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