



รายงานการวิจัย

การเพิ่มศักยภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล
สู่เชิงพาณิชย์ด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ

**The productivity improvement of aquatic plants, sea grasses and
seaweeds for commercial scale via biotechnology**

โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก

โครงการวิจัยที่ 2 การพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล

คณะผู้วิจัย:

ดร. ศาสลักษณ์ พรรณศิริ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดร. กาญจนรี พงษ์ณวิ สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนา
ประมงน้ำจืด กรมประมง

รศ. ชัยรี แก้วสุรลิขิต ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นายรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและ
พัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง

ดร. จันทนา ไพบูรณ์ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นายสหภาพ ดอกแก้ว ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำ
ประดับ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ปี พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ประจำปีงบประมาณ 2555

การเพิ่มศักยภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล ด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ
**The Productivity Improvement of Aquatic Plants, Sea Grasses and Seaweeds for Commercial Scale
 via Biotechnology**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปี 2555 จำนวนเงิน 1,495,000 บาท
 ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ สิงหาคม 2555 ถึง กรกฎาคม 2556

คณะผู้วิจัย

ศาสตราจารย์ ดร.พรณศิริ¹ กาญจนรี พงษ์นวิ² ชัยรี แก้วสุริยจิต^{3,4} รัฐภัทร ประดิษฐ์สรรพ⁵ จันทนา ไพรบูรณ์^{3,4}
 สหภาพ ดอกแก้ว⁵

¹ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
 โทรศัพท์ 0 2942 8740 ต่อ 306

² สถาบันวิจัยสัณฐานสวงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพฯ 10900
 โทรศัพท์ 0 2558 0180

³ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0 2942 8701

⁴ หน่วยปฏิบัติการแปลงกักตุนและพืชน้ำประยุคต์ หน่วยวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพและสิ่งแวดล้อมทางน้ำ
 สถาบันวิจัยขั้นสูงทางอาหารและการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

⁵ ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีปลาสวงามและพรรณไม้น้ำประดับ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ
 10900 โทรศัพท์ 0 2942 8365 ต่อ 16

บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเลเชิงปริมาณโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่คุณภาพ จะเป็นการตอบสนองความต้องการของตลาดในประเทศลดการเก็บต้นพันธุ์จากธรรมชาติ ลดการนำเข้า และยังสามารถส่งออกไปยังต่างประเทศได้

การขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ *Bolbitis heteroclita* (Presl) Ching ex. C. Chr. ทำได้โดยนำชิ้นส่วนใบอ่อนในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลงที่มีน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% และผงถ่าน (activated charcoal) 0.1% โดยมี 6-Benzyladenine (BA) หรือ kinetin ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 8 และ 16 μM ร่วมกับ Naphthaleneacetic acid (NAA) หรือ 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 μM ควบคุมอุณหภูมิในห้องปฏิบัติการเลี้ยงเนื้อเยื่อ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง/วันเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ จากนั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบอ่อนบนอาหารสังเคราะห์ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรที่เหมาะสมในโรงเรือนที่ใช้ระบบทำความเย็นแบบระเหยน้ำ (evaporative cooling

system) และใช้แสงธรรมชาติระดับความเข้มแสงต่าง ๆ กันคือ 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 ลักซ์ เลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ เพื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ

ผลการศึกษาพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, kinetin, NAA และ 2,4-D มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด และใบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด และใบได้แก่อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่มี BA 2 μM และ 2,4-D 1 μM สามารถชักนำให้เกิดยอด ใบ และรากได้มากที่สุด โดยมีจำนวนยอดที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 6.87 ± 1.27 ยอด/ชิ้น มีจำนวนรากเฉลี่ย 6.93 ± 2.12 ราก/ชิ้น และมีจำนวนใบใหม่ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 10.53 ± 2.41 ใบ/ชิ้น เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่ในโรงเรือนที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติพบว่าระดับความเข้มของแสงที่เหมาะสมมีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด ราก และใบคือ 2500 ลักซ์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 6.48 ± 1.62 ยอด/ชิ้น มีจำนวนใบเฉลี่ย 8.63 ± 2.54 ใบ/ชิ้น และมีจำนวนรากเฉลี่ย 9.85 ± 2.79 ราก/ชิ้น เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงขนาด 50 ตารางเมตร ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิโดยใช้เครื่องปรับอากาศ และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ มีค่าไฟฟ้า 67,234.21 บาท/ปี ในขณะที่โรงเรือนขนาดพื้นที่เท่ากัน ที่ใช้ evaporative cooling system และให้แสงธรรมชาติสามารถลดค่าไฟฟ้าลงได้เหลือเพียง 7,291.59 บาท/ปี

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล การผลิตหินเทียมและหินเป็น เพื่อนำไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล พบว่า หญ้าทะเลชนิด *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* เป็นหญ้าทะเลที่มีศักยภาพในการนำไปใช้เลี้ยงในตู้ปลาทะเลในอนาคต วิธีการที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้นกับชนิดหญ้าทะเลและชนิดของเนื้อเยื่อนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยง เมล็ดหญ้าทะเลชนิด *Enhalus acoroides* สามารถเจริญได้ภายใต้สภาพปลอดเชื้อและสามารถเจริญได้ดีในตู้เลี้ยงปลา หญ้าทะเล *Thalassia hemprichii* ใช้เมล็ด และส่วนยอดหรือข้อของลำต้นใต้ดินมาใช้ในการเพาะเลี้ยง ขึ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดและส่วนข้อของลำต้นใต้ดินสามารถเจริญเพิ่มจำนวนยอดได้เป็นต้นอ่อน 3 ต้น ในสภาพปลอดเชื้อ แต่ยังไม่สามารถรอดชีวิตเมื่อนำลงเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลา

ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อสาหร่ายทะเลทำได้โดยใช้ส่วนผสมของยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ร่วมกับการใช้ Germanium Dioxide ในระยะเวลาที่เหมาะสม เทคนิคการฟุ้งแห้งสามารถกระตุ้นให้สาหร่ายสกุล *Sargassum* และ *Neogoniolithon* ปล่อยไข่และสปอร์ได้

วิธีการผลิตหินเทียมที่ดีที่สุด คือการใช้ดินสิงห์บุรีผสมกับแกลบเป็นวัสดุหลัก บั่นขึ้นรูปแล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 1,000 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และปล่อยให้อุณหภูมิลดลงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยจะต้องนำหินเทียมที่ผลิตได้แช่น้ำอัตราส่วน หินเทียม 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวันเป็นเวลา 4 วัน ก่อนนำไปใช้ผลิตหินเป็นต่อไป

คำสำคัญ: เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่, หญ้าทะเล, สาหร่ายทะเล, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, สารควบคุมการเจริญเติบโต, ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, โรงเรือนระบบทำความเย็นแบบระเหยน้ำ, หินเทียม, หินเป็น

Abstract

Research and development of mass propagation techniques of water ferns, sea grasses and seaweeds was done to obtain higher quality and quantity due to the increasing demand in the country. This will help reduce imports, increase exports, and eliminate the need to continue collecting these plants from the wild.

Micropropagation of *Bolbitis heteroclita* (Presl) Ching ex. C. Chr. was done by culturing *in vitro* young leaves for 10 weeks on semi-solid modified MS medium containing 3% sucrose, 0.7 % agar and 0.1% activated charcoal supplemented with 0, 2, 4, 8 and 16 μM BA or kinetin in combination with 0, 1, 2 and 4 μM NAA or 2,4-D under fluorescent light, 12/12 dark/light cycle at $25 \pm 2^\circ\text{C}$. As a comparison to the air-conditioned laboratory conditions, young leaves were also cultured for 10 weeks on semi-solid modified MS medium supplemented with appropriate PGRs in a greenhouse with an evaporative cooling system under natural light of 500, 1000, 1500, 2000 and 2500 lux to evaluate the effects on shoot and leaves multiplication.

The results indicated that the effects of plant growth regulators, BA, kinetin, NAA and 2,4-D on inducing shoots and leaves were statistically significant ($p < 0.05$). The appropriate medium for inducing shoots and leaves was semi-solid modified MS medium supplemented with 2 μM BA in combination with 1 μM 2,4-D. The average number of shoots, roots and leaves were 6.87 ± 1.27 shoots/piece, 10.53 ± 2.41 leaves/piece, and 6.93 ± 2.12 roots/piece, respectively, after culturing for 10 weeks. Natural light intensity of 2500 lux was appropriate to promote shoots and leaves multiplication. The average number of shoots, roots and leaves were 6.48 ± 1.62 shoots/piece, 8.63 ± 2.54 leaves/piece, and 9.85 ± 2.79 roots/piece, respectively, after culturing in the greenhouse with evaporative cooling system for 10 weeks. Tissue culture in a 50 square-meters culture room with air conditioning and fluorescent lamps has electricity cost of 67,234.21 Baht/year, while the same size greenhouse with evaporative cooling system using natural light has electricity cost of 7,291.59 Baht/year.

Another research was to develop tissue culture techniques for sea grasses, and algal culture, and the techniques for artificial rock and living rock production. In sea grass tissue culture, *Enhalus acoroides* and *Thalassia hemprichii* showed good potential for use in marine aquariums in the future. The most appropriate methodology for tissue culture depended on the sea grass species and the tissue type. The seed of *E. acoroides* could grow in axenic culture and grew well in aquarium; while, the seed, rhizome and rhizome tip were used in *T. hemprichii* culture. One piece of rhizome tip and rhizome of *T. hemprichii* could be induced to three in axenic culture. However, the plantlets could not survive in an aquarium.

In the algal culture study, surface sterilization was achieved with a mixture of antibiotics and Germanium Dioxide under an appropriate period. The desiccation technique was successful for stimulating ovule and spore releasing in *Sargassum* and *Neogoniolithon*.

The best technique for artificial rock production was to use a mixture of Sing Buri soil and rice husk as the basic material. The mixed soil was molded and baked at 1,000 °C for 30 minutes and cooled down for 24 hrs. Before using it as a living rock, it was necessary to leave the artificial rock under water (1 kg artificial rock/ 20 l) which was daily rinsed off for four days.

Key words: *Bolbitis heteroclita*, sea grass, seaweed, tissue culture, algal culture, plant growth regulators, culture room, greenhouse with evaporative cooling system, artificial rock, living rock

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อ (รวม)	3
Abstract (รวม)	5
สารบัญเรื่อง	7
สารบัญตาราง	10
สารบัญภาพ	13
บทนำรวม	17
สรุปภาพรวมของแผนงาน	21
ตารางเปรียบเทียบแผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้ กับผลการดำเนินงานวิจัยที่ได้ดำเนินการตามจริง	25
โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก	29
บทคัดย่อ	29
Abstract	30
บทนำ	31
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	33
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	33
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย	36
ก. การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำรากลำไใหญ่	36
ข. การศึกษาการลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ	39
ผลการวิจัย	39
ก. ผลการพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำรากลำไใหญ่	39
ข. ผลการศึกษาการลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ	54
อภิปรายและวิจารณ์ผล	61
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	63
บรรณานุกรม	65
ภาคผนวก	68

	หน้า
โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล	73
บทคัดย่อ	73
Abstract	74
บทนำ	74
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	75
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	76
ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัยและสถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	79
1. สถานที่ดำเนินการวิจัย	79
2. ระเบียบวิธีวิจัย	79
2.1 การเก็บตัวอย่างสาหร่ายและหญ้าทะเล	79
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล	80
2.3 การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล	85
2.4 การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ทะเล	87
2.5 การศึกษาการผลิตหินเป็น (Live rock)	88
ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย	89
1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล	89
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเลชนิด <i>Enhalus acoroides</i>	89
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเลชนิด <i>Thalassia hemprichii</i>	102
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล <i>Halophila ovalis</i>	108
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล <i>Cymodocea rotundata</i>	111
2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล	114
การกระตุ้นให้สาหร่ายทะเลปล่อยสปอร์	117
3. การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ปลาทะเล	120
เทคนิคการเพิ่มรูพรุนบนหินเทียม	123
การทดสอบการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายบนหินเทียม	125
ศึกษาการบ่มขึ้นรูปหินเทียม	126
4. การศึกษาการผลิตหินเป็น	129
สรุปผลการวิจัย	130
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล	130
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล	130
การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ปลาทะเล	131

	หน้า
การศึกษาการผลิตหินปูน	131
ข้อเสนอแนะ	132
บรรณานุกรม	133
ประวัติและผลงานวิจัยที่สำคัญของคณะนักวิจัย	137

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
	โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก	
1	จำนวนยอดเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนปลายใบอ่อนของรากดำใบใหญ่บนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	41
2	จำนวนรากเฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนใบอ่อนของรากดำใบใหญ่บนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	42
3	การเปรียบเทียบจำนวนใบใหม่เฉลี่ยที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่บนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	43
4	การเปรียบเทียบจำนวนยอดเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	45
5	การเปรียบเทียบจำนวนรากเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	46
6	การเปรียบเทียบจำนวนใบเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	48
7	การเปรียบเทียบจำนวนยอดเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	50
8	การเปรียบเทียบจำนวนรากเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	51
9	การเปรียบเทียบจำนวนใบเฉลี่ยของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	52

ตารางที่		หน้า
10	จำนวนยอด จำนวนราก และจำนวนใบใหม่ (Mean±SD) ของรากดำใบใหญ่ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติระดับความเข้มแสงต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	57
11	อัตราค่าไฟฟ้าสำหรับกิจการขนาดเล็ก	59
12	ค่าไฟฟ้าในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำขนาด 50 ตารางเมตร	60
13	ค่าไฟฟ้าในโรงเรือนเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบ evaporative cooling system ขนาด 50 ตารางเมตร	60
	ภาคผนวก	68
ตาราง ผนวกที่ 1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	68
ตาราง ผนวกที่ 2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	68
ตาราง ผนวกที่ 3	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	69
ตาราง ผนวกที่ 4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	69
ตาราง ผนวกที่ 5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	70
ตาราง ผนวกที่ 6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี kinetin และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	70
ตาราง ผนวกที่ 7	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนยอดรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	71

ตารางที่		หน้า
ตาราง ผนวกที่ 8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนรากของรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบน อาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็น ระยะเวลา 10 สัปดาห์	71
ตาราง ผนวกที่ 9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนใบรากดำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นบนอาหาร สังเคราะห์ที่มี BA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ กันเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	72
	โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ ปลาทะเล	
1	การทดลองที่ใช้ในการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างๆของหญ้าทะเล ชนิด <i>Cymodocea rotundata</i> และ <i>Halophila ovalis</i>	82
2	ส่วนผสมอาหารสูตร MS ผสมสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิดและระดับความ เข้มข้นต่างๆที่ใช้ในการศึกษา	84
3	สารฟอกฆ่าเชื้อและระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ต่างๆ ของสาหร่ายทะเลสกุล <i>Gracilaria</i>	86
4	ความยาวใบของต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในอาหารเหลวและ อาหารกึ่งแข็ง	94
5	ความยาวใบของต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมสาร ควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ BA	96
6	ลักษณะต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมสารควบคุม การเจริญเติบโต 2,4 D และ TDZ	98
7	ผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อต่างๆของหญ้าทะเลชนิด <i>Halophila ovalis</i>	110
8	ผลการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อส่วนผลของหญ้าทะเลชนิด <i>Cymodocea rotundata</i>	113
9	สารฟอกฆ่าเชื้อและระยะเวลาที่ใช้ในการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ต่างๆ ของสาหร่ายทะเลสกุล <i>Gracilaria</i>	115
10	ตารางเปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพเบื้องต้นของดิน 4 ชนิดหลังจากเผาด้วย อุณหภูมิต่างกัน	122
11	คุณสมบัติทางกายภาพของหินเทียมที่ใช้ดินสังเคราะห์กับสารอินทรีย์ 3 ชนิด และเผา ในอุณหภูมิ 2 ระดับ	124
12	ค่าพีเอชของน้ำประปา น้ำแช่หินเทียมเผา 2 อุณหภูมิ	126

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
	โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก	
1	รากคำใบใหญ่ <i>Bolbitis heteroclita</i> (Presl) Ching ex. C. Chr.	33
2	รากคำใบใหญ่ในธรรมชาติบริเวณริมฝั่งคลองเตรียม จังหวัดพังงา (ก), ต้นพันธุ์รากคำใบใหญ่ที่นำมาปลูกเลี้ยงในเรือนเพาะชำ (ข), ใบอ่อนแตกใหม่ของรากคำใบใหญ่ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ค)	37
3	ต้นอ่อนปลอดเชื้อของรากคำใบใหญ่ที่เจริญขึ้นจากชิ้นส่วนใบอ่อนบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	37
4	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากคำใบใหญ่จากชิ้นส่วนของปลายใบอ่อนบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน	40
5	จำนวนยอด (Mean±SD) ของรากคำใบใหญ่ ที่เจริญขึ้นบนอาหารสังเคราะห์ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	41
6	ต้นอ่อนรากคำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มี BA 2 μ M + NAA 2 μ M เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	44
7	ต้นอ่อนของรากคำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง ที่มี kinetin 8 μ M เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	49
8	ผลของ BA และ 2,4-D ที่มีอิทธิพลร่วมกันต่อการชักนำให้เกิดยอดของรากคำใบใหญ่ เมื่อเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	49
9	ห้องทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากคำใบใหญ่ที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 1000-2000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน และควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องปรับอากาศ	53
10	ต้นอ่อนของรากคำใบใหญ่ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลง ที่มี BA 2 μ M + 2,4-D 1 μ M เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	53
11	รากคำใบใหญ่เจริญเติบโตเกิดต้นอ่อนจำนวนมากบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มี BA 2 μ M + 2,4-D 1 μ M เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	54
12	แบบแปลนห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปรับปรุงจากเรือนเพาะชำ	55
13	ประตูทางเข้าห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปรับปรุงจากเรือนเพาะชำให้มีประตู 2 ชั้น	55
14	การติดตั้งแผ่น cooling pad ที่ผนังห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปรับปรุงจากเรือนเพาะชำ (ซ้าย) พร้อมวางระบายน้ำลงถังก่อนปั้มน้ำกลับไปใช้ใหม่ (ขวา)	55

รูปที่		หน้า
15	การติดตั้งพัดลมขนาด 36 นิ้ว ที่ผนังห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปรับปรุงจากเรือนเพาะชำ เพื่อระบายความร้อน	56
16	ตู้ควบคุม Axon 2200 NT ที่ติดตั้งด้านนอกห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับควบคุมอุณหภูมิ และความชื้น โดยมีเซ็นเซอร์สำหรับตรวจวัดอุณหภูมิและความชื้นในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ	56
17	ระบบเซ็นเซอร์ที่มีหัววัดอุณหภูมิและความชื้นในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อเข้ากับตู้ควบคุมให้มีการเปิด/ปิดการทำงานของปั๊มน้ำ และพัดลมอัตโนมัติ	56
18	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากคำใบใหญ่ในโรงเรือนระบบ evaporative cooling system ที่มีตาข่ายพรางแสงเพื่อให้มีความเข้มของแสงต่างๆ กัน	58
19	ต้นอ่อนของรากคำใบใหญ่ที่เจริญเติบโตเพิ่มปริมาณต้นอ่อนจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในโรงเรือนระบบ evaporative cooling system เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์	58
20	รากคำใบใหญ่ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในโรงเรือนระบบ evaporative cooling system และให้แสงธรรมชาติ มีการเจริญเติบโตได้ดีเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้จำนวนมาก โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล	59
1	ลักษณะทั่วไปของหญ้าทะเลชนิด <i>Enhalus acoroides</i>	90
2	ลักษณะผลอ่อนของหญ้าทะเลชนิด <i>Enhalus acoroides</i> ก้านดอกมีลักษณะม้วนงอ	91
3	ลักษณะผลแก่ของหญ้าทะเลชนิด <i>Enhalus acoroides</i> ก้านดอกซึ่งติดกับส่วนผล มีลักษณะม้วนงอทำให้ผลแก่อยู่ติดกับพื้นทะเล หรือจมลงไปได้พื้น ส่วนขนที่เปลือกของผลมีตะกอนเกาะเป็นจำนวนมาก	91
4	ผลแก่ของหญ้าทะเลชนิด <i>Enhalus acoroides</i> ภายในมีเมล็ดที่มีเชื้อหุ้มเมล็ดหุ้มไว้	92
5	ส่วนยอดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อภายนอก ก่อนการตัดแต่ง	93
6	ความยาวใบเฉลี่ยของหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในอาหารเหลว และอาหารกึ่งแข็ง	94
7	ลักษณะต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งและอาหารเหลว สูตร MS เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ในสภาพปลอดเชื้อ	95
8	ลักษณะต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่มีรากจำนวนมาก เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร	97
9	เมล็ด <i>Enhalus acoroides</i> ที่ตัดจุลินทรีย์ออกและเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ TDZ เนื้อเยื่อส่วนของลำต้นใต้ใบเลี้ยงด้านล่างเกิดการแบ่ง	99

รูปที่		หน้า
	เซลล์เบียดกันแน่นฟูออกจากเนื้อเยื่อเดิมคล้ายแคลลัส	
10	ลักษณะการเจริญที่ผิดปกติของต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ใบมีลักษณะหงิกงอและปลายใบไหม้เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ TDZ	99
11	ใบของต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> มีลักษณะพอมยาวและไม่มีรากเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ TDZ	100
12	ลักษณะการเจริญผิดปกติของต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ส่วนรากมีการพัฒนาน้อยมาก บางต้นไม่เกิดรากเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D และ TDZ	100
13	หญ้าทะเล <i>Enhalus acoroides</i> ที่เลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ	101
14	ลักษณะทั่วไปของหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i>	103
15	ผลหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i> ฝังอยู่ใต้ดิน	103
16	ส่วนต้นและผลที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	104
17	ส่วนผลของ <i>Thalassia hemprichii</i> ที่ปริแตกออกเห็นส่วนเมล็ดซึ่งมีเนื้อเยื่อหุ้มอยู่	104
18	ต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i> ที่เลี้ยงในอาหารเหลว อายุ 8 สัปดาห์	105
19	ต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i> ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และ 12 สัปดาห์	105
20	ต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i> ที่เกิดจากส่วนปลายยอดของลำต้นใต้ดินเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เป็นอาหารเหลว (ซ้าย) และอาหารกึ่งแข็ง (ขวา) เป็นเวลา 16 สัปดาห์	106
21	ต้นอ่อนหญ้าทะเล <i>Thalassia hemprichii</i> ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดลำต้นใต้ดิน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ (ซ้าย) และนำลงเลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ (ขวา)	107
22	ลักษณะของหญ้าทะเล <i>Halophila ovalis</i> ในธรรมชาติ	108
23	หญ้าทะเล <i>Halophila ovalis</i> ที่ปลูกในสภาพเลียนแบบธรรมชาติในห้องปฏิบัติการ	111
24	ลักษณะของหญ้าทะเล <i>Cymodocea rotundata</i> ในธรรมชาติ	111
25	ลักษณะผลของ <i>Cymodocea rotundata</i> ผลมีเปลือกแข็ง ติดกับโคนต้นซึ่งฝังอยู่ใต้ดิน	112
26	ลักษณะของสาหร่ายวุ้นสกุล <i>Gracilaria</i> ที่นำมาใช้ในการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อ	115
27	สาหร่ายทะเลที่เก็บจากธรรมชาติ มักมีตะกอนดินและซากสาหร่ายที่เน่าสลายติดกับทลลัส	116

รูปที่		หน้า
28	การเลี้ยงสาหร่ายทะเลในห้องปฏิบัติการ เพื่อเป็นแหล่งค้นพันธุ์ในการศึกษา	116
29	ส่วน female receptacle ของสาหร่ายสีน้ำตาลสกุล <i>Sargassum</i>	117
30	อวัยวะของสาหร่ายสีน้ำตาลสกุล <i>Sargassum</i> ที่ปล่อยออกมาระหว่างการศึกษา	118
31	ส่วน branchlet ที่มีสปอร์ของสาหร่ายสีแดงสกุล <i>Acanthophora</i>	118
32	ลักษณะของสาหร่ายสีแดงที่มีหีนปุ่นเป็นองค์ประกอบ สกุล <i>Neogoniolithon</i> ที่มี tetrasporangial conceptacle มีลักษณะเป็นรูปโดม และมีรูเปิดตรงกลาง	119
33	สปอร์ของสาหร่ายสีแดงที่มีหีนปุ่นเป็นองค์ประกอบ สกุล <i>Neogoniolithon</i> ปล่อยสปอร์สีแดงเข็มออกจากช่องเปิด (Osteole)	120
34	ดินชนิดต่างๆหลังจากการถูกเผา เพื่อนำไปศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีต่อไป	121
35	ลักษณะทางกายภาพ เบื้องต้น ของดินผสมสิ่งหุ้บุรีที่ผสมสารอินทรีย์ต่างชนิดกัน	123
36	ลักษณะสาหร่ายบนชุดควบคุมและชุดที่มีหีนเทียมที่ได้จากการศึกษา ก่อนผ่านการแช่น้ำเพื่อแก้ปัญหาฟิเชที่สูงเกิน	125
37	กราฟแสดงค่าฟิเชของน้ำประปาและน้ำแช่หีนเทียมเผาทั้งสองอุณหภูมิ	126
38	ผสมดินกับเกลบปั่นขึ้นรูปให้มีลักษณะคล้ายหีนเทียม	127
39	เตาเผาหีนเทียมจำเป็นต้องเพิ่มอากาศเพื่อให้การเผาไหม้ที่สมบูรณ์	127
40	แท่งวัดอุณหภูมิละลายที่อุณหภูมิ 1,000 องศาเซลเซียส	128
41	ดินผสมเพื่อปั้นให้มีรูปคล้ายหีนเทียมธรรมชาติและผ่านการเผาที่ 1,000 องศาเซลเซียส	128
42	หีนเทียม และหีนเป็นที่มีสาหร่ายสีแดงที่มีหีนปุ่นเป็นองค์ประกอบเกาะที่อายุต่างๆกัน	129

บทนำรวม

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

เฟิร์นน้ำ ได้แก่พรรณไม้น้ำในสกุลรากคำใบยาว (*Microsorium*) และ รากคำใบใหญ่ (*Bolbitis*) จัดอยู่ในกลุ่มเฟิร์นที่มีความสวยงาม และสามารถนำไปปลูกยึดเกาะติดกับวัสดุต่างๆ เช่นขอนไม้หรือก้อนหิน เพื่อนำไปปลูกเลี้ยงประดับในตู้ปลา ปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างสูงทั้งตลาดในประเทศ และตลาดต่างประเทศ จัดเป็นสินค้าพรรณไม้น้ำสวยงามที่สำคัญและมีราคาสูง นิยมนำมาประดับตกแต่งตู้ปลาหรือจัดสวนพรรณไม้น้ำ อย่างไรก็ตามผลผลิตส่วนใหญ่ได้จากการเก็บรวบรวมจากธรรมชาติเพื่อจำหน่ายในประเทศ และส่งออก จนกระทั่งมีปริมาณเหลือน้อยลงมาก แทบไม่ปรากฏในแหล่งธรรมชาติทั่วไป คงเหลืออยู่บ้างไม่มากนักในเขตอุทยานแห่งชาติ หรือป่าสงวน นอกจากนี้ยังแทบไม่มีการเพาะขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำในฟาร์ม เนื่องจากใช้วิธีขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะชำจากต้นแม่ หรือการเพาะสปอร์ซึ่งต้องควบคุมสภาวะแวดล้อมภายนอกให้มีความชื้นสูง และอุณหภูมิไม่สูงมาก ตลอดจนต้องใช้ระยะเวลามากกว่า 6 เดือนจึงจะได้ต้นอ่อน และมีการสูญเสียของผลผลิตจากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม เชื้อโรคและ ศัตรูพืช จึงไม่สามารถผลิตในเชิงปริมาณได้ ทำให้ในปัจจุบันมีผลผลิตเฟิร์นน้ำปริมาณน้อย ไม่เพียงพอสำหรับการส่งออก ส่งผลให้เสียโอกาสในการขยายตลาดต่างประเทศ นอกจากนี้ยังมีการนำเข้าเฟิร์นน้ำจากต่างประเทศเพื่อจำหน่ายตลาดในประเทศ ซึ่งส่วนใหญ่ยังไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในฟาร์ม หรือไม่สามารถผลิตได้ในเชิงปริมาณ การเก็บรวบรวมต้นเฟิร์นน้ำธรรมชาติเพื่อส่งออกยังมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคศัตรูพืชมาก จึงเป็นอุปสรรคต่อการส่งออกที่ต้องมีใบรับรองปลอดโรคศัตรูพืช นอกจากนี้การนำต้นอ่อนที่เพาะจากแปลงดินไปปลูกต่อในระบบไฮโดรโปนิกส์ยังเสี่ยงต่อการนำเชื้อโรคศัตรูพืชไปแพร่ระบาดในเรือนเพาะชำแบบปิด โดยเฉพาะเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดปัญหาในปัจจุบันได้เช่นเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรครากเน่าและไส้เดือนฝอยที่เข้าไปในราก และแพร่กระจายในระบบปลูกแบบไฮโดรโปนิกส์ได้อย่างรวดเร็วเนื่องจากการให้น้ำสารละลายธาตุอาหารในระบบหมุนเวียน ดังนั้นการผลิตต้นอ่อนแบบปลอดเชื้อโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งต่ออุตสาหกรรมการผลิตพรรณไม้น้ำเพื่อการส่งออกในปัจจุบัน อย่างไรก็ตามเนื่องจากเฟิร์นน้ำเป็นพืชในกลุ่มเฟิร์น การเพิ่มจำนวนยอดปริมาณมาก (shoot proliferation) และการชักนำให้เกิดรากเพื่อเพิ่มปริมาณต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้นยังเป็นไปได้ยาก นอกจากนี้ยังไม่มีการศึกษาการเพาะขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำในสกุลรากคำใบใหญ่ (*Bolbitis*) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาการขยายพันธุ์พรรณไม้น้ำเชิงปริมาณโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นอ่อนปลอดเชื้อโรคศัตรูพืชของเฟิร์นน้ำทั้งสายพันธุ์ไทย และต่างประเทศที่ได้รับความนิยมสูงในตลาดโลก จะทำให้สามารถพัฒนาการผลิตเฟิร์นน้ำเพื่อการส่งออก และตอบสนองต่อความต้องการภายในประเทศ นอกจากนี้การลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์จะเป็นการเพิ่มศักยภาพการแข่งขันของไทยในตลาดโลก ตลอดจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับพรรณไม้น้ำชนิดอื่นๆได้ต่อไป

สาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล จัดเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญต่อระบบนิเวศทะเลและชายฝั่ง เนื่องจากมีบทบาทเป็นผู้ผลิตขั้นต้นให้กับระบบนิเวศ และทำหน้าที่ในการป้องกันชายฝั่งทะเล ดูดซับธาตุ

อาหารและหมุนเวียนธาตุอาหารต่างๆ เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยหากินของสัตว์ทะเลนานาชนิด รวมถึงมีการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้แก่ การสกัดสารจากสาหร่ายทะเล เช่น วุ้น การจีแน และสารสี ซึ่งมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร และเครื่องสำอาง นอกจากนี้ยังมีการเพาะเลี้ยงสาหร่ายในบ่อดินเพื่อใช้ในการบริโภค รวมถึงมีการเลี้ยงร่วมกับกุ้งในบ่อเลี้ยงกุ้งเพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิตและเป็นการเลี้ยงอย่างเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สำหรับหญ้าทะเล ยังไม่มีการพัฒนามาใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ มีเพียงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเลเพื่อนำมาใช้ในการอนุรักษ์แหล่งหญ้าทะเลเท่านั้น เมื่อคณะผู้วิจัยได้สำรวจเบื้องต้นถึงความต้องการสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล บริเวณตลาดนัดสวนจตุจักร พบว่ามีการนำสาหร่ายทะเลมาใช้ประโยชน์หลายด้านสำหรับการเลี้ยงสัตว์ทะเลสวยงาม เช่น เพื่อการประดับตู้ปลา เป็นอาหารให้สัตว์ทะเล รวมถึงใช้บำบัดคุณภาพน้ำในระบบการเลี้ยงตู้ปลาทะเล (Marine aquarium) สาหร่ายทะเลที่เป็นที่นิยมในตลาด ได้แก่ สาหร่ายสีเขียว สกุล *Caulerpa* ซึ่งมีหลายชนิดและมีรูปร่างแตกต่างกันไป โดยในตลาดใช้ชื่อ สาหร่ายพวงองุ่น สาหร่ายใบเฟิร์น สาหร่ายใบเลื่อย และ สาหร่ายใบพาย นอกจากนี้ยังมีสาหร่ายชนิดอื่นๆ เช่น สาหร่ายใบมะกรูด (*Halimeda* spp.) สาหร่ายลูกปัดแดง กลุ่มที่เป็นที่นิยมในตลาดคือสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ (Coralline red algae) ซึ่งมีหลากหลายตั้งแต่สีชมพูอ่อน ชมพูเข้ม ส้ม ชมพูม่วง ขึ้นเคลือบบนก้อนหิน ซึ่งร้านค้าเรียกหินเหล่านี้ว่า หินเป็น (Live rock) มีการจำหน่ายในลักษณะเป็นก้อนหินเป็นหรือถุงละ 200-300 บาท ซึ่งสร้างรายได้ให้กับผู้ประกอบการประมาณเดือนละ 20,000 บาทต่อเดือน หากรวมผู้ประกอบการค้าสัตว์ทะเลสวยงามในบริเวณตลาดนัดสวนจตุจักรที่มีอยู่ประมาณ 20 ราย จะมีรายได้รวมอยู่ที่ 400,000 บาทต่อเดือน หรือ 4,800,000 บาท ต่อปี นอกจากนี้ยังพบว่ามีการจำหน่ายหญ้าทะเลชนิดที่มีขนาดเล็ก (*Halophila ovalis*) โดยทั้งหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลที่นำมาจำหน่ายส่วนใหญ่ไม่ได้เกิดจากการเพาะเลี้ยง แต่ได้จากการเก็บรวบรวมจากธรรมชาติ และการนำเข้าจากต่างประเทศ เมื่อนำมาเลี้ยงจึงไม่ทนทานเนื่องจากมีความบอบช้ำจากการเก็บ ทำให้มีการเก็บจากธรรมชาติอย่างต่อเนื่องและส่งผลกระทบต่อแหล่งต้นพันธุ์ ความหลากหลายของสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเลที่นำมาเลี้ยงมีน้อย ทำให้ส่วนใหญ่ต้องแอบเลี้ยงร่วมกับปะการังซึ่งผิดกฎหมาย ดังนั้น เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวในเชิงรุก จึงควรมีการพัฒนาหาคักยภาพของหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อนำมาใช้ในการส่งเสริมสำหรับใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล โดยการหาวิธีในการเพาะเลี้ยงและขยายจำนวนสาหร่ายทะเล และหญ้าทะเล ชนิดที่มีความเหมาะสมกับการเลี้ยงในตู้ปลาทะเลด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การขยายจำนวนสาหร่ายทะเลโดยใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศหรือเตตราสปอร์ (Tetraspore) ในระบบปลอดเชื้อ การพัฒนาวัสดุยึดติดกับสาหร่ายทะเลเพื่อนำมาลงเลี้ยงในตู้ได้สะดวก สวยงามและมีความทนทาน การพัฒนาวัสดุสำหรับผลิตหินเทียมเพื่อนำมาใช้ในการผลิตหินเป็น ทั้งนี้การวิจัยนี้จะเป็นการศึกษาเชิงรุกที่จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อการเพิ่มมูลค่าสาหร่ายและหญ้าทะเล เพิ่มศักยภาพในการใช้ประโยชน์รวมถึงเปิดโอกาสให้มีการวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล ซึ่งจะมิประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาศักยภาพทางด้านอื่นๆต่อไปในอนาคต

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ (*Bolbitis heteroclita*) โดยการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดและรากจำนวนมาก รวมทั้งศึกษาการลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ โดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ และศึกษาด้านทุนและผลตอบแทนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.2 เพื่อศึกษาหาสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเลที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในตู้ปลาทะเลและศึกษาวิธีการขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเลในสภาพปลอดเชื้อ การขยายพันธุ์สาหร่ายทะเลโดยใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ รวมทั้งพัฒนาวัสดุยัดเกาะที่มีความเหมาะสมต่อการยัดเกาะของต้นอ่อน และการผลิตหินเป็น

3. รายละเอียดความเชื่อมโยงระหว่างโครงการวิจัยย่อย

ทั้งสองโครงการวิจัยย่อยเป็นการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อธุรกิจพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล และเพื่อนำไปปลูกเลี้ยงประดับในตู้ปลา และตู้ปลาทะเล ซึ่งผลผลิตส่วนใหญ่ได้จากการเก็บรวบรวมจากธรรมชาติเพื่อจำหน่ายในประเทศและส่งออก จนกระทั่งมีปริมาณเหลือน้อยลงมากในแหล่งธรรมชาติ หรือเพื่อชดเชยการนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพเพียงพอต่อความต้องการของตลาดในประเทศ และสามารถพัฒนาเพื่อการส่งออกไปสู่ตลาดต่างประเทศ

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

4.1 ได้องค์ความรู้และสามารถขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ (*Bolbitis heteroclita*) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมทั้งวิธีการลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ โดยการเลี้ยงในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ

4.2 ได้องค์ความรู้เบื้องต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล เทคนิคในการเพิ่มจำนวนสาหร่ายทะเลโดยใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ การผลิตวัสดุยัดเกาะสาหร่ายให้เหมาะสมสำหรับนำไปเลี้ยงในตู้ปลาทะเล การผลิตหินเป็น

4.3 ได้ต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเลที่ปลอดเชื้อ มีคุณภาพสูง มีวิธีการผลิตที่ได้ปริมาณมาก สมำเสมอ ผู้ผลิตและส่งออกพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเลสามารถนำเทคโนโลยีที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาและ เพิ่มศักยภาพในการผลิตเชิงพาณิชย์ และเพิ่มมูลค่าการส่งออก ตลอดจนเกิดการจ้างงานในระบบธุรกิจ

4.4 ส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาธุรกิจพรรณไม้น้ำ สัตว์น้ำสวยงาม ลดการนำเข้าจากต่างประเทศ และการเก็บต้นพันธุ์ในประเทศ

4.5 สามารถเผยแพร่เทคนิคการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล ให้แก่เกษตรกรผู้ประกอบการ บริษัทผู้ส่งออก และผู้สนใจในรูปการฝึกอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยี

5. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

5.1 กรมประมง

5.2 สถาบันการศึกษาและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน

5.3 เกษตรกร บริษัทเอกชน ผู้ผลิต ผู้นำเข้าและส่งออกพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล
ผู้ประกอบการธุรกิจตู้ปลาและตู้ปลาทะเล

สรุปภาพรวมของแผนงาน

โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่สามารถทำได้สำเร็จโดยการนำชิ้นส่วนใบอ่อนของรากดำใบใหญ่มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยการแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 4% เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมทิลริกคลอไรด์ 0.1% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 1000-2000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตขึ้นมาจากชิ้นส่วนของใบอ่อนเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10-12 สัปดาห์

การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่โดยใช้ส่วนปลายใบอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% และผงถ่าน (activated charcoal) 0.1% โดยมีสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน และออกซิน ชนิดและปริมาณต่างๆ กัน ได้แก่การใช้ BA และ kinetin ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 8 และ 16 μM ร่วมกับ NAA และ 2,4-D ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 μM เมื่อเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 1000-2000 ลักซ์ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่คือการใช้ BA ความเข้มข้น 2 μM ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 6.87 ± 1.27 ยอด มีจำนวนใบใหม่ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 10.53 ± 2.41 ใบ และมีจำนวนรากเฉลี่ย 6.93 ± 2.12 ราก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายใบอ่อนรากดำใบใหญ่บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 μM + 2,4-D 1 μM ในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติที่มีการพร่างแสงด้วยตาข่ายพร่างแสง ให้มีระดับความเข้มของแสงต่างๆ กันคือประมาณ 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 ลักซ์ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและเปรียบเทียบต้นทุนในการเพาะเลี้ยงระหว่างห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อปกติที่ใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์และเครื่องปรับอากาศกับห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system พบว่าระดับความเข้มแสงมีผลต่อการเกิดยอด ราก และใบของรากดำใบใหญ่ โดยระดับความเข้มแสงที่เหมาะสมคือ 2500 ลักซ์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 6.48 ± 1.62 ยอด มีจำนวนใบที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 8.63 ± 2.54 ใบ และมีจำนวนรากที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 9.85 ± 2.79 ราก เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ และในการวิเคราะห์ค่าไฟฟ้าที่ใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิโดยให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และใช้เครื่องปรับอากาศ พบว่ามีประมาณการค่าไฟฟ้า 67,234.21 บาท/ปี ในขณะที่โรงเรือนเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบ evaporative cooling system ที่ให้แสงธรรมชาติมีประมาณการค่าไฟฟ้า 7,291.59 บาท/ปี ซึ่งใช้ค่าไฟฟ้าต่ำกว่าเกือบ 10 เท่าของค่าไฟฟ้าในการเลี้ยงในห้องเลี้ยงแบบปกติ

โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล

1. หญ้าทะเลที่สามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อนำมาใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเลคือ *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* โดยหญ้าทะเลทั้ง 2 ชนิด มีวิธีการและขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมถึงข้อเด่นข้อด้อยที่แตกต่างกัน ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อ สารเคมีที่นำมาใช้คือ คลอโรกซ์ เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย ราคาถูก และเนื้อเยื่อหญ้าทะเลสามารถพัฒนาเจริญต่อไปได้ ความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้มีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อ

2. *Enhalus acoroides* สามารถเพาะเลี้ยงจากเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อและต้นอ่อนสามารถเจริญได้ดีในสภาพเลียนแบบธรรมชาติเป็นเวลากว่า 4 เดือนได้ แต่ยังไม่สามารถพัฒนาให้เกิดการแตกยอดได้มากกว่า 1 ยอด

3. *Thalassia hemprichii* สามารถเพาะเลี้ยงจากเมล็ด ส่วนยอดและส่วนข้อของลำต้นใต้ดินได้ ต้นอ่อนจากเมล็ดไม่สามารถแตกยอดได้มากกว่า 1 ยอด ขณะที่ ส่วนต้นอ่อนที่เกิดจากยอดและข้อของลำต้นใต้ดิน สามารถพัฒนาจาก 1 ยอด เป็น 3 ยอดได้ แต่ต้นอ่อนมีขนาดเล็กเนื่องจากการเจริญเติบโตช้าในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 3 เดือน มาเลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ พบว่าไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากไม่สามารถทนต่อเชื้อราได้

4. *Halophila ovalis* และ *Cymodocea serrulata* คณะนักวิจัยยังไม่สามารถหาขั้นตอนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเลทั้ง 2 ชนิดได้ แต่พบว่าสามารถเลี้ยงได้ในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ โดยใช้ส่วนของลำต้นใต้ดินมาเลี้ยงซึ่งจะมีความเป็นไปได้ในการขยายพันธุ์มากกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล

1. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อสาหร่ายทะเลที่เหมาะสม ไม่ควรใช้สารเคมีเช่นเดียวกับการฟอกฆ่าเชื้อหญ้าทะเล เนื่องจากเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเลมีความบอบบาง สารที่เหมาะสมจะนำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อคือ ยาปฏิชีวนะชนิดและความเข้มข้นต่างๆ

2. สาหร่ายที่นำมาใช้ในการศึกษาการกระตุ้นการปล่อยสปอร์ด้วยการผึ่งแห้งและประสบความสำเร็จ คือ *Sargassum* และ *Neogoniolithon*

การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ทะเล

วัสดุที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการทำหินเทียมคือ ดินสิงห์บุรีผสมเกลบ ขึ้นรูปแล้วเผาที่อุณหภูมิ 1000 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และทิ้งให้คลายความร้อน 24 ชั่วโมง เมื่อนำหินเทียมมาแช่ในน้ำประปา โดยมีอัตราส่วน หินเทียม 1 กิโลกรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร เปลี่ยนถ่ายน้ำทุกวัน เป็นเวลา 4 วัน จึงจะนำไปใช้งานผลิตหินเป็นต่อไปได้

การศึกษาการผลิตหินเป็น

ในเบื้องต้น สามารถผลิตหินเป็นที่มีสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ (*Neogoniolithon*) ขึ้นเคลือบได้ โดยนำสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบซึ่งมีเซลล์สืบพันธุ์จากธรรมชาติ ผึ่งแห้งเป็นเวลา 45 นาที แล้วนำลงเลี้ยงในบ่อน้ำเค็ม 28 psu นำหินเทียมที่ผลิตได้วางรองด้านล่าง เลี้ยงต่อไปประมาณ 1 เดือน จึงจะเริ่มเห็นสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบขึ้นเป็นจุดเล็กๆ บนหินเทียม

ข้อเสนอแนะ

โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำเชิงปริมาณเพื่อการส่งออก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่

จากผลการวิจัยในครั้งนี้ซึ่งเป็นขั้นตอนเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่โดยการฟอกฆ่าเชื้อ และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนปลายใบอ่อน จึงควรศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนของเฟิร์นน้ำในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเชิงธุรกิจ โดยการวิจัยในขั้นตอนการ Subculture เพื่อเลี้ยง และเพิ่มปริมาณต้นอ่อนสำหรับจำหน่าย ซึ่งอาจใช้วิธีการตัดแบ่งต้นอ่อนปลอดเชื้อจากขวดแม่พันธุ์ให้เป็นกองขนาดเล็ก ลงปลูกเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม โดยใส่ลงขวดละมากกว่า 1 กอ ซึ่งอาจจะทำให้สามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้มากขึ้น ในระยะเวลาที่สั้นลง

นอกจากนี้ควรมีการศึกษาต้นทุน และผลตอบแทนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำที่เลี้ยงในโรงเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบ evaporative cooling system ที่ให้แสงธรรมชาติ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นจากการวิจัยในครั้งนี้ และควรมีการนำผลการวิจัยไปต่อยอดเพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำชนิดอื่นได้แก่ *Microsorium pteropus 'narrow leaves'* และ *Bolbitis heudelotii* ซึ่งมีปริมาณความต้องการสูงของตลาดทั้งในประเทศ และตลาดต่างประเทศ ตลอดจนพรรณไม้น้ำชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอื่นๆ เพื่อพัฒนารูปแบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและพรรณไม้น้ำ เนื่องจากปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการของภาคเอกชนที่เป็นธุรกิจขนาดเล็กอยู่จำนวนมาก หากได้รับการพัฒนาเทคโนโลยีที่มีการลงทุนไม่สูง ตลอดจนสามารถเพิ่มผลผลิต และลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้พลังงาน จะทำให้เพิ่มศักยภาพในการดำเนินธุรกิจขนาดเล็กได้อย่างยั่งยืน และยังสามารถผลิตต้นพันธุ์จำนวนมากที่สะอาดปลอดเชื้อให้กับฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำนำไปปลูกเลี้ยงให้ได้ผลผลิตที่ได้มาตรฐานส่งออกต่อไป

โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล พบว่าหญ้าทะเลชนิด *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล ซึ่งควรจะมีการพัฒนาวิธีการในการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการต่อไปอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อเป็นการศึกษาที่ต้องอาศัยระยะเวลาในการพัฒนาเนื้อเยื่อในขั้นตอนต่างๆ ทำให้การศึกษาพัฒนาได้ไม่เร็วนัก หากมีการพัฒนาจนได้ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญาทะเลสำเร็จ จะเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ประโยชน์และการอนุรักษ์หญาทะเลในอนาคต

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล

สาหร่ายทะเลที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในตู้ปลาทะเล คือสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ปล่อยสปอร์ได้ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำหินเทียมที่ผลิตได้จากการศึกษามาวางให้สปอร์ลงเกาะ พบว่ามีการลงเกาะและเจริญได้ ซึ่งควรจะมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สามารถพัฒนาการผลิตหินเป็นและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้จริง

การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ทะเลและการผลิตหินเป็น

การพัฒนาหินเทียมให้มีสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบยึดเกาะหรือมีสัตว์ต่างๆเกาะ (หินเป็น) เป็นการศึกษาที่ต้องอาศัยเวลาในการเลี้ยงเนื่องจากสาหร่ายกลุ่มนี้มีการเจริญเติบโตที่ช้ามาก โดยก้อนสาหร่ายที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร อาจมีอายุกว่า 100 ปี ดังนั้นหากเก็บสาหร่ายดังกล่าวมาใช้เลี้ยงในตู้ปลาทะเล จะเป็นการทำลายสาหร่ายกลุ่มนี้ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถกักเก็บคาร์บอนจากน้ำทะเลให้อยู่ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต หากสามารถพัฒนาหรือเร่งการเลี้ยงสาหร่ายกลุ่มนี้ให้เกาะเคลือบหินเทียมซึ่งขึ้นรูปให้คล้ายกับหินเป็นธรรมชาติ หรือคล้ายกับก้อนสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ จะช่วยลดการเก็บจากธรรมชาติและเพิ่มโอกาสในการนำสาหร่ายไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเลต่อไป

ตารางเปรียบเทียบแผนการดำเนินงานวิจัยที่ได้เสนอไว้ กับผลการดำเนินงานวิจัยที่ได้ดำเนินการตามจริง

โครงการวิจัยเรื่องการพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำแข็งปริมาณเพื่อการส่งออก

การดำเนินงาน	งบประมาณ ปี 2555-56 / เดือนที่					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
1. เก็บตัวอย่างรากดำใบใหญ่จากธรรมชาตินำมาปลูกเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำแล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ	←→					→
2. การพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำ						
2.1 <i>Bolbitis heteroclita</i> (รากดำใบใหญ่)						
2.1.1 ศึกษาการใช้ BA ร่วมกับ NAA		←→				
2.1.2 ศึกษาการใช้ Kinetin ร่วมกับ NAA				←→		
2.1.3 ศึกษาการใช้ BA ร่วมกับ 2,4 D			←→			
3. การปรับปรุงเรือนเพาะชำเพื่อพัฒนาห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ		←→		→		
4. การศึกษาต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ						
4.1 <i>Bolbitis heteroclita</i>					←→	→
5. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผลทางสถิติ	←→					→
6. จัดทำรายงานความก้าวหน้าและรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์	←→		←→			←→

←→ ระยะเวลาที่ทำการวิจัยตามแผนงานวิจัย

←-----→ ผลการดำเนินงานวิจัยตามจริง

การดำเนินงาน	งบประมาณ ปี 2555-56 / เดือนที่					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายและหอยทะเลจากธรรมชาติ	 					 
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหอยทะเล						
2. การคัดเลือกส่วนต่างๆของหอยทะเลและการทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ	 					
3. ศึกษารูปแบบของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อหอยทะเล	 					
4. ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อหอยทะเล			 			
5. ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อและต้นอ่อน				 		
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล						
6. การคัดเลือกส่วนต่างๆของสาหร่ายทะเลและการทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ			 			
7. ศึกษารูปแบบของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อสาหร่ายทะเล						
8. ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อสาหร่ายทะเล						
9. ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อและต้นอ่อน						
การขยายพันธุ์สาหร่ายทะเลโดยการใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศ						
10. ตรวจสอบหาชิ้นส่วนที่มีเซลล์สืบพันธุ์ และศึกษาการกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์	เริ่มศึกษาในปีที่ 2 					
11. การทดสอบการลงเกาะ และติดตามการเจริญเติบโต	เริ่มศึกษาในปีที่ 2 					
การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม)						
12. การทดสอบความเปราะและความทนทานของหินเทียมรูปแบบต่างๆ		 				
13. ทดสอบผลกระทบของหินเทียมที่มีผลต่อคุณภาพน้ำและศึกษาหาวิธีแก้ไขปัญหากที่เกิดขึ้น		 				
การศึกษาการผลิตหินเป็น (Live rock)						
14. คัดเลือกและเก็บสาหร่ายสีแสดที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบจากธรรมชาติ		 				
15. ศึกษาการเหนี่ยวนำให้สาหร่ายปล่อยสปอร์และการเกาะติด				 		

การดำเนินงาน	งบประมาณ ปี 2555-56 / เดือนที่					
	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12
16. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบบนหินเป็น	เริ่มศึกษาในปีที่ 2					
17. รวบรวมข้อมูล และวิเคราะห์ผลทางสถิติ		←				→
18. จัดทำรายงานความก้าวหน้า และรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์	←		←			←
19. จัดทำผลงานเพื่อตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติและระดับนานาชาติ		←	←			→

← → ระยะเวลาที่ทำการวิจัยตามแผนงานวิจัย

← - - - - - → ผลการดำเนินงานวิจัยตามจริง

รายละเอียดผลการดำเนินการวิจัย

แผนการดำเนินงานวิจัย	สรุปผลการดำเนินงาน
1. เก็บตัวอย่างสาหร่ายและหญ้าทะเลจากธรรมชาติ	- เก็บตัวอย่างหญ้าทะเล จำนวน 4 ชนิด คือ <i>Enhalus acoroides</i> , <i>Cymodocea rotundata</i> , <i>Thalassia hemprichii</i> และ <i>Halophila ovalis</i> จำนวน 10 ครั้ง โดยได้รับอนุญาตให้เข้าเก็บตัวอย่างในเขตอุทยานแห่งชาติหาดเจ้าไหม จากกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช - เก็บตัวอย่างสาหร่ายทะเล จำนวน 4 ชนิด จำนวน 3 ครั้ง
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล	
2. การคัดเลือกส่วนต่างๆของหญ้าทะเลและการทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ	- ทดสอบการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต่างๆของหญ้าทะเล โดยใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ รวม 23 สูตร โดยมีการนำชิ้นส่วนหญ้าทะเลมาศึกษาในแต่ละสูตร ดังตารางที่ 1
3. ศึกษารูปแบบของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อหญ้าทะเล	- ศึกษารูปแบบของอาหารที่ใช้เลี้ยง จำนวน 2 แบบ คือ อาหารเหลว และอาหารกึ่งแข็ง
4. ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อหญ้าทะเล	- ได้ดำเนินการศึกษาภายในโครงการที่ได้รับงบประมาณจาก NRCT-JSPS โดยได้ชี้แจงต่อคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ในการนำเสนอความก้าวหน้าโครงการ
5. ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อและต้นอ่อน	- ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อและต้นอ่อน จำนวน 56 สูตร ดังตารางที่ 2 ทั้งนี้ ได้เพิ่มการศึกษา หญ้าทะเลชนิด <i>Thalassia hemprichii</i> เพิ่มขึ้นมา เนื่องจากเพื่อให้เกิดความต่อเนื่องในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล ชนิดดังกล่าว ซึ่งได้รับงบประมาณจาก NRCT-JSPS
การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล	
6. การคัดเลือกส่วนต่างๆของสาหร่ายทะเลและการทดสอบหาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ	- ทดสอบการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนสาหร่ายทะเล 48 สูตร ดังตารางที่ 3

แผนการดำเนินงานวิจัย	สรุปผลการดำเนินงาน
7. ศึกษารูปแบบของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อสาหร่ายทะเล	- ไม่ได้ดำเนินการศึกษา เนื่องจาก เมื่อทดสอบการฟอกฆ่าเชื้อในการศึกษาที่ 5 แล้ว พบว่าเนื้อเยื่อไม่สามารถใช้เลี้ยงต่อได้ ทั้งนี้ ได้รายงานในรายงานความก้าวหน้า และในการนำเสนอต่อผู้ทรงคุณวุฒิแล้ว
8. ศึกษาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความเหมาะสมต่อสาหร่ายทะเล	
9. ศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเนื้อเยื่อและต้นอ่อน	
การขยายพันธุ์สาหร่ายทะเลโดยการใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ	
10. ตรวจสอบหาชิ้นส่วนที่มีเซลล์สืบพันธุ์ และศึกษาการกระตุ้นการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์	- ไม่อยู่ในแผน แต่ได้ทำการตรวจสอบหาชิ้นส่วนที่มีเซลล์สืบพันธุ์ของสาหร่ายจำนวน 3 ชนิด และศึกษาการกระตุ้นการปล่อยสปอร์ของสาหร่ายแต่ละชนิด โดยปัจจัยที่นำมากระตุ้น คือ การเปลี่ยนแปลงความเค็ม และการผึ่งแห้งที่ระดับต่างๆ
11. การทดสอบการลงเกาะ และติดตามการเจริญเติบโต	- ไม่อยู่ในแผน แต่ได้ทำการทดสอบความสามารถในการลงเกาะของสปอร์สาหร่ายทะเล 3 ชนิด แต่เนื่องจากสาหร่ายไม่สามารถลงเกาะได้ อาจเนื่องจากความสมบูรณ์ของเซลล์สืบพันธุ์ หรือ ความเหมาะสมของวัสดุยึดเกาะ ทั้งนี้ ผู้ทรงคุณวุฒิ ได้แนะนำให้ศึกษาเพิ่มเติม โดยนักวิจัยได้ศึกษาเพิ่มในหัวข้อที่ 13
การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม)	
12. การทดสอบความเปราะและความทนทานของหินเทียมรูปแบบต่างๆ	- ศึกษาเนื้อดินที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการผลิตหินเทียมด้วยดินต่างๆ โดยการอบที่ระยะเวลาและอุณหภูมิต่างๆ จำนวน 16 สูตร แล้วทดสอบความเปราะและความทนทาน -ศึกษาการเพิ่มรูพรุนในเนื้อดินด้วยเทคนิคต่างๆ จำนวน 8 สูตร แล้วทดสอบความเปราะและความทนทาน
13. ทดสอบผลกระทบของหินเทียมที่มีผลต่อคุณภาพน้ำและศึกษาหาวิธีแก้ไขปัญหที่เกิดขึ้น	- ศึกษาเพิ่มเติมตามข้อเสนอแนะของผู้ทรงคุณวุฒิจากการนำเสนอความก้าวหน้าโครงการ โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำและแก้ปัญหที่เกิดขึ้น
การศึกษาการผลิตหินเป็น (Live rock)	
14. คัดเลือกและเก็บสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบจากธรรมชาติ	- เก็บตัวอย่างสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ 3 ครั้ง โดยเลือกเก็บเฉพาะสาหร่ายที่มีอวัยวะสืบพันธุ์
15. ศึกษาการเหนี่ยวนำให้สาหร่ายปล่อยสปอร์และการเกาะติด	- ทดสอบการกระตุ้นให้สาหร่ายปล่อยสปอร์ด้วยการผึ่งแห้งเป็นเวลาต่างๆ
16. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเร่งการเจริญเติบโตของสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบบนหินเป็น	- ไม่อยู่ในแผน และยังไม่สามารถทำการศึกษาได้ เนื่องจากการเจริญของสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบค่อนข้างช้า ทั้งนี้ ได้รายงานในรายงานความก้าวหน้าแล้ว