

แบบสรุปผู้บริหาร (Executive Summary)

1. รายละเอียดเกี่ยวกับแผนงานวิจัย/โครงการวิจัย

1.1 แผนงานวิจัย การเพิ่มศักยภาพในการผลิตพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล ด้วยเทคโนโลยีชีวภาพ

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

มีโครงการวิจัยภายใต้แผนงานวิจัย 2 โครงการ

โครงการวิจัยที่ 1 การพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำเชิงปริมาณเพื่อการส่งออก

โครงการวิจัยที่ 2 การพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล เพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล

1.2 ชื่อคณะผู้วิจัย

1.2.1 ดร. ศาสตราจารย์ ดร.พรณศิริ ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0 2942 8740 ต่อ 302 โทรสาร 0 2942 8748

1.2.2 ดร. กาญจน์รี พงษ์ฉวี สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนา ประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพฯ โทรศัพท์/โทรสาร 0 2558 0180

1.2.3 รศ. ชัยรี แก้วสุริยจิต ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ หน่วยปฏิบัติการแพลงก์ตอนและพืชน้ำประยুক্ত สถาบันวิจัยชั้นสูงทางอาหารและการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0 2942 8701 โทรสาร 0 2940 5016

1.2.4 นายรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ สำนักวิจัยและพัฒนา ประมงน้ำจืด กรมประมง กรุงเทพฯ โทรศัพท์/โทรสาร 0 2558 0180

1.2.5 ดร. จันทนา ไพโรจน์ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ หน่วยปฏิบัติการแพลงก์ตอนและพืชน้ำประยুক্ত สถาบันวิจัยชั้นสูงทางอาหารและการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0 2942 8701 โทรสาร 0 2940 5016

1.2.6 นายสหภาพ ดอกแก้ว ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีปลาสวยงามและพรรณไม้น้ำระดับ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0 2942 8365 ต่อ 16 โทรสาร 0 2942 8365 ต่อ

18

1.3 งบประมาณและระยะเวลาทำวิจัย

ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555 จำนวนเงิน 1,495,000 บาท

ระยะเวลาทำวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ สิงหาคม 2555 ถึง กรกฎาคม 2556

2. สรุปโครงการวิจัย

ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำวิจัย

เฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความต้องการสูงทั้งตลาดในประเทศและต่างประเทศ เพื่อการประดับในตู้ปลา และตู้ปลาทะเล หรือจัดสวนพรรณไม้น้ำ การเพาะเลี้ยงเฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล ในฟาร์มมีน้อยหรือไม่สามารถขยายพันธุ์ได้ในฟาร์ม เพื่อให้ได้ต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพปริมาณมากเพียงพอสำหรับตลาดในประเทศ และส่งออก และเพื่อลดจำนวนการเก็บต้นพันธุ์จากธรรมชาติ และการนำเข้าจากต่างประเทศ การวิจัยและพัฒนาการผลิตเฟิร์นน้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเล ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การลดต้นทุนการผลิตเฟิร์นน้ำด้วยการเลี้ยงในโรงเรือนระบบ evaporative cooling system โดยใช้แสงธรรมชาติ การขยายพันธุ์สาหร่ายทะเลโดยใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ และการผลิตหินเป็น จะเป็นการผลิตเชิงปริมาณเพื่อตอบสนองความต้องการพรรณไม้น้ำ หญ้าทะเล และสาหร่ายทะเลของตลาดในประเทศ และเป็นการเพิ่มศักยภาพในการส่งออกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ (*Bolbitis heteroclita*) โดยการพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอดและรากจำนวนมาก รวมทั้งศึกษาด้านต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์เฟิร์นน้ำโดยการเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ เปรียบเทียบกับการเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบปกติ (ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และเปิดเครื่องปรับอากาศ)
2. เพื่อศึกษาหาสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเลที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในตู้ปลาทะเลและศึกษาวิธีการขยายพันธุ์และเพิ่มจำนวนสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเลในสภาพปลอดเชื้อ การขยายพันธุ์สาหร่ายทะเลโดยใช้เซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ รวมทั้งพัฒนาวัสดุยึดเกาะที่มีความเหมาะสมต่อการยึดเกาะของต้นอ่อน และการผลิตหินเป็น

วิธีวิจัยและผลการทดลอง

การพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำเชิงปริมาณเพื่อการส่งออก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่โดยการนำชิ้นส่วนใบอ่อนของรากดำใบใหญ่มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยการแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ ตามด้วยคลอโรกซ์ และเมอคิวริกคลอไรด์ เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 1000-2000 ลักซ์ 12 ชั่วโมง/วัน พบว่าต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตขึ้นมาจากชิ้นส่วนของใบอ่อนเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10-12 สัปดาห์

การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่โดยนำส่วนปลายใบอ่อนเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดัดแปลงที่มีน้ำตาลซูโครส 3% วุ้น 0.7% และผงถ่าน (activated charcoal) 0.1% เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน (BA และ kinetin) ร่วมกับออกซิน (NAA และ 2,4-D)

ความเข้มข้นต่างๆ กัน เลี้ยง เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ ในสภาพเดียวกับที่กล่าวข้างต้น พบว่าการใช้ BA ความเข้มข้น 2 μM ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1 μM สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่เจริญได้ดีที่สุด คือเกิดยอดได้เฉลี่ย 6.87 ± 1.27 ยอด มีจำนวนใบใหม่ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 10.53 ± 2.41 ใบ และมีจำนวนรากเฉลี่ย 6.93 ± 2.12 ราก

การศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS คัดแปลงที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 2 μM + 2,4-D 1 μM โดยการเลี้ยงในห้องเลี้ยงที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติที่มีการพรางแสงด้วยตาข่ายพรางแสง ให้มีระดับความเข้มของแสงต่างๆ กันคือประมาณ 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 ลักซ์ พบว่า ระดับความเข้มแสงที่เหมาะสมคือ 2500 ลักซ์ โดยสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 6.48 ± 1.62 ยอด มีจำนวนใบที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 8.63 ± 2.54 ใบ และมีจำนวนรากที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 9.85 ± 2.79 ราก เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบค่าไฟฟ้าในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิโดยใช้เครื่องปรับอากาศ และให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ พบว่ามีประมาณการค่าไฟฟ้า 67,234.21 บาท/ปี ในขณะที่โรงเรือนเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบ evaporative cooling system ที่ให้แสงธรรมชาติมีประมาณการค่าไฟฟ้า 7,291.59 บาท/ปี (ค่าไฟฟ้าต่ำกว่าประมาณ 10 เท่าของค่าไฟฟ้าในการเลี้ยงในห้องเลี้ยงแบบปกติ)

การพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล

1. หญ้าทะเลที่มีศักยภาพสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อนำมาใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเลคือ *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* สารเคมีที่นำมาใช้ฟอกฆ่าเชื้อคือ คลอโรกซ์ เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย ราคาถูก และเนื้อเยื่อหญ้าทะเลสามารถพัฒนาเจริญต่อไปได้

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

3. *Thalassia hemprichii* สามารถเพาะเลี้ยงจากเมล็ด ส่วนยอดและส่วนข้อของลำต้นได้ดินได้ ต้นอ่อนจากเมล็ดไม่สามารถแตกยอดได้มากกว่า 1 ยอด ขณะที่ ส่วนต้นอ่อนที่เกิดจากยอดและข้อของลำต้นได้ดิน สามารถพัฒนา จาก 1 ยอด เป็น 3 ยอดได้ แต่ต้นอ่อนมีขนาดเล็กเนื่องจากการเจริญเติบโตช้าในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 3 เดือน มาเลี้ยงในสภาพเลียนแบบธรรมชาติ พบว่าไม่สามารถเจริญได้เนื่องจากไม่สามารถทนต่อเชื้อราได้

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

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล

1. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อสาหร่ายทะเลที่เหมาะสม ไม่ควรใช้สารเคมีเช่นเดียวกับการฟอกฆ่าเชื้อหญ้าทะเล เนื่องจากเนื้อเยื่อของสาหร่ายทะเลมีความบอบบาง สารที่เหมาะสมจะนำมาใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อคือ ยาปฏิชีวนะชนิดและความเข้มข้นต่างๆ

2. สาหร่ายที่นำมาใช้ในการศึกษาการกระตุ้นการปล่อยสปอร์ด้วยการผึ่งแห้งและประสบความสำเร็จ คือ *Sargassum* และ *Neogoniolithon*

การพัฒนาวัสดุยึดเกาะสาหร่าย (หินเทียม) ที่มีความเหมาะสมต่อการใช้งานในตู้ทะเล

วัสดุที่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้ในการทำหินเทียมคือ ดินสอพูนที่ผสมเคลือบ 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 โดยนำสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีเซลล์สืบพันธุ์จากธรรมชาติ ผึ่งแห้งเป็นเวลา 45 นาที แล้วนำลงเลี้ยงในบ่อน้ำเค็ม 28 psu นำหินเทียมที่ผลิตได้วางรองด้านล่าง เลี้ยงต่อไปประมาณ 1 เดือน จึงจะเริ่มเห็นสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบขึ้นเป็นจุดเล็กๆ บนหินเป็น

ข้อเสนอแนะ

การพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำเชิงปริมาณเพื่อการส่งออก

การวิจัยในครั้งนี้เป็นขั้นตอนเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อรากดำใบใหญ่โดยการฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนปลายใบอ่อน จึงควรศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นอ่อนของเฟิร์นน้ำในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเชิงธุรกิจ โดยการวิจัยในขั้นตอนการ Subculture เพื่อเลี้ยง และเพิ่มปริมาณต้นอ่อนสำหรับจำหน่าย ซึ่งอาจใช้วิธีการตัดแบ่งต้นอ่อนปลอดเชื้อจากขวดแม่พันธุ์ให้เป็นกอขนาดเล็ก ลงปลูกเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสม โดยใส่ลงขวดละมากกว่า 1 กอ ซึ่งอาจจะทำให้สามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้มากขึ้น ในระยะเวลาที่สั้นลง และจากการศึกษาต้นทุนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำที่เลี้ยงในโรงเลี้ยงเนื้อเยื่อระบบ evaporative cooling system ที่ให้แสงธรรมชาติ ซึ่งได้พัฒนาขึ้นจากการวิจัยในครั้งนี้ สามารถลดต้นทุนค่าไฟฟ้า จากห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อปกติที่ใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ และเปิดเครื่องปรับอากาศเพื่อควบคุมอุณหภูมิ ได้เกือบ 10 เท่า จึงควรนำผลวิจัยไปต่อยอดศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฟิร์นน้ำชนิดอื่นได้แก่ *Microsorium pteropus* 'narrow leaves' และ *Bolbitis heudelotii* ซึ่งมีปริมาณความต้องการสูงของตลาดทั้งในประเทศ และตลาดต่างประเทศ ตลอดจนพรรณไม้น้ำชนิดที่มีความสำคัญ

ทางเศรษฐกิจอื่นๆ เนื่องจากปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการของภาคเอกชนที่เป็นธุรกิจขนาดเล็กอยู่จำนวนมาก หากได้รับการพัฒนาเทคโนโลยีที่มีการลงทุนไม่สูง ตลอดจนสามารถเพิ่มผลผลิต และลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้พลังงาน จะทำให้เพิ่มศักยภาพในการดำเนินธุรกิจขนาดเล็กได้อย่างยั่งยืน นอกจากนี้ยังสามารถผลิตต้นพันธุ์จำนวนมากที่สะอาดปลอดภัยให้กับฟาร์มผลิตพรรณไม้น้ำนำไปปลูกเลี้ยงให้ได้ผลผลิตที่ได้มาตรฐานส่งออกไป

การพัฒนาศักยภาพหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลเพื่อใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล

1. การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเล พบว่าหญ้าทะเลชนิด *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* มีความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล ซึ่งควรจะมีการพัฒนาวิธีการในการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากในห้องปฏิบัติการต่อไปอย่างต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการศึกษาที่ต้องอาศัยระยะเวลาในการพัฒนาเนื้อเยื่อในขั้นตอนต่างๆ ทำให้การศึกษาค้นคว้าได้ไม่เร็วนัก หากมีการพัฒนาจนได้ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าทะเลสำเร็จ จะเป็นประโยชน์ต่อการประยุกต์ใช้ประโยชน์และการอนุรักษ์หญ้าทะเลในอนาคต

2. สาหร่ายทะเลที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ในตู้ปลาทะเล คือสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถกระตุ้นให้ปล่อยสเปอร์ได้ในห้องปฏิบัติการ และเมื่อนำหินเทียมที่ผลิตได้จากการศึกษามาวางให้สเปอร์ลงเกาะ พบว่ามีการลงเกาะและเจริญได้ ซึ่งควรจะมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สามารถพัฒนาการผลิตหินเป็นและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้จริง

3. การพัฒนาหินเทียมให้มีสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบยึดเกาะหรือมีสัตว์ต่างๆเกาะ เป็นการศึกษาที่ต้องอาศัยเวลาในการเลี้ยงเนื่องจากสาหร่ายกลุ่มนี้มีการเจริญเติบโตที่ช้ามาก โดยก่อนสาหร่ายที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 เซนติเมตร อาจมีอายุกว่า 100 ปี ดังนั้น หากเก็บสาหร่ายดังกล่าวมาใช้เลี้ยงในตู้ปลาทะเล จะเป็นการทำลายสาหร่ายกลุ่มนี้ซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสามารถกักเก็บคาร์บอนจากน้ำทะเลให้อยู่ในรูปแคลเซียมคาร์บอเนต หากสามารถพัฒนาหรือเร่งการเลี้ยงสาหร่ายกลุ่มนี้ให้เกาะเคลือบหินเทียมซึ่งขึ้นรูปให้คล้ายกับหินเป็นธรรมชาติ หรือคล้ายกับก้อนสาหร่ายสีแดงที่มีหินปูนเป็นองค์ประกอบ จะช่วยลดการเก็บจากธรรมชาติและเพิ่มโอกาสในการนำสาหร่ายไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเลต่อไป

3. บทคัดย่อ

การวิจัยและพัฒนาการขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำ หญาทะเล และสาหร่ายทะเลเชิงปริมาณโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นอ่อนที่คุณภาพ จะเป็นการตอบสนองความต้องการของตลาดในประเทศลดการเก็บต้นพันธุ์จากธรรมชาติ ลดการนำเข้า และยังสามารถส่งออกไปยังต่างประเทศได้

การขยายพันธุ์เฟิร์นน้ำรากดำใบใหญ่ *Bolbitis heteroclita* (Presl) Ching ex. C. Chr. ทำได้โดยนำชิ้นส่วนใบอ่อนในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร 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 จากนั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชิ้นส่วนใบอ่อนบนอาหารสังเคราะห์ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตสูตรที่เหมาะสม ในโรงเรือนที่ใช้ระบบ evaporative cooling system และใช้แสงธรรมชาติ ระดับความเข้มแสงต่างๆกันคือ 500, 1000, 1500, 2000 และ 2500 ลักซ์ เลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการ และเปรียบเทียบต้นทุนของการเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพทั้งสอง

ผลการศึกษาพบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, kinetin, NAA และ 2,4-D มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด และใบอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยอาหารสังเคราะห์สูตรที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดและใบได้แก่อาหารกึ่งแข็งสูตร 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 และให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ มีค่าไฟฟ้า 67,234.21 บาท/ปี ในขณะที่โรงเรือนขนาดพื้นที่เท่ากัน ที่ใช้ evaporative cooling system และให้แสงธรรมชาติ มีค่าไฟฟ้าเพียง 7,291.59 บาท/ปี

การพัฒนาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญาทะเล การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล การผลิตหินเทียมและหินเป็น เพื่อนำไปใช้ในธุรกิจตู้ปลาทะเล จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญาทะเล พบว่า หญาทะเลชนิด *Enhalus acoroides* และ *Thalassia hemprichii* เป็นหญาทะเลที่มีศักยภาพในการนำไปใช้เลี้ยงในตู้ปลาทะเลในอนาคต เมล็ดหญาทะเลชนิด *Enhalus acoroides* สามารถเจริญได้ภายใต้สภาพปลอดเชื้อและสามารถเจริญได้ดีในตู้เลี้ยงปลา หญาทะเล *Thalassia hemprichii* ใช้เมล็ด และส่วนยอดหรือข้อของลำต้นได้ดินมาใช้ใน

การเพาะเลี้ยง ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอดและส่วนข้อของลำต้นไต้ดินสามารถเจริญเพิ่มจำนวนยอดได้เป็นต้นอ่อน 3 ต้น ในสภาพปลอดเชื้อ แต่ยังไม่สามารถรอดชีวิตเมื่อนำลงเลี้ยงในตู้เลี้ยงปลา

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายทะเล การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อสาหร่ายทะเลทำได้โดยใช้ส่วนผสมของยาปฏิชีวนะชนิดต่างๆ ร่วมกับการใช้ Germanium Dioxide ในระยะเวลาที่เหมาะสม เทคนิคการฝังแห้งสามารถกระตุ้นให้สาหร่ายสกุล *Sargassum* และ *Neogoniolithon* ปลอ่ยไข่และสปอร์ได้

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

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 μ M BA or kinetin in combination with 0, 1, 2 and 4 μ M 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 and the electricity costs from both (laboratory and greenhouse) conditions.

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 μ M BA in combination with 1 μ M 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 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.