# 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