เอกสารอ้างอิง

ชนัดดา เกตุมา, ชัชรี แก้วสุรลิขิต, จริยาวดี สุริยพันธุ์และชะลอ ลิ้มสุวรรณ. 2549. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายไส้ไก่ (*Ulva intestinalis*_ Linnaeus) ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [ออนไลน์]http://kucon.lib.ku.ac.th/cgibin/KUCON.exe?rec_id=011136&database=KUCON&search_type=link&table=mona&back_path=/KUCON/mona&lang=thai&format_name=TFMON (3 เมษายน 2552)

ประยูร หงส์รัตน์, ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิดและชัชรี แก้วสุรลิขิต. 2549. การเลี้ยงกุ้งกุลาดำร่วมกับสาหร่ายไส้ไก่. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพมหานคร. 15 หน้า.

ยุวดี พีรพลศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา (Phycology). ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 497 หน้า.

สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย (สสท). 2550. ฟาร์มกุ้งอินทรีย์แห่งแรก แก้วิกฤตราคาต่ำ. [ออนไลน์] http://www.tei.or.th/hotnews/07090-other5-manager.htm (13 พฤศจิกายน 2551)

สุวรรณา วรสิงห์, ธวัช ศรีวีระชัย และ จุฑารัตน์ ศิริสมบัติ. 2550. ผลของระดับความเค็มน้ำทะเลต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายหนาม *Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen 1910 สาหร่ายพวงองุ่น *Caulerpa lentillifera* J. Agardh 1837 และสาหร่ายไส้ไก่ *Enteromorpha clathrata* (Roth) Greville 1830. เอกสารวิชาการฉบับที่ 25/2550, ศูนย์วิจยและพัฒนาประมงชายฝั่งจันทบุรี. 23 หน้า.

Aguilera-Morales, M. Casas-Valdez, M. Carrillo-Dominguez, S. Gonzalez-Acosta, B. and Perez-Gil, F. 2005. Chemical composition and microbiologycal assays of marine algae *Enteromorpha* spp. As a potential food source. J. Food Composition and Analysis, 18(1):79-88.Cavalier-Smith. 1998. Taxonomy. [ออนไลน์] http://zipcodezoo.com/Plants/u/Ulva_lactuca_crispa/ (8 พฤษภาคม 2552)

Franciane Pellizzari and Eurico C. Oliveira. 2007. Life-history, thallus ontogeny, and the effectsof temperature, irradiance and salinity on growth of the edible green seaweed *Gayralia spp.* (Chlorophyta) from Southern Brazil, 80 : 75-82.

Hiraoka, M. and Oka, N. 2008. Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new “germling cluster” method. J. Appl. Phycol. 20:97-102.

Krista Kamer and Peggy Fong. 2000. A fluctuating salinity regime mitigates the negative effects of reduced salinity on the estuarine macrialga, *Enteromorpha intestinadis*. Department of Organismic Biology, University of California, 254 : 53-69.

Lin, A., Shen, S., Wang, J, and Yan, B. 2008. Reproductive Diversity of *Enteromorpha prolifera*. J. Integrative Plant Biol. 50(5): 622-629.

Lobbon, S. C. and Harrison, A. P. 2000. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge University Press, Cambridge, USA. 87 : 242-366.

Martins, I., Oliverira, J. M., Flindt, M. R., and Marques, J.C. 1999. The effect of salinity on the growh rate of the macroalgae *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) in the Mondego estuary (west Portugal) Acta Oecologic. 20(4): 259-265.

Millner, P.A., Maureen, E., and Evans, L.V. 1979. Preparation of Protoplasts from the Green Alga *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link, Planta 147: 174-177.

Ohno, M. 1993. Cultivation of green algae, *Monostroma* and *Enteromorpha* "Aonori". *In* Ohno, M. and Critchley, A. T. Seaweed Cultivation and Marine Ranching. Kanagawa International fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency (JICA). 151 p

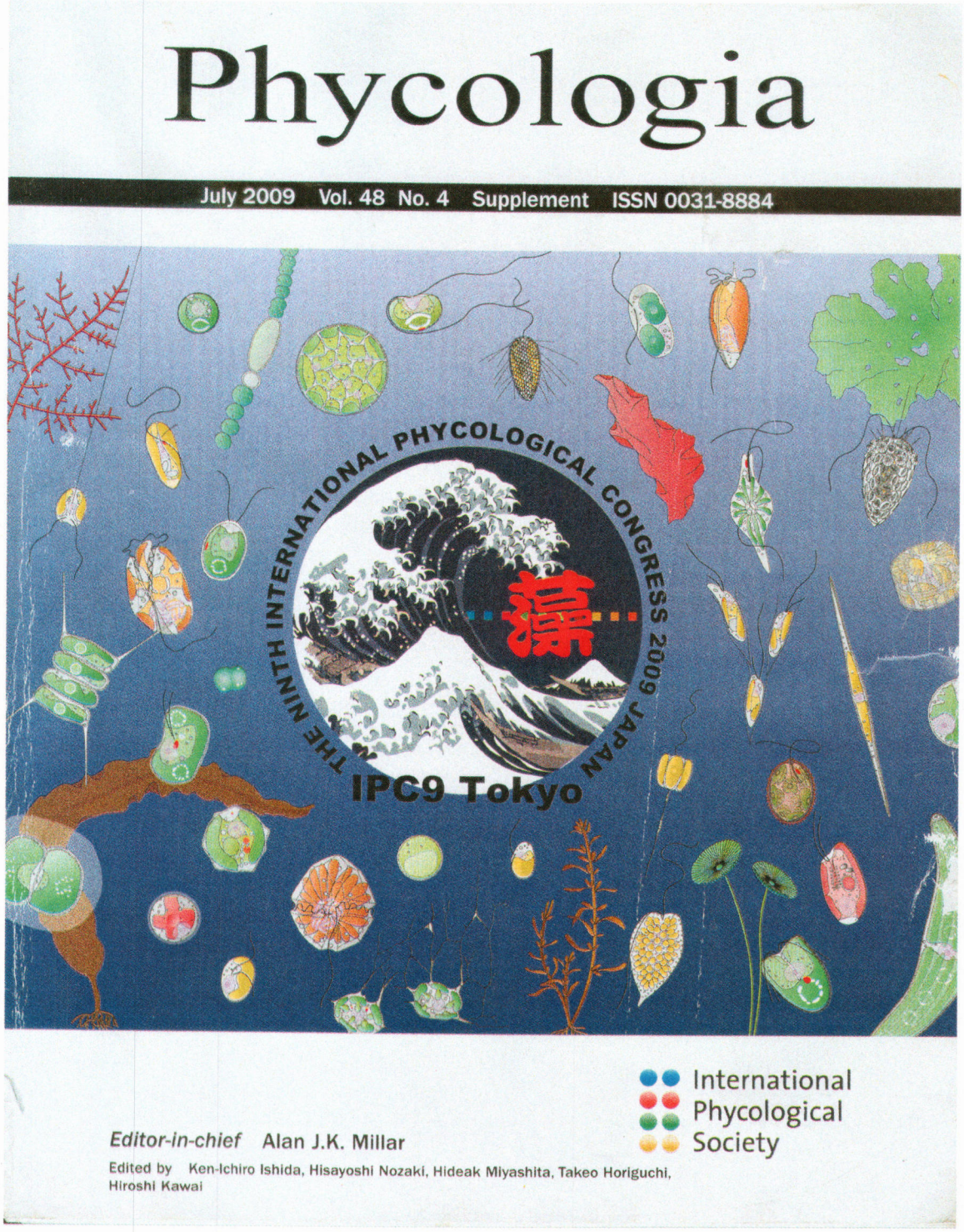
Pellizzari, F. and Oliveira, E. C. 2007. Life-history, thallus ontogeny, and the effectsof temperature, irradiance and salinity on growth of the edible green seaweed *Gayralia* spp. (Chlorophyta) from Southern Brazil, 80 : 75-82.

Prud'homme van Reine, W. F. and Trono, G. C. 2001. Plant Resources of South-East Asia. No. 15 (1) Cryptogams: Algae. Backhuys Publishers, Leiden, the Netherlands. 318 p.

Thailand Environmental Institute, 2007. First organic farm: solving critical price. [online] http://www.tei.or.th/hotnews/07090-other5-manager.htm (13 November 2007)

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

การเสนอผลงานในที่ประชุม The Ninth International Phycological Conferences 2009 และ ตีพิมพ์บทคัดย่อใน Phycologia 48(4) (Suppl): 112-113



total feed weight). Two parameters of the innate immune humoral response were evaluated: the anti-trypsin activity of sera and the alternative pathway of serum complement activity (ACH50). Fish fed with control diet and algal supplemented diets did not show significant differences in their anti-trypsin activity. However, a significant decrease in ACH50 was observed in fish fed with the diet supplemented with the lowest algal content (5%). Feeding with diets corresponding to 25% of both algae did not induce significant differences in ACH50 compared to control fed fish.

319

MOLECULAR PHYLOGENY OF THE ORDER TRENTEPOHLIALES (ULVOPHYCEAE, CHLOROPHYTA)

F Rindi[1], D W Lam[2] and J M López-Bautista[2]
(fabio.rindi@nuigalway.ie)

[1]*Martin Ryan Institute, National University of Ireland, Galway, Ireland*
[2]*Department of Biological Sciences, The University of Alabama, 425 Scientific Collections Bldg., Tuscaloosa, AL 35487-0345, U.S.A.*

The order Trentepohliales is one of the most widespread groups of subaerial green algae. It is most diverse and abundant in tropical regions and includes organisms living on natural rocks, concrete walls, woodwork, soil, tree bark, and leaves and stems of vascular plants. As currently circumscribed, the order is composed of five genera, whose morphological separation is generally straightforward: *Cephaleuros* Kunze 1827, *Phycopeltis* Millardet 1870, *Printzina* Thompson & Wujek 1992, *Stomatochroon* Palm 1934 and *Trentepohlia* Martius 1817. The species-level taxonomy of this group has been traditionally very problematic, due to the great morphological plasticity of these algae and the confusion in species circumscription accumulated in the past centuries. We investigated the taxonomic and phylogenetic relationships of the Trentepohliales using DNA sequence data of the *rbc*L and 18S rRNA genes. The results revealed that the morphological circumscription of genera in the Trentepohliales does not reflect phylogenetic patterns; three main clades were recovered in all analyses, but none corresponded to any trentepohlialean genus as circumscribed morphologically, with the only partial exception of *Cephaleuros*. The analyses clarified several major taxonomic problems (in particular the separation between *Trentepohlia aurea* and *Trentepohlia flava*) and showed that some entities like *Printzina lagenifera* and *Trentepohlia arborum*, as defined on morphological grounds, represent complexes of cryptic species rather than individual species. Overall, the morphological characters commonly used for species identification in the Trentepohliales appear to be phylogenetically irrelevant. The evolution of these algae has been characterized by considerable morphological convergence, with members of separate lineages that have assumed a very similar morphology.

320

HALYMENIA FLORESII: WHAT A LIFE CYCLE!!

D Robledo[1], J L Godinez-Ortega[2] and Y Freile-Pelegrín[1]
(robledo@mda.cinvestav.mx)

[1]*Departmento de Recursos del Mar, Cinvestav, Km 6 Carretera Antigua a Progreso, Cordemex 97310, AP 73 Mérida, Yucatán, México*
[2]*Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México Apdo. Postal 70-614 D.F. 04510, México*

The range of forms, life histories and reproductive intricacies is greater in the Rhodophyta than in any other algal division. The red algal genus *Halymenia* (Halymenianceae, Rhodophyta) currently includes some 65 species. This genus contains lambda-like carrageenan appearing as a potential useful species. Moreover, *Halymenia* species are consumed in Asia, like *H. discoidea* and *H. durvillaei*, while *H. venusta* is used as animal feed. *Halymenia floresii* the generitype has been reported worldwide from tropical seas. In the Yucatan peninsula coast of Mexico, *Halymenia floresii* dominates rocky substrata between 3 and 40 m where it grows up to 50 cm high. Collection of specimens on Punta Holchit, a population of this species in the Yucatán coast, revealed the presence of both vegetative and reproductive plants. Isomorphic gametophytes and tetrasporophytes are reported in the literature; however, the appearance of an *Acrochaetium* like plant derived from carpospores of this species has been also reported in early seventies. This fact raise the question of whether a heteromorphy life history could be expected on this species, or as previous authors stated it is a matter of definition whether to call the life history of *Halymenia floresii* isomorphic or hetromorphic. From laboratory culture experiments of tropical specimens we have also obtained the so called *Acrochaetium* plants derived from carpospores, but also tetrasporophytes. Our observations suggest that *Halymenia floresii* is capable of continuously producing, as a by product of its life history, *Acrochaetium*-like algae, that eventually by producing monospores could give rise to a new *Halymenia* plant.

321

RESPONSES IN GROWTH AND REPRODUCTION OF *ULVA INTESTIALIS* LINNAEUS (ULVALES, CHLOROPHYTA) TO DIFFERENT ENVIRONMENTAL CONDITIONS

R Ruangchuay[1], S Dahamat, A Chirapat[2] and M Notoya[3]
(rrapee@bunga.pn.psu.ac.th)

[1]*Faculty of Science and Technology, Prince of Songkla University, Amphoe Mueang, Pattani 94000 Thailand*
[2]*Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok, 10900, Thailand*
[3]*Laboratory of Applied Phycology, Tokyo University of Marince Science and Technology, 5-7 Minato-Ku 4, Tokyo 108-8477, Japan*

In Thailand, *Ulva intestialis* is co-cultured with shrimp. A laboratory culture was conducted to determine the optimal conditions required for biomass of the algal growth and reproduction period. The germling clusters of 0.8 ± 0.3 mm in length was achieved with mother plants from shrimp pond. In different salinity experiments of 0–40 ppt with 10 ppt interval (25°C, 50 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs), the maximum blade area of 174.3 ± 37.6 mm was found at 20 ppt. The blade area 160.9 ± 43.0 mm^2 was obtained at 30 ppt. The thalli cultured at 40 ppt were the first to release zoospores from the tips (3rd week). Among different light intensity levels of 40, 80 and 120 µmol m^{-2} s^{-1} (20 ppt, 25°C, 12:12 hrs), they showed the maximum blade area of 137.4 ± 37.4 mm^2 at 80 µmol m^{-2} s^{-1} in 3rd week and released zoospore in 4th week. At 120 µmol m^{-2} s^{-1} they released zoospore in 3rd week. Under different temperature of 20, 25 and 30°C (20 ppt and 60 µmol m^{-2} s^{-1}, 12:12 hrs) at 25°C the thalli showed the maximum blade area of 197.7 ± 46.5 mm^2 in 4th week and released zoospores cell in 5th week. The thallus width was affected by salinity levels, the higher salinity level, the broader the thalli. Only zoosprangia were obtained from the cultured *Ulva intestialis*. All factors of salinity, temperature, and light intensity affected the growth and zoosporangial formation.

322

DISTRIBUTION AND ERADICATION OF *MICROCYSTIS AERUGINOSA* KÜTZING AND MICROCYSTINS IN PRAWN AND FISH FARMS IN THAILAND

K Ruangrit[1], Y Peerapornpisal[1] and N Whangchai[2]
(kkomrit@hotmail.com)

[1]*Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai, 50200 Thailand*
[2]*Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, 50270 Thailand*

A frequent consequence of eutrophication in fresh waters is the mass development of cyanobacteria or blue-green algae. The occurrence of these blooms can create a significant water quality problem, as certain species of these algae are capable of producing toxins. The toxins could be accumulated in aquatic organisms through food chain and could be a threat to human food safety. The aims of this research were to find out the incidence of toxic blue-green algae and their toxins in shrimp and fish farms in Chiang Rai and Chiang Mai provinces, Thailand. The data obtained could be used in the controlling and eradication of toxic algae and its toxin by the biological mean without harming the aquatic animals and the consumers. Study of water quality and phytoplankton diversity in 4 shrimp ponds and 4 fish ponds in Chiang Rai Province and 2 fish ponds in Chiang Mai Province were investigated during April 2006 to February 2007. Toxic algae, *Microcystis aeruginosa* Kützing were found in 4 shrimp ponds and 2 fish ponds. Analysis of microcystins by ELISA technique in shrimp and fish samples, microcystins 0.003–0.3 µg.kg^{-1} were found in shrimp samples. For fish samples, they were found microcystins 0–0.03 µg.kg^{-1} in samples. The study of controlling and eradication of toxic algae and its toxin by using Effective Microorganisms (EM) are still in the process of analysis. The data will be useful for the awareness, prevention and management of agricultural ponds including public health concern with consumption of aquatic organisms in Thailand.

323

SPECIES STRUCTURE AND BIOGEOGRAPHY OF THE MARINE DIATOM *PSEUDO-NITZSCHIA PUNGENS*

K Sabbe, G Casteleyn and W Vyverman
(Koen.Sabbe@ugent.be)

Laboratory of Protistology and Aquatic Ecology, Ghent University, Krijgslaan 281- S8, 9000 Ghent, Belgium

We investigated regional and global variation in molecular markers, sexual compatibility and morphological characteristics in populations of the marine pennate diatom *Pseudo-nitzschia pungens*. Three distinct genetic clades could be distinguished on the basis of sequence variation of rDNA ITS and rbcL, corresponding to the morphological entities var. *pungens*, var. *cingulata* and var. *aveirensis*. Inter-clade hybridization was shown in laboratory experiments and in the field for vars *pungens* and *cingulata*. A population genetic survey using 6 microsatellite markers of the most widespread clade *pungens* demonstrated significant geographical differentiation between the populations at a global scale with geographical isolation being significantly correlated with population genetic differentiation, while at a regional scale significant gene flow appears to occur resulting in uniform, unstructured populations.

324

PHENOLOGY OF *ECKLONIOPSIS RADICOSA* (LAMINARIACEAE) AT THE SOUTHERN DISTRIBUTIONAL LIMIT, IN RELATION TO CLIMATE CHANGES

N Saino[1], G N Nishihara[2], K Murasaki[1] and R Terada[1]
(k6094424@kadai.jp)

[1]*Faculty of Fisheries, Kagoshima University, Shimoarata, Kagoshima City, 890-0056, Japan*
[2]*Institute for East China Sea Research, Nagasaki University, Taira-machi, Nagasaki City, 851-2213, Japan*

Eckloniopsis radicosa (Laminariaceae) is a species of Japanese kelp that is distributed in the lower latitudes of Japan. Kagoshima Prefecture is known as the southern most distributional limit and there is concern that continued increases in water temperature caused by climate change may drive the loss of this species from this region. This study focuses on determining the population charac-

ภาคผนวก

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ภาคผนวกที่ 1

MANUSCRIPT

Responses in Growth and Reproduction of *Ulva intestialis* Linnaeus (Ulvales, Chlorophyta) to different environmental conditions

R. Ruangchuay[1] (rrapee@bunga.pn.psu.ac.th), S. Dahamat, A. Chirapat[2] and M. Notoya[3]

Abstract

Green laver or Sarai Sai Kai, *Ulva intestinalis* Linnaeus (Ulvales, Chlorophyta), was utilized to co-culture with shrimp as source of supplementary feed and water treatment. Growth and reproduction of the alga in laboratory and in the earthen pond were aimed to get information for the further cultivation. The germling clusters of 0.8 ± 0.3 mm in length was achieved with mother plants from shrimp pond. In different salinity experiments of 0 - 40 ppt with 10 ppt interval (25°C, 50 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs), the maximum blade area of 174.3 ± 37.6 mm was found at 20 ppt. The blade area 160.9 ± 43.0 mm^2 was obtained at 30 ppt. The thalli cultured at 40 ppt were the first to release zoospores from the tips (3rd week). Among different light intensity levels of 40, 80 and 120 µmol m^{-2} s^{-1} (20 ppt, 25 °C, 12:12 hrs), they showed the maximum blade area of 137.4 ± 37.4 mm^2 at 80 µmol m^{-2} s^{-1} in 3rd week and released zoospore in 4th week. At 120 µmol m^{-2} s^{-1} they released zoospore in 3rd week. The thallus width was affected by salinity levels, the higher salinity level, the broader the thalli. Only zoosporangia were obtained from the cultured *Ulva intestialis*. All factors of salinity, temperature, and light intensity affected the growth and zoosporangial formation. For pond cultivation, the germlings of 6.75 ± 0.17 mm were obtained from in hatchery by isolation reproductive cells to culture in fiber tanks for 2 weeks. Then, germlings attached on synthetic lines of 0.5 mm in diameter were transferred to cultivation in 2 earthen ponds of 2.5 x 10.0 m^2 for 2 months. The result indicated that germling clusters showed the highest growth at 6th weeks of cultivation with the length of 21.20 ± 0.25 cm. Relative growth rate showed 5.45% day^{-1}. Reproductive cells as zoosporangia were found on the tip of thalli at 6th weeks of the cultivation. Swollen thalli were found in 6th weeks with some reproductive cells on the surface. After 8 weeks of cultivations, biomass showed 202.00 ± 31.11g wet wt m^{-2} or 26.65 g dry wt m^{-2}. The cultivation of germling cluster of 1.15 ± 0.031 in 200 L fiber tank showed 15.06 ± 0.64 cm in length after 4 weeks of cultivation and growth rate showed 9.18± 2.96% day^{-1}. The biomass after 4 weeks was 202.00 ± 25.40 g fw m^{-2} or 25.35 g dw m^{-2}. Shape and growth rate of Green laver or Sarai Sai Kai, *Ulva intestinalis*, were different between the earthen pond cultivation and tank cultivation. For cultivation in earthen pond in 6 weeks, the algae became

swollen and released reproductive cells. It should be the time of zooplankton gathering that suitable to start shrimp cultivation.

Key words: Green laver, Sarai Sai Kai, *Ulva intestinalis*

Introduction

Green laver or Aonori (in Japanese) was common names of *Ulva intestinalis*. The green algae was tube form of 1-2 mm generally. It was up to 2 cm sometime in length, one layer thick, cell irregularly arrange. Surface blade of the alga was smooth when young and became winkle when getting age, yellow green to dark green in color. Branching occurred near holdfast which was small and narrow of 1 mm. This alga was world wide distribution. It commonly occurred in several habitats. It was edible alga and its cultivation was successful in Japan. In Thailand, the algae were used to co-cultured with giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) in earthen pond for balancing of food chain. Organic prawns were product from that system. However the cultivation system was (Thailand Environmental Institute, 2007) faced to fluctuation of *U. intestinalis* production due to the variety environmental of the shrimp pond. For the sustainable system, it was necessary to understand the optimal conditions to cultivate the alga. Its growth and reproduction should be observed in laboratory for basic information. Its production and growth in pond and tank should be conduct.

Materials and Method

1) Mother plants of *U. intestinalis* were collected from abandoned shrimp pond. Some water quality parameters while sample collect were measured.

2) The algal samples were brushed out of epiphyte and contamination. It was then washed several times with seawater of the same salinity level while sample collect.

3) The algal thalli were cut into 2 cm each. The pieces then were taken to observe under microscope for contamination checking. The clean pieces were selected to conduct for reproductive stimulation.

4) The pieces were incubated in dark condition at 25 ºC laboratory for 12 hrs. The pieces were transfer to culture in 500 ml flask with enriched seawater of MGM medium and 25 ppt salinity under 50 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hr light: dark period until reproductive cell liberate. The pieces was

5) For study on the optimal salinity, reproductive clusters were then separated to culture in different salinity levels at 0, 10, 20, 30, and 40 ppt with density of 10 clusters per ml. The seawater levels were enriched with Modified Gillard's Medium (MGM) and cultures were done in 500 ml flask at 25ºC under 50 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light : dark period. Thirty maximal length thalli were measured every week and reproductionof the thalli were observed under microscope. The seawater was renewed every week after growth and reproduction checking.

6) For study on the optimal temperature, the germling clusters were transferred to culture at different temperatures of 20, 25, and 30ºC. The seawater levels obtained from 5 of 20 ppt were

used and enriched with MGM medium in 500 ml flasks. The cultures incubated under 50 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light : dark period. Sampling for growth and reproductive study were acted as same as the study of the optimal temperature.

7) For study on optimal light intensity, reproductive clusters were transferred to culture in different light intensity levels of 40, 80, and 120 µmol E.m-2s-1. Seawater levels of 20 ppt were used and enriched with MGM medium in 500 ml flask. The cultures were incubated at 25°C under 12:12 hrs light : dark period. Sampling for growth and reproductive study were done as same as above.

8) For earthen pond cultivation, synthetic lines of germlings were stretch in the earthen ponds of 2.5 x 10 m2 with were dept 50-70 cm of seawater. Thirty thalli were random kept out to measure the length every two weeks. The product was harvest after 8 weeks. The specific growth rate (% day-1) was calculated using the formula of Lobban and Harrison (1994):

Specific growth rate (% day-1) = [ln Wt- ln Wo]·t-1 (days)

where Wt = final weight (g); Wo = initial weight; and t = time interval (days)

9) For tank cultivation, germlings clusters cal. 1 cm length were transfer to cultivation in 200 L plastic tanks. The density was 10 cluster / L. Thallus length was measured every week. The product was harvest after 4 weeks. The specific growth rate (% day-1) was calculated using the formula of Lobban and Harrison (1994).

Results

Germling cluster obtaining

After the stimulation of the thalli fragments by kept them in dry and dark for 12 hrs, cells mostly formed zoosporangia except the piece matured before stimulation. Zoosporangia showed round in shape and showed 20-40 µm in size. Protoplast in each cell divided into small cells and formed zoospores. The zoospores were then released from cell wall to swim in the flask. The zoospore almost release within 8-15 days after stimulation. Then spores were attached together and became to clusters. The germling clusters were cultured for a few days until developed in one row filament of 6-12 cells. They were used for the experiments.

Effect of salinity on growth and reproduction of *U. intestinalis*

Germling clusters of 0.78 ± 0.61 mm in length grew well in 10, 20 30, and 40 ppt while they died in 0 ppt. The germlings in 30 ppt showed maximal length of 174.3 + 36.37 mm at 4th weeks. The second maximal growth of the germlings showed at 20 ppt with of 160.93 + 43.98 mm in length in 4th weeks. After 4 weeks of culture, thallus cultured at 10, 20, 30 and 40 ppt

showed width in the range of 0.25-0.35, 0.30-0.52, 0.40-0.80 and 0.70-1.10 mm respectively . The tip of thalli cultured 30 and 40 ppt produced reproductive cells. The earliest reproductive release was found in the filaments cultured at 40 ppt in 3rd weeks. The second earliest release of reproductive cells was found in filament cultured at 30 ppt in 4th weeks. However, reproductive release could not found in filaments cultured at 10 and 20 ppt.

Effect of temperature on growth and reproduction of *U. intestinalis*

In different temperatures, the germlings cultured at 25°C showed highest growth of 197.76 ± 47.3 mm in length in 4th week. The second highly growth found in germling culture at 20 °C with of 130.53 ± 68.46 mm in length at 4th week. Thallus characteristics showed similarity in width at all temperatures and the widths showed non significantly effect between temperature. Early reproductive releasing was found at 25°C in 5th week and the second early release was found at 30°C in 7th week. The last release was at 20°C at 8th week.

Effect of light intensity on growth and reproduction of *U. intestinalis*

Germlings cultured in different light intensity found that maximum length of 132.4 ± 65.07 mm showed in germlings cultured under 80 µmol m^{-2} s^{-1} . The second maximum length of 130.3 ± 45.96 mm was found in thalli under 120 µmol m^{-2} s^{-1}. Characteristics of the thalli showed similarity in width at all temperatures and the widths showed non significantly effect between temperatures. The earliest reproductive release was obtained from thalli cultured under 80 µmol m^{-2} s^{-1} at 4th weeks and the second earliest release was obtain from thalli cultured at 120 µmol m^{-2} s^{-1} in 6th weeks.

Discussions

The green laver, *U. intestinalis*, which collected from the shrimp pond to stimulate reproductive release by keeping in dark and dry was found that reproductive release within 8-15 days. The behavior of spore release was similar to *Ulva prolifera* that the releasing spores attached each others and formed to clusters (Hiraoka and Oka, 2008). However, *U. prolifera* could produced two type reproduction both sexual and a sexual reproduction while *U. intestinalis* in present study found only produced asexual reproduction of zoospores (Lin et al. 2008).

It was agreed with Prud'homme van Reine and Trono (2001) on *U. intestinalis* could grow in wide range of salinity level. In present study, the statistics test showed non significantly effect on thallus length cultured at salinity of 10, 20, 30 and 40 ppt. It was died in 0 ppt. The result was similar to Martins *et.al* (1999) has been report in *U. intestinalis* of Portuguese that available grow

in low salinity of 3 psu (1psu equal 1 ppt) and died at 1 psu. However, the mention of optimal salinity range of the Portuguese green laver was 15 -20 psu. The result showed lower than optimal salinity range of Thai green laver in the present study that obtained in the range of 20-30 ppt.

The optimal temperature of *U. intestinalis* in present study was 25 °C. The statistics test on thallus length showed significantly effects ($p<0.05$) between thallus cultured at 20, 25, and 30 °C. It was seemed that growth of *U. intestinalis* restrict to narrow temperature. Pellizzari and Oliveira (2007) also reported in *Gayralia* spp (Class Ulvophyceae, Order Ulvales) from the south of Brazil that showed good growth in the temperature range of 20-21.5 °C within 30 days of culture. It was similar to Thai green laver, *U. intestinalis* that grow in narrow temperature.

The optimal light intensity of *U. intestinalis* in present study was 80 µmol m^{-2} s^{-1}. However, the statistic test found no significantly effect that between thallus length at 40, 80, and 120 µmol m^{-2} s^{-1}. It was similar to the green algae *Gayralia* spp. from south of Brazil could survive in light intensity range of 50-100 µmol m^{-2} s^{-1} and grow well in optimal light intensity level at 100 µmol m^{-2} s^{-1} in 30 days of culture.

As same as other seaweeds, relative growth rate in plastic tank of 9.18% per day in present study showed higher than relative growth in the earthen pond of 5.45% per day. However, relative growth rate in present study showed higher than *Ulva clathrata* (Roth) Greville 1830 cultivate in plastic tank of 3.72 ± 0.45 % per day. It may due to different species or different culture conditions.

References

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

Lin, A., Shen, S., Wang, J, and Yan, B. 2008. Reproductive Diversity of *Enteromorpha prolifera*. J. Integrative Plant Biol. 50(5): 622-629.

Hiraoka, M. and Oka, N. 2007. Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new "germling cluster" method, 20 : 97-102.

Martins, I., Oliverira, J. M., Flindt, M. R., and Marques, J.C. 1999. The effect of salinity on the growh rate of the macroalgae *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) in the Mondego estuary (west Portugal) Acta Oecologic. 20(4): 259-265.

Pellizzari, F. and Oliveira, E. C. 2007. Life-history, thallus ontogeny, and the effectsof temperature, irradiance and salinity on growth of the edible green seaweed *Gayralia* spp. (Chlorophyta) from Southern Brazil, 80 : 75-82.

Thailand Environmental Institute, 2007. First organic farm: solving critical price. [online] http://www.tei.or.th/hotnews/07090-other5-manager.htm (13 November 2007)

Figure legends

Figure 1 Natural thalli of *Ulva intestinalis* collected from abandoned shrimp pond. A. Fresh form B. Herbarium form

Figure 2 A. Zoosprangia of *Ulva intestinalis* after stimulate by drying and keeping in dark for 24 hrs B. Germling cluster at 4 days of *Ulva intestinalis* incubated at 25°C 20 ppt, 60 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light: dark

Figure 3 Filament of *Ulva intestinalis* in different salinity levels at 25°C, 60 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light: dark A. 10 ppt B. 15 ppt C. 20 ppt D. 30 ppt

Figure 4 Thallus length of *Ulva intestinalis* in different salinity levels at 25°C, 60 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light: dark

Figure 5 Thallus length of *Ulva intestinalis* in different temperatures at 20 ppt, 60 µmol m^{-2} s^{-1} and 12:12 hrs light: dark

Figure 6 Thallus length of *Ulva intestinalis* in different light intensity at 20 ppt, 25°C and 12:12 hrs light: dark

ภาคผนวกที่ 2
บทความสำหรับการเผยแพร่

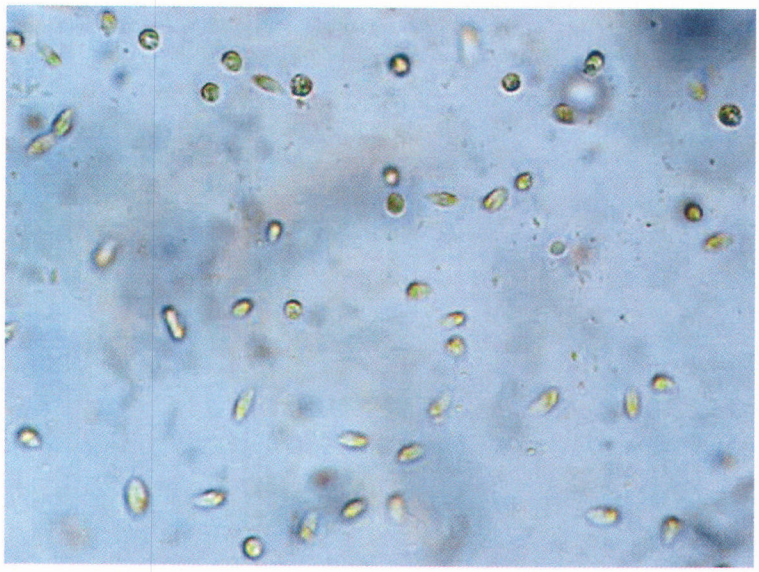
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ในบ่อกุ้ง เพื่อเพิ่มอาหารธรรมชาติสำหรับลูกกุ้งในระยะแรกปล่อย

ระพีพร เรืองช่วย
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี
rrapee@bunga.pn.psu.ac.th

สาหร่าย *Ulva* spp. หรือ green laver เป็นสาหร่ายสีเขียว ในวงศ์ Ulvaceae แพร่กระจายบริเวณเขตน้ำกร่อย ทั่วโลก หลายชนิดมีการนำมาใช้ประโยชน์ สาหร่ายกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็นตัวต้านจุลชีพ เนื่องจากมีสารต้านแบคทีเรีย รา อยู่ด้วย ประเทศไทยได้ใช้สาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ซึ่งเกิดขึ้นตามธรรมชาติในพื้นที่เปิดหรือจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำกร่อย มาเป็นแหล่งของแร่ธาตุ สำหรับเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ และยังมีการนำสาหร่ายชนิดนี้ไปเลี้ยงร่วมกับการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในบ่อดินตั้งแต่ระยะเริ่มต้นเลี้ยง เพื่อลดต้นทุนในเรื่องอาหาร ปรับสภาพน้ำ และระบบนิเวศในบ่อเลี้ยง ทำให้กุ้งลูกสามารถกินอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่นที่มาอยู่ร่วมกับสาหร่าย (จริยา วดี และ คณะ 2547) จึงช่วยลดต้นทุนอาหารในช่วง 2 เดือนแรก และช่วยให้ระบบการเลี้ยงปลอดจากสารเคมี อันจะเกิดปัญหาตกค้างในกุ้ง ซึ่งจะมีผลดีต่อผู้บริโภค ทำให้แนวทางการเลี้ยงกุ้งระบบเกษตรอินทรีย์โดยเลี้ยงร่วมกับสาหร่ายไส้ไก่ มีความเป็นไปได้และได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง (สถาบันสิ่งแวดล้อมไทย, 2550) จากการใช้ประโยชน์ดังกล่าว ทำให้มีการเลี้ยงและจำหน่ายสาหร่ายไส้ไก่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตามด้วยสภาวะแวดล้อมที่หลากหลาย และยังไม่มีรูปแบบการเลี้ยงที่แน่นอน แม้ว่าบางพื้นที่จะมีการนำสาหร่ายไปเลี้ยงร่วมกับกุ้งในบ่อดิน ก็ไม่สามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้

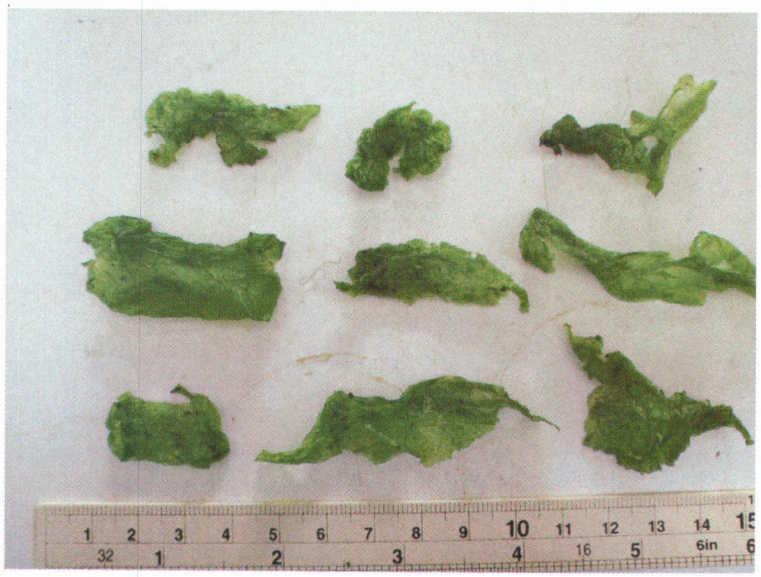
แผนกวิชาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (สกว.) และ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ให้ศึกษา วิธีการผลิตสาหร่ายชนิดนี้จากสายพันธุ์ของไทย เพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่สามารถนำไปเลี้ยงในบ่อดิน ทำให้ได้ข้อมูล และรูปแบบการเพาะเลี้ยง ที่จะช่วยทำให้การเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ได้เป็นไปได้อย่างต่อเนื่องและยั่งยืน โดยพบว่าการเพาะเลี้ยงทำได้โดยนำต้นพันธุ์มาล้างด้วยน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้งทิ้งไว้ ห่อกระดาษหนังสือพิมพ์ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำมาใส่ในน้ำเลี้ยงที่มีอาหาร และให้อากาศ เลี้ยงไว้อีก 1-2 สัปดาห์ เมื่อเปลี่ยนน้ำที่มีอาหารใหม่อีกครั้ง สาหร่ายจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาใน 1-2 วัน ทำให้น้ำเลี้ยงเป็นสีเขียว จึงกรองน้ำใส่ในถังที่มีเชือกซึ่งพันกรอบสี่เหลี่ยมไว้ เพื่อให้เชือกเรียงตัวกันได้กว้างให้สปอร์เกาะได้ทั่วถึง เปิดไฟส่องจากด้านที่มีเชือกอยู่ สปอร์สาหร่ายจะเกาะบนเชือก เมื่ออนุบาลไว้ 2 สัปดาห์ จึงนำเชือกที่มีเกาะไปขึงเลี้ยงในบ่อดิน เป็นเวลาอีกประมาณ 6 สัปดาห์ ได้สาหร่ายที่มีลักษณะพองตัว ที่ผิวเป็นลอนหยักเนื่องจากมีการแบ่งเซลล์อย่างได้มากและไม่เท่ากัน ทำ

ให้ต้นหรือแทลลัสสาหร่ายไส้ไก่ขาดหลุดลอยจากเชือก โดยเซลล์ของสาหร่ายมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์และปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมามากในช่วงนี้ โดยเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่ มีขนาดเล็ก 5-7 ไมโครเมตร มีหนวดจึงเคลื่อนไหวได้ คล้ายแพลงก์ตอนพืชที่มีหนวด เนื่องจากมีขนาดเหมาะสม ทำให้มีสิ่งมีชีวิตแพลงก์ตอนสัตว์มากมายมาอาศัยรวมอยู่กับสาหร่ายเพื่อกินเซลล์สืบพันธุ์เป็นอาหาร ท่อของสาหร่ายมีช่องเปิด ทำให้แพลงก์ตอนสัตว์บางชนิดใช้เป็นแหล่งอยู่อาศัย จึงควรปล่อยลูกกุ้งลงเลี้ยงในระยะนี้ เพื่อให้ได้กินอาหารธรรมชาติได้ หลังจากเซลล์สาหร่ายปล่อยเซลล์สืบพันธุ์แล้ว เซลล์จะว่างเปล่าและเสื่อมสภาพไป จึงมักขาดหลุดลอยเป็นชิ้นเล็ก ซึ่งเซลล์ของสาหร่ายส่วนที่เหลือก็ยังเจริญเติบโตต่อไปได้ แต่ควรเพิ่มพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ลงไปในบ่ออีก เพื่อให้สาหร่ายเจริญเติบโตได้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะทันเวลา นอกจากนี้อาจใช้วิธีแยกบ่อเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่อีกบ่อต่างหาก เมื่อมีอาหารธรรมชาติพวกแพลงก์ตอนสัตว์เกิดขึ้นจึงตักไปใส่บ่อเลี้ยงกุ้งต่อไป



รูปผนวกที่ 2.1 เซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายไส้ไก่

รูปผนวกที่ 2.2 บ่อที่มีสาหร่ายไส้ไก่



รูปผนวกที่ 2.3 ชิ้นส่วนของต้นหรือแทลลัสสาหร่ายไส้ไก่ที่ขาดหลุดลอยเมื่อมีการพองตัวออก

รูปผนวกที่ 2.4 แพลงก์ตอนสัตว์ที่เป็นผลผลิตจากบริเวณแหล่งเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่

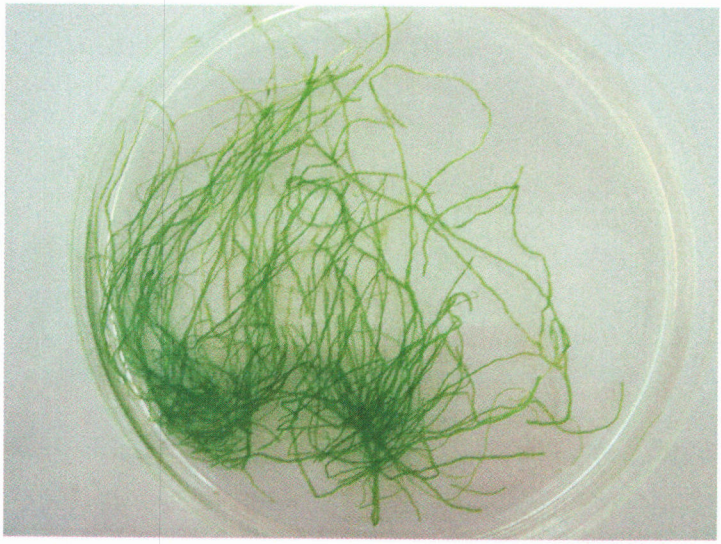
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis* ในถัง: เทคนิค germling cluster จากญี่ปุ่นสู่การปฏิบัติในไทย

ระพีพร เรืองช่วย
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี
rrapee@bunga.pn.psu.ac.th

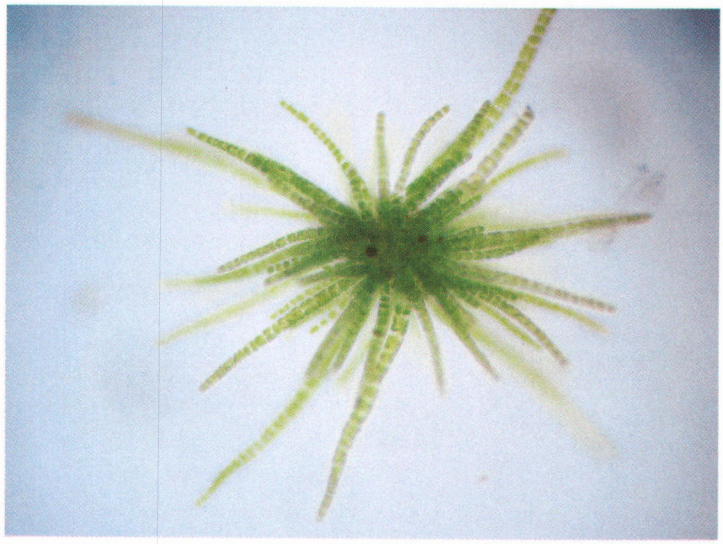
สาหร่ายไส้ไก่ หรือเรียกกันเป็นภาษาอังกฤษว่า green laver หรือเรียกเป็นภาษาญี่ปุ่นว่า อาโอโนริ เป็นสาหร่ายสีเขียวที่มีการแพร่กระจายบริเวณเขตน้ำกร่อยทั่วโลก หลายชนิดมีการนำมาใช้ประโยชน์ โดยใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อประกอบอาหาร ในหลายประเทศ เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี อินเดีย และอินโดนีเซีย เนื่องจากเป็นสาหร่ายที่มีกรดอะมิโนที่จำเป็นอยู่ในระดับสูง นอกจากนี้ยังมีเยื่อใยและแร่ธาตุมาก และ สาร Ulvan ซึ่งเป็นอนุพันธ์ oligosaccharide ที่พบในสาหร่ายกลุ่มนี้ จะประโยชน์ต่อระบบการย่อยและการดูดซึมอาหาร ทำให้มีการแนะนำให้ผู้สูงอายุ บริโภคสาหร่ายไส้ไก่ โดยใช้สาหร่ายกลุ่มนี้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเสริมสุขภาพ ในประเทศญี่ปุ่นมีการเพาะเลี้ยงสาหร่าย กลุ่มนี้กันหลายชนิด เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารคนโดยตรง จากเดิมที่มีการเพาะเลี้ยงโดยการใช้อวนดักสปอร์จากธรรมชาติและนำไปเลี้ยงบริเวณแหล่งน้ำกร่อยบริเวณปากแม่น้ำ พัฒนาเป็นการเพาะเลี้ยงโดยการเก็บสปอร์จากโรงเพาะฟักให้เกาะบนอวน เพื่อนำไปเลี้ยงในธรรมชาติ จนปัจจุบันมีการเลี้ยงจนเก็บเกี่ยวได้ในฟาร์มเลี้ยงบนฝั่ง ที่มีข้อดีคือได้สาหร่ายที่สะอาดมีคุณค่าสารอาหารสูงกว่ามาก วิธีการเลี้ยงของญี่ปุ่นโดยใช้น้ำจากทะเลลึก (deep sea water) ที่มสารอาหารอยู่ในปริมาณมาก

จากการดูงานในครั้งนั้น รวมกับประสบการณ์ทำวิจัยเรื่องการเพาะเลี้ยงสาหร่ายไก่ ***Ulva intestinalis*** โดยทุนนักวิจัยรุ่นใหม่ ของ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) ทำให้ได้เอาเทคนิค **germling cluster** ที่ทำสปอร์มาเกาะเข้าด้วยกันเป็นกลุ่ม จากนั้นจึงเลี้ยงแบบแขวนลอยได้จนเป็นต้นขนาดใหญ่ วิธีการก็ทำไม่ยากโดยนำต้นพันธุ์จากธรรมชาติมาเลี้ยงในน้ำทะเลความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน มีสารอาหารไว้ 2 สัปดาห์ จนสาหร่ายสร้างเซลล์สืบพันธุ์ จึงเปลี่ยนน้ำที่มีสารอาหารใหม่อีก และให้อากาศ สาหร่ายจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาจนน้ำที่เลี้ยงเป็นสีเขียว เซลล์สืบพันธุ์เหล่านี้จะว่ายน้ำได้ เนื่องจากมีหนวด มีขนาดเล็ก 7-8 ไมโครเมตร ไม่ให้แสง เมื่อสปอร์เกาะกันเป็นกลุ่ม ก็จะทิ้งหนวด และเริ่มงอกเป็นกลุ่มก้อน จากนั้นจึงนำไปเลี้ยงในสภาพปกติจนได้เป็นสาหร่ายต้นใหญ่ หรือจะนำกลุ่มสาหร่ายที่เกาะเป็นก้อนเป็นต้นอ่อนไปปล่อยเลี้ยงในบ่อดินต่อไป เทคนิค **germling cluster** นี้สะดวกมาก เพราะสามารถเก็บต้นพันธุ์ในระยะที่เกาะเป็นกลุ่มก้อนใส่ในจานแก้ว ไว้ได้นานในที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เหมือนกับการเก็บหัวเชื้อแพลงก์ตอน เมื่อจะใช้จึงนำมาเลี้ยงในภาชนะที่มีขนาดใหญ่ขึ้น การเลี้ยงควรใช้น้ำมีความเค็ม 20-30 ส่วนในพันส่วน แสง 60-80 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที หรือเท่ากับ 4,320 - 5,760 ลักซ์ อุณหภูมิ 25-27 องศาเซนเซียส และ เติมสารอาหารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไนเทรต (NH_4NO_3) 3-30 กรัมต่อตัน หรือใช้ โซเดียมไนเทรต ($NaNO_3$) 2-20 กรัม ต่อตัน ตัน และ เติมสารอาหารที่เป็นแหล่งของฟอสฟอรัส ได้แก่ ไดแอมโมเนียม

ไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) ให้ 0.2-2.0 กรัมต่อตัน หรือ โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (NaH_2PO_3) 0.3-3.0 กรัมต่อตัน ทุก 3-6 วัน หากเลี้ยงในถังเป็นเวลา 1 เดือน จะได้ ความยาวขนาด 15 เซนติเมตร ได้ผลผลิตประมาณ 25 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลูกบาศก์เมตร ซึ่งสะอาดและสามารถนำไปใช้เป็นอาหารซึ่งเป็นแหล่งของแร่ธาตุได้

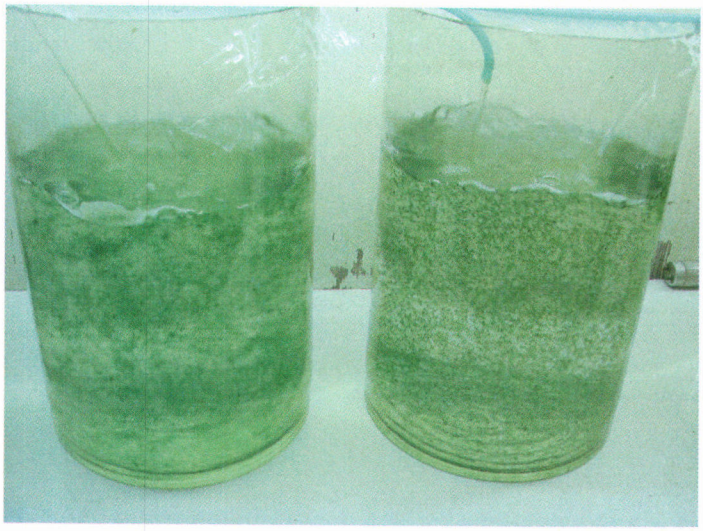


รูปผนวกที่ 2.5 ต้นพันธุ์สาหร่ายไส้ไก่ *Ulva intestinalis*

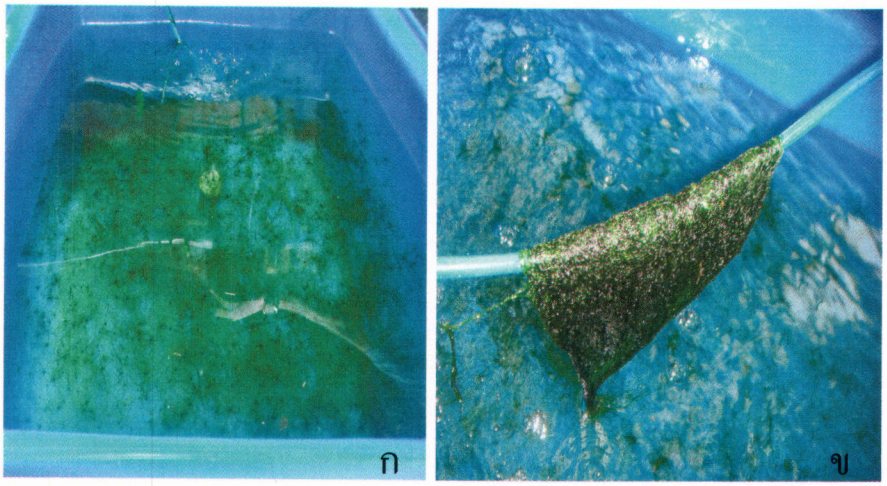


รูปผนวกที่ 2.6 สปอร์ที่เกาะเป็น germling cluster

รูปผนวกที่ 2.7 germling cluster อายุ 4 สัปดาห์



รูปผนวกที่ 2.8 germling cluster ในโหลแก้ว



รูปผนวกที่ 2.9 การเลี้ยงสาหร่ายไส้ไก่ในถัง ก. การเจริญแบบแขวนลอยในถัง ข. แทลลัสของสาหร่ายที่เลี้ยง 3สัปดาห์

รูปผนวกที่ 2.10 ผลผลิตสาหร่ายไส้ไก่จากการเลี้ยงในถัง

ภาคผนวกที่ 3
กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลงานจากโครงการไปใช้ประโยชน์

การอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง "การฟื้นฟูนากุ้งร้างเพื่อเลี้ยงสาหร่ายและปลากะพง" โดยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จ. ปัตตานี ให้แก่เกษตรกรรอบอ่าวปัตตานี จำนวน 4 รุ่น ๆละ 40 คน ระหว่างวันที่ 25 เมษายน – 3 มิถุนายน 2553 สนับสนุนโดย กรมทรัพยากรธรรมชาติ จ.ปัตตานี (งบไทยเข้มแข็ง 2553)

ก ข

รูปผนวกที่ 3.1 สาหร่ายไส้ไก่ในบ่อดิน ก. สาหร่ายไส้ไก่ในนาเกลือ ข. การใช้สาหร่ายไส้ไก่ในการเลี้ยงกุ้ง

การนำเสนอ ผลงานวิชาการภาคโปสเตอร์เรื่อง Laboratory Growth of Germling Clusters of *Ulva (Enteromorpha) intestinalis* in Different Medium Concentrations ในกิจกรรมความร่วมมือทางวิชาการ ระหว่างมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (PSU) ปัตตานี และ Universiti Malaysia Terengganu (UMT), Malaysia ระหว่างวันที่ 15-17 กรกฎาคม 2553 ณ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัตตานี

Laboratory Growth of Germling Clusters of *Ulva (Enteromorpha) intestinalis* in Different Medium Concentrations

Muhammadsobree Zueree, Rapeeporn Ruangchuay and Chokchai Luengthuvapranit

Division of Fishery Technology, Faculty of Science and Technology, Prince of Songkhla University, Pattani 94000

Abstract

Green alga *Ulva (Enteromorpha) intestinalis* was utilized to co-culture with shrimp as supplementary feed and water treatment. Growth of the alga in different medium concentrations was aimed to get information for the algal cultivation. The growth of the germling cluster was performed in laboratory by isolating reproductive cells to culture in flask for 7 days. Then, germling clusters were transferred to be cultured in different concentrations of Provasoli's Enriched Seawater Medium (PES) of 1, 2 and 3 times of regular concentration at 60 µm m-2 s-1 under 12 : 12 hrs light : dark at 20 ppt salinity and 25±1 ° C of incubator. The result indicated that germling cluster showed the highest growth at the 3 times of medium concentration with the length of 14.59±1.54 mm, relative growth rate of 14.23 per day at 5th weeks. The second growth showed at 2 times concentration of 12.18±1.52 mm in length, 13.72 % of relative growth rate at 5th weeks. Whereas, at the 1 time concentration showed the shortest of 9.72± 2.37 mm in length and 13.07 % of relative growth rate. The statistic analysis showed significance ($p<0.05$) among three concentrations. From this experiment, it was concluded that even nutrient concentration at 3 times could increase the growth of germling cluster of green laver (*Ulva intestinalis* Linnaeus).

Aims

1) To observe behavior of reproductive release.
2) To obtain medium concentration to culture *Ulva intestinalis*.

Fig. 1 Green laver in shrimp pond

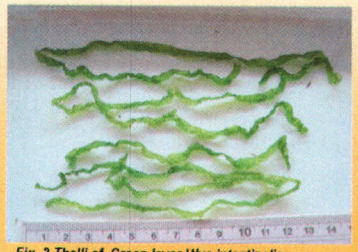


Fig. 2 Thalli of Green laver Ulva intestinalis.

Background

Green laver or Aonori (in Japanese) was common name of edible green alga, *Ulva intestinalis*. This alga was tube form of 1-2 mm generally or up to 2 cm sometime in length, one layer thick, cell irregularly arrange. Surface blade of the alga was smooth when young and became winkle when getting age, yellow green to dark green in color. Branching occurred near holdfast which was small and narrow of 1 mm. It commonly occurred world wide in several habitats. The cultivation was successful in Japan. In Thailand, it was used to co-cultured with giant tiger prawn (*Penaeus monodon*) or with vannamei shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in earthen pond for balancing of food chain. Organic prawns were produced from that system. However the cultivation system was faced to problems by production of *U. intestinalis* fluctuated from variable of environmental in shrimp pond. For the sustainable system, it was necessary to obtain basic information conditions for the cultivation. The one important factor should be nutrient concentrations. Its growth under various concentrations of medium was conducted under laboratory condition.

Materials and Methods

1) The pieces of mother plants of *U. intestinalis* were conducted for reproductive liberation by renewed seawater of 20 ppt and were cultured in plate at 25ºC under 60 µmol E m-2s-1 and 12:12 hrs light : dark period. Reproduction of the thalli was observed under microscope until spores liberated.
2) Spore suspension was poured in 250 ml flask with aeration for a few day to form germling clusters. Then the germling clusters were transferred to culture in different Provasoli's Enriched Seawater medium (PES) of 1, 2 and 3 times of normal concentrations in 500 ml flask with initial density of 50 clusters/ ml . Three replications were done. The flasks was incubated at 20 ppt salinity under 50 µmol E m-2s-1 light intensity and 12:12 hrs light : dark period.
3) Thirty clusters were randomized to measure the length every weeks. Relative growth rate was calculated by the following:

$$\mu = 100 \ln (Nt / N0) \cdot t^{-1}$$

when μ = % growth
N0 = initial length
Nt = final length
t = time of culture

Results

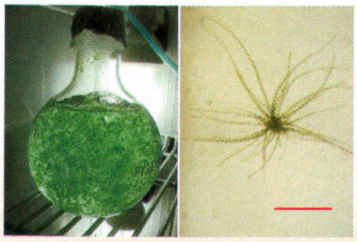


Fig. 3 Germling clusters in flask (a) Germling of 2 weeks (scale bar = 20 um

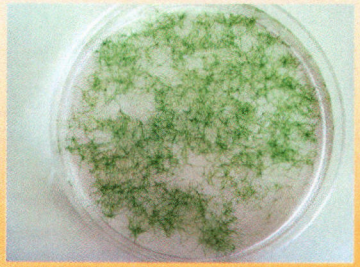


Fig. 4 Mass of germling clusters of 4 weeks

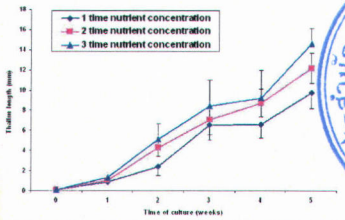


Fig. 5 Thallus length of germling clusters in different nutrient concentrations

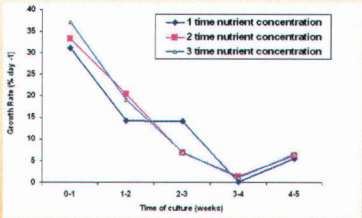


Fig. 6 Relative growth rate of germling clusters in different medium concentrations

Conclusions

1) The green laver, *Ulva intestinalis*, which collect from the shrimp pond to stimulate reproductive release within 8-15 days. The behavior of spore release was similar to *Ulva prolifera* that the releasing spores attach each other and form a clusters (Hiraoka and Oka, 2008).
2) Medium concentration at 3 times of regular provided the maximum growth of germling cluster of green laver (*Ulva intestinalis* Linnaeus). It agree with So (2009) that *Enteromorpha* spp. could absorbed high nitrogen and phosphorous compounds.

References

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

So, T. 2009. Utilization of *Enteromorpha* spp. to water treatment in pond of *Litopeneaus vannamei*. Kasetsart Annual Year Research. Bangkok. 14 p. (In Thai)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย