ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus

Effects of Environmental Factors on Reproductive Behavior of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus

อาริณี มูน๊ะ

Arinee Muna

Prince of Songkla University Pattani Campus

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Fishery Technology

Prince of Songkla University

2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus

Effects of Environmental Factors on Reproductive Behavior of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus

Prince of Songkla University
Pattani Campus

อาริณี มูน๊ะ
Arinee Muna

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Fishery Technology
Prince of Songkla University
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus
ผู้เขียน นางสาวอาริณี มูน๊ะ
สาขาวิชา เทคโนโลยีการประมง

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย เหลืองธุวปราณีต)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพร ประเสริฐส่งสกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย เหลืองธุวปราณีต)

.....กรรมการ
(ดร.มนต์สรวง ยางทอง)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการประมง

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(นางสาวอาริณี มูน๊ะ)
นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวอาริณี มูน๊ะ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus
ผู้เขียน นางสาวอาริณี มูน๊ะ
สาขาวิชา เทคโนโลยีการประมง
ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus ได้แก่ สภาวะการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในต้นพันธุ์จากแหล่งแตกต่างกัน การเหนี่ยวนำให้สร้าง และการกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และชนิดของวัสดุที่เหมาะสมกับการเกาะของเซลล์สืบพันธุ์ เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการขยายพันธุ์สาหร่ายได้อย่างต่อเนื่อง การศึกษาสภาวะการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซิเมนต์ อ่าวปัตตานี และห้องปฏิบัติการ แหล่งละ 3 จุด ๆ ละ 30 ต้น ระหว่างเดือนกันยายน-ตุลาคม 2556 พบว่า สาหร่ายที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซิเมนต์ และอ่าวปัตตานีมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีตหรือแบบอาศัยเพศร้อยละ 100±0 โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง และความยาวท่อนพันธุ์ อีกทั้งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณ ไนเตรท-ไนโตรเจน และธาตุอาหารจากแหล่งน้ำ ได้แก่ แมงกานีส และโครเมียม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ในขณะที่ตัวอย่างสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการ สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือแบบซูโอสปอร์ ได้ร้อยละ 100±0 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความกระด้าง และความเค็มในแหล่งน้ำ และปริมาณแคลเซียมในสาหร่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนธาตุในแหล่งน้ำไม่มีความสัมพันธ์ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

การเหนี่ยวนำการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ โดยใช้ปัจจัยกระตุ้น 5 ปัจจัย ประกอบด้วย 1) ความเค็ม 5 ระดับ คือ 10, 15, 20, 25 และ 30 ppt 2) การผึ่งแห้ง 4 ระดับ คือ 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง 3) ขนาดความยาวท่อนพันธุ์ 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 เซนติเมตร 4) อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส 5) การเติมแคลเซียมไอออนจากแคลเซียมคลอไรด์ในน้ำเลี้ยง 4 ระดับ คือ 0, 6, 12 และ 18 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ มีจำนวนโพรโทพลาสต์ 13±3 โพรโทพลาสต์/เซลล์ โดยระดับความเค็ม 15-30 ppt สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ได้ร้อยละ 100±0 ในเวลา 4 วัน ส่วนการผึ่งแห้งพบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง หรือการไม่ผึ่งแห้ง สร้างสปอร์ได้ร้อยละ 97±2 และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับที่เวลาการผึ่งแห้ง 1, 2 และ 3 ชั่วโมง ในวันที่ 2 ของการกระตุ้น ที่ความยาวท่อนพันธุ์ 3 เซนติเมตร พบว่า สร้างอับซูโอสปอร์ได้ร้อยละ 98±2-100±0 ในเวลา 4 วัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการสร้างอับซูโอสปอร์ได้มากที่สุดคือ ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่น ส่วนการเติมแคลเซียมไอออนจาก $CaCl_2$ ในน้ำเลี้ยง 6 และ 18 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุดร้อยละ 100±0 ในวันที่ 2 ซึ่งร้อยละการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ไม่แตกต่างกับการเติมแคลเซียมไอออนจาก $CaCl_2$ 12 มิลลิกรัม/ลิตร

การกระตุ้นให้ปล่อยซูโอสปอร์ใช้ปัจจัยกระตุ้น 3 ปัจจัยประกอบด้วย 1) ความเค็ม 5 ระดับ คือ 5, 10, 15, 20 และ 25 ppt 2) การได้รับแสงความเข้มแสง 20, 80, 100 และ 150 μmol m^{-2} s^{-1} และ 3) การผึ่งแห้งที่เวลา 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง พบว่าที่ระดับความเค็ม 5-25 ppt มีปริมาณการปล่อยสปอร์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยที่ความเค็ม 25 ppt ปล่อยสปอร์ได้มากที่สุดจำนวน $12.16\pm0.37\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ส่วนการนำต้นพันธุ์ไปกระตุ้นด้วยระดับความเข้มแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าระดับความเข้มแสงช่วง 20-150 μmol m^{-2} s^{-1} ได้จำนวนสปอร์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยที่การให้แสง 20 μmol m^{-2} s^{-1} ให้จำนวนสปอร์มากที่สุด คือ $10.10\pm0.24\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ส่วนปัจจัยด้านการผึ่งแห้งพบว่า ที่ระดับการผึ่งแห้ง 0-3 ชั่วโมง ได้จำนวนสปอร์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยที่การผึ่งแห้ง 1 ชั่วโมง ให้จำนวนสปอร์สูงกว่าที่เวลาอื่น ๆ ของการผึ่งแห้งที่ $9.91\pm1.01\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด

การเกาะของสปอร์ใช้วัสดุเกาะแตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ แผ่นพลาสติกรังผึ้งขนาดตา 1 ตา อวนเส้นด้ายขนาดตา 2 เซนติเมตร และเชือกโพลีเอทธีลีนเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร พันกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 30x50 ตารางเซนติเมตร ใช้ดักสปอร์ในถังพลาสติกสี่เหลี่ยมปริมาตรน้ำ 150 ลิตร ที่สภาวะกลางแจ้ง มีสปอร์ว่ายอยู่ในมวลน้ำที่ระดับความหนาแน่น 3.3×10^{7} สปอร์/มิลลิลิตร ทำการสุ่มตัวอย่างสปอร์ที่ระดับความสูงทุก 10 เซนติเมตร บน กลาง และล่างของกรอบสี่เหลี่ยมพบว่า สปอร์เริ่มเกาะวัสดุทั้ง 3 ชนิด ตั้งแต่วันที่ 1 และเกาะมากที่สุดในวันที่ 9 ของการเลี้ยง โดยการเกาะของสปอร์รวมบนวัสดุทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยเชือกมีความหนาแน่นสปอร์มากที่สุด ถึง $1.4\pm1.7\times10^{9}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร รองลงมาคืออวนเส้นด้าย และพลาสติกมีความหนาแน่นของสปอร์ถึง $1.1\pm0.0\times10^{9}$ และ $8.4\pm0.5\times10^{8}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ สำหรับระดับการเกาะของสปอร์ พบว่ามีปริมาณสปอร์เกาะที่ระดับบนมากที่สุด

การสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง และความยาวของแทลลัสสาหร่าย อีกทั้งปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน แมงกานีส และโครเมียมในแหล่งน้ำมีความสัมพันธ์เชิงลบต่อเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ส่วนความกระด้าง ความเค็ม และแคลเซียมในสาหร่ายมีความสัมพันธ์เชิงบวกต่อการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ทั้งนี้ในห้องปฏิบัติการพบเพียงการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ แบบซูโอสปอร์ โดยการเหนี่ยวนำให้สร้างซูโอสปอร์ควรใช้ความเค็มในช่วง 10-30 ppt ไม่ผึ่งแห้ง โดยตัดสาหร่ายให้ยาวเป็นท่อน 0.5-3 เซนติเมตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และในน้ำเลี้ยงควรเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนจากการเติม $CaCl_2$ 6-18 มิลลิกรัม/ลิตร เมื่อจะกระตุ้นให้สาหร่ายปล่อยซูโอสปอร์ควรลดความเค็มลงให้อยู่ในช่วง 5-25 ppt ให้แสงที่ระดับความเข้มแสง 20-150 μmol m^{-2} s^{-1} เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนนำไปผึ่งแห้ง 0-3 ชั่วโมง ทั้งนี้สามารถใช้วัสดุใดก็ได้ เพื่อให้สปอร์ยึดเกาะ ได้แก่ เชือกโพลีเอทธีลีน อวนเส้นด้าย และพลาสติกรังผึ้ง

Thesis Title Effects of Environmental Factors on Reproductive Behavior of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus
Author Miss Arinee Muna
Major Program Fishery Technology
Academic Year 2014

ABSTRACT

Effects of environmental factors on reproductive behavior of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus were conducted on conditions of reproductive type in the thalli from different sources, induction of reproductive formation, stimulation on spore release and type of optimal materials on spore adhesion for basic information to propagate the algae. The study on reproductive type from different sources was done in mature thalli collected from 4 sources: earthen pond, cement tank, Pattani bay and the laboratory during September-October 2012. Type of reproductive cell was checked under microscope and some environmental factors were investigated. The result found that thalli from the earth ponds, cement tank and Pattani bay were gametogenesis of 100±0% and showed positive relation with phosphate-phosphorous, light intensity and thallus length but showed negative relation with nitrate-nitrogen, manganese and chromium in water, The thalli from laboratory were formed only zoosporangia of 100±0% and showed positive relation with hardness and salinity of water and calcium concentration in the algal tissue while nutrients in water were not related with zoosporangial reproduction.

Induction of reproductive cells formation by using five factors including: 1) salinity in five levels at 10, 15, 20, 25 and 30 ppt 2) desiccation in four levels at 0, 1, 2 and 3 hours 3) fragment length in five levels of 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 3.0 cm 4) temperature in three levels at 25, 30 and 35°C and 5) the addition of calcium from calcium chloride 4 levels of 0, 6, 12 and 18 mg/L. The result found that zoosporangia had 13±3 protoplasts/cell. At salinity of 15-30 ppt, the fragment produced zoosporngia of 100±0% in 4 days. At no desiccation, the fragment produced zoosporngia of 97±3% in the 2 days and showed significant difference ($p<0.05$) with those of the remains. The different length pieces of 0.5-3 cm showed no significant affect ($p<0.05$) on the induction of reproductive cells and at the fragment length of 3 cm with 98±2-100±0% in 4 days. At 25°C, zoosporangia were produced 100±0% in 4 days and showed significantly higher ($p<0.05$) compared to those of the other temperatures. The addition of $CaCl_2$ 6 and 18 mg/L caused the highest fragment

produced zoosporangia of 100±0% and showed significant difference ($p<0.05$) with the addition of $CaCl_2$ 12 mg/L.

Stimulation on zoospore release was used 3 factors: 1) the salinity in five levels of 5, 10, 15, 20 and 25 ppt 2) light intensity in four levels of 20, 80, 100 and 150 µmol $m^{-2}s^{-1}$ and 3) desiccation period in four levels of 0, 1, 2 and 3 hrs The results showed that at number of zoospore in the range of 5-25 ppt showed no significant affect ($p>0.05$) and maximum number of spore release of $12.16\pm0.37x10^6$ spores/g fw was occurred at 25 ppt. Under stimulation in range of light intensity of 20-150 µmol m^{-2} s^{-1}, number of spore showed no significantly difference ($p>0.05$) and under light intensity of 20 µmol m^{-2} s^{-1} provided the maximum number of $10.10\pm0.24x10^6$ spores/g fw. The desiccation in the range of 0-3 hrs shows no statistically significant differences ($p>0.05$) of released spores and at the 1 hr desiccation caused highest number of spore release with $9.91\pm1.01x10^6$ spores/g fw.

The adhesion of spores on three different materials: honey comb plastic plate with 1 cm in diameter holes, polyester rope with 1.5 mm in diameter, and cotton nets with 2 cm mesh size were used. All materials were set on a 30x50 cm^2 frame and put in the square plastic tank 150 L under outdoor conditions. The swimming of spores at concentrated with $3.3x10^7$ spores/mL. Number of spore was check every day at different heights of the frame at 10 cm interval on the top, middle and bottom. The results found that the adhesion of spores on three types of the material was occurred from first day and showed the highest number of spore at day 9^{th}. The number of spores on three types of materials showed no significantly affect ($p>0.05$). The rope showed the highest number of spores with $1.4\pm1.7x10^9$ spores/cm^2. the next highest were the cotton nets and honey comb plastic plate with number of spore $1.1\pm0.0X10^9$ and $8.4\pm0.5X10^8$ spores/cm^2, respectively. At top of the frame was found the number of spore attach than those of both other levels.

The gametangial reproduction showed positive relation with concentration of phosphate-phosphorous, light intensity and thallus length but showed negative relation with nitrate-nitrogen, manganese and chromium in water. Zoosprangial reproduction showed positive relation with hardness, salinity and calcium in the algal tissue. In laboratory, only zoosprangial reproduction was found. The induction of zoospore formation should be set at the 10-30 ppt salinity range, no desiccation and cut the algae in small fragment in the range of 0.5-3 cm long and cultured at 25°C and added 6-18 mg/L $CaCl_2$ to the culture medium. The stimulation of zoospore release should decrease salinity in the range of 5-25 ppt and put under 20-150

μmol m^{-2} s^{-1} light intensity for 3 hrs before dehydrated for 0-3 hrs for the adhesion of spores, all different materials: rope, cotton nets, honey comb plastic could be used.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เรื่องผลของปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อพฤติกรรมการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus จัดทำขึ้นจากการวิจัยเพื่อใช้ประกอบหลักสูตร และเพื่อเผยแพร่ความรู้แก่ผู้ที่สนใจ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระพีพร เรืองช่วย และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โชคชัย เหลืองธุวปราณีต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะแนวทางในการดำเนินการทั้งการปฏิบัติทดลอง และรูปแบบการเขียนวิทยานิพนธ์ ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมพร ประเสริฐส่งสกุล และดร.มนต์สรวง ยางทอง กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะแนวทางในการดำเนินการทั้งการปฏิบัติทดลอง และรูปแบบการเขียนวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณแหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

1) ทุนยกเว้นค่าธรรมเนียมการศึกษา จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

2) ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และบุคลากรแผนกวิชาเทคโนโลยีการประมงทุกท่าน ในการให้ความช่วยเหลืองานวิจัย และอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ ตลอดจนพื้นที่ในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา อีกทั้งขอขอบคุณกำลังใจที่สำคัญจากครอบครัว ท้ายนี้ขอขอบคุณทุกท่านที่ได้มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้

อาริณี มูน๊ะ

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	**(11)**
รายการตาราง	**(13)**
รายการภาพประกอบ	**(15)**
รายการตารางผนวก	**(17)**
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ชีววิทยา	2
1.2 อนุกรมวิธาน	2
1.3 นิเวศวิทยาของสาหร่ายไส้ไก่	3
1.4 วงจรชีวิตของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva* spp.	4
1.5 ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่	5
1.6 คุณค่าทางโภชนาการและองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสกุล *Ulva*	11
1.7 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	13
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	14
2.1 การศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	14
2.1.1 การศึกษารูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่จากแหล่งอาศัยแตกต่างกัน	14
2.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด	14
2.2 การศึกษาสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ	15
2.3 การศึกษาวิธีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ด้วยปัจจัยต่าง ๆ	16
2.4 การศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่	17
2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	18
2.6 วัสดุและอุปกรณ์	18
2.6.1 วัสดุ	18
2.6.2 อุปกรณ์	19
2.7 สถานที่ทำการวิจัย	19
บทที่ 3 ผลการทดลอง	20
3.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	20
3.1.1 ผลของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่จากแหล่งอาศัยที่แตกต่างกัน	20
1) ลักษณะของต้นพันธุ์สาหร่าย และสภาพแวดล้อม	20
2) ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	26

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
3.1.2 ผลการตรวจสอบธาตุอาหารบางชนิดในน้ำและสาหร่าย	27
3.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการด้วยปัจจัยต่าง ๆ	31
3.2.1 ปัจจัยด้านความเค็มต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	31
3.2.2 ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	33
3.2.3 ปัจจัยด้านขนาดท่อนพันธุ์ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	34
3.2.4 ปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	36
3.2.5 ปัจจัยด้านการเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	37
3.3 ผลของการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ด้วยปัจจัยต่าง ๆ	39
3.3.1 ปัจจัยด้านความเค็มต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์	39
3.3.2 ปัจจัยด้านการให้แสงต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์	41
3.3.3 ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์	43
3.4 ผลของพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่	45
บทที่ 4 บทวิจารณ์	49
4.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	49
4.1.1 รูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์	49
4.1.2 การตรวจสอบธาตุอาหารบางชนิด	49
4.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ	50
4.3 การกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	51
4.4 พฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่	51
บทที่ 5 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	53
5.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	53
5.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ	53
5.3 การกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่	53
5.4 พฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่	53
5.5 ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารอ้างอิง	**55**
ภาคผนวก	**59**
ประวัติผู้เขียน	**73**

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการตาราง

	ตารางที่	หน้า
1	น้ำหนักสาหร่ายในแต่ละเดือนของ *U. prolifera* หลังจากการเลี้ยงที่น้ำหนักเริ่มต้น 100 กรัม ใน 1 ถัง	8
2	คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*	11
3	ปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ในสาหร่ายสกุล *Ulva* ทะเล	12
4	ธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ที่รวบรวมจากอ่าวปัตตานีช่วงฤดูร้อน เดือนเมษายน	13
5	ความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* จากสถานที่ต่าง ๆ	22
6	ลักษณะการอยู่อาศัย และสิ่งแวดล้อมของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* จากสถานที่ต่าง ๆ	22
7	การเปรียบเทียบความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์สาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	23
8	การเปรียบเทียบคุณสมบัติน้ำบางประการกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	23
9	ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์สาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	24
10	ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำบางประการกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	24
11	ปริมาณค่าเฉลี่ยของสารอาหารบางชนิดในสาหร่าย และน้ำ และค่า Concentration factor จากสถานที่แตกต่างกัน	27
12	การเปรียบเทียบสารอาหารในสาหร่าย และน้ำกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	30
13	การหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารในสาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	30
14	การหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารในสาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	31
15	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน	32
16	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่าง ๆ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	33

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ

	เรื่อง	หน้า
17	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ที่ *U. intestinalis* ขนาดท่อนพันธุ์ต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน	35
18	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ทั้งหมดที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน	36
19	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ที่ระดับการเพิ่มสารแคลเซียมไอออนจาก $CaCl_2$ ที่ระดับต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	38
20	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (x10^6±SEx10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	39
21	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (x10^6±SEx10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน	41
22	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (x10^6±SEx10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน.	43
23	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (x10^6±SEx10^6 สปอร์/ตารางเซนติเมตร) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่การเกาะวัสดุแตกต่างกัน ในระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน	48

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*	3
2	วงจรชีวิตของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva* spp.	5
3	การเลี้ยงสาหร่าย *Ulva* spp. ในญี่ปุ่น	7
4	วัสดุเกาะชนิดต่าง ๆ	17
5	ระดับการเก็บวัสดุเกาะของสปอร์สาหร่าย *U. intestinalis*	18
6	ลักษณะต้นพันธุ์สาหร่ายที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ	21
7	ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* สเกล a-d=5 µm	26
8	ปริมาณแคลเซียมในน้ำ และสาหร่ายจากจากแหล่งต้นพันธุ์ที่แตกต่างกัน 4 แหล่ง	28
9	สารอาหาร Mn, Cr, Fe, Zn และ Cu ในสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* และในน้ำจากสถานที่ต่างกัน	29
10	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน	32
11	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งที่เวลาต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร	34
12	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ความยาวระดับต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน	35
13	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ที่ *U. intestinalis* ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ความเค็ม 25 ppt ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง. ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร	37
14	การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มสารแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ที่ระดับต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	38
15	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลารับแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	40
16	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง	40

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
	ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน	
17	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาทีมีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน	42
18	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน	42
19	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งที่เวลาต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน	44
20	จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ที่ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน	44
21	ปริมาณสปอร์เกาะบนวัสดุทั้ง 3 ชนิดที่ระดับต่าง ๆ	46
22	จำนวนสปอร์รวมของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* เกาะบนวัสดุทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับต่าง ๆ ในระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน	47
23	ปริมาณสปอร์รวมของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่เกาะวัสดุชนิดต่าง ๆ ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน	47

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 สูตรอาหาร MGM (Modified Guillard's Medium) ที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* โดยใช้อัตรา 1 mL ต่อน้ำ 1 ลิตร	60
2 สารละลายเพื่อทำ standard curve ตามความเข้มข้น	62
3 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U.intestinalis*	63
4 การศึกษาสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	64
5 การศึกษาวิธีการกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*	65
6 การศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่ *U.intestinalis*	65

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 1

บทนำ

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

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

สาหร่ายไส้ไก่ได้อย่างต่อเนื่อง และยั่งยืน และอาจขยายผลให้เกษตรกรสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในอนาคต

1.1 ชีววิทยา

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

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

1.2 อนุกรมวิธาน

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

Division Chlorophyta

Class Ulvophyceae

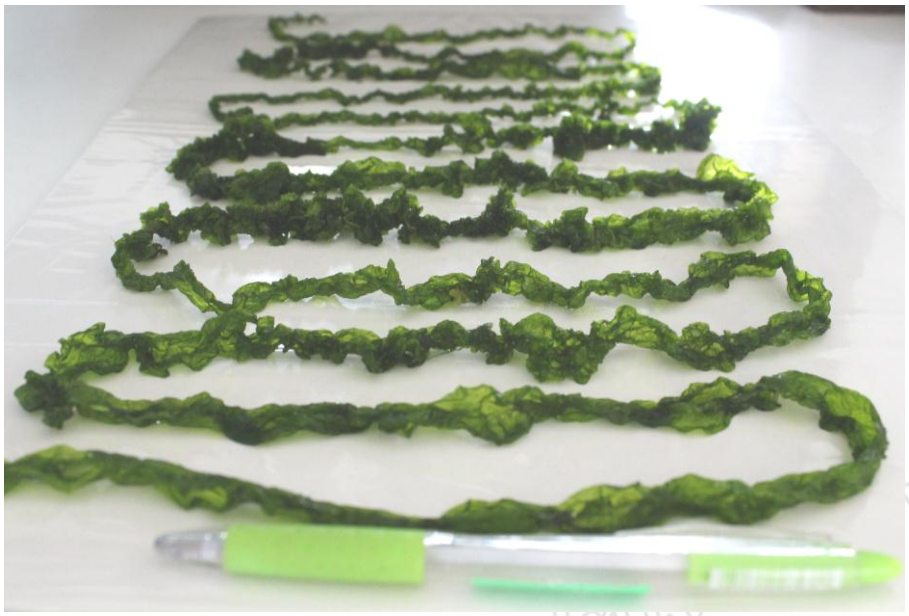
Order Ulvales

Family Ulvaceae

Genus *Ulva*

Species *Ulva intestinalis*

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*

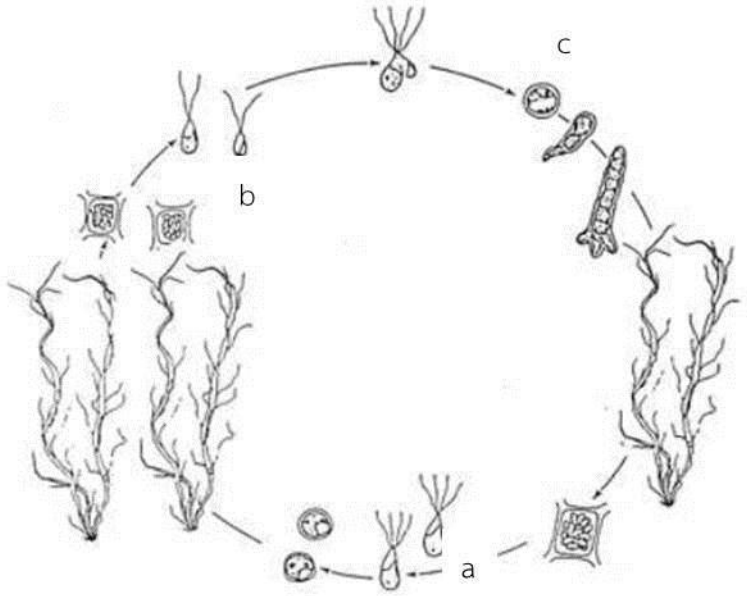
1.3 นิเวศวิทยาของสาหร่ายไส้ไก่

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

1.4 วงจรชีวิตของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva* spp.

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

Prince of Songkla University Pattani Campus



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

1.5 ความเป็นไปได้ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่

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

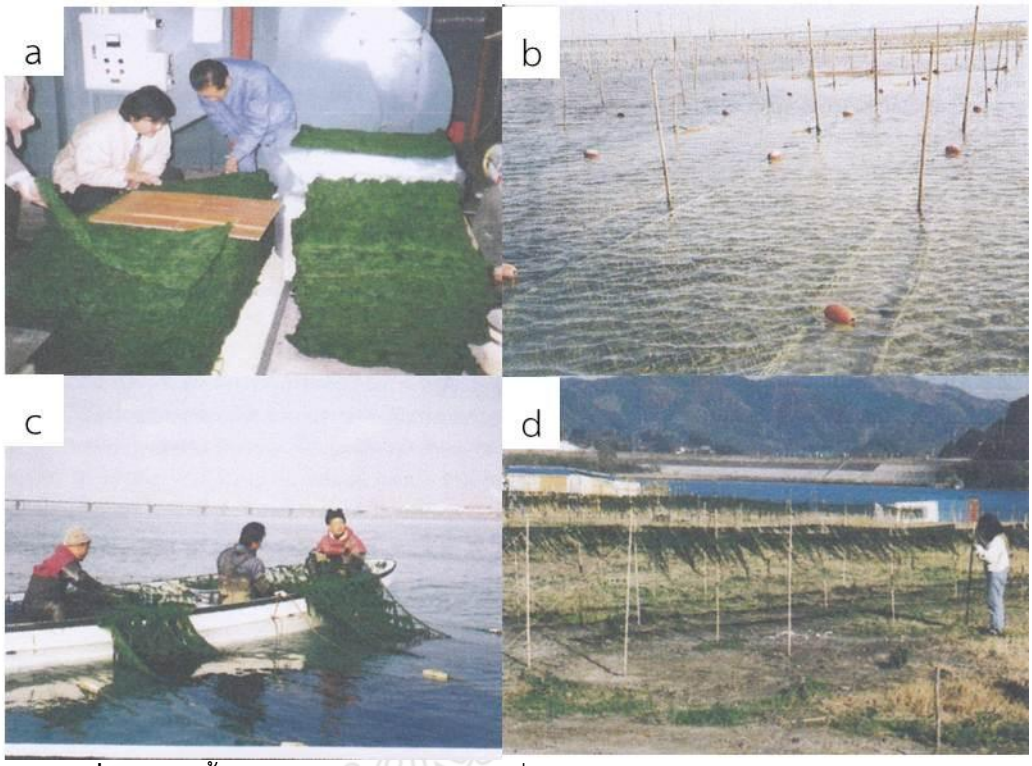
ในฟิลิปปินส์เรียกสาหร่ายไส้ไก่ว่า“lumot”มีการนำสาหร่ายไส้ไก่เลี้ยงร่วมกับปลานวลจันทร์ การเลี้ยงสาหร่ายนี้ในทะเล ทำโดยการล่อสปอร์ด้วยตาข่าย แล้วนำไปเลี้ยงในระดับความเค็มคงที่ ซึ่งผลผลิตที่ได้มีคุณภาพดี (Reine and Trono, 2001) เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตเต็มที่จะทำการเก็บเกี่ยวด้วยมือ โดยผลิตภัณฑ์ที่คัดด้วยมือจะมีคุณภาพดีกว่าเครื่องจักร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

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

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

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

Prince of Songkla University Pattani Campus



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

Prince of Songkla University Pattani Campus

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

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

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

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

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

ที่มา: ดัดแปรจาก Masanori and Oka (2006)

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

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

Prince of Songkla University Pattani Campus

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

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

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

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

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

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

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

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

1.6 คุณค่าทางโภชนาการ และองค์ประกอบทางเคมีของสาหร่ายสกุล *Ulva*

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

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

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

ที่มา: Reine and Trono (2001)

ตารางที่ 3 ปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ในสาหร่ายสกุล *Ulva* ทะเล

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

ที่มา: ดัดแปรจาก Nisizawa (2002)

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 4 ธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ที่รวบรวมจากอ่าวปัตตานีช่วงฤดูร้อนเดือนเมษายน

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

ที่มา: ดัดแปรจาก Benjama and Masniyom (2011)

1.7 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.7.1) ศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.2) ศึกษาปัจจัยสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.3) ศึกษาปัจจัยสภาพแวดล้อมต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

1.7.4) ศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่บนวัสดุที่แตกต่างกัน *U. intestinalis*

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 การศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

2.1.1 การศึกษารูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่จากแหล่งอาศัยแตกต่างกัน

การเก็บต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่จากแหล่งต่าง ๆ 4 แหล่ง ได้แก่ อ่าวปัตตานี บ่อดิน บ่อซิเมนต์ และห้องปฏิบัติการจาก 3 จุด ในช่วงเดือนกันยายน 2556 ถึงเดือนตุลาคม 2556 นำต้นพันธุ์สาหร่ายที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แล้วมาตรวจสอบขนาดของเซลล์ การปรากฏของเซลล์สืบพันธุ์ และชนิดของเซลล์สืบพันธุ์ที่สร้าง นำไปตรวจสอบใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำสาหร่ายที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์แล้ว แหล่งละ 30 แทลลัส ไปตรวจสอบลักษณะภายนอกได้แก่ ความกว้าง และความยาวของแทลลัส ลักษณะสี และมีการตรวจสอบคุณสมบัติบางประการของสภาวะแวดล้อมในบริเวณนั้น ได้แก่ ความเข้มแสง อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิน้ำ ความเค็ม พีเอช ไนเตรท-ไนโตรเจน ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ความเป็นด่าง ความกระด้างตามคู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำที่ มั่นสิน (2540) เรียบเรียงไว้

2.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารบางชนิด

นำตัวอย่างสาหร่าย และน้ำจากแหล่งเดียวกันที่เก็บมาตรวจสอบ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารบางประการได้แก่ แคลเซียม (Ca), แมงกานิส (Mn), โครเมียม (Cr), คอปเปอร์ (Cu), เหล็ก (Fe) และสังกะสี (Zn) โดยนำสาหร่ายไส้ไก่ที่เก็บจากสถานที่ต่าง ๆ มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น นำไปอบด้วยเครื่องอบแบบเป่าลมร้อน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส (°C) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (ชม.) จนสาหร่ายแห้ง จากนั้นนำไปย่อยตามขั้นตอนเพื่อเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจสอบปริมาณธาตุอาหารในสาหร่าย แล้วนำไปวิเคราะห์โลหะด้วยเครื่อง AAS (100) โดยวิธี AOAC (2000)

เปรียบเทียบปริมาณธาตุอาหารในสาหร่าย และในน้ำซึ่งสามารถหาค่า Concentration factor ได้จากการคำนวณ (Lobban and Harrison, 1994) ดังนี้

$$\text{Concentration factor} = \frac{\text{ปริมาณโลหะหนักในสาหร่าย (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งของสาหร่าย)}}{\text{ปริมาณโลหะหนักในน้ำ (มิลลิลิตร)}}$$

2.2 การศึกษาสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ

นำต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่จากบ่อซิเมนต์ นำไปตรวจการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ และเลือกท่อนพันธุ์ที่ยังไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำที่มีความเค็ม 20 ppt นำมาเหนี่ยวนำด้วยวิธีต่าง ๆ โดยเริ่มจากปัจจัยที่คาดว่ามีผลต่อการเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุด ได้แก่

2.2.1 ความเค็มที่ระดับ 10, 15, 20, 25 และ 30 ppt นำมาเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส มาเลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร (mL) ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ท่อนพันธุ์ ที่ระดับความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ใช้สูตรอาหาร MGM (Guillard, 1975) ทำการตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

2.2.2 การผึ่งแห้ง โดยนำแทลลัสที่ยังไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ มาตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก นำมาเหนี่ยวนำที่ระดับการผึ่งแห้งที่เวลา 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง เลี้ยงที่ระดับอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ท่อนพันธุ์ ระดับความเค็มที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.2.1 ที่ระดับความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ใช้สูตรอาหาร MGM (Guillard, 1975) ทำการตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

2.2.3 ขนาดของท่อนพันธุ์ ตัดท่อนพันธุ์สาหร่ายที่ความยาวแตกต่างกัน 5 ขนาด ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 เซนติเมตร (cm) ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ท่อนพันธุ์ มาเลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ โดยใช้เงื่อนไขของความเค็ม และการผึ่งแห้งที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.2.1 และ 2.2.2 ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ใช้สูตรอาหาร MGM (Guillard, 1975) ตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

2.2.4 อุณหภูมิ โดยนำแทลลัสที่ยังไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มาตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก โดยใช้เงื่อนไขของความเค็ม การผึ่งแห้ง และขนาดท่อนพันธุ์ที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.2.1, 2.2.2 และ 2.2.3 เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ นำมาเหนี่ยวนำที่ระดับอุณหภูมิต่างกัน 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ท่อนพันธุ์ การให้แสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ใช้สูตรอาหาร MGM (Guillard, 1975) ทำการนับตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

2.2.5 แคลเซียม การเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ 0, 6, 12 และ 18 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L) ในน้ำเลี้ยงโดยนำแทลลัสที่ยังไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มาตัดเป็นชิ้นเล็กที่เงื่อนไขความเค็ม การผึ่งแห้ง ขนาดท่อนพันธุ์ และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.2.1, 2.2.2, 2.2.3 และ 2.2.4 เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 30 ท่อนพันธุ์ เลี้ยงที่ความเข้มแสง 60 μmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ใช้สูตรอาหาร MGM (Guillard, 1975) ทำการตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

2.3 การศึกษาวิธีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ด้วยปัจจัยต่าง ๆ

โดยนำต้นพันธุ์ที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แล้ว ขนาดท่อนพันธุ์ 3 เซนติเมตร การเลี้ยงที่ระดับความเค็ม 25 ppt อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง มากระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ โดยเลี้ยงในจานพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร ต้นพันธุ์จานละ 1 ต้น ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ ใส่อาหาร MGM (Guillard, 1975) ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยเริ่มจากปัจจัยที่คาดว่ามีผลต่อการกระตุ้นการปล่อยสปอร์มากที่สุด ด้วยปัจจัยต่าง ๆ 3 ด้าน ปัจจัยความเค็ม การให้แสงที่ระดับแตกต่างกัน และการผึ่งแห้งดังต่อไปนี้

2.3.1 ความเค็ม

นำสาหร่ายมากระตุ้นที่ระดับความเค็ม 5, 10, 15, 20 และ 25 ppt โดยนำแทลลัสที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มาตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยใช้ความยาว 3 เซนติเมตร ภายใต้การเลี้ยงอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ที่ระดับความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนสปอร์ด้วยสไลด์ Haemacytometer ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน จนกว่าจะมีการปล่อยสปอร์จนหมดต้นพันธุ์

2.3.2 ระดับการให้แสง

นำสาหร่ายมากระตุ้นที่ระดับแสงสูงที่ 20, 80, 100 และ 150 µmol m^{-2} s^{-1} เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยนำแทลลัสที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แล้วมาตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยใช้ท่อนพันธุ์ความยาว 3 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทดลองในห้องปฏิบัติการ เลี้ยงที่ระดับอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการนับจำนวนสปอร์ด้วยสไลด์ Haemacytometer ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน จนกระทั่งมีการปล่อยสปอร์จนหมดต้นพันธุ์

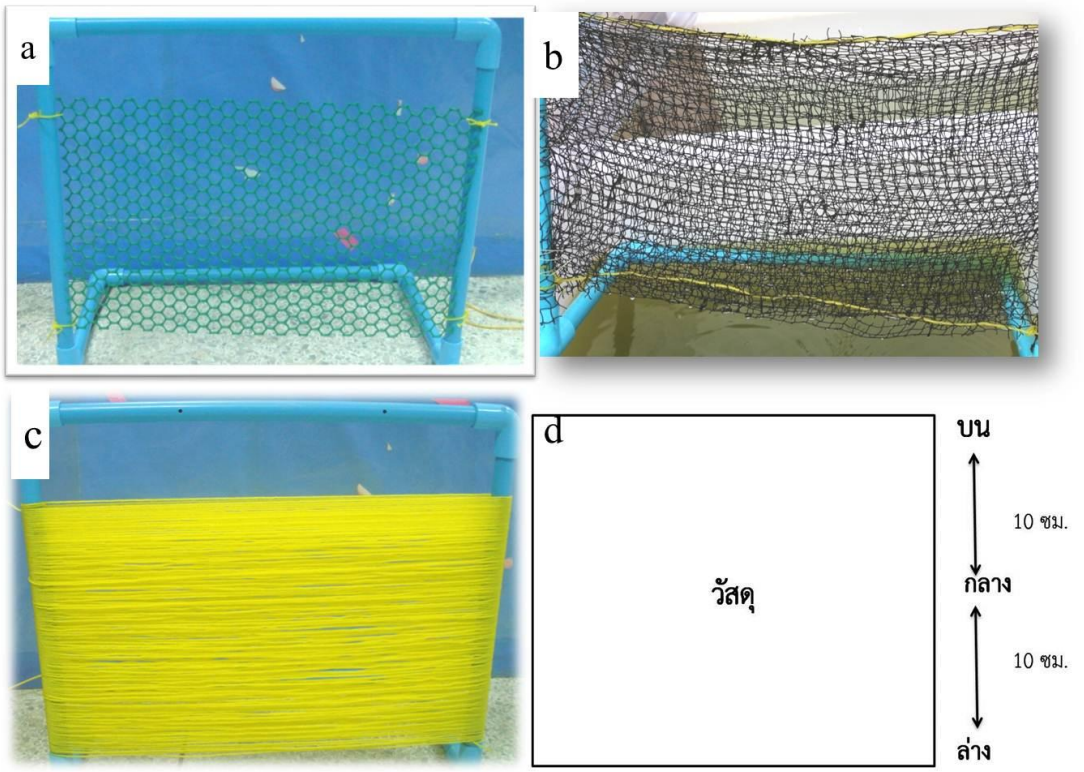
2.3.3 เวลาการผึ่งแห้ง

นำมากระตุ้นที่การผึ่งแห้งที่ระยะเวลาแตกต่างกัน ได้แก่ 0, 1, 2 และ 3 ชั่วโมง โดยนำแทลลัสที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แล้วมาตัดแทลลัสเป็นชิ้นเล็ก ๆ โดยใช้ความยาว 3 เซนติเมตร เลี้ยงที่ระดับความเค็มที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.3.1 วางทดลองในห้องปฏิบัติการ ที่ระดับอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ระดับความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} การให้แสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการนับจำนวนสปอร์ด้วยสไลด์ Haemacytometer ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน จนกระทั่งมีการปล่อยสปอร์จนหมดต้นพันธุ์

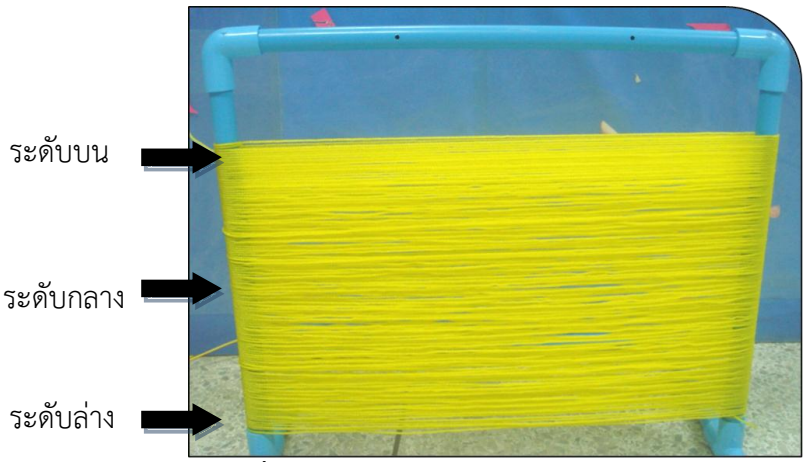
Prince of Songkla University Pattani Campus

2.4 การศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่

โดยใช้วัสดุเกาะแตกต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ แผ่นพลาสติกรังผึ้งขนาดตา 1 เซนติเมตร อวนเส้นด้าย ขนาดตา 2 เซนติเมตร (Critchley and Ohno, 1998) และเชือกโพลีเอทธีลีนเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 มิลลิเมตร (mm) ซึ่งพันกรอบสี่เหลี่ยมโดยมีขนาด 30x50 ตารางเซนติเมตร (ภาพที่ 4) ใช้ดักสปอร์ในถังพลาสติกสี่เหลี่ยมปริมาตรน้ำ 150 ลิตร ที่สภาวะกลางแจ้ง มีสปอร์ว่ายอยู่ในมวลน้ำที่ระดับความหนาแน่น $3.3x10^{7}$ สปอร์/มิลลิลิตร ทำการสุ่มตัวอย่างสปอร์ในนั้น 1 ตารางเซนติเมตร ที่ระดับความสูงทุก 10 เซนติเมตร คือ ระดับบน กลาง และล่างของกรอบสี่เหลี่ยม (ภาพที่ 5) โดยตัดชิ้นส่วนเชือกยาว 3 เซนติเมตร พลาสติกรังผึ้ง 1 ตา และอวนเส้นด้าย 1 ตารางเซนติเมตร นำมาตรวจนับสปอร์ทุกวัน โดยการปัดออกจากวัสดุ ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ เลี้ยงระยะเวลา 14 วัน ทิ้งสปอร์ส่วนที่เหลือทิ้งไว้ให้เกิดการเกาะกันเองเป็นกลุ่มก้อน (germling cluster) ตามวิธีของ Hiraoka and Oka (2008)



ภาพที่ 4 วัสดุเกาะชนิดต่าง ๆ แผ่นพลาสติกรังผึ้ง (a), อวนเส้นด้าย (b), เชือกโพลีเอทธีลีน (c), ระดับต่าง ๆ ที่เก็บวัสดุ (d)



ภาพที่ 5 ระดับการเก็บวัสดุเกาะของสปอร์สาหร่าย *U. intestinalis*

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2.5.1 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยสภาพแวดล้อม และธาตุอาหารในแหล่งน้ำ และในสาหร่ายกับรูปแบบการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ ใช้สถิติ t-test และสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) ตามวิธีการของ Steel and Torrie (1980) เรียบเรียงไว้

2.5.2 การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบรูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จำนวนสปอร์ที่ปล่อย และปริมาณสปอร์ที่เกาะวัสดุชนิดต่าง ๆ ใช้วิธีวิเคราะห์ความผันแปร (Analysis of Variance) แบบแจกแจงทางเดียว และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นคู่แบบ Tukey HSD[a] (Steel and Torrie, 1980)

2.6 วัสดุ และอุปกรณ์

2.6.1 วัสดุ

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

- Sulfuric acid (H_2SO_4)
- Ascorbic acid
- Ammonium molybdate ($(NH_4)\ 6Mo7O_2.H_2O$)
- Potassium antimonyl tartrate ($K(SbO)\ C4H_4O6.1/2H_2O$)
- Ammonium chloride (NH_4Cl)
- Mercuric chloride ($HgCl_2$)

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหารในสาหร่าย และในน้ำ

- Hydrochloric acid (HCl)
- Nitric acid (HNO_3)
- Hipercloric ($HClO_4$)

สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหาร และเตรียมน้ำ เลี้ยงสาหร่าย

- Sodium Nitrate ($NaNO_3$)

Prince of Songkla University Pattani Campus

- Disodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4)
- Ferrous sulfate ($FeSO_4$)
- Disodium EDTA (Na_2 EDTA)

สไลด์นับตัวอย่าง Haemacytometer (BOECO)
ขวดแก้ว vial 20-50 mL
เครื่องแก้วในการเลี้ยงสาหร่าย และวิเคราะห์น้ำ
ถุงกรองน้ำใยละเอียด
อุปกรณ์ให้อากาศ ได้แก่ เครื่องปั๊มลม หัวทรายและสายยาง
กระดาษกรองใยแก้ว
ถังพลาสติกสี่เหลี่ยมขนาด 200 ลิตร
ขวดโหลเลี้ยงสาหร่ายในห้องปฏิบัติการขนาด 6 ลิตร
หลอดไฟขนาด 220 วัตต์ (Phillip)

2.6.2 อุปกรณ์

1) ตู้อบแบบเป่าลมร้อน (BINDER)
2) หม้อนึ่งความดันไอ (HIRAYAMA)
3) เครื่อง AAS รุ่น (Perkins Elmer Analyst 100)
4) กล้องจุลทรรศน์เลนส์ประกอบ (OLYMPUS)
5) เครื่องวัดความเค็ม ชนิดหักเหของแสง (ATAGO)
6) pH meter (DELTA 320, TOLEDO)
7) Water bath (MEDICO)
8) เทอร์มอมิเตอร์ (SHENG ZHAN)
9) เครื่องเขย่า (VORTEX GENIE 2)
10) เครื่องวัดแสง (DL-204, TENMARS)

2.7 สถานที่ทำการวิจัย

อาคาร 26 อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการประมง แผนกวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

3.1.1 ผลของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่จากแหล่งอาศัยที่แตกต่างกัน

1) ลักษณะของต้นพันธุ์สาหร่าย และสภาพแวดล้อม

ต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่จากบ่อซิเมนต์ บริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี พบว่าแทลลัสมีขนาดเส้นเล็ก และเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเลี้ยงหลายสัปดาห์ ลอยบริเวณผิวน้ำ (ภาพที่ 6a) สาหร่ายที่ลอยบริเวณผิวน้ำมีสีเขียวอ่อน บางต้นพันธุ์มีการพองเป็นหลอดกลวง ต้นพันธุ์ที่อยู่บริเวณผิวน้ำน้ำมีสีเขียวเข้มลักษณะหงิกงอ สาหร่ายไส้ไก่ที่เลี้ยงในบ่อซิเมนต์มีรูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรือแบบแกมีต (gametes) ร้อยละ 100±0 (ตารางที่ 5) โดยสาหร่ายมีความยาวเฉลี่ย 14±2 เซนติเมตร (cm) ความกว้างเฉลี่ย 2±0 มิลลิเมตร (mm) (ตารางที่ 6) ตรวจสอบคุณภาพน้ำ พบว่า ระดับอุณหภูมิในช่วง 31±0 องศาเซลเซียส (ºC) ในระดับความเค็ม 20±0 ppt ปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัสอยู่ในช่วง 0.12±0.04 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L) ปริมาณ ไนเตรท-ไนโตรเจน 0.005±0.000 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าความเข้มแสง 1,142±121 µmol m^{-2} s^{-1} มีการให้อาหาร MGM pH 7.8±0.2 ปริมาณความกระด้าง 2,586±29 มิลลิกรัม/ลิตร ความเป็นด่าง 130±1 มิลลิกรัม/ลิตร (ตารางที่ 6)

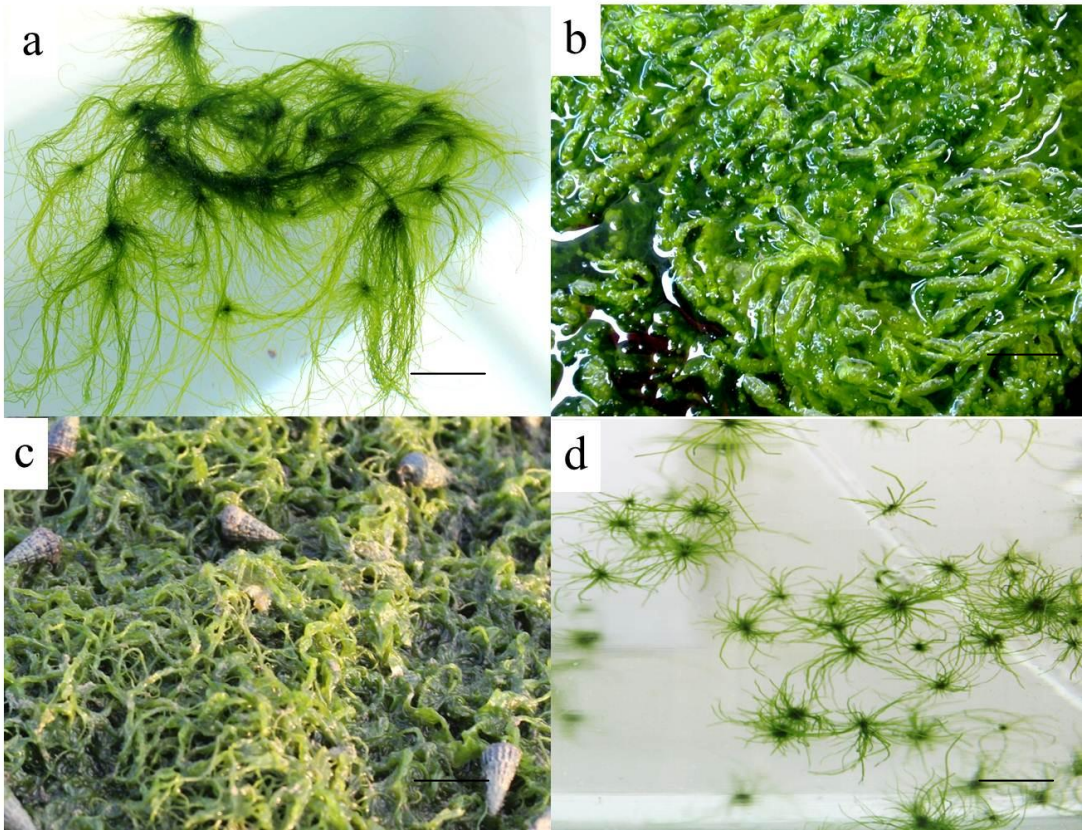
สาหร่ายที่เก็บจากบ่อดินบริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี แทลลัสที่บริเวณผิวน้ำมีสีเขียวอ่อนถึงเหลือง (ภาพที่ 6b) ลักษณะหงิกงอมีขนาด 2.1±0.0 มิลลิเมตร ความยาวประมาณ 9.7±0.1 เซนติเมตร (ตารางที่ 5) พบสาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีตร้อยละ 100±0 (ตารางที่ 5) pH ของน้ำอยู่ระหว่าง 8.3±0.0 ความเป็นด่างของน้ำอยู่ในช่วง 127±1 มิลลิกรัม/ลิตร ความกระด้าง 2,068±79 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน 0.0008±0.0003 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส 0.03±0.00 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าความเข้มแสง 1,137±125 µmol $m^{-2}s^{-1}$ (ตารางที่ 6)

สาหร่ายที่เก็บรวบรวมจากบริเวณชายฝั่งปัตตานีซึ่งอยู่บริเวณน้ำขึ้น น้ำลง แทลลัสมีขนาด 2.0±0.0 มิลลิเมตร ยาว 13.1±1.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 5) แทลลัสมีสีเขียวถึงเขียวเข้ม หงิกงอคล้ายลำไส้ พบมีการปนเปื้อนของหอยขี้นก (ภาพที่ 6c) มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีตร้อยละ 100±0 (ตารางที่ 5) pH ของน้ำอยู่ระหว่าง 8.0±0.0 ความเป็นด่างของน้ำอยู่ในช่วง 131±3 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณความกระด้าง 2,308±89 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน 0.0002±0.0000 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส 0.05±0.10 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าความเข้มแสง 967±92 µmol $m^{-2}s^{-1}$ (ตารางที่ 6)

สาหร่ายที่เก็บจากห้องปฏิบัติการมีแทลลัสขนาดเล็ก มีความกว้างของแทลลัสน้อย (ภาพที่ 6d) มีการปนเปื้อนน้อย พบการสร้างเซลล์แบบซูโอสปอร์ (zoospore) ร้อยละ 100±0 (ตารางที่ 5) มี

สีเขียว ขนาดแทลลัส 1.9±0.0 มิลลิเมตร ความยาว 9.5±0.4 เซนติเมตร (ตารางที่ 5) pH ของน้ำอยู่ระหว่าง 8.12 ความเป็นด่างของน้ำอยู่ในช่วง 123±3 มิลลิกรัม/ลิตร ความกระด้าง 2,957±45 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน 0.0001±0.0000 มิลลิกรัม/ลิตร ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส 0.0034±0.0003 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าความเข้มแสง 60±0 μmol m^{-2} s^{-1} (ตารางที่ 6)

ผลของสภาพแวดล้อมต่อการสืบพันธุ์พบว่า สาหร่ายที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซิเมนต์ และอ่าวปัตตานีมีการสืบพันธุ์แบบแกมีต ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง (ตารางที่ 8 และตารางที่ 10) และความยาวต้นพันธุ์สาหร่าย (ตารางที่ 7 และตารางที่ 9) และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน ในแหล่งน้ำ (ตารางที่ 8 และที่ 10) สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการพบการสืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณความกระด้าง และความเค็มในแหล่งน้ำ (ตารางที่ 8และตารางที่ 10)



ภาพที่ 6 ลักษณะต้นพันธุ์สาหร่ายที่เก็บจากแหล่งต่าง ๆ
สาหร่ายที่เก็บจาก บ่อซิเมนต์ (a), สาหร่ายที่เก็บจากบ่อดิน (b)
สาหร่ายที่เก็บจากอ่าวปัตตานี (c), สาหร่ายที่เก็บจากห้องปฏิบัติการ (d)

ตารางที่ 5 ความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U.intestinalis* จากสถานที่ต่าง ๆ (n=30)

ปัจจัย	ค่า	แหล่งของต้นพันธุ์			
		บ่อดิน	ชายฝั่งปัตตานี	บ่อซิเมนต์	ห้องปฏิบัติการ
ความกว้าง (mm)	min	1.0	1.0	1.0	1.0
	max	3.6	4.4	3.6	3.3
	mean	2.0	2.0	1.8	1.9
	SE	0.0	0.0	0.0	0.0
ความยาว (cm)	min	6.2	7.0	5.1	4.0
	max	16.0	25.1	26.0	17.0
	mean	9.7	13.0	13.7	9.4
	SE	0.1	1.6	2.4	0.4
เซลล์สืบพันธุ์		G (100%)	G (100%)	G (100%)	Z (100%)

หมายเหตุ Gamete (G) Zoospore (Z)

ตารางที่ 6 ลักษณะการอยู่อาศัย และสิ่งแวดล้อมของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* จากสถานที่ต่าง ๆ

ปัจจัย	แหล่งของต้นพันธุ์			
	บ่อดิน	ชายฝั่งปัตตานี	บ่อซิเมนต์	ห้องปฏิบัติการ
การอยู่อาศัย	ลอยผิวน้ำ	ติดบนพื้นโคลน	ลอยผิวน้ำ	ลอยกลางมวลน้ำ
ลักษณะท่อนพันธุ์	หงิกงอ	หงิกงอ	เรียวเล็ก	เรียวเล็ก
สี	เขียวอ่อน	เขียว	เขียว	เขียวเข้ม
ความเป็นด่าง (mg/L)	127±1	131±4	130±2	123±3
ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (mg/L)	0.03±0.00	0.05±0.10	0.12±0.04	0.003±0.000
ไนเตรท-ไนโตรเจน (mg/L)	0.0008±0.0003	0.00±0.00	0.005±0.000	0.0001±0.0000
ความกระด้าง (mg/L)	2,069±79	2,308±89	2,586±29	2,957±45
pH	8.3±0.0	8.0±0.0	7.8±0.1	8.1±0.0
ความเค็ม (ppt)	20±0	22±0	20±0	25±0
อุณหภูมิอากาศ (°C)	34±0	32±19	31±0	25±1
อุณหภูมิน้ำ (°C)	35±0	33±0	32±0	25±0
ความเข้มแสง ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	1,137±125	967±92	1,142±121	60±0

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์สาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

ปัจจัย	ชนิดเซลล์สืบพันธุ์		
	แกมีต	ซูโอสปอร์	t-test
ความกว้าง (mm)	1.98±0.07	1.90±0.00	1.175 ^{ns}
ความยาว (cm)	12.13±1.04	9.47±4.26	2.369*

หมายเหตุ:ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=30)

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤0.01)

ns=non-significant

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบคุณสมบัติน้ำบางประการกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

คุณภาพน้ำ	ชนิดของต้นพันธุ์		
	แกมีต	ซูโอสปอร์	t-test
ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส (mg/L)	0.07±0.01	0.00±0.00	4.684**
อัลคาไลด์ (mg/L)	129±1	123±3	2.212 ^{ns}
ไนเตรท-ไนโตรเจน (mg/L)	0.002±0.001	0.000±0.000	2.433**
ความกระด้าง (mg/L)	2,321±82	2,957±45	-6.745*
pH	8.02±0.07	8.10±0.00	-1.024 ^{ns}
ความเค็ม (ppt)	20±0	25±0	-130.000 **
อุณหภูมิน้ำ (°C)	32±0	25±0	16.416 ^{ns}
อุณหภูมิอากาศ (°C)	33±0	24±0	11.649 ^{ns}
ความเข้มแสง (μmol m^{-2} s^{-1})	1,081±63	60.0±0.5	16.0004 **

หมายเหตุ:ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n=30)

*แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤01)

ns=non-significant

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้าง และความยาวของต้นพันธุ์กับชนิดเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

	ซูโอสปอร์	แกมีต	ความกว้างต้นพันธุ์	ความยาวต้นพันธุ์
ซูโอสปอร์	1.000	-1.000**		
แกมีต	-1.000**	1.000		
ความกว้างต้นพันธุ์			1.000	
ความยาวต้นพันธุ์				1.000

หมายเหตุ:*มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

**มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤01)

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำบางประการกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

	ซูโอสปอร์	แกมีต	ฟอสเฟต	ความเป็นด่าง	ไนเตรท	ความกระด้าง	pH	ความเค็ม	อุณหภูมิน้ำ	อุณหภูมิอากาศ	ความเข้มแสง
ซูโอสปอร์	1.00	-1.00**	-0.63*	-0.58*		0.80**		0.91**			-0.94**
แกมีต	-1.00**	1.00	0.63*	0.58*		-0.80**		-0.91**			0.94**
ฟอสเฟต	-0.63*	0.63*	1.00		0.90**		-0.75**	-0.67*			0.65*
ความเป็นด่าง	-0.58*	0.58*		1.00							0.60*
ไนเตรท			0.90**		1.00		-0.67*				
ความกระด้าง	0.80**	-0.80**				1.00		0.72**	-0.89**	-0.87**	-0.71**
pH			-0.75**		-0.67*		1.00		-0.87**	-0.92**	-0.92**
ความเค็ม	0.91**	-0.91**	-0.67*			0.72**		1.00			

Prince of Songkla University Pattani Campus

	ซูโอสปอร์	แกมีต	ฟอสเฟต	ความเป็นด่าง	ไนเตรท	ความกระด้าง	pH	ความเค็ม	อุณหภูมิน้ำ	อุณหภูมิอากาศ	ความเข้มแสง
อุณหภูมิอากาศ	-0.92**	0.92**				-0.89**		-0.87**	1.00	0.98**	0.88**
อุณหภูมิน้ำ	-0.96**	0.96**				-0.87**		-0.92**	0.98**	1.00	0.91**
ความเข้มแสง	-0.943**	0.943**	0.655*	0.604*		-0.717**		-0.924**	0.883**	0.915**	1.000

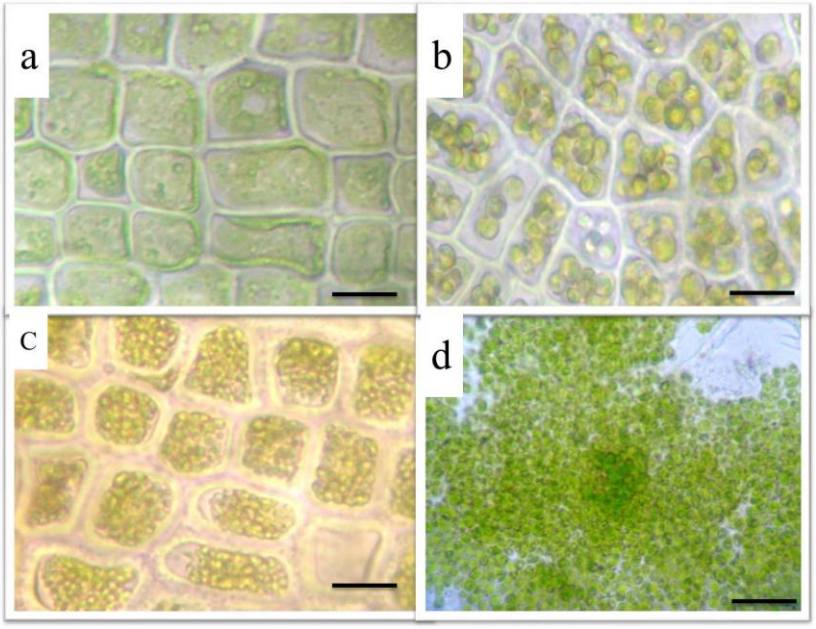
หมายเหตุ:*มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

**มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤01)

Prince of Songkla University Pattani Campus

2) ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

ลักษณะเซลล์ของสาหร่ายไส้ไก่มีรูปร่างหลายเหลี่ยมเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ ขนาดของเซลล์ก่อนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เส้นผ่านศูนย์กลาง 7±1 ไมโครเมตร (μm) ขอบเซลล์มีคลอโรพลาสต์ข้างในเซลล์พบไพรีนอยด์ 2.0±0.6 (ภาพที่ 7a) เมื่อเซลล์มีการสร้างสปอร์โดยการแบ่งตัวของโพรโทพลาสต์ภายในหนึ่งเซลล์มีโพรโทพลาสต์ 13±3 โพรโทพลาสต์/เซลล์ เมื่อมีการปล่อยสปอร์ ต้นพันธุ์ส่วนใหญ่จะเริ่มปล่อยสปอร์ตามส่วนต่าง ๆ ของท่อนพันธุ์แต่ละท่อนพันธุ์ บริเวณการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์จะต่างกัน โดยสาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในรูปแบบอาศัยเพศหรือแกมีต ซึ่งมีลักษณะเรียว มีแฟลกเจลลัม 2 เส้น (ภาพที่ 7c) และแบบไม่อาศัยเพศโดยจะสร้างซูโอสปอร์ สปอร์มีลักษณะกลม–รี (ภาพที่ 7b) มีแฟลกเจลลัม 4 เส้น ทั้งนี้การสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ขึ้นอยู่กับปัจจัยสภาพแวดล้อม เมื่อเซลล์สืบพันธุ์สมบูรณ์ เซลล์สืบพันธุ์จะว่ายควงสว่านตั้งแต่ในเซลล์ แล้วออกจากเซลล์ ลอยตามมวลน้ำ จากนั้นภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (ชม.) สปอร์จะสลัดแส้ แล้วเกาะกับภาชนะ โดยธรรมชาติแล้วสปอร์ชอบว่ายเข้าหาแสงก่อนที่จะสลัดแส้ ยึดเกาะกับสถานที่นั้น ๆ หรือมีการเกาะกลุ่มกัน (ภาพที่ 7d) แบ่งเซลล์เพื่อเจริญเติบโตเป็นต้นพันธุ์ เซลล์ต้นพันธุ์สาหร่ายที่ปล่อยสปอร์แล้วจะว่างเปล่ามีสีขาวใส และย่อยสลายต่อไป



ภาพที่ 7 ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* สเกล a-d=5 μm
(a) ลักษณะเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ยังไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์
(b) เซลล์สืบพันธุ์แบบอับซูโอสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*
(c) เซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีตของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*
(d) สปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่เกาะกลุ่มกัน

3.1.2 ผลการตรวจสอบธาตุอาหารบางชนิดในน้ำและในสาหร่าย

ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่บริเวณอ่าวปัตตานีพบปริมาณ เหล็ก (Fe) สังกะสี (Zn) และแมงกานีส (Mn) มากกว่าในน้ำ ตามลำดับ โดยค่า Concentration factor พบว่ามีปริมาณ Fe สูงกว่าในน้ำ 10 เท่า ปริมาณ Zn และ Mn สูงกว่าในน้ำ 7 และ 4 เท่า ตามลำดับ ทั้งนี้พบปริมาณคอปเปอร์ (Cu), โครเมียม (Cr) และ แคลเซียม (Ca) น้อยกว่าในแหล่งน้ำ (ตารางที่ 11 ภาพที่ 9a และภาพที่ 8)

ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบปริมาณ Zn และ Fe สูงกว่าในน้ำโดยมีค่า Concentration factor สูงกว่าในน้ำ 3 และ 2 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่พบปริมาณ Cu, Mn, Cr และ Ca น้อยกว่าในแหล่งน้ำตามลำดับ (ตารางที่ 11 ภาพที่ 7b และภาพที่ 8)

ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่บริเวณบ่อซิเมนต์พบปริมาณ Mn, Fe, Cu และ Zn สูงกว่าในน้ำตามลำดับ โดยมีค่า Concentration factor สูงกว่าในน้ำ 30, 15, 2 และ 1 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่พบปริมาณ Cr และ Ca ในสาหร่ายน้อยกว่าในน้ำตามลำดับ (ตารางที่ 11 ภาพที่ 7c และภาพที่ 8)

ปริมาณธาตุอาหารในสาหร่ายไส้ไก่บริเวณบ่อดินพบปริมาณ Mn, Zn และ Fe มากกว่าในน้ำตามลำดับโดยค่า Concentration factor สูงกว่าในน้ำ 28, 12 และ 9 เท่า ตามลำดับ ทั้งนี้พบปริมาณ Cr, Ca และ Cu น้อยกว่าในแหล่งน้ำ ตามลำดับ (ตารางที่ 11 ภาพที่ 7d และภาพที่ 8)

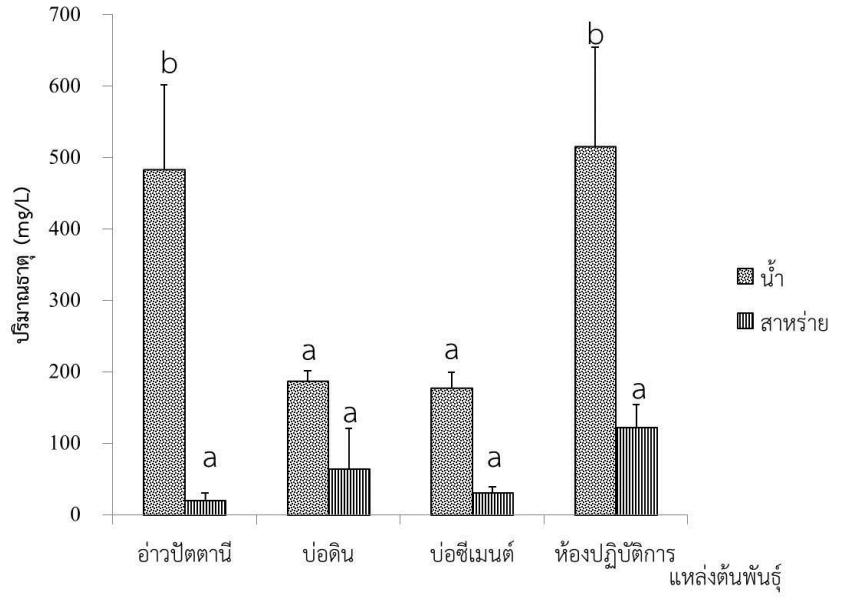
ผลของธาตุอาหารบางชนิดในแหล่งน้ำ และในสาหร่ายจากแหล่งต่างกันพบว่า สาหร่ายที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซิเมนต์ และอ่าวปัตตานี มีการสืบพันธุ์แบบแกมีต มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณธาตุ Mn และ Cr ในแหล่งน้ำ ในขณะที่สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการ พบการสืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับแคลเซียมในสาหร่าย (ดังตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 ปริมาณค่าเฉลี่ยของสารอาหารบางชนิดในสาหร่ายไส้ไก่ *U.intestinalis* (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง) และน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร) และค่า Concentration factor จากแหล่งต้นพันธุ์แตกต่างกัน

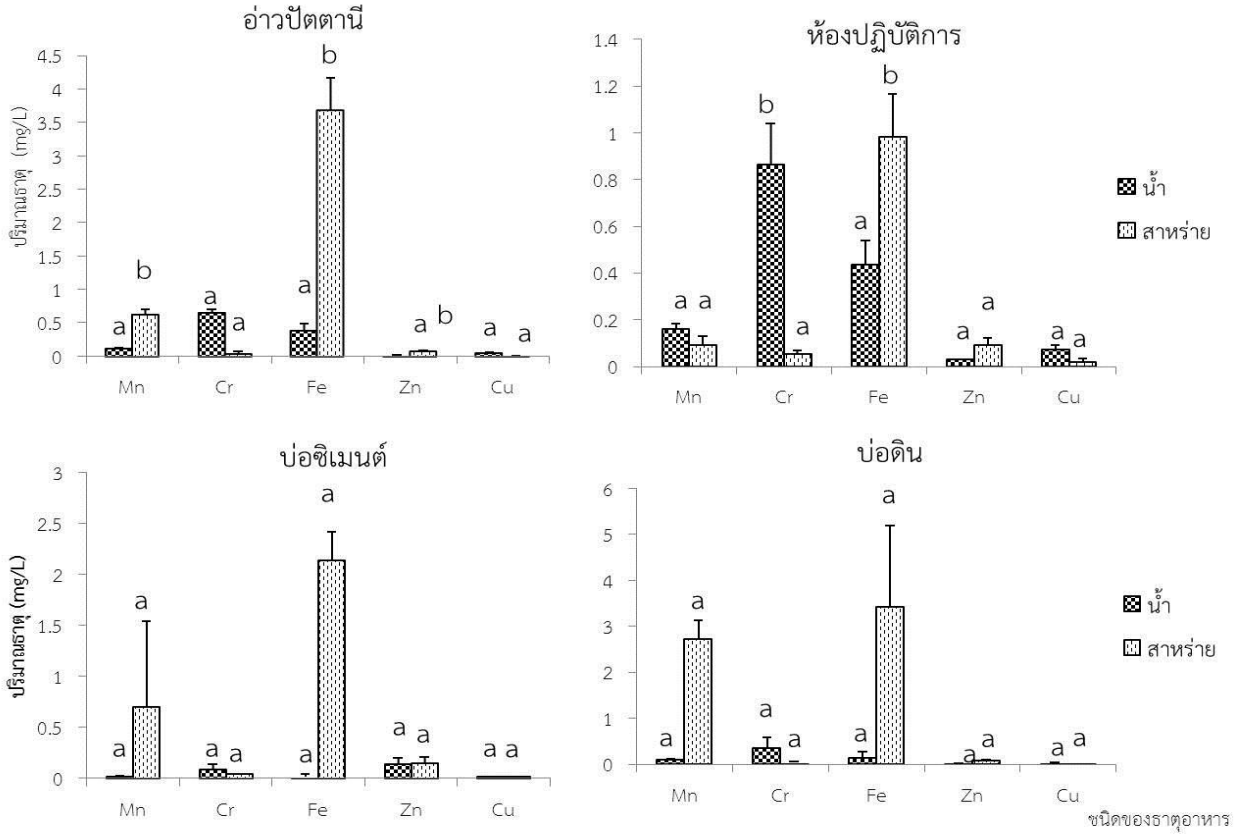
สารอาหาร		แหล่งต้นพันธุ์			
		อ่าวปัตตานี	บ่อดิน	ซีเมนต์	ห้องปฏิบัติการ
สาหร่าย	Mn	2.605±3.426 [a]	2.728±0.407 [a]	0.708±0.835 [a]	0.092±0.037 [a]
	Cr	0.045±0.025 [a]	0.058±0.024 [a]	0.045±0.009 [a]	0.054±0.013 [a]
	Cu	0.006±0.006 [a]	0.006±0.001 [a]	0.022±0.012 [a]	0.005±0.013 [a]
	Fe	7.022±5.806 [b]	3.106±2.313 [b]	2.144±0.273 [ab]	0.982±0.182 [a]
	Zn	0.045±0.032 [a]	0.062±0.026 [a]	0.152±0.055 [a]	0.092±0.027 [a]
	Ca	0.894±0.773 [a]	2.213±0.839 [ab]	1.560±0.232 [a]	4.515±3.984 [b]

สารอาหาร		แหล่งต้นพันธุ์			
		อ่าวปัตตานี	บ่อดิน	ซีเมนต์	ห้องปฏิบัติการ
น้ำ	Mn	0.128±0.006 [b]	0.062±0.043 [b]	0.024±0.013 [a]	0.160±0.021 [b]
	Cr	0.659±0.040 [bc]	0.290±0.308 [ab]	0.078±0.072 [a]	0.864±0.175 [c]
	Cu	0.062±0.006 [ab]	0.073±0.019 [b]	0.037±0.026 [a]	0.017±0.010 [b]
	Fe	0.386±0.101 [bc]	0.139±0.134 [ab]	0.016±0.027 [a]	0.435±0.103 [c]
	Zn	0.013±0.007 [a]	0.008±0.003 [a]	0.144±0.096 [b]	0.029±0.000 [ab]
	Ca	483.73±118.44 [b]	187.98±14.08 [a]	177.91±21.81 [a]	515.0±139.0 [b]
Concen	Mn	4.952±0.423 [a]	28.45±15.59 [a]	30.18±34.24 [a]	0.601±0.289 [a]
tration	Cr	0.070±0.040 [a]	0.221±0.181 [a]	0.583±0.297 [a]	0.065±0.023 [a]
factor	Cu	0.102±0.101 [a]	0.358±0.404 [a]	1.953±2.006 [a]	0.277±0.189 [a]
	Fe	10.101±3.633 [a]	9.385±9.189 [a]	14.823±25.675 [a]	2.346±0.729 [a]
	Zn	7.745±4.955 [a]	12.430±4.346 [a]	1.461±0.912 [a]	3.164±0.974 [a]
	Ca	0.042±0.022 [a]	0.359±0.333 [a]	0.179±0.024 [a]	0.254±0.110 [a]

หมายเหตุ :ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 8 ปริมาณแคลเซียมในน้ำ และสาหร่ายจากแหล่งต้นพันธุ์ที่แตกต่างกัน 4 แหล่ง ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 9 สารอาหาร Mn, Cr, Fe, Zn และ Cu ในสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* และในน้ำ จากสถานที่ต่างกัน : อ่าวปัตตานี (a), ห้องปฏิบัติการ (b), บ่อซิเมนต์ (c), บ่อดิน (d)
ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบสารอาหารในสาหร่าย และน้ำกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

สารอาหาร		ชนิดเซลล์สืบพันธุ์		t
		แกมีต	ซูโอสปอร์	
ธาตุในสาหร่าย	Mn	2.0141±0.6760	0.0924±0.0214	2.841^{ns}
	Cr	0.0500±0.0064	0.0546±0.0080	-0.446^{ns}
	Cu	0.0119±0.0035	0.0203±0.0076	-1.001^{ns}
	Fe	0.1808±0.0615	0.4353±0.0597	2.567^{ns}
	Zn	0.1083±0.0158	0.0930±0.0159	0.683^{ns}
	Ca	1.8684±0.2350	4.5152±2.300	-1.145**
ธาตุในแหล่งน้ำ	Mn	0.1601±0.0122	0.0720±0.0170	-4.212*
	Cr	0.8642±0.1013	0.3427±0.1002	-3.660*
	Cu	0.0392±0.0081	0.0733±0.0113	-2.437^{ns}
	Fe	0.1808±0.0615	0.4353±0.0597	-2.968^{ns}
	Zn	0.0555±0.0275	0.0295±0.0003	0.943^{ns}
	Ca	283.2116±54.0700	515.7100±80.4700	-2.398^{ns}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

** แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤0.01)

ns=non-significant

ตารางที่ 13 การหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารในสาหร่ายกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

	Zoospore	gamete	Mn	Cr	Cu	Fe	Zn	Ca
Zoospore	1.000	-1.000**						
gamete	-1.000**	1.000						
Mn			1.000			0.852**		
Cr				1.000				
Cu					1.000			
Fe			0.852**			1.000		
Zn							1.000	
Ca								1.000

* มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05)

** มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p≤0.01)

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 14 การหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารในแหล่งน้ำกับชนิดเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

	Zoospore	gamete	Mn	Cr	Cu	Fe	Zn	Ca
Zoospore	1.000	-1.000**	0.66*	0.662*				
gamete	-1.000**	1.000	-0.66*	-0.662*				
Mn	0.668*	-0.668*	1.000	0.993**	0.993**	0.967**		0.860**
Cr	0.662*	-0.662*	0.993**	1.000	0.959**	0.967**		0.860**
Cu			0.963**	0.959**	1.000	0.923**		0.859**
Fe			0.967**	0.923**		1.000		0.832**
Zn							1.000	
Ca			0.876**	0.860**	0.859**	0.832**		1.000

* มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

** มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p \leq 0.01$)

3.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการด้วยปัจจัยต่าง ๆ

3.2.1 ปัจจัยด้านความเค็มต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

การทดลองด้านความเค็ม พบว่า ความเค็มสามารถเหนี่ยวนำให้สร้างอับซูโอสปอร์ (zoosporangium) โดยที่ระดับความเค็ม 15, 20, 25 และ 30 ppt สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ และที่ระดับความเค็ม 10 ppt สามารถสร้างเซลล์ได้ร้อยละ 18±3 ในวันที่ 2 ของการเหนี่ยวนำ โดยสามารถสร้างเซลล์ได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 6 ของการเหนี่ยวนำ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 10)

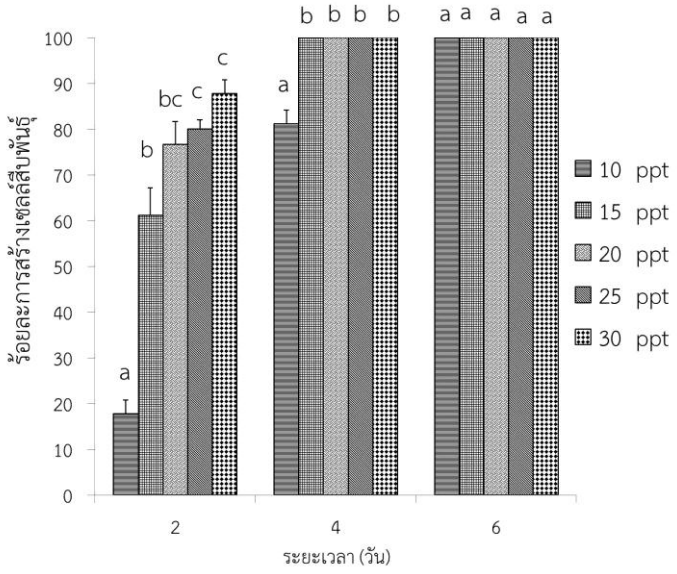
Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 15 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร (mL) ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน

เรื่อง	การทดลอง (วัน)	ความเค็ม (ppt)				
		10	15	20	25	30
การเหนี่ยวนำ (ร้อยละ)	2	18±3^{a}	61±6^{b}	77±5^{bc}	80±2^{c}	88±3^{c}
	4	81±3^{a}	100±0^{b}	100±0^{b}	100±0^{b}	100±0^{b}
	6	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}
ชนิดเซลล์สืบพันธุ์แบบ Zoospore (ร้อยละ)	2	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}
	4	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}
	6	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 10 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.2 ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

ผลของปัจจัยด้านการผึ่งแห้งพบว่า การผึ่งแห้งที่เวลา 0 ชั่วโมง หรือการไม่ผึ่งแห้งสามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างซูโอสปอร์ได้ร้อยละ 97±2 รองลงมาคือ ที่เวลาการผึ่งแห้ง 1 และ 2 ชั่วโมง มีการสร้างสปอร์ที่ร้อยละ 78±6 และ 46±3 ตามลำดับ ในวันที่ 2 ของการเหนี่ยวนำ โดยที่การผึ่งแห้งที่เวลา 0, 1 และ 2 ชั่วโมง สร้างสปอร์ได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ ขณะที่การผึ่งแห้งที่เวลา 3 ชั่วโมง ท่อนพันธุ์ไม่สร้างสปอร์ และตายในที่สุด (ตารางที่ 16 และภาพที่ 11)

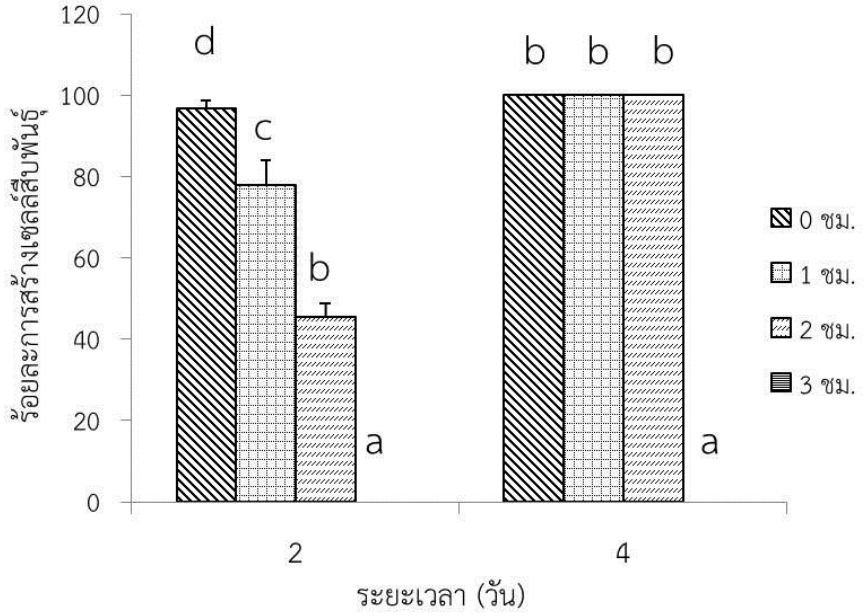
ตารางที่ 16 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่างๆ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน

เรื่อง	การทดลอง (วัน)	การผึ่งแห้ง (ชั่วโมง)			
		0	1	2	3
การเหนี่ยวนำ (ร้อยละ)	2	97±2^{d}	78±6^{c}	46±3^{b}	0±0^{a}
	4	100±0^{b}	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
ชนิดเซลล์สืบพันธุ์แบบ Zoospore (ร้อยละ)	2	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	0±0^{a}
	4	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	0±0^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 11 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งที่เวลาต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt ความเข้มแสง 60 $\mu molm^{-2} s^{-1}$ ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

3.2.3 ปัจจัยด้านขนาดท่อนพันธุ์ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

ผลของขนาดท่อนพันธุ์ต่างกันพบว่า ขนาดท่อนพันธุ์สามารถเหนี่ยวนำให้สร้างอับซูโอสปอร์ (zoosporangium) โดยที่ระดับความยาว 3 เซนติเมตร สามารถเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 90±3 รองลงมาคือ ที่ความยาวท่อนพันธุ์ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 เซนติเมตร สามารถเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 87±6, 80±8, 69±17 และร้อยละ 61±8 ตามลำดับ ในวันที่สองของการเหนี่ยวนำ ที่ความยาวท่อนพันธุ์ 0.5, 1.0 และ 2.0 เซนติเมตร สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 100±0 รองลงมาคือ ความยาวท่อนพันธุ์ 1.5 และ 3.0 เซนติเมตร สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 99±1 และ ร้อยละ 98±2 ตามลำดับ ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ โดยสามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 6 ของการเหนี่ยวนำ (ตารางที่ 17, ภาพที่ 12)

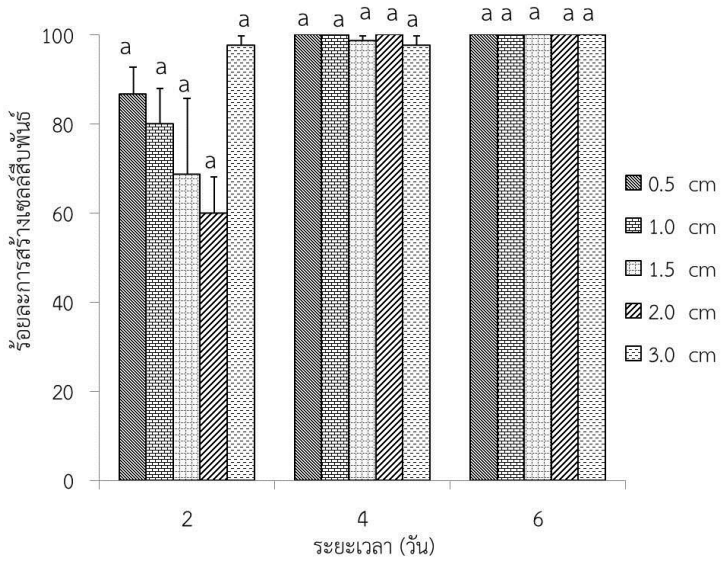
Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 17 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ขนาดท่อนพันธุ์ต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ในระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน

เรื่อง	การทดลอง	ขนาดท่อนพันธุ์ (cm)				
	(วัน)	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0
การเหนี่ยวนำ	2	87±6[a]	80±8[a]	69±17[a]	61±8[a]	90±2[a]
(ร้อยละ)	4	100±0[a]	100±0[a]	99±1[a]	100±0[a]	98±2[a]
	6	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
ชนิดเซลล์สืบพันธุ์แบบ	2	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
Zoospore	4	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
(ร้อยละ)	6	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 12 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ความยาวระดับต่าง ๆ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 6 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.2.4 ปัจจัยด้านอุณหภูมิต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

ผลของอุณหภูมิพบว่า ที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถสร้างสปอร์แบบซูโอสปอร์ได้ร้อยละ 61±9 ในวันที่ 2 ของการเหนี่ยวนำ และสามารถสร้างได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ รองลงมาคือ ที่ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 87±9 จนถึงวันที่ 14 ของการเหนี่ยวนำ นอกจากนั้นสาหร่ายไม่มีการสร้างเซลล์ และตายในที่สุด ส่วนที่ระดับอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สาหร่ายไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ตารางที่ 18 และภาพที่ 13)

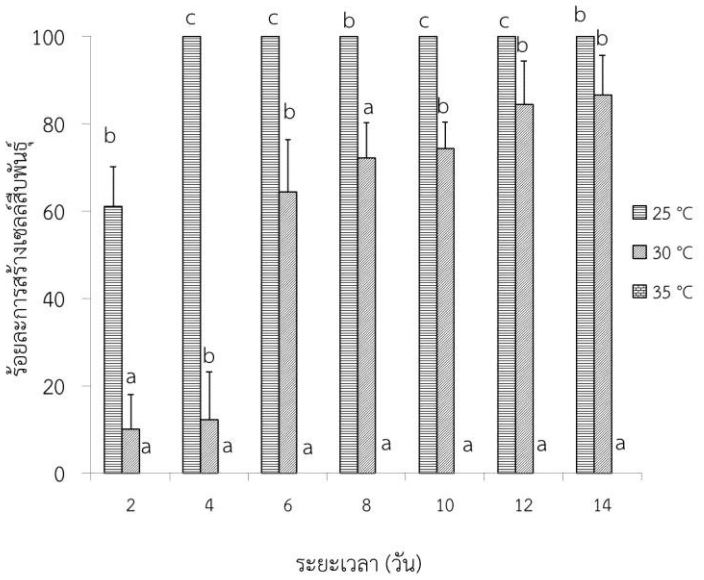
ตารางที่ 18 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร เวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน

เรื่อง	การทดลอง (วัน)	อุณหภูมิ (°C)		
		25	30	35
การเหนี่ยวนำ (ร้อยละ)	2	61±9^{b}	10±8^{a}	0±0^{a}
	4	100±0^{c}	12±11^{b}	0±0^{a}
	6	100±0^{c}	64±12^{b}	0±0^{a}
	8	100±0^{b}	72±8^{a}	0±0^{a}
	10	100±0^{c}	74±6^{b}	0±0^{a}
	12	100±0^{c}	84±10^{b}	0±0^{a}
	14	100±0^{b}	87±9^{b}	0±0^{a}
ชนิดเซลล์สืบพันธุ์แบบ Zoospore (ร้อยละ)	2	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	4	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	6	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	8	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	10	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	12	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}
	14	100±0^{b}	100±0^{b}	0±0^{a}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

:

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 13 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ที่ *U. intestinalis* ระดับอุณหภูมิต่าง ๆ ความเค็ม 25 ppt ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง: มืด 12:12 ชั่วโมง. ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

3.2.5 ปัจจัยด้านการเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

ผลของปัจจัยด้านการเพิ่มปริมาณแคลเซียมคลอไรด์ พบว่า การเพิ่มปริมาณสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของแคลเซียมคลอไรด์สามารถเหนี่ยวนำให้สร้างอับซูโอสปอร์ (zoosporangium) โดยที่การเติมสารละลายของแคลเซียมคลอไรด์ 6 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 100±0 รองลงมาคือ การเติมสารละลายของแคลเซียมคลอไรด์ปริมาณ 18, 12 และ 0 มิลลิกรัม/ลิตร สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 97±6, 96±5 และ 88±3 ตามลำดับ ในวันที่ 2 ของการเหนี่ยวนำ และสามารถสร้างสปอร์ได้ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ (ตารางที่ 19 และภาพที่ 14)

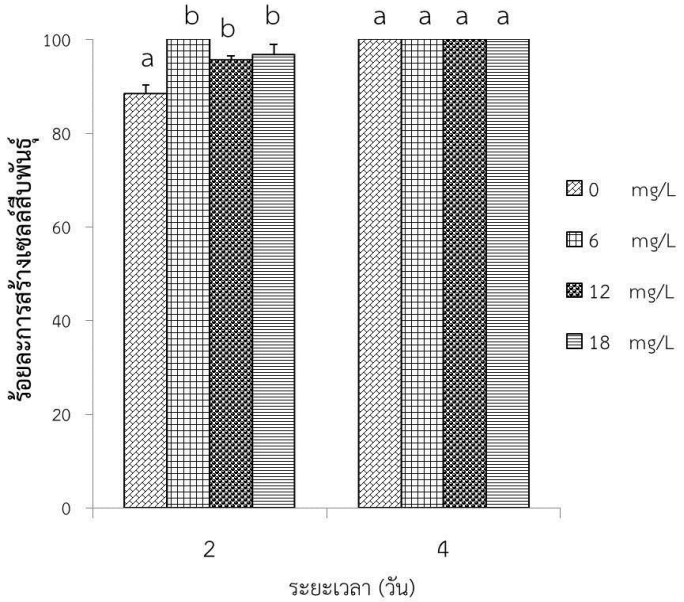
Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 19 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ที่ระดับการเพิ่มปริมานแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ในน้ำเลี้ยงระดับต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ในระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน

เรื่อง	การทดลอง (วัน)	ปริมาณแคลเซียม (mg/L)			
		0	6	12	18
การเหนี่ยวนำ (ร้อยละ)	2	88±3^{a}	100±0^{b}	96±5^{b}	97±6^{b}
	4	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}
ชนิดเซลล์สืบพันธุ์แบบ Zoospore (ร้อยละ)	2	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}
	4	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}	100±0^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 14 การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (ร้อยละ) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มสารแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ที่ระดับต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง เลี้ยงในขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.3 ผลของการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ด้วยปัจจัยต่าง ๆ

3.3.1 ปัจจัยด้านความเค็มต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

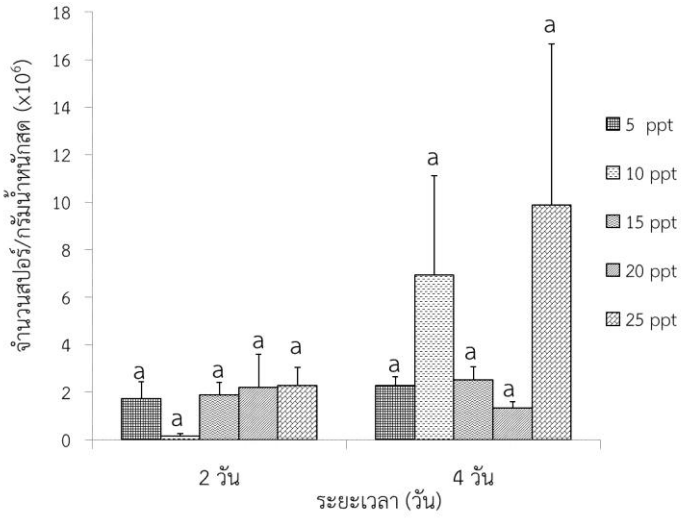
ผลของปัจจัยด้านความเค็มพบว่า ในวันที่ 2 ของการกระตุ้น ที่ระดับความเค็ม 25 ppt สามารถปล่อยซูโอสปอร์ถึง 2.29±0.76x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 20) รองลงมาคือ ระดับความเค็ม 20, 15, 5 และ 10 ppt โดยมีปริมาณสปอร์จำนวน 2.21±1.39x10^6, 1.89±0.52x10^6, 1.73±0.70 x10^6 และ 1.5±1.0x10^5 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และวันที่ 4 ของการกระตุ้นที่ระดับความเค็ม 25 ppt มีการปล่อยสปอร์มากกว่าระดับความเค็มอื่น ๆ เช่นกันที่ 9.8±6.7x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 15) รองลงมาคือ ที่ระดับความเค็ม 10, 15, 5 และ 20 ppt มีปริมาณสปอร์จำนวน 6.9x10^6, 2.5x10^6, 2.2x10^6 และ 1.3x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ เมื่อพิจารณาปริมาณสปอร์รวม พบว่าที่ระดับความเค็ม 25 ppt มีปริมาณสปอร์มากที่สุดที่จำนวน 1.2±0.0x10^7 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด (ภาพที่ 16) รองลงมาคือ ที่ระดับความเค็ม 10, 15, 5 และ 20 ppt พบปริมาณสปอร์ 7.1±3.3x10^6, 4.42±0.31x10^6, 4.02±0.02x10^6 และ 3.5±0.4x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

ตารางที่ 20 การปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (x10^6 ±SEx10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน

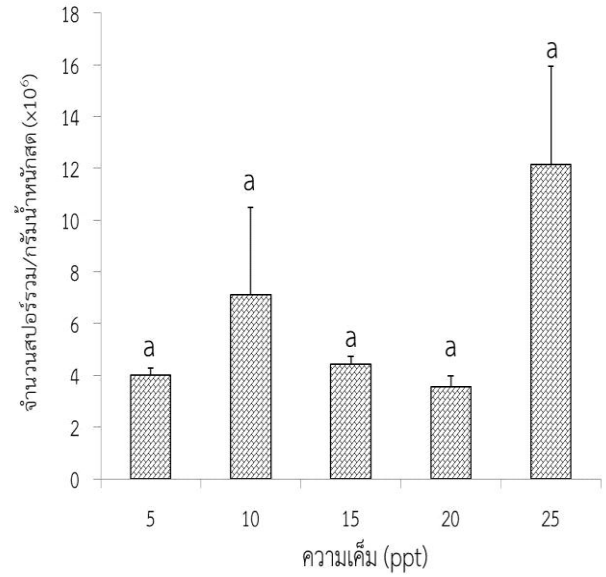
วันทดลอง	ระดับความเค็ม (ppt)				
	5	10	15	20	25
2	1.73±0.70[a]	0.15±0.10[a]	1.89±0.52[a]	2.21±1.39[a]	2.29±0.76[a]
4	2.29±0.36[a]	6.95±4.16[a]	2.52±0.53[a]	1.34±0.26[a]	9.87±6.77[a]
รวม±SE	4.02±0.27[a]	7.10±3.39[a]	4.42±0.31[a]	3.55±0.43[a]	12.16±0.37[a]

หมายเหตุ : จำนวนสปอร์รวม±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 15 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลารับแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 16 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ ที่ระดับความเค็มต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 4 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.3.2 ปัจจัยด้านการให้แสงต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

การกระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ด้วยปัจจัยด้านความเข้มแสง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าในวันที่ 2 ของการกระตุ้น ที่ระดับความเข้มแสง 20 µmol m^{-2} s^{-1} มีการปล่อยสปอร์มากที่สุดถึง 9.8±3.4x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือ ที่ระดับการให้แสง 100, 80 และ 150 µmol m^{-2} s^{-1} สามารถปล่อยสปอร์ 5.6±2.0x10^6, 5.0±3.6x10^6 และ 4.2±1.4x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ภาพที่ 17) วันที่ 4 ของการกระตุ้น ที่ระดับการเพิ่มแสง 80 µmol m^{-2} s^{-1} ปล่อยสปอร์ได้ 1.9±1.7x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือ ที่ระดับการเพิ่มแสง 20 และ 100 µmol m^{-2} s^{-1} สามารถปล่อยสปอร์ถึง 2.3±1.6x10^5 และ 2.3±1.2x10^5 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ส่วนที่ระดับการเพิ่มแสง 150 µmol m^{-2} s^{-1} ไม่พบการปล่อยสปอร์ เมื่อพิจารณาจำนวนสปอร์ทั้งหมดในระยะเวลา 8 วัน พบว่าที่ระดับการเพิ่มแสง 20 µmol m^{-2} s^{-1} มีการปล่อยสปอร์มากที่สุดถึง 1.0±0.0x10^7 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือ ที่ระดับการเพิ่มแสง150, 80 และ 100 µmol m^{-2} s^{-1} ได้สปอร์ 7.42±1.2x10^6, 6.79±0.94x10^6 และ 5.92±1.4x10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ดังตารางที่ 17 และภาพที่ 18)

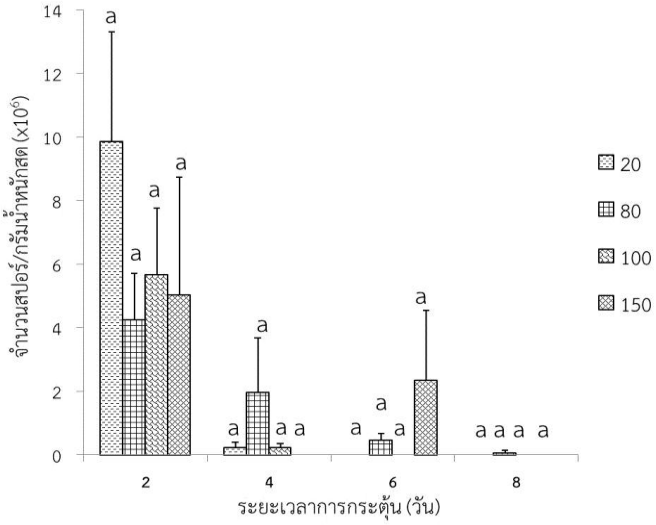
ตารางที่ 21 จำนวนสปอร์รวม (x10^6 ±SEx10^6 สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ความเค็ม 25 ppt อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน

	ความเข้มแสง (µmol m^{-2} s^{-1})			
วันทดลอง	20	80	100	150
2	9.8±3.45[a]	4.26±1.44[a]	5.68±2.07[a]	5.05±3.69[a]
4	0.23±0.16[a]	1.97±1.71[a]	0.23±0.12[a]	0.00±0.00[a]
6	0.00±0.00[a]	0.47±0.21[a]	0.00±0.00[a]	2.36±2.19[a]
8	0.00±0.00[a]	0.07±0.07[a]	0.00±0.00[a]	0.00±0.00[a]
รวม±SE	10.10±0.24[a]	6.79±0.94[a]	5.92±1.40[a]	7.42±1.20[a]

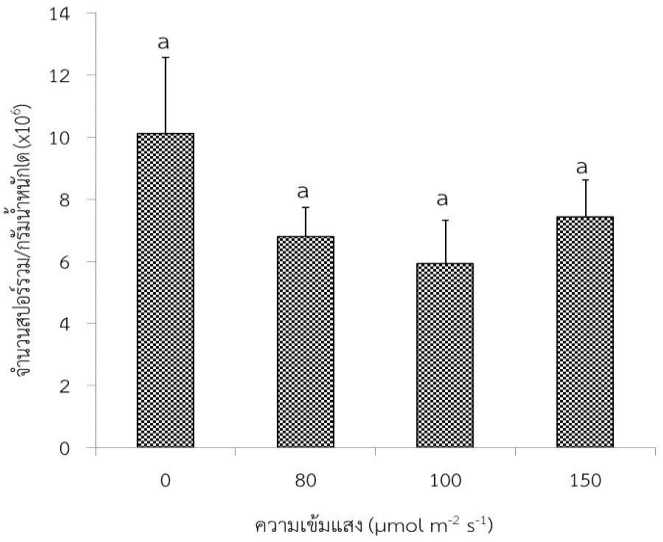
หมายเหตุ : จำนวนสปอร์รวม±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 17 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)



ภาพที่ 18 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการเพิ่มแสงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ที่ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

3.3.3 ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งต่อการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์

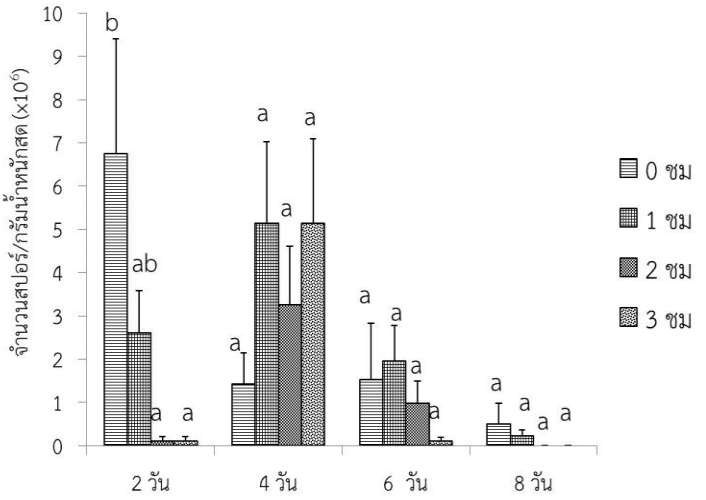
การกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ด้วยปัจจัยด้านการผึ่งแห้ง พบว่า สาหร่ายที่ไม่ผึ่งแห้งสามารถกระตุ้นให้มีการปล่อยสปอร์ถึง $6.7\pm2.2\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ระยะเวลา 2 วัน ของการกระตุ้น วันที่ 4 และวันที่ 6 ของการกระตุ้น สามารถปล่อยได้ $1.4\pm0.7\times10^{5}$ และ $4.0\pm1.6\times10^{5}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (ตารางที่ 22 และภาพที่ 19) รองลงมาคือ สาหร่ายที่ทำการผึ่งแห้งที่เวลา 1 ชั่วโมง มีการปล่อยสปอร์ $2.6\pm0.9\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด 2 วัน ของการกระตุ้น และมีการปล่อยสปอร์ในวันที่ 4 จำนวน $5.1\pm1.8\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 22 และภาพที่ 19) และสาหร่ายที่ทำการผึ่งแห้งที่เวลา 2 และ 3 ชั่วโมง มีการปล่อยสปอร์ภายใน 6 วัน ของการกระตุ้น เมื่อพิจารณาการปล่อยสปอร์ทั้งหมด พบว่าการผึ่งแห้งที่เวลา 1 ชั่วโมง มีการปล่อยสปอร์มากกว่าการไม่ผึ่งแห้ง และผึ่งแห้ง 2 และ 3 ชั่วโมง $9.91\pm1.0\times10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด ใช้ระยะเวลาในการปล่อย 8 วัน จำนวนสปอร์จากสาหร่ายที่มีการผึ่งแห้งเวลาแตกต่างกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับสาหร่ายที่มีการผึ่งแห้งอื่น ๆ (ภาพที่ 20)

ตารางที่ 22 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ ($x10^{6}\pm SEx10^{6}$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน

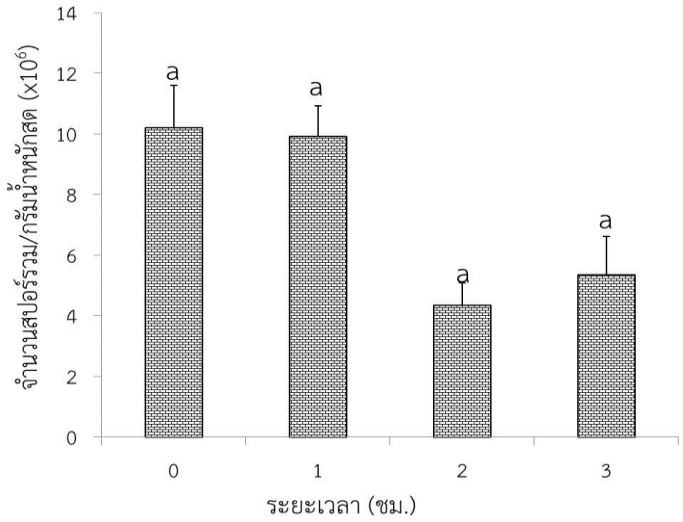
	การผึ่งแห้ง (ชั่วโมง)			
วันทดลอง	0	1	2	3
2	6.73 ± 2.66^{b}	2.60 ± 0.98^{ab}	0.10 ± 0.10^{a}	0.10 ± 0.10^{a}
4	1.42 ± 0.72^{a}	5.13 ± 1.88^{a}	3.25 ± 1.35^{a}	5.13 ± 1.95^{a}
6	0.40 ± 0.16^{a}	1.94 ± 0.82^{a}	0.97 ± 0.51^{a}	0.10 ± 0.08^{a}
8	0.50 ± 0.47^{a}	0.22 ± 0.13^{a}	0.00 ± 0.00^{a}	0.00 ± 0.00^{a}
รวม±SE	9.05 ± 1.50^{a}	9.91 ± 1.01^{a}	4.33 ± 0.75^{a}	5.34 ± 1.26^{a}

หมายเหตุ : จำนวนสปอร์รวม±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p>0.05$)

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 19 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งที่เวลาต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} ความเค็ม 25 ppt อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมง ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



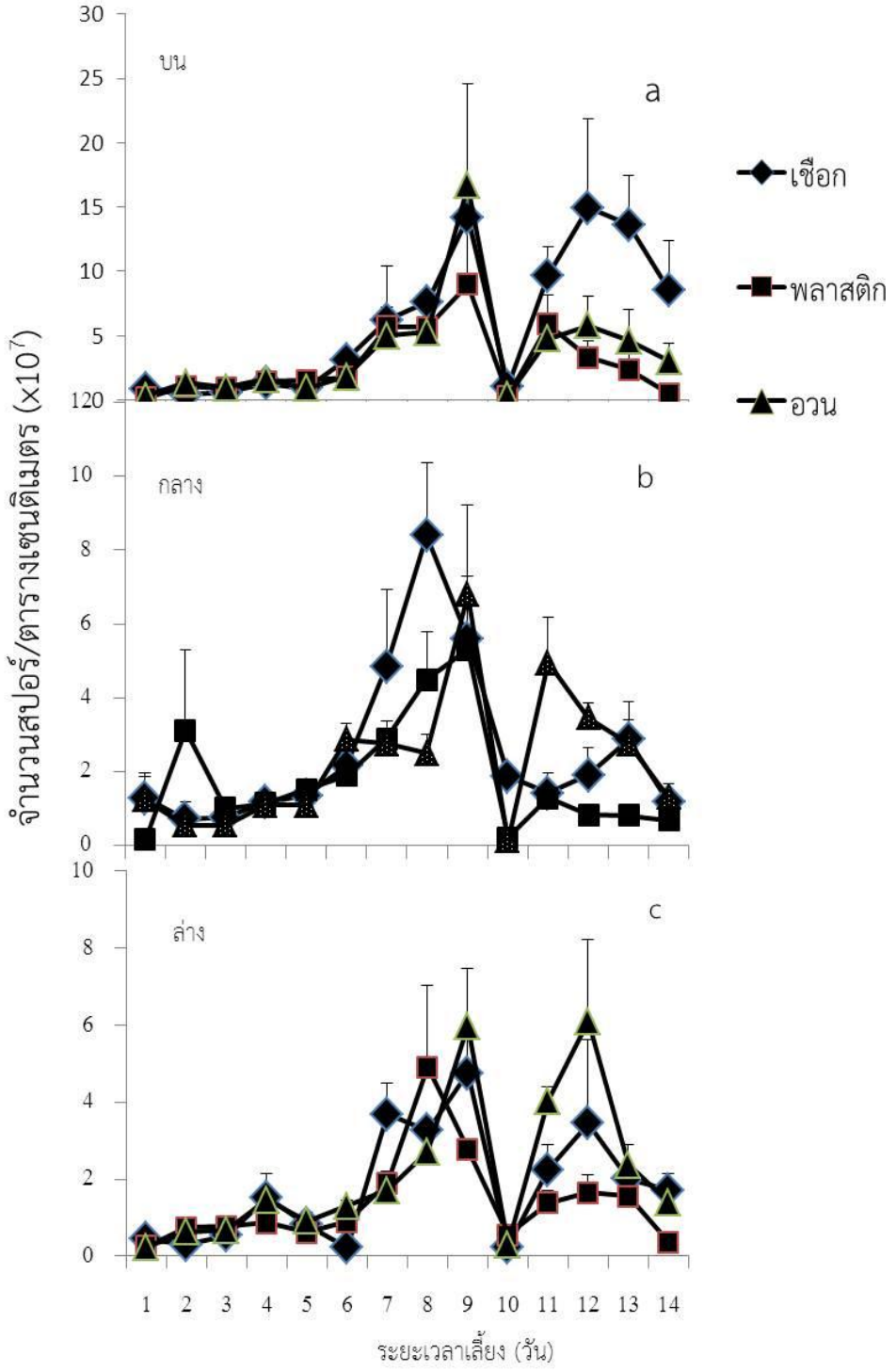
ภาพที่ 20 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์รวม (สปอร์/กรัมน้ำหนักสด) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่ระดับการผึ่งแห้งต่าง ๆ ความเข้มแสง 60 µmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ppt เลี้ยงในจานเพาะเลี้ยง ระยะเวลาที่มีแสง:มืด 12:12 ชั่วโมงที่ระยะเวลาเลี้ยง 8 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

3.4 ผลของพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่

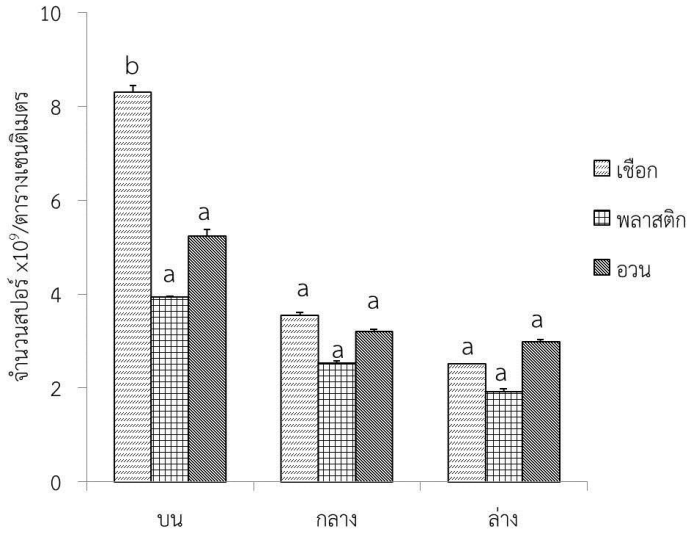
ผลของพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์จากการทำการทดลอง 14 วัน ปริมาณสปอร์ในน้ำ พบว่า สปอร์เริ่มเกาะวัสดุเชือกโพลีเอทธีลีน พลาสติกรังผึ้ง และอวนเส้นด้าย ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง (ตารางที่ 25) และในวันที่ 9 ปริมาณสปอร์ที่เกาะวัสดุเชือกมีความหนาแน่นมากที่สุดถึง $1.1x10^{9}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร รองลงมาคือวัสดุอวนเส้นด้าย และพลาสติก สปอร์มีความหนาแน่น $6.8x10^{8}$ และ $6.2x10^{8}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับโดยที่ในวันที่ 10 ของการเลี้ยงวัสดุทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณสปอร์ลดลงพร้อมกัน เมื่อพิจารณาปริมาณสปอร์ทั้งหมด 14 วัน พบว่า วัสดุจากเชือกมีความหนาแน่นสปอร์มากที่สุด ถึง $1.4\pm1.7x10^{9}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร รองลงมาคืออวน และพลาสติกมีความหนาแน่นของสปอร์ถึง $1.1\pm0.0X10^{9}$ และ $8.4\pm0.5X10^{8}$ สปอร์/ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดสอบทางสถิติจำนวนสปอร์ที่เกาะเชือกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับสปอร์ที่เกาะบนอวน และพลาสติก (ภาพที่ 23) เมื่อพิจารณาระดับที่สปอร์เกาะผิววัสดุเชือก พลาสติก และอวนพบว่า สปอร์ที่เกาะระดับบนของวัสดุทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณสปอร์ใกล้เคียงกันในวันที่ 6-9 ของการเลี้ยงพบว่า ทุกวัสดุมีปริมาณสปอร์รวมเพิ่มขึ้น และพบว่ามีสปอร์ลดลงพร้อมกันในวันที่ 10 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 21a)

เมื่อพิจารณาจำนวนสปอร์ที่เกาะวัสดุเชือก มีปริมาณสปอร์ที่เกาะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับปริมาณสปอร์ที่เกาะอวนเส้นด้าย และพลาสติกรังผึ้ง (ภาพที่ 22) สปอร์ที่เกาะระดับกลาง และระดับล่างของวัสดุทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณสปอร์เกาะใกล้เคียงกันในวันที่ 6-9 ของการเลี้ยงพบว่า ทุกวัสดุมีปริมาณสปอร์เพิ่มขึ้น และลดลงพร้อมกันในวันที่ 10 ของการเลี้ยง (ภาพที่ 21 b, c) เมื่อพิจารณาจำนวนสปอร์ที่เกาะวัสดุทั้ง 3 ชนิด ปริมาณสปอร์ที่เกาะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ภาพที่ 24)

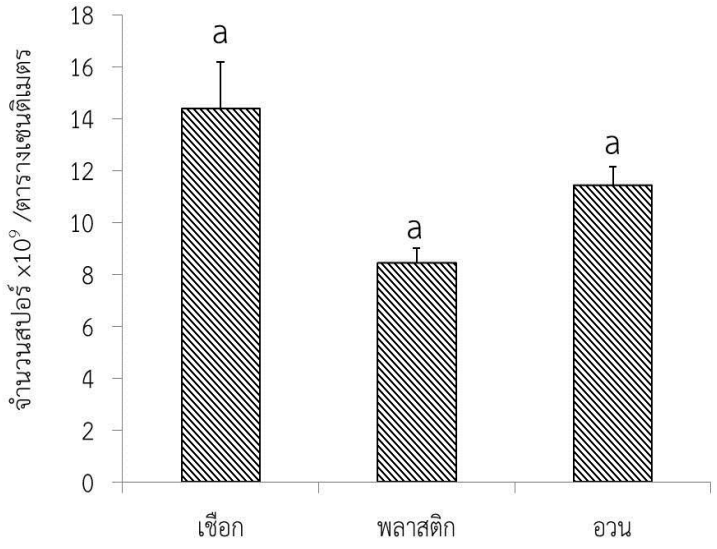
Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 21 ปริมาณสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* เกาะบนวัสดุทั้ง 3 ชนิด ที่ระดับต่าง ๆ ระดับบน (a), ระดับกลาง (b), และระดับล่าง (c)



ภาพที่ 22 จำนวนสปอร์รวมที่ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* เกาะบนวัสดุทั้ง 3 ชนิดที่ระดับต่าง ๆ ในระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)



ภาพที่ 23 ปริมาณสปอร์รวมของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่เกาะวัสดุชนิดต่าง ๆ ระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน ตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

ตารางที่ 23 จำนวนเซลล์สืบพันธุ์ (x10^6±SE x10^6 สปอร์/ตารางเซนติเมตร) ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ที่การเกาะวัสดุแตกต่างกัน ในระยะเวลาเลี้ยง 14 วัน (n=3)

วัน	วัสดุ (จำนวนสปอร์x10^6/ตารางเซนติเมตร)								
	เชือก			พลาสติก			ล่าง		
	บน	กลาง	ล่าง	บน	กลาง	ล่าง	บน	กลาง	ล่าง
1	8.56±4.34 [a]	12.81±5.70 [a]	4.46±1.13 [a]	2.05±1.04 [a]	2.48±0.91 [a]	3.76±1.50 [a]	5.11±1.80 [a]	18.83±7.16 [a]	5.88±1.37 [a]
2	4.21±2.72 [a]	7.16±4.77 [a]	3.06±1.20 [a]	10.49±0.25 [a]	31.20±21.94 [a]	7.42±0.99 [a]	13.55±3.81 [a]	5.47±1.82 [a]	6.30±1.61 [a]
3	6.09±1.17 [a]	7.50±1.65 [a]	5.45±2.63 [a]	9.32±2.81 [a]	10.09±2.58 [a]	7.77±0.58 [a]	9.66±3.88 [a]	5.55±0.21 [a]	6.83±1.83 [a]
4	13.03±1.01 [a]	11.77±1.90 [a]	15.25±6.35 [a]	14.05±2.58 [a]	11.40±1.37 [a]	8.69±1.57 [a]	16.30±1.55 [a]	10.97±2.16 [a]	14.72±2.28 [a]
5	9.25±2.62 [a]	13.63±2.81 [a]	8.27±1.37 [a]	6.51±4.09 [a]	15.12±2.13 [a]	6.12±1.34 [a]	8.94±1.97 [a]	10.88±2.99 [a]	2.28±2.16 [a]
6	20.71±7.96 [a]	14.34±4.97 [a]	15.21±2.03 [a]	17.60±9.44 [a]	18.88±5.17 [a]	9.01±1.38 [a]	17.91±1.66 [a]	28.72±4.37 [a]	13.00±1.63 [a]
7	62.09±41.83 [a]	48.64±20.63 [a]	36.81±8.21 [a]	56.97±15.16 [a]	28.92±4.84 [a]	19.09±2.80 [a]	50.00±10.21 [b]	27.63±1.99 [ab]	33.21±2.24 [a]
8	76.39±0.23 [a]	84.07±19.74 [a]	37.25±0.88 [a]	56.67±21.37 [a]	44.90±12.94 [a]	49.00±21.21 [a]	52.67±5.32 [b]	24.94±5.23 [a]	27.08±7.78 [ab]
9	141.78±1.49 [b]	56.17±16.70 [a]	47.53±9.24 [a]	89.86±45.49 [a]	53.12±12.16 [a]	27.71±1.66 [a]	166.86±78.96 [a]	67.91±24.29 [a]	59.80±14.84 [a]
10	10.79±3.55 [a]	1.87±0.62 [a]	2.40±0.71 [a]	9.11±1.80 [b]	2.09±0.41 [a]	1.29±0.33 [a]	6.88±2.07 [a]	5.56±1.93 [a]	3.05±0.62 [a]
11	96.86±22.13 [b]	14.19±5.40 [a]	22.51±6.48 [a]	58.80±22.31 [a]	12.94±1.55 [a]	13.83±3.05 [a]	47.41±15.31 [a]	49.44±12.22 [a]	40.33±3.54 [a]
12	149.48±69.35 [a]	19.16±7.56 [a]	34.56±21.79 [a]	33.20±12.61 [a]	8.27±2.17 [a]	16.57±4.55 [a]	58.00±22.39 [a]	34.55±4.15 [a]	61.02±21.18 [a]
13	136.47±38.27 [b]	28.76±10.20 [a]	20.17±2.58 [a]	23.44±14.67 [a]	8.10±1.48 [a]	15.58±2.96 [a]	46.22±24.10 [a]	27.63±6.42 [a]	23.67±5.17 [a]
14	85.82±37.66 [a]	11.70±1.76 [a]	17.13±4.37 [a]	4.74±0.20 [a]	6.77±2.16 [a]	3.73±0.71 [a]	30.08±14.19 [a]	13.08±3.52 [a]	14.05±3.40 [a]

หมายเหตุ :ค่าเฉลี่ย±ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่มีอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความ เชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (p>0.05)

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 4

บทวิจารณ์

4.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

สาหร่ายไส้ไก่ที่อาศัยในสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน มีการสืบพันธุ์ 2 รูปแบบ คือ แบบแกมีต (gametes) และแบบซูโอสปอร์ (zoospore) ซึ่งมีผลจากปัจจัยทางสภาพแวดล้อม และธาตุอาหารในแหล่งน้ำ และในสาหร่ายดังรายละเอียดนี้

4.1.1 รูปแบบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

การศึกษาสภาวะแวดล้อมของสาหร่ายไส้ไก่ต่อชนิดการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ พบว่า สาหร่ายไส้ไก่ที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซิเมนต์ และอ่าวปัตตานีมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีตหรือแบบอาศัยเพศ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง และความยาวท่อนพันธุ์อีกทั้งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน ในขณะที่การรายงานของ Rapaport *et al*. (2010) พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และแบบไม่อาศัยเพศของสาหร่าย *U. intestinalis* บริเวณหาด Baltic เกาะ Riddarskaret ประเทศสวีเดน ซึ่งสภาวะ ธาตุอาหาร ความเค็ม แสง และอุณหภูมิสามารถกระตุ้นการสืบพันธุ์ของสาหร่ายชนิดนี้ได้ อีกทั้งลักษณะของแทลลัสสาหร่ายมีผลต่อการสืบพันธุ์ (Ganesan *et al*., 2010) ส่วนสาหร่ายที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์หรือแบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณความกระด้าง และความเค็มในแหล่งน้ำ

4.1.2 การตรวจสอบธาตุอาหารบางชนิด

สาหร่ายไส้ไก่ที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณธาตุแมงกานีส (Mn) และโครเมียม (Cr) ในแหล่งน้ำ โดยธาตุในเนื้อเยื่อสาหร่ายไม่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่าย ส่วนธาตุอาหารที่ตรวจสอบในสาหร่ายพบว่า สาหร่ายบริเวณอ่าวปัตตานี บ่อดิน และบ่อซิเมนต์พบปริมาณธาตุแมงกานีส เหล็ก (Fe) และสังกะสี (Zn) ในเนื้อเยื่อสาหร่ายสูงกว่าธาตุที่พบในน้ำ เนื่องจากสาหร่ายขนาดใหญ่สามารถสะสมธาตุบางชนิด (Chan *et al*., 2003) ซึ่งธาตุเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อพัฒนาการเจริญเติบโตของสาหร่าย และสาหร่ายมีการสร้างเซลล์แบบแกมีต โดยบริเวณอ่าวปัตตานีพบปริมาณแมงกานีส เหล็ก และ สังกะสี สูงกว่าในน้ำ 10, 7 และ 4 เท่า ตามลำดับ สาหร่ายบริเวณบ่อดิน พบว่ามีปริมาณ แมงกานีส สังกะสี และเหล็ก สูงกว่าในน้ำ 28, 12 และ 9 เท่า ตามลำดับ สาหร่ายที่เก็บจากบ่อซิเมนต์พบว่า มีปริมาณแมงกานีส เหล็ก และสังกะสีสูงกว่าในน้ำ 30, 15 และ 1 เท่า ตามลำดับ และสาหร่ายไส้ไก่จากห้องปฏิบัติการ มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ซึ่งสารแคลเซียมในสาหร่ายมีผลต่อการสืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ เนื่องจากแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง และการทำงานที่สำคัญของเซลล์พืช โดยมีบทบาทที่สำคัญในการสร้างผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ อีกทั้งมีบทบาทสำคัญในการแบ่งเซลล์ และการแพร่

พันธุ์ (พรพิมล, 2552) ทั้งนี้สาหร่ายจากห้องปฏิบัติการพบปริมาณสังกะสี และเหล็กในเนื้อเยื่อสาหร่ายสูงกว่าในน้ำ 3 และ 2 เท่า ตามลำดับ โดยธาตุแมงกานีสเป็นส่วนสำคัญในการสร้างคลอโรพลาสต์ และช่วยกระตุ้นเอนไซม์ ส่วนธาตุเหล็กมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์เอนไซม์ส่วนสำคัญสำหรับเอนไซม์หลายชนิด และเป็นส่วนสำคัญในกระบวนการถอดรหัสพันธุกรรม การขาดสังกะสีโดยทั่วไปแล้วจะทำให้ใบหยุดการเจริญเติบโต และทองแดงมีความสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง (Lobbon and Harrison, 1994)

4.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ

การนำสาหร่ายมาเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์พบว่า ความเค็มสามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอับซูโอสปอร์ โดยที่ระดับความเค็ม 25 ppt สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ร้อยละ 100 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ โดยที่ทุกระดับความเค็มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เนื่องจากสาหร่ายสามารถอยู่ได้ในความเค็มช่วงกว้าง (Lobbon and Harrison, 1994) ทำให้พบการสร้างสปอร์ในทุกระดับความเค็ม ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งพบว่า การผึ่งแห้งที่ 0 ชั่วโมง (ชม.) หรือการไม่ผึ่งแห้งสามารถสร้างสปอร์ได้ร้อยละ 97 ในวันที่ 2 และในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ ส่วนที่เวลาการผึ่งแห้ง 0, 1 และ 2 ชั่วโมง สามารถสร้างได้ร้อยละ 100

ปัจจัยด้านขนาดท่อนพันธุ์ โดยแทลลัสขนาด 3 เซนติเมตร (cm) สามารถเหนี่ยวนำให้สร้างสปอร์ได้ร้อยละ 90 ในวันที่ 2 และได้ร้อยละ 100 ภายในวันที่ 4 อย่างไรก็ตาม การตัดท่อนพันธุ์ยาว 0.5-3.0 เซนติเมตร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยคล้ายคลึงกับสาหร่ายในกลุ่มเดียวกัน ดังการรายงานของ Lin *et al*. (2008) ซึ่งกล่าวว่า การตัดสาหร่าย *E. prolifera* เป็นชิ้นเล็กสามารถกระตุ้นให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อตัดสาหร่ายไส้ไก่เป็นชิ้นส่วนขนาดเล็กลง มีแนวโน้มทำให้สาหร่ายสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้มากขึ้น

ส่วนการเหนี่ยวนำด้วยอุณหภูมินั้น พบว่าที่ 25 องศาเซลเซียส (°C) มีความเหมาะสมกับการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างอับซูโอสปอร์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) กับที่ระดับอุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับ Mantri *et al*. (2011) รายงานว่าปัจจัยร่วมระหว่างอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเค็ม 15 ppt เป็นสภาวะกระตุ้นที่เหมาะสมสำหรับสาหร่าย *U. fasciata* ให้สร้างซูโอสปอร์ แม้ว่าในบริเวณที่เก็บสาหร่าย *U. intestinalis* ครั้งนี้มีอุณหภูมิ 27±5 องศาเซลเซียส แต่การเพิ่มอุณหภูมิทำให้สาหร่ายสร้างอับซูโอสปอร์ ได้น้อยกว่าการลดอุณหภูมิ

ส่วนการเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติมสารละลายของ $CaCl_2$ ปริมาณ 6-18 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L) สามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างอับซูโอสปอร์ได้เร็วยิ่งขึ้น เนื่องจากแคลเซียมไอออนเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง และการทำงานที่สำคัญของเซลล์พืช มีบทบาทในการสร้างผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ (Volotovski, 2011) ซึ่งมีความจำเป็นต่อพืชที่มีคลอโรฟิลล์ทุกชนิด โดยมีความสำคัญในการแบ่งเซลล์ และการแพร่พันธุ์ (พรพิมล, 2552) ดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มสาร $CaCl_2$ ลงในน้ำเลี้ยง ทำให้สาหร่ายแบ่งโพรโทพลาสต์ได้เร็วขึ้น ทำให้สาหร่าย *U. intestinalis* สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ ภายในเวลา 2 วัน ทั้งนี้จากการใช้ปัจจัยต่าง ๆ ในการเหนี่ยวนำให้สาหร่าย

U. intestinalis สร้างอับซูโอสปอร์ได้ครั้งนี้ภายในเวลา 2-4 วัน ซึ่งระยะเวลาสอดคล้องกับรายงานของ Dan *et al*. (2002) ที่เลี้ยงชิ้นส่วนของสาหร่าย *E. prolifera* ซึ่งตัดเป็นชิ้นส่วนรูปกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.2 มิลลิเมตร (mm) ที่ระดับความเค็ม 5-52 ppt ทำให้มีการสืบพันธุ์ได้มากกว่าร้อยละ 70 ของชิ้นส่วนทั้งหมดในเวลา 4-5 วัน และจากการเหนี่ยวนำให้สาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ห้องปฏิบัติการครั้งนี้ พบเพียงอับซูโอสปอร์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lin *et al*. (2008) พบว่า *E. prolifera* ในห้องปฏิบัติการ พบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพียงเฉพาะแบบอับซูโอสปอร์ ซึ่งเป็นการสืบพันธุ์ที่ไม่อาศัยเพศ สามารถปล่อยซูโอสปอร์ ที่จะเจริญเป็นต้นใหม่ได้โดยตรง แม้ว่าในแทลลัสที่สมบูรณ์สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ สองแบบได้ในท่อนเดียวกัน คือ อับเซลล์สืบพันธุ์แบบมีเพศ (gametangium) และอับซูโอสปอร์ (Reine and Trono, 2001) แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบเฉพาะอับซูโอสปอร์เท่านั้น อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ใช้เหนี่ยวนำดังกล่าวไม่เหมาะสมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบมีเพศ

4.3 การกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

การศึกษาให้สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ปล่อยสปอร์ด้วยปัจจัยต่าง ๆ พบว่า ปัจจัยด้านความเค็มสามารถกระตุ้นให้มีการปล่อยสปอร์ได้มากที่สุด ที่ระดับความเค็ม 25 ppt สามารถปล่อยสปอร์ได้สูงกว่าที่ระดับความเค็มอื่น ๆ โดยที่ทุกระดับความเค็มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสอดคล้องจากการรายงานของสุวรรณา และคณะ (2550) สาหร่ายชนิดนี้เจริญเติบโตดีในความเค็ม 25 ppt และจากการรายงานของ Sousa *et al*. (2007) พบว่า ความเค็มส่งผลโดยตรงต่อการพัฒนาการสร้าง และการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ ทั้งนี้ความเค็มต่ำทำให้การพัฒนาของสาหร่ายไส้ไก่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ปัจจัยด้านการเพิ่มแสง 20 μmol m^{-2} s^{-1} เป็นเวลา 3 ชั่วโมง สามารถกระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ได้มากกว่าระดับความเข้มแสงที่ระดับอื่น ๆ โดยที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ปัจจัยด้านการผึ่งแห้งพบว่าการผึ่งแห้งที่เวลา 1 ชั่วโมง สามารถปล่อยสปอร์ได้มากกว่าการผึ่งแห้งที่เวลาอื่น ๆ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แตกต่างจากการรายงานของทิพวรรณ และคณะ (2552) พบว่า การผึ่งแห้งที่ 30 นาที สามารถปล่อยสปอร์ได้มากที่สุด

4.4 พฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่

จากพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์ในการทำการทดลอง 14 วัน พบว่าสปอร์เริ่มเกาะวัสดุเชือกโพลีเอทธีลีน แผ่นพลาสติกรังผึ้ง และอวนเส้นด้าย ตั้งแต่วันแรกของการทดลอง โดยที่ทุกวัสดุมีปริมาณสปอร์เพิ่มขึ้นพร้อมกันในวันที่ 6 ของการเลี้ยง และทุกวัสดุมีปริมาณสปอร์เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 9 ของการเลี้ยง ในวันที่ 10 ทุกวัสดุพบปริมาณสปอร์เกาะน้อยที่สุด ใกล้เคียงกับปริมาณสปอร์ของวันที่ 1 และพบว่าสปอร์หลุดออกมาเป็นกลุ่มลอยตามผิวน้ำ ส่วนวันที่ 11–14 ของการทดลองพบว่ามีการเกาะของสปอร์เล็กน้อย ดังนั้นควรนำวัสดุมาล่อในวันที่ 1-9 เท่านั้น เนื่องจากทุกวัสดุมีปริมาณสปอร์เกาะสูงที่สุดในวันที่ 9 ของการเลี้ยง หลังจากนั้นจำนวนสปอร์ที่เกาะมีจำนวนลดลง ทั้งนี้พฤติกรรมการเกาะของสปอร์ยังไม่พบการรายงานมาก่อน เมื่อพิจารณาจำนวนสปอร์รวมที่เกาะวัสดุ พบว่า วัสดุที่มีปริมาณสปอร์เกาะมากที่สุดคือ เชือกโพลีเอทธีลีนแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) กับวัสดุอวนเส้นด้าย และพลาสติกรังผึ้ง โดยผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการเลี้ยงสาหร่าย *Enteromorpha., Monostroma* และ *Propyra* ในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งใช้ตาข่ายมีขนาดตา 30x50 ตารางเซนติเมตร ล่อสปอร์สาหร่ายในธรรมชาติ (Critchley and Ohno, 1998; Ohno and Critchley, 1993) ซึ่งผิวสัมผัสของตาข่ายหรือขนาดตาที่ใช้ล่อสปอร์คล้ายกับวัสดุเชือกของการศึกษาครั้งนี้คือ 30x50 ตารางเซนติเมตร ดังนั้นควรใช้วัสดุเชือกโพลีเอทธีลีน ในการล่อสปอร์หรือใช้อวนเส้นด้าย ที่มีขนาดตากว้างกว่าที่ได้ทำการทดลอง เพื่อให้มีผิวสัมผัสใกล้เคียงกับเชือกโพลีเอท ธีลีน เพื่อให้ได้ปริมาณสปอร์ที่เกาะมากขึ้น

ระดับการเกาะของสปอร์พบว่า ระดับบนปริมาณสปอร์เกาะเชือกโพลีเอทธีลีน มีความแตกต่าง ($p<0.05$) กับปริมาณสปอร์ที่เกาะอวนเส้นด้าย และพลาสติกรังผึ้งขณะที่ระดับกลาง และระดับล่าง ปริมาณสปอร์ที่เกาะวัสดุเชือกโพลีเอทธีลีน พลาสติกรังผึ้ง และอวนเส้นด้ายไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการเกาะระดับบนมีปริมาณแสงมากกว่าระดับกลางและระดับล่าง

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

ผลของสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ พบว่าสาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบแกมีต (gametes) และแบบซูโอสปอร์ (zoospore) ทั้งนี้ตัวอย่างสาหร่ายที่เก็บจากบ่อดิน บ่อซีเมนต์ และอ่าวปัตตานี มีการสร้างเซลล์สืบพันธ์แบบแกมีต ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง และความยาวท่อนพันธุ์ อีกทั้งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน ธาตุอาหารแมงกานีส (Mn) และโครเมียม (Cr) ในแหล่งน้ำ ส่วนสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการพบการสืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณของความกระด้างความเค็มในแหล่งน้ำ และธาตุแคลเซียม (Ca) ในสาหร่าย

5.2 ผลของสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ในห้องปฏิบัติการ

การเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์สามารถเลี้ยงสาหร่ายได้ในความเค็มช่วงกว้าง 10-30 ppt และไม่ควรผึ่งแห้งท่อนพันธุ์ก่อนที่จะนำไปกระตุ้น โดยสามารถตัดท่อนพันธุ์ขนาดเล็กประมาณ 0.5-3 เซนติเมตร (cm) และควรเหนี่ยวนำที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (°C) สำหรับในน้ำเลี้ยงควรเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติม $CaCl_2$ 6 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L) โดยสารดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ภายใน 4 วัน

5.3 การกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

การกระตุ้นให้สาหร่ายปล่อยสปอร์ควรทำที่ระดับความเค็ม 5-25 ppt โดยที่ระดับความเค็ม 25 ppt มีการปล่อยสปอร์มากที่สุด ส่วนการให้แสง 20-150 µmol m^{-2} s^{-1} ที่เวลา 3 ชั่วโมง (ชม.) ไม่มีผลต่อการปล่อยสปอร์โดยที่การให้แสง 20 µmol m^{-2} s^{-1} มีการปล่อยสปอร์มากที่สุด ส่วนการผึ่งแห้งสาหร่ายมีผลต่อปริมาณการปล่อยในแต่ละวัน แต่ไม่มีผลต่อปริมาณสปอร์รวม ทั้งนี้ใช้เวลาในการปล่อยสปอร์ 2-8 วัน

5.4 พฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่

ผลของการยึดเกาะของสปอร์ด้วยวัสดุเกาะทั้ง 3 ชนิดได้แก่ วัสดุเชือกโพลีเอทธีลีน พลาสติกรังผึ้ง และอวนเส้นด้าย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยเชือกโพลีเอทธีลีนเป็นวัสดุเกาะที่พบปริมาณสปอร์มากที่สุด เมื่อพิจารณาปริมาณการเกาะสปอร์ที่ระดับต่าง ๆ พบว่าทั้ง 3 วัสดุมีปริมาณสปอร์เกาะที่ระดับบนมากที่สุด ส่วนพฤติกรรมในการลงเกาะของสปอร์ สามารถเกาะได้ 1-2 สัปดาห์ แต่ควรเปลี่ยนวัสดุเกาะวันที่ 7-8 หรือเมื่อสปอร์เกาะบนวัสดุหนาแน่น เพราะสปอร์จะเกาะทับถมกันแน่น ส่งผลให้สปอร์หลุดออกจากวัสดุเกาะ

Prince of Songkla University Pattani Campus

5.5 ข้อเสนอแนะ

5.5.1 สาหร่ายมีการสืบพันธุ์แบบแกมีต ควรเพิ่มปริมาณฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส แสง อีกทั้งลดปริมาณไนเตรท-ไนโตรเจน ธาตุอาหารแมงกานีส และโครเมียมในแหล่งน้ำ และสาหร่ายมีการสืบพันธุ์แบบซูโอสปอร์ควรเพิ่มปริมาณความกระด้าง ความเค็มในแหล่งน้ำ และธาตุแคลเซียมในสาหร่าย

5.5.2 การเหนี่ยวนำให้สาหร่ายไส้ไก่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้เร็วควรตัดท่อนพันธุ์ 3 เซนติเมตร อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับในน้ำเลี้ยงควรเติมสารละลายของแคลเซียมไอออนโดยการเติม $CaCl_2$ 6 มิลลิกรัม/ลิตร และการกระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ควรใช้ความเค็ม 25 ppt ให้แสง 20 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

5.5.3 ควรมีการศึกษาปัจจัยด้านอื่น ๆ เช่น การเพิ่มธาตุอาหารในน้ำเลี้ยง เพื่อให้สามารถกระตุ้นให้สาหร่ายมีการสืบพันธุ์ได้เร็วขึ้น

5.5.4 การใช้วัสดุทำการล่อสปอร์ควรใช้วัสดุเชือก เมื่อสปอร์เกาะวัสดุหนาแน่น ควรเปลี่ยนวัสดุ เพื่อไม่ให้สปอร์หลุดออกจากวัสดุเกาะ

5.5.5 ควรมีการศึกษาปัจจัยที่ทำให้สาหร่ายมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เพื่อให้สาหร่ายมีวงจรชีวิตสมบูรณ์

Prince of Songkla University Pattani Campus

เอกสารอ้างอิง

จริยาวดี สุริยพันธุ์ ชัชรี แก้วสุรลิขิต ชนัดดา เกตุมา ชลอ ลิ้มสุวรรณ นิติ ชูเชิด สาธิต ประเสริฐ เดชานาท ทองพิทักษ์ และ ประยูร หงส์รัตน์. 2550. ผลของสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis* Linnaeus) ต่อสัตว์หน้าดินในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius) ออนไลน์. สืบค้นจาก: http://tdc.thailis.or.th/tdc/ basic.php [28 มิถุนายน 2556].

จุฑามาศ อนันทยานนท์ และ ธีรพงษ์ บัวบูชา. 2556. การศึกษาปฏิสัมพันธ์ของโปรตีน prefoldin กับโปรตีนคัลมอดุลินและโปรตีนคล้ายคัลมอดุลินจากข้าว (*Oryza sativa* L). วารสารของสมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย. 6(1), 36-39.

ทิพวรรณ ไกรวิลาศ ชัชรี แก้วสุริลิขิต ชะลอ ลิ้มสุวรรณ และนิติ ชูเชิด. 2552. ผลของการผึ่งแห้งต่อการปล่อยสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*). การประชุมวิชาการเกษตรนำไทยอาหารและพลังงานทดแทนสู่สมดุลอย่างยั่งยืนของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47, กรุงเทพ, 17-20 มีนาคม 2552, 98-106.

พรพิมล สุริยภัทร. 2552. หน้าที่และอาการขาดธาตุอาหารสำคัญ ออนไลน์. สืบค้นจาก: http//www. agri.ubu.ac.th/~ponpimon/1202320 [2 พฤศจิกายน 2556].

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2540. คู่มือวิเคราะห์คุณภาพน้ำ, พิมพ์ครั้งที่ 2, โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพมหานคร, หน้า 45-150.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา (Phycology). พิมพ์ครั้งที่ 1, ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, หน้า 116-235.

สุวรรณา วรสิงห์ ธวัช ศรีวีระชัย และ จุฑารัตน์ ศิริสมบัติ. 2550. ผลของระดับความเค็มน้ำทะเลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย ออนไลน์. สืบค้นจาก: http://www.nicaonline.com articles10//site/viewarticle.asp?idarticle=3035 [28 มิถุนายน 2556].

Adey, W.H. and Purgason, R. 1998. Animal Feedstocks Comprising Harvested Algal Turf and a Method of Preparing. United States Patent No. US 1998/5715774, Feb 1998.

Algaebase. 2556. *Ulva* Linnaeus,1753:1163 ออนไลน์. สืบค้นจาก: http://www.algaebase. org:/search/genus/detail [25 สิงหาคม 2556].

AOAC Official Methods of analysis. 2000. Metals and Other Elements in Plants and Pet Food:985.01. In AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International, Vol 2, USA.

Benjama, O. and Masniyom, P. 2011. Nutritional composition and physicochemical properties of two green seaweeds (*Ulva pertusa* and *Ulva intestinalis*) from the Pattani Bay in Southern Thailand. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 33(5), 575-583.

Briand, X. 1995. Utilization of Algae Extract for the Preparation of Pharmaceutical, cosmetic. United States Patent No. US 5508033/1996, Feb 1996.

Briand, X., Stephanie, C., Dumas, B., Esquerre-Tugaye, M-T.and Salamagne, S. 2005. Use of Ulvans as Elicitors of Mechanisms for Nitrogen Absorption and Protein. United States Patent No. US 2005/0127695 A1, Mar 2005.

Chan S.M, Wang W.X. and Ni, I.H. 2003. The Uptake of Cd, Cr and Zn by the Macro alga *Enteromorpha crinita* and Subsequent Transfer to the Marine Herbivorous Rabbitfish, *Siganus canaliculatus*. Journal of Environmental Contamination and Toxicology. 44, 298-306.

Chirapart, A. 2006. Seaweed Industry in Thailand. In Advances in Seaweed Cultivation and Utilization in Asia, Siew-Moi, P., Critchley, A.T. and Ang Jr, P.O., editor. University of Malaya Maritime Research Centre, Kuala Lumpur, pp 29-33.

Critchley, A.T. and Ohno, M. 1998. Seaweed Resources of the World. Japan international cooperation agency, Yokosuka., pp. 1-15.

Dan, A., Hiraoka. M., Ohno M. and Critchley.T. 2002. Observations on the effect of salinity and photon effluent rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Muller) J.Agardh (Chlorophyta, Ulvales). Journal of Fisheries science. 68, 1182-1188

Hasebe, K. and Yamada, K. 2004. Hair treatment composition and hair cosmetic for damaged hair. United States Patent No. US 2004/0165636A1, Mar 2004.

Hiraoka, M. and Oka, N. 2008. Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new "germling cluster" method. Journal of Applied Phycology. 20, 97-102.

Ganesan, M., Veeragurunathan, V., Eswaran, K., Reddy, C.R.K. and Jha, B. 2010. Influence of ultraviolet radiation on spore liberation in marine macroalgae *Ulva fasciata* (Ulvales,Chlorophyceae) and *Gracilaria corticata* (Gracilariales, Rhodophyceae). Japanese Society of Phycology. 58, 293-297.

Guillard, R.R.L. 1975. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates. In Culture of Marine Invertebrates Animals. Smith, W.L. and Chanley, M.H, editors. Plenum Press, New York, pp 29-60.

Kalita, T.L. and Tytlianov, E.A. 2003. Effect of temperature and illumination on growth and reproduction of the green alga *Ulva fenestrata*. Russian Journal of Marine Biology. 29, 316–322.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Kamer, K. and Fong, P. 2000. A fluctuating salinity regime mitigates the negative effects of reduced salinity on the esturine macrialga, *Enteromorpha intestinadis*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Department of Organismic Biology, University of California. 254, 53-69.

Lin, A., Shen, C., Wang, J. and Yan, B. 2008. Reproduction diversity of *Enteromorpha prolifera.* Journal of Integrative Plant Biology. 50, 622–629.

Lobban, C.S. and Harrison, P.J. 1994. Seaweed Ecology and Physiology.1st ed. Cambridge University Press. Melbourne, pp 165-170.

Mantri, V.A., Singh, R.P, Bijo, A.J., Kumari, P., Reddy, C.R.K. and Jha, B. 2011. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). Journal Apply. Phycology. 23, 243-250.

Masanori, H. and Oka, N. 2006. Mariculture of seaweeds based on the new "germling cluster method" and utilizing deep seawater in japan. Advances in seaweed cultivation and utilization in asia. Moi, P.S., Critchley, A. T. and Ang Jr, P. O, editors. University of Malaya Maritime Research Center, Kuala Lumpur, pp. 53-59.

Nisizawa, K. 2002. Seaweed Kaiso Bountiful Harvest from the Seas, Japan Seaweed Association, Kochi, pp. 59.

Ohno, M. and Critchley, A. 1993. Seaweed Cultivation and Marine Ranching. Kanagawa International Fisheries Tranning Centre, Japan International Cooperation Agency (JICA). Yokosuka. pp. 150-151.

Rapaport, C.A., Leskinena, E. and Pamilod, P. 2010. Seasonal variation in the mode of reproduction of *Ulva intestinalis* in a brackish water environment. Journal ofAquatic Botany. 93, 244–24.

Reine, P.V and Trono, G.C. 2001. Plant Resources of Routh-East Asia. Backhuys Publishers. Leiden. pp. 315-318.

Rusig, A.M. and Cosson, J. 2001. Plant regeneration from protoplasts of *Enteromorpha intestinalis* (Chlorrophyta, Ulvophyceae) as seedstock for macroagal culture. Journal of Applied Phycology. 13, 103-108.

Sousa, A.I., Martins, I., Lillebo, A.I., Flindt, M.R. and Pardal, M.A. 2007. Influence of salinity, nutrients and light on the germination and growth of *Enteromorpha* sp. spores. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 341, 142-150.

Steel, R.G.D. and Torrid, J.H. 1980. Principle and Procedures of Statistics, 2nd ed Mc Grawhill, New York.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Volotovski, I.D. 2011. Role of calcium ions in photo signaling processes in a plant cell. Biophysics. 56 (5), 778-788.

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ภาคผนวก

Prince of Songkla University
Pattani Campus

1 การนับเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

1.1 การนับเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ด้วย Haemacytometer มีความลึก 0.1 มิลลิเมตร (mm) ประกอบด้วยตารางขนาด 1 ตารางมิลลิเมตร จำนวน 9 ตาราง มี 2 ด้าน แต่ละด้านตารางแบ่งเป็นช่องย่อย ๆ

การคำนวณหาปริมาตรเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่จากการนับด้วย Haemacytometer การนับจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนจากช่องใหญ่ 9 ช่อง **(**กำลังขยายประมาณ 4 x 10 เท่า)

1 ช่องใหญ่ มีปริมาตร เท่ากับ 1×0.1 มิลลิเมตร

เท่ากับ 0.1×0.1×0.01 เซนติเมตร (cm)

เท่ากับ 0.0001 ลูกบาศก์เซนติเมตร หรือ 0.0001 มิลลิลิตร (mL)

เท่ากับ 10^{-4} มิลลิลิตร

สมมติเลือกนับ 10 ช่อง จาก 9 ช่อง (ด้านละ 5 ช่อง)

ดังนั้น 10 ช่องใหญ่ มีปริมาตรเท่ากับ 10×10^{-4} ตารางเซนติเมตร

หากนับเซลล์จาก 5 ช่องใหญ่ได้ n เซลล์ คือปริมาตร 5×10^{-4} ตารางเซนติเมตร มีจำนวน n เซลล์ ดังนั้น ปริมาตร 1 ตารางเซนติเมตร มีจำนวน $(1 \times n \times 10^{-4})/5$ เซลล์

2 สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่

ตารางผนวกที่ 1 สูตรอาหาร MGM (Modified Guillard's Medium) ที่ใช้เลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* โดยใช้อัตรา 1 mL ต่อน้ำ 1 ลิตร

Chemical	MW	Mol/L	Chemical/L
$NaNO_3$	84.99	0.1 µmol	42.5 g
$Na_2H_2PO_4$	141.96	30 µmol	4.26
$FeSO_4$	151.91	1 µmol	0.15
Na_2EDTA ($C_{10}H_{14}O_8Na_2.2H_2O$)	372.24	500 µmol	37.2
MnC_{12}	125.84	1 µmol	0.01258 mg

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.วิธีเตรียมทดสอบธาตุอาหารในสาหร่ายและน้ำ

ก. วิธีการเตรียมสาหร่าย

ตัวอย่างสาหร่าย 1 กรัมน้ำหนักแห้ง ชั่งน้ำหนักใส่ในบีกเกอร์ Pyrex ขนาด 500 mL เติม HNO_3 10 mL คนให้ทั่วอย่างช้า ๆ หลังจากนั้นเติม 3 mL ของ $HClO_4$ 60 เปอร์เซ็นต์ วางบน hot plate ให้ความร้อนอย่างช้า ๆ จนกระทั่งฟองหายไป ให้ความร้อนต่อจนกระทั่ง HNO_3 เกือบระเหยจะมีควันสีขาวเกิดขึ้น จึงตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติม HNO_3 10 mL และให้ความร้อนต่อจนควันสีขาวเกิดขึ้น ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ให้ความร้อนต่อจนกว่าไอเป็นสีขาวของ $HClO_4$ จึงทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 50 mL โดยการเติม HCl (1+1)

ข. วิธีการเตรียมน้ำ

กรองน้ำ 100 mL เติม HNO_3 3 mL วางบน hot plate ให้ความร้อนอย่างช้า ๆ จนกระทั่งเหลือปริมาตรน้ำ 50 mL เติม HNO_3 3 mL วางบน hot plate ให้ความร้อนอย่างช้า ๆ จนกระทั่งเหลือปริมาตรน้ำประมาณ 20 mL จึงทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรน้ำด้วยน้ำกลั่น 25 mL นำตัวอย่างน้ำไปตรวจสอบปริมาณธาตุโลหะ

4. วิธีวิเคราะห์ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส โดยวิธี ascorbic acid method

การเตรียมสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส

1. Sulfuric acid solution 5.0 N

เจือจางกรดซัลฟิวริกเข้มข้น จำนวน 70 mL ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 mL เก็บในขวดแก้วสีชา

2. Potassium antimonyl tartrate solution

ละลาย potassium antimonyl tartrate ($K(SbO)C_4H_4O_6.1/2H_2O$) จำนวน 1.3715 กรัม (g) ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 mL เก็บในขวดแก้วสีชา ถ้าสารนี้ยังใสอยู่ก็ใช้ไปเรื่อย ๆ

3. Ammonium molybdate solution

ละลาย ammonium molybdate ($(NH_4)_6Mo7O_{24}.4H_2O$) จำนวน 20 กรัม ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 mL เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ถ้าสารนี้ยังใสอยู่สามารถใช้ไปเรื่อย ๆ

4. Ascorbic acid 0.01 M

ละลาย ascorbic acid จำนวน 1.76 กรัม ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL เก็บในขวดพลาสติกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารนี้อยู่ได้ประมาณ 1 สัปดาห์

5. Standard phosphate solution

ละลาย KH_2PO_4 จำนวน 0.2195 กรัม ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 mL สารละลายนี้จะมีความเข้มข้นของ PO_4^{3-}-P 500 มิลลิกรัม/ลิตร (mg/L)

Prince of Songkla University Pattani Campus

การเตรียม standard curve

นำ standard phosphate solution (500 mg/L) มาจำนวน 2.00 mL ใส่ไว้ใน volumetric flask ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 mL จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ PO_4^{3-}-P 1.00 mg/L แล้ว เตรียมสารละลายเพื่อทำ standard curve ตามความเข้มข้น (ใช้ volumetric pipet ในการดูดสาร)

ตารางผนวกที่ 2 สารละลายเพื่อทำ standard curve ตามความเข้มข้น

Phosphate-Phosphorous (mg/L)	จำนวน mL ของ 1.00 mg/L PO_4^{3-}-P ที่ pipet มาแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 mL
0.00	0.00
0.02	2.00
0.04	4.00
0.06	6.00
0.08	8.00
0.10	10.00
0.15	15.00
0.20	20.00

วิธีการวิเคราะห์ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส

เตรียม combined reagent ผสม sulfuric acid solution 5.0 N จำนวน 50 mL+potassium antimonyl tartrate solution จำนวน 5 mL+ammonium molybdate solution จำนวน 15 mL+ascorbic acid solution จำนวน 30 mL โดยปรับอุณหภูมิของสารเคมีแต่ละอย่างให้เท่าอุณหภูมิห้องเสียก่อน และผสมเรียงตามลำดับ เมื่อเติมสารตัวหนึ่งลงไปให้ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารตัวใหม่ลงไป ถ้าเกิดความขุ่นให้ตั้งทิ้งไว้ 2-3 นาที ให้ความขุ่นหายไปแล้วผสมต่อตวงน้ำตัวอย่างจำนวน 50.0 mL ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 mL หยด phenolphthalein 1 หยด ถ้ามีสีแดงให้หยด 5.0 N sulfuric acid จนไม่มีสีแล้วเติม combined reagent 8.0 mL ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer รุ่น SHIMADZU UV–160A ที่ความยาวคลื่น 880 นาโนเมตร แต่อย่าทิ้งไว้นานเกิน 30 นาที

Prince of Songkla University Pattani Campus

5. วิธีการวิเคราะห์ไนเตรท-ไนโตรเจน

ตวงตัวอย่างน้ำ 90 mL (ถ้า pH ของน้ำตัวอย่างมากกว่า 9 ให้ปรับลงมาโดยใช้ 5 เปอร์เซ็นต์ HCl ให้ pH อยู่ระหว่าง 8-9) ใส่ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 125 mL แล้วเติมแอมโมเนียมคลอไรด์เข้มข้น (NH_4Cl) 2.0 mL ผสมให้เข้ากัน เทลงในคอลัมน์ ปล่อยให้ไหลในอัตรา 5-8 มิลลิลิตร/นาที ใช้กระบอกตวงขนาด 50 mL รองน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ออกมา ทิ้งน้ำตัวอย่าง 25-30 mL ครั้งแรกที่ผ่านคอลัมน์ เก็บน้ำตัวอย่างที่ผ่านคอลัมน์ 50 mL ไปวิเคราะห์หลังจากผ่าน reduction column แล้วไม่เกิน 15 นาที นำตัวอย่างน้ำปริมาตร 50 mL เติม sulfanilamide จำนวน 1.0 mL ผสมทิ้งไว้ 2 นาที แต่ไม่เกิน 8 นาที แล้วเติม N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride solution จำนวน 1.0 mL ผสมทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาที แต่ไม่เกิน 2 ชั่วโมง วัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer รุ่น SHIMADZU UV – 160 A ที่ความยาวคลื่น 543 นาโนเมตร

6. วัดความเป็นกรด–ด่าง ด้วย pH meter model HI 98107 โดยนำน้ำที่เก็บแต่ละบ่อมาวัดความเป็นกรด-ด่างโดยนำ pH meter มาจุ่มในน้ำตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง ทุกสัปดาห์

7. วิธีวัดความเค็มด้วย refracto-salinometer วัดทุก ๆ สัปดาห์น้ำ

8. วิธีวัดอุณหภูมิน้ำและอากาศด้วย alcohol thermometerวัดทุก ๆ สัปดาห์เวลา 12.30 นาที

ตารางผนวกที่ 3 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U.intestinalis*

	การศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์		
	สิ่งแวดล้อม	**แบบอาศัยเพศ**	**แบบไม่อาศัยเพศ**
สภาพแวดล้อม	อัลคาไลด์	/	-
	ฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส	/	-
	ไนเตรท-ไนโตรเจน	/	-
	ความกระด้าง	-	/
	pH	-	-
	ความเค็ม	-	/
	อุณหภูมิอากาศ	-	-
	อุณหภูมิน้ำ	-	-
	ความเข้มแสง	/	-
	ความยาวท่อนพันธุ์	/	-
ธาตุในแหล่งน้ำ	Mn	/	-
	Cr	/	-
	Cu	-	-
	Fe	-	-
	Zn	-	-
	Ca	-	-

Prince of Songkla University Pattani Campus

การศึกษาสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการสืบพันธุ์			
	สิ่งแวดล้อม	**แบบอาศัยเพศ**	**แบบไม่อาศัยเพศ**
ธาตุในสาหร่าย	Mn	-	-
	Cr	-	-
	Cu	-	-
	Fe	-	-
	Zn	-	-
	Ca	-	/

ตารางผนวกที่ 4 การศึกษาสภาวะแวดล้อมต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

Factor	Level	Day of maturation	% maturation
ความเค็ม (ppt)	10	6	100
	15	4	100
	20	4	100
	25	4	100
	30	4	100
การผึ่งแห้ง (ชั่วโมง)	0	4	100
	1	4	100
	2	4	100
	3	0	0
ขนาดท่อนพันธุ์ (cm)	0.5	4	100
	1.0	4	100
	1.5	6	100
	2.0	4	100
	3.0	6	100
อุณหภูมิ (°C)	25	4	100
	30	14	87
	35	0	0
การเพิ่มปริมาณแคลเซียม (mg/L)	12	4	100
	18	4	100
	0	4	100
	6	2	100

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางผนวกที่ 5 การศึกษาวิธีการกระตุ้นให้ปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

Factor	Level	Day of spore release	Number of spore release ($x10^6 \pm SE\ x10^6$ สปอร์/กรัมน้ำหนักสด)
ระดับความเค็ม (ppt)	5	4	4.02±0.27[a]
	10	4	7.10±3.39[a]
	15	4	4.42±0.31[a]
	20	4	3.55±0.43[a]
	25	4	12.16±0.37[a]
ความเข้มแสง (µmol m^{-2} s^{-1})	20	4	10.10±0.24[a]
	80	8	6.79±0.94[a]
	100	4	3.79±1.40[a]
	150	6	7.42±1.20[a]
การผึ่งแห้ง (ชั่วโมง)	0	8	9.05±1.50[a]
	1	8	9.76±1.01[a]
	2	8	4.33±0.75[a]
	3	8	5.34±1.26[a]

ตารางผนวกที่ 6 การศึกษาพฤติกรรมการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายไส้ไก่ *U .intestinalis*

ตำแหน่ง	**วัสดุ**		
	เชือก	**พลาสติก**	**อวน**
จำนวนสปอร์เกาะ	ดีมาก	ปานกลาง	ดี
บน	ดีมาก	ปานกลาง	น้อย
กลาง	น้อย	น้อย	น้อย
ล่าง	ปานกลาง	น้อย	น้อย

หมายเหตุ 1-25 น้อย 26-50 ปานกลาง
51-75 ดี 76-100 ดีมาก

Prince of Songkla University Pattani Campus

การเผยแพร่ผลการวิจัย

บทความวารสาร (Journal) จากการเผยแพร่ผลงานวิทยานิพนธ์แบบบรรยายในการประชุมวิชาการเกษตร ครั้งที่ 16 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ระหว่างวันที่ 26 เดือน มกราคม พ.ศ. 2558 ถึงวันที่ 27 เดือน มกราคม พ.ศ. 2558

Prince of Songkla University
Pattani Campus

แก่นเกษตร 43 ฉบับพิเศษ 1 : (2558). KHON KAEN AGR. J. 43 SUPPL. 1 : (2015).

การเหนี่ยวนำการสร้างอับซูโอสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus (Chlorophyta) ในห้องปฏิบัติการ

Induction of Zoosporangial Formation of Gut Weed, *Ulva intestinalis* Linnaeus (Chlorophyta) in Laboratory

อาริณี มูน๊ะ[1], ระพีพร เรืองช่วย[1*] และ โชคชัย เหลืองธุวปราณีต[1]

Arinee Muna[1], Rapeeporn Ruangchuay[1*] and Chokchai Lueangthuvapranit[1]

บทคัดย่อ: การเหนี่ยวนำการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับใช้ในขยายพันธุ์ได้อย่างต่อเนื่อง ใช้ปัจจัยกระตุ้น 3 ปัจจัย ประกอบด้วย 1) ขนาดความยาวท่อนพันธุ์ 5 ระดับ คือ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 ซม. 2) อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 25, 30 และ 35°C และ 3) การเติมสารแคลเซียม จากคลอไรด์ 4 ระดับ คือ 0, 6, 12 และ 18 มก./ล. เซลล์สืบพันธุ์ที่สร้าง คือ อับซูโอสปอร์ พบว่ามีจำนวนโพรโทพลาสต์ 13±3 อัน/เซลล์ โดยความยาวท่อนพันธุ์ 0.5-3.0 ซม. ไม่มีผลต่อการสร้างอับซูโอสปอร์ โดยสร้างได้ร้อยละ 98±4-100±0 ในเวลา 4 วัน ส่วนอุณหภูมิ 25°C ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำสร้างอับซูโอสปอร์ ได้มากที่สุด คือ ร้อยละ 100±0 ในวันที่ 4 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่น ส่วนการเพิ่มสาร $CaCl_2$ 6 และ 18 มก./ล. ส่งผลให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุดร้อยละ 100±0 ในวันที่ 2 ใกล้เคียงกับการเติม $CaCl_2$ 12 มก./ล ดังนั้น การตัดสาหร่ายเป็นชิ้นส่วนขนาด 0.5-3.0 ซม. การเลี้ยงชิ้นส่วนสาหร่ายที่ 25°C และการเพิ่มสาร $CaCl_2$ 6-18 มก./ล. ลงในน้ำเลี้ยงจะช่วยเหนี่ยวนำให้สาหร่ายไส้ไก่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ภายใน 2 วัน

คำสำคัญ สาหร่ายไส้ไก่, *Ulva intestinalis*, อับซูโอสปอร์

ABSTRACT: Induction of zoosporangial formation in *Ulva intestinalis* [by using the environmental factor] in laboratory condition was aimed to obtain the beneficial information for the continuous culture. Three factors including: 1) fragment length, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 3.0 cm; 2) temperature 25, 30 and 35°C; and 3) calcium chloride ($CaCl_2$) 0, 6, 12 and 18 mg/L. The results found only zoosporangia. Each cell contained of sporangial protoplasts 13±3 individuals. The fragment length, 0.5-3.0 cm long, were not significantly different on sporangia formation ($p>0.05$). Every fragment lengths were induced zoosporangia 98±4-100±0% in 4 days. At 25°C the fragments were produced sporangia 100±0 % within 4 days and showed significantly affect with those of the remained temperatures. The enriched of $CaCl_2$ at 6 and 18 mg/L inducted 100±0% zoosporangia in 2 days and which similar to 12 mg/L. $CaCl_2$ Inconclusion cutting of the thallus length into 0.5-3.0 cm and cultured at 25°C were induced zoosporangia in 4 days while adding 6-18 mg/L $CaCl_2$ induced zoosporangia within 2 days.

Keywords: Gut weed, *Ulva intestinalis*, zoosporangia

[1] แผนกวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จ.ปัตตานี 94000
Division of Fishery Technology, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Pattani Province 94000

* Corresponding author: rrapee@bunga.pn.psu.ac.th

บทนำ

สาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ซึ่งอาจรู้จักในชื่อเดิมว่า *Enteromorpha intestinalis* เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว ในดิวิชัน Chlorophyta มีแทลลัสเป็นหลอดกลวง หงิกงอ หรือเป็นลอน และย่นเหมือนไส้ไก่ แตกแขนงได้ อยู่เป็นกลุ่มหรือเป็นสาย (ยุวดี, 2549) มีลักษณะอ่อนนุ่มและมีวงจรชีวิตสั้น (Reine and Trono, 2001) พบได้ทั่วไปตามบริเวณแหล่งน้ำกร่อย ปากแม่น้ำ ขึ้นบนพื้นโคลนหรือบนก้อนหิน ในบริเวณที่มีธาตุอาหารสูง (Algaebase, 2014) มีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมในช่วงกว้าง (Kamer and Fong, 2000)) เนื่องจากสาหร่าย ในสกุล *Ulva* มีวิตามิน เกลือแร่ โปรตีนสูง ช่วยกระตุ้นกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค ประเทศในแถบเอเชียจึงมีการนำสาหร่ายมาใช้ประโยชน์ต่างๆ เช่น ประเทศญี่ปุ่นและจีน ใช้เป็นพืชผักสมุนไพร โดยนำมาบดเป็นผง ใช้โรยหน้าอาหารต่าง ๆ (Critchley and Ohno, 1998) ในประเทศฟิลิปปินส์นำมาเป็นอาหารปลานวลจันทร์ทะเล *Chanos chanos* (Reine and Trono, 2001) นอกจากนี้ ยังนำสารสกัดจากสาหร่ายกลุ่มนี้มาเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง แชมพู และ โลชั่น เนื่องจากมีสารต้านจุลชีพอยู่ด้วย (Adey and Purgason, 1998; Briand 1995; Briand et al. 2005; Hasebe and Yamad, 2004)

สำหรับในประเทศไทยได้นำสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* มาใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่าสาหร่ายไส้ไก่สามารถดูดซับแอมโมเนีย ไนไตรท์ และฟอสฟอรัสในบ่อกุ้ง เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และบ่อเลี้ยงที่มีสาหร่ายไส้ไก่จะมีปริมาณสัตว์หน้าดินมาก จึงเป็นแหล่งสร้างอาหารจากธรรมชาติให้กับกุ้งกุลาดำในบ่อดินตั้งแต่ระยะเริ่มต้นเลี้ยง ซึ่งช่วยลดต้นทุนค่าอาหารกุ้งได้ในช่วงเวลาการเลี้ยง 2 เดือนแรก (จริยาวดี และคณะ, 2550) นอกจากนี้ยังทำให้ระบบการเลี้ยงปลอดจากสารเคมี ซึ่งมีผลดีต่อผู้บริโภค จากการใช้ประโยชน์ดังกล่าวทำให้มีความพยายามในการขยายพันธุ์และเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่กันมากขึ้น แต่ยังไม่พบรูปแบบการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ได้อย่างต่อเนื่องที่จะได้ต้นอ่อนมากพอซึ่งนำไปใช้เลี้ยงในบ่อดินได้ ดังนั้นการเหนี่ยวนำการสืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่โดยใช้ปัจจัยเด่นต่างๆ ได้แก่ ปัจจัยทางชีวภาพ คือ ขนาดของท่อนพันธุ์ ปัจจัยทาง ฟิสิกส์ ได้แก่ อุณหภูมิ และ ปัจจัยทางเคมี ได้แก่ ปริมาณสารแคลเซียม ที่จะทำให้การพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* ได้ในเวลาที่รวดเร็วขึ้น เพื่อจะนำไปใช้ในการเลี้ยงได้ต่อไป

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมท่อนพันธุ์

แทลลัสสาหร่าย *U. intestinalis* เก็บจากฟาร์มสาหร่ายที่เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ บริเวณมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ นำมาคัดเลือกต้นพันธุ์ที่สมบูรณ์ จัดสิ่งปนเปื้อนต่างๆ แล้วนำตัวอย่างมาล้างหลายครั้งด้วยน้ำทะเลที่ระดับความเค็มเดียวกันจากสภาพแวดล้อมที่เก็บ และตรวจสอบการลักษณะเซลล์ใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเลือกแทลลัสที่ยังไม่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ นำมาเหนี่ยวนำด้วยวิธีต่าง ๆ

2. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

2.1 ขนาดของท่อนพันธุ์ที่แตกต่างกัน

ตัดแทลลัสสาหร่าย *U. intestinalis* ที่ความยาวแตกต่างกัน 5 ขนาด ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 3.0 ซม. ชั่งน้ำหนักรวม 0.5 ก. ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้น้ำความเค็ม 25 ppt เติมอาหาร สูตร Modified Gillard'S Medium (MGM) (Guillard, 1975) ภายใต้อุณหภูมิ 25±2°C ที่ความเข้มแสง 60 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ การให้แสง:มืด เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ทำตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 2 วัน และนำผลที่ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 ระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

นำแทลลัสที่ยังไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มาตัด

ให้ได้ขนาด 3 ซม. (โดยใช้เงื่อนไขที่เหมาะสมที่ได้ศึกษาจากข้อ 2.1) ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ที่มีน้ำความเค็ม 25 ppt และ สูตรอาหาร MGM ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ เลี้ยงในอ่างควบอุณหภูมิที่ระดับ ต่างกัน 25, 30 และ 35 °C การให้แสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการนับตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 2 วันและนำผลที่ได้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การเพิ่มสารแคลเซียมจาก $CaCl_2$ ในปริมาณที่แตกต่างกัน

เพิ่มสารแคลเซียมจาก $CaCl_2$ ในปริมาณ 0, 6, 12 และ 18 มก./ล. โดยนำแทลลัสที่ยังไม่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มา ตัดแทลลัสให้ยาว 3 ซม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ซึ่งมีขาต่อพิเศษเพื่อให้อากาศ ความเค็ม 25 ppt ใช้สูตรอาหาร MGM เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เลี้ยงที่ระดับความเข้มแสง 60 µmol $m^{-2}s^{-1}$ การให้แสง: มืด 12:12 ชั่วโมง ทำการตรวจสอบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก ๆ 2 วัน

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาร้อยละของท่อนพันธุ์ที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ และหาความแตกต่างของทางสถิติ แบบ One-way ANOVA และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเป็นคู่แบบ Tukey HSD[a] (Steel and Torrie, 1980)

ผลการศึกษา

1. พฤติกรรมการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis*

แทลลัสสาหร่ายที่นำมากระตุ้นการสร้างเซลล์สืบพันธุ์มีความยาวเฉลี่ย 9.2±3.8 ซม. และความกว้างเฉลี่ย 1.8±0.8 มม.คุณภาพน้ำในบ่อที่เก็บสาหร่าย มีอุณหภูมิ 27±5°C ความเค็ม 16±5 ppt ปริมาณฟอสเฟตอยู่ในช่วง 0.76±0.22 มก./ล. ปริมาณไนเตรท 0.48±0.37 มก./ล. ค่าความเข้มแสง 1,126±113 µmol m^{-2} s^{-1} pH 7.8±0.2 ความกระด้าง 2,586±50 มก./ล. และ ความเป็นด่าง 132±7 มก./ล. เซลล์สาหร่ายก่อนสร้างเซลล์สืบพันธุ์ มีรูปร่างหลายเหลี่ยม ขนาด 15±3x19±3 µm มีคลอโรพลาสต์อยู่บริเวณขอบเซลล์ ในเซลล์มีไพรีนอยด์ 2±1 อัน เมื่อมีการเหนี่ยวนำด้วยปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ พบว่า การสร้างเซลล์สืบพันธุ์พบทั่วไปบนผิวชิ้นส่วนของสาหร่ายไส้ไก่ที่นำมากระตุ้น โดยเฉพาะบริเวณปลายเซลล์ที่มีรอยตัด โดยเซลล์สืบพันธุ์ที่สร้างเป็นแบบไม่อาศัยเพศ คือ อับซูโอสปอร์ (zoosporangium) ภายในมีการแบ่งตัวของโพรโทพลาสต์ (protoplast) มีจำนวน 13±3 อัน/เซลล์ ขนาดของ โพรโทพลาสต์ภายในเซลล์มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 7±1 µm (Figure 1)

2. ปัจจัยต่าง ๆที่มีผลต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*

2.1 ผลของขนาดท่อนพันธุ์ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

จากการศึกษา พบว่าท่อนพันธุ์สาหร่ายที่ความยาว 0.5–3.0 ซม. มีการสร้างเซลล์แบบสืบพันธุ์ แบบ อับซูโอสปอร์ได้จำนวนร้อยละ 98±4-100±0 ในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำโดยที่ทุกขนาดของท่อนพันธุ์ พบร้อยละของท่อนพันธุ์ที่สร้างอับซูโอสปอร์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามในวันที่ 2 ของการเลี้ยง พบว่าที่ความยาวของท่อนพันธุ์ 3 ซม. พบจำนวนท่อนพันธุ์ที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์มากที่สุด คือร้อยละ 90±3 จึงใช้ขนาดของท่อนพันธุ์ที่ 3 ซม. (Table 1)

2.2 ผลการเหนี่ยวนำด้วยอุณหภูมิระดับแตกต่างกันต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

จากการศึกษาพบว่า ในวันที่ 4 ที่อุณหภูมิ 25 ท่อนพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ได้ร้อยละ 100±0 โดยมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับที่อุณหภูมิ 30°C ซึ่งสร้างอับซูโอสปอร์ได้เพียงร้อยละ 12±8 ขณะที่อุณหภูมิ 35°C ไม่พบการสร้างระหว่างอับซูโอสปอร์และท่อนพันธุ์ตายในวันที่ 6 (Table 1)

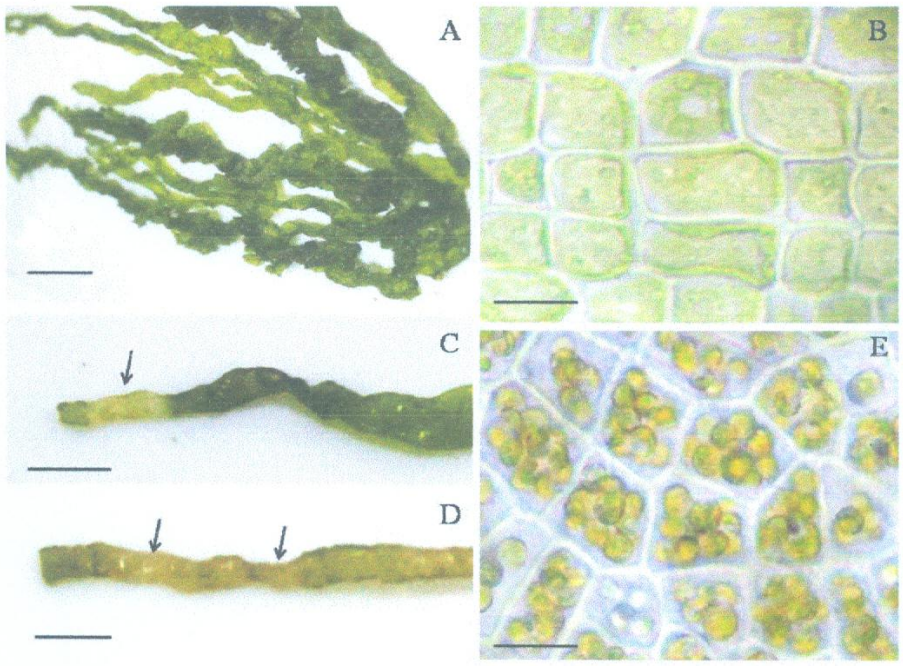


Figure 1 Characteristics of *Ulva intestinalis*: A. Immature thalli, scale bar= 2 mm; B. Surface cells, scale bar= 20 μm; C. Formation of reproductive cell at the end of fragment (arrow point), scale bar= 2 mm; D. Formation of reproductive cell at the inner part of fragment (arrow point), scale bar= 2 mm and D. Zoosporangia, scale bar= 20 μm

Table 1 Stimulating factors on percentage reproductive formation (n=90) in *Ulva intestinalis*

Factors	Level	Percentage of the formation (mean±sd) at 2nd and 4th day		Type of Reproductive cell	Incubated conditions
		2nd	4th		
1. Fragment length (cm)	0.5	86±10[a]	100±0[a]	zoosporangia	Temperature 25°C, light intensity 60 μmol m^{-2} s^{-1}, light:dark 12:12 hrs and salinity 25 ppt
	1.0	80±14[a]	100±0[a]	zoosporangia	
	1.5	69±10[a]	99±1[a]	zoosporangia	
	2.0	61±15[a]	100±0[a]	zoosporangia	
	3.0*	90±3[a]	98±4[a]	zoosporangia	
2. Temperature (°C)	25*	61±16[b]	100±0[c]	zoosporangia	Fragment 3 cm, light intensity 60 μmol m^{-2} s^{-1}, light:dark 12:12hrs and salinity 25 ppt
	30	10±7[a]	12±8[b]	zoosporangia	
	35	0±0[a]	0±0[a]	-	
3. Enrichment concentration of $CaCl_2$ (mg/L)	0	88±3[a]	100±0[a]	zoosporangia	Fragment 3 cm, temperature 25°C, light intensity 60 μmol m^{-2} s^{-1}, light:dark 12:12 hrs and salinity 25 ppt
	6	100±0[b]	100±0[a]	zoosporangia	
	12	96±5[b]	100±0[a]	zoosporangia	
	18	97±6[b]	100±0[a]	zoosporangia	

Different alphabets in colomn of each factor show significant ($p<0.05$)

*The selected condition for the next experiment

2.3 ผลของการเพิ่มสารแคลเซียมจาก $CaCl_2$ ต่อการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

การเพิ่มสาร $CaCl_2$ สามารถกระตุ้นให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบอับซูโอสปอร์ โดยที่การเพิ่มสารแคลเซียม 6 มก./ล. สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ ได้มากและเร็วที่สุดคือร้อยละ100±0 ในวันที่ 2 รองลงมาคือการเพิ่มสารแคลเซียม 18 และ12 มก./ล. สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ ได้ร้อยละ 97±6 และ 96±5 ในวันที่ 2 เช่นกัน โดยที่ระดับการเติม $CaCl_2$ 6, 12 และ 18 มก./ล. พบว่ามีร้อยละสร้างอับซูโอสปอร์ในวันที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างจากที่ไม่ได้เติมสาร $CaCl_2$ (Table 1)

วิจารณ์

เมื่อนำแทลลัสของสาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* มีความยาวเฉลี่ย 9.2±3.8 ซม. มาเหนี่ยวนำให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์โดยตัดแทลลัสให้มีขนาดเล็กลง ให้ท่อนพันธุ์ยาว 0.5-3.0 ซม. สามารถสร้างอับซูโอสปอร์ได้เกือบร้อยละ 100 ภายในวันที่ 4 ของการเหนี่ยวนำ โดยคล้ายคลึงกับสาหร่ายในกลุ่มเดียวกัน ดังการรายงานของ Lin et al. (2008) ซึ่งกล่าวว่า การตัดสาหร่าย *Enteromorpha prolifera* เป็นชิ้นเล็กสามารถเหนี่ยวนำให้สร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อตัดสาหร่ายไส้ไก่เป็นชิ้นส่วนขนาดเล็กลง มีแนวโน้มทำให้สาหร่ายสร้างเซลล์สืบพันธุ์ได้มากขึ้น ส่วนการเหนี่ยวนำด้วยอุณหภูมินั้น พบว่าที่ 25°C มีความเหมาะสมกับการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างอับซูโอสปอร์ ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกับ Mantri et al. (2011)รายงานว่าปัจจัยร่วมระหว่าง อุณหภูมิ 25 °C และความเค็ม 15 psu (=15ppt) เป็นสภาวะเหนี่ยวนำที่เหมาะสมสำหรับสาหร่าย *Ulva fasciata* ให้สร้างซูโอสปอร์ (zoospore) แม้ว่าในบริเวณที่เก็บสาหร่าย *U. intestinalis* ครั้งนี้มีอุณหภูมิ 27±5°C แต่การเพิ่มอุณหภูมิทำให้สาหร่ายสร้างอับซูโอสปอร์ได้น้อยกว่าการลดอุณหภูมิ ส่วนการเพิ่มสาร $CaCl_2$ ปริมาณ 6-18 มก./ล. สามารถเหนี่ยวนำให้มีการสร้างอับซูโอสปอร์ ได้เร็วยิ่งขึ้น เนื่องจาก Ca^{2+} เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างและการทำงานที่สำคัญของเซลล์พืช มีบทบาทในการสร้างผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ (Volotovski, 2011) ซึ่งมีความจำเป็นต่อพืชที่มีคลอโรฟิลล์ทุกชนิด โดยมีความสำคัญในการแบ่งเซลล์ และการแพร่พันธุ์ (พรพิมล, 2552) ดังนั้นเมื่อมีการเพิ่มสาร $CaCl_2$ ลงในน้ำเลี้ยง ทำให้สาหร่ายแบ่งโพรโทพลาสต์ได้เร็วขึ้น ทำให้สาหร่าย *U. intestinalis* สร้าง อับซูโอสปอร์ ภายในเวลา 2 วัน ทั้งนี้ จากการใช้ปัจจัยต่างๆ ในการกระตุ้น *U. intestinalis* สร้างอับซูโอสปอร์ได้ครั้งนี้ภายในเวลา 2-4 วัน ซึ่งระยะเวลาสอดคล้องกับรายงานของ Dan et al. (2002) ที่เลี้ยงชิ้นส่วนของสาหร่าย *E. prolifera* ซึ่งตัดเป็นชิ้นส่วนรูปกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 4.2 มม. ที่ระดับความเค็ม 5-52 psu (=5-52 ppt) ทำให้มีการสืบพันธุ์ได้มากกว่าร้อยละ 70 ของชิ้นส่วนทั้งหมดในเวลา 4-5 วัน และจากการกระตุ้นให้ในสาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ห้องปฏิบัติการครั้งนี้ พบเพียงอับซูโอสปอร์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lin et al. (2008) พบว่า *E. prolifera* ในห้องปฏิบัติการพบสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพียงเฉพาะแบบอับซูโอสปอร์ ซึ่งเป็นการสืบพันธุ์ที่ไม่มีเพศ สามารถปล่อยซูโอสปอร์ (zoospore) ที่จะเจริญเป็นต้นใหม่ได้โดยตรง แม้ว่า ในทัลลัสที่สมบูรณ์สามารถสร้างเซลล์สืบพันธุ์ สองแบบได้ในท่อนเดียวกัน คือ อับเซลล์สืบพันธุ์แบบมีเพศ (gametangium) และ อับซูโอสปอร์ (Reine and Trono, 2001) แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบเฉพาะ อับซูโอสปอร์เท่านั้น อาจเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมที่ใช้เหนี่ยวนำดังกล่าวไม่เหมาะสมต่อการสร้างอับเซลล์สืบพันธุ์แบบมีเพศ หรืออาจเป็นเพราะท่อนพันธุ์ไม่สมบูรณ์พร้อม

สรุป

การกระตุ้นให้สาหร่ายไส้ไก่ *U. intestinalis* สร้างเซลล์สืบพันธุ์ ในห้องปฏิบัติการ ควรตัดท่อนพันธุ์ให้มีขนาดเล็ก 0.5-3 ซม. เลี้ยงที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 60 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ ระยะเวลาที่ได้รับแสง:มืด เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ที่ระดับความเค็ม

25 ppt สูตรอาหาร MGM ทำให้ท่อนพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่สร้างอับซูโอสปอร์ได้เกือบทั้งหมดภายในเวลา 4 วัน และการเพิ่มสาร $CaCl_2$ อย่างน้อย 6 mg/L ลงในน้ำเลี้ยงจะช่วยกระตุ้นให้เกิดอับซูโอสปอร์ได้เร็วขึ้นภายใน 2 วัน

เอกสารอ้างอิง

จริยาวดี สุริยพันธุ์, ขัชรี แก้วสุรลิขิต, ชนัดดา เกตุมา, ชลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิด, สาธิต ประเสริฐ, เดชานาท ทองพิทักษ์, และ ประยูร หงส์รัตน์. 2550. ผลของสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis* Linnaeus) ต่อสัตว์หน้าดินในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius). http://tdc.thailis.or.th/tdc/basic.php. ค้นเมื่อ 28 มิถุนายน 2557.

พรพิมล สุริยภัทร. 2552. หน้าที่และอาการขาดธาตุอาหารสำคัญ. http//www.agri.ubu.ac..th/~ponpimon/1202320. ค้นเมื่อ 2 พฤศจิกายน 2557.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา (Phycology). ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์.มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Adey, W. H. and R. Purgason. 1998. Animal Feedstock Comprising Harvested Algal Turf and a Method of Preparing. United States Patent No. US 1998/5715774, Feb 10, 1998.

Algaebase. 2014. Ulva Linnaeus, 1753: 1163. http://www.algaebase.org/search/genus/detail, Accessed Aug. 25, 2014.

Briand, X. 1995. Utilization of algae extract for the preparation of pharmaceutical, cosmetic. United States Patent No. US 5508033/1996, Feb 14, 1996.

Briand, X., C. Stephanie, B. Dumas, T .M. Esquerre-Tugayeand, S. Salamagne. 2005. Use of Ulvans as Elicitors of Mechanisms for Nitrogen Absorption and Protein. United States Patent No. US 2005/0127695 A1, Mar 30, 2005.

Critchley, A.T. and M. Ohno, 1998. SEAWEED RESOURCES OF THE WORLD. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan.

Dan, A., M. Hiraoka., M. Ohno. and T. Critchley. 2002. Observations on the effect of salinity and photon effluent rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Muller) J.Agardh (Chlorophyta, Ulvales). Journal of Fisheries science. 68:1182-1188

Hasebe, K. and K. Yamada. 2004. Hair treatment composition and hair cosmetic for damaged hair. United States Patent No. US2004/0165636 A1, Mar 3, 2004.

Kamer, K. and P. Fong. 2000. A fluctuating salinity regime mitigates the negative effects of reduced salinity on the estuarine microalga, *Enteromorpha intestinalis*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 254:53-69.

Lin, A., C. Shen, J. Wang, and B. Yan. 2008. Reproduction Diversity of *Enteromorpha prolifera*. J. Integr. Plant Biol. 50:622–629.

Mantri, V.A., R.P. Singh, A.J. Bijo, P. Kumari, C. R. K. Reddy, and B. Jha. 2011. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). J. Appl. Phycol. 23:243-250.

Reine, P.V. and Trono, G.C. 2001. PLANT RESOURCES OF ROUTH-EAST ASIA. Backhuys Publishers, Leiden.

Steel, R. G. D. and J.H. Torrid, 1980. PRINCIPLE AND PROCEDURES OF STATISTICS, 2nd ed. Mc Grawhill, New York

Volotovski, I. D. 2011. Role of calcium ions in photo signaling processes in a plant cell. Biophys. J. 56:778-788.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล อาริณี มูน๊ะ
รหัสประจำตัวนักศึกษา 5520320604
วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2555
วท.บ. (เทคโนโลยีการประมง)	วิทยาเขตปัตตานี	

ทุนการศึกษา

ทุนยกเว้นค่าธรรมเนียม จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
ทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

อาริณี มูน๊ะ ระพีพร เรืองช่วย และโชคชัย เหลืองธุวปราณีต. 2558. การเหนี่ยวนำการสร้างอับซูโอสปอร์ของสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* Linnaeus (Chlorophyta) ในห้องปฏิบัติการ. วารสารแก่นเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 43(1), 50-55.

Prince of Songkla University Pattani Campus