวกลุ่มเล็ก ๆ แต่มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับพืช จากความสัมพันธ์ที่ใกล้ชิดระหว่างสาหร่ายสีเขียวและพืชดังกล่าว สาหร่ายสีเขียวจึงมักเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่นำมาใช้ในศึกษาการเกิดวิวัฒนาการของลักษณะต่าง ๆ ที่ปรากฏในพืช

จากการศึกษาการปรากฏฮอร์โมนพืชในกลุ่มสิ่งมีชีวิตกลุ่ม Viridiplantae พบว่า ออกซินเป็นหนึ่งในฮอร์โมนพืชชนิดแรกที่มีการปรากฏการสังเคราะห์ในการเกิดวิวัฒนาการของ Viridiplantae (Lu, 2015) จากการวิเคราะห์ปริมาณออกซินชนิด IAA ในสาหร่ายสีเขียว พบว่า ฮอร์โมนดังกล่าวมีปรากฏอยู่ในสาหร่ายทั้งในกลุ่มสาหร่ายคลอโรไฟต์และสาหร่ายกลุ่มสเตรปโตไฟต์ (Niemann et al., 1980; Cooke et al., 2002; Tarakhovskaya et al., 2007; Stirk et al., 2013) และเมื่อทดลองให้ออกซิน (exogenous IAA) กับสาหร่ายสีเขียวดังกล่าวแล้ว พบว่าออกซินมีผล ทำให้สาหร่ายดังกล่าวมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่สูงขึ้น ขนาดเซลล์ของสาหร่ายเพิ่มขึ้น และมี

มวลชีวภาพเพิ่มขึ้น (Bajguz et al, 2014; Ozioko et al., 2015; Liu et al., 2016; Ohtaka et al., 2017; Yu et al., 2017; Dao et al., 2018) อย่างไรก็ตาม ยังไม่เป็นที่ทราบกันว่าสาหร่ายในกลุ่มคลอโรไฟต์และสเตรปโตไฟต์นั้นมีการตอบสนองต่อออกซินที่เหมือนกันหรือไม่ ดังนั้นเพื่อที่จะเข้าใจการตอบสนองของสาหร่ายสีเขียวต่อออกซิน การศึกษานี้จึงศึกษาผลของฮอร์โมนออกซินต่อสาหร่ายสี่ชนิดซึ่งประกอบไปด้วยสาหร่ายคลอโรไฟต์ ได้แก่ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus* sp. และสาหร่ายสเตรปโตไฟต์ ได้แก่ *Klebsormidium* sp.

### วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนออกซินต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟต์ (*Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus* sp.) และสาหร่ายสเตรปโตไฟต์ (*Klebsormidium* sp.)

### ประโยชน์ที่ได้รับจากโครงการ

1. ได้ uni-algal culture ของสาหร่ายสีเขียวที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ *Scenedesmus* sp., *Chlorella vulgaris*, และ *Klebsormidium* sp.
2. ได้องค์ความรู้และยืนยันข้อมูลชนิดหรือสกุลของสาหร่ายที่ใช้ในการศึกษา
3. ได้องค์ความรู้ของผลของออกซินต่อสาหร่ายสีเขียวที่ใช้ในการศึกษา

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

ในการทำโครงการเรื่องผลของออกซินต่อการเติบโตของสาหร่ายคลอโรไฟต์และสเตรปโตไฟต์บางชนิด ผู้ศึกษาได้รวบรวมแนวคิดทฤษฎีและหลักการต่าง ๆ จากเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

#### 1. นิยามของสาหร่าย

สาหร่าย คือ กลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน (heterogenous) เช่น ไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) และ สิ่งมีชีวิตในกลุ่มของยูคาริโอต (eukaryote) ที่มีความสามารถในการสร้างอาหารได้เองด้วยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ได้แก่ออกซิเจนเป็นผลิตภัณฑ์ และอาศัยในที่ที่มีแหล่งน้ำหรือความชื้นในช่วงใดช่วงหนึ่งของการดำรงชีวิต หากใช้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการเป็นเกณฑ์ สาหร่ายสีเขียวสามารถจำแนกออกได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ ได้แก่ สาหร่ายคลอโรไฟต์ และสาหร่ายสเตรปโตไฟต์

สาหร่ายสีเขียวในกลุ่มคลอโรไฟต์เป็นสาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ซึ่งประกอบไปด้วยสาหร่ายที่อยู่ในคลาส Prasinophyceae Chlorophyceae Ulvophyceae และ Trebouxiophyceae ในขณะที่สาหร่ายสเตรปโตไฟต์เป็นสาหร่ายสีเขียวกลุ่มเล็ก ๆ แต่มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับพืช โดยสาหร่ายสเตรปโตไฟต์แตกต่างจากสาหร่ายคลอโรไฟต์ คือ มีการปรากฏของโครงสร้างเนื้อเยื่อที่เป็นชั้น ๆ บริเวณฐานของแฟกเจลล่า การปรากฏของโครงสร้าง phragmoplast และ primary plasmodesmata

ลักษณะรูปร่างของเซลล์สาหร่ายสีเขียวมีหลายแบบ เช่น แบบกลม รี กระจุก อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว (single cell) เป็นโคโลนี (colony) บางชนิดเป็นเส้นสาย (filament) อาจมีหรือไม่มีผนังเซลล์ โดยหากไม่มีผนังเซลล์ก็จะมีเกล็ด (scale) ปกคลุมโดยรอบเซลล์ อาจมีหรือไม่มีก้านของหนวด (flagella) โดยจำนวนของหนวดนั้นขึ้นกับชนิดของสาหร่าย (1-16 เส้น) ปรากฏที่บริเวณ apical หรือ subapical ของเซลล์

คลอโรพลาสต์ของสาหร่ายสีเขียวประกอบไปด้วยคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี สารสีประกอบได้แก่ แคโรทีน (carotene) แซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เช่น lutein, diatoxanthin และ neoxanthin โดยสารสีดังกล่าวนี้รวมอยู่ในคลอโรพลาสต์ที่มีรูปร่างไม่แน่นอน และสามารถมีจำนวนได้มากกว่า 1 อัน นอกจากสารสีแล้วคลอโรพลาสต์ของสาหร่ายยังมีเม็ดแป้งซึ่งเป็นอาหารสะสมอีกด้วย

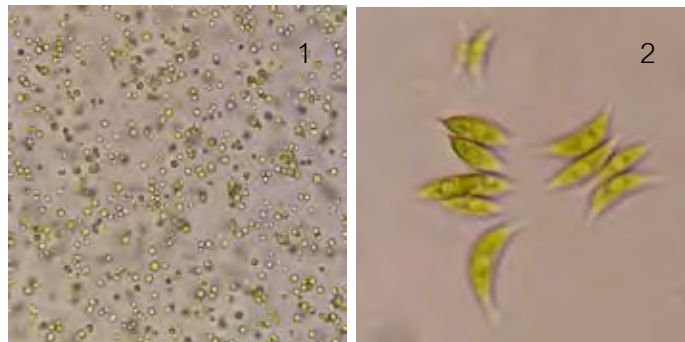
การสืบพันธุ์ของสาหร่ายสีเขียวมีทั้งแบบไม่อาศัยเพศและแบบอาศัยเพศ ในแบบไม่อาศัยเพศ มีทั้งการแบ่งเซลล์ สร้างสปอร์ และสร้าง akinete และในแบบอาศัยเพศมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ทั้งแบบ isogamy anisogamy และ oogamy โดยวัฏจักรชีวิตของสาหร่ายนั้นมีความคล้ายกัน 2 แบบคือ แบบแฮพลอนติก (haplontic type) คือการลดจำนวนของโครโมโซมที่เกิดในระยะไซโกตตอนแบ่งตัวเพื่อสร้างสปอร์ พบในอันดับ Volvocales และแบบดิพลอนติก (diplontic type)



คือการลดจำนวนโครโมโซมที่เกิดขึ้นในระหว่างการสร้างแกมมาที่มีตพบในบางสกุลของอันดับ

Chlorococcales (ลัดดา, 2544)

การศึกษานี้ใช้สาหร่ายสีเขียวในการศึกษาทั้งหมด 3 ชนิด ประกอบไปด้วยสาหร่ายคลอโรไฟต์ทั้งหมด 2 ชนิด ได้แก่ *Chlorella vulgaris* และ *Scenedesmus* sp. (ภาพที่ 1 และ 2) และสาหร่ายสเตรปโตไฟต์ 1 ชนิด คือ *Klebsormidium* sp. (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

ภาพที่ 2 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.

สาหร่ายสกุล *Chlorella* เป็นสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ในคลาส Trebouxiophyceae ในอันดับ Chlorellales โดยมีลักษณะรูปร่างเป็นแบบเซลล์เดี่ยว (unicells) มีการสืบพันธุ์โดยการสร้าง autospore จัดเป็นสาหร่ายชนิดที่เป็น cryptic speciation

สาหร่ายสกุล *Scenedesmus* เป็นของสาหร่ายสีเขียวที่อยู่ในคลาส Chlorophyceae ในอันดับ Shpaeropleales โดยมีรูปร่างเป็นแบบเซลล์เดี่ยว และมีการรวมกันเป็นโคโลนี มีความใกล้เคียงชนิดกับสาหร่ายในสกุล *Desmodesmus* ในผนังเซลล์มีสารพอกแอลจีแนน (algenans) มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการเพิ่มจำนวนโดยใช้โคโลนี (autocolony formation)



ภาพที่ 3 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสาหร่าย *Klebsormidium* sp.

สาหร่ายสกุล *Klebsormidium* เป็นสาหร่ายสีเขียวในอันดับ Klebsormidiales เป็นสาหร่ายที่สามารถพบได้ในแหล่งน้ำจืดหรือบริเวณพื้นดิน การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยใช้ flagellate

zoospore โดยแต่ละเซลล์สามารถสร้างได้เพียง 1 zoospore เท่านั้น รูปร่างของสาหร่ายสกุลนี้เป็นแบบเส้นสาย (filamentous form) ซึ่งเป็นเส้นสายที่มีขนาดเล็ก

## 2. ฮอร์โมนออกซิน

2.1. ออกซินที่พบมากที่สุดในพืชคือ Indole-3-acetic acid (IAA) โดยในอดีตนักวิทยาศาสตร์ให้คำจำกัดความของออกซินว่าเป็นสารเคมีธรรมชาติหรือสารสังเคราะห์ที่มนุษย์สร้างขึ้นที่มีฤทธิ์ส่งเสริมการยืดขยายตัวของโคลีออปไทล์และส่วนของลำต้น แต่เนื่องจากออกซินมีฤทธิ์ทางชีววิทยาอีกหลายอย่างคำจำกัดความนี้จึงแคบไป จึงได้ให้คำจำกัดความของออกซินใหม่ ว่า ออกซินเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยาล้ำคลั่งกับ IAA โดยรวมถึง ชักนำให้โคลีออปไทล์และส่วนของลำต้นยืดขยายตัว ชักนำให้มีการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อแคลลัสเมื่อมีไซโตไคนินด้วย ส่งเสริมการงอกของรากแขนงที่มีรอยแผลบริเวณลำต้น ชักนำให้ผลของพืชบางชนิด เช่น มะเขือเทศ ที่ไซโตไคนินไม่ได้รับการผสมเกิดการเจริญแบบ pathenocarpic และชักนำให้พืชสร้างเอธิลีน (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

2.2 ออกซินที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยามีโครงสร้างทางเคมีหลากหลาย กลุ่มของสารเคมีหลายชนิดเป็นออกซินที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยา ออกซินและไซโตไคนินเป็นกลุ่มฮอร์โมนพืชที่มีความหลากหลายทางด้านโครงสร้างมาก เช่น 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ naphthalene acetic acid (NAA) ซึ่งมีโครงสร้างแตกต่างจาก IAA มาก แต่กลับมีความสามารถในการส่งเสริมการทำงานที่คล้ายคลึงกันได้ การศึกษาเปรียบเทียบโครงสร้างของสารต่าง ๆ ที่ออกฤทธิ์ได้ภายในกลุ่มออกซินพบว่าที่ pH เป็นกลางสารเหล่านี้มีประจุแบบแขนง carboxyl group ที่อยู่ห่างจากจากประจุบวกบนโครงสร้างรูป ring และนักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าการแยกตัวของประจุที่ระยะห่างนี้เป็นลักษณะโครงสร้างที่จำเป็นต่อการมีฤทธิ์ทางชีววิทยาของออกซิน (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

2.3 อิทธิพลของออกซินต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช ในการยืดขยายขนาดของเซลล์ ออกซินถูกค้นพบจากการศึกษาซึ่งเกิดจากการเติบโตไม่เท่ากันของลำต้น ซึ่งออกซินส่งเสริมการเติบโตของลำต้นและโคลีออปไทล์ แต่ยับยั้งการเติบโตของราก พืชสร้างออกซินที่ปลายยอด ออกซินเคลื่อนย้ายลงมาส่วนล่างของลำต้นอย่างต่อเนื่องเป็นสิ่งจำเป็นต่อการยืดขยายตัวของเซลล์บริเวณนี้ เนื่องจากออกซินที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อกำลังยืดขยายตัวมีปริมาณที่เหมาะสมกับกิจกรรมทางสรีรวิทยา ดังนั้นการให้ออกซินจากภายนอกเพิ่มให้กับส่วนที่กำลังยืดขยายตัวของพืชที่มีสุขภาพดีจึงไม่พบการตอบสนองมากนัก และอาจกลับเป็นผลยับยั้งการยืดขยายตัวของลำต้นที่เติบโตในที่มีด ซึ่งไวต่อออกซินในความเข้มข้นต่ำกว่าพืชที่เจริญเติบโตในสภาพแสงปกติ อย่างไรก็ตาม เมื่อจัดการให้ออกซินภายในพืชลดลง เช่นการตัดเฉพาะส่วนที่กำลังยืดขยายตัวของพืชออกมาศึกษา พบว่าอัตราเติบโตของส่วนที่ตัดออกมามีผลลดลงระดับต่ำ และส่วนที่ตัดออกมานี้ตอบสนองดีมากต่อออกซินจากภายนอกโดยสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตเท่าระดับที่พบก่อนถูกตัดออกมาจากพืชปกติ เนื้อเยื่อส่วนนอกของลำต้นพืชใบเลี้ยงคู่เป็นเป้าหมายของการทำงานของออกซิน ลำต้นพืชใบเลี้ยงคู่ประกอบด้วยเนื้อเยื่อและเซลล์หลายชนิด อาจมีเพียงไม่กี่ชนิดที่จำกัดอัตราการยืดขยายตัวของลำต้น เมื่อตัดแบ่งชิ้นส่วนของลำต้นที่กำลังเจริญเติบโตตาม

แนวความยาวออกเป็นสองส่วนและนำไปใช้ในสารละลาย buffer ทั้งสองส่วนที่ตัดแบ่งจะโค้งงอออก เพราะสภาพปราศจากออกซินเนื้อเยื่อด้านในของลำต้นยืดขยายขนาดเร็วกว่าเนื้อเยื่อด้านนอก (outer cortex และ epidermis) ดังนั้น เนื้อเยื่อชั้นนอกจึงจำกัดการยืดขยายตัวของลำต้นในสภาพ ปราศจากออกซิน แต่เมื่อนำส่วนของลำต้นที่ตัดแบ่งไปแช่ในสารละลาย buffer ที่มีออกซิน ส่วนที่ ตัดแบ่งจะโค้งงอเข้า ซึ่งทำให้ทราบได้ว่าเนื้อเยื่อชั้นนอกของลำต้นเป็นเป้าหมายในการทำงานของ ออกซิน ออกซินเพิ่มความสามารถในการยืดขยายตัวของผนังเซลล์โดยกลไกการทำให้ผนังเซลล์ เป็นกรด (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

2.4 อิทธิพลของออกซินต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชในเชิง phototropism และ gravitropism พืชควบคุมทิศทางการเติบโตและพัฒนาการตอบสนองด้วยสองกระบวนการหลักคือ phototropism และ gravitropism โดยทิศทางการกระตุ้น (แสงและแรงโน้มถ่วงของโลก) กำหนด ทิศทางการเจริญเติบโตพัฒนาการตอบสนองของพืช จึงจัดเป็นการเคลื่อนไหวของพืชแบบ tropism Phototropism พบในส่วนต้นของพืชทุกชนิดที่ศึกษาและพบในรากของพืชหลายชนิดที่ ศึกษา กระบวนการนี้จำเป็นต่อการมีชีวิตและดำรงเผ่าพันธุ์ของพืช เพราะทำให้พืชเติบโตไปใน ทิศทางที่มีโอกาสได้รับแสงเพื่อสร้างอาหารด้วย กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ในขณะที่ gravitropism ทำให้รากเติบโตในทิศทางลงไปสู่พื้นดินและทำให้ต้นพืชเติบโตในทิศทางขึ้นไปสู่ ท้องฟ้า กระบวนการนี้มีความสำคัญมากต่อการอยู่รอดของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงระยะแรก ของกระบวนการในการงอกของเมล็ด นอกจากนี้พืชยังมีกระบวนการ trigmotropism ซึ่งเป็นการ ตอบสนองอย่างมีทิศทางต่อการสัมผัสช่วยทำให้พืชสามารถเติบโตอ้อมก้อนหินได้ หรือช่วยให้ยอด พืชเถาที่ต้องการสิ่งผูกมัดเหนี่ยวสามารถเติบโตพันโครงสร้างต่าง ๆ ได้ โดยการเคลื่อนย้ายออกซิน ในแนวด้านข้างเป็นกลไกสำคัญในกระบวนการ phototropism (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

2.5 อิทธิพลของออกซินต่อกระบวนการทางด้านสรีรวิทยาอื่น ๆ ออกซินควบคุมการ ข่มของตายอดของพืช (apical dominance) ซึ่งเกิดจากการที่ตายอดยับยั้งการเจริญเติบโตและ การพัฒนาของตาข้าง ออกซินส่งเสริมการสร้างรากแขนงและรากพิเศษโดยออกซินที่มีความ เข้มข้นสูงจะส่งเสริมการสร้างรากแขนงและรากพิเศษ โดยออกซินจะกระตุ้นให้เพอริไซเคิลเกิดการ แบ่งตัวและเปลี่ยนรูปร่างเป็นปลายรากเติบโตผ่านชั้นเนื้อเยื่อ cortex และ epidermis ออกมาเป็นรากแขนง และทำให้กลุ่มเนื้อเยื่อหลายชนิดที่เซลล์ที่พัฒนาเต็มที่แล้วกลับมามี ความสามารถในการแบ่งตัวอีกครั้งหนึ่งและเจริญเป็นรากพิเศษ นอกจากนี้แล้วออกซินยังมี ประโยชน์ต่อการขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศ โดยออกซินจะกระตุ้นให้กิ่งสามารถสร้างราก พิเศษได้ เช่น การที่เกษตรกรใช้กิ่งปักชำในการกระตุ้นการเกิดรากของกิ่งชำ (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

นอกจากนี้แล้วออกซินยังชักนำการเกิด differentiation ของเนื้อเยื่อลำเลียงอย่างมีทิศทาง แบบ basipetal และการควบคุมการเกิด differentiation ของไซเล็มอีกด้วย (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2556)

### 3. งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของออกซินต่อสาหร่ายสีเขียว

จากการทบทวนงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับผลของออกซินต่อการเจริญของสาหร่ายสีเขียว พบว่า ออกซินมีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์และปริมาณลิพิดในสาหร่ายสีเขียว เช่น ในการศึกษาของ Liu และคณะ (2016) พบว่าชนิดของออกซินที่ต่างกันมีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์และปริมาณลิพิดในสาหร่ายสีเขียว *Chlorella pyrenoidosa* และ *Scenedesmus quadricauda* มีความแตกต่างกัน โดย indole-3-propionic acid (IPA) ส่งผลให้สาหร่ายมีลิพิดมากกว่า indole-3-acetic acid (IAA) และ indole-3-butyric acid (IBA) naphthalene acetic acid (NAA) ตามลำดับ และ indole-3-propionic acid (IPA) ที่ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายสีเขียวที่ศึกษามีอัตราการแบ่งเซลล์ที่สูงที่สุด

Dao และคณะ (2018) พบว่า indole-3-acetic acid (IAA) และออกซินสังเคราะห์ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) มีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันชนิด FAMES ของสาหร่ายสีเขียวน้ำจืด *Scenedesmus* sp. LX1 โดยออกซินทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นต่ำส่งผลกระตุ้นการเจริญและการผลิตกรดไขมัน (FAMES) ใน *Scenedesmus* sp. ในขณะที่ความเข้มข้นของออกซินที่ความเข้มข้นสูงมีผลยับยั้งการเจริญและการผลิตกรดไขมัน FAMES จากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของ indole-3-acetic acid (IAA) และ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ที่ทำให้ *Scenedesmus* sp. LX1 มีการเจริญและผลิตกรดไขมัน FAMES ที่สูงที่สุดคือ

1 มิลลิกรัมของ IAA ต่อลิตร และ 0.1 มิลลิกรัมของ 2,4-D ต่อลิตร

Fabian และคณะ (2015) ศึกษาผลของ indole acetic acid (IAA) indole butyric acid (IBA) gibbelleric acid (GA3) และ kinetin ต่อหน้าหนักแห้งของเซลล์ จำนวนเซลล์ ขนาดของเซลล์ โปรตีน และคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 ผลการศึกษาพบว่า IAA 15 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายมีหน้าหนักเซลล์และจำนวนเซลล์ที่สูงกว่าชุดที่ไม่มีการให้ฮอร์โมนอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) โดยที่ความเข้มข้นของ indole acetic acid (IAA) ที่ 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้สาหร่ายมีหน้าหนักแห้งมากที่สุดที่ 4.68 กรัมต่อลิตร หลังจากเวลาผ่านไป 8 วันจากการเริ่มการทดลอง และทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และปริมาณโปรตีนของเซลล์ 45.83%

Phytohormone ออกซินช่วยควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชหลายชนิด อย่างไรก็ตามต้นกำเนิดและวิวัฒนาการของกลไกการตอบสนองและการตอบสนองของออกซินในพืชยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด จากการศึกษาของ Ohtaka และคณะ (2017) ที่ศึกษาการตอบสนองของ ออกซิน ในสาหร่ายสีเขียว *Klebsormidium nitens* NIES-2285 ซึ่งเป็นสาหร่ายที่มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับพืชพบว่า *K. Nitens* มีการตอบสนองต่อ IAA โดยออกซินทำให้สาหร่ายมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ลดลง และมีขนาดเซลล์ที่ใหญ่ขึ้น แต่อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์สารพันธุกรรมของ *K. nitens* นั้นไม่พบโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการรับและส่งออกซินที่พบได้ในพืชบก ทำให้สามารถสันนิษฐานได้ว่ากลไกการตอบสนองต่อออกซินในสาหร่ายสีเขียวและในพืชมีความแตกต่างกัน

### บทที่ 3

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการศึกษา

### 1. วัสดุ อุปกรณ์ และ สารเคมี

#### 1.1 วัสดุ อุปกรณ์

##### 1.1.1 อุปกรณ์สำหรับเตรียมอาหารสังเคราะห์

- ขวดแก้วขนาด 24 และ 8 ออนซ์ พร้อมฝาขวดพลาสติก
- ปีกเกอร์และกระบอกลง
- หม้อน้ำชาเชื้อ รุ่น TC-459 (GemmyIndustrial, Taiwan)
- เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- หลอดทดลอง
- แท่งคนสาร
- หลอดหยดสาร
- Micropipette ขนาด 200 ไมโครลิตร และ 1000 ไมโครลิตร
- Micropipette tip

##### 1.1.2 อุปกรณ์อื่น ๆ

- Hemocytometer
- กระจกปิดแผ่นสไลด์
- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเชิงประกอบ
- เครื่องนับจำนวน (counter)
- 96 well plate (Corning, USA)

##### 1.1.3 อุปกรณ์ในการปฏิบัติงานทางด้านอณูวิทยา

- agarose gel
- เครื่อง centrifuge รุ่น Universal 322 (Hettich Zentrifugen, Germany)
- กระบอกลดแอลกอฮอล์ 70%
- ชุดเก็บความเย็น
- microtube
- ชุดสกัดดีเอ็นเอ Nucleic acid extraction kits

#### 1.2 สารเคมีที่เกี่ยวข้อง

- IAA (indole-3-acetate acid)
- อาหารเลี้ยงสำหรับยีส Bold's Basal Medium (Stein, 1979)
- ชุดสกัดดีเอ็นเอ Nucleic acid extraction kits
- น้ำกลั่นบริสุทธิ์
- 10 X Buffer
- dH<sub>2</sub>O

- Extraction buffer
- Ethanol
- Ethidium bromine
- Forward primer
- Reverse primer
- 10X PCR buffer

### 1.3 สาหร่ายในการศึกษา

- *Chlorella vulgaris*
- *Scenedesmus* sp.
- *Klebsormidium* sp.

ที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการการเพาะเลี้ยงสาหร่ายของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2. วิธีดำเนินการศึกษา

### การทดลองที่ 1 การจัดจำแนกสาหร่ายด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำตัวอย่างเซลล์สาหร่ายแต่ละไอโซเลทมาเตรียมสไลด์สด(wet mount) จากนั้นนำไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงเลนส์ประกอบ และใช้เอกสารทางวิชาการประกอบการจัดจำแนกชนิดของสาหร่าย (Prescott, 1978)

### การทดลองที่ 2 การสกัดดีเอ็นเอ

1. สกัด DNA จากสาหร่ายทั้งสามชนิด *Chlorella vulgaris*, *Klebsormidium* sp. และ *Scenedesmus* sp. โดยบดให้เซลล์สาหร่ายแตก จากนั้นทำการสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีการที่แนบมา กับชุดสกัดดีเอ็นเอ ซึ่งคือชุดสกัดสารพันธุกรรม Nucleic acid purification และ Nucleic acid extraction kits

2. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ โดยการนำมาทำอิเล็กโทรโฟรีซิสในอะกาโรสเจล แล้วย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ตรวจสอบการปรากฏของดีเอ็นเอ

3. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาทำการเพิ่มจำนวน โดยการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction) โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะดังต่อไปนี้

#### 3.1 ITS2-5.8S rDNA

Forward primer: CH-ITS-F6

5'-GATTGAATGGTCCGGTGAAGTG-3'

Reverse primer: FU-ITS-R8

5'-TGGGTCACACGATGCGTAGGGA-3'

ขั้นตอน denaturation รอบแรกใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 30 วินาที โดยรอบถัดไป ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 2 นาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 47 °C นาน 2 นาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 66 °C นาน 3 นาที จนครบ 31 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 15 นาที (Sakayama et al., 2004)

### 3.2 18S rDNA

Forward primer: SR-1

5'-TACCTGGTTGATCCTGCCAG-3'

Reverse primer: SR-2

5'-CCTCCGCAGGTTACCTAC-3'

ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 93 °C นาน 1 นาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 2 นาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 3 นาที (Nakayama et al., 1996; Hanyuda et al., 2002)

### 3.3 23S rDNA

Forward primer: p23SrV\_f1

5'-GGACAGAAAGACCCTATGAA-3'

Reverse primer: p23SrV\_r1

5'-TCAGCCTGTTATCCCTAGAG-3'

ขั้นตอน denaturation รอบแรกใช้อุณหภูมิ 94 °C นาน 2 นาที โดยรอบถัดไป ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 94 °C นาน 20 วินาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 55 °C นาน 30 วินาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 30 วินาที จนครบ 35 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 10 นาที (Sherwood and Presting, 2007)

### 3.4 28S rDNA

Forward primer: F-SAS1

5'-TATGGCCGTACGTGTGCA-3'

Reverse primer: R-5.8S

5'-CCAAGAAATCCATTGTACAGTGT-3'

ขั้นตอน denaturation รอบแรกใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 3 นาที โดยรอบถัดไป ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 15 วินาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 15 วินาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 1 นาที จนครบ 35 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 5 นาที (Taylor, Bailey, and Freshwaer, 2017)

### 3.5 *atpB*

External forward primer: *atpB*-175FZYG  
5'-TRTWACYTGTGARGTACARCA-3'  
External reverse primer: *atpB*-866R  
5'-CCWACTGCAGAAGGCATAC-3'  
Internal forward primer: *atpB*-700F  
5'-TATGGTCAAATGAATGAACC-3'  
Internal reverse primer: *atpB*-1404RZYG  
5'-CYARRTARAACGCYTGTCTGG-3'

ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 °C นาน 20 วินาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 20 วินาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 45 วินาที จนครบ 35 รอบ โดยรอบที่หนึ่งใช้ไพรเมอร์ *atpB*-175FZYG+ *atpB*-866R และรอบที่สองใช้ไพรเมอร์ *atpB*-700F+ *atpB*-1404RZYG (Stancheva et al., 2013)

### 3.6 *rbcl*

Forward primer: RH1  
5'ATGTCACCACAAACAGAACTAAAGC-3'  
Reverse primer: 1385R  
5'-AATTCAAATTTAATTTCTTTCC-3'

ขั้นตอน denaturation รอบแรกใช้อุณหภูมิ 94 °C นาน 2 นาที โดยรอบถัดไป ขั้นตอน denaturation ใช้อุณหภูมิ 94 °C นาน 15 วินาที ขั้นตอน primer annealing ที่อุณหภูมิ 55-60 °C นาน 15 วินาที ขั้นตอน primer extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 90 วินาที จนครบ 34 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 4 นาที (Drummond et al., 2005)



4. ได้ผลการการทำ PCR (Polymerase Chain Reaction) แล้วนำส่งเพื่อตรวจสอบลำดับเบสบนสายของดีเอ็นเอ

5. ขั้นตอนของการวิเคราะห์ผลการตรวจสอบหาชนิดของสาหร่ายโดยใช้ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการ โดยการนำข้อมูลลำดับเบสบนสายของดีเอ็นเอที่ได้ตรวจสอบแล้ว โดยตรวจสอบจากฐานข้อมูลที่มีอยู่เพื่อระบุชนิดของสาหร่าย (ฐานข้อมูลในการตรวจสอบ: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

### การทดลองที่ 3 ผลของออกซินต่อสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., และ *Klebsormidium* sp.

1. แยกสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., และ *Klebsormidium* sp. ให้เป็น uni-algal culture ด้วยวิธี capillary pipette (Anderson,2005) และ วิธี serial dilution

2. เตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., และ *Klebsormidium* sp.

3. ออกซินความเข้มข้น 0 ไมโครโมลลาร์ 0.1 ไมโครโมลลาร์, 1.0 ไมโครโมลลาร์ 10.0 ไมโครโมลลาร์, 50.0 ไมโครโมลลาร์ และ 100.0 ไมโครโมลลาร์ ด้วยวิธี serial dilution

4. วัดปริมาณความหนาแน่นเริ่มต้นของสาหร่ายด้วย hemocytometer บันทึกผลที่มีออกซินความเข้มข้น 0 ไมโครโมลลาร์ 0.1 ไมโครโมลลาร์, 1.0 ไมโครโมลลาร์ 10.0 ไมโครโมลลาร์, 50.0 ไมโครโมลลาร์ และ 100.0 ไมโครโมลลาร์

5.เลี้ยงสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., และ *Klebsormidium* sp. ที่มีปริมาตรสุทธิเท่ากับ 20 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง ภายใต้อุณหภูมิ 25-26 องศาเซลเซียส และความเข้มแสงที่เหมาะสมต่อการเติบโตของสาหร่าย โดยทดลองความเข้มข้นละ 4 ข้ำ

6. เก็บผลการเจริญของสาหร่ายด้วยการนับความหนาแน่นของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp., และ *Klebsormidium* sp. วัดขนาดของเซลล์ของสาหร่ายและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 680 นาโนเมตร (OD 680) ในทุกวันเป็นระยะเวลาทั้งหมด 10 วัน หรือจนถึงสาหร่ายมีความหนาแน่นเข้าสู่ stationary phase

7. วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยคำนวณค่าเฉลี่ยพร้อมทั้งแสดงค่าความคลาดเคลื่อน (mean±SD) นอกจากนี้ วิเคราะห์ผลกระทบของออกซินต่อตัวแปรดังกล่าวด้วยโปรแกรม SPSS โดยวิธี one way analysis of variant (ANOVA) จากนั้นทำการจัดกลุ่มด้วยสถิติ post hoc Duncan's test

## บทที่ 4 ผลการศึกษา

### 1. การระบุชนิดของสาหร่าย

#### 1.1 การระบุโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์สาหร่ายทั้งสามชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าสาหร่ายทั้งสามชนิดมีลักษณะดังนี้

สาหร่ายชนิดที่ 1 เป็นสาหร่ายในน้ำจืด เซลล์อยู่ใน vegetative stage เซลล์มีลักษณะกลมขนาดประมาณ 2-10 ไมโครเมตร แต่ละเซลล์มี 1 คลอโรพลาสต์แบบ cup-shaped จากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นทำให้สามารถระบุได้ว่าสาหร่ายชนิดที่ 1 นั้น เป็นสาหร่ายในคลาส Trebouxiophyceae อันดับ Chlorellales วงศ์ Chlorellaceae สกุล *Chlorella*

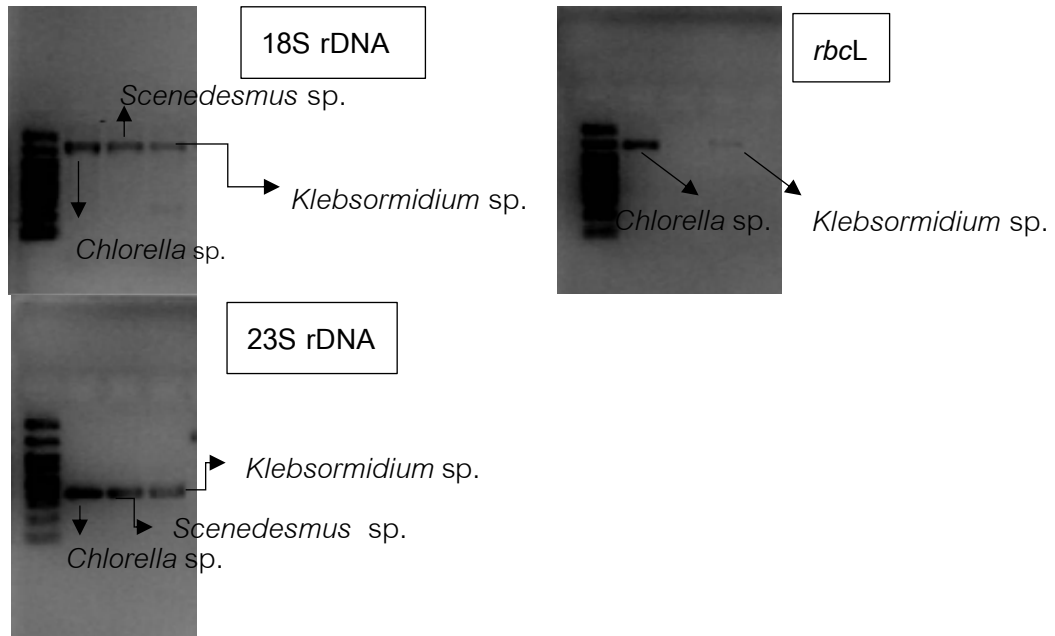
สาหร่ายชนิดที่ 2 เป็นสาหร่ายในน้ำจืด เซลล์อยู่ใน vegetative stage มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวรูปกระสวยและบ่อยครั้งจะมีการพบที่เป็นลักษณะของการรวมกันของเซลล์ (colony) ขนาด 4 เซลล์ เซลล์ไม่มีแฟลกเจลลา เซลล์มีผนังหนาทำให้สามารถจัดจำแนกได้เป็นสาหร่ายที่อยู่ในคลาส Chlorophyceae อันดับ Sphaeropleales วงศ์ Scenedesmaceae สกุล *Scenedesmus*

ชนิดที่ 3 เป็นสาหร่ายน้ำจืดและยังสามารถพบได้บริเวณดินที่มีความชื้น เซลล์อยู่ใน vegetative stage เซลล์มีลักษณะเป็นเส้นสาย (filament) คลอโรพลาสต์ที่พบเป็นแบบแผ่นเซลล์ที่เรียกว่า parietal chloroplast และ ใน 1 เซลล์จะมี 1 คลอโรพลาสต์ จากข้อมูลทางสัณฐานวิทยาที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นทำให้สามารถระบุได้ว่าสาหร่ายชนิดที่ 3 นั้น เป็นสาหร่ายในคลาส Klebsormidiophyceae อันดับ Klebsormidiales วงศ์ Klebsormidiaceae สกุล *Klebsormidium*

#### 1.2 การระบุโดยวิธีทางอณูชีววิทยา

จากการระบุสกุลของสาหร่ายด้วยสัณฐานวิทยาทำให้เราทราบแล้วว่าสาหร่ายทั้งสามชนิดที่เราศึกษาประกอบไปด้วยสาหร่ายสีเขียวสกุล *Chlorella*, *Scenedesmus*, และ *Klebsormidium* และจากการศึกษาเพื่อระบุชนิดของสาหร่ายระดับสปีชีส์โดยใช้วิธีทางอณูชีววิทยา โดยทำการทดลองเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วย ปฏิกิริยาพีซีอาร์ (polymerase chain reaction; PCR) ด้วยไพรเมอร์ดังต่อไปนี้ ITS2-5.8S rDNA, 18S rDNA, 23S rDNA, 28S rDNA, *atpB* และ *rbcL* ในสาหร่ายทั้งสามสกุล พบว่าไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอของสาหร่ายสกุล *Chlorella* และ *Klebsormidium* คือ 18S rDNA, 23S rDNA และ *rbcL* (ภาพที่ 6) ในขณะที่ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มจำนวนของดีเอ็นเอของสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* คือ 18S rDNA และ 23S rDNA (ภาพที่ 4) และเมื่อนำดีเอ็นเอดังกล่าวของสาหร่ายทั้งสามชนิดไปตรวจสอบเพื่อทราบถึงลำดับเบสบนสายดีเอ็นเอ และเปรียบเทียบลำดับเบสจากฐานข้อมูล GenBank NCBI พบว่าสามารถระบุชนิดของสาหร่ายสกุล *Chlorella* ได้เป็นสาหร่ายชนิด *Chlorella vulgaris* (accession number KP259884.1 BAF97053.1 และ MF686452.1) ดังตารางที่ 1, 4 และ 6 ตามลำดับอย่างไรก็ตาม

ไม่สามารถระบุชนิดของสาหร่ายสกุล *Scenedesmus* และสาหร่ายสกุล *Klebsormidium* ดังผลการศึกษาในตารางที่ 2, 3, 5 และ 7



ภาพที่ 4 ผลการทำ PCR โดยใช้ไพรเมอร์ดังต่อไปนี้

23S rDNA (Forward primer: p23SrV\_f1 และ Reverse primer: p23SrV\_r1)

*rbcL* (Forward primer: RH1 และ Reverse primer: 1385R),

18S rDNA (Forward primer: SR-1 และ Reverse primer: SR-2)

#### ผลการตรวจสอบลำดับดีเอ็นเอ

*Chlorella vulgaris* 23S rDNA

Forward primer: p23SrV\_f1 และ Reverse primer: p23SrV\_r1

ความยาว 383 คู่เบส

```
5' - GTATGCTGGTGATTGCGGTCGGGCTCTTCTTGCGCAGGCAAGGTGGGAGGGGCTGAAAGTT
TTCTTTTGTAGAACTAGAGCCAGACAAGCTCCCCTCTCCCTTTGACTCTACGGCTGATTTCCGTC
CAGCCTGAAGGAAGCTTTGCACTTTTACGTTACCTTTTAGGATGTGACCGCCCCCGTCAAATGCC
CACCTAAAAATGTCAAGCGTCCTGCTTCAAGGAACGCCATTAGAATTCTAGCTCCTCCACAGTGG
TCTGCCACTGTGCGATATCGATTTGCCGAGAAAGAACTTTCAACGCCTCCCACCTAGCCAGCGTT
CCATGAGCCCGAACCCAATTCCAAGCTACAGTCAGTTACTCTAGGGTAATTTCTGTCACA - 3'
```

*Scenedesmus* sp. 23S rDNA

Forward primer: p23SrV\_f1 และ Reverse primer: p23SrV\_r1

ความยาว 382 คู่เบส

```
5' – AATCTGGGATGGGTTCTGGGCTTTTCTTGCGCAGTCTAGGTGGGAGGCTATGAAGATTCCT
TCCGGGGAAGTTGGAGCCATCAGTGAGAGACCACTCTGGAGAGGCTAGAATCCTAATGGTGA
TCCTTGAATCAGGACACTTGACAGTTTCAGGTGGGCTGTTTTTCTGGGGCGGAAGCCTAAAA
AAGCCCACTTAGGCGCGTCAAGTGTCCCTCATCCTGGACGGAAATCAGAAAGCTAGCCTCAA
GGCAAAGGGGACTTTGTGTGCGATACCTACAAGTCGAGAGGGAATCTAAGTAGCCCTTAGCG
ATCCCAGGGCGCGACAAGCCAGGACCGTATTCCAGGAAATAGAAGTGCCTCTAGGGAAAAAT
TCTGTCAA - 3'
```

*Klebsormidium* sp. 23S rDNA

Forward primer: p23SrV\_f1 และ Reverse primer: p23SrV\_r1

ความยาว 381 คู่เบส

```
5' - CGATTCTGGATGGGTTCTGGGCTTTTCTTGCGCAGTCTAGGTGGGAGGCATTGAAGATTCCT
TCTGGGGAAGTTGGAGCCATCAGTGAGAGACCACTCTGGAGAGGCTAGAATCCTAATGGTGA
TCCTTTGATCAGGACACTTGACGTTTTTCAGGTGGGCAGTTTGTGGGGCGAACACCTCATAAA
AGGTAAGTACTGAGGTGCGCAAAGGTTCCCTCGGTCTGGACGGAAATCAGACTAAAGAGTGTAAG
GGCAAAGGGAGCTTGACTGTTAGACCTACAAGTCAAACAGGGGCGAAAGCCGCCCTTAGTG
ATCCGACGGTCCATGTGGAAGGGCCGTCGCTCAACGGATAAGAGTTACTCTAGGGTAACAG
GCTAAAA - 3'
```

*Chlorella vulgaris rbcL*

Forward primer: RH1

ความยาว 1032 คู่เบส

```
5' - AAGGGCTAGCAGCTAAGCAGGTGTTAAGACTACCGTTTAACTTACTATACTCCTGATTACCA
ACCAAAAGACACTGATATTCTTGCAGCGTTCCGTATGACTCCTCAACCAGGTGTTCCACCAGAA
GAAGCGGGTGCGGCAGTAGCAGCAGAATCATCAACTGGTACTTGGACGACTGTATGGACTGAT
GGTTAACTAGTTTAGACCGTTACAAAGGTCGTTGTTATGACATCGAGCCTGTTCCAGGTGAAGA
AAATCAATACATCGCGTATATTGCATATCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGATCTGTAACAACTT
ATTTACTTCAATTGTAGGGAACGTTTTTGGTTTTCAAAGCTCTTCGTGCTTTACGTTTAGAAGTCCTT
CGTATTCCACCAGCATACTGAAAACCTTTCCAAGGTCCTCCTCACGGTATTCAAGTAGAACGTG
ATAAACTTAACAAATACGGTCGTGGTTTATTAGGTTGTACAATTAACCAAAATTAGGTCTTTCAG
CTAAAACTACGGTCGTGCTGTATACGAATGTGACGTGGTGGGCTTGATTTACAAAAAGATGAT
GAAAACGTAAACTCTCAACCATTTATGCGTTGGAGAGATCGTTTCTTATTTGTTGCTGAAGCTATT
TACAAATCTCAAGCTGAAACTGGTGAAATTAAGGTCACTATTTAAACGCAACGGCAGCTACGG
CAGAAGCAATGATGCAACGTGCTGAATGTGCGATAGATTTAGGTGTACCTATTATTATGCACGAT
TACTTAACTGGTGGTTTTACAGCAAACACAAGTCTATCTCACTATTGTCGTGATAATGGTCTTCTT
TTACACATTCACCGTGCAATGCACGCTGTAATTGACCGTCAAAGAAATCATGGTATTCACCTCCG
TGTTTTAGCAAAGGCTCTCCGTTTAACTGGTGGTGATCACTTACATTCTGGTAAAGTTGTTGGGA
AACTAGGAGGTGAACGTGTAGGAACATTAGGGTTTTCGCTGAATTAAGCGGGAAGATTC - 3'
```

*Chlorella vulgaris* rbcL

Reverse primer: 1385R

ความยาว 982 คู่เบส

```
5' – AGAACTCAGCTGCAGCAGCTTCATGGACTCCATTTGCACGCTGCACGACAATACATCACCG
CCTTCACGAGCAAGATCTCGACCTTCATTACGTGCTTGAGTACCAGCTTCTCAAGCAACACGGT
TTGCAGCAGCGGGTGCAGCATTCCCCCAGGGTCACCTACGTACCACCACCGAATTGTAAAC
AAGCATCATCACCGAAGATTTCAACCAGAGCTGGCATGTGCCATACGTGAATACCACCAGAAG
CTACTGGGATTGTACCTGGTAAAGAAACCCAGTCTTGAGTAAAAACATTCCACGACTAGAATC
GTTTTCAATGTAATCATCTCGAATTAAGTCAACGAAACCTAATGTTACTTCCCGTTCACCTTCTAGT
TTCCCTACAACCTGTACCACAATGTAAGTGATCACCACCAGATAAACGAAGAGCTTTTGGTAAAC
ACGGAAGTGAGATCCACGATTTCTTTGACGTGCAATTACAGCATGCTTTGCACGTTAACCGTAAT
AAAGACGATCAGCATCACGACAATGATGAGATGAATTTGAGTTTGTGGTAAACCACCTGTTATC
ACACGTGCATAAGAAAAGGTAAACTCTCAACCTTTTATGCTTCGGAGAGATGGTTTCTTACTTGTT
GCGGAGCCTCCGTAGCGTTCTAATGCTGAACCTGAAGTAATCCAGTGTCACTATTAGAATGCTA
AATAGCTACGGCACAAACAAGAAAGCATCTCGCCGACGGTTAAATAGATTAAAGTGACCTTTTA
ATAAGCTTTGTACAAACCAGGCCGCTTGACGCAATACTATACTGTCCGACTGTTGTTGTGAGATG
AGACACCTTTTTTCGTTCACTGGAAACCAATAGACATGACCGTCTTGAATGTTGTATGATCTACTT
GATACGTGAAGAGCATCTTTTATCGTTTGACGTAACCTGCTGCTGGGCAGTCTTCTGAAATAAAAA
GTGAAAGCTATTAT - 3'
```

*Klebsormidium* sp. *rbcL*

Forward primer: RH1

ความยาว 1888 คู่เบส

```
5' - GGGGCCATTTAGGTGCGGGCCTTCGGTGAAACCCTTGCAAAGGGCGGTACCGTCTGCAA
ATAGTTGCACCGAGTACGCTATTGGTTAACAGTATACTGTTATTCATCCGCTAGTCGCCTCAAT
AGTCGACGGAGGGTCCCCTAAGCTCCCTTCTTTTCCAGGCGTTGCGATGTGAATGCTAGAG
TTTATCTGAGGACTAACAAAGCATGCACTTTGATATATTGCACAGTTACGGAATCCAGGCAGTA
GCATATCGGTGCGGTATGTCATCGCCTAGCATCACGCCTCGCTAGCGTGAGTCGTTCCCATATA
CTGTGACACAGACGGCACTAACCTGTTATAGCGACTGTATGAGTCTTCAACATAGATTTACGTA
CCGATTAGCATAACAGCGACGTTCTTAACCGATCATCTGGCACTCACAGTACCAGGACGGAG
ATAACTGATACTCATGGTTGCGACAGCACTAGGGTAATGATCTTTCTGGAGCTAGTTCAGTGTC
TAACTTAGTTACCTCGATTGAAGGCTACGATAACTCTAGATTGTCTACAGTCTACGACGCTGCC
TTGCACGACTTTATGCCAGAACCCATTACGTCATCCCCAGCCAGAGTTACGCCTACCAACCTT
GACGATAGCGAACCATACGCTTCCATCAGGTATATACTAGCAGTGTGGAACGGTTTGATAACT
AAAGTAAAACCCAATTACGCGTGCGCAGAGATACATGTAGGGCTTGTTACACAGTTGAAAACC
GTAATATATAGAGTATTACTCTAGCGTACAACAGACCTAGCGGTACGTGGCTAGATTGTAACG
GAGATGAGTCTAGCGGTGAGTTGCAACCTTGACATAGCAACGTACAGTGACCGTACAGTAG
AATACGGTCAACATCTCCTACAAATCCTGTTTACACTGCCGTTTGAGGAGAAGGACCCGTATAT
CATTTATCTTCGCGTGGCATGTAACGCTGACTCGTAACGCAAAGTCTTCAGAGGCGTGGAACA
CCTTGGGAAGTAAAACATCCCAAGGGTTCAACGTCACCTGTAGACAACGGCGTAACGAGGCT
AGGGTTTACTGTGCGGAGCAAAGAAAAAATGAATTAACAAAAACCGTTGGCTTCCAAAATGG
CTGCCGTAAAACAGGAAATTGTTAGGGGAGGTTTTCCCTTATTCCAATCGTATTGGCCACTG
GTAACGTTACCCTTTAGAACCAAAGGGGTGGGGCAATCTTCCAACCAAGGCCAAACAACTA
ACCTTTTTCAAATTTAGGGCCAAGGGTATTTACCGTTGGGGCCCGGTTTAAACGGGCCAAG
GGGGTTTATAAAACCCAATTTTAAAACCTAACAAAGGGTTCCAATACCCGGGGTTGGCCAAA
AACCGGACCCCCCCCCCATAGGGTTTAAAAACCTTTTACAAGCCCCCCCCCGCAAAAA
AAAAAGAAAAAAACCCCAAAGTGGGGTTTTAAATTTTCCAACCCCTTTTTTCCACCGAG
GCCTGTTTGAAAGTTTAAATATAAGCCCCCCCCAAAAAGAAGAGGGAGCGTTTTTGTAACCCC
CGCCAATAATTTGCCCTTACAATAAGGAGGGGTTGGGGGTTTAAAGAAGACTCTCCCAAAC
CCCCCTCTTTTCCACAACCCCTTTCCGCGGGAGAGAAATTTATCCCCGTGGAGAGTAAGG
GGGGTGTTCGTAGTGTGGCACTATATAAAAAACTCTCAAAGGAGAAAAAAGAGGGGGCGCC
GCCAAAAAAACCCCGCTATGAGAGGGAAGAGATTGTGTTTATAACAACAAAAAAAACCTC
ACAACAGGAAGAGATTATTTTTCCGCGCGGCGGTGTTAGTGCGCCGCACCCCTTTATTATAA
AA - 3'
```

*Klebsormidium* sp. *rbcL*

Reverse primer: 1385R

ความยาว 967 คู่เบส

```
5' – AGACTCAGTCAGCTGTAAC TTCTGCGACTCCATTTACATGCAGAACGAATTACATCTCCAC
CTTCACGAGCCACGGGACGACCTTCGTTACGAGCTTTAGTTTCTGTTTGTGGTGACATAGGGC
GGCTACTGCTCCAGGGGCGGACCCCCAGGAGCTCCAAAGTACCACCGCCGAATTGTAAGCA
AGCGTCATCTCCCAAGATTTCTACTAAAGCTGGGTGTTGTTATGATCTCGCCTCCAGAAGCTA
CAGGCATAACTCCTCTCATAGTAGACCAGTCTTGAGTAAAGATCATTCTACGGCTACTACCTTT
TTAACTTAGTTATCTCGCATTAAAGTCTACGAAACCTGATGCTACTTCACGTTACCTTCTAACT
ATCCTACTACAGTATTCCTCCAAGTTGATCTCCAATTTTCGTACGACCAGCTTTAGTTAACACA
GGGAGGGTAAAATTAGGAACCTATGCGGTGCGAGGTACAGCAGGCTGTGCAATTGAACCTAAA
TTAGGTTTATCAGCGTCAAAC TACGTACGTGCTGATTACGAATGTGCTACGTGATGCACTTGTC
TTCACTCAGGCCGACGAGTACGTAAACTCACAACCTTTCATGCATTGAGAGAGACTTTATCTTA
CTTCGCGCTGACGTGCTCTACCAAGCTCGTCTGAAACTGGTGT TACCAGGTCAGCCTTAGAC
GCTAAACAGGTACTTGAGAAGAAAAGATAAGACGTCTTCATGTACTAAAGAATGAGGAGTTCC
TATCATGATGCCTGACTACAAACAAGTGGACCACAGCACATACGTCATTAGCAGTATCCTGGC
TTTAGCAGATTATCTTACACAGTCTCAGTGTATGCCGCTGAAACTACGCGTCAAAGAGACCAG
GTGTCACTTCCGTTATATCTAAGCTTGACGCATGCTAGTGTAGGCGACTTCGCTCGATACTGA
AGTCTGCAAACAGAAGTAGAC - 3'
```



*Chlorella vulgaris* 18S rDNA

Forward primer: SR-1

ความยาว 832 คู่เบส

```
5' - AATCGGCCTGGAGAATTTGGGGATCAGTCGGCAGTAGGTGAGTATGAATAACGGTTCAGT
GGCTGAGAGAGCGTATTGATTAGGTTGCTAGATCTTGATTTGGCCGTACCTAACTGGCGATTG
GCCTGTCGTTGGAGAGTTAACCGGCGTTCCTGAGGTTCTCACCGAAAGTATATAGAAACATAT
GGCCGCTGAAGCTGCGCGCGCGAGTTCAAATGTGATTGTTTGGAGCGAAGGGAATACGACG
TTTCTGTATACGCAAACCTTTGTGGTGATGTAATTTGGTGGTAGCTAGAGGCTTACATATGGGAT
CAGAAGAGCGACTTGGTGTTGATCCGTGTGCTTGTGGTAGAAGACACATTTTCTGAGGGGGCT
AGGGACACCTATAAATCTGTGTGGGCGGGGAGAAAAAGTACCATTCCGGGGTCGCCGTTGCGT
ATTGGAGGGGGGATATATAATCATAATAGGACGATTGGGGGCAGTTTTGACATAACTGGGGCA
TTCGATTTTCTAGTGTAGAGCAAGGTAGGGCGTAAATTGGCGTGGTTGGCTCCGGGTTGTACC
AGCGGCCCCCGGCGTGCATACTGATCGGCTTCAGTCTTAAGGTCAGTTTCGATCTTACCGCTC
CCATTTCAAGAGAGCGGACTTCGGTTATAGGATGTAAGTATGCCGTTATGGCGTTATTTTTCCG
GGGATTGCGTTTTTTTTTGGTTATCTTGTTCTTTGAGAAGTATTATGGAAAATTGAGACAGCGCC
AAGTATCCATAATAAAGGGAAGTTTTGGTCTCCTTAATACCCAAAACATCCAAGCCTTTGCCAA
AAAATCTTCTTTT - 3'
```

*Chlorella vulgaris* 18S rDNA

Reverse primer: SR-2

ความยาว 999 คู่เบส

```
5' - ATGCAAGTCGACGTCTCTTCTCTAGGTGGGAGGGTTTAATGAACTTCTCGGCGGCCGAGA
GCGGAGACCGCCCCAGGTCGCCAATCCGAACACTTCACCAGCACACCCAATCGGTAGGAGC
GACGGGCGGTGTGTACAAAGGGCAGGGACGTAATCAACGCAAGCTGATGACTTGCCTTACT
AGGCATTCCCTCGTTGAAGATTAATAATTGCAATAATCTATCCCCATCACGATGCAGTTTCGAAGA
TTACCCGGGCCTCTCGGCCAAGGCTAGGCTCGTTGAATGCATCAGTGTAGCGCGCGTGCGGC
CCAGAACATCTAAGGGCATCACAGACCTGTTATTGCCTCATGCTTCCATTGGCTAGTCGCCAAT
AGTCCCTCTAAGAAGTCCGCCGGCTGGCGAACCAACCGTGACTATTTAGCAGGCTGAGGTCT
CGTTCGTTACCGGAATCAACCTGACAAGGCAACCCACCAACTAAGAACGGCCATGCACCACC
ACCCATAGAATCAAGAGAGAGCTCTCAATCTGTCAATCCTCACTATGTCTGGACCTGGTAAGTT
TTCCCGTGTTGAGTCAAATTAAGCCGCAGGCTCCACGCCTGGTGGTGCCCTTCCGTCAATTCC
TTAAGTTTCAGCCTTGCGACCATACTCGCCCCGGAACCCAAAACTTTGATTTCTCATAAGGT
GCCGGCGGAGTCATCGAAGAAACATCCGCCGATCCCTAGTCGGCATCGTTTATGGTTGAGAC
TAGGACGGTATCTAATCGTCTTCGAGCCCGCAACTTTGTTCTTGATTAATGAAAACATCCTTGG
CAAATGCTTTCGCAGTAGTTCGTCTTTCATAAATCCAAGAATTTACCTCTGACAATGAAAATAC
GAATGCCCCCGACTGTCCCTCTAAATCATTACTCCGGGTCTACAGACCCACCGGGATAGGG
CCAGAAGTCCTAATCGGGGTAATTCCATGGCTAATGGTATTCCGAAGCGTAAAGCC - 3'
```

*Scenedesmus* sp. 18S rDNA

Forward primer: SR-1

ความยาว 1001 คู่เบส

```
5' - GGTGGATTCTGTCCCAAGGATAAGCCATGCAATGTCTAAGTATAGAACTGCTTATACTGT
GAAACTGCGAATGGCTCATTAAATCAGTTATAGTTTATTTGGTGGTACCTTACTACTCGGATAA
CCGTAGTAATTCTAGAGCTAATACGTGCGTAAATCCCGACTTCTGGAAGGGACGTATATATC
AGATAAAAGGCCGACCGGGCTTTGCCCGACCCGCGGTGAATCATGATATCTTCACGAAGCG
CATGGCCTTGTGCCGGCGCTGTTCCATTCAAATTTCTGCCCTATCAACTTTCGAGGGTAGGA
TAGAGGCCTACCATGGTGGTAACGGGTGACGGAGGATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGA
GCCTGAGAAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGGCGCGCAAATTACCCAATCCTG
ATACGGGGAGGTAGTGACAATAAATAACAATACCGGGCATTTCATGTCTGGTAATTGGAATG
AGTACAATCTAAATCCCTTAACGAGGATCCATTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATTCCAGCTCCAATAGCGTATATTTAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTTGGATTT
CGGGTGGGTTCTAGCGGTCCGCCTATGGTGAGTACTGCTATGGCCTTCCTTTCTGTCCGGG
ACGGGCTTCTGGGCTTCACTGTCCGGGACTCGAAGTCGACGTGGTTACTTTGAGTAAATTAG
AGTGTTCAAAGCAGGCTTACGCCAGAATACTTTAGCATGGAATAACACGATAGGACTCTGGC
CAATCTAGTTGGCCTGTAAGAACCGGAGTAATGATTAAGAGGGACAGTCGGGGGCATTTCGT
ATTTCAATGACAGAAGGTAAAATTCTTGGATTTATGAAAAGACGAAATACTGGCAAAGCTTTT
GCCAAGGAAGTTTTTCATTAATCAAAAAACAAAAGTTGGGTGCCCCCAAGAAGAATTAAG
ACCGGGGGGAGCC - 3'
```

*Scenedesmus* sp. 18S rDNA

Reverse primer: SR-2

ความยาว 1049 คู่เบส

```
5' - TTGCAATAAACGACGTCTCATTCTCTAGGTGGGAGGGTTTAATGAACTTCTCGGCAGACCT
GAGGTGTTGCCACCCTAAGCTGCCAATCCGAACACTTCACCAGCACACCCAATCGGTAGGAG
CGACGGGCGGTGTGTACAAAGGGCAGGGACGTAATCAACGCAAGCTGATGACTTGCGCTTAC
TAGGCATTCTCGTTGAAGACTAATAATTGCAATAATCTATCCCCATCACGATGCAGTTTCAAAG
ATTACCCAGACCCTTCGGTCAAGGATAGGCTTGTGAATGCATCAGTGTAGCGCGCGTGCGGC
CCAGAACATCTAAGGGCATCACAGACCTGTTATTGCCTCATACTTCCATTGACTAAACGCCAAT
AGTCCCTCTAAGAAGTCAGCCACCTGCAAAAAGCAAGTGAGACTATTTAGCAGGCTGAGGTCT
CGTTCGTTACCGGAATCAACCTGACAAGGCAACCCACCAACTAAGAACGGCCATGCACCACC
ACCCATAGAATCAAGAAAGAGCTCTCAATCTGTCAATCCTCACTATGTCTGGACCTGGTAAGTT
TTCCCGTGTTGAGTCAAATTAAGCCGCAGGCTCCACGCCTGGTGGTGCCCTTCCGTCAATTCC
TTTAAGTTTCAGCCTTGCGACCATACTCCCCCGGAACCCAAGAACTTTGATTTCTCATAAGGT
GCTGGCGAAGTCATTAAGAAAACATTCGCCAATCCCTAGTCGGCATCGTTTATGGTTGAGACTA
CGACGGTATCTAATCGTCTTCGAGCCCCCACTTTGTTCTTGATTAATGAAAACATCCTTGGCA
AATGCTTTTCGCAGTAGTTCGTCTTTCATAAATCCAAGAATTTACCTCTGACAATGAAATACGAA
TGCCCCCGACTGTCCCTCTAAATCATTACTCCGGTCCTACAGACCACAAGATAGGCCAGAGTC
CTATCGTGTTATTCCATGCTAAAAGTATTCTGGGGTAAGCCTGCTTTGAACACTCTAATTTACTCA
AAGTAACCACGTCGAACTCCTAATTCCCGGAAA - 3'
```

*Klebsormidium* sp. 18S rDNA

Forward primer: SR-1

ความยาว 250 คู่เบส

```
5' - CCGGCGGGGTAAGTGATTATCACATCGCCGTGTGGCTTCTTATCCGCCGTCCAGTCGCGG
GACACTTGCTGCAGGGATTGGGGATGGCGCCTGTCTCGTCCCGCACGCCATCAAGAGTGTA
GAGCATGGCCATGTAGATGGGCAGCGCGTCCTCCGTGATCATGTCCGCCAACAAGAAAGGC
GGGAGGGGGAGCAAGGGTTGAACTCATCCCATCAGCAGGAGGTGTAAGGTAAACATTACGG
AAAAGAT - 3'
```

*Klebsormidium* sp. 18S rDNA

Reverse primer: SR-2

ความยาว 247 คู่เบส

```
5' - GACGGTGAATAAAGTATACTTCTGCTCCCCGTCCCGCCTTCTTGTAGGCGACATGATCACG
GAGGATGCGCTGCCACCTACATGGCCATGCTCTACACCCTGGATGGCGTGCGGGACGAGA
CAGGCGCCAGCTCTACCCCCTGGACAAGTGAACCCGCGAGTCCCGGCGAAACGAGAACC
GCCAGGGATTCTGTGCGATTAAACAAGTAACATGTTCCCTCAAGTGGCAGGACAAACACGATAA
AG - 3'
```

ตารางที่ 1 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล *Chlorella*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
L43357.1	<i>Chlorella vulgaris</i> chloroplast large subunit ribosomal RNA (rrnL) gene	77%	2e-84	86.42%
AB001684.1	<i>Chlorella vulgaris</i> C-27 chloroplast DNA, complete sequence	77%	8e-83	86.09%
KP259884.1	<i>Chlorella vulgaris</i> strain TMCC6 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast	71%	1e-81	87.41%
KP259883.1	<i>Chlorella variabilis</i> strain TMCC5 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast	77%	8e-78	85.15%
KY914942.1	<i>Chlorella variabilis</i> strain TMCC5 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast	71%	2e-78	86.74%

ตารางที่ 2 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล *Scenedesmus*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
DQ396875.1	<i>Scenedesmus obliquus</i> strain UTEX 393 chloroplast, complete genome	74%	1e-96	89.66%
DQ396875.1	<i>Scenedesmus obliquus</i> strain UTEX 393 chloroplast, complete genome	74%	1e-96	89.66%
KX756229.1	<i>Tetradesmus obliquus</i> chloroplast, complete genome	74%	1e-96	89.66%
HQ246407.1	<i>Acutodesmus bajacalifornicus</i> strain ZA1-2 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; plastid	74%	2e-98	90.00%
KF805721.1	<i>Scenedesmus</i> sp. KMN4 23S ribosomal RNA gene, partial sequence; chloroplast	74%	5e-95	89.31%

ตารางที่ 3 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 23S rDNA ของสาหร่ายสกุล *Klebsormidium*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
KY920173.1	Uncultured organism clone UniqueSequence5598 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	93%	2e-173	97.78%
KY916514.1	Uncultured organism clone UniqueSequence1939 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	93%	2e-173	97.78%
KY914944.1	Uncultured organism clone UniqueSequence369 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	2e-173	97.78%	2e-173
KY918387.1	Uncultured organism clone UniqueSequence3812 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	93%	9e-172	97.76%
KY916469.1	Uncultured organism clone UniqueSequence1894 23S ribosomal RNA gene, partial sequence	93%	9e-172	97.50%

ตารางที่ 4 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcL* ของสาหร่ายสกุล *Chlorella*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
BAF97053.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Chlorella vulgaris</i> ]	68%	7e-82	77.90%
AAO31593.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Chlorella vulgaris</i> ]	68%	8e-82	77.90%
BAF97055.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Chlorella vulgaris</i> ]	68%	9e-82	77.35%
ABQ08068.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Chlorella</i> sp. QD]	68%	1e-81	76.80%
AND95831.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Chlorella vulgaris</i> ]	68%	1e-81	76.80%



ตารางที่ 5 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน *rbcl* ของสาหร่ายสกุล *Klebsormidium*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
BAE92570.1	large subunit of ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase [ <i>Klebsormidium</i> sp.]	68%	1e-30	66.15%
BBA46398.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Klebsormidium</i> sp.]	69%	1e-30	64.18%
ABU88322.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Klebsormidium</i> sp.]	68%	8e-30	66.15%
P08211.1	RecName: Full=Ribulose bisphosphate carboxylase large chain; Short=RuBisCO large subunit; Flags: Precursor [ <i>Chlamydomonas moewusii</i> ]	68%	8e-30	66.15%
ALO20980.1	ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit [ <i>Microglena monadina</i> ]	68%	1e-29	64.62%

ตารางที่ 6 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rDNA ของสาหร่ายสกุล *Chlorella*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
MK541792.1	<i>Chlorella vulgaris</i> strain CCAP 211/19 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence	68%	1e-30	66.15%
MF686452.1	<i>Chlorella vulgaris</i> isolate 18s rRNA small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	98%	0.0	97.77%
KU306723.1	<i>Chlorella vulgaris</i> strain KNUA027 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	98%	0.0	97.77%
KP341004.1	<i>Chlorella vulgaris</i> isolate YL-2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	98%	0.0	97.77%
FR865682.1	<i>Chlorella vulgaris</i> genomic DNA containing 18S rRNA gene, ITS1, 5.8S rRNA gene, ITS2, 28S rRNA gene, culture collection CCAP 211/74	98%	0.0	97.77%

ตารางที่ 7 ผล blastx ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rDNA ของสาหร่ายสกุล *Scenedesmus*

Accession	Description	Query Cover	E value	Per. Ident
KY268297.1	<i>Scenedesmus</i> sp. FS 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	95%	0.0	96.98%
AY510463.1	<i>Scenedesmus deserticola</i> isolate BCP-YPGChar 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	95%	0.0	96.98%
AY510463.1	<i>Scenedesmus deserticola</i> isolate BCP-YPGChar 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	95%	0.0	96.98%
AY510461.1	<i>Scenedesmus deserticola</i> isolate BCP-EM2-VF3 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	95%	0.0	96.98%
AB037097.1	<i>Tetradasmus wisconsinensis</i> gene for 18S rRNA, complete sequence	95%	0.0	97.18%

### 3. ผลของออกซินต่อสาหร่าย *Chlorella vulgaris*

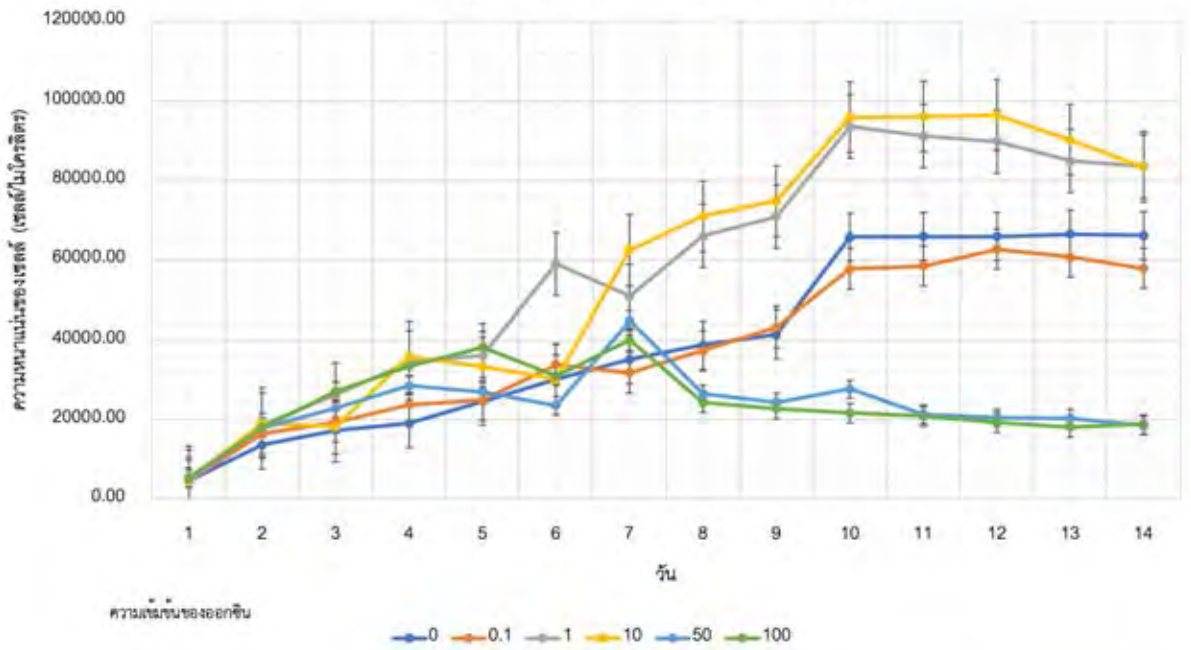
#### 3.1. ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Chlorella vulgaris*

จากการศึกษาผลของออกซินที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *C. vulgaris* โดยบันทึกค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันเป็นระยะเวลา 14 วัน จนความหนาแน่นของสาหร่ายเข้าสู่ช่วง stationary phase ผลการศึกษาพบว่า ในทุกชุดการทดลอง *C. vulgaris* มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 1 ถึง 7 หลังจากนั้นสาหร่ายจะมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซินและในชุดการทดลองที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, และ 10.0 ไมโครโมลาร์ และมีความหนาแน่นลดลงในชุดการทดลองที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ก่อนที่ความหนาแน่นของทุกชุดการทดลองของสาหร่ายจะเข้าสู่ช่วง stationary phase ในวันที่ 10 ของการทดลอง

ในช่วง stationary phase ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซิน *C. vulgaris* มีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $65783.33 \pm 15340.99$  เซลล์ต่อไมโครลิตร และที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *C. vulgaris* มีความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ในช่วง stationary phase เท่ากับ  $57733.33 \pm 10457.89$ ,  $93550.00 \pm 8765.98$ ,  $95833.33 \pm 12284.43$ ,  $27650.00 \pm 20439.25$  และ  $21633.33 \pm 3866.87$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 5)

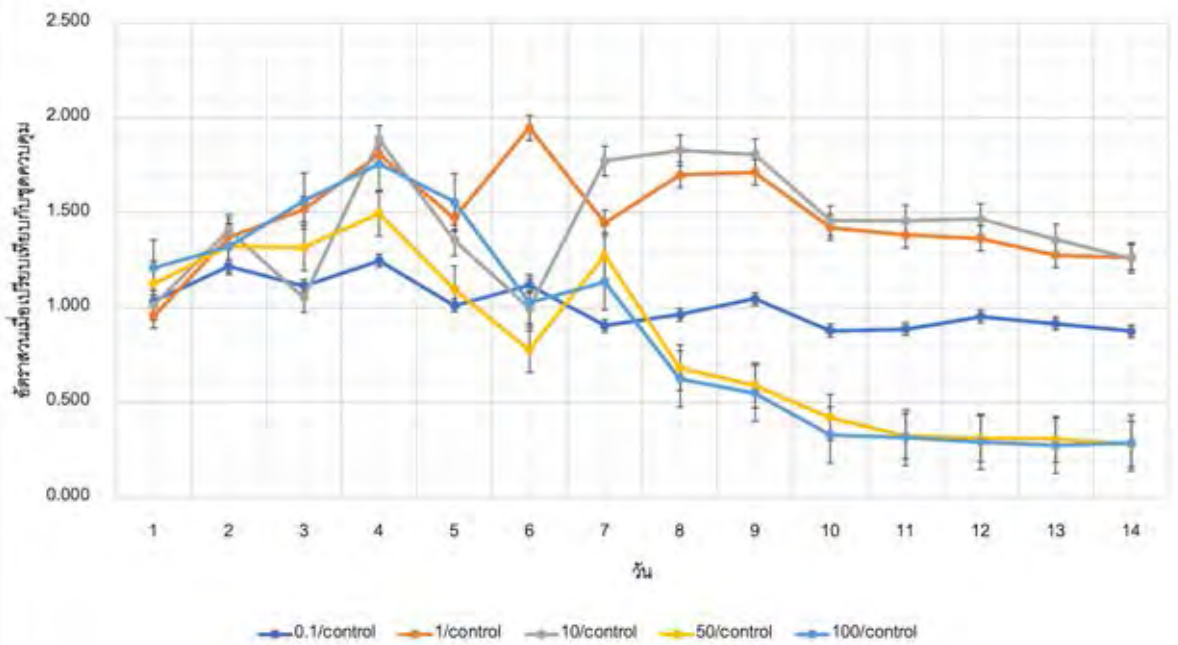
จากการคิดอัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ในความเข้มข้นของออกซินต่าง ๆ ต่อชุดควบคุมเพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นต่อชุดควบคุม พบว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1 ไมโครโมลาร์ความหนาแน่นของสาหร่ายมีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 1.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *C. vulgaris* มีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงกว่าในชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) คิดเป็น 1.947 และ 1.829 เท่า ตามลำดับ อย่างไรก็ตามออกซินที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *C. vulgaris* มีความหนาแน่นเฉลี่ยต่ำกว่าในชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) เท่ากับ 0.279 (วันที่ 6) และ 0.272 เท่า (วันที่ 8) ตามลำดับ (ภาพที่ 6)

ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เปลี่ยนแปลงไป



ภาพที่ 5 ความหนาแน่นเฉลี่ยของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เมื่อเทียบกับชุดควบคุม



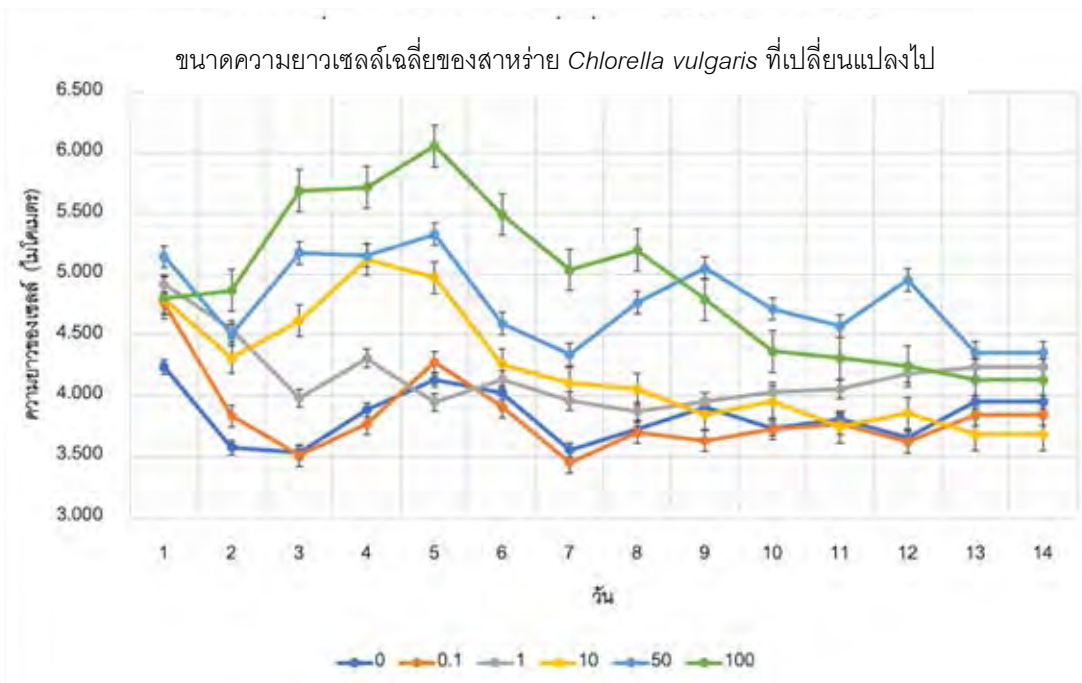
ภาพที่ 6 อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมใน ระยะเวลา 14 วัน

### 3.2. ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Chlorella vulgaris*

จากการวัดที่บริเวณเส้นผ่านศูนย์กลางของเซลล์ *C. vulgaris* ตลอดระยะเวลา 14 วัน ในช่วงที่ทำการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 10 ของการทดลองซึ่งความหนาแน่นของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองเข้าสู่ stationary phase สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $3.73 \pm 0.43$ ,  $3.72 \pm 0.51$ ,  $4.03 \pm 0.59$ ,  $3.95 \pm 0.45$ ,  $4.71 \pm 0.53$  และ  $4.36 \pm 0.86$  ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 7)

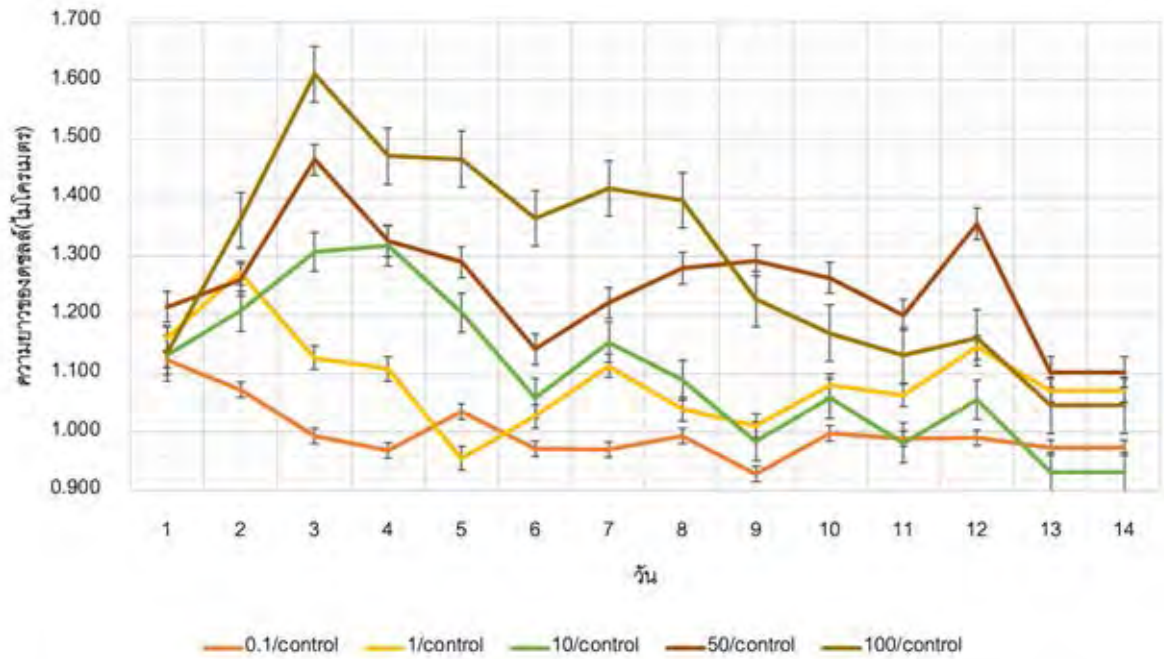
ขนาดของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 14 วันของการทดลอง โดยสาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดของเซลล์ใหญ่ที่สุดในวันที่ 1 ( $4.23 \pm 0.87$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $4.76 \pm 0.99$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $4.91 \pm 0.77$  ไมโครเมตร), วันที่ 4 ( $5.12 \pm 0.78$  ไมโครเมตร), วันที่ 5 ( $5.33 \pm 0.83$  ไมโครเมตร), และ วันที่ 5 ( $6.05 \pm 1.10$  ไมโครเมตร) ตามลำดับ (ภาพที่ 7)

โดยเมื่อคิดอัตราส่วนขนาดของเซลล์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเทียบกับกับชุดควบคุม พบว่า *C. vulgaris* ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ ขนาดของเซลล์เฉลี่ยไม่ได้มีค่าแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่ายมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าชุดควบคุม ( $p < 0.05$ )



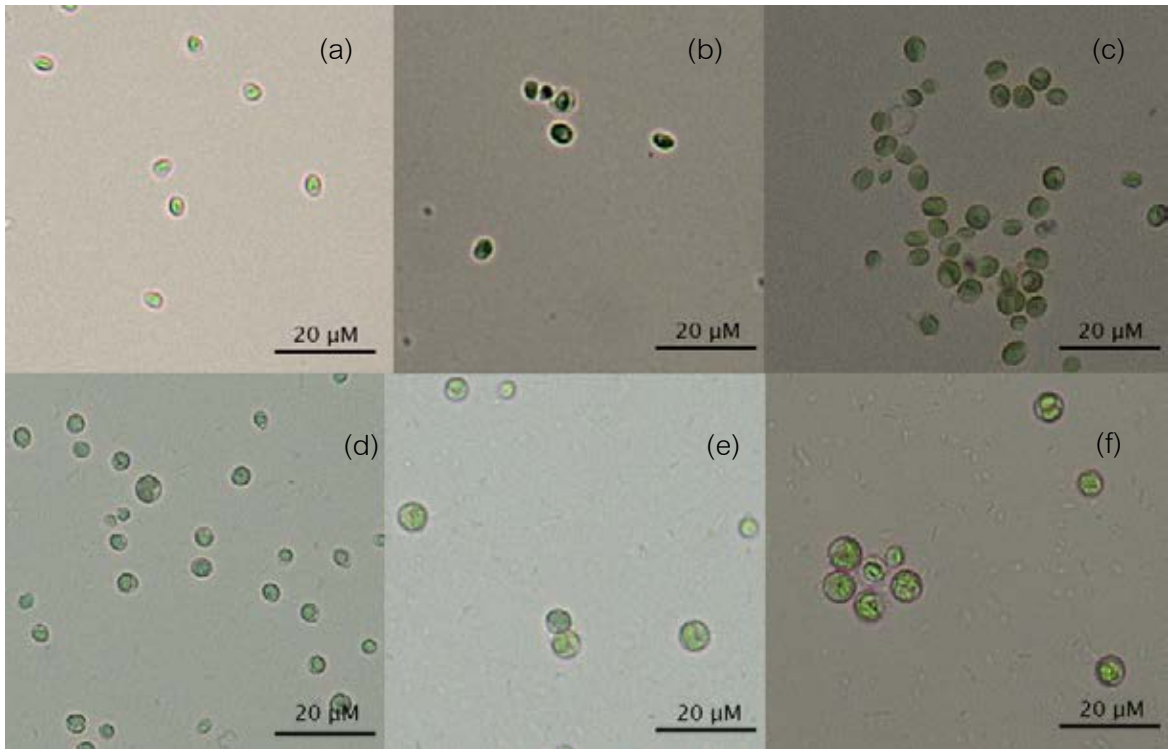
ภาพที่ 7 ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

อัตราส่วนขนาดความยาวเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* เมื่อเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 8 อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 14 วัน





ภาพที่ 9 ขนาดของเซลล์สาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์

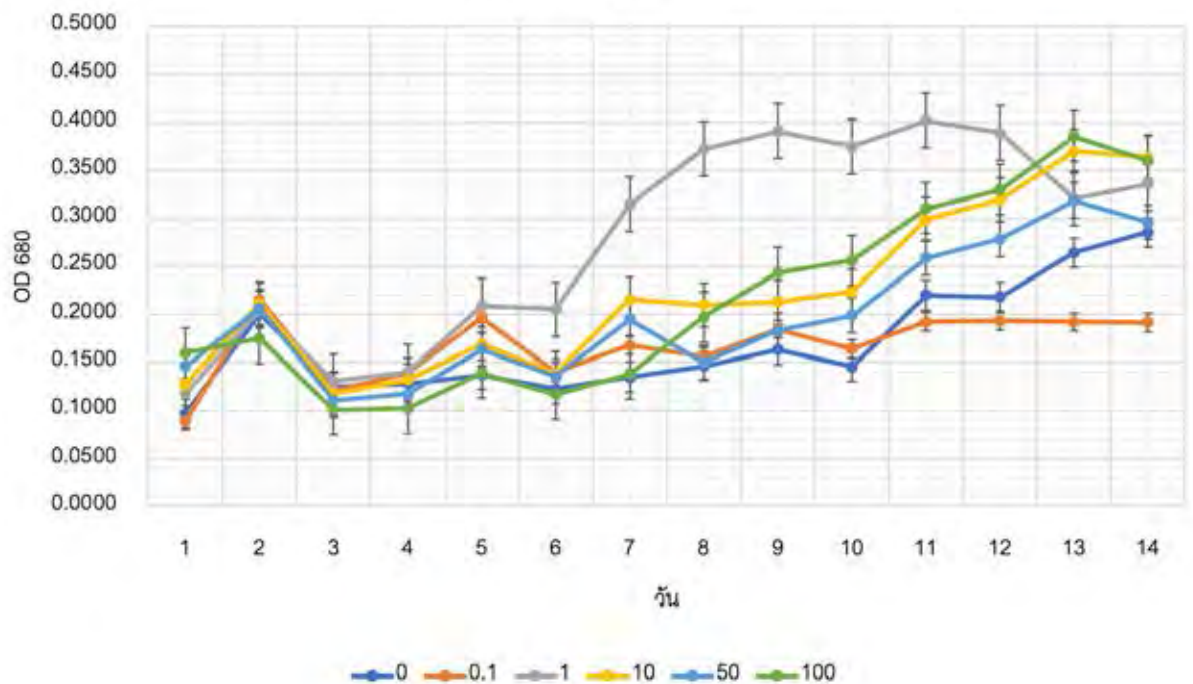
- (a) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0 ไมโครโมลาร์ (ชุดควบคุม)
- (b) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1 ไมโครโมลาร์
- (c) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1.0 ไมโครโมลาร์
- (d) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10.0 ไมโครโมลาร์
- (e) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 50.0 ไมโครโมลาร์
- (f) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์

### 3.3. ผลของออกซินต่อค่าการดูดกลืนแสงสี (Optical Density: OD680) ของ *Chlorella vulgaris*

จากการบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารและสาหร่ายที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการทดสอบออกซินในความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 14 วัน ตลอดระยะเวลาทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ที่ชุดควบคุมค่าเฉลี่ย OD 680 เริ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 7 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1346 \pm 0.0199$  และเริ่มคงที่ในช่วงวันที่ 11 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2201 \pm 0.1156$  ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 0.1 ไมโครโมลาร์ การเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสงสีมีค่าเริ่มคงที่ในวันที่ 11 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1926 \pm 0.0281$  ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1 ไมโครโมลาร์ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มสูงขึ้นในวันที่ 6 และเริ่มมีการคงที่ในวันที่ 7 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.3145 \pm 0.0510$  ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 12 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.3890 \pm 0.0224$  ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10.0 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีการคงที่ในวันที่ 7 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2158 \pm 0.0213$  และมีการสูงขึ้นอีกครั้งในวันที่ 11 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2990 \pm 0.0550$  ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 50 เริ่มมีการสูงขึ้น

และเริ่มคงที่ในวันที่ 7 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1949 \pm 0.0318$  ก่อนจะมีการเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งในวันที่ 11 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2590 \pm 0.0330$  และที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 8 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1976 \pm 0.1170$  จนถึง วันที่ 13 ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 14 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.3597 \pm 0.1176$  โดยสิ่งที่สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงสาหร่ายในความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าอาหารในความเข้มข้นนี้เริ่มมีสีน้ำตาลอ่อนในช่วงวันที่ 7 และแนวโน้มของสีน้ำตาลเข้มขึ้นในวันต่อไป (ภาพที่ 10)

ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*



ภาพที่ 10 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

#### 4. ผลของออกซินต่อสาหร่าย *Scenedesmus* sp.

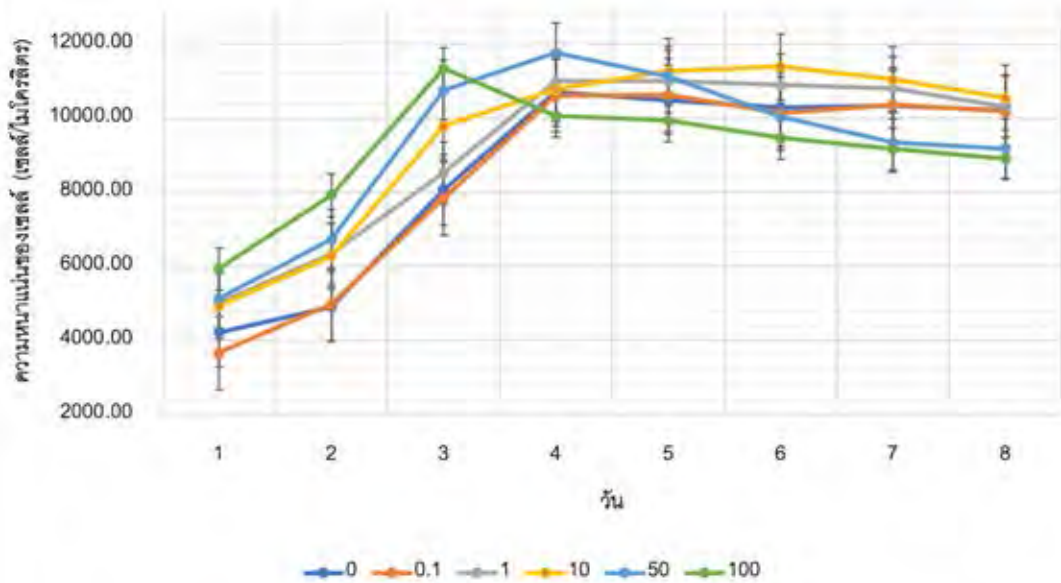
##### 4.1. ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

จากการศึกษาผลของออกซินที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. โดยบันทึกค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันเป็นระยะเวลา 8 วัน จนความหนาแน่นของสาหร่ายเข้าสู่ช่วง stationary phase ผลการศึกษาพบว่า ในทุกชุดการทดลอง *Scenedesmus* sp. มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 1 ถึง 3 หลังจากนั้นสาหร่ายจะมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซินและในชุดการทดลองที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ และมีความหนาแน่นลดลงในชุดการทดลองที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ก่อนที่ความหนาแน่นของทุกชุดการทดลองของสาหร่ายจะเข้าสู่ช่วง stationary phase ในวันที่ 5 ของการทดลอง (ภาพที่ 11)

ในช่วง stationary phase ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซิน *Scenedesmus* sp. มีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $10708.33 \pm 670.68$  เซลล์ต่อไมโครลิตร และที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ในช่วง stationary phase เท่ากับ  $10604.17 \pm 372.47$ ,  $10989.58 \pm 444.21$ ,  $10770.83 \pm 405.34$ ,  $11760.42 \pm 865.14$  และ  $9927.08 \pm 518.02$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 11)

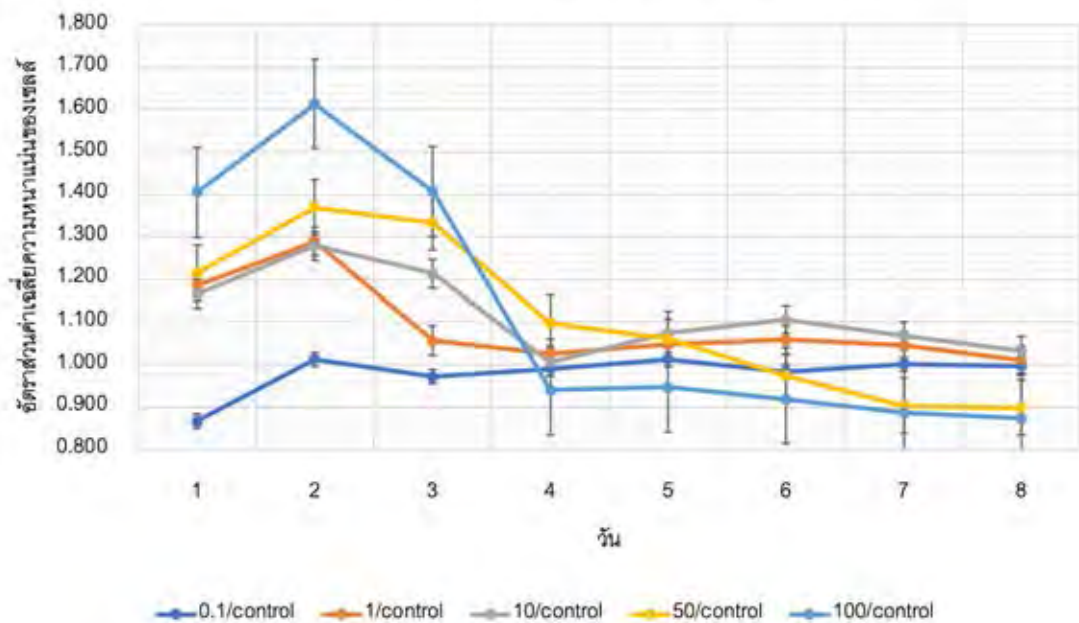
จากการคิดอัตราส่วนความหนาแน่นของเซลล์ในความเข้มข้นของออกซินต่าง ๆ ต่อชุดควบคุมเพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นต่อชุดควบคุม พบว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1 ไมโครโมลาร์ความหนาแน่นของสาหร่ายมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 1.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงกว่าในชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) คิดเป็น 1.048 และ 1.074 เท่า ตามลำดับ อย่างไรก็ตามออกซินที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยต่ำกว่าในชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) เท่ากับ 0.899 (วันที่ 8) และ 0.872 เท่า (วันที่ 8) ตามลำดับ (ภาพที่ 12)

ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



ภาพที่ 11 ความหนาแน่นเฉลี่ยของ *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. เมื่อเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 12 อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน

#### 4.2. ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

จากการวัดที่ความยาวและความกว้างของเซลล์ *Scenedesmus* sp. ตลอดระยะเวลา 8 วันในช่วงที่ทำการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 5 ของการทดลองซึ่งความหนาแน่นของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองเข้าสู่ stationary phase

สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $8.56 \pm 1.24$ ,  $8.69 \pm 1.13$ ,  $8.70 \pm 1.17$ ,  $8.68 \pm 1.19$ ,  $8.03 \pm 1.32$  และ  $8.14 \pm 1.26$  ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 13)

อย่างไรก็ตาม ขนาดความยาวเฉลี่ยของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 8 วันของการทดลองโดย สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความยาวเฉลี่ยของเซลล์ใหญ่ที่สุดในวันที่ 6 ( $8.80 \pm 1.22$  ไมโครเมตร), วันที่ 5 ( $8.69 \pm 1.13$  ไมโครเมตร), วันที่ 5 ( $8.70 \pm 1.17$  ไมโครเมตร), วันที่ 8 ( $9.04 \pm 1.04$  ไมโครเมตร), วันที่ 8 ( $9.36 \pm 1.23$  ไมโครเมตร) และ วันที่ 2 ( $9.33 \pm 0.91$  ไมโครเมตร) ตามลำดับ (ภาพที่ 13)

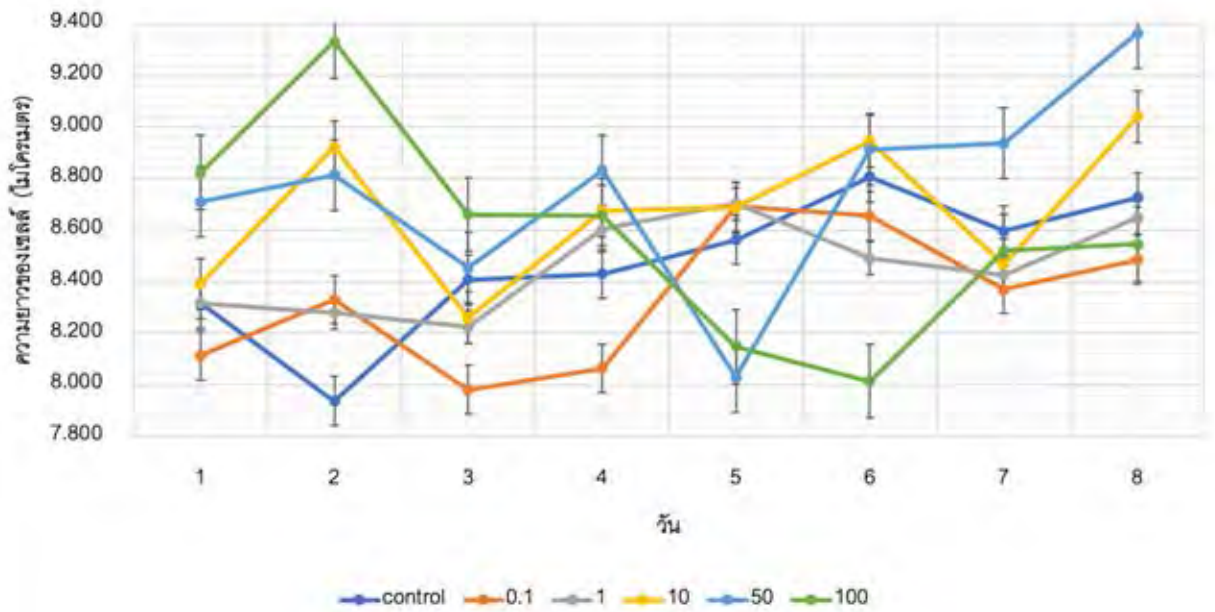
โดยเมื่อคิดอัตราส่วนขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเทียบกับกับชุดควบคุมพบว่า *Scenedesmus* sp. ขนาดความยาวเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยไม่มแนวนโน้มหรือความสัมพันธ์กันในแต่ละวัน และแต่ละความเข้มข้นและสาหร่ายในชุดควบคุม

สาหร่ายในชุดควบคุมและในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความกว้างของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $2.29 \pm 0.46$ ,  $2.17 \pm 0.31$ ,  $2.29 \pm 0.52$ ,  $2.26 \pm 0.47$ ,  $2.30 \pm 0.32$  และ  $2.51 \pm 0.51$  ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 14)

อย่างไรก็ตาม ขนาดความกว้างเฉลี่ยของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 8 วันของการทดลองโดย สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความกว้างเฉลี่ยของเซลล์ใหญ่ที่สุดในวันที่ 1 ( $2.596 \pm 0.637$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.54 \pm 0.57$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.64 \pm 0.57$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.99 \pm 0.46$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.98 \pm 0.66$  ไมโครเมตร) และ วันที่ 2 ( $3.32 \pm 0.42$  ไมโครเมตร) ตามลำดับ (ภาพที่ 15)

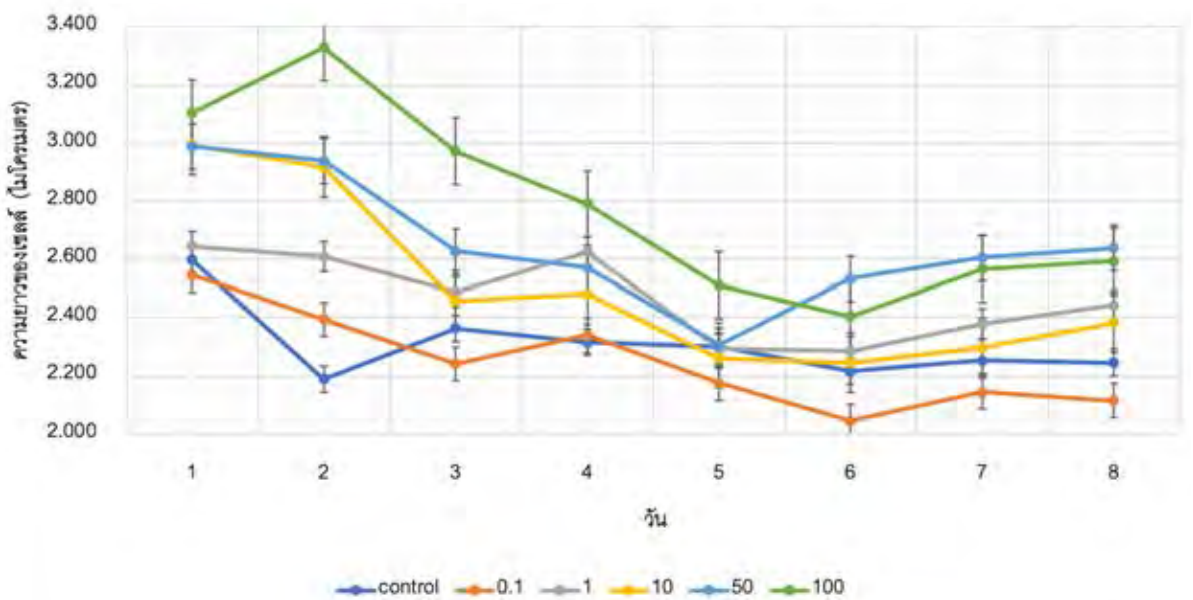
โดยเมื่อคิดอัตราส่วนขนาดความกว้างของเซลล์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเทียบกับกับชุดควบคุมพบว่า *Scenedesmus* sp. ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ ขนาดของเซลล์เฉลี่ยไม่ได้มีค่าแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่ายมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 16)

ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



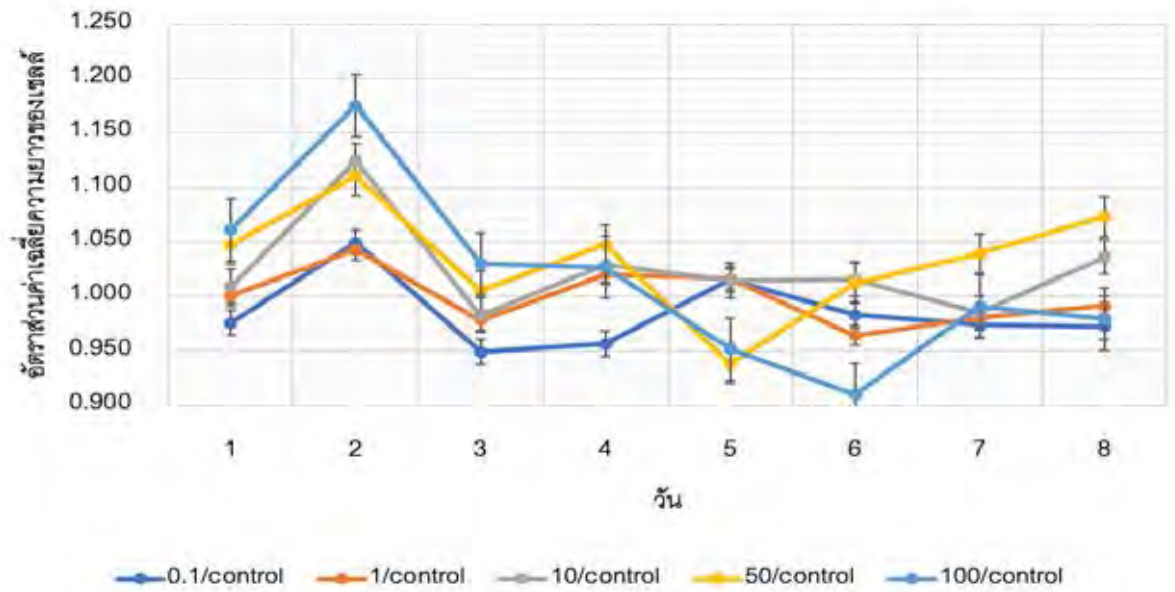
ภาพที่ 13 ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



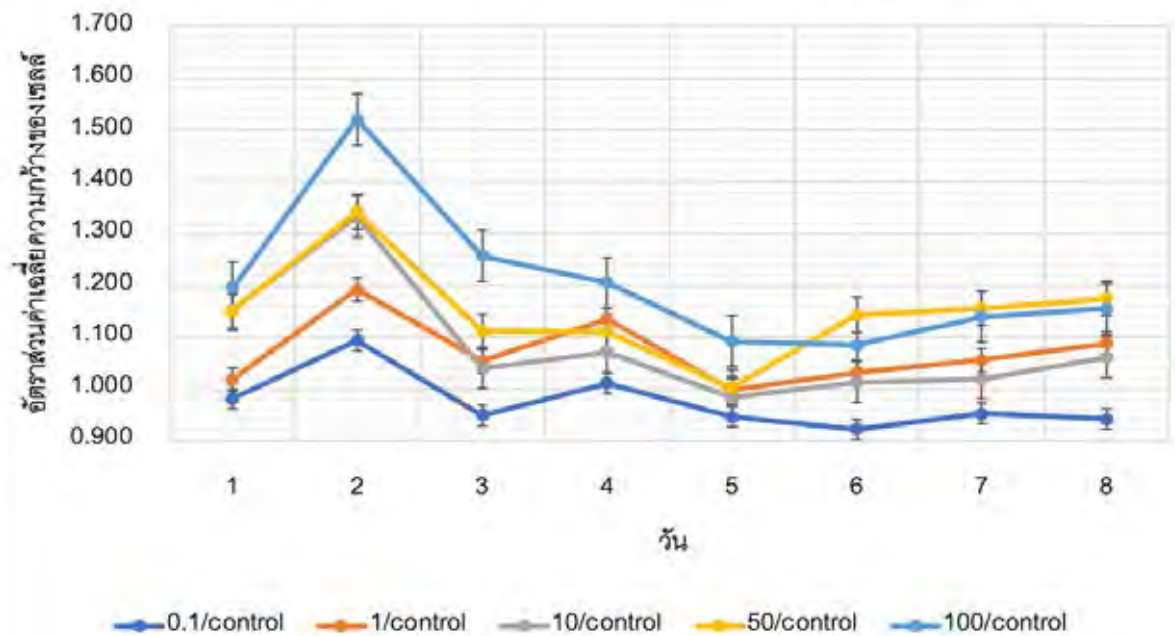
ภาพที่ 14 ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของ *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

อัตราส่วนขนาดความยาวเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

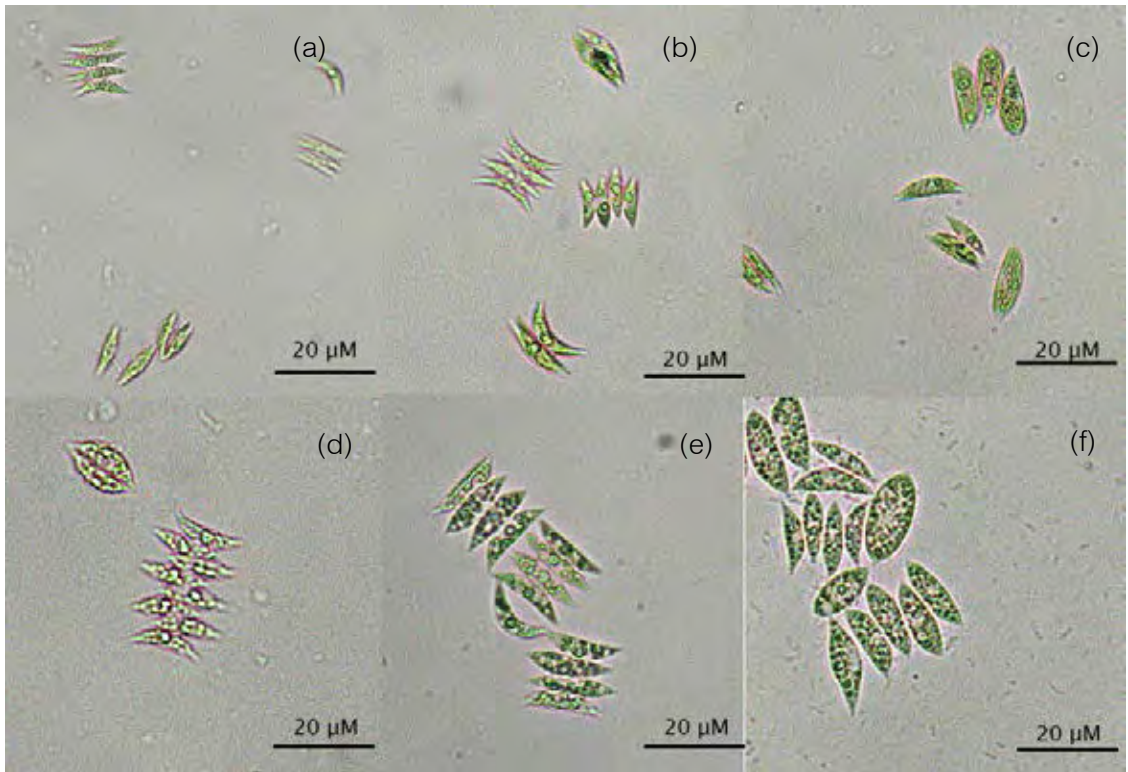


ภาพที่ 15 อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน

อัตราส่วนขนาดความกว้างเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. เมื่อเทียบกับชุดควบคุม



ภาพที่ 16 อัตราส่วนความกว้างเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 8 วัน



ภาพที่ 17 ขนาดของเซลล์สาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์

- (a) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0 ไมโครโมลาร์ (ชุดควบคุม)
- (b) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1 ไมโครโมลาร์
- (c) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1.0 ไมโครโมลาร์
- (d) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10.0 ไมโครโมลาร์
- (e) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 50.0 ไมโครโมลาร์
- (f) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ จะสังเกตเห็นได้ว่าขนาดของเซลล์มีขนาดความกว้างที่ใหญ่มากกว่าชุดควบคุมและความเข้มข้นของออกซินอื่น

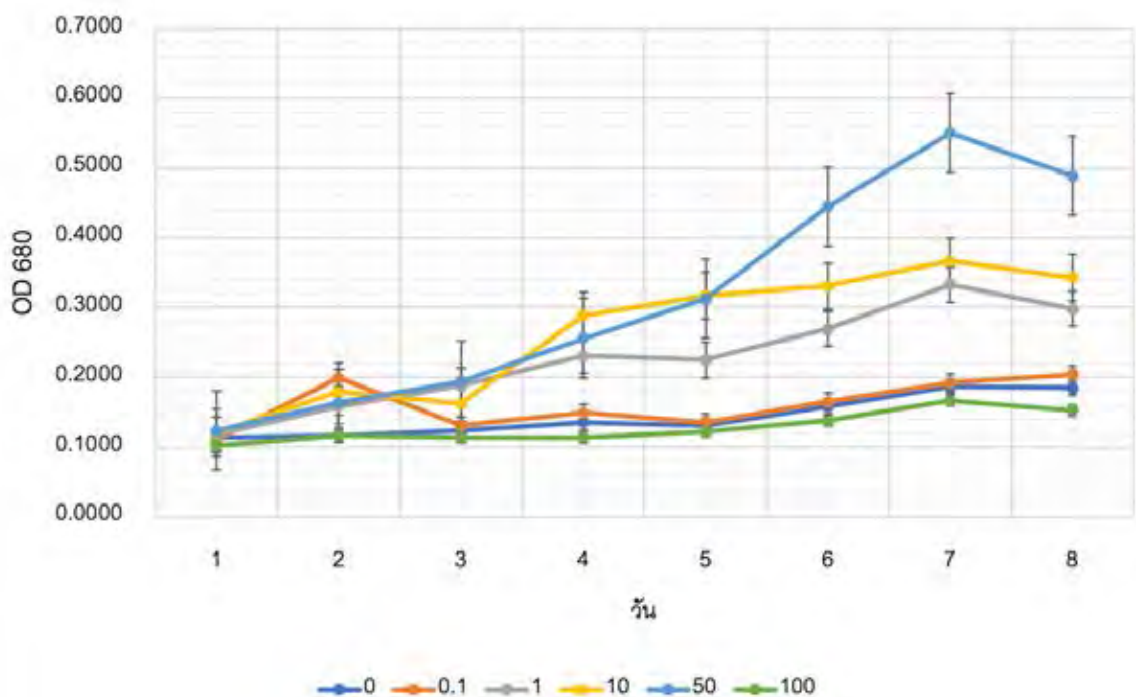
#### 4.3. ผลของออกซินต่อค่าการดูดกลืนแสงสี(Optical Density: OD680) ของ *Scenedesmus* sp.

จากการบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารและสาหร่ายที่เปลี่ยนแปลงไป เมื่อมีการทดสอบออกซินในความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 8 วัน ตลอดระยะเวลาการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ที่ชุดควบคุมค่า OD 680 เริ่มสูงขึ้นและมีการคงที่ในช่วงวันที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1310 \pm 0.0077$  ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 0.1 ไมโครโมลาร์ การเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสงสีมีค่าเริ่มคงที่ในวันที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1354 \pm 0.0083$  ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1 ไมโครโมลาร์ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มสูงขึ้นในวันที่ 4 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2307 \pm 0.0324$  และมีการเริ่มสูงขึ้นอีกครั้งในวันที่ 6 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2695 \pm 0.0309$  ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 8 ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10.0 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีการคงที่ในวันที่ 4 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ



0.2884 ± 0.0804 และมีการลดลงอีกครั้งในวันที่ 8 ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 50.0 เริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1944 ± 0.0220 ถึงวันที่ 7 ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 8 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.4886 ± 0.0768 และที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 3 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1131 ± 0.0074 ถึงวันที่ 7 ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 8 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.1527 ± 0.0312 และสิ่งที่สังเกตได้จากอาหารเลี้ยงสาหร่ายในความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าอาหารในความเข้มข้นนี้เริ่มมีสีน้ำตาลอ่อนในช่วงวันที่ 5 และแนวโน้มของมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นขึ้นในวันต่อไป (ภาพที่ 18)

ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp.



ภาพที่ 18 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

## 5. ผลของออกซินต่อสาหร่าย *Klebsormidium* sp.

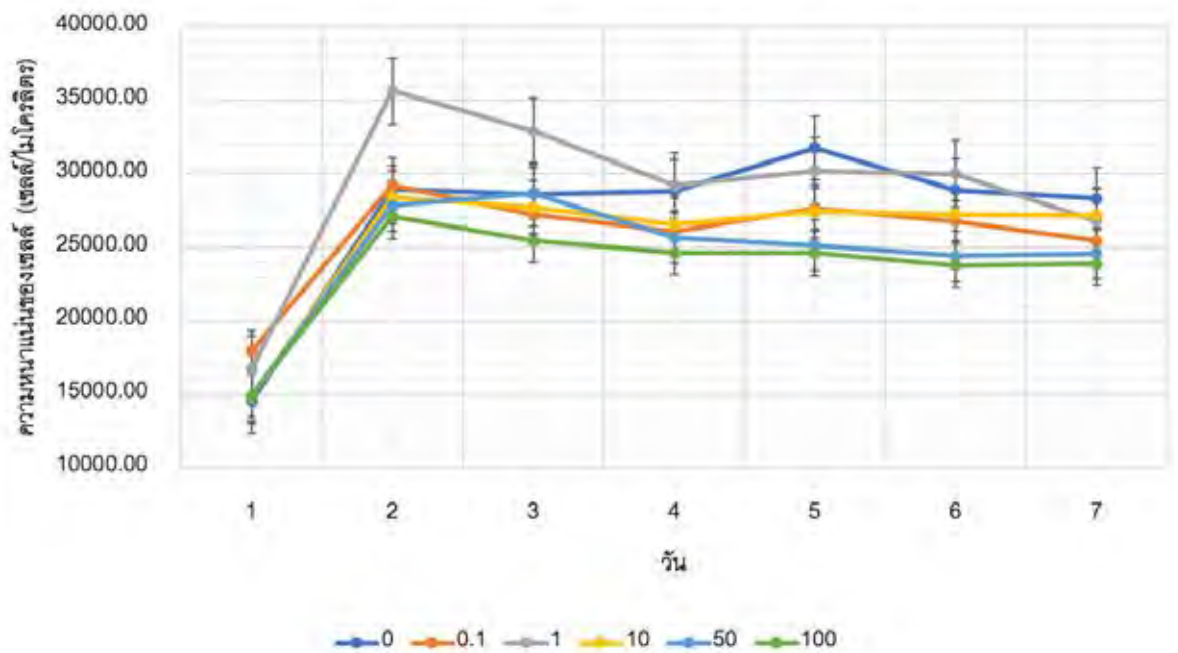
### 5.1. ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Klebsormidium* sp.

จากการศึกษาผลของออกซินที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. โดยบันทึกค่าความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันเป็นระยะเวลา 7 วัน จนความหนาแน่นของสาหร่ายเข้าสู่ช่วง stationary phase ผลการศึกษาพบว่า ในทุกชุดการทดลอง *Klebsormidium* sp. มีความหนาแน่นเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 1 ถึง 2 หลังจากนั้นสาหร่ายจะมีความหนาแน่นมีแนวโน้มลดลงที่ในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซินและในชุดการทดลองที่มีออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ก่อนที่ความหนาแน่นของทุกชุดการทดลองของสาหร่ายจะเข้าสู่ช่วง stationary phase ในวันที่ 4 ของการทดลอง

ในช่วง stationary phase ชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมออกซิน *Klebsormidium* sp. มีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $28854.17 \pm 1361.85$  เซลล์ต่อไมโครลิตร และที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *Klebsormidium* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์ในช่วง stationary phase เท่ากับ  $26093.75 \pm 1625.55$ ,  $29208.33 \pm 4461.11$ ,  $26583.33 \pm 2510.96$ ,  $25645.83 \pm 3237.67$  และ  $24635.42 \pm 2978.36$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 19)

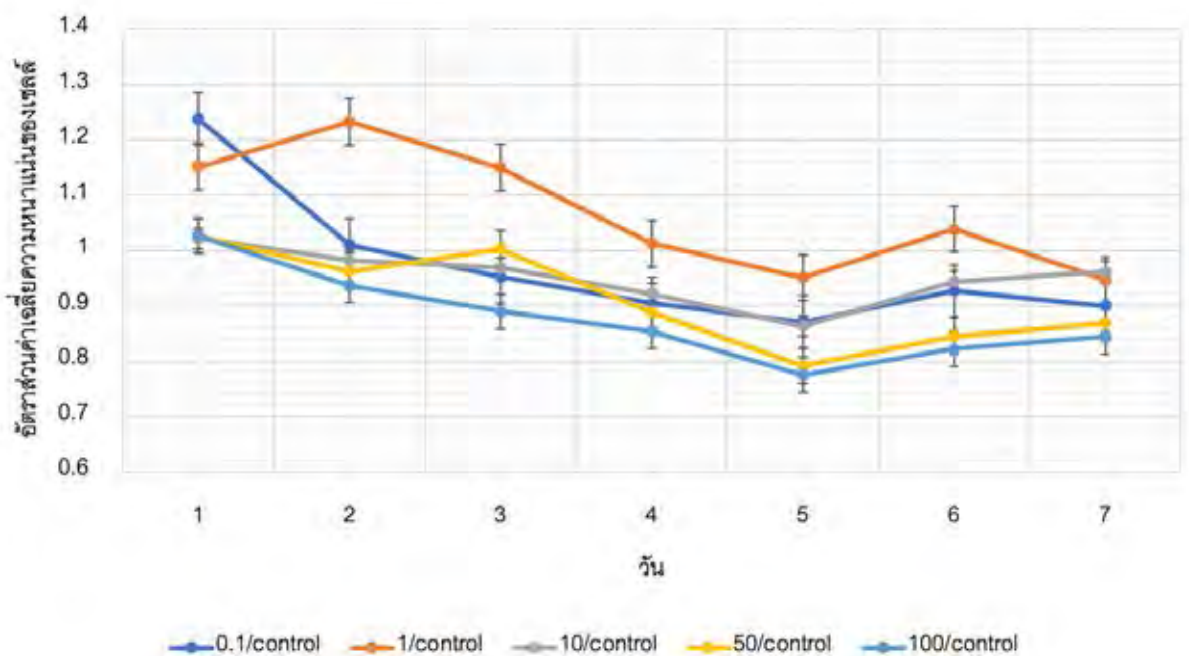
จากการคิดอัตราส่วนความหนาแน่นของเซลล์ในความเข้มข้นของออกซินต่าง ๆ ต่อชุดควบคุมเพื่อศึกษาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความหนาแน่นต่อชุดควบคุม พบว่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1, 10.0, 50.0, 100.0 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มลดลงของความหนาแน่นของเซลล์ลดลงจากชุดควบคุม แต่ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่าย *Klebsormidium* sp. มีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงกว่าในชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) คิดเป็น 1.149 เท่า (ภาพที่ 20)

ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



ภาพที่ 19 ความหนาแน่นเฉลี่ยของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



ภาพที่ 20 อัตราส่วนความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์สาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน

## 5.2. ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Klebsormidium* sp.

จากการวัดที่ความยาวและความกว้างของเซลล์ *Klebsormidium* sp. ตลอดระยะเวลา 7 วันในช่วงที่ทำการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ในวันที่ 4 ของการทดลองซึ่งความหนาแน่นของสาหร่ายในทุกชุดการทดลองเข้าสู่ stationary phase

สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $4.59 \pm 1.03$ ,  $4.18 \pm 1.05$ ,  $4.73 \pm 1.37$ ,  $5.57 \pm 0.73$ ,  $5.89 \pm 1.18$  และ  $6.09 \pm 1.78$  ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 21)

อย่างไรก็ตาม ขนาดความยาวเฉลี่ยของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 7 วันของการทดลองโดย สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความยาวเฉลี่ยของเซลล์ใหญ่ที่สุดในวันที่ 1 ( $4.77 \pm 1.09$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $5.23 \pm 1.23$  ไมโครเมตร), วันที่ 2 ( $5.46 \pm 0.98$  ไมโครเมตร), วันที่ 7 ( $5.77 \pm 1.30$  ไมโครเมตร), วันที่ 3 ( $6.48 \pm 1.44$  ไมโครเมตร) และ วันที่ 3 ( $6.48 \pm 1.44$  ไมโครเมตร) ตามลำดับ

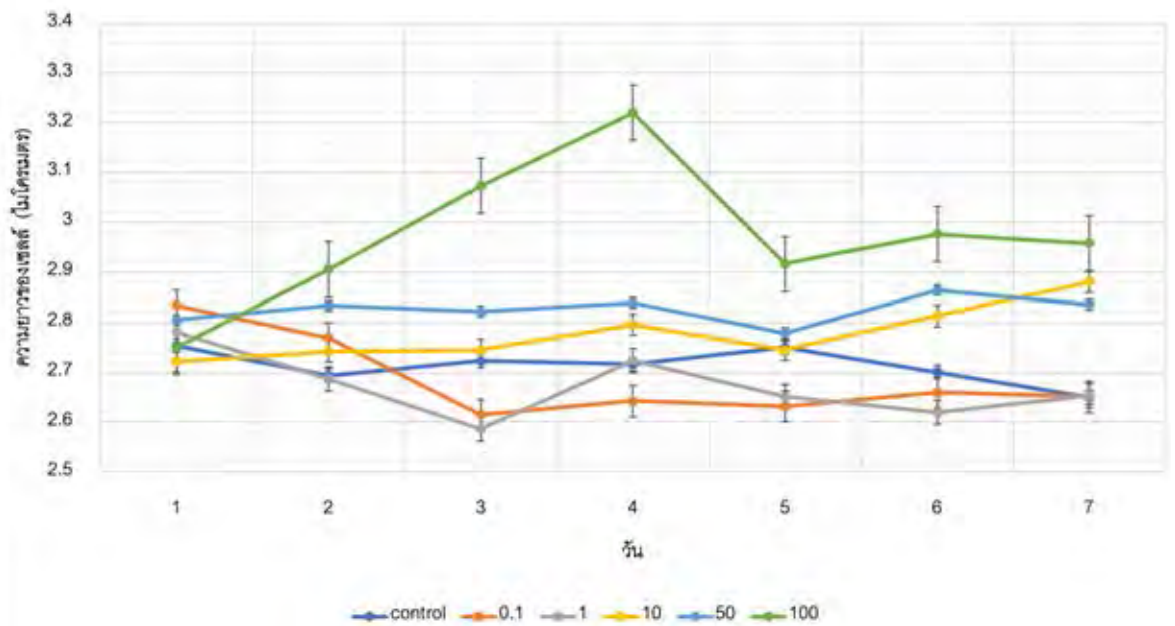
โดยเมื่อคิดอัตราส่วนขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเทียบกับกับชุดควบคุมพบว่า *Scenedesmus* sp. ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ ขนาดของเซลล์เฉลี่ยไม่ได้มีค่าแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่ายมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าชุดควบคุม ( $P < 0.05$ )

สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0, และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความกว้างของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $2.717 \pm 0.224$ ,  $2.64 \pm 0.27$ ,  $2.72 \pm 0.20$ ,  $2.79 \pm 0.23$ ,  $2.83 \pm 0.26$  และ  $3.22 \pm 0.20$  ไมโครเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 21)

อย่างไรก็ตาม ขนาดความกว้างเฉลี่ยของสาหร่ายในแต่ละชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงในช่วง 7 วันของการทดลองโดย สาหร่ายในชุดควบคุม และในชุดการทดลองที่มีความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีขนาดความกว้างเฉลี่ยของเซลล์ใหญ่ที่สุดในวันที่ 1 ( $2.75 \pm 0.28$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.83 \pm 0.24$  ไมโครเมตร), วันที่ 1 ( $2.78 \pm 0.23$  ไมโครเมตร), วันที่ 7 ( $2.88 \pm 0.32$  ไมโครเมตร), วันที่ 6 ( $2.86 \pm 0.29$  ไมโครเมตร) และ วันที่ 4 ( $3.22 \pm 0.20$  ไมโครเมตร) ตามลำดับ

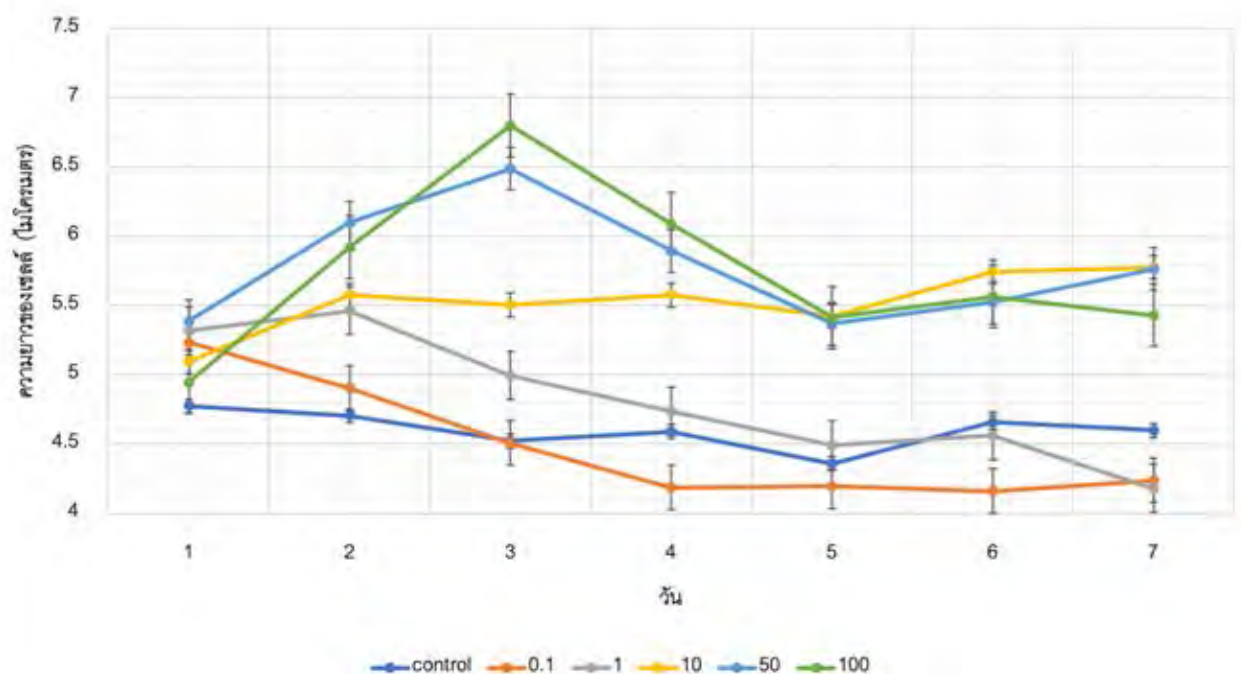
โดยเมื่อคิดอัตราส่วนขนาดความกว้างของเซลล์เฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองเทียบกับกับชุดควบคุมพบว่า *Klebsormidium* sp. ที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ ขนาดของเซลล์เฉลี่ยไม่ได้มีค่าแตกต่างจากชุดควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ในขณะที่ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ สาหร่ายมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าชุดควบคุม ( $p < 0.05$ ) (ภาพที่ 22)

ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป

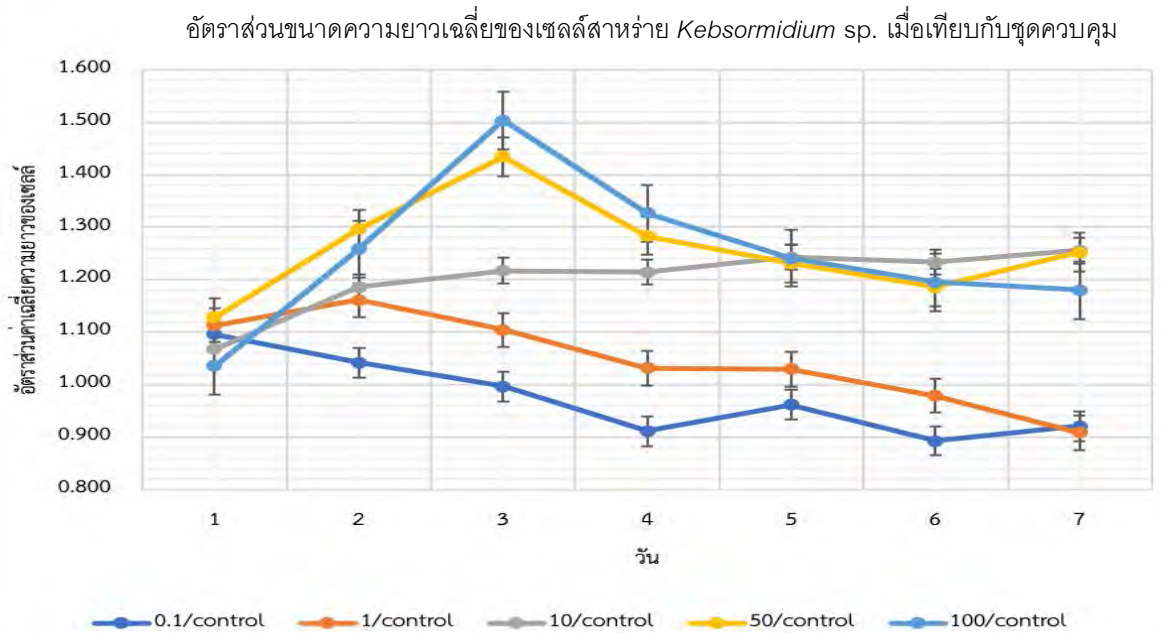


ภาพที่ 21 ขนาดความยาวเซลล์เฉลี่ยของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

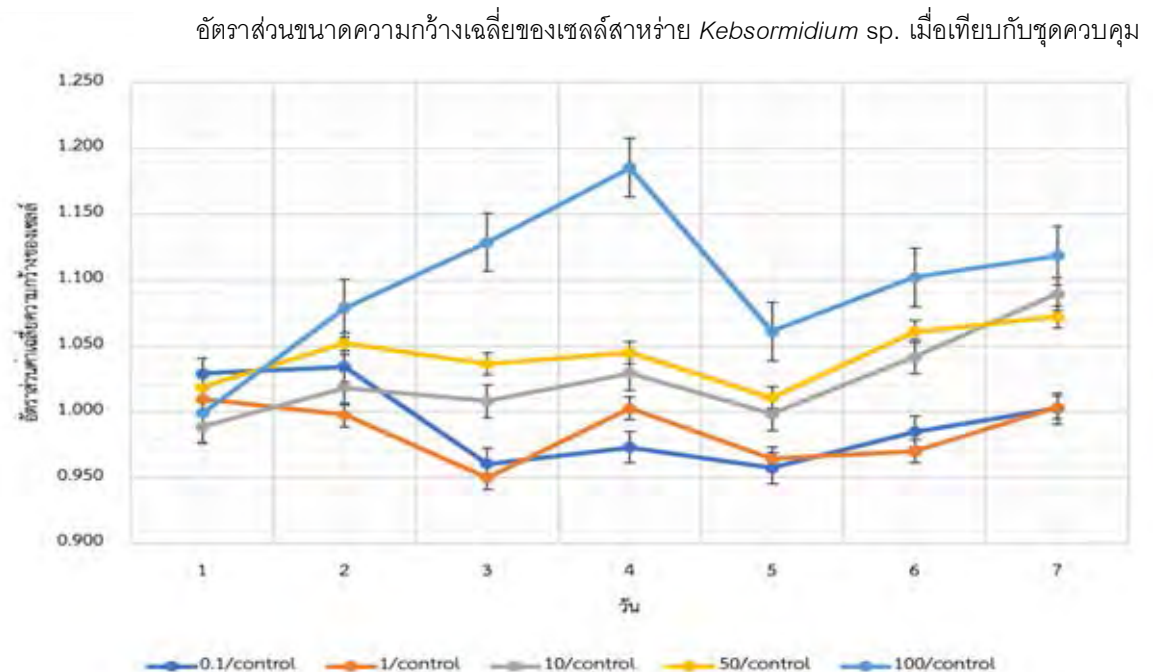
ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เปลี่ยนแปลงไป



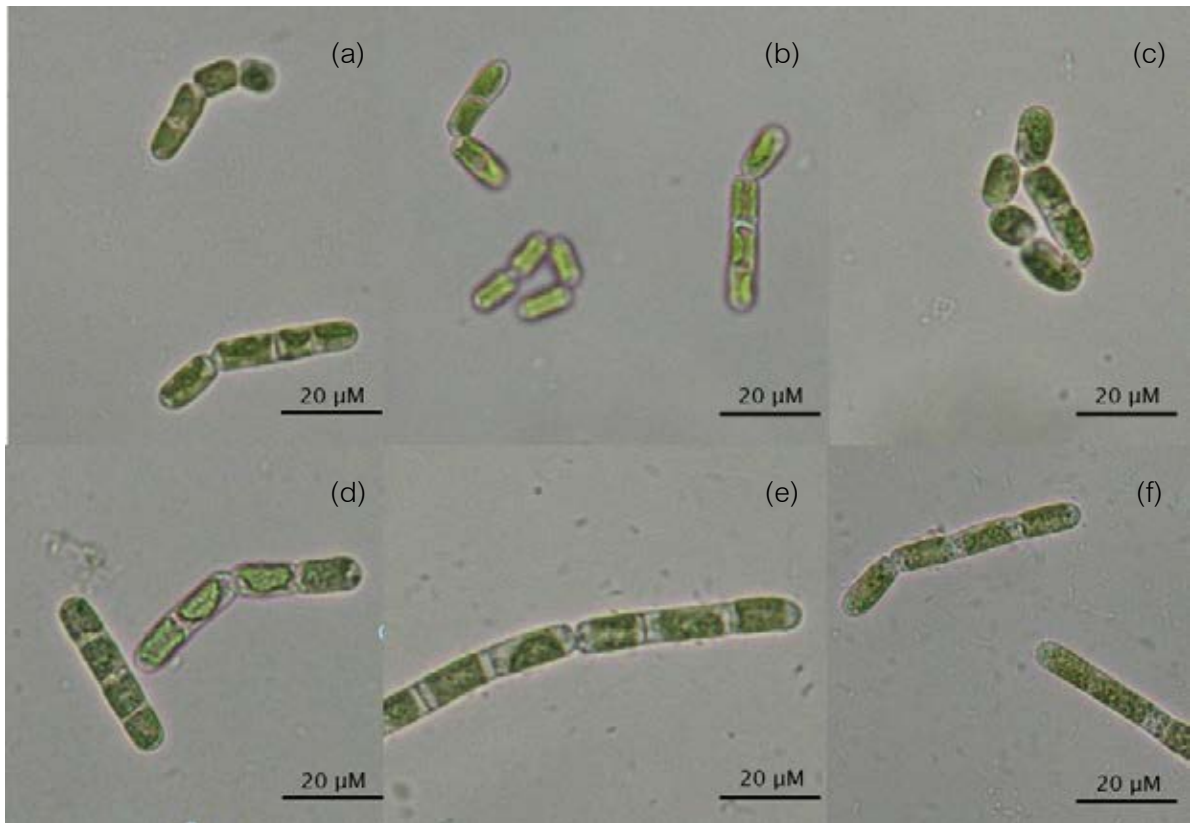
ภาพที่ 22 ขนาดความกว้างเซลล์เฉลี่ยของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน



ภาพที่ 23 อัตราส่วนความยาวเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน



ภาพที่ 24 อัตราส่วนความกว้างเฉลี่ยของเซลล์สำหรับ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุมในระยะเวลา 7 วัน



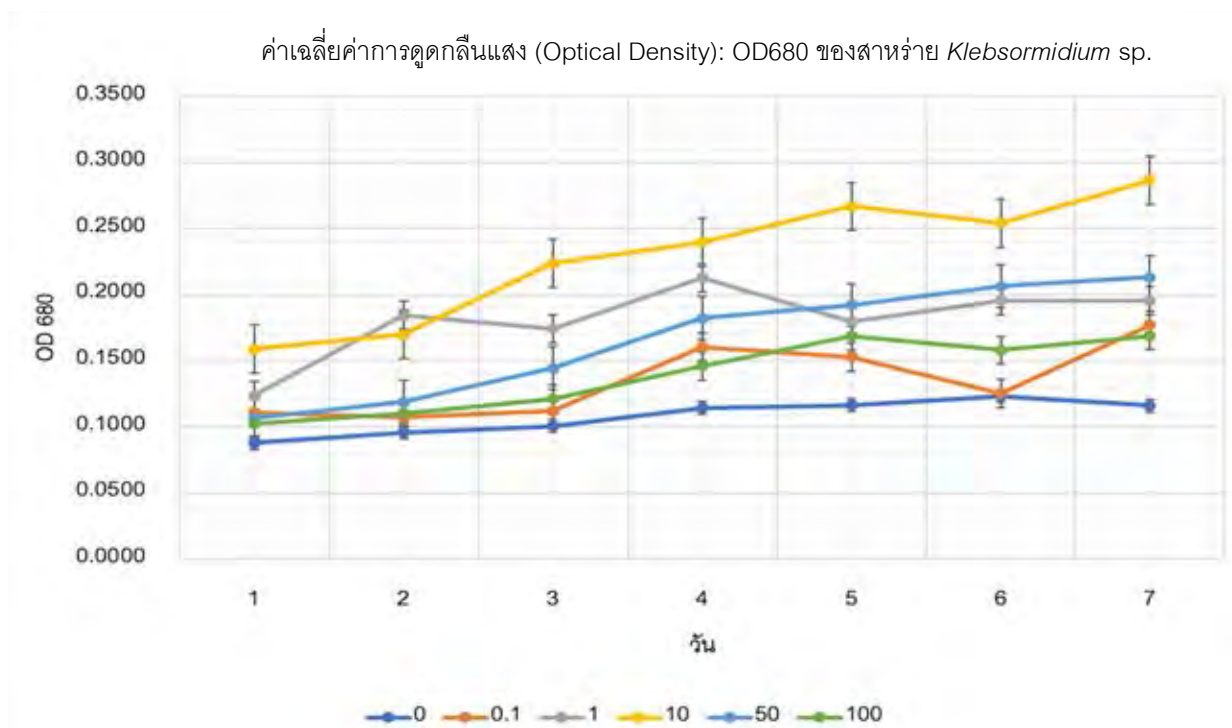
ภาพที่ 25 ขนาดของเซลล์สาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิน ความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์

- (a) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0 ไมโครโมลาร์ (ชุดควบคุม)
- (b) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 0.1 ไมโครโมลาร์
- (c) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1.0 ไมโครโมลาร์
- (d) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10.0 ไมโครโมลาร์
- (e) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 50.0 ไมโครโมลาร์
- (f) ขนาดของเซลล์ที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์

### 5.3. ผลของออกซินต่อค่าการดูดกลืนแสงสี(Optical Density: OD680) ของ *Klebsormidium* sp.

จากการบันทึกค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อดูการเปลี่ยนแปลงสีของอาหารและสาหร่ายที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการทดสอบออกซินในความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 7 วัน ตลอดระยะการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ที่ชุดควบคุมค่า OD 680 เริ่มสูงขึ้นและมีการคงที่ในช่วงวันที่ 4 โดยมีค่าเท่ากับ  $0.1164 \pm 0.0068$  ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 0.1 ไมโครโมลาร์ การเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสงสีมีค่าเริ่มมีค่าสูงขึ้นในวันที่ 3 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1119 \pm 0.0153$  และเริ่มมีแนวโน้มลดลงในวันที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1529 \pm 0.0992$  ก่อนจะกลับไปสูงอีกครั้งในวันที่ 7 ที่ความเข้มข้นของออกซิน 1 ไมโครโมลาร์ ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มสูงขึ้นในวันที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1841 \pm 0.1060$  และมีการเริ่มสูงขึ้นอีกครั้งในวันที่ 4 โดยมี

ค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.2127 \pm 0.0999$  ก่อนจะมีการลดลงในวันที่ 5 ที่ความเข้มข้นของออกซิน 10 ไมโครโมลาร์ มีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1698 \pm 0.0455$  ที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 50 เริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1189 \pm 0.0082$  และจากการสังเกตอาหารเลี้ยงสาหร่ายในความเข้มข้นของออกซิน 50.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าอาหารในความเข้มข้นนี้เริ่มมีสีน้ำตาลอ่อนในช่วงวันที่ 3 และแนวโน้มของมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นขึ้นในวันต่อไปและที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ เริ่มมีแนวโน้มสูงขึ้นในวันที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $0.1103 \pm 0.0067$  โดยจากการสังเกตอาหารเลี้ยงสาหร่ายในความเข้มข้นของออกซิน 100.0 ไมโครโมลาร์ พบว่าอาหารในความเข้มข้นนี้เริ่มมีสีน้ำตาลอ่อนในช่วงวันที่ 2 และแนวโน้มของมีสีน้ำตาลเข้มขึ้นขึ้นในวันต่อไป (ภาพที่ 26)



ภาพที่ 26 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน



## บทที่ 5

### อภิปรายผลการทดลอง

#### 1. การระบุชนิดของสาหร่าย

จากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีการทางอณูวิทยาศาสตร์ระบุชนิดของสาหร่ายได้หนึ่ง ชนิด คือ *Chlorella vulgaris* และสามารถระบุสกุลของสาหร่ายได้สองสกุล คือ *Scenedesmus* และ *Klebsormidium* อย่างไรก็ตามไม่สามารถระบุชนิดของสาหร่ายในสกุล *Scenedesmus* และ *Klebsormidium* ได้เนื่องจากข้อจำกัดของข้อมูลในฐานข้อมูล

#### 2. ผลของออกซินต่อสาหร่าย

##### 2.1 ผลของออกซินต่อ *Chlorella vulgaris*

##### 2.1.1 ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Chlorella vulgaris*

จากการศึกษาผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Chlorella vulgaris* พบว่าในช่วงวันที่ 1 ถึง วันที่ 7 ความเข้มข้นของออกซินที่ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของ *C. vulgaris* ในช่วงวันที่ 1 ถึง วันที่ 7 สูงกว่าชุดควบคุม โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $26960.00 \pm 8500.48$  และ  $39920.00 \pm 16572.38$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ก่อนที่ความหนาแน่นของเซลล์จะลดลงและเข้าสู่การเติบโตในช่วง stationary phase ในช่วงวันที่ 8 และทำให้ความหนาแน่นของ *C. vulgaris* เท่ากับ  $26466.67 \pm 6753.23$  และ  $24233.33 \pm 4947.26$  เซลล์ต่อไมโครลิตร คิดเป็น 0.682 และ 0.625 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ

เมื่อระยะเวลาผ่านไป 14 วัน ความเข้มข้นของออกซินที่ 10.0 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของ *C. vulgaris* มีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $95833.33 \pm 12284.43$  และ  $93550.00 \pm 8765.98$  เซลล์ต่อไมโครลิตร คิดเป็น 1.807 และ 1.713 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ

##### 2.1.2 ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Chlorella vulgaris*

ออกซินมีผลต่อขนาดเซลล์ของ *C. vulgaris* โดยเทียบกับชุดควบคุม ในช่วงต้นของการทดลอง ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 100.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้เซลล์มีขนาดใหญ่ที่สุดซึ่งเท่ากับ  $6.06 \pm 1.10$  ไมโครเมตร รองลงมาคือที่ความเข้มข้นของออกซินเท่ากับ 50.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้เซลล์มีขนาดเท่ากับ  $5.33 \pm 0.84$  ไมโครเมตร ที่ 10.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้เซลล์มีขนาดเท่ากับ  $5.12 \pm 0.79$  ไมโครเมตร และที่ 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้เซลล์มีขนาดเท่ากับ  $4.92 \pm 0.78$  ไมโครเมตร ออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 ไมโครโมลาร์ไม่ได้ทำให้เซลล์มีขนาดต่างจากในชุดควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อ *C. vulgaris* มีอัตราการแบ่งเซลล์อยู่ในช่วง stationary phase ขนาดของขนาดของเซลล์ของสาหร่าย *C. vulgaris* จะมีแนวโน้มลดลงในชุดความเข้มข้นของออกซิน

จากผลการศึกษาดังต้นจะเห็นว่าความเข้มข้นของออกซินสูงส่งผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ของ *C. vulgaris* และส่งผลให้เซลล์ของ *C. vulgaris* มีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Liu และคณะ (2016); Duncan และคณะ (2010) ที่พบตัวรับออกซิน ABP1

ใน *Chlorella* NC64A และผลการศึกษาของ Ozioko และคณะ (2015) ซึ่งพบว่าสาหร่าย *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 จะมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ลดลงและมีขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีออกซิน IAA ซึ่งเป็นผลมาจากการที่เซลล์ของสาหร่ายสูญเสียความสามารถในการแบ่งเซลล์เนื่องจากเซลล์จะต้องใช้พลังงานในการขับโปรตอนออกจากเซลล์เพื่อรักษาสมดุลของไอออนในสภาวะที่มีปริมาณออกซินที่มากเกินไป (Rayle and Cleland, 1992) ดังเช่นในการศึกษาที่ *C. vulgaris* มีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ต่ำกว่าในชุดควบคุมเมื่อได้รับออกซินความเข้มข้นเท่ากับ 50 และ 100 ไมโครโมลาร์

## 2.2 ผลของออกซินต่อ *Scenedesmus* sp.

### 2.2.1 ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

จากผลการศึกษาผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Scenedesmus* sp. พบว่าที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 10.0 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม เมื่อระยะเวลาผ่านไป 8 วัน โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $10770.83 \pm 405.34$  และ  $10989.58 \pm 444.21$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้การเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในช่วงวันที่ 1 ถึง วันที่ 5 และวันที่ 1 ถึง วันที่ 3 สูงกว่าชุดควบคุมตามลำดับ โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $11760.42 \pm 865.14$  และ  $11343.75 \pm 1021.26$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ก่อนที่ความหนาแน่นของเซลล์จะลดลงและเข้าสู่การเติบโตในช่วง stationary phase ในช่วงวันที่ 6 และวันที่ 4 ตามลำดับ ความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $9343.75 \pm 789.00$  และ  $9166.67 \pm 424.17$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของออกซินที่ 0.1 ไมโครโมลาร์ การเจริญเติบโตของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ไม่ได้มีความแตกต่างจากชุดควบคุม

เมื่อระยะเวลาผ่านไป 8 วัน ความเข้มข้นของออกซินที่ 10.0 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $10770.83 \pm 405.34$  และ  $10989.58 \pm 444.21$  เซลล์ต่อไมโครลิตร คิดเป็น 1.278 และ 1.289 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ

### 2.2.2 ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Scenedesmus* sp.

ขนาดของเซลล์ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. มีการเปลี่ยนแปลงไปในช่วงที่ทำการศึกษาทดลอง โดยเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนค่าเฉลี่ยความยาวของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของออกซินในทุกความเข้มข้นไม่ได้ส่งผลต่อขนาดความยาวของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ในแต่ละความเข้มข้นในแต่ละวัน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับความกว้างพบว่าที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 และ 50.0 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อความกว้างของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีความกว้างสูงสุดที่  $3.33 \pm 0.42$  และ  $2.99 \pm 0.66$  ไมโครเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ความกว้างที่เกิดขึ้นในแต่ละความเข้มข้นของออกซินที่เหลือไม่ได้มีความแตกต่างจากชุดควบคุม

จากผลการทดลองการตอบสนองของออกซินต่อขนาดเซลล์และความหนาแน่นของ *Scenedesmus* sp. ดังกล่าวจะเห็นว่าความเข้มข้นของออกซินสูงขึ้นส่งผลให้เซลล์ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp. ให้มีขนาดใหญ่ขึ้น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Fabian et al. ในปี 2015 ซึ่งพบว่าสาหร่าย *Scenedesmus* sp. LX1 มีขนาดเซลล์ใหญ่ขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีออกซิน โดยขนาดของเซลล์ที่ใหญ่ขึ้นนี้อาจจะเป็นผลมาจากการที่ออกซินที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมช่วยให้เกิดการกระตุ้นการผลิตและสะสมกรดไขมัน (FAMES) และ จากการศึกษาของ Kozlova และคณะ (2017) ออกซิน IAA ถูกพบว่าเป็นหนึ่งใน phytohormones ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับการกระตุ้นการเติบโตของ *Scenedesmus quadricauda* และการสังเคราะห์ทางชีวภาพ และมีความสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าซึ่งรายงานว่า IAA มีความสามารถในการเหนี่ยวนำของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และผลผลิตชีวมวลของคลอโรฟิลล์ และการสังเคราะห์กรดไขมัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Liu et al. ในปี 2016 แสดงให้เห็นถึงการเหนี่ยวนำการเติบโตของ *Scenedesmus quadricauda* และการผลิตมวลชีวภาพที่มีความเข้มข้น IAA สูงมาก (228 และ 342 ไมโครโมลาร์) ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากการทดลองในครั้งนี้ เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นความหนาแน่นของเซลล์ลดลง แต่ขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น ซึ่งความแตกต่างที่สำคัญดังกล่าวน่าจะเป็นผลมาจากสภาพการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันและที่สำคัญที่สุด คือการรวมตัวกันของสารสื่อการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เป็นที่ทราบกันดีว่าการดูดซึมของสารประกอบรวมถึงฮอร์โมนที่ละลายในน้ำนั้น ขึ้นอยู่กับลักษณะทางเคมีของน้ำ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการแข่งขันกันระหว่างไอออน สำหรับการแพร่ของไอออน ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของสาหร่ายหรือความสามารถในการจับกับโมเลกุลของเยื่อหุ้มเซลล์ของสาหร่าย ยิ่งไปกว่านั้นการที่มีน้ำมาเกี่ยวข้อง ออกซินอาจเปลี่ยนแปลงการซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ของสาหร่าย เนื่องจากออกซินมีความสามารถกระตุ้นการทำงานของตัวปั๊มโปรตอนที่เรียกว่า ATPase ในเยื่อหุ้มเซลล์ได้ (Rober-Kleber et al., 2003 and Perrot-Rechenmann, 2010) ทำให้สาหร่าย *Scenedesmus* sp. สามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยออกซินได้ ส่งผลให้เซลล์ยืดยาวตามกลไกการแสดงออกของออกซินที่ปรากฏในพืชบก แต่กลไกการตอบสนองต่อออกซินก็ไม่ใช่ที่ทราบอย่างแน่ชัด

## 2.3 ผลของออกซินต่อ *Klebsormidium* sp.

### 2.3.1 ผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Klebsormidium* sp.

จากการศึกษาผลของออกซินต่ออัตราการแบ่งเซลล์ของ *Klebsormidium* sp. พบว่าในวันที่ 3 ความเข้มข้นของออกซินที่ 1.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. สูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $32906.25 \pm 4398.52$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้นของออกซินที่ 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้การเติบโตของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ลดลง โดยความหนาแน่นของเซลล์ลดลงในช่วงวันที่ 3 และเข้าสู่การเติบโตในช่วง stationary phase ในช่วงวันที่ 4 ซึ่งความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $26583.33 \pm 2510.96$ ,  $25645.83 \pm 3237.67$  และ  $24635.42 \pm 2978.36$  เซลล์ต่อไมโครลิตร ตามลำดับ

เมื่อระยะเวลาผ่านไป 7 วัน ความเข้มข้นของออกซินที่ 1 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. มีค่าสูงสุดเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความหนาแน่นของเซลล์เฉลี่ยเท่ากับ  $32906.25 \pm 4398.52$  เซลล์ต่อไมโครลิตร คิดเป็น 1.232 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในทางตรงกันข้ามและความเข้มข้นของออกซินที่ 0.1, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของสาหร่ายลดลง โดยมีอัตราส่วนความหนาแน่นของเซลล์เมื่อเทียบกับชุดควบคุมเท่ากับ 0.904, 0.921, 0.889 และ 0.854 เท่า ตามลำดับ

### 2.3.2 ผลของออกซินต่อขนาดเซลล์ของ *Klebsormidium* sp.

ขนาดของเซลล์ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. มีการเปลี่ยนแปลงไปในช่วงที่ทำการทดลอง โดยเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนค่าเฉลี่ยความยาวของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของออกซินในทุกความเข้มข้นไม่ได้ส่งผลต่อขนาดของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ในแต่ละความเข้มข้นในแต่ละวัน โดยเปรียบเทียบจากความยาวและความกว้างของเซลล์ พบว่าที่ความเข้มข้นของออกซิน 100.0 และ 50.0 ไมโครโมลาร์ มีผลต่อความยาวและความกว้างของเซลล์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีความยาวสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ  $6.80 \pm 2.73$  และ  $6.49 \pm 1.44$  ไมโครเมตร ส่วนความกว้างที่สูงที่สุดมีค่าเท่ากับ  $2.84 \pm 0.27$  และ  $3.22 \pm 0.20$  ไมโครเมตรตามลำดับ

จากผลการทดลองการตอบสนองของออกซินต่อความหนาแน่นของเซลล์ *Klebsormidium* sp. พบว่าความเข้มข้นของออกซินสูงขึ้นไปส่งผลต่อความหนาแน่นของเซลล์จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของออกซินสูงขึ้นไปทำให้ความหนาแน่นเฉลี่ยของเซลล์น้อยกว่าชุดควบคุม โดยจากการศึกษาของ Ohtaka และคณะ (2017) ได้กล่าวไว้ว่า IAA ภายนอกยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยึดตัวของเซลล์และควบคุมการแสดงออกของยีนใน *Klebsormidium nitens* ซึ่งนั่นเป็นผลมาจากความเข้มข้นของออกซิน และชนิดของออกซิน การยับยั้งการเจริญเติบโตขึ้นอยู่กับความเข้มข้นโดย IAA มีการรายงานว่าในการตอบสนองของออกซินของไบโอฟิล์ม ยกตัวอย่าง เช่นในมอสชนิด *P. patens* การเจริญเติบโตของ metophore ถูกยับยั้งโดยการปรากฏของออกซินออกซินและการเพิ่มความเข้มข้นออกซินทำให้เกิดฟิโนไทป์ที่รุนแรงมากขึ้น เป็นการแสดงให้เห็นว่าการตอบสนองต่อออกซินของสาหร่ายในสกุลเดียวกัน และนอกจากนี้ยังมีการกล่าวอีกว่า *Klebsormidium nitens* ไม่มีการปรากฏกลไกการทำงานของ Aux/IAA-ARF จึงยังไม่แน่ชัดว่ากลไกการส่งสัญญาณส่งผลกระทบต่อการทำงานของ *Klebsormidium nitens* อย่างไร (Ashton et al., 1979; Jang and Dolan, 2011; Bennett et al., 2014)

จากการทดลองออกซินต่อการตอบสนองต่อสาหร่ายทั้งสามชนิดพบว่าออกซินมีส่วนในการแบ่งเซลล์โดยสังเกตจากความหนาแน่นของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละวันจนถึงวันที่ความหนาแน่นของเซลล์สาหร่ายทั้งสามชนิดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก และส่งผลต่อการยืดขยายขนาดของเซลล์ โดยที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปจะส่งผลให้มีการขยายขนาดของเซลล์สูงขึ้น ถึงแม้ว่าออกซินจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์ และการยึดตัวของเซลล์นั้น จากการวิเคราะห์ทรานสคริปโตมิกส์ของสาหร่ายสกุลดังกล่าว โดยใช้ฐานข้อมูลที่มีอยู่เป็นแหล่งอ้างอิง พบว่าสาหร่ายสกุลดังกล่าวไม่ได้มี

โปรตีน ที่ทำหน้าที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนออกซินเช่นเดียวกับพืช ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าสาหร่ายสีเขียวและพืชมีกระบวนการตอบสนองต่อออกซินที่แตกต่างกัน

## บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา

### 1. การระบุชนิดของสาหร่าย

จากการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีการทางอนุวิทยาสามารถระบุชนิดของสาหร่ายได้หนึ่ง ชนิด คือ *Chlorella vulgaris* และสามารถระบุสกุลของสาหร่ายได้ได้สองสกุล คือ *Scenedesmus* และ *Klebsormidium*

### 2. ผลของออกซินต่อสาหร่าย

จากการศึกษานี้พบว่าออกซินมีผลต่ออัตราการแบ่งเซลล์และขนาดของสาหร่าย *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. และ *Klebsormidium* sp. ความเข้มข้นของออกซินที่สูงมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์และความเข้มข้นของออกซินที่ต่ำจะส่งเสริมการแบ่งเซลล์ของเซลล์สาหร่าย ความเข้มข้นของออกซินที่ทำให้อัตราการแบ่งเซลล์ของ *Chlorella vulgaris* มีค่าสูงที่สุดคือที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ *Scenedesmus* sp. คือที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 และ 10.0 ไมโครโมลาร์ และ *Klebsormidium* sp. คือที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.0 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ออกซินที่ความเข้มข้นเท่ากับ 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้สาหร่ายทั้งสามชนิดมีอัตราการแบ่งเซลล์ที่ต่ำและทำให้สาหร่ายมีขนาดเซลล์ที่ใหญ่ที่สุด

### ภาคผนวก

ตารางที่ 8 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์/ไมโครลิตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	4520.00 $\pm 1721.65^a$	4670.00 $\pm 1384.35^a$	4326.67 $\pm 1807.54^a$	4573.33 $\pm 1852.07^a$	5090.00 $\pm 2581.68^a$	5473.33 $\pm 2663.29^a$
2	13576.67 $\pm 2655.57^b$	16540.00 $\pm 3397.93^b$	18630.00 $\pm 3006.73^b$	19150.00 $\pm 1967.45^b$	17946.67 $\pm 4159.62^b$	17960.00 $\pm 2164.80^b$
3	17350.00 $\pm 4809.14^c$	19340.00 $\pm 6083.23^c$	26330.00 $\pm 6611.29^c$	18270.00 $\pm 4359.69^c$	22840.00 $\pm 9050.84^c$	27100.00 $\pm 10883.92^c$
4	19040.00 $\pm 3751.36^d$	23746.67 $\pm 4483.88^d$	34413.33 $\pm 6991.14^d$	35800.00 $\pm 9225.71^d$	28506.67 $\pm 7720.97^d$	33426.67 $\pm 8541.01^d$
5	24560.00 $\pm 4985.43^d$	24826.67 $\pm 5733.37^d$	36133.33 $\pm 5955.49^d$	33293.33 $\pm 19640.67^d$	26960.00 $\pm 8500.48^d$	38226.67 $\pm 13809.21^d$
6	30253.33 $\pm 3777.89^e$	33866.67 $\pm 6298.24^e$	58893.33 $\pm 14278.39^e$	30146.67 $\pm 12638.89^e$	23546.67 $\pm 3306.01^e$	31026.67 $\pm 12725.20^e$
7	35186.67 $\pm 11382.43^f$	31800.00 $\pm 3880.14^f$	50866.67 $\pm 4689.22^f$	62373.33 $\pm 16842.33^f$	44866.67 $\pm 17670.20^f$	39920.00 $\pm 16572.38^f$
8	38783.33 $\pm 8466.82^f$	37316.67 $\pm 11396.50^f$	65900.00 $\pm 12890.49^f$	70933.33 $\pm 27362.33^f$	26466.67 $\pm 6753.23^f$	24233.33 $\pm 4947.26^f$
9	41366.67 $\pm 12017.43^f$	43233.33 $\pm 11524.10^f$	70850.00 $\pm 7438.48^f$	74766.67 $\pm 26078.52^f$	24416.67 $\pm 8640.19^f$	22716.67 $\pm 5516.98^f$
10	65783.33 $\pm 15340.99^i$	57733.33 $\pm 10457.89^i$	93550.00 $\pm 8765.98^i$	95833.33 $\pm 12284.43^i$	27650.00 $\pm 20439.25^i$	21633.33 $\pm 3866.87^i$
11	65883.33 $\pm 16395.49^{hi}$	58433.33 $\pm 12523.54^{hi}$	91100.00 $\pm 6940.90^{hi}$	96016.67 $\pm 5586.57^{hi}$	21333.33 $\pm 6499.42^{hi}$	20866.67 $\pm 4476.37^{hi}$
12	65800.00 $\pm 14336.86^{hi}$	62633.33 $\pm 10571.10^{hi}$	89800.00 $\pm 7444.49^{hi}$	96433.33 $\pm 6800.60^{hi}$	20400.00 $\pm 3978.64^{hi}$	19266.67 $\pm 4758.17^{hi}$
13	66416.67 $\pm 6537.01^{gh}$	60733.33 $\pm 8770.65^{gh}$	84833.33 $\pm 11389.70^{gh}$	90183.33 $\pm 9528.34^{gh}$	20316.67 $\pm 6624.21^{gh}$	18083.33 $\pm 4755.93^{gh}$
14	66100.00 $\pm 8925.51^g$	57833.33 $\pm 11316.14^g$	83583.33 $\pm 10531.05^g$	83350.00 $\pm 11177.86^g$	18466.67 $\pm 5281.11^g$	18850.00 $\pm 4218.63^g$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 9 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	0.0968 $\pm 0.0101^a$	0.0888 $\pm 0.0055^a$	0.1178 $\pm 0.0074^a$	0.1276 $\pm 0.0314^a$	0.1461 $\pm 0.0413^a$	0.1598 $\pm 0.0303^a$
2	0.2010 $\pm 0.1047^d$	0.2157 $\pm 0.0877^d$	0.2044 $\pm 0.0584^d$	0.2116 $\pm 0.0520^d$	0.2065 $\pm 0.0505^d$	0.1753 $\pm 0.0329_d$
3	0.1241 $\pm 0.0121^a$	0.1201 $\pm 0.0073^a$	0.1302 $\pm 0.0144^a$	0.1178 $\pm 0.0075^a$	0.1105 $\pm 0.0074^a$	0.1007 $\pm 0.0076^a$
4	0.1281 $\pm 0.0131^{ab}$	0.1390 $\pm 0.0123^{ab}$	0.1401 $\pm 0.0122^{ab}$	0.1321 $\pm 0.0095^{ab}$	0.1172 $\pm 0.0072^{ab}$	0.1020 $\pm 0.0067^{ab}$
5	0.1371 $\pm 0.0146^c$	0.1968 $\pm 0.0362^c$	0.2090 $\pm 0.0260^c$	0.1689 $\pm 0.0234^c$	0.1634 $\pm 0.0203^c$	0.1392 $\pm 0.0232^c$
6	0.1222 $\pm 0.0113^b$	0.1397 $\pm 0.0051^b$	0.2056 $\pm 0.0173^b$	0.1385 $\pm 0.0112^b$	0.1354 $\pm 0.0084^b$	0.1169 $\pm 0.0101^b$
7	0.1346 $\pm 0.0199^d$	0.1681 $\pm 0.0224^d$	0.3145 $\pm 0.0510^d$	0.2158 $\pm 0.0213^d$	0.1949 $\pm 0.0318^d$	0.1383 $\pm 0.0221^d$
8	0.1463 $\pm 0.0182^d$	0.1561 $\pm 0.0110^d$	0.3724 $\pm 0.0236^d$	0.2100 $\pm 0.0303^d$	0.1502 $\pm 0.0129^d$	0.1976 $\pm 0.1170^d$
9	0.1632 $\pm 0.0211^e$	0.1850 $\pm 0.0167^e$	0.3906 $\pm 0.0240^e$	0.2129 $\pm 0.0286^e$	0.1833 $\pm 0.0487^e$	0.2434 $\pm 0.1198^e$
10	0.1457 $\pm 0.0187^e$	0.1643 $\pm 0.0102^e$	0.3751 $\pm 0.0350^e$	0.2240 $\pm 0.0261^e$	0.1990 $\pm 0.0331^e$	0.2562 $\pm 0.1210^e$
11	0.2201 $\pm 0.1156^e$	0.1926 $\pm 0.0281^e$	0.4020 $\pm 0.0168^e$	0.2990 $\pm 0.0550^e$	0.2590 $\pm 0.0330^e$	0.3106 $\pm 0.1266^e$
12	0.2180 $\pm 0.1169^{fg}$	0.1935 $\pm 0.0284^{fg}$	0.3890 $\pm 0.0224^{fg}$	0.3192 $\pm 0.0631^{fg}$	0.2784 $\pm 0.0405^{fg}$	0.3297 $\pm 0.1530^{fg}$
13	0.2642 $\pm 0.1314^{gh}$	0.1921 $\pm 0.0410^{gh}$	0.3205 $\pm 0.1063^{gh}$	0.3698 $\pm 0.0718^{gh}$	0.3189 $\pm 0.0458^{gh}$	0.3858 $\pm 0.1266^{gh}$
14	0.2857 $\pm 0.1372^h$	0.1916 $\pm 0.0450^h$	0.3361 $\pm 0.0960^h$	0.3639 $\pm 0.0749^h$	0.2958 $\pm 0.0548^h$	0.3597 $\pm 0.1176^h$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $p < 0.05$ )



ตารางที่ 10 ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ *Chlorella vulgaris* ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

วันที่	ขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	4.238 $\pm 0.870^g$	4.764 $\pm 0.993^g$	4.918 $\pm 0.776^g$	4.795 $\pm 0.667^g$	5.145 $\pm 0.580^g$	4.806 $\pm 0.887^g$
2	3.575 $\pm 0.887^d$	3.835 $\pm 0.342^d$	4.546 $\pm 0.762^d$	4.313 $\pm 0.611^d$	4.503 $\pm 0.786^d$	4.867 $\pm 0.837^d$
3	3.533 $\pm 0.729^e$	3.509 $\pm 0.602^e$	3.981 $\pm 0.786^e$	4.619 $\pm 0.491^e$	5.176 $\pm 0.967^e$	5.689 $\pm 0.759^e$
4	3.887 $\pm 0.458^f$	3.769 $\pm 0.637^f$	4.308 $\pm 0.813^f$	5.123 $\pm 0.788^f$	5.155 $\pm 0.719^f$	5.718 $\pm 0.691^f$
5	4.131 $\pm 0.694^g$	4.275 $\pm 0.749^g$	3.947 $\pm 0.669^g$	4.974 $\pm 0.813^g$	5.331 $\pm 0.837^g$	6.056 $\pm 1.103^g$
6	4.024 $\pm 0.658^e$	3.909 $\pm 0.693^e$	4.133 $\pm 0.445^e$	4.258 $\pm 0.583^e$	4.594 $\pm 0.589^e$	5.492 $\pm 1.040^e$
7	3.556 $\pm 0.725^b$	3.450 $\pm 0.484^b$	3.959 $\pm 0.564^b$	4.103 $\pm 0.608^b$	4.340 $\pm 0.644^b$	5.037 $\pm 1.154^b$
8	3.724 $\pm 0.577^{cd}$	3.699 $\pm$ 0.496 <sup>cd</sup>	3.871 $\pm 0.618^{cd}$	4.055 $\pm 0.699^{cd}$	4.766 $\pm 0.428^{cd}$	5.199 $\pm 0.763^{cd}$
9	3.907 $\pm 0.582^c$	3.630 $\pm 0.508^c$	3.950 $\pm 0.658^c$	3.846 $\pm 0.664^c$	5.050 $\pm 0.694^c$	4.795 $\pm 0.642^c$
10	3.734 $\pm 0.438^b$	3.725 $\pm 0.516^b$	4.031 $\pm 0.591^b$	3.952 $\pm 0.453^b$	4.716 $\pm 0.534^b$	4.365 $\pm 0.860^b$
11	3.812 $\pm 0.685^{ab}$	3.768 $\pm$ 0.477 <sup>ab</sup>	4.055 $\pm 0.716^{ab}$	3.743 $\pm 0.570^{ab}$	4.573 $\pm 0.569^{ab}$	4.310 $\pm 0.490^{ab}$
12	3.654 $\pm 0.754^b$	3.620 $\pm 0.585^b$	4.182 $\pm 0.609^b$	3.857 $\pm 0.533^b$	4.954 $\pm 0.687^b$	4.244 $\pm 0.493^b$
13	3.951 $\pm 0.529^{ab}$	3.846 $\pm 0.769^{ab}$	4.233 $\pm 0.491^{ab}$	3.682 $\pm 0.487^{ab}$	4.356 $\pm 0.573^{ab}$	4.131 $\pm 0.724^{ab}$
14	3.951 $\pm 0.660^a$	3.846 $\pm 0.496^a$	4.233 $\pm 0.607^a$	3.682 $\pm 0.577^a$	4.356 $\pm 0.490^a$	4.131 $\pm 0.553^a$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ *Scenedesmus* sp ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์/ไมโครลิตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	4218.75 $\pm 819.03^a$	3656.25 $\pm 956.62^a$	5000.00 $\pm 966.77^a$	4916.67 $\pm 817.65^a$	5125.00 $\pm 650.61^a$	5927.08 $\pm 611.11^a$
2	4906.25 $\pm 449.510^b$	4968.75 $\pm 579.29^b$	6322.92 $\pm 450.56^b$	6270.83 $\pm 568.67^b$	6718.75 $\pm 732.99^b$	7916.67 $\pm 1162.05^b$
3	8062.50 $\pm 1281.97^c$	7833.33 $\pm 417.42^c$	8520.83 $\pm 781.23^c$	9781.25 $\pm 822.49^c$	10750.00 $\pm 788.77^c$	11343.75 $\pm 1021.25^c$
4	10708.33 $\pm 670.67^f$	10604.17 $\pm 372.46^f$	10989.58 $\pm 444.21^f$	10770.83 $\pm 405.33^f$	11760.42 $\pm 865.13^f$	10062.50 $\pm 749.05^f$
5	10489.58 $\pm 330.54^f$	10625.00 $\pm 238.36^f$	10989.58 $\pm 570.23^f$	11270.83 $\pm 888.42^f$	11135.42 $\pm 892.61^f$	9927.08 $\pm 518.02^f$
6	10291.67 $\pm 468.71^e$	10125.00 $\pm 412.86^e$	10895.83 $\pm 700.71^e$	11385.42 $\pm 580.11^e$	10031.25 $\pm 480.07^e$	9458.33 $\pm 717.74^e$
7	10343.75 $\pm 244.97^e$	10364.58 $\pm 447.39^e$	10812.50 $\pm 547.46^e$	11041.67 $\pm 662.15^e$	9343.75 $\pm 788.99^e$	9166.67 $\pm 424.17^e$
8	10208.33 $\pm 547.03^d$	10177.08 $\pm 549.94^d$	10312.50 $\pm 359.52^d$	10552.08 $\pm 441.00^d$	9177.08 $\pm 498.45^d$	8906.25 $\pm 648.69^d$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 12 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Scenedesmus* sp ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	0.1130 $\pm 0.0048^a$	0.1104 $\pm 0.0026^a$	0.1177 $\pm 0.0060^a$	0.1211 $\pm 0.0170^a$	0.1231 $\pm 0.0080^a$	0.1026 $\pm 0.0111^a$
2	0.1169 $\pm 0.2684^b$	0.1993 $\pm 0.0142^b$	0.1586 $\pm 0.0263^b$	0.1788 $\pm 0.0162^b$	0.1634 $\pm 0.0065^b$	0.1169 $\pm 0.1105^b$
3	0.1229 $\pm 0.0074^b$	0.1303 $\pm 0.0070^b$	0.1875 $\pm 0.0303^b$	0.1621 $\pm 0.0252^b$	0.1944 $\pm 0.0219^b$	0.1131 $\pm 0.0073^b$
4	0.1352 $\pm 0.0091^c$	0.1491 $\pm 0.0149^c$	0.2307 $\pm 0.0323^c$	0.2884 $\pm 0.0804^c$	0.2560 $\pm 0.0303^c$	0.1138 $\pm 0.0061^c$
5	0.1310 $\pm 0.0076^c$	0.1354 $\pm 0.0082^c$	0.2249 $\pm 0.0349^c$	0.3170 $\pm 0.0429^c$	0.3127 $\pm 0.0503^c$	0.1216 $\pm 0.0138^c$
6	0.1583 $\pm 0.0068^d$	0.1651 $\pm 0.0087^d$	0.2695 $\pm 0.0308^d$	0.3307 $\pm 0.0460^d$	0.4450 $\pm 0.0470^d$	0.1376 $\pm 0.0229^d$
7	0.1872 $\pm 0.0136^e$	0.1923 $\pm 0.0172^e$	0.3329 $\pm 0.0522^e$	0.3665 $\pm 0.0650^e$	0.5506 $\pm 0.0553^e$	0.1663 $\pm 0.0326^e$
8	0.1851 $\pm 0.1430^f$	0.2040 $\pm 0.0101^f$	0.2983 $\pm 0.0211^f$	0.3429 $\pm 0.0452^f$	0.4886 $\pm 0.0691^f$	0.1527 $\pm 0.0311^f$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยความกว้างเซลล์ของ *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 14 วัน

วันที่	ขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	2.596 $\pm 0.617^f$	2.545 $\pm 0.602^f$	2.642 $\pm 0.560^f$	2.992 $\pm 0.512^f$	2.987 $\pm 0.534^f$	3.103 $\pm 0.544^f$
2	2.188 $\pm 0.581^d$	2.393 $\pm 0.580^d$	2.607 $\pm 0.610^d$	2.916 $\pm 0.522^d$	2.937 $\pm 0.510^d$	3.328 $\pm 0.528^d$
3	2.362 $\pm 0.557^c$	2.240 $\pm 0.507^c$	2.487 $\pm 0.569^c$	2.456 $\pm 0.484^c$	2.625 $\pm 0.458^c$	2.970 $\pm 0.586^c$
4	2.315 $\pm 0.633^c$	2.339 $\pm 0.512^c$	2.624 $\pm 0.657^c$	2.479 $\pm 0.385^c$	2.569 $\pm 0.362^c$	2.789 $\pm 0.511^c$
5	2.299 $\pm 0.441^a$	2.174 $\pm 0.458^a$	2.293 $\pm 0.569^a$	2.260 $\pm 0.457^a$	2.305 $\pm 0.395^a$	2.509 $\pm 0.462^a$
6	2.216 $\pm 0.506^a$	2.043 $\pm 0.407^a$	2.285 $\pm 0.503^a$	2.245 $\pm 0.380^a$	2.532 $\pm 0.401^a$	2.403 $\pm 0.440^a$
7	2.252 $\pm 0.466^b$	2.143 $\pm 0.407^b$	2.378 $\pm 0.515^b$	2.295 $\pm 0.414^b$	2.604 $\pm 0.541^b$	2.565 $\pm 0.406^b$
8	2.245 $\pm 0.467^b$	2.114 $\pm 0.380^b$	2.442 $\pm 0.476^b$	2.382 $\pm 0.419^b$	2.637 $\pm 0.471^b$	2.592 $\pm 0.418^b$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวดังเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ *Scenedesmus* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 8 วัน

วันที่	ขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	8.315 $\pm 1.402^b$	8.114 $\pm 1.390^b$	8.318 $\pm 1.471^b$	8.392 $\pm 1.228^b$	8.710 $\pm 1.176^b$	8.824 $\pm 0.993^b$
2	7.938 $\pm 1.347^d$	8.330 $\pm 1.309^d$	8.280 $\pm 1.151^d$	8.923 $\pm 1.150^d$	8.813 $\pm 1.211^d$	9.330 $\pm 1.146^d$
3	8.408 $\pm 1.177^a$	7.980 $\pm 1.228^a$	8.224 $\pm 1.330^a$	8.261 $\pm 1.164^a$	8.454 $\pm 1.143^a$	8.660 $\pm 1.074^a$
4	8.432 $\pm 1.205^{bcd}$	8.064 $\pm 1.230^{bcd}$	8.604 $\pm 1.130^{bcd}$	8.675 $\pm 1.141^{bcd}$	8.832 $\pm 1.202^{bcd}$	8.657 $\pm 1.002^{bcd}$
5	8.563 $\pm 1.263^{bc}$	8.692 $\pm 1.202^{bc}$	8.702 $\pm 1.117^{bc}$	8.687 $\pm 1.280^{bc}$	8.030 $\pm 1.238^{bc}$	8.149 $\pm 1.292^{bc}$
6	8.806 $\pm 1.190^d$	8.655 $\pm 1.195^d$	8.491 $\pm 1.139^d$	8.945 $\pm 0.982^d$	8.913 $\pm 1.358^d$	8.014 $\pm 1.257^d$
7	8.598 $\pm 1.346^{cd}$	8.371 $\pm 1.314^{cd}$	8.427 $\pm 1.180^{cd}$	8.467 $\pm 1.319^{cd}$	8.936 $\pm 1.407^{cd}$	8.520 $\pm 1.288^{cd}$
8	8.727 $\pm 1.389^f$	8.485 $\pm 1.297^f$	8.649 $\pm 1.102^f$	9.040 $\pm 1.219^f$	9.364 $\pm 1.356^f$	8.546 $\pm 1.203^f$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวดังเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 15 ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยความหนาแน่นของเซลล์ (เซลล์/ไมโครลิตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	14520.83 $\pm 1430.02^a$	17968.75 $\pm 3115.72^a$	16718.75 $\pm 1953.38^a$	14833.33 $\pm 1877.90^a$	14895.83 $\pm 2256.19^a$	14906.25 $\pm 914.10^a$
2	28937.50 $\pm 4981.64^e$	29218.75 $\pm 3351.61^e$	35656.25 $\pm 4870.81^e$	28416.67 $\pm 2278.93^e$	27843.75 $\pm 2338.61^e$	27093.75 $\pm 4584.55^e$
3	28635.42 $\pm 2957.78^d$	27260.42 $\pm 3241.01^d$	32906.25 $\pm 4398.51^d$	27718.75 $\pm 2773.21^d$	28697.92 $\pm 2675.36^d$	25468.75 $\pm 1714.01^d$
4	28854.17 $\pm 1361.85^{bc}$	26093.75 $\pm 1625.54^{bc}$	29208.33 $\pm 4461.11^{bc}$	26583.33 $\pm 2510.96^{bc}$	25645.83 $\pm 3237.66^{bc}$	24635.42 $\pm 2978.35^{bc}$
5	31781.25 $\pm 2581.14^{cd}$	27656.25 $\pm 2191.87^{cd}$	30218.75 $\pm 2607.96^{cd}$	27437.50 $\pm 3281.10^{cd}$	25135.42 $\pm 2074.23^{cd}$	24625.00 $\pm 1889.71^{cd}$
6	28916.67 $\pm 1879.41^{bc}$	26802.08 $\pm 3199.10^{bc}$	30020.83 $\pm 2928.03^{bc}$	27281.25 $\pm 3377.78^{bc}$	24427.08 $\pm 2823.63^{bc}$	23770.83 $\pm 3307.54^{bc}$
7	28312.50 $\pm 2571.97^b$	25458.33 $\pm 3070.35^b$	26781.25 $\pm 4511.70^b$	27208.33 $\pm 3352.54^b$	24583.33 $\pm 2834.61^b$	23885.42 $\pm 3413.90^b$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 16 ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680 ของสาหร่าย *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยค่าการดูดกลืนแสง (Optical Density): OD680					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	0.0880 $\pm 0.0028^a$	0.1108 $\pm 0.0313^a$	0.1235 $\pm 0.0221^a$	0.1587 $\pm 0.0301^a$	0.1067 $\pm 0.0097^a$	0.1024 $\pm 0.0046^a$
2	0.0957 $\pm 0.0035^{ab}$	0.1072 $\pm 0.0139^{ab}$	0.1841 $\pm 0.1060^{ab}$	0.1698 $\pm 0.0454^{ab}$	0.1189 $\pm 0.0081^{ab}$	0.1103 $\pm 0.0067^{ab}$
3	0.1006 $\pm 0.0083^b$	0.1119 $\pm 0.0153^b$	0.1742 $\pm 0.0363^b$	0.2236 $\pm 0.0429^b$	0.1444 $\pm 0.0194^b$	0.1211 $\pm 0.0101^b$
4	0.1143 $\pm 0.0251^c$	0.1606 $\pm 0.1495^c$	0.2127 $\pm 0.0999^c$	0.2395 $\pm 0.0322^c$	0.1823 $\pm 0.0146^c$	0.1458 $\pm 0.0155^c$
5	0.1164 $\pm 0.0842^c$	0.1529 $\pm 0.0068^c$	0.1796 $\pm 0.0992^c$	0.2667 $\pm 0.0322^c$	0.1920 $\pm 0.0470^c$	0.1686 $\pm 0.0149^c$
6	0.1232 $\pm 0.0653^c$	0.1252 $\pm 0.0236^c$	0.1955 $\pm 0.0074^c$	0.2540 $\pm 0.1608^c$	0.2062 $\pm 0.0997^c$	0.1580 $\pm 0.0162^c$
7	0.1159 $\pm 0.0895^c$	0.1772 $\pm 0.0114^c$	0.1954 $\pm 0.0244^c$	0.2866 $\pm 0.0394^c$	0.2133 $\pm 0.0552^c$	0.1688 $\pm 0.0213^c$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยความยาวเซลล์ของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้น เท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

วันที่	ขนาดความยาวของเซลล์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	4.775 $\pm 1.135^{\text{cd}}$	5.234 $\pm 1.271^{\text{cd}}$	5.318 $\pm 1.367^{\text{cd}}$	5.097 $\pm 1.197^{\text{cd}}$	5.387 $\pm 1.169^{\text{cd}}$	4.947 $\pm 1.082^{\text{cd}}$
2	4.705 $\pm 1.230^{\text{e}}$	4.905 $\pm 1.238^{\text{e}}$	5.463 $\pm 1.189^{\text{e}}$	5.578 $\pm 1.330^{\text{e}}$	6.098 $\pm 1.241^{\text{e}}$	5.920 $\pm 1.223^{\text{e}}$
3	4.523 $\pm 0.992^{\text{e}}$	4.509 $\pm 1.025^{\text{e}}$	4.995 $\pm 1.279^{\text{e}}$	5.505 $\pm 1.091^{\text{e}}$	6.486 $\pm 1.445^{\text{e}}$	6.799 $\pm 2.007^{\text{e}}$
4	4.591 $\pm 1.622^{\text{d}}$	4.188 $\pm 0.999^{\text{d}}$	4.738 $\pm 0.963^{\text{d}}$	5.576 $\pm 1.192^{\text{d}}$	5.894 $\pm 1.231^{\text{d}}$	6.090 $\pm 1.161^{\text{d}}$
5	4.361 $\pm 1.349^{\text{a}}$	4.195 $\pm 0.919^{\text{a}}$	4.492 $\pm 0.955^{\text{a}}$	5.421 $\pm 1.041^{\text{a}}$	5.368 $\pm 1.214^{\text{a}}$	5.413 $\pm 1.129^{\text{a}}$
6	4.657 $\pm 1.052^{\text{bc}}$	4.161 $\pm 1.181^{\text{bc}}$	4.561 $\pm 0.988^{\text{bc}}$	5.745 $\pm 0.854^{\text{bc}}$	5.523 $\pm 0.825^{\text{bc}}$	5.566 $\pm 1.183^{\text{bc}}$
7	4.601 $\pm 0.873^{\text{b}}$	4.240 $\pm 1.120^{\text{b}}$	4.181 $\pm 0.944^{\text{b}}$	5.777 $\pm 0.934^{\text{b}}$	5.763 $\pm 1.137^{\text{b}}$	5.430 $\pm 1.313^{\text{b}}$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวดังเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ตารางที่ 18 ค่าเฉลี่ยความกว้างเซลล์ของ *Klebsormidium* sp. ที่เลี้ยงในที่ออกซิเจนความเข้มข้นเท่ากับ 0.1, 1.0, 10.0, 50.0 และ 100.0 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลา 7 วัน

วันที่	ขนาดความกว้างของเซลล์เฉลี่ย (ไมโครเมตร)					
	0 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	1.0 $\mu\text{M}$	10.0 $\mu\text{M}$	50.0 $\mu\text{M}$	100.0 $\mu\text{M}$
1	2.754 $\pm 0.314^b$	2.834 $\pm 0.256^b$	2.780 $\pm 0.252^b$	2.722 $\pm 0.283^b$	2.805 $\pm 0.285^b$	2.750 $\pm 0.279^b$
2	2.693 $\pm 0.256^a$	2.769 $\pm 0.214^a$	2.687 $\pm 0.252^a$	2.742 $\pm 0.259^a$	2.833 $\pm 0.261^a$	2.905 $\pm 0.278^a$
3	2.723 $\pm 0.191^{ab}$	2.615 $\pm 0.233^{ab}$	2.587 $\pm 0.240^{ab}$	2.745 $\pm 0.254^{ab}$	2.821 $\pm 0.358^{ab}$	3.073 $\pm 0.306^{ab}$
4	2.716 $\pm 0.280^c$	2.642 $\pm 0.212^c$	2.723 $\pm 0.251^c$	2.795 $\pm 0.296^c$	2.838 $\pm 0.402^c$	3.220 $\pm 0.342^c$
5	2.749 $\pm 0.266^a$	2.631 $\pm 0.243^a$	2.651 $\pm 0.265^a$	2.745 $\pm 0.302^a$	2.778 $\pm 0.275^a$	2.916 $\pm 0.336^a$
6	2.700 $\pm 0.282^b$	2.659 $\pm 0.226^b$	2.619 $\pm 0.292^b$	2.812 $\pm 0.300^b$	2.864 $\pm 0.324^b$	2.976 $\pm 0.367^b$
7	2.649 $\pm 0.325^b$	2.650 $\pm 0.260^b$	2.653 $\pm 0.246^b$	2.881 $\pm 0.277^b$	2.835 $\pm 0.323^b$	2.957 $\pm 0.340^b$

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กในแนวตั้งเดียวกันคือความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ( $p < 0.05$ )

## เอกสารอ้างอิง

พูนพิภพ เกษมทรัพย์. ชีววิทยา. เล่มที่ 2, พิมพ์ครั้งที่ 6. กรุงเทพมหานคร : บริษัทด้านสุขภาพการพิมพ์ จำกัด, 2556.

Bajguz, A., and Piotrowska-Niczyporuk, A. Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae). Journal of Plant Physiology 80 (2014) : 176-183.

Cooke, T.J., Poli, D., Sztejn, A.E., and Cohen J.D. Evolutionary patterns in auxin action. Plant Molecular Biology 49 (2002) : 319-338.

Dao, G.H., Wub, G.X., Wanga, X.X., Zhuanga, L.L., Zhang, T.Y., and Hu, H.Y. Enhanced growth and fatty acid accumulation of microalgae *Scenedesmus* sp. LX1 by two types of auxin. Bioresource Technology 247 (2018) : 561-567.

Drummond, C. S., Hall, J., Karol, K. G., Delwiche, C. F., and McCourt, R. M. Phylogeny of Spirogyra and Sirogonium (Zygnematophyceae) based on rbcL sequence data. Journal of Phycology 41 (2005) : 1055-1064.

Hanyuda, T., Wakana, I., Arai, S., Miyaji, K., Watano, Y., and Ueda, K. Phylogenetic relationships within Cladophorales (Ulvophyceae, Chlorophyta) inferred from 18S rRNA gene sequences, with special reference to Aegagropila linnaei. Journal of Phycology 38 (2002) : 564-571.

Liu, J., Qiu, W., and Song, Y. Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda*. Algal Research 18 (2016) : 273-280.

Lu, Y. and Xu, J. Phytohormones in microalgae : a new opportunity for microalgal biotechnology. Trends in plant science 20(5) (2015) : 273-282.

Ludwig-Muller, J. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of landplants. [Online]. 2011. Available from : <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erq41>[2018,October 1]

Nakayama, T., Watanabe, S., Mitsui, K., Uchida, H., and Inouye, I. The phylogenetic relationship between the Chlamydomonadales and Chlorococcales inferred from 18S rRNA sequence data. Phycological Research 44 (1996) : 47-55.

Niemann, D.I., and Dorffling, K. Growth inhibitors and growth promoters in *Enteromorpha compressa* (Chlorophyta). Journal of Phycology 16 (1980) : 386-389.

Ohtaka, K., Hori, K., Kanno, Y., Seo, M. and Ohta, H. Primitive auxin response without TIR1 and Aux/IAA in the charophyte alga *Klebsormidium nitens*. Journal of Plant

- Physiology 173(3) (2017) : 1621-1632.
- Ozioko, F.U., Chiejina, N.V., and Ogbonna, J.C. Effect of some phytohormones on growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* IAM-C212 under photoautotrophic conditions. African Journal of Biotechnology 14 (2015) : 2367-2376.
- Prescott, G.W. How to know the freshwater algae. Dubuque, Iowa, : W.C. Brown Company, 1954.
- Tarakhovskaya, E.R., Maslov, Y.I., and Shishova, M.F. Phytohormone in algae. Russian Journal of Plant Physiology 54 (2007) : 163-170.
- Sakayama, H., Hara, Y., Arai, S., Sato, H., and Nozaki, H. Phylogenetic analyses of *Nitella* subgenus *Tieffallenia* (Charales, Charophyceae) using nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. Phycologia 43 (2004) : 672-681.
- Sherwood, A. R., and Presting, G. G. Universal primers amplify a 23S rRNA plastid marker in eukaryotic algae and cyanobacteria. Journal of Phycology 43 (2007) : 605–608.
- Stancheva, R., Hall, J. D., McCourt, R. M., and Sheath, R. G. Identity and phylogenetic placement of *Spirogyra* species (Zygnematophyceae, Charophyta) from California streams and elsewhere. Journal of Phycology 49 (2013) : 588–607.
- Stirk, W.A., Ordog, V., Novak, O., Rolcik, J., Strnad, M., Balint, P. and Staden, J. Auxin and cytokinin relationships in 24 microalgal strains. Journal of Phycology 49 (2013) : 459–467.
- Taylor, R. L., Bailey, J. C., and Freshwater, D. W. Systematics of *Cladophora* spp. (Chlorophyta) from North Carolina, USA, based upon morphology and DNA sequence data with a description of *Cladophora subtilissima* sp. nov. Journal of Phycology 53 (2017) : 541-556.
- Yu, Z., Song, M., Pei, H., Jiang, L., Hou, Q., Nie, C., and Zhang, L. The effects of combined agricultural phytohormones on the growth, carbon partitioning and cell morphology of two screened algae. Journal of Technology Management & Innovation 239 (2017) : 87-96.