

## รายงานฉบับสมบูรณ์

การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ การสืบพันธุ์ และจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ในประเทศไทย, *Ulva reticulata* Forsskål

Seasonal fluctuation in biomass, chlorophyll concentration, tissue nutrient content, reproduction and nutrient uptake kinetics of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål

โดย

ผศ.ดร. อัญชญา ประเทพ และคณะ

29 สิงหาคม 2551

RECEIVED  
BY *DM/16* DATE *25/9/51*

R 349002

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์และคาร์โบไฮเดรตในเนื้อเยื่อของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Ulva reticulata* Forskål

Seasonal fluctuation in biomass, chlorophyll concentration, tissue carbohydrate content, reproduction and nutrient uptake kinetics of green tides: *Ulva reticulata* Forskål

โดย  
ศาสตราจารย์ ดร. ประจักษ์ วัฒนศิริ

29 สิงหาคม 2551

## รายงานฉบับสมบูรณ์

การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ การสืบพันธุ์ และจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ในประเทศไทย , *Ulva reticulata* Forsskål

Seasonal fluctuation in biomass, chlorophyll concentration, tissue nutrient content, reproduction and nutrient uptake kinetics of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål

โดย

ผศ.ดร. อัญชนา ประเทพ และคณะ

29 สิงหาคม 2551

BRT R\_349002

การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ การสืบพันธุ์ และจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ในประเทศไทย, *Ulva reticulata* Forsskål

Seasonal fluctuation in biomass, chlorophyll concentration, tissue nutrient content, reproduction and nutrient uptake kinetics of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål

ผศ.ดร. อัญญา ประเทพ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

สนับสนุนโดยโครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการ  
ทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (โครงการ BRT)

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษา  
นโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย ซึ่งร่วมจัดตั้งโดยสำนักงานอง  
ทุนสนับสนุนการวิจัย และ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รหัส  
โครงการ BRT R\_349002 ขอขอบคุณหน่วยวิจัยสายรหัสและหญ้าทะเล สถาบัน  
ความหลากหลายทางชีวภาพแห่งคาบสมุทรมไทย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ช่วย  
ในการปฏิบัติงานภาคสนาม

การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ การสืบพันธุ์ และ  
 จลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ใน  
 ประเทศไทย , *Ulva reticulata* Forsskål

### บทคัดย่อ

ปรากฏการณ์ “Green tides” เกิดจากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและสะสมของสาหร่าย  
 ทะเลสีเขียวขนาดใหญ่ (Chlorophyceae) ในบริเวณที่มีสารอาหารอยู่มาก ซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบ  
 นิเวศและเศรษฐกิจ การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์  
 สารอาหารในเนื้อเยื่อ และการสืบพันธุ์ตามฤดูกาล และความสัมพันธ์กับปัจจัยทางกายภาพของ  
 สาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ในประเทศไทย ได้แก่ *Ulva reticulata* โดยจะมีการเก็บตัวอย่าง  
 ทุกเดือน โดยใช้ quadrat ในเก็บตัวอย่างเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ศึกษาการสืบพันธุ์  
 ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณของสารอาหารในเนื้อเยื่อของสาหร่ายโดยการเก็บตัวอย่างกลับมา  
 ยังห้องปฏิบัติการ และมีการทำการวัดปัจจัยทางกายภาพอื่น ได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม สารอาหารใน  
 น้ำและในตะกอน เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของสาหร่าย  
 ทะเล นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata*  
 ในเดือนกันยายนและกุมภาพันธ์อีกด้วย มวลชีวภาพ คลอโรฟิลล์ การสืบพันธุ์ สารอาหารใน  
 เนื้อเยื่อ และปัจจัยทางกายภาพในรอบปีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการ  
 วิเคราะห์โดย stepwise multiple regression ในโตรเจนมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับมวลชีวภาพ  
 คลอโรฟิลล์และในโตรเจนในเนื้อเยื่อ ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างฟอสฟอรัสและ *U. reticulata*  
 นอกจากความสัมพันธ์เชิงลบกับการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *U. reticulata* อัตราส่วนของ  
 ในโตรเจน:ฟอสฟอรัส ยังแสดงถึงภาวะที่มีในโตรเจนเป็นสารอาหารจำกัดอีกด้วย นอกจากนี้ ยัง  
 พบความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความเค็มกับ *U. reticulata* ค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของ  
 การนำในโตรเจนเข้าสู่เซลล์ในฤดูกาลที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อ  
 เปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น  $V_{max}$  และ  $K_m$  มีค่าสูง แต่  $V_{max}:K_m$  มีค่าต่ำ ค่า  $V_{max}:K_m$  ที่ต่ำ  
 มักจะพบในสาหร่ายที่เจริญในพื้นที่ที่มีสารอาหารในน้ำสูง แต่ค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการ  
 นำฟอสฟอรัสเข้าสู่เซลล์ทั้งหมดมีค่าสูง แสดงถึงสภาวะที่มีฟอสฟอรัสในสิ่งแวดล้อมต่ำ

คำหลัก: *Ulva reticulata*, Green-tides, จลนพลศาสตร์การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์

**Seasonal fluctuations in biomass, chlorophyll concentration, tissue nutrient content, reproduction and nutrient uptake kinetics of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål**

**Abstract**

Seasonal fluctuations of bloom-forming green macroalga, *Ulva reticulata* and the relationships between the macroalgal blooms and the environmental conditions were investigated at Paklok, Phuket. The sampling was done monthly from January to December 2006 using quadrat sampling to assess seasonal changes in biomass, reproduction, chlorophyll content and tissue nutrient concentrations. Environmental factors: temperature, salinity, nutrients concentration in both water column and sediment were also observed to establish the relationships between those factors and *Ulva* population. Moreover, the studies of N&P uptake kinetics were conducted in the laboratory twice during rainy season and summer (September 2006 and February 2007). Biomass, reproduction, chlorophyll content, tissue nutrient concentrations and environmental factors varied significantly over the year. Relationships between environmental parameters and *Ulva* population were obtained using stepwise multiple regression. N has strong positive relationship with biomass, chlorophyll and tissue N of *Ulva*, while P has no significant effects on *Ulva* except the negative relationship on reproduction. Moreover, tissue N:P from these studies indicated N-limiting status. Temperature and salinity also has significant influences on *Ulva*. Furthermore, delayed effects of some factors on *Ulva* were found. N uptake kinetic constants differed significantly between seasons. When compared to other studies,  $V_{max}$  and  $K_m$  were higher where  $V_{max}:K_m$  was lower. This low  $V_{max}/K_m$  can be encountered in eutrophic environment where nutrient is in large supply. However, all P uptake kinetics constants were high, this suggested that low P condition responses.

**Keywords :** *Ulva reticulata*, Green-tides, Nutrient uptake kinetics

## สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ (ภาษาไทย)	ข
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)	ค
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
วิธีการดำเนินการวิจัย	4
ผลการศึกษา	8
อภิปรายผลการศึกษา	23
เอกสารอ้างอิง	30
ภาคผนวก	36



## สารบัญตาราง

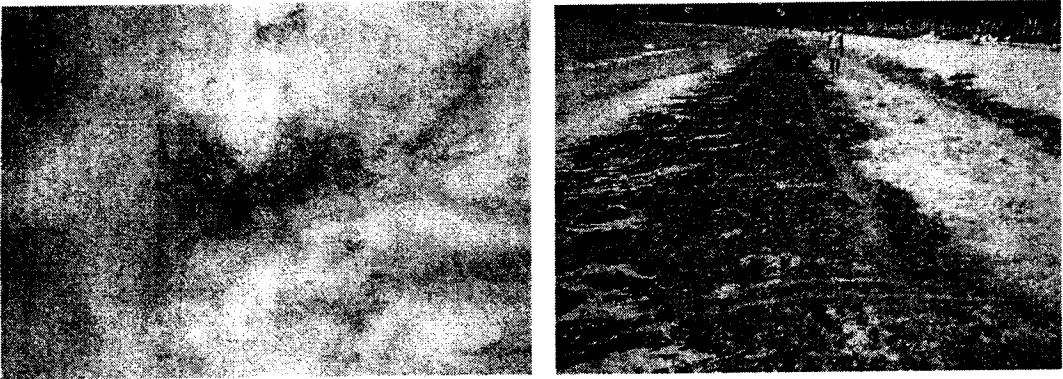
ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปัจจัยทางกายภาพ ณ บ้านป่าคลอก อ่าวตังเจ็ท และเกาะปลิง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2549 – ธันวาคม 2549	12
ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแตกต่างของปัจจัยทางกายภาพ ณ บ้านป่าคลอกในเดือนต่างกัน โดย Kruskal-Wallis test	13
ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ % ในโตรเจน และ % ฟอสฟอรัส ในเนื้อเยื่อของ <i>Ulva reticulata</i> ตั้งแต่เดือนมกราคม 2549 – ธันวาคม 2549 และผลการทดสอบ Kruskal-Wallis test	16
ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและ <i>U. reticulata</i> ด้วยเทคนิค Stepwise Multiple Regression	20
ตารางที่ 5 ค่าคงที่ของจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์	22

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 ปรากฏการณ์ “Green tides” ณ หาดป่าตอง จ.ภูเก็ต พ.ศ. 2547	1
ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของสาหร่ายทะเลสกุล <i>Ulva</i>	2
ภาพที่ 3 แผนที่เกาะภูเก็ตและพื้นที่ที่ทำการศึกษ	4
ภาพที่ 4 การศึกษาจลนศาสตร์การนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ใน <i>Ulva reticulata</i>	7
ภาพที่ 5 อุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนมกราคม- กุมภาพันธ์ 2549	8
ภาพที่ 6 ความเค็มเฉลี่ยตั้งแต่เดือนมกราคม- กุมภาพันธ์ 2549	8
ภาพที่ 7 ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549	10
ภาพที่ 8 ความเข้มข้นของสารอาหารในตะกอน ณ บ้านป่าคลอก	11
ภาพที่ 9 มวลชีวภาพเฉลี่ยของ <i>U. reticulata</i> ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549	14
ภาพที่ 10 % น้ำหนักที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ <i>U. reticulata</i> ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549	14
ภาพที่ 11 ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อของ <i>U. reticulata</i> ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549	15
ภาพที่ 12 ความเข้มข้นของสารอาหารในเนื้อเยื่อของ <i>U. reticulata</i> ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549	16
ภาพที่ 13 อัตราการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ของ <i>U. reticulata</i> ที่ความเข้มข้นของไนเตรตแตกต่างกันในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549	21
ภาพที่ 14 อัตราการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ <i>U. reticulata</i> ที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตแตกต่างกันในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549	22

## บทนำ

“Green tides” คือปรากฏการณ์ที่เกิดจากการสะสมของสาหร่ายสีเขียวที่หลุดลอยในมวลน้ำ ซึ่งมักจะพบในพื้นที่ที่ประสบปัญหา eutrophication (Hernández,1997, Valiela et al.,1997) ปรากฏการณ์ดังกล่าวนี้กำลังอยู่ในสถานการณ์ที่น่าเป็นกังวลในหลายประเทศทั่วโลก (western Baltic sea, Germany, Lotze et al.,1999; Finnish Baltic sea coast, Bäck et al.,2000 ; Washington state, USA, Nelson et.al,2003 ; Pacific coast of central and southern of Japan, Hiraoka,2004; South East Australia; Runcie et al. , 2003, 2004). การเพิ่มมวลอย่างรวดเร็วของสาหร่ายส่งผลกระทบต่อสมดุลของระบบนิเวศชายฝั่ง เช่น ทำให้พื้นที่ของหญ้าทะเลลดลง อันเนื่องมาจากสาหร่ายลอยอยู่ในมวลน้ำจำนวนมากลดความเข้มแสงที่ส่องผ่าน การแลกเปลี่ยนก๊าซ และการแลกเปลี่ยนสารอาหาร ในระดับของผืนหญ้าทะเลที่อยู่ด้านล่าง (Havens, 2000 ; Hauxwell et al.,2001 ; Mcglathery,2001 ; Brun,2003) ปรากฏการณ์ “Green tides” ยังส่งผลเสียต่อสัตว์น้ำ โดยลดปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ เนื่องจากออกซิเจนปริมาณมากจะถูกใช้ไปในการย่อยสลายสาหร่ายที่เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ การมีสาหร่ายอยู่ในมวลน้ำและบนชายหาดมากกว่าปกติในแหล่งท่องเที่ยวที่สำคัญ รวมถึงกลิ่นจากการย่อยสลาย ยังสร้างความเสียหายต่อธุรกิจการท่องเที่ยวอีกด้วย

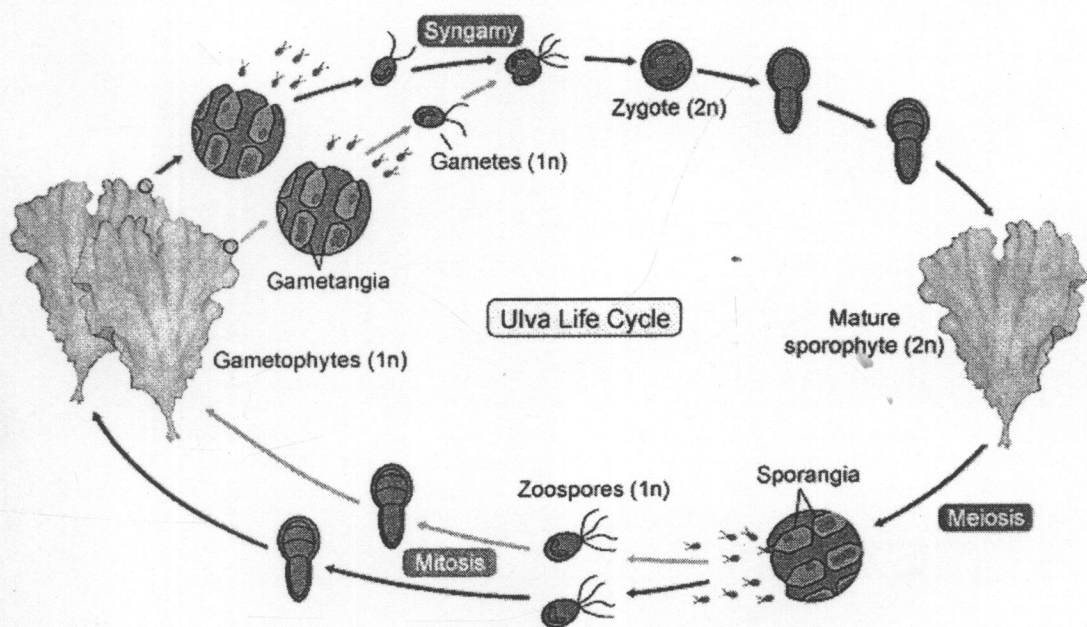


ภาพที่ 1 ปรากฏการณ์ “Green tides” ณ หาดป่าตอง จ.ภูเก็ต พ.ศ. 2547

สาเหตุหลักที่เกี่ยวข้องกับปรากฏการณ์ “Green tides” ได้แก่ การมีปริมาณสารอาหารละลายอยู่มากเกินไป โดยสารอาหารหลักสองชนิดที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของสาหร่ายทะเล ได้แก่ ไนโตรเจน และ ฟอสฟอรัส เรียกว่าสารอาหารจำกัด กล่าวคือ หากมีปริมาณสารอาหารเหล่านี้อยู่ในน้ำมากกว่าปกติ จะมีส่วนทำให้สาหร่ายมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นอย่างมาก (Hanisak,1979 ; Duarte,1995 ; Valiela et al.,1997 ) โดยทั่วไปในสาหร่ายทะเล ไนโตรเจน จัดเป็นสารอาหารจำกัดชนิดหลัก (Wheeler and Björnsäter,1992 ; Valiela,1997 ; Larned,1998 ;Phillips and Hurd,2004) อย่างไรก็ตาม ในบางพื้นที่ สารอาหารจำกัดชนิดหลักที่ควบคุมการเจริญเติบโตของสาหร่ายอาจเป็นฟอสฟอรัสได้เช่นกัน (Villares,1998; Casabianca,2002) ในการที่จะหาวิธีการควบคุมและเฝ้าระวังปรากฏการณ์ “Green tides” ในพื้นที่ใดๆ ได้นั้น ควรทราบว่าในพื้นที่นั้นมีสารอาหารชนิดใดเป็นสารอาหารจำกัดชนิดหลัก

นอกจากสารอาหารในน้ำแล้ว ยังมีปัจจัยร่วมอื่นๆซึ่งส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของสาหร่ายทะเล ได้แก่ ความเข้มแสง (Mohsen et al.,1973 ; Napolitano, 1994; Khotimchenko, 2004 ), อุณหภูมิ (Duke et al., 1989; de Casabianca, 2002 ; Pedersen et al., 2004 ) และความเค็ม เป็นต้น (Lee and Chen,1998 ) ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีการเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาล ส่งผลให้สาหร่ายทะเลมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปในแต่ละช่วงของปี

สาหร่ายทะเลสีเขียวชนิดหลักที่ก่อให้เกิด “Green tides” ได้แก่ สาหร่ายสกุล *Ulva* (วงศ์ Ulvophyceae) (Blomster et al. after Fletcher,1996) สาหร่ายเหล่านี้จัดเป็น opportunistic species กล่าวคือเมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม สามารถเข้าครอบครองพื้นที่ และเพิ่มมวลได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องมาจากความสามารถในการดูดซึมสารอาหารในน้ำได้อย่างรวดเร็ว และยังสามารถในการเก็บสารอาหารนั้นไว้ได้ (River and Peckol,1995 ; Hernandez et al.,1997; Runcie et al. , 2003; Runcie et al. , 2004) *Ulva* มีวงจรชีวิตแบบ isomorphic alternation of generations โดย gametophyte สร้าง biflagellate gametes และ sporophyte สร้าง quadriflagellate zoospores โดยมีงานวิจัยหลายชิ้นที่ใช้ *Ulva* เป็น model organisms ในการศึกษา spore bioadhesion (Callow et al., 2000; Callow et al.,2001; Finlay et al.,2002)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของสาหร่ายทะเลสกุล *Ulva*

(ที่มา <http://courses.bio.psu.edu/fall2005/biol110/tutorials/tutorial30.htm>)

### วัตถุประสงค์

1. ดำรงการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของ *U. reticulata*.
2. สามารถระบุว่าสารอาหารชนิดใดเป็นสารอาหารจำกัดต่อ *U. reticulata*
3. ศึกษาจลนศาสตร์ของการดูดซึมสารอาหารในของ *U. reticulata*
4. ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพกับ *U. reticulata*
5. สร้างองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อให้เข้าใจปรากฏการณ์ “Green tides” ในประเทศไทย ได้ดีขึ้น

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

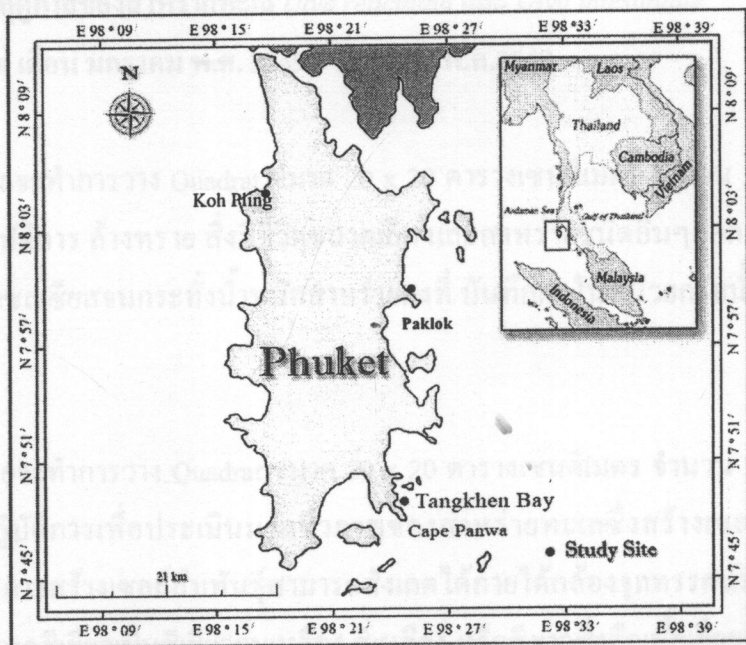
1. สามารถระบุว่าสารอาหารชนิดใดเป็นสารอาหารจำกัดต่อ *U. reticulata*
2. สร้างองค์ความรู้พื้นฐานเพื่อให้เข้าใจปรากฏการณ์ “Green tides” ในประเทศไทย ได้ดีขึ้น

## วิธีการดำเนินการวิจัย

### สถานที่ทำการวิจัย

ทำการศึกษาในสองบริเวณ ได้แก่ บ้านป่าคลอก และ อ่าวตังเจิ้น จ.ภูเก็ต ซึ่งมีสาหร่ายทะเลสกุล *Ulva* เจริญอยู่เป็นจำนวนมาก โดย ณ บ้านป่าคลอก ชนิดของสาหร่ายทะเลสกุล *Ulva* ที่พบ ได้แก่ *Ulva reticulata* ส่วน ณ อ่าวตังเจิ้น ชนิดของสาหร่ายทะเลสกุล *Ulva* ที่พบได้แก่ *Ulva intestinalis*

บ้านป่าคลอกตั้งอยู่บนชายฝั่งตะวันออกของเกาะภูเก็ต ล้อมรอบด้วยป่าชายเลน และผืนหญ้าทะเลในบริเวณชายฝั่ง พบ *U. reticulata* ลอยอยู่ในมวลน้ำ และบางส่วนยึดเกาะอยู่กับรากอากาศของไม้ป่าชายเลน ใกล้เคียงกับบริเวณนี้มีชุมชน และสถานที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ ซึ่งอาจทำให้แหล่งน้ำชายฝั่งในบริเวณนี้ได้รับสารอาหารละลายมาจากแหล่งเพาะเลี้ยงดังกล่าว นอกจากนี้พื้นที่ยึดเกาะยังเป็นดินเลน เมื่อเกิดการหมุนเวียนของน้ำ หรือเกิดการแลกเปลี่ยนสารอาหาร จะเป็นแหล่งของสารอาหารที่สำคัญของสาหร่ายทะเลอีกแห่งหนึ่ง



ภาพที่ 3 แผนที่เกาะภูเก็ต และพื้นที่ที่ทำการศึกษา

อ่าวตังเจิ้นตั้งอยู่บนชายฝั่งด้านตะวันออกเฉียงใต้ของเกาะภูเก็ต แวดล้อมด้วยที่ชุมชน ที่พัก และโรงแรม พื้นที่ยึดเกาะในบริเวณนี้ประกอบด้วยหินและทรายเป็นส่วนใหญ่ ทำให้พบ *U. intestinalis* ยึดเกาะอยู่กับพื้นที่ยึดเกาะที่เป็นหิน นอกจากนี้ *U. intestinalis* แล้ว ยังมีหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลชนิดอื่นๆ ครอบครองพื้นที่ในบริเวณนี้ด้วย เช่น *Padina spp* และ *Halimeda spp*.

เกาะปลิงตั้งอยู่ชายฝั่งตะวันตกของเกาะภูเก็ต ในบริเวณนี้มีสาหร่ายสกุล *Ulva* เจริญเติบโตอยู่เช่นกัน แต่พบที่ความหนาแน่นต่ำ โดยจะพบในช่วงแรกบนพื้นที่เปิดจุดนี้จะใช้เป็นจุดเก็บตัวอย่างปัจจัยทางกายภาพเพื่อใช้เป็นชุดควบคุม

### วิธีการทดลอง

#### ตอนที่ 1 การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของปัจจัยทางกายภาพ

ทำการเก็บข้อมูลทุกเดือนตั้งแต่ เดือน มกราคม พ.ศ. 2549 – ธันวาคม พ.ศ.2549

#### สารอาหารละลายในน้ำและสารอาหารละลายในตะกอน

วัดความเข้มข้นของไนเตรต แอมโมเนียม และฟอสเฟตที่ละลายในน้ำและตะกอน (วัดสารอาหารในตะกอน ณ จุดเก็บตัวอย่างปากคลองเท่านั้น) โดยวิธีการ Cadmium Reduction method Phenate method และ Ascobic acid method ตามลำดับ (APHA,1998)

#### อุณหภูมิ และความเค็ม

วัดอุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์ ร่วมกับการเก็บข้อมูลจากการรายงานของกรมอุตุนิมวิทยา วัดค่าความเค็มด้วยเครื่องมือ refractometer

#### ตอนที่ 2 การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเล *Ulva reticulata* และ *Ulva intestinalis*

ทำการเก็บข้อมูลทุกเดือนตั้งแต่ เดือน มกราคม พ.ศ. 2549 – ธันวาคม พ.ศ.2549

#### มวลชีวภาพ

เก็บตัวอย่าง *Ulva* โดยจะทำการวาง Quadrat ขนาด 20 x 20 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 Quadrats นำตัวอย่างกลับมายังห้องปฏิบัติการ ล้างทราย สิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก และสาหร่ายชนิดอื่นๆออก จากนั้นจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจนกระทั่งน้ำหนักสาหร่ายคงที่ บันทึกผลในหน่วยกรัมน้ำหนักแห้งต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร

#### การสืบพันธุ์

เก็บตัวอย่าง *Ulva* โดยจะทำการวาง Quadrat ขนาด 20 x 20 ตารางเซนติเมตร จำนวน 3 Quadrats นำตัวอย่างกลับมายังห้องปฏิบัติการเพื่อประเมินมวลชีวภาพของสาหร่ายทะเลซึ่งสร้างเซลล์สืบพันธุ์ บริเวณทลัสซของสาหร่ายที่มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์สามารถสังเกตได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ร่วมกับการสังเกตสีของสาหร่ายที่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเขียวอมเหลือง สีเหลือง หรือสีขาวซึ่งคือเนื้อเยื่อของสาหร่ายซึ่งมีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ไปแล้ว (Han et al., 2003)

#### สารอาหารในเนื้อเยื่อและปริมาณคลอโรฟิลล์

วัดปริมาณสารอาหารในเนื้อเยื่อ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และ ไนโตรเจน ในห้องปฏิบัติการโดยใช้เครื่องมือ Colorimetry และ Kjeldahl methods ตามลำดับ (ทำการตรวจวัด ณ หน่วยปฏิบัติการกลาง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์) หาปริมาณคลอโรฟิลล์เอและบี โดยการสกัดด้วยอะซีโตน 90% โดยอาศัยสมการของ Jeffrey และ Humphrey (1975)

### ตอนที่ 3 จลนศาสตร์การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์

ทำการทดลอง 2 ครั้ง ในเดือน พฤศจิกายน 2549 และเดือนเมษายน 2550

#### จลนศาสตร์การดูดซึมไนเตรตและฟอสเฟต

เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเลและนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการ ดังสาหร่ายทะเลด้วยน้ำทะเลเพื่อกำจัด epiphyte สัตว์ขนาดเล็ก และ เศษตะกอน จากนั้นจึงนำสาหร่ายไปทดลอง

การทดลองประกอบด้วย 2 ชุดการทดลองได้แก่

1. ชุดการทดลองที่ให้ไนเตรตร่วมกับสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0-2000 ไมโครโมลในโตรเจน/ลิตร (0, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000 ไมโครโมลในโตรเจน/ลิตร)
2. ชุดการทดลองที่ให้ฟอสเฟตร่วมกับสาหร่ายที่ความเข้มข้น 0-20 ไมโครโมลฟอสฟอรัส / ลิตร (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ไมโครโมลฟอสฟอรัส / ลิตร)

นำสาหร่าย 20 กรัมน้ำหนักสด ใส่ในพลาสติกซึ่งมีแหล่งของสารอาหารข้างต้น ให้ออกซิเจนโดยใช้ ปี่มอากาศและสายยาง เลี้ยงสาหร่ายภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 300 ไมโครโมล โฟตอน/ ตารางเมตร/วินาที เก็บตัวอย่างน้ำ ที่ 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 นาที คำนวณอัตราการ นำสารอาหารเข้าสู่เซลล์จากปริมาณสารอาหารที่หายไปจากในน้ำ (Herlin and Wheeler, 1985) ที่แต่ละ ความเข้มข้น

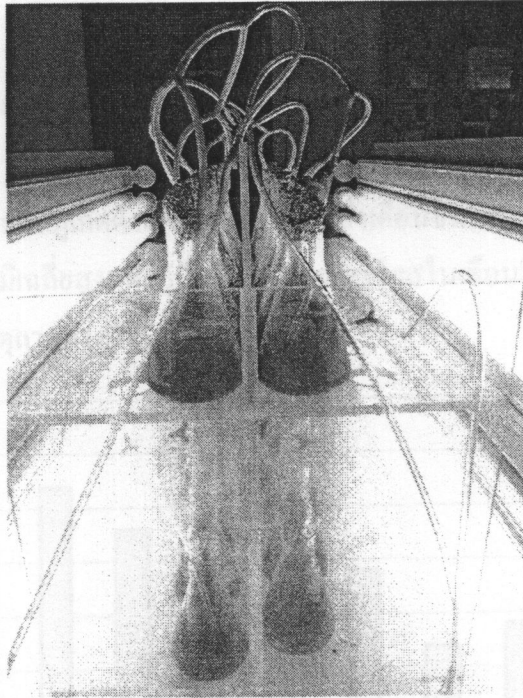
$$V (\mu\text{mol g}^{-1} \text{DW h}^{-1}) = \frac{(S_0 - S_t) * \text{volume (l)}}{\text{length of incubation (h)}} \times \frac{1}{\text{g DW plant}}$$

$V$  = อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ( $\mu\text{mol g}^{-1} \text{DW h}^{-1}$ ),

$S_0$  = ความเข้มข้นของสารอาหาร ณ เวลาเริ่มต้น ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )

$S_t$  = ความเข้มข้นของสารอาหาร ณ เวลา  $t$  ( $\mu\text{mol l}^{-1}$ )





ภาพที่ 4 การศึกษาจลนศาสตร์การนำไนโตรเจนและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ใน *Ulva reticulata*

นำอัตราการดูดซึมสารอาหาร ณ แต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟโดยให้แกน Y เป็นอัตราการดูดซึมสารอาหารและแกน X เป็นความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้น ปรับค่าที่ได้จากการทดลองโดยใช้ Michaelis-Menten model

$$V = (V_{\max} \times S_0) / (K_m + S_0)$$

จากการปรับค่า จะได้อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์สูงสุด ( $V_{\max}$ ) และ half-saturation constant ( $K_m$ ) คำนวณหา  $V_{\max}/K_m$

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทดสอบความแตกต่างของมวลชีวภาพ การสืบพันธุ์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปัจจัยทางกายภาพในเดือนต่างกัน โดยใช้ Kruskal-Wallis test และ One-way ANOVA ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่าง ปัจจัยทางกายภาพและ *U. reticulata* โดย Stepwise Multiple Regression ทดสอบความแตกต่างของค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ในฤดูกาลที่ต่างกัน โดยใช้ One-way ANOVA

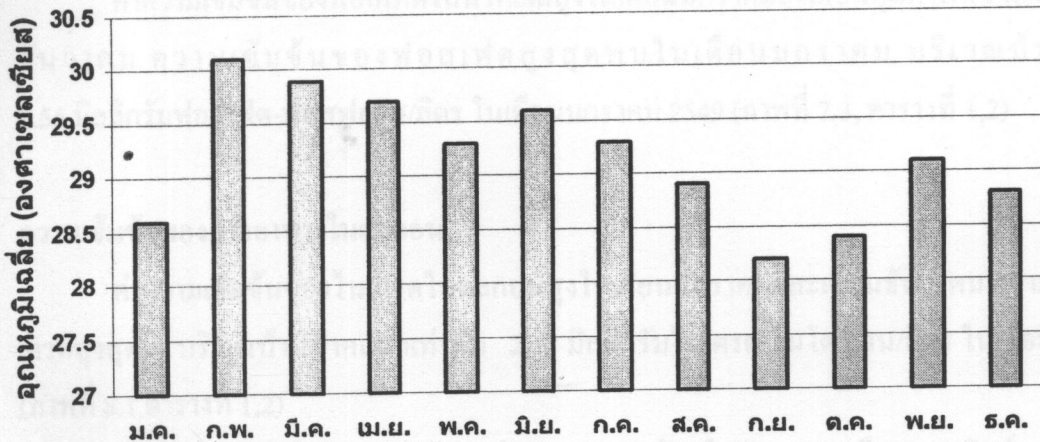
การทดสอบทางสถิติใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 11.00 standard Version, SPSS Inc. (LEAD Technologies, Inc.)

## ผลการวิจัย

### ตอนที่ 1 การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของปัจจัยทางกายภาพ

#### อุณหภูมิ

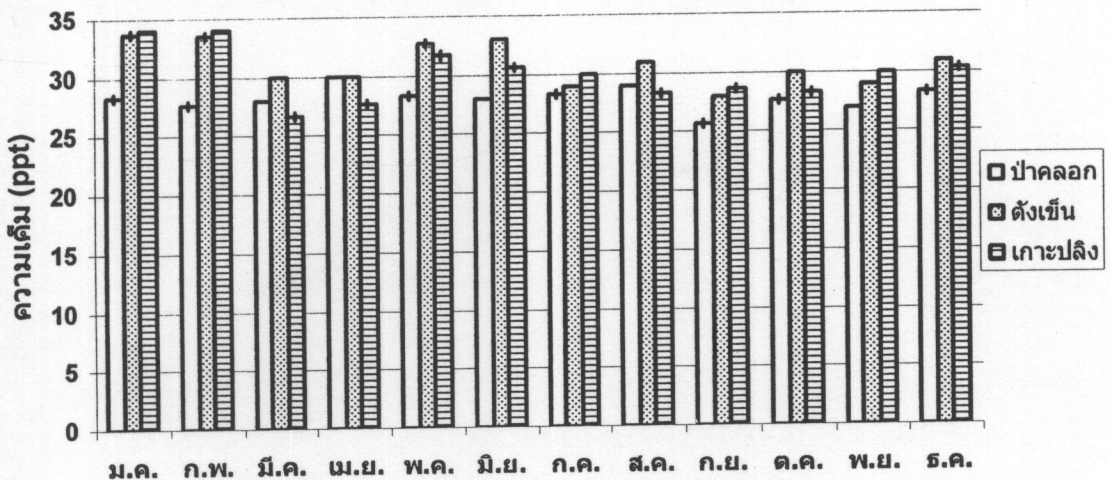
อุณหภูมิเฉลี่ยในจังหวัดภูเก็ตตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 อยู่ระหว่าง 28.6 C ถึง 31.8 C (ภาพที่ 5) อุณหภูมิเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ 36.2 องศาเซลเซียสในเดือนมีนาคม อุณหภูมิเฉลี่ยต่ำสุดอยู่ที่ 22.7 องศาเซลเซียสในเดือนตุลาคม (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 5 อุณหภูมิเฉลี่ยในเดือนมกราคม- กุมภาพันธ์ 2549 (ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยา <http://www.tmd.go.th/>)

#### ความเค็ม

ค่าความเค็มเฉลี่ยในจังหวัดภูเก็ตตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 อยู่ระหว่าง 25.7 ppt ถึง 30 ppt ณ บ้านป่าคลอก 28 ppt ถึง 33.7 ppt ณ อ่าวตังเซ็น และ 26.7 ppt ถึง 34 ppt ณ เกาะปลิง (ภาพที่ 6) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเค็มระหว่างเดือน โดยพบความเค็มต่ำสุดในเดือนกันยายน ณ บ้านป่าคลอกและอ่าวตังเซ็น มีนาคม ณ เกาะปลิง และสูงสุดในเดือนมกราคม เมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างพื้นที่การศึกษา บ้านป่าคลอกมีค่าความเค็มต่ำที่สุด (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 6 ความเค็มเฉลี่ยตั้งแต่เดือนมกราคม- กุมภาพันธ์ 2549

### ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำ

ค่าความเข้มข้นของไนเตรตในน้ำทะเลสูงในเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ และพฤศจิกายนถึง ธันวาคม ความเข้มข้นของไนเตรตสูงสุดพบในเดือนมกราคม บริเวณบ้านป่าคลอกที่ 1 มิลลิกรัมไนเตรต-ไนโตรเจน/ลิตร ในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 7.1, ตารางที่ 1,2)

ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมในน้ำทะเลสูงในเดือนพฤศจิกายนถึง ธันวาคม ความเข้มข้นของแอมโมเนียมสูงสุดพบในเดือนมกราคม บริเวณบ้านป่าคลอกที่ 0.17 มิลลิกรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน/ลิตร ในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 7.2, ตารางที่ 1,2)

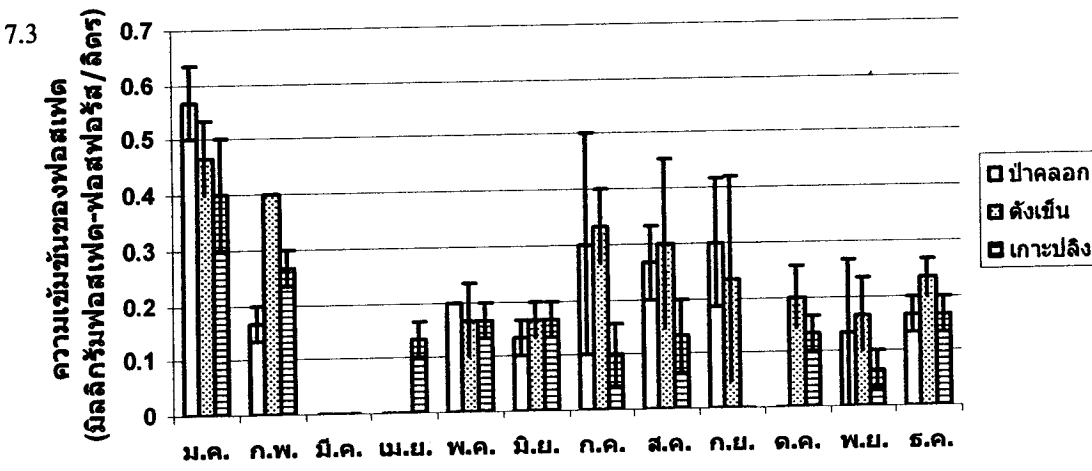
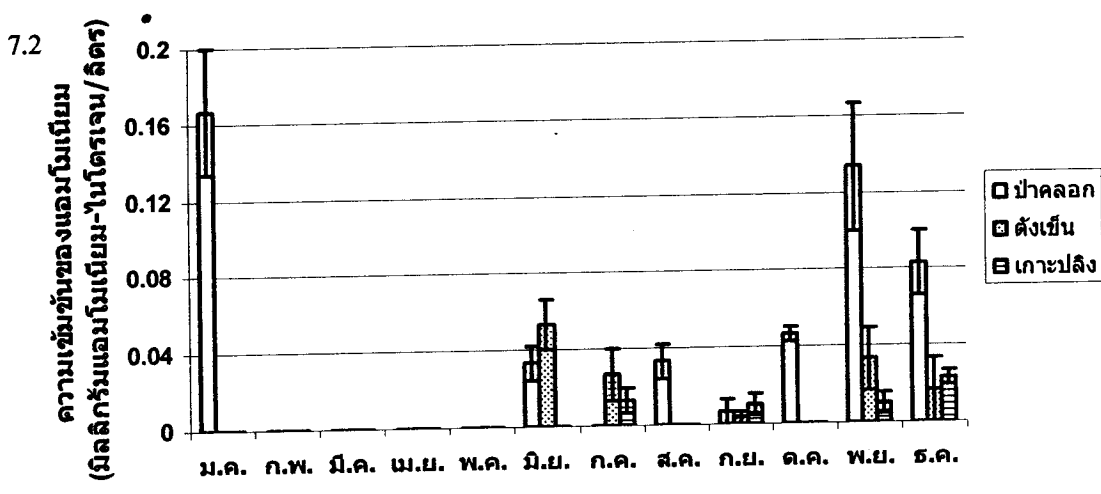
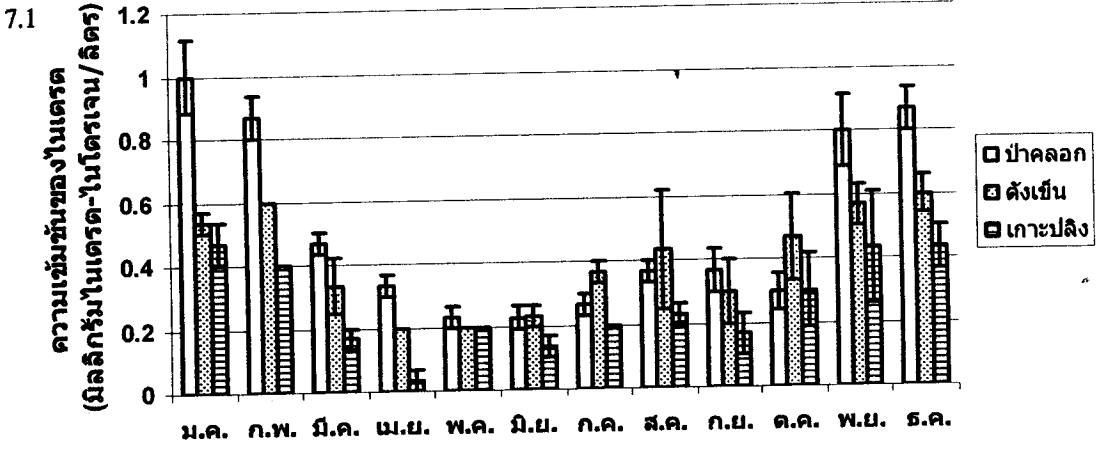
ค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตในน้ำทะเลสูงในเดือนมกราคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ และพฤศจิกายนถึง ธันวาคม ความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงสุดพบในเดือนมกราคม บริเวณบ้านป่าคลอกที่ 0.56 มิลลิกรัมฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส/ลิตร ในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 7.3, ตารางที่ 1,2)

### ความเข้มข้นของสารอาหารในตะกอน

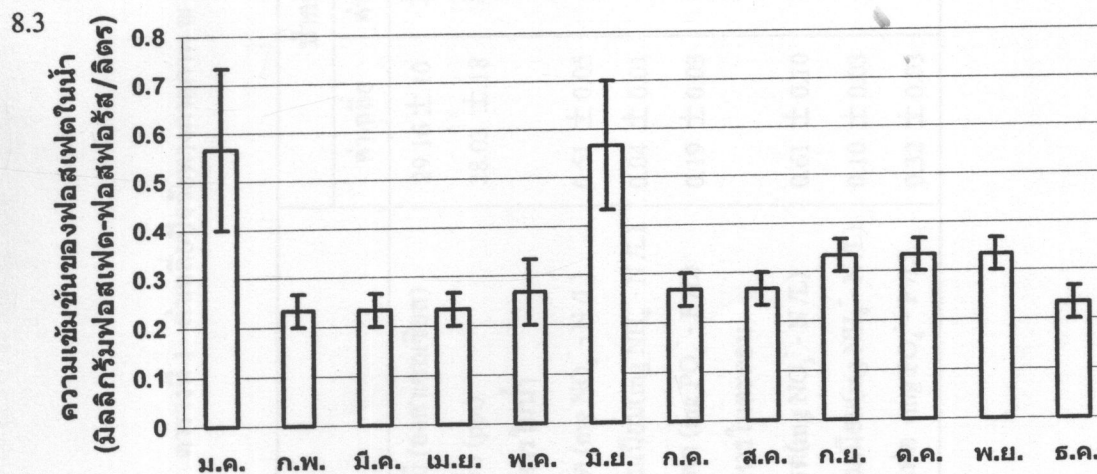
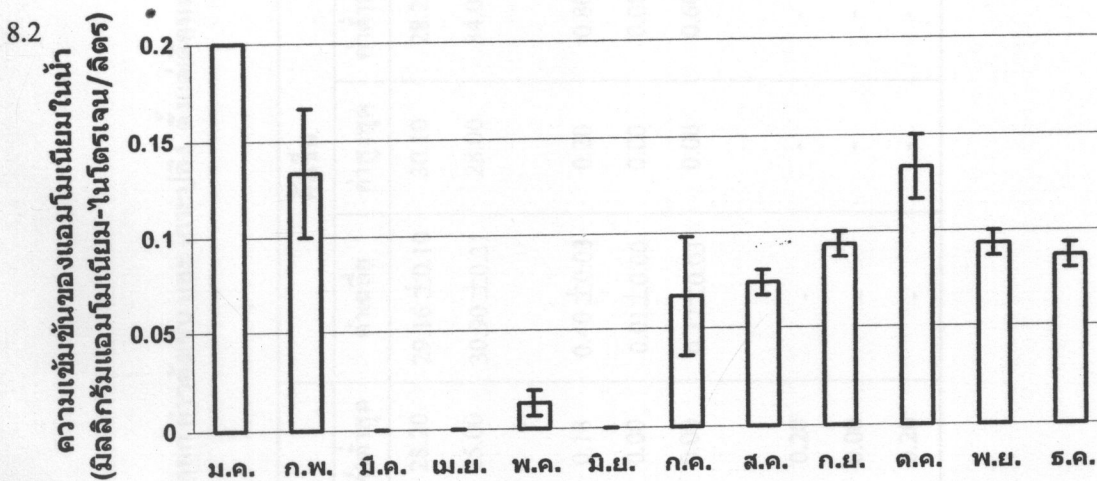
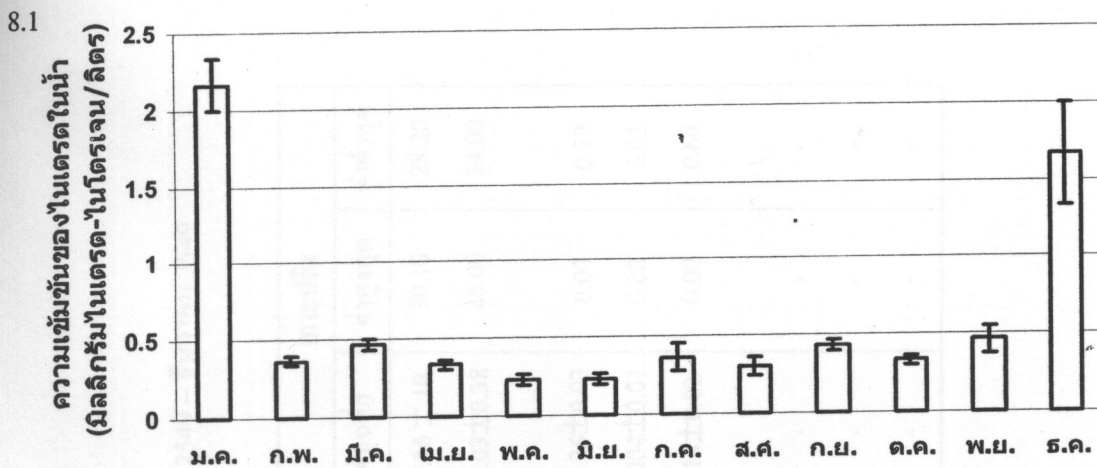
ค่าความเข้มข้นของไนเตรตในตะกอนสูงในเดือนมกราคมและเดือนธันวาคม ความเข้มข้นของไนเตรตสูงสุด ณ บริเวณบ้านป่าคลอกเท่ากับ 2.17 มิลลิกรัมไนเตรต-ไนโตรเจน/ลิตร ในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 8.1, ตารางที่ 1,2)

ค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมในตะกอนสูงในเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมสูงสุดบริเวณบ้านป่าคลอกเท่ากับ 0.2 มิลลิกรัมแอมโมเนียม-ไนโตรเจน/ลิตรในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 8.2, ตารางที่ 1,2)

ค่าความเข้มข้นของฟอสเฟตในตะกอนสูงในเดือนมกราคมและเดือนมิถุนายน ความเข้มข้นของฟอสเฟตสูงสุดบริเวณบ้านป่าคลอกเท่ากับ 0.57 มิลลิกรัมฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส/ลิตร ในเดือนมกราคม 2549 (ภาพที่ 8.3, ตารางที่ 1,2)



ภาพที่ 7 ความเข้มข้นของสารอาหารในน้ำตั้งแต่เดือนมกราคม - ธันวาคม 2549



ภาพที่ 8 ความเข้มข้นของสารอาหารในตะกอน ณ บ้านป่าคลอก ตั้งแต่เดือนมกราคม - ธันวาคม 2549

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยปัจจัยทางกายภาพ ณ บ้านป่าคอก ย้ำตั้งเขิน และ เกาะปลิง ตั้งแต่เดือนมกราคม 2549 – ธันวาคม 2549

	ป่าคอก			ตั้งเขิน			เกาะปลิง		
	ค่าเฉลี่ย	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด
1. อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	29.16 ± 1.10	30.10	28.20	29.16 ± 0.10	30.10	28.20	29.16 ± 1.10	30.10	28.20
2. ความเค็ม (ppt)	28.03 ± 1.18	30.00	25.00	30.90 ± 0.31	28.00	34.00	30.03 ± 0.38	26.00	34.00
3. สารอาหารในน้ำ									
3.1 ไนเตรต (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N/L)	0.51 ± 0.05	1.20	0.18	0.40 ± 0.03	0.20	0.80	0.26 ± 0.03	0.00	0.70
3.2 แอมโมเนียม (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - N/L)	0.04 ± 0.01	0.20	0.00	0.01 ± 0.00	0.00	0.08	0.004 ± 0.01	0.00	0.03
3.3 ฟอสเฟต (mg PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> - P/L)	0.19 ± 0.03	0.70	0.00	0.22 ± 0.03	0.00	0.60	0.14 ± 0.02	0.00	0.60
4. สารอาหารในตะกอน									
4.1 ไนเตรต (mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> - N/L)	0.61 ± 0.10	2.50	0.20	-	-	-	-	-	-
4.2 แอมโมเนียม (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> - N/L)	0.10 ± 0.03	1.00	0.00	-	-	-	-	-	-
4.3 ฟอสเฟต (mg PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> - P/L)	0.32 ± 0.03	0.90	0.20	-	-	-	-	-	-

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบความแตกต่างของปัจจัยทางกายภาพ ณ บ้านป่าคอกในเดือนต่างกัน

โดย Kruskal-Wallis test

	ป่าคอก	
	X <sup>2</sup>	Asymp. Sig.
1. อุณหภูมิ	35	0.000
2. ความเค็ม	28.807	0.02
3. สารอาหารในน้ำ		
3.1 ไนเตรต	*	*
3.2 แอมโมเนียม	*	*
3.3 ฟอสเฟต	25.056	0.009
4. สารอาหารในตะกอน		
4.1 ไนเตรต	26.120	0.006
4.2 แอมโมเนียม	*	*
4.3 ฟอสเฟต	19.819	0.048

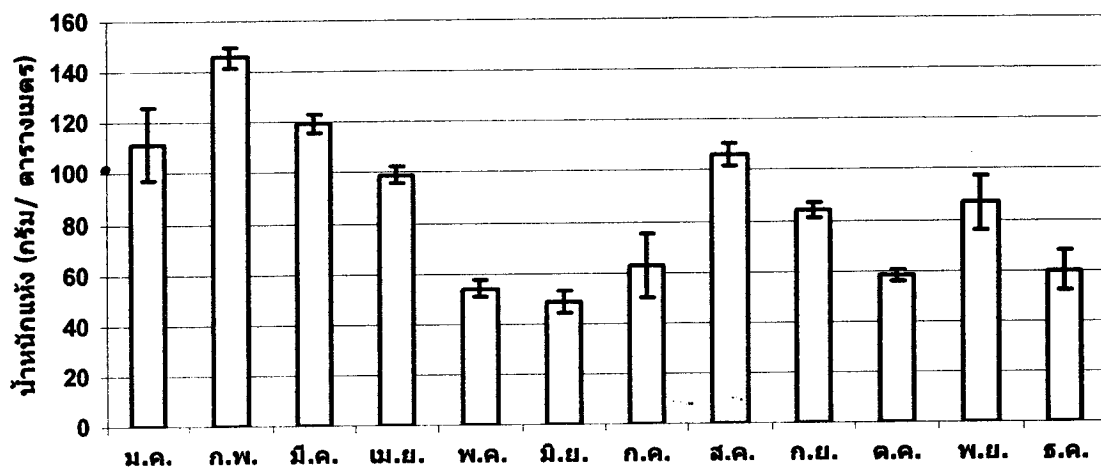
\* ปัจจัยทางกายภาพที่มีความแตกต่างกันระหว่างเดือนที่  $P < 0.001$  โดยวิธีการ One-Way ANOVA

## ตอนที่ 2 การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของมวลชีวภาพ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และ สารอาหารในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata*

ในช่วงเก็บตัวอย่างในเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม 2549 ไม่พบสาหร่าย *U. intestinalis* ในบริเวณอ่าวตังเจิ้น จึงเก็บข้อมูลเฉพาะใน *U. reticulata*

### มวลชีวภาพ

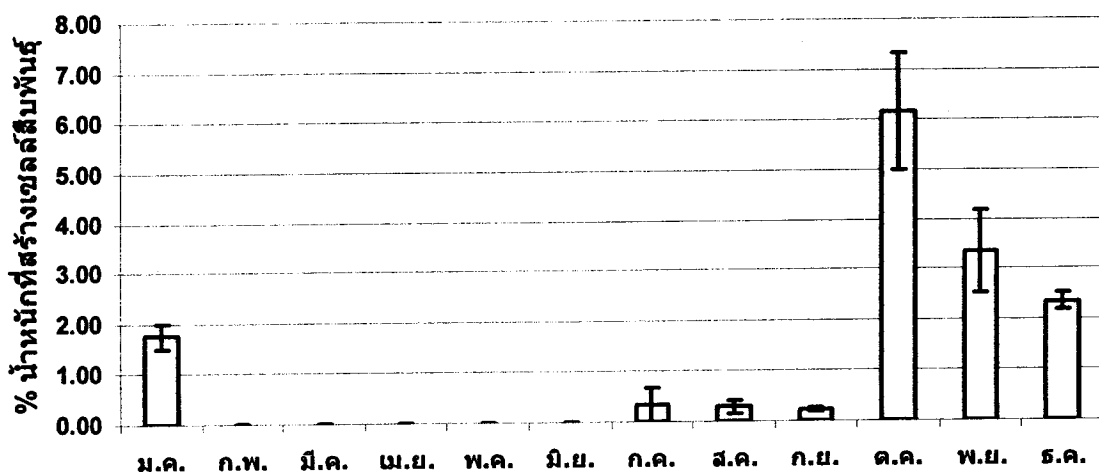
น้ำหนักแห้งของ *U. reticulata* พบสูงสุดในเดือนกุมภาพันธ์ เท่ากับ  $145.83 \pm 4.17$  กรัม/ตารางเมตร และต่ำสุดในเดือนมิถุนายนเท่ากับ  $54.17 \pm 3.63$  กรัม/ตารางเมตร(ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 มวลชีวภาพเฉลี่ยของ *U. reticulata* ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549

### การสร้างเซลล์สืบพันธุ์

*U. reticulata* มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์สูงในช่วงเดือนมกราคม และ ตุลาคมถึงธันวาคม โดยพบ % น้ำหนักที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์สูงที่สุดที่  $6.17 \pm 1.17$  % ในเดือนตุลาคม และไม่พบการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมิถุนายน (ภาพที่ 10)

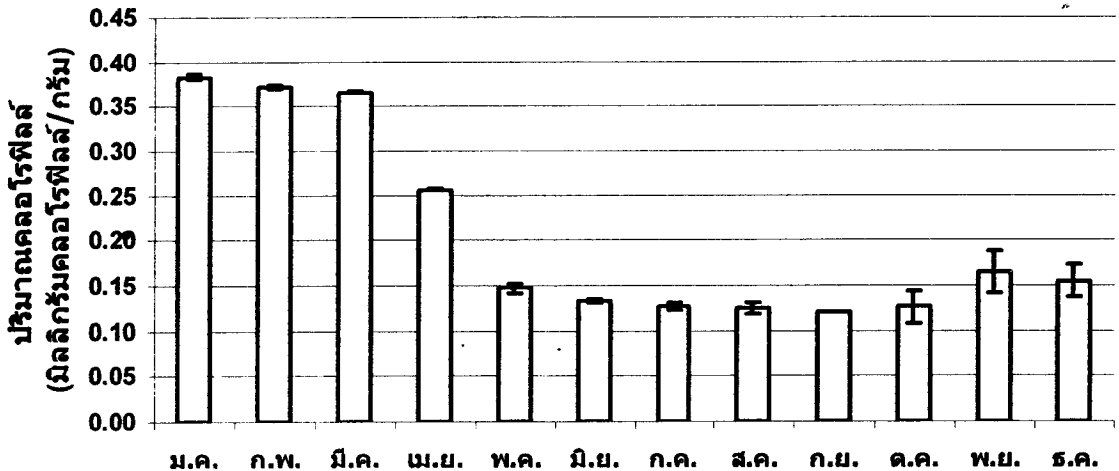


ภาพที่ 10 % น้ำหนักที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *U. reticulata* ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549



## ปริมาณคลอโรฟิลล์

ปริมาณคลอโรฟิลล์ใน *U. reticulata* พบสูงในเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน โดยในเดือนมกราคม *U. reticulata* มีความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อสูงที่สุด ( $0.38 \pm$  มิลลิกรัมคลอโรฟิลล์ / กรัม) ในเดือนสิงหาคมและกันยายน *U. reticulata* มีความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อต่ำที่สุด ( $0.12 \pm 0.01$  มิลลิกรัมคลอโรฟิลล์ / กรัม) (ภาพที่ 11, ตารางที่ 3)



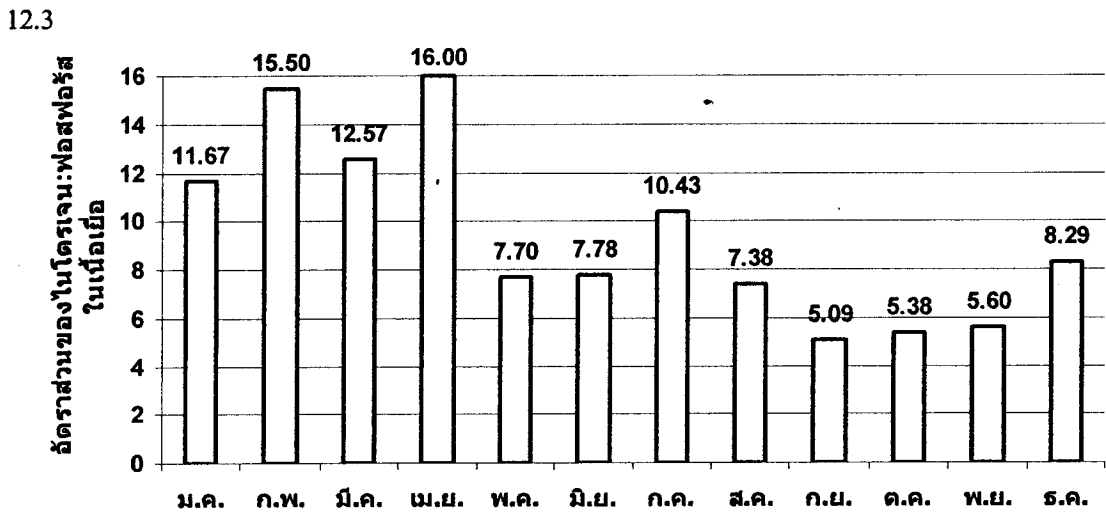
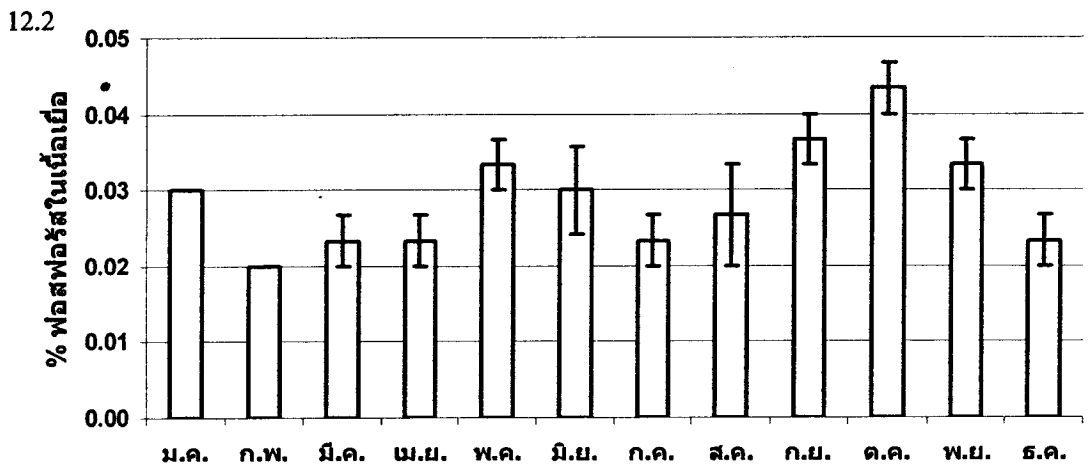
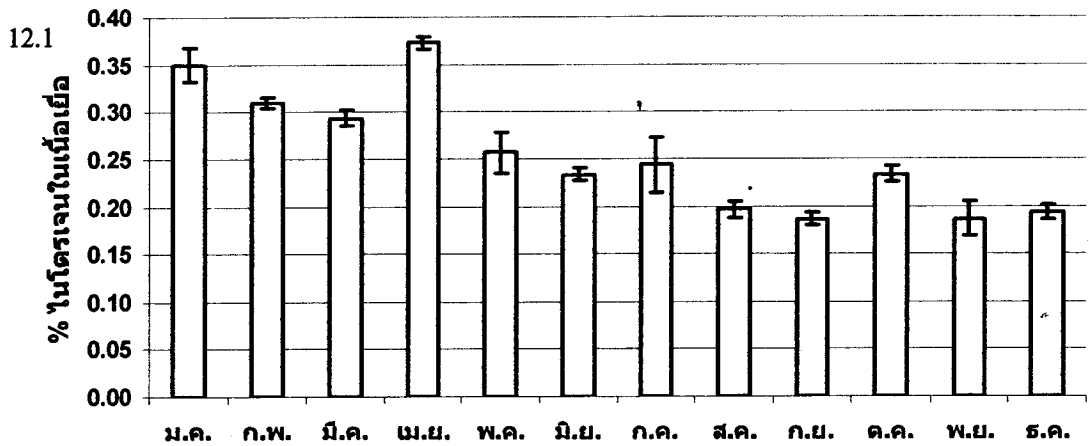
ภาพที่ 11 ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* ตั้งแต่เดือนมกราคม – ธันวาคม 2549

## สารอาหารในเนื้อเยื่อ

% ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* สูงสุดในเดือนเมษายน ( $0.37 \pm 0.01$  %) และต่ำสุดในเดือนกันยายน และ พฤศจิกายน – ธันวาคม ( $0.19 \pm 0.01$  %)

% ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* สูงสุดในเดือนกันยายน-ตุลาคม ( $0.04 \pm 0.00$  %) และต่ำสุดที่  $0.02 \pm 0.00$  % ในเดือนกุมภาพันธ์-เมษายน เดือนกรกฎาคม และเดือนธันวาคม

อัตราส่วนของไนโตรเจน : ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* มีค่าตั้งแต่ 5.09 ในเดือนกันยายน ถึง 16 ในเดือนเมษายน (ภาพที่ 12, ตารางที่ 3)



ภาพที่ 12 ความเข้มข้นของสารอาหารในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* ตั้งแต่เดือนมกราคม - ธันวาคม 2549

12.1) % ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ 12.2) % ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อ 12.3) อัตราส่วนของฟอสฟอรัส : ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ

\* % สารอาหารในเนื้อเยื่อ คัดจากน้ำหนักสดของ *U. reticulata*\*

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้ง การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ % ไนโตรเจน และ % ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *Ulva reticulata* ตั้งแต่เดือนมกราคม 2549 – ธันวาคม 2549 และผลการทดสอบ Kruskal-Wallis test

	ค่าเฉลี่ย	ค่าสูงสุด	ค่าต่ำสุด	X <sup>2</sup>	Asym.
น้ำหนักแห้ง (กรัม/ตารางเมตร)	86.32 ± 5.26	150.0	37.50	30.82	0.001
% น้ำหนักที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์	1.20 ± 0.33	8.50	0.00	33.083	0.001
คลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัม/ กรัม)	0.21 ± 0.02	0.39	0.10	28.87	0.02
% ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ	0.26 ± 0.01	0.38	0.16	30.98	0.001
% ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อ	0.03 ± 0.00	0.05	0.02	20.795	0.036

### ตอนที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและ การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของมวลชีวภาพ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ ปริมาณคลอโรฟิลล์ และสารอาหารในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata*

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของมวลชีวภาพของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนเดียวกัน การแปรผันของมวลชีวภาพ ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของไนเตรตและความเข้มข้นแอม โมเนียมในน้ำ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับไนเตรต และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับความเข้มข้นแอม โมเนียมตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของมวลชีวภาพของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า การแปรผันของมวลชีวภาพ ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของไนเตรตในตะกอน โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นไนเตรต อย่างไรก็ตามในกรณีหลังมีค่า  $R^2$  สูงกว่าในกรณีแรก (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนเดียวกัน การแปรผันของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของแอม โมเนียมในน้ำ ความเข้มข้นฟอสเฟตในน้ำ ความเข้มข้นแอม โมเนียมในตะกอนและอุณหภูมิ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับความเข้มข้นของแอม โมเนียมในน้ำ และความเข้มข้นแอม โมเนียมในตะกอน และมีความสัมพันธ์เชิงลบกับความเข้มข้นฟอสเฟตและอุณหภูมิ เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า การแปรผันของการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของฟอสเฟตในน้ำ อุณหภูมิ และความเค็ม โดยการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ของ *U. reticulata* มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปัจจัยข้างต้น ในกรณีหลังมีค่า  $R^2$  สูงกว่าในกรณีแรก (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนเดียวกัน การแปรผันของความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของไนเตรตในน้ำ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมในน้ำ และอุณหภูมิ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปัจจัยข้างต้น เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า การแปรผันของความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของไนเตรตในน้ำ โดยความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ของ *U. reticulata* มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปัจจัยข้างต้น ในกรณีแรกมีค่า  $R^2$  สูงกว่าในกรณีหลัง (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนเดียวกัน การแปรผันของความเข้มข้นของไนโตรเจนในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของความเค็มของน้ำ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปัจจัยข้างต้น เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของไนโตรเจนของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า การแปรผันของความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อในรอบปีได้รับอิทธิพลจาก

ความเข้มข้นของแอมโมเนียมในน้ำ ในเตรตในตะกอน และอุณหภูมิจึงมีความเข้มข้นของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับไนเตรตในตะกอน และอุณหภูมิจึงมีความสัมพันธ์เชิงลบกับความเข้มข้นของแอมโมเนียมในน้ำ อย่างไรก็ตามในกรณีหลังมีค่า  $R^2$  สูงกว่าในกรณีแรก (ตารางที่ 4)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนเดียวกัน การแปรผันของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นไนเตรตในตะกอนและอุณหภูมิจึงมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปัจจัยข้างต้น เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสของ *U. reticulata* และปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า การแปรผันของความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อในรอบปีได้รับอิทธิพลจากความเข้มข้นของแอมโมเนียมในน้ำ และอุณหภูมิจึงมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* มีความสัมพันธ์เชิงลบกับปัจจัยข้างต้น ในกรณีหลังมีค่า  $R^2$  สูงกว่าในกรณีแรก(ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและ *U. reticulata* ด้วยเทคนิค Stepwise Multiple Regression

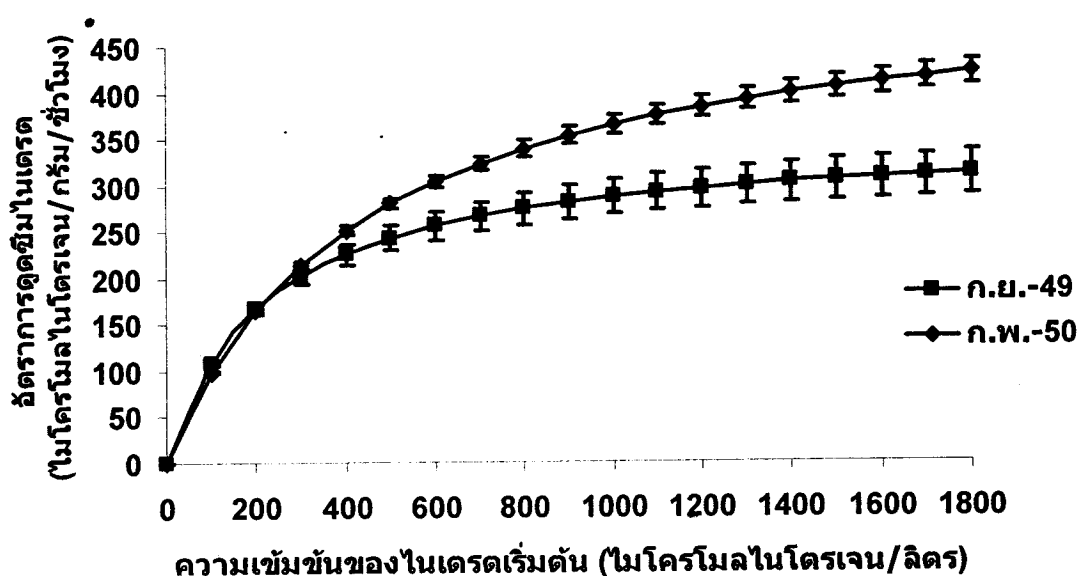
Month	Predictors	Coefficient	R <sup>2</sup>	P
<b>มวลชีวภาพ</b>				
ความสัมพันธ์ในเดือนเดียวกัน	ไนเตรต	0.802	0.405	0.000
	แอมโมเนียม	-0.548		
ความสัมพันธ์กับเดือนก่อนหน้า	ไนเตรต (S)	0.643	0.414	0.000
<b>% น้ำหนักของเนื้อเยื่อที่สร้างเซลล์สืบพันธุ์</b>				
ความสัมพันธ์ในเดือนเดียวกัน	แอมโมเนียม	0.342	0.661	0.000
	ฟอสเฟต	-0.669		
	แอมโมเนียม (S)	0.392		
ความสัมพันธ์กับเดือนก่อนหน้า	อูณหภูมิต	-0.405	0.742	0.002
	ฟอสเฟต	-0.308		
	อูณหภูมิต	-0.574		
	ความเค็ม	-0.509		
<b>ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์</b>				
ความสัมพันธ์ในเดือนเดียวกัน	ไนเตรต (S)	0.439	0.653	0.000
	แอมโมเนียม (S)	0.420		
	อูณหภูมิต	0.837		
ความสัมพันธ์กับเดือนก่อนหน้า	ไนเตรต	0.785	0.616	0.000
<b>% ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ</b>				
ความสัมพันธ์ในเดือนเดียวกัน	ความเค็ม	0.519	0.269	0.01
ความสัมพันธ์กับเดือนก่อนหน้า	แอมโมเนียม	-0.403	0.574	0.000
	ไนเตรต (S)	0.844		
	อูณหภูมิต	0.561		
<b>% ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อ</b>				
ความสัมพันธ์ในเดือนเดียวกัน	ไนเตรต (S)	-0.367	0.418	0.000
	อูณหภูมิต	-0.679		
ความสัมพันธ์กับเดือนก่อนหน้า	แอมโมเนียม	-0.590	0.464	0.000
	อูณหภูมิต	-0.641		

#### ตอนที่ 4 จลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตและฟอสเฟต เข้าสู่เซลล์ของ *Ulva reticulata*

##### ไนเตรต

อัตราการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของไนเตรตที่ให้เพิ่มมากขึ้น และคงที่ที่ความเข้มข้นของไนเตรตประมาณ 500 ไมโครโมลไนโตรเจน/ลิตรและ 730 ไมโครโมลไนโตรเจน/ลิตร ที่อัตรา  $351.43 \pm 29.74$  ไมโครโมลไนโตรเจน / กรัม / ชั่วโมงและ  $521.80 \pm 21.61$  ไมโครโมลไนโตรเจน / กรัม / ชั่วโมง ในเดือนกันยายน 2549 และเดือนกุมภาพันธ์ 2550 ตามลำดับ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 13)

มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ ในเดือนกันยายน 2549 และเดือนกุมภาพันธ์ 2550

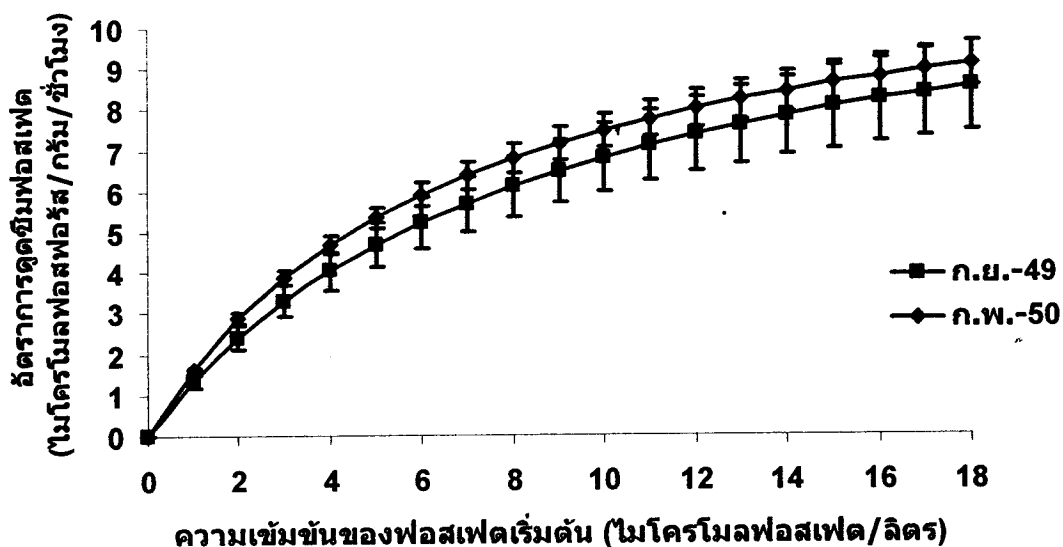


ภาพที่ 13 อัตราการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* ที่ความเข้มข้นของไนเตรตแตกต่างกันในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549

##### ฟอสเฟต

อัตราการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของฟอสเฟตที่ให้เพิ่มมากขึ้น และคงที่ที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตประมาณ 11.49 ไมโครโมลฟอสฟอรัส/ลิตร และ 9.67 ไมโครโมลฟอสฟอรัส/ลิตร ที่อัตรา  $12.6 \pm 1.69$  ไมโครโมลฟอสฟอรัส / กรัม / ชั่วโมง และ  $12.47 \pm 0.90$  ไมโครโมลฟอสฟอรัส / กรัม / ชั่วโมงในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549 ตามลำดับ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 14)

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ระหว่างค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ ในเดือนกันยายน 2549 และเดือนกุมภาพันธ์ 2550



ภาพที่ 14 อัตราการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* ที่ความเข้มข้นของฟอสเฟตแตกต่างกันในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549

ในเดือนกันยายน 2549 *U. reticulata* มีค่า Km และ Vmax ของจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์และการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$  ตารางที่ 5)

ในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 *U. reticulata* มีค่า Km Vmax/Km และ Vmax ของจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์และการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$  ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ค่าคงที่ของจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์

	กันยายน 2549	กุมภาพันธ์ 2550
<b>ไนเตรต</b>		
Km (ไมโครโมลไนโตรเจน / ลิตร)	$222.27 \pm 22.81$	$431.15 \pm 21.80$
Vmax/Km	$1.59 \pm 0.05$	$1.21 \pm 0.02$
Vmax (ไมโครโมลไนโตรเจน / กรัม / ชม.)	$351.43 \pm 29.74$	$521.80 \pm 21.61$
<b>ฟอสเฟต</b>		
Km (ไมโครโมลฟอสเฟต / ลิตร)	$8.46 \pm 0.56$	$6.64 \pm 0.32$
Vmax/Km	$1.49 \pm 0.17$	$1.87 \pm 0.06$
Vmax (ไมโครโมลฟอสเฟต / กรัม / ชม.)	$12.6 \pm 1.69$	$12.47 \pm 0.90$



## อภิปรายผลการวิจัย

### ปัจจัยทางกายภาพและการแปรผันของ *U. reticulata* ในรอบปี

#### สารอาหารในน้ำและในตะกอน

ความเข้มข้นของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมมีความสัมพันธ์กับการแปรผันของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อ และความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ใน *U. reticulata* โดยความเข้มข้นของไนเตรตในตะกอนที่เพิ่มขึ้นส่งผลทำให้ไนโตรเจนในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำและในตะกอนที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความเข้มข้นของไนโตรเจนที่สะสมในเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเลสามารถบ่งชี้ถึงสถานะของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อม (Fong et al., 1994) และยังคงแสดงให้เห็นถึงความสามารถของสาหร่ายทะเลในการนำไนโตรเจนเข้าสู่เซลล์และเก็บสะสมไนโตรเจนเหล่านั้นไว้ภายในเซลล์ (Hanisak 1983) นอกจากนี้ สารอาหารในเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเล ยังเป็นค่าที่ใช้ในตรวจวัดความเข้มข้นของสารอาหารในสิ่งแวดล้อมที่สะสมมาเป็นระยะเวลายาวนานได้อีกด้วย (Wheeler and Björnsäter, 1992; Villares and Carballeira, 2003) ไนโตรเจนที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเลอยู่ในรูปของไนเตรต (Chapman and Craigie, 1977, Lapointe and Duke, 1984, Duke et al., 1986) กรดอะมิโน (Bird et al., 1982, Jones et al., 1996) โปรตีน (Bird et al. 1982, Smit et al., 1997) รงควัตถุ (Ryther et al., 1981, Bird et al., 1982, Rosenberg and Ramus, 1982, Lapointe and Duke, 1984, Smit et al. 1997) และสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้อื่นๆ (Rosenberg and Ramus, 1982) ดังนั้นคลอโรฟิลล์จึงจัดเป็นแหล่งสะสมไนโตรเจนแหล่งหนึ่งของสาหร่ายทะเลโดยไนโตรเจนสะสมอยู่ในรูปของสารประกอบเชิงซ้อนของคลอโรฟิลล์และโปรตีนสามารถเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว Lapointe 1981, Bird et al. 1982, Rosenberg and Ramus 1982, Duke et al. 1987, McGlathery et al. 1996, Naldi and Wheeler, 1999 พบว่าความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์ในสาหร่ายทะเลเพิ่มขึ้นเมื่อไนโตรเจนในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการศึกษาในครั้งนี้ อย่างไรก็ตามแต่ปริมาณของไนโตรเจนในรูปของคลอโรฟิลล์ที่สาหร่ายทะเลสามารถสะสมได้ในเนื้อเยื่อนั้นมีอยู่ไม่มากเมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบไนโตรเจนชนิดอื่นๆ (McGlathery et al., 1996) มวลชีวภาพของ *U. reticulata* ยังแสดงความสัมพันธ์กับไนโตรเจนในน้ำและในตะกอนเช่นเดียวกับไนโตรเจนในเนื้อเยื่อและคลอโรฟิลล์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Valiela et al. (1992), Coutinho and Zingmark (1993), Harlin and Thorne-Miller (1981), De Casabianca and Posada (1998), Coffaro and Bocci (1997), และ Bergamasco and Zago (1999) ซึ่งพบว่า การเพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพของ *Ulva* มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไนโตรเจนในน้ำที่เพิ่มมากขึ้น

นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างไนโตรเจนในตะกอนและไนโตรเจนในเนื้อเยื่อและมวลชีวภาพของ *U. reticulata* แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของตะกอนในการเป็นแหล่งของสารอาหารอีกแหล่งหนึ่ง สารอาหารต่างๆ โดยเฉพาะไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่ถูกปล่อยลงสู่แหล่งน้ำจะสะสมอยู่ในตะกอนและรวมตัวอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ เมื่อแบคทีเรียย่อยสลายสารอินทรีย์ดังกล่าว ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสจะถูกปล่อยสู่น้ำในตะกอนและไปสู่มวลน้ำในที่สุด ทำให้เพิ่มความเข้มข้นของสารอาหารที่สาหร่ายทะเลสามารถนำไปใช้ได้ ในมวลน้ำ (Boynton et al., 1980 , Nixon ,1981 , Clavero et al., 2000 , Grenz et al., 2000) นอกจากนี้จากการศึกษาของ Lavery and McComb(1991), Thybo-Christesen et al. (1993), McGlathery et al. (1997) และ and Tyler et al. (2001) ยืนยันว่าสาหร่ายทะเลสามารถใช้สารอาหารจากตะกอนได้

แอมโมเนียมทั้งในน้ำและในตะกอนที่เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ *U. reticulata* มีการสร้างสปอร์มากขึ้น สารอาหารในน้ำมีอิทธิพลต่อวงจรการสืบพันธุ์ของแพลงก์ตอนพืช (Drebes, 1977) ในสาหร่ายทะเลขนาดใหญ่ มีรายงานว่ากรณีที่ไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมลดลงอย่างรวดเร็วกระตุ้นให้ *Ulva fasciata* สร้างเซลล์สืบพันธุ์ (gamete) แต่ในสถานะที่มีไนโตรเจนในสิ่งแวดล้อมมาก *U. fasciata* จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและมีการสืบพันธุ์โดยไม่อาศัยเพศ (Mohsen et al., 1974) *Ulva lactuca* มีการสร้างสปอร์จำนวนมากเมื่อมีการให้แอมโมเนียมในน้ำ (Nasr et al., 1968)

#### สารอาหารจำกัดต่อ *U. reticulata*

ไนโตรเจนเป็นสารอาหารจำกัดหลักของสาหร่ายทะเลในเขตอบอุ่น (Lapointe et al., 1976 , Lapointe and Ryther, 1979) สำหรับสาหร่ายทะเลในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน สารอาหารจำกัดในรอบปีอาจสลับกันไประหว่างไนโตรเจนและฟอสฟอรัส (Lapointe, 1987, Lapointe and O'Connell , 1989) ขึ้นกับชนิดของสาหร่าย แหล่งที่อยู่ และปริมาณสารอาหารในแหล่งน้ำ (Lapointe et al. , 1987) ในสาหร่ายสกุล *Ulva* ไนโตรเจนในน้ำมักจะเป็นปัจจัยหลักที่ควบคุมการเจริญเติบโต (Duarte , 1995, Valiela et al., 1997) Björnsäter และ Wheeler (1990) ได้เสนอเกณฑ์การพิจารณาสารอาหารจำกัดของสาหร่ายทะเลโดยอาศัยอัตราส่วนของไนโตรเจน : ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อ (N:P) ถ้า  $N:P < 16$  แสดงว่าไนโตรเจนเป็นสารอาหารจำกัด  $N:P = 16-24$  แสดงว่าในสภาพแวดล้อมมีทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสเพียงพอ  $N:P > 24$  แสดงว่าฟอสฟอรัสเป็นสารอาหารจำกัด เมื่ออ้างอิงจากเกณฑ์ข้างต้น *U. reticulata* ในการศึกษาในครั้งนี้อยู่ในสถานะถูกจำกัดด้วยไนโตรเจนตลอดปี ยกเว้นในเดือนเมษายนซึ่งมีทั้งไนโตรเจนและฟอสฟอรัสอย่างเพียงพอ นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสารอาหารในน้ำและมวลชีวภาพของ *U. reticulata* ยังแสดงให้เห็นถึงการตอบสนองของมวลชีวภาพต่อไนโตรเจนทั้งในน้ำและในตะกอน เมื่อไนโตรเจนเพิ่มขึ้นส่งผลให้มวลชีวภาพเพิ่มขึ้นด้วย แต่ไม่พบความสัมพันธ์ข้างต้นระหว่าง *U. reticulata* และฟอสฟอรัสทั้งในน้ำและในตะกอน กล่าวคือ เมื่อฟอสฟอรัสในน้ำและในตะกอนเพิ่มขึ้นไม่ได้ส่งผลให้ *U. reticulata*

มีมวลชีวภาพ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ คลอโรฟิลล์ และสารอาหารในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น ดังนั้น ณ บ้านป่าคอก อ.ถลุง จ.ภูเก็ต *U. reticulata* จึงมีไนโตรเจนเป็นสารอาหารจำกัดเกือบตลอดปี และมีฟอสฟอรัสในสิ่งแวดล้อมมากพอต่อการเจริญเติบโตตลอดปี

### อุณหภูมิตั้งแต่ความเค็ม

อุณหภูมิตั้งแต่ความเค็มสัมพันธ์ในเชิงบวกกับไนโตรเจนในเนื้อเยื่อและคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* ในเซลล์ต่างๆ ไป อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส ทำให้อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า (Raven and Geider, 1988) ในสาหร่ายทะเล การทดลองหลายการทดลองได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิตั้งแต่การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ (Davison and Pearson, 1996, Gerard, 1997, Kinney and Roman, 1998, Ozaki et al., 2001) ดังนั้น การเพิ่มขึ้นของอัตราการนำไนโตรเจนเข้าสู่เซลล์อันเนื่องมาจากอุณหภูมิตั้งแต่เพิ่มขึ้น อาจส่งผลให้ไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

ความเค็มที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ *U. reticulata* มีไนโตรเจนในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น ตรงข้ามกับการศึกษาของ Latique et al. (2003) ซึ่งพบว่าที่ความเค็ม 20-30 ppt *Ulva lactuca* สามารถรักษาระดับของการนำแอมโมเนียมและไนเตรตเข้าสู่เซลล์ให้คงที่ได้ (Latique et al., 2003)

นอกจากนี้ อุณหภูมิและความเค็มยังมีความสัมพันธ์ในเชิงลบกับการสร้างสปอร์ใน *U. reticulata* Lünning (1990) เสนอว่าการสร้างสปอร์และแกมีตในสาหร่ายทะเลถูกควบคุมโดยอุณหภูมิ ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย สาหร่ายทะเลสามารถถูกกระตุ้นให้เกิดการสร้างสปอร์ได้เมื่อนำไปเลี้ยงในอุณหภูมิต่ำ หรือย้ายไปในอาหารเลี้ยงที่มีสารอาหารสูง (Henry, 1988) การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อมอย่างรวดเร็วอาจทำให้เกิดการเหนี่ยวนำให้สาหร่ายสร้างสปอร์ได้เช่นกัน เช่นการเปลี่ยนแปลงความเค็ม (Chapman, 1973) อย่างไรก็ตาม การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ของสาหร่ายทะเลในเขตร้อนมีอยู่น้อยมาก และในเขตร้อนไม่พบการเปลี่ยนแปลงปัจจัยทางกายภาพอย่างรุนแรงเช่นเดียวกับในเขตอบอุ่น (Lobban and Harrison, 1994) ซึ่งระดับของการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความเค็มอาจไม่เพียงพอที่จะเป็นสัญญาณในการกระตุ้นให้มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

### การตอบสนองของ *U. reticulata* ต่อปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า

จากการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและ *U. reticulata* โดยวิธีการ Stepwise Multiple Regression พบการตอบสนองของ *U. reticulata* ต่อปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้า โดยรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพในเดือนก่อนหน้ากับมวลชีวภาพ การสร้างเซลล์สืบพันธุ์ และสารอาหารในเนื้อเยื่อมีในค่า  $R^2$  สูงกว่ารูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพและ *U. reticulata* ในเดือนเดียวกัน

อย่างไรก็ตาม ควรมีการเพิ่มความถี่ในการเก็บข้อมูลมากขึ้น เพื่อให้สามารถหารูปแบบความสัมพันธ์ของปัจจัยทางกายภาพและ *U. reticulata* ได้อย่างแม่นยำมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก *U. reticulata* จัดเป็นสาหร่ายกลุ่ม opportunistic ซึ่งสามารถเจริญเติบโตและตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมได้อย่างรวดเร็ว (Littler, 1980)

### จลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata*

#### จลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์

อัตราการนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* ที่ความเข้มข้นของสารอาหารที่แตกต่างกันแสดงลักษณะที่เป็น Saturation curve กล่าวคือ มีอัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์มากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้นที่ให้มากขึ้น และอัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์จะเริ่มคงที่ที่ค่าความเข้มข้นของสารอาหารค่าหนึ่ง และไม่เพิ่มขึ้นอีกถึงจะได้รับสารอาหารที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ลักษณะเช่นนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในสาหร่ายทะเลจากการศึกษาอื่นๆ (Pedersen et al., 2004, Runcie et al., 2003, Runcie et al., 2004, Martinez and Rico, 2004, Phillips and Hurd, 2004, Gils et al., 2005) การที่ *U. reticulata* มีอัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่างกันเป็นลักษณะของ Saturation curve ซึ่งให้เห็นว่า *U. reticulata* มีการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์โดยกระบวนการ active transport หรือ mediated-transport (Lobban and Harrison, 1994) โดยทั่วไป การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ในสาหร่ายทะเลมักจะอาศัยกระบวนการ active transport ผ่านทาง plasmalemma ดังจะเห็นได้จากสารอาหารภายในเซลล์มีความเข้มข้นสูงกว่าภายนอกเซลล์ถึง 1000 เท่า ไนเตรตและฟอสเฟตคือตัวอย่างของสารอาหารที่มีการนำเข้าสู่เซลล์โดยวิธีการ active transport (Lobban and Harrison, 1994) อย่างไรก็ตาม ยังคงมีการศึกษาอื่นๆ ที่รายงานว่าพบอัตราการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อให้สารอาหารเริ่มต้นเพิ่มขึ้น โดยไม่มีจุดที่อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์คงที่ เช่น ใน *Chaetomorpha linum* (Lavery and MacComb, 1991) *Laminaria groenlandica* (Harrison et al., 1986) และ *Gracilaria pacifica* (Thomas et al., 1987)

จากตารางที่ 5 ค่า Km และ Vmax ของการนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* มากกว่าค่าคงที่จากการศึกษาอื่นๆ ความสามารถในการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ของสาหร่ายนอกจากจะแสดงได้ด้วยค่า Vmax และ Km แล้ว Healey (1980) และ Harrison et al. (1989) ได้เสนอว่าอัตราส่วนของ Vmax ต่อ Km เป็นค่าคงที่ที่สามารถใช้ในการเปรียบเทียบความสามารถในการแก่งแย่งสารอาหารในสาหร่ายทะเลชนิดต่างกันได้ Vmax/Km คือค่าความชันของกราฟของสมการ Michaelis-Menten ที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่ำ สามารถบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ของสาหร่ายทะเลที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่ำได้ (Healey, 1980) สาหร่ายทะเลที่มีค่า Vmax/Km สูงจะมีความสามารถในการสามารถแก่งแย่งสารอาหารที่ความเข้มข้นของ

สารอาหารต่ำได้ดี (Hein et al., 1995) จากการศึกษา (ตารางที่ 6)  $V_{max}/K_m$  ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์มากกว่าค่าที่ได้จากการศึกษาอื่นๆ ในขณะที่ค่า  $V_{max}/K_m$  ของการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* มากกว่าค่าที่ได้ในการศึกษาอื่นๆ, (Runcie et al., 2004) ดังนั้น *U. reticulata* มีความสามารถในการแก่งแย่งนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่ำได้ดีกว่าสาหร่ายในสกุล *Ulva* จากงานวิจัยอื่นๆ แต่มีความสามารถในการแก่งแย่งนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ที่ความเข้มข้นของสารอาหารต่ำได้ดีกว่าสาหร่ายในสกุล *Ulva* จากงานวิจัยอื่นๆ

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบค่าคงที่ของจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตและฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์จากงานวิจัยอื่นๆ

สารอาหาร	ชนิดสาหร่าย	Km	Vmax	Vmax/Km	อ้างอิง
ไนเตรต	<i>Ulva reticulata</i>	431.15 ± 21.80	521.80 ± 21.61	1.21 ± 0.02	ตารางที่
		222.27 ± 22.81	351.43 ± 29.74	1.59 ± 0.05	
	<i>Ulva lactuca</i>	34 ± 9	116 ± 18	3.47 ± 1.03	Runcie et al., 2003
	<i>Ulva lactuca</i>	5	20	4.5	Pedersen and Borum, 1997
	<i>Ulva rigida</i>	33	90	2.7	Lavery and McComb, 1991
	<i>Enteromorpha prolifera</i>	13.3 ± 3.6 SD	169 ± 19.3 SD	12.7 ± 3.73 SD	O'Brien and Wheeler, 1978
ฟอสเฟต	<i>Ulva reticulata</i>	6.64 ± 0.32	12.47 ± 0.90	1.87 ± 0.06	ตารางที่
		8.46 ± 0.56	12.6 ± 1.69	1.49 ± 0.17	
	<i>Ulva lactuca</i>	3.59 ± 1.4	4.66 ± 1.0	1.39 ± 0.4	Runcie et al., 2004
		5.03 ± 2.8	2.18 ± 0.4	0.434 ± 0.25	

การที่ *Ulva reticulata* มีค่า  $V_{max}/K_m$  ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ต่ำกว่าในสาหร่ายสกุล *Ulva* ชนิดอื่นๆ (Runcie et al., 2003 Pedersen and Borum, 1997 Lavery and McComb, 1991 O'Brien and Wheeler, 1978) และมีค่า  $V_{max}/K_m$  ของการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์สูงกว่าในสาหร่ายสกุล *Ulva* ชนิดอื่นๆ อาจเป็นผลมาจากการปรับตัวต่อสภาพที่มีความเข้มข้นของไนโตรเจนสูงและฟอสฟอรัสต่ำในพื้นที่ที่สาหร่ายเจริญอยู่เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่นำมาอ้างอิง ดังที่มีงานวิจัยหลายงานวิจัยสนับสนุนว่า สาหร่ายหลายชนิดสามารถปรับการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ต่อสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันได้ (Wallentinus, 1984, Thomas et al., 1987, Lavery and McComb, 1991, Fong et al., 1994, Naldi and Viaroli, 2002)

จลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ของสาหร่ายทะเลขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางชีวภาพหลากหลายปัจจัย เช่น ความเข้มข้นตั้งต้นของสารอาหารที่เลี้ยง

สาหร่าย อุณหภูมิ อัตราส่วนของพื้นที่ใบ / ปริมาตรของสาหร่าย (Rosenberg, 1984) และ สภาวะของสารอาหารในน้ำในพื้นที่ที่สาหร่ายเจริญเติบโต (Chopin et al., 1990) เป็นต้น

จากการทดลองนี้ อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารอาหารเริ่มต้นที่ใช้เลี้ยงสาหร่าย ดังเห็นได้จากอัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ที่สูงขึ้นเมื่อให้สารอาหารตั้งต้นที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไป นอกจากนี้ การที่อุณหภูมิในพื้นที่ที่ทำการศึกษานางานวิจัยนี้สูงกว่าอุณหภูมิในพื้นที่ที่ทำการศึกษาในการทดลองที่นำมาอ้างอิงซึ่งเป็นเขตอบอุ่น หรือเขตกึ่งร้อนเป็นส่วนใหญ่ ก็อาจส่งผลกระทบต่อจลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ทำให้มีค่าคงที่ที่คำนวณได้แตกต่างกันไป ในเซลล์ต่างๆ ไป อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส ทำให้อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์เพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า (Raven and Geider, 1988) ในสาหร่ายทะเล การทดลองหลายการทดลองได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิส่งผลต่อการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ (Davison and Pearson, 1996, Gerard, 1997, Kinney and Roman, 1998, Ozaki et al., 2001)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *U. reticulata* ก็อาจส่งผลทำให้อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์และค่าคงที่อื่นๆ แตกต่างไปจากงานวิจัยที่นำมาอ้างอิง เช่น ขนาดและความหนาของสาหร่าย ซึ่งแสดงด้วยค่าอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของสาหร่าย (SA/V) SA/V ส่งผลต่อการแลกเปลี่ยนก๊าซและตัวถูกละลายในบริเวณพื้นที่ผิวของพืช กล่าวคือพืชที่มี SA/V สูงจะมีระยะทางในการขนส่งสารน้อยกว่าพืชที่มี SA/V ต่ำ (Odum et al., 1958, Rosenberg and Ramus, 1984) โดยทั่วไปในสาหร่ายทะเล อัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ในสาหร่ายที่มีค่า SA/V สูง จะมีค่ามากกว่าในสาหร่ายทะเลที่มีค่า SA/V ต่ำ (Rosenberg and Ramus, 1984, Hein et al., 1995)

### จลนพลศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ในฤดูกาลที่ต่างกัน

พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* ค่า  $K_m$  และ  $V_{max}$  ในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 สูงกว่าในเดือนกันยายน 2549 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า  $V_{max}/K_m$  ในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 ต่ำกว่าในเดือนกันยายน 2549 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความแปรผันของค่าดังกล่าวอาจส่งผลมาจากการปรับตัวต่อปัจจัยทางกายภาพที่แตกต่างกันระหว่างสองช่วงเวลาที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความเข้มข้นของสารอาหารในพื้นที่ที่สาหร่ายเจริญอยู่ และปัจจัยทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณสารอาหารในเนื้อเยื่อ เป็นต้น

ในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 ไนเตรตในพื้นที่ที่ทำการศึกษามีความเข้มข้นสูงกว่าในเดือนกันยายน 2549 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งส่งผลให้ค่า  $V_{max}$  และ  $K_m$  ในเดือนกุมภาพันธ์สูงกว่าในเดือนกันยายน นอกจากนี้ การที่สาหร่ายเจริญอยู่ในสภาวะที่มีสารอาหารสูง ส่งผลให้ความต้องการสารอาหารของสาหร่ายต่ำ ทำให้ในเดือนกุมภาพันธ์ สาหร่ายมีความสามารถในการแก่งแย่งสารอาหารที่ความเข้มข้นต่ำได้ต่ำกว่าในเดือนกันยายน ดังแสดงด้วยค่า  $V_{max}/K_m$

ในเดือนกุมภาพันธ์ 2550 *Ulva reticulata* มีปริมาณไนโตรเจนในเนื้อเยื่อสูงกว่าในเดือนกันยายน 2549 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับของไนโตรเจนในเนื้อเยื่อมีอิทธิพลต่ออัตราการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ โดยสาหร่ายที่มีความเข้มข้นของไนเตรตในเนื้อเยื่อสูงจะมีอัตราการนำไนเตรตเข้าสู่เซลล์ต่ำ (Rosenberg et al., 1984, Fujita, 1985, O'Brien and Wheeler, 1987; Zimmerman et al., 1987, Duke et al., 1989, McGlathery et al. 1996) กลไกที่ทำให้การนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ลดลงนั้นยังไม่แน่ชัด โดยอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งแบบย้อนกลับ (feedback inhibition) โดยปริมาณไนเตรต แอมโมเนียม หรือ กรดอะมิโนในเซลล์ จากการศึกษาของ Naldi and Viaroli (2002) พบว่าระดับของสารอาหารในเนื้อเยื่อไม่ได้ส่งผลต่อ affinity ของเอนไซม์ต่อไนเตรต นอกจากนี้เมื่ออ้างอิงจาก *Ulva fenestrata*, Wheeler PA, Björnsäter BR, 1992) อัตราส่วนของไนโตรเจน ต่อ ฟอสฟอรัสในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* ในเดือนกันยายนยังแสดงถึงสถานะที่มีไนโตรเจนจำกัดอีกด้วย จึงอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ *U. reticulata* มีค่า  $V_{max}/K_m$  สูงกว่าในเดือนกุมภาพันธ์

ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของค่าคงที่ทางจลนพลศาสตร์ของการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์ของ *U. reticulata* ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2550 และเดือนกันยายน 2549 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ความเข้มข้นของฟอสเฟตในพื้นที่ที่ทำการศึกษาและความเข้มข้นของฟอสเฟตในเนื้อเยื่อของ *U. reticulata* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วงเวลาดังกล่าว

## เอกสารอ้างอิง

- Bäck S, Lehto A and Blomster J (2000) Mass occurrence of unattached *Enteromorpha intestinalis* on the Finnish Baltic Sea coast *Ann Bot Fennici* **37**, 155-161.
- Bergamasco A and Zago G (1999) Exploring the nitrogen cycle and macroalgae dynamics in the Lagoon of Venice using a multibox model *Estuar Coast Shelf Sci* **48**, 155-175.
- Bird KT, Habig C and DeBusk T (1982) Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) *J Phycol* **18**, 344-8.
- Björnsäter BR and Wheeler PA (1990) Effect of nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales: Chlorophyta) *J Phycol* **26**, 603-11.
- Blomster JS, Bäck DP, Fewer MK, Lehto A, Maggs CA and Stanhope MJ (2002) Novel morphology in *Enteromorpha* (Ulvophyceae) forming green tides *Am J Botany* **89(11)**, 1756-1763.
- Boynton WR, Kemp WM and Osborne CG (1980) Nutrient fluxes across the sediment-water interface in the turbid zone of a coastal plain estuary. In: Kennedy V S ed, pp 93-109. *Estuarine Perspectives* Academic Press, New York
- Brun FG, Vergara JJ, Navarro G, Hernández I and Pérez-Lioréns JL (2003) Effect of shading by *Ulva rigida* canopies on growth and carbon balance of the seagrass *Zostera noltii* *Mar Ecol Prog Ser* **265**, 85-96.
- Callow ME, Callow JA, Ista LK, Coleman SE, Nolasco AC and López GP (2000) The use of self-assembled monolayers (SAMs) of different wettability to study surface selection and primary adhesion processes of zoospores of the green alga *Enteromorpha* *Applied & Environmental Microbiology* **66**, 3249-3254.
- Callow ME, Crawford S, Wetherbee R, Taylor K, Finlay JA and Callow JA (2001) Brefeldin A affects adhesion of zoospores of the green alga *Enteromorpha* *J Exp Bot* **52**, 1-7.
- Chapman ARO and Craigie JS (1977) Seasonal growth in *Laminaria longicurvis*: relations with dissolved inorganic nutrients and internal reserves of nitrogen *Mar Biol* **40**, 197-205.
- Chopin T, Hourmant A, Floc'h JY and Penot M (1990) Seasonal variations of growth in the red alga *Chondrus crispus* on the Atlantic French coasts II Relations with phosphorus concentration in sea water and internal phosphorylated fractions *Canadian Journal of Botany* **58**, 512-517.
- Clavero V, Izquierdo JJ, Fernandez JA and Niell FX (2000) Seasonal fluxes of phosphate and ammonium across the sediment-water interface in a shallow small estuary Palmones River southern Spain *Mar Ecol Prog Ser* **198**, 51-60.
- Coffaro G and Bocci M (1997) Resource competition between *Ulva rigida* and *Zostera marina*: a quantitative approach applied to the Lagoon of Venice *Ecol Model* **102**, 81-95.
- Coutinho R and Zingmark R (1993) Interactions of light and nitrogen on photosynthesis and growth of the marine macroalga *Ulva curvata* (Kützting) De Toni *J Exp Mar Biol Ecol* **167**, 11-19.
- Davison IR and Pearson GA (1996) Stress tolerance in intertidal seaweeds *J Phycol* **32**, 197-211.



- De Casabianca ML and Posada F (1998) Effect of environmental parameters on the growth of *Ulva rigida* (Thau Lagoon, France) *Bot Mar* **41**, 157–165.
- De Casabianca ML Bathelémy N Serrano O and Sfriso A (2002) Growth rate of *Ulva rigida* in different Mediterranean eutrophicated sites *Bioresource Tech* **82**, 27–31.
- Drebes G (1977) Sexuality In Werner D *The Biology of Diatoms Botanical Monographs*, Vol.13, pp 250–83. Blackwell Oxford
- Duarte CM (1995) Submerged aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes *Ophelia* **41**, 87–112.
- Duke CS Lapointe BE and Ramus J (1986) Effects of light on growth RuBPCase activity and chemical composition of *Ulva* species (Chlorophyta) *J Phycol* **22**, 362–70.
- Duke CS Litaker RW and Ramus J (1987) Seasonal variation in RuBPCase activity and N allocation in the chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* (Kütz.) De Toni and *Codium decorticatum* (Woodw.) Howe *J Exp Mar Biol Ecol* **112**, 45–64.
- Duke CS Litaker W and Ramus J (1989a) Effect of temperature on nitrogen-limited growth rate and chemical composition of *Ulva curvata* Ulvales: Chlorophyta *Mar Biol* **100**, 143–150.
- Duke CS Litaker W and Ramus J (1989b) Effects of temperature nitrogen supply and tissue nitrogen on ammonium uptake rates of the chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* and *Codium decorticatum*. *J Phycol* **25**, 113–120.
- Finlay JA Callow ME Schultz MP Swain GW and Callow JA (2002) Adhesion strength of settled spores of the green alga *Enteromorpha*. *Biofouling* **18**, 251–256.
- Fong P Foin TC and Zedler JB (1994) A simulation model of lagoon algae based on nitrogen competition and internal storage *Ecol Monogr* **64**, 225–247.
- Fujita RM (1985) The role of nitrogen status in regulating transient ammonium uptake and nitrogen storage by macroalgae *J Exp Mar Biol Ecol* **92**, 283–301.
- Gerard VA (1997) The role of nitrogen nutrition in high temperature tolerance of the kelp *Laminaria saccharina* (Chromophyta) *J Phycol* **33**, 800–810.
- Grenz C Cloern JE Hager SW and Cole BE (2000) Dynamics of nutrient cycling and related benthic nutrient and oxygen fluxes during a spring phytoplankton bloom in South San Francisco Bay USA *Mar Ecol Prog Ser* **197**, 67–80.
- Han T Han YS Kain JM and Hader DP (2003) Thallus differentiation of photosynthesis growth reproduction and UV-B sensitivity in the green alga *Ulva pertusa* (Chlorophyceae) *J Phycol* **39**, 712–721.
- Hanisak MD (1979) Nitrogen limitation of *Codium fragile* ssp. *Tomentosoides* as determined by tissue analysis *Mars Biol* **50**, 333–337.
- Hanisak MD (1983) The nitrogen relationships of marine macroalgae In Carpenter EJ & Capone DG ed, pp 699–730. *Nitrogen in the Marine Environment Academic Press, New York*
- Harlin MM and Thorne-Miller B (1981) Nutrient enrichment of seagrass beds in a Rhode Island coastal lagoon *Mar Biol* **65**, 221–229.

- Harlin MM and Wheeler PA (1985) Nutrient uptake In Littler MM & Littler D eds Ecological Field Methods: Macroalgae Handbook Of Phycological Methods, Vol. IV, pp 493–508. Cambridge University Press, New York
- Harrison PJ Druehl LD Lloyd KE and Thompson PA (1986) Nitrogen uptake kinetics in three year-classes of *Laminaria groenlandica* (Laminariales: Phaeophyta) *Mar Biol* **93**, 29–35.
- Harrison PJ Parslow JS and Conway HL (1989) Determination of nutrient kinetic parameters: a comparison of methods *Mar Ecol Prog Ser* **52**, 301–312.
- Hauxwell CJ Furlong C and Valiela I (2001) Macroalgal canopies contribute to eelgrass (*Zostera marina*) decline in temperate estuarine ecosystems *Ecology* **82**, 1007–1022.
- Havens KE Hauxman J Tyler AC Thomas S McGlathery KJ Cebrian J Valiela I Steinman AD and Soon-Jin H (2001) Complex reactions between autotrophs in shallow marine and fresh water ecosystem implications for community responses to nutrient stress *Envi Poll* **113**, 95–107.
- Healey FP (1980) Slope of the Monod equation as an indicator of advantage in nutrient competition *Microb Ecol* **5**, 281–286.
- Hein M Pedersen MF and Sand-Jensen K (1995) Size-dependent nitrogen uptake in micro- and macro-algae *Mar Ecol Prog Ser* **118**, 247–253.
- Hernández I Peralta G Pérez-Lloréns JL Vergara JJ and Niell FX (1997) Biomass and dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones river estuary *J Phycol* **33**, 764–772.
- Hiraoka M Shimada S Ohno M and Serisawa Y (2003) Asexual life history by quadiflagellate swimmers of *Ulva spinulosa* (Ulvaes Ulvophyceae) *Phycological Research* **51**, 29–34.
- Jeffrey SW Humphrey GF (1975) New spectrophotometric equations for Determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algal and natural phytoplankton *Biochem. Physiol. Pflanzen* **167**, 191–4.
- Jones AB Dennison WC and Stewart GR (1996) Macroalgal responses to nitrogen source and availability: amino acid metabolic profiling as a bioindicator using *Gracilaria edulis* (Rhodophyta) *J Phycol* **32**, 757–66.
- Khotimchenko SV and Yakovleva (2004) Effect of solar irradiance on lipids of the green alga *Ulva fenestrata* Postel et Ruprecht *Botanica Marina* **47**, 395–401.
- Kinney EH and Roman CT (1998) Response of primary producers to nutrient enrichment in a shallow estuary *Marine Ecology Progress Series* **163**, 89–98.
- Lapointe BE (1981) The effects of light and nitrogen on growth, pigment content and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* v. *angustissima* (Gigartinales, Rhodophyta) *J Phycol* **17**, 90–5.
- Lapointe BE (1987) Phosphorus and nitrogen limited photosynthesis and growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) in the Florida Keys: an experimental field study *Mar Biol* **93**, 561–568.
- Lapointe BE and Duke CS (1984) Biochemical strategies for growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta) in relation to light intensity and nitrogen availability *J Phycol* **20**, 488–95.

- Lapointe BE and O'Connell J (1989) Nutrient-enhanced growth of *Cladophora prolifera* in Harrington Sound Bermuda Eutrophication of a confined phosphorus limited marine ecosystem Estuarine and Coastal Shelf Science **28**, 347-360.
- Lapointe BE and Ryther JH (1979) The effects of nitrogen and seawater flow rate on the growth and biochemical composition of *Gracilaria foliifera* var. *angustissima* in mass outdoor cultures Botanica mar **22**, 529-537.
- Lapointe BE Williams LD Goldman JC and Ryther JH (1976) The mass outdoor culture of macroscopic marine algae Aquaculture **8**, 9-21.
- Larned ST (1998) Nitrogen versus phosphorus-limited growth and sources of nutrients for coral reef macroalgae Mar Biol **132**, 409-21.
- Lartigue J Lartigue A Neill BL Hayden J Pulfer J and Cebrian J (2003) The impact of salinity fluctuation on net oxygen production and inorganic nitrogen uptake by *Ulva lactuca* (Chlorophyceae) Aquat Bot **75**, 339-350.
- Lavery PS and McComb AJ (1991) The nutritional eco physiology of *Chaetomorpha linum* and *Ulva rigida* in Peel Inlet Western Australia Bot Mar **34**, 251-260.
- Lee TM Chen MH (1998) Hyposaline effect on polyamine accumulation in *Ulva fasciata* (Ulvales, Chlorophyta) Bot Bull Acad Sin **39**, 197-174.
- Littler MM (1980) Morphological form and photosynthetic performance of marine macroalgae: tests of a functional form hypothesis Botanica mar **22**, 161-165.
- Lobban CS and Harrison PJ (1994) Seaweed ecology and physiology 2nd edition Cambridge University Press, Cambridge
- Lotze HK Schramm W and Schories (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stages: *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. Oecologia **119**, 46-54.
- Lünning K (1990) Seaweeds their Environment Biogeography and Ecophysiology, pp 527. Wiley-Interscience, New York
- Martinez B and Rico JM (2004) Inorganic nitrogen and phosphorous uptake kinetics in *Palmaria palmata* (Rhodophyta) Journal of Phycology **40**, 642-650.
- McGlathery KJ Pedersen MF and Borum J (1996) Changes in intracellular pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta) J Phycol **32**, 393-401.
- McGlathery KJ Krause-Jensen D Rysgaard S and Christensen PB (1997) Patterns of ammonium uptake within dense mats of the filamentous macroalga *Chaetomorpha linum* Aquat Bot **59**, 99-115.
- McGlathery KJ (2001) Macroalgal bloom contribute to the decline of seagrass in nutrient- enriched coastal waters J phycol **37**, 453-456.
- Mohsen AF Nasr AH and Metwalli AM (1973) Effect of different light intensities on growth reproduction amino acid synthesis fat and sugar contents in *Ulva fasciata*. Delile Hydrobiologia **43**, 125-135.
- Mohsen AF Khaleafa AF Hashem MA and Metwalli A (1974) Effect of different nitrogen sources on growth reproduction fat and sugar contents in *Ulva fasciata* Delile Bot Mar **17**, 218-222.

- Naldi M and Viaroli P (2002) Nitrate uptake and storage in the seaweed *Ulva rigida* C. Agardh in relation to nitrate availability and thallus nitrate content in a eutrophic coastal lagoon (Sacca di Goro Po River Delta Italy) *J Exp Mar Biol Ecol* **269**, 65–83.
- Naldi M and Wheeler PA (1999) Changes in nitrogen pools in *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta) under nitrate and ammonium enrichment *J Phycol* **35**, 70–77.
- Napolitano GE (1994) The relationship of lipids with light and chlorophyll measurements in freshwater algae and periphyton *J Phycol* **30**, 943–950.
- Nasr AH Bekheet IA and Ibrahim RK (1968) The effects of different nitrogen and carbon sources on amino acid synthesis in *Ulva Dictyota* and *Pterocladia* *Hydrobiologia* **31**, 7–16.
- Nelson TA Lee DJ and Smith BC (2003) Are "green tides" Harmful Algal Blooms? Toxic properties of water-soluble extracts from two bloom-forming macroalgae *Ulva fenestrata* and *Ulvaria obscura* (Ulvophyceae) *J Phycol* **39**, 874–879.
- Nixon SW (1981) Remineralization and nutrient cycling in coastal marine ecosystems In: Neilson BJ and Cronin LE eds, *Estuaries and Nutrients*, pp 111–138. Humana Press Clifton, New Jersey
- O'Brien MC and Wheeler PA (1987) Short-term uptake of nutrients by *Enteromorpha prolifera* (Chlorophyceae) *J Phycol* **23**, 547–556.
- Odum EP Kuenzler EJ and Blunt SMX (1958) Uptake of P<sub>32</sub> and primary productivity in marine benthic algae *Limnol Oceanogr* **3**, 340–345.
- Ozaki A Mizuta H and Yamamoto H (2001) Physiological differences between the nutrient uptakes of *Kjellmaniella crassifolia* and *Laminaria japonica* (Phaeophyceae) *Fish Sci* **67**, 415–419.
- Pedersen MF and Borum J (1997) Nutrient control of estuarine macroalgae: growth strategy and the balance between nitrogen requirements and uptake *Mar Ecol Prog Ser* **161**, 155–163.
- Binzer PT and Borum J (2004) Sulphide intrusion in eelgrass (*Zostera marina* L.) *Plant Cell Environ* **27**, 595–602.
- Phillips JC and Hurd CL (2004) Kinetics of nitrate ammonium and urea uptake by four intertidal seaweeds from New Zealand *Journal of Phycology* **40**, 534–545.
- Raven JA Geider RJ (1988) Temperature and algal growth *New Phytologist* **110**, 441–461.
- Rivers JS and Peckol P (1995) Summer decline of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) in a eutrophic embayment : interactive effects of temperature and nitrogen availability *J Phycol* **31**, 223–228.
- Rosenberg G Probyn TA and Mann KH (1984) Nutrient uptake and growth kinetics in brown seaweeds: response to continuous and single additions of ammonium *J Exp Mar Biol Ecol* **80**, 125–146.
- Rosenberg G Probyn TA and Mann KH (1984) Nutrient uptake and growth kinetics in brown seaweeds: response to continuous and single additions of ammonium *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **80**, 125–146.

- Rosenberg G and Ramus J (1982) Ecological growth strategies in the seaweeds *Gracilaria foliifera* (Rhodophyceae) and *Ulva* sp. (Chlorophyceae): soluble nitrogen and reserve carbohydrates Mar Biol **66**, 251–9.
- Rosenberg G and Ramus J (1984) Uptake of inorganic nitrogen and seaweed surface area: volume ratio Aquat Bot **19**, 65–72.
- Runcie AW Ritchie RJ and Larkum AWD (2003) Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca* Aquatic Botany **76**, 155–174.
- Runcie AW Ritchie RJ and Larkum AWD (2004) Uptake kinetics and assimilation of phosphorus by *Catenella nipae* and *Ulva lactuca* can be used to indicate ambient phosphate availability J App Phycol **16**, 181–194.
- Ryther JH Corwin N DeBusk TA and Williams LD (1981) Nitrogen uptake and storage by the red alga *Gracilaria tikvahiae* (McLachlan, 1979) Aquaculture **26**, 107–15.
- Smit AJ Robertson BL and Preez DR (1997) Influence of ammonium-N pulse concentrations and frequency tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis*. J Appl Phycol **8**, 473–81.
- Thomas TE Turpin DH and Harrison PJ (1987) Desiccation enhanced nitrogen uptake rates in intertidal seaweeds Mar Biol **94**, 293–298.
- Thybo-Christesen M Rasmussen MB and Blackburn TH (1993) Nutrient fluxes and growth of *Cladophora sericea* in a shallow Danish bay Mar Ecol Prog Ser **100**, 273–281.
- Tyler AC McGlathery KJ and Anderson IC (2001) Macroalgae mediation of dissolved organic nitrogen fluxes in a temperate coastal lagoon Estuar Coast Shelf Sci **53**, 155–168.
- Valiela I Foreman K LaMontagne M Hersh D Costa J Peckol P DeMeo-Andreson B D'Avanzo C Babione M Sham CH Brawley J and Lajtha K (1992) Couplings of watersheds and coastal waters sources and consequences of nutrient enrichment in Waquoit Bay Massachusetts Estuaries **15**, 443–457.
- Valiela I McClelland J Hauxwell J Behr PJ Hersh D and Foreman K (1997) Macroalgal blooms in shallow estuaries: Controls and ecophysiological and ecosystem consequences Limnol Oceanogr **42**, 1105–1118.
- Villares R and Carballeira A (2003) Seasonal variation in the concentrations of nutrients in two green macroalgae and nutrient levels in sediments in the Rías Baixas (NW Spain) Estuarine Coastal Shelf Sci **58**, 887–900.
- Villares R and Carballeira A (2004) Nutrient Limitation in Macroalgae (*Ulva* and *Enteromorpha*) from the Rías Baixas (NW Spain) Mar Ecol **19**, 225–243.
- Wallentinus I (1984) Comparisons of nutrient uptake rates for Baltic macroalgae with different thallus morphologies Mar Biol **80**, 215–225.
- Wheeler PA and Bjornsater BR (1992) Seasonal fluctuations in tissue nitrogen phosphorus and N:P for five macroalgal species common to the Pacific Northwest coast J Phycol **28**, 1–6.
- Zimmerman RC Smith RD and Alberte RS (1987) Is growth of eelgrass nitrogen limited A numerical simulation of the effects of light and nitrogen on the growth dynamics of *Zostera marina* Mar Ecol Prog Ser **41**, 167–176.

ภาคผนวก

## สรุป OUTPUTS ที่ได้รับจากการดำเนินงาน

ชื่อโครงการวิจัย การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ และการสืบพันธุ์ ตามฤดูกาล ของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides ในประเทศไทย , *Ulva reticulata* Forsskål (รหัสโครงการ BRT R\_349002)

ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2549 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2549

### 1. การตีพิมพ์บทความในวารสารวิชาการ

1.1 ตีพิมพ์เรียบร้อยแล้ว (published) จำนวน 1 เรื่อง ดังนี้

(ระบุชื่อผู้แต่ง (Authors), ชื่อเรื่อง (Title), ชื่อวารสารพร้อม volume และเลขหน้า)

Buapet P., Hiranpan R., Ritchie R.J. and Prathep A. 2008. Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* Forsskål from a tropical habitat. Science Asia. 34: 245-252

1.2 อยู่ระหว่างการตีพิมพ์ (in press) จำนวน 0 เรื่อง ดังนี้

(ระบุชื่อผู้แต่ง (Authors), ชื่อเรื่อง (Title), ชื่อวารสาร)

1.3 อยู่ระหว่างส่งต้นฉบับให้วารสารวิชาการ (submitted) จำนวน 0 เรื่อง ดังนี้

(ระบุชื่อผู้แต่ง (Authors), ชื่อเรื่อง (Title))

1.4 อยู่ในระหว่างการจัดทำต้นฉบับ (in manuscript) จำนวน 2 เรื่อง ดังนี้

(ระบุชื่อผู้แต่ง (Authors), ชื่อเรื่อง (Title))

- Buapet P., Hiranpan R., Ritchie R.J. and Prathep A. Inorganic nitrogen and phosphorus uptake kinetics of green-tides forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata*.
- Prathep A. and Buapet P. Seasonal fluctuations in biomass, chlorophyll concentration, reproduction and tissue nutrient content of green-tides forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata*

2. การตีพิมพ์ผลงานในรูปแบบ Proceedings/คู่มือ/หนังสือ หรืออื่นๆ (โปรดระบุ) จำนวน 0 เรื่อง  
ดังนี้

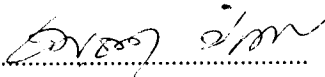
3. การนำเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์ จำนวน 2 เรื่อง ดังนี้

- Seasonal fluctuation in biomass, reproduction chlorophyll content and tissue nutrient content of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål, งานประชุมวิชาการโครงการ BRT ครั้งที่ 10 ณ โรงแรมกระบี่มารีไทม์ ปาร์ค แอนด์ สปารีสอร์ท จ.กระบี่, 8-11 ตุลาคม 2549
- Seasonal fluctuation in biomass, reproduction chlorophyll content and tissue nutrient content of green tides-forming macroalga of Thailand, *Ulva reticulata* Forsskål งานประชุมวิชาการโครงการ BRT ครั้งที่ 11 ณ โรงแรมนภลัย จ.อุดรธานี, 15 -18 ตุลาคม 2550

4. จำนวนนักศึกษาระดับปริญญาตรี โท เอก ในโครงการ จำนวน 1 คน ดังนี้

(ระบุชื่อนักศึกษา, ชื่อวิทยานิพนธ์, ระดับการศึกษา)

นางสาวพิมพ์ชนก บัวเพชร ระดับการศึกษา ปริญญาตรี

ลงนาม.....

ผู้รับทุน

วันที่.....



สรุปรายงานการเงิน

ชื่อโครงการวิจัย การเปลี่ยนแปลงมวลชีวภาพ ปริมาณคลอโรฟิลล์ สารอาหารในเนื้อเยื่อ การสืบพันธุ์ และজনপদศาสตร์ของการนำสารอาหารเข้าสู่เซลล์ ตามฤดูกาลของสาหร่ายทะเลที่สร้าง green tides

ในประเทศไทย , *Ulva reticulata* Forsskål

(รหัสโครงการ BRT R\_349002)

ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2551 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2551 (12 เดือน)

**เงินทุนที่ได้รับ**

งวดที่ 1	28,600 บาท
งวดที่ 2	28,600 บาท
งวดที่ 3.1	28,600 บาท

รวมทั้งสิ้น 85,800 บาท.....(1)

**รายจ่าย**

ยอดรวมค่าใช้จ่ายจากรายงานการเงินครั้งที่ 1 42,900 บาท  
ยอดรวมค่าใช้จ่ายจากรายงานการเงินครั้งที่ 2 40,700 บาท  
ยอดรวมค่าใช้จ่ายจากรายงานการเงินครั้งที่ 3 29,900 บาท

รวมทั้งสิ้น 113,500 บาท.....(2)

จำนวนเงินคงเหลือ -27,700 บาท

# Effect of nutrient inputs on growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* from a tropical habitat

Pimchanok Buapet<sup>a</sup>, Rattana Hiranpan<sup>b</sup>, Raymond James Ritchie<sup>c</sup> and Anchana Prathep<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> Seaweed and Seagrass Research Unit, Centre for Biodiversity of Peninsular Thailand, Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkhla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

<sup>b</sup> Plankton Research Unit, Centre for Biodiversity of Peninsular Thailand, Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkhla University, Hat Yai, Songkhla 90112, Thailand.

<sup>c</sup> School of Biological Sciences, University of Sydney, NSW 2006, Australia.

\* Corresponding author, E-mail: anchana.p@psu.ac.th, a\_prathep@hotmail.com

Received 24 Sep 2007

Accepted 11 Feb 2008

**ABSTRACT:** “Green tides” caused by overgrowth of *Ulva* species are an increasing problem in tropical areas. The effect of dissolved nutrients on uptake rates, growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata* was examined in laboratory experiments lasting up to 7 d. Sterile seawater was enriched with nitrate, ammonium, phosphate, ammonium + phosphate and nitrate + phosphate. *U. reticulata* expressed luxury uptake of both nitrogen (N) and phosphorus (P). The maximum N-uptake rate was found when ammonium was added alone. The maximum relative growth rate was about 15.1% per day but this was in the nitrate-fed algae not the ammonia-fed algae. N-enrichment resulted in an increase in chlorophyll concentration on day 4 and a decrease on day 7, probably as a result of cell division. P-enrichment had no significant effect on chlorophyll concentration. Treatments with added N, P or N+P showed significant increase in tissue N and P content on day 4. On day 7, N content in macroalgal tissue decreased while P content continued to increase. *U. reticulata* responded most strongly to added N; responses to P were much lower than for added N and there was little or no evidence for an additive effect of N+P. The N:P ratio of *U. reticulata* of control material suggested that N was the most limiting nutrient at the collection site (Paklok, Phuket, Thailand).

**KEYWORDS:** *Ulva*, nutrient uptake, eutrophication, luxury accumulation, green tides

## INTRODUCTION

Green tides are vast accumulations of green macroalgal biomass often found in estuaries and coastal water of areas undergoing eutrophication<sup>1,2</sup>. This phenomenon is becoming a major concern throughout the world (western Baltic Sea, Germany<sup>3</sup>; Finnish Baltic sea coast<sup>4</sup>; Washington State, USA<sup>5</sup>; Pacific coast of central and southern of Japan<sup>6</sup>; Pacific coast of USA<sup>7</sup>). In the summer of 2004, green tides, which were dominated by *Ulva reticulata* Forsskål, occurred in coastal waters of Patong beach, Phuket, a famous tourist beach in Thailand. This phenomenon had a strong economic impact. It occurred for almost two weeks; tourists were put off by the smelly, decomposing and free-floating macroalgae, which spoiled the white sand beach and made the water look unsafe to swim in. This event was assumed to be the result of waste-water discharge from human activities. *Ulva* spp. have been regularly forming green tides in several other places in Thailand e.g. Pattani Bay and Songkhla Lake, and Paklok, Phuket.

However, little is known about the causes, extent or history of green algal blooms in Tropical SE Asia.

The excessive growth of these macroalgae not only creates an undesirable nuisance and lowers the recreation amenity of the beach but also causes adverse ecological effects including a decline of sea-grass beds due to reduction of light penetration, gas, and nutrient exchange<sup>8,9,10</sup>. It also has a negative impact on fish and invertebrates because dissolved oxygen is consumed at night under thick algal mats and when the macroalgae decompose.

Excess nutrient load is supposed to be one of the major factors responsible for the occurrence of “green tides.” Nitrogen and phosphorus are the two most common nutrients limiting macroalgal growth<sup>2, 11,12</sup>. Nitrogen has been described as the principal limiting nutrient<sup>2,13,14,15</sup> but in some places phosphorus supply may limit macroalgal production<sup>16,17,18</sup>. In order to find a proper method of controlling the blooms, the most limiting nutrient must be established.

Tissue nutrient composition can be a good index for evaluating macroalgal nutrient status but the choice

of the species to be used is important<sup>13</sup>. In the case of plants that are members of a resident or climax community (for example *Catenella nipae*<sup>19,20</sup>), the levels of nutrients in tissue result from the long-term integration and accumulation of nutrients from the surrounding water over periods of weeks or months. Analysis of an opportunistic species like various *Ulva* species might only give information on the nutrient status of the waters in which they are growing over only the previous few days<sup>19,20</sup>. Water-column analysis would only detect the instantaneous nutrient concentrations at the time of sampling; intermittent surges of nutrients might go undetected. Alternatively, it has recently been shown that analyses of pigment content of long-lived resident species of macroalgae (*Gracilaria edulis*) can provide an accurate representation of the longer term nutrient status in a water body<sup>21</sup>.

*Ulva* spp. are common fast-growing opportunistic macroalgae of the littoral zone and are generally known as one of the genera forming green tides. They are opportunistic in both ecology and physiology. *Ulva* of various species are usually the first colonizers on open substrata, and their cosmopolitan presence is attributed to their tolerance of a wide range of environments and opportunistic life strategy<sup>1,22,23</sup>.

In the present study, we investigated nutrient uptake rates, growth, tissue nutrients and chlorophyll concentration of *Ulva reticulata* from Paklok, Phuket. We measured its responses to known amounts of added nutrients to determine which was the most limiting nutrient. This would help us to understand the blooming phenomenon and would be useful for promoting rational environmental wastewater management and planning in tourist areas.

## MATERIALS AND METHODS

*Ulva reticulata* thalli were collected from the intertidal zone of a sheltered bay at Paklok, Phuket, Thailand (8° 01' 03" N, 98° 24' 38" E). Paklok is situated on the east of the island of Phuket and is surrounded by mangrove areas and seagrass beds. There are human residences, prawn farms, and other farmland nearby which may cause high nutrient loads to support significant growth of *U. reticulata*. Moreover, the soft-bottom substrate could also provide another source of nutrients for macroalgae and would act as a store for nutrients between surges of nutrients due to flooding and storms.

Individual plants were rinsed in seawater in order to remove small epiphytes and invertebrates. For consistent results, it is important to clean the plants properly<sup>19,20</sup>. They were kept for 3 days before

starting the experiment. The background level of nutrients in the nutrient-depleted seawater was measured. Water was circulated by bubbling with compressed air under controlled temperature (25 °C) and light; daylight fluorescent lamps which provided approximately 300 μmol photons m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> of photosynthetically active radiation (PAR).

The added nutrients were KNO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub>Cl, and Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. The experiments consisted of six treatments: ~200 μMNO<sub>3</sub><sup>-</sup>, ~60 μMNH<sub>4</sub><sup>+</sup>, ~14 μMHPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> and the last treatment was maintained at the initial nutrient status to act as a low nutrient control (LNC). Seawater contains about 2 mM total inorganic carbon as CO<sub>2</sub>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. This carbonate system acts as an efficient buffering system at the normal pH of seawater (pH 8.1). The amounts of phosphate, nitrate and ammonia added in the present study would not have altered the pH of seawater in equilibrium with the air.

The concentrations used were 30 times higher than the background concentration measured *in situ*. Nutrient-rich seawater (with NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) but without added algae was used as the control blank. During the experiments, approximately 10 g fresh weight (FW) of algae were placed in aerated 250 ml Erlenmeyer flasks with 200 ml of incubation medium under the same controlled environment. The tissue to media volume ratio was large and so metabolism of the added phosphate, nitrate and ammonia would have had little effect on the pH of the seawater. Water samples were taken at 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 or 72 h, a total of 9 flasks making up one experimental nutrient treatment. All nutrient treatments were replicated 3 times. Multiple sampling from flasks at different times was avoided because it would alter the weight-to-volume ratio during incubation. There is also the statistical problem that multiple samples taken from a single flask are not truly statistically independent observations. Uptake rates of inorganic N and P were determined by measuring the disappearance of inorganic nutrients over time<sup>24</sup>. NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> were measured using cadmium reduction, the phenate method, and the ascorbic acid method, respectively<sup>25</sup>. Uptake, *U*, was determined using

$$U = \frac{(C_i - C_f)V}{tw}$$

where *C<sub>i</sub>* and *C<sub>f</sub>* are the initial and final nutrient concentrations, respectively, *t* is the incubation time interval, and *w* is the plant dry weight (DW), and *V* is the volume of seawater used for the incubation (200 ml).

Tissue samples were taken after 4 day and 7 day incubations. Dry weight, tissue nitrogen, and phosphorus and total chlorophyll concentration of the algae with 3 replicates from each treatment were analysed. Tissue phosphate was extracted using hot nitric/perchloric acid digestion<sup>25</sup> and assayed using atomic absorption spectrophotometric methods. Tissue nitrogen was extracted using standard preparatory methods for Kjeldahl analysis<sup>26</sup>. Chlorophyll calculations were based on the Jeffrey and Humphrey equations<sup>27</sup> and calculated as mg total chlorophyll. The relative growth rate ( $\mu$ ) of *U. reticulata* was calculated from changes in FW biomass for each experimental period using

$$\mu = \frac{1}{t} \ln \frac{B_t}{B_0}$$

where  $B_0$  and  $B_t$  are the initial and final FW biomasses

**Statistical analysis**

One-way ANOVA with a significance level of 95% was used to test the effect of the enrichment of distinct forms of nutrients on growth rate, nutrients uptake, tissue nutrients, and chlorophyll concentration of *U. reticulata* after 4 and 7 days<sup>28</sup>. Two-way ANOVA was used to test differences among uptake rates of

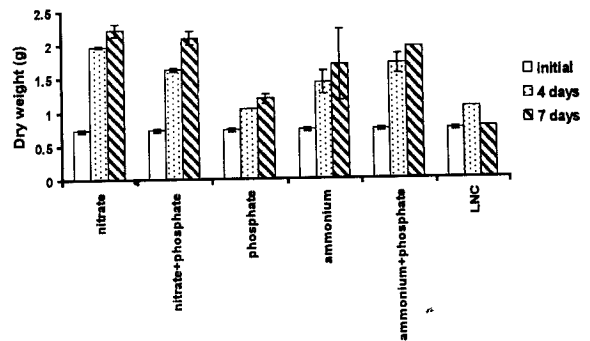


Fig. 2 Average biomass of *Ulva reticulata* in each treatment at 0, 4, 7 days of incubation.

N as  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$  alone or in combination with P. Significant differences between pairs of means were identified using the Tukey test<sup>28</sup>.

**RESULTS**

**Nutrient uptake rates**

The uptake of N and P by *U. reticulata* treated with added  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ , and  $\text{HPO}_4^{2-}$  were significantly higher than that with the LNC treatment (Fig. 1). There was little evidence for additive effects of N+P. On the contrary, uptake of each nutrient ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) was slightly higher when it was added alone than in combination with others ( $p < 0.001$ ).

Water column N decreased significantly over time. Rapid uptake was observed during the experiment in the first 4 to 24 h when  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  were added as the nitrogen source. The maximum uptake rate was found in the case of the  $\text{NH}_4^+$  treatment ( $V_{\text{max}} = 9.39 \pm 1.26 \mu\text{mol g}^{-1} \text{DW h}^{-1}$  1–2 h of incubation). After 24 h, approximately 96% of the added  $\text{NO}_3^-$  and approximately 90% of the added  $\text{NH}_4^+$  was taken up. At the end of the experiment N was depleted in both  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NH}_4^+$  treatments (Figs. 1A, 1B).

Trends of phosphate concentration were different from the changes in nitrate and ammonium concentrations. There was no obvious rapid uptake of P. Over a 3-day period, dissolved phosphate concentration decreased continuously but had still not completely disappeared at the end of the experiment (approximately  $2.3 \mu\text{M}$  was left in the water column) (Fig. 1C).

**Biomass**

Algal biomass significantly increased after 4 days of incubation in all treatments with added nutrients ( $p < 0.001$ ) and continued to increase until the

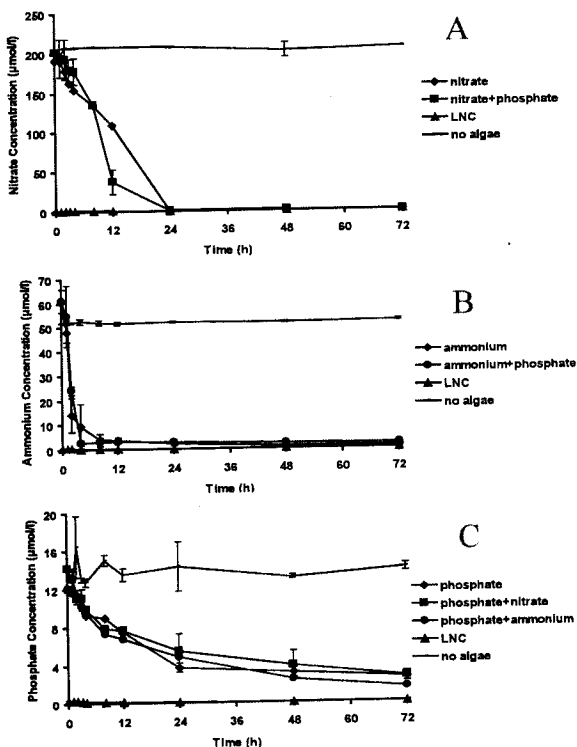


Fig. 1 Nutrients concentration during 72 h of treatment: A: nitrate; B: ammonium; C: phosphate.

of the experiment (Fig. 2). LNC treatment showed little or no growth. This indicated that the alga had little or no luxury accumulations of either N or P that the plant could draw upon when brought into the laboratory. Final biomass compared to initial biomass ranged from 100.3% to 288.2% in different experiments and treatments. In the example shown (Fig. 2), the lowest value was observed in the LNC treatment and the highest value was observed when  $\text{NO}_3^-$  was added alone ( $\mu = 0.151 \pm 0.006 \text{ day}^{-1}$ ). This relative growth rate of 15.1% per day is equivalent to a doubling time of only  $4.6 \pm 0.2$  days.

**Total chlorophyll concentration**

Chlorophyll concentration of *U. reticulata*, in all treatments where N was added, significantly increased after 4 days of incubation ( $p < 0.001$ ) and decreased after 7 days of incubation ( $p < 0.001$ ) (Fig. 3). Maximum chlorophyll concentration was found on the fourth day of incubation in the  $\text{NO}_3^-$  treatment ( $0.62 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ ), while the initial chlorophyll was  $0.13 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ . This significant greening of the plants is good evidence that they were N-limited. Chlorophyll content responded more strongly to added  $\text{NO}_3^-$  than  $\text{NH}_4^+$ . Phosphate had little effect either by itself or in combination with either  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$ .

**Tissue nutrient content**

In N added treatments (Fig. 4), tissue N (Kjeldahl N) of *U. reticulata* significantly increased at 4 days ( $p < 0.001$ ) of incubation and was followed by a decrease after 7 days of incubation ( $p < 0.005$ ). Maximum %N was found in the  $\text{NO}_3^-$  treatment at 4 days of treatment ( $\%N = 0.47 \pm 0.01$ ). These results are consistent with excess  $\text{NO}_3^-$  being easily stored but there is a more limited capacity to store  $\text{NH}_4^+$ .

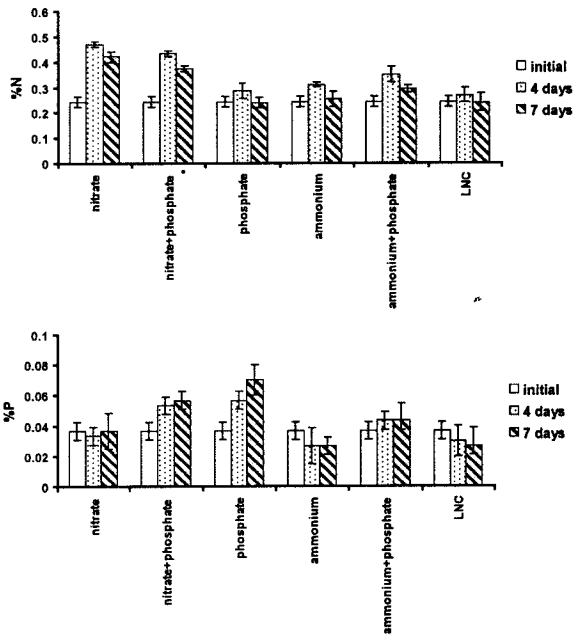


Fig. 4 Kjeldahl nitrogen and phosphorus content as percentage of fresh weight of *Ulva reticulata* at 0, 4, 7 days of incubation.

Tissue P of *U. reticulata* showed significant increase after 4 days of incubation only in the treatments where  $\text{HPO}_4^{2-}$  was added alone and where  $\text{NO}_3^-$  was added in combination with  $\text{HPO}_4^{2-}$  ( $p < 0.005$ ). There was no difference between tissue P at 4 days and 7 days. Maximum %P was found in the  $\text{HPO}_4^{2-}$  treatment after 7 days ( $\%P = 0.07 \pm 0.01$ ) (Fig. 5).

**DISCUSSION**

**Nutrient uptake**

*Ulva* took up large amounts of nutrients from the water column when offered nutrients in the laboratory. Although *Ulva* depleted  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NH}_4^+$  in less than 24 hours, positive growth responses to these nutrients persisted over the 7-day duration of our experiment and may have even lasted longer than this. This result supports conclusions drawn by Pedersen and Borum<sup>29</sup> and Runcie *et al*<sup>19,20</sup> that *Ulva* species are capable of luxury uptake of nutrients, particularly N. The maximum N-uptake rate was found in the  $\text{NH}_4^+$  treatment. Similar result was found in other macroalgae (*Pilayella littoralis* and *Enteromorpha intestinalis*<sup>30</sup>; *Ulvalactuca* and *Catenellanipae*<sup>19,20</sup>; *Ulva fenestrata* and *Gracilaria pacifica*<sup>31</sup>; *Chaetomorpha linum*<sup>32</sup>).  $\text{NH}_4^+$  is usually considered to be the preferred form of nitrogen because no energetically costly enzymatic reduction reactions are required for  $\text{NH}_4^+$  to be available for assimilation<sup>33</sup>. Although  $\text{NO}_3^-$  is usually the more

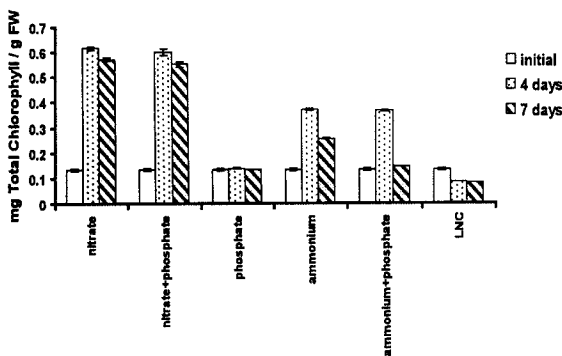


Fig. 3 Variation in total chlorophyll in *Ulva reticulata* in each treatment at 0, 4, 7 days of incubation.

common form of nitrogen in nearshore waters, it is more metabolically costly for macroalgae to use  $\text{NO}_3^-$ . However,  $\text{NO}_3^-$  can be stored in large amounts in the vacuoles of *Ulva lactuca*<sup>19</sup> whereas the capacity of algae to store large amounts of ammonia in the vacuoles is more limited. To confirm this notion it would be necessary to set up experiments where algae were fed repeated doses of ammonia, nitrate and combinations of N-sources. It would be very interesting and environmentally relevant to determine how long such growth surges continue after a surge in nutrient supply and whether the type of N-source provided and whether or not N and P provided simultaneously has an effect on the time course of growth surges.

In our experiments on *U. reticulata*, we observed indications of surge uptake of  $\text{NH}_4^+$  during the first four hours. During the later time intervals (12–72 h), we found that the tissue uptake rate decreased. The uptake rate of  $\text{NH}_4^+$  may have been controlled by diminishing nutrient supplies in the medium. Pedersen separated uptake of  $\text{NH}_4^+$  by *Ulva lactuca* into three phases<sup>34</sup>. The first phase, surge uptake, is the transiently enhanced nutrient uptake and lasts for a few hours. The second phase, internally controlled uptake, is characterized by a relatively constant uptake rate occurring at high substrate concentration which may be controlled by the nutritional status of the cell. The final phase, externally controlled uptake, occurs at decreasing substrate concentrations and is regulated by the rate of transport of nutrients across the alga surface. Unfortunately, not enough data was available to estimate the  $K_m$  for uptake of  $\text{NH}_4^+$  from the depletion experiments shown in Fig. 1, but Runcie *et al.*<sup>19</sup> give estimates of the  $K_m$  for  $\text{NH}_4^+$  of about 100  $\mu\text{M}$  and 30  $\mu\text{M}$  for  $\text{NO}_3^-$ .

Large amounts of  $\text{NO}_3^-$  were taken up by *U. reticulata*. We found that *Ulva* grew fastest on nitrate even though ammonia was taken up by *U. reticulata* faster than nitrate. Nitrate was almost completely depleted in 24 h indicating the large  $\text{NO}_3^-$  storage capacity of *U. reticulata*.  $\text{NO}_3^-$  can represent a significant storage pool in algae<sup>31,35</sup>. In *Chaetomorpha linum*, N is stored as simple organic compounds if ammonia is the N-source but as  $\text{NO}_3^-$  if N is provided as  $\text{NO}_3^-$ . Both storage forms of N provide a temporary mechanism to buffer against the asynchrony of N supply and demand<sup>25</sup>. However, the N uptake rate of *U. reticulata* observed in our research was much lower than the N uptake of other *Ulva* species<sup>19,36,37,38,39</sup>. Some of these differences can be attributed to possible differences in the N-status of the material used in different studies. Other differences can be attributed to different

experimental methods, particularly the times over which uptake measurements were made. For example, Runcie *et al.*<sup>19</sup> measured rates of uptake of up to 400  $\mu\text{mol g}^{-1} \text{DW h}^{-1}$  but such high rates were sustained for only the first few minutes of an incubation. Thus our relatively slow rates might indicate a relatively high N-status of our experimental material and the nutrient concentrations we provided for the algae, which were 30 times higher than background nutrient measured *in situ* (6.5  $\mu\text{MNO}_3^-$ , 2.03  $\mu\text{MNH}_4^+$ , 0.46  $\mu\text{MHPO}_4^{2-}$ ), might have quickly satisfied the demands of the algae for extra N. Several researchers have shown that nutrient uptake by macroalgae was regulated by substrate nutrient concentration<sup>19,20,29,37–39</sup>.

*U. reticulata* did not demonstrate the same high and sustained affinity for P that it did for N. Fig. 5 shows that the baseline phosphate content of *U. reticulata* was already high. However, the LNC material showed little or no growth (Fig. 2). Added P alone resulted in some growth but large amounts of growth required extra N whether or not P was also added. Considerable amounts of  $\text{HPO}_4^{2-}$  remained in the water column at the end of the experiment relative to background  $\text{HPO}_4^{2-}$  concentrations. The highest rate of uptake of P was found when P was added alone. Phosphate supplied with nitrate or ammonium was taken up much more slowly in the first four hours and about 20% remained unassimilated even after 3 days (Fig. 5). Thus, this study suggested that N is the most limiting nutrient to *U. reticulata*. Considering the difference between treatments fertilized with two forms of N, with or without added P, we found that N uptake rate was slightly higher when it was added alone than in combination with P. Uptake of P was highest when offered alone rather than with an added source of N. Phosphate (> 1  $\mu\text{M}$ ) has been shown to inhibit N uptake in a marine diatom as reported by Terry<sup>40</sup>. On the other hand, high concentrations of N (>100  $\mu\text{M}$ ) were thought to inhibit  $\text{HPO}_4^{2-}$  uptake<sup>41</sup>.

#### Effect of nutrient supply on growth, chlorophyll, and tissue nutrient concentration of *Ulva reticulata*

Both P and N enrichment resulted in an increase of biomass after 4 days of incubation and the biomass continued increasing over the 7 days of the experiments. The maximum growth rate was found when  $\text{NO}_3^-$  was added alone, demonstrating the large  $\text{NO}_3^-$  uptake capacity in *U. reticulata*. This could give it an advantage by being able to grow well on stored N for several days without additional nutrient supplies. *U. reticulata* can take advantage of temporary surges of nutrients. Some studies have shown that excess

N is stored primarily in pools of inorganic N ( $\text{NO}_3^-$  and to a lesser extent  $\text{NH}_4^+$ ) and simple organic compounds<sup>19</sup>. We have shown that N supplied as  $\text{NO}_3^-$  can be stored by *U. reticulata* as  $\text{NO}_3^-$  but it is less capable of storing N supplied as  $\text{NH}_4^+$ . The algal growth rate was significantly higher when N was added, indicating that N is the most limiting nutrient to *U. reticulata*. Chlorophyll-bound N typically changes in response to macroalgal N status<sup>42</sup>. It is largely considered as a metabolically active pool, but because of its small size is not considered to be significant for N storage<sup>35</sup>. Nevertheless, chlorophyll content can be used as a useful index of conversion of N sources into organic N because chlorophyll is so easily assayed.

As noted earlier, photosynthetic pigment content is sensitive to the N status of the alga. N-enrichment was followed by an increase in chlorophyll content 4 days after treatment and chlorophyll concentration decreased at day 7 when the water column N was depleted probably due to growth and a lack of sufficient ambient N for continued synthesis of new chlorophyll. This effect is probably due to cell division because the doubling time for *U. reticulata* under favorable conditions is about 4.6 days. At day 4 the cells had large amounts of chlorophyll but by day 7 the cells had largely divided and so the amount of chlorophyll per cell had dropped. The maximum chlorophyll content was found on day 4 when  $\text{NO}_3^-$  was added alone ( $0.62 \text{ mg g}^{-1} \text{ FW}$ ). This could be a result of the larger molar amount of N added as  $\text{NO}_3^-$  than as  $\text{NH}_4^+$  in the experiment in this study. A tissue N:P ratio greater than 12–24 is indicative of P limitation, whereas a ratio less than 8–16 is indicative of N limitation for *Ulva fenestrata*<sup>13</sup>. Our results showed that *U. reticulata* was limited by N in all treatments and also limited by P in  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$  treatments. The initial N:P ratio of *U. reticulata* in this experiment was  $6.69 \pm 0.57$ ; this should have been a N-limited experimental condition.

In conclusion, *Ulva reticulata* can take up large amount of nutrients, particularly N. Added N results in rapid increase of chlorophyll concentration, tissue nutrient concentration, and biomass. These give *U. reticulata* a selective advantage to form dense blooms in only a few days. For example, a relative growth rate of about 15.1% per day is equivalent to a doubling time of only about 4.6 days. Since our results indicate that the most limiting nutrient to *U. reticulata* is N, top priority should be given to limiting N loads to avoid blooms of *U. reticulata*. We suggest that N concentration in the sea and point sources or in the receiving water should be measured to provide evidence for the most important

contributors of N in order to recommend some appropriate action. However, *Ulva reticulata* is able to take advantage of surges of nutrients from storms, sewage overflows, draining of prawn ponds, etc., which could easily be missed in routine sampling schedules. *Ulva reticulata* would be useful for biomonitoring provided that only short incubation periods consistent with its rapid growth cycle are used<sup>7,19,43</sup>.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to express our gratitude to the Seaweed & Seagrass Research Unit team, Prince of Songkla University for help with the field collections. This work was partially funded by the Junior Science Talent Project 2005, the Thai Government Scholarship under the Development and Promotion of Science and Technology Talent Project, and the Biodiversity Research and Training Program (BRT R\_349002) (PB).

## REFERENCES

- Hernández I, Peralta G, Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, Niell FX (1997) Biomass and dynamics of growth of *Ulva* species in Palmones river estuary. *J. Phycol.* **33**, 764–72
- Valiela I, McClelland J, Hauxwell J, Behr PJ, Hersh D, Foreman K (1997) Macroalgal blooms in shallow estuaries: control and ecophysiological and ecosystem consequences. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 1105–11.
- Lotze HK, Schramm W, Schories D (1999) Control of macroalgal blooms at early developmental stages: *Pilayella littoralis* versus *Enteromorpha* spp. *Oecologia* **119**, 46–54.
- Bäck S, Lehvo A, Blomster J (2000) Mass occurrence of unattached *Enteromorpha intestinalis* on the Finnish Baltic Sea coast. *Ann. Bot. Fennici.* **37**, 155–61.
- Nelson TA, Lee DJ, Smith BC (2003) Are “green tides” harmful algal blooms? Toxic properties of water-soluble extracts from two bloom-forming macroalgae, *Ulva fenestrata* and *Ulvaria obscura* (Ulvophyceae). *J. Phycol.* **39**, 874–9.
- Hiraoka M, Shimada S, Ohno M, Serisawa Y (2003). Asexual life history by quadriflagellate swimmers of *Ulva spinulosa* (Ulvales, Ulvophyceae). *Phycol. Res.* **51**, 29–34.
- Fong P, Boyer KE, Zedler JB (1998) Developing an indicator of nutrient enrichment in coastal estuaries. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **231**, 63–79.
- Havens KE, Hauxman J, Tyler AC, Thomas S,

- McGlathery KJ, Cebrian J, Valiela I (2001) Complex reactions between autotrophs in shallow marine and fresh water ecosystems: implications for community responses to nutrient stress. *Environ. Pollut.* **113**, 95–107.
9. Hauxwell J, Cebrián J, Furlong C, Valiela I (2001) Macroalgal canopies contribute to eel grass (*Zostera marina*) decline in temperate estuarine ecosystems. *Ecology* **82**, 1007–22.
  10. McGlathery KJ (2001) Macroalgal bloom contribute to the decline of seagrass in nutrient-enriched coastal waters. *J. Phycol.* **37**, 453–6.
  11. Hanisak MD (1979) Nitrogen limitation of *Codium fragile* spp. *Tomentosoides* as determined by tissue analysis. *Mar. Biol.* **50**, 333–7.
  12. Duarte CM (1995) Submerge aquatic vegetation in relation to different nutrient regimes. *Ophelia* **41**, 87–112.
  13. Wheeler PA, Björnsäter BR (1992) Seasonal fluctuations in tissue nitrogen, phosphorus, and N:P for five macroalgal species common to the Pacific Northwest coast. *J. Phycol.* **28**, 1–6.
  14. Larned ST (1998) Nitrogen versus phosphorus-limited growth and sources of nutrients for coral reef macroalgae. *Mar. Biol.* **132**, 409–21.
  15. Phillips JC, Hurd CL (2004) Kinetics of nitrate, ammonium, and urea uptake by four intertidal seaweeds from New Zealand. *J. Phycol.* **40**, 534–45.
  16. Lapointe BE (1997) Nutrient thresholds for bottom-up control of macroalgal blooms on coral reefs in Jamaica and southeast Florida. *Limnol. Oceanogr.* **42**, 1119–31.
  17. Villares R, Carballeir A (2004) Nutrient limitation in Macroalgae (*Ulva* and *Enteromorpha*) from the Rias Baixas (NW Spain). *Mar. Ecol.* **19**, 225–43.
  18. De Casabianca ML, Bathelemy N, Serrano O, Sfriso A (2002) Growth rate of *Ulva rigida* in different Mediterranean eutrophicated sites. *Bioresour. Technol.* **82**, 27–31.
  19. Runcie JW, Ritchie RJ, Larkum AWD (2003) Uptake kinetics and assimilation of inorganic nitrogen by *Catenella nipae* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *Aquat. Bot.* **76**, 155–74.
  20. Runcie JW, Ritchie RJ, Larkum AWD (2004) Uptake kinetics, assimilation and compartmentation of phosphorus by *Catenella nipae* (Rhodophyta) and *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *J. Appl. Phycol.* **16**, 181–94.
  21. Jones AB (1994) Influence of nitrogen sources and availability on amino acids, pigments and tissue nitrogen of *Gracilaria edulis* (Rhodophyta). PhD. thesis, University of Queensland.
  22. Ménesguen A, Cugier P (2006) A new numerical technique for tracking chemical species in a multisource, coastal ecosystem applied to nitrogen causing *Ulva* blooms in the Bay of Brest (France). *Limnol. Oceanogr.* **51**, 591–601.
  23. Mayakun J, Prathep A (2005) Seasonal variations in diversity and abundance of macroalgae at Samui Island, Surat Thani province, Thailand. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **27**, 653–63.
  24. Harlin MM, Wheeler PA (1985) Nutrient uptake. In: Ecological Field Methods: Macroalgae. Handbook Of Phycological Methods, Vol. IV (Littler, M.M. and Littler, D., Eds), pp 493–508, Cambridge University Press, New York.
  25. APHA (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater, 20th edn, pp 4–103, American Public Health Association (APHA), Washington.
  26. Baker WH, Thompson TL (1992) Determination of total nitrogen in plant samples by Kjeldahl. In: Plant analysis reference procedures for the southern region of United States (Plank, C.O., Ed), pp 13–16. The University of Georgia, Athens, GA.
  27. Jeffrey SW, Humphrey GF (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algal and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* **167**, 191–4.
  28. Cambell RC (1989) The normal variable in experiments and surveys. In: Statistics for biologist, 3rd edn, pp 199–315, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
  29. Pedersen MF, Borum J (1996) Nutrient control of algal growth in estuarine waters nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **142**, 261–72.
  30. Lotze HK, Schramm W (2000) Ecophysiological traits explain species dominance patterns in macroalgal blooms. *J. Phycol.* **36**, 287–95.
  31. Naldi M, Wheeler PA (2002) <sup>15</sup>N measurements of ammonium and nitrate uptake by *Ulva fenestrata* (Chlorophyta) and *Gracilaria pacifica* (Rhodophyta): comparison of net nutrient disappearance, release of ammonium and nitrate, and <sup>15</sup>N accumulation in algal tissue. *J. Phycol.* **38**, 135–44.
  32. Menéndez M, Herrera J, Comín FA (2002) Effect



- of nitrogen and phosphorus supply on growth, chlorophyll content and tissue composition of the macroalga *Chaetomorpha linum* (OF Müll.) Kütz in a Mediterranean coastal lagoon. *Sci. Mar.* **66**, 355–64.
33. Lobban CS, Harrison PJ (1994) Nutrient uptake kinetics. In: Seaweed ecology and physiology, pp 172–9, Cambridge Univ. Press, Cambridge.
  34. Pedersen MF (1994) Transient ammonium uptake in the macroalga *Ulva lactuca* (Chlorophyta) nature regulation, and the consequences for choice of measuring technique. *J. Phycol.* **30**, 980–6.
  35. McGlathery KJ, Pedersen MF, Borum J (1996) Changes in intracellular nitrogen pools and feedback controls on nitrogen uptake in *Chaetomorpha linum* (Chlorophyta). *J. Phycol.* **32**, 393–401.
  36. Björnsäter BR, Wheeler PA (1990) Effect of nitrogen and phosphorus supply on growth and tissue composition of *Ulva fenestrata* and *Enteromorpha intestinalis* (Ulvales, Chlorophyta). *J. Phycol.* **26**, 603–11.
  37. Taylor MW, Rees TAV (1999) Kinetics of ammonium assimilation in two seaweeds, *Enteromorpha* spp. (Chlorophyceae) and *Osmundaria colensoi* (Rhodophyceae). *J. Phycol.* **35**, 740–6.
  38. Martínez B, Rico JM (2004) Inorganic nitrogen and phosphorus uptake kinetics in *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *J. Phycol.* **40**, 642–50.
  39. Pedersen A, Kraemer G, Yarish C (2004) The effects of temperature and nutrient concentrations on nitrate and phosphate uptake in different species of Porphyra from Long Island Sound (USA). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **312**, 235–52.
  40. Terry KL (1982) Nitrate and phosphate uptake interactions in a marine Prymnesiophyte. *J. Phycol.* **18**, 79–86.
  41. Lundberg P, Weich RG, Jensen P, Vogel HJ (1989) Phosphorus-31 and nitrogen-14 NMR studies of the uptake of phosphorus and nitrogen compounds in the marine macroalgae *Ulva lactuca*. *Plant Physiol.* **89**, 1380–7.
  42. Bird KT, Habig C, Debusk T (1982) Nitrogen allocation and storage patterns in *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyta). *J. Phycol.* **18**, 344–8.
  43. Campbell SJ (1999) Uptake of ammonium by four species of macroalgae in Port Phillip Bay, Victoria, Australia. *Mar. Freshwater Res.* **50**, 515–22.