รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำตาล สกุล *Sargassum* C. Agardh (ภายใต้ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี)

ธิดารัตน์ น้อยรักษา

Hisao Ogawa

วิภูษิต มัณฑะจิต

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 158879
สัญญาเลขที่ 4/2557

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีน้ำตาล สกุล *Sargassum* C. Agardh (ภายใต้ โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี)

ธิดารัตน์ น้อยรักษา
Hisao Ogawa
วิภูษิต มัณฑะจิต

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
National Taiwan Ocean University
ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

กันยายน พ.ศ. 2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 4/2557 ขอขอบคุณโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และหน่วยบัญชาการสงครามพิเศษทางเรือ กองเรือยุทธการ กองทัพเรือ ให้การสนับสนุนในการเก็บต้นพันธุ์สาหร่ายในภาคสนาม

บทคัดย่อ

สาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล *Sargassum* ในประเทศไทยนับว่าเป็นสาหร่ายที่มีขนาดใหญ่ที่สุด มีการแพร่กระจายทั้งทะเลฝั่งอ่าวไทยและทะเลอันดามัน จึงมีความสำคัญต่อระบบนิเวศชายฝั่ง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาหร่าย *Sargassum oligocystum* จากต้นอ่อนเพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยใช้อาหารเลี้ยงพรรณไม้น้ำ Plant Nutrition^{+} liquid (Tropica® AQUACARE, www.tropica.com) ที่ความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 µM การทดลองละ 4 ซ้ำ ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ 25 °c ความเข้มแสง 85 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์ ผลการวิเคราะห์ Chi-square test พบว่าความเค็มและสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 10-15 µM และ 2,4-D 1-5 µM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่าความเค็ม 25 และ 30 psu

การเพาะเลี้ยงแผ่นใบขนาดกว้าง 3-5 mm เพาะเลี้ยงที่ความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA, 2,4-D และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ ผลการวิเคราะห์ Two-way ANOVA พบว่าชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) BA และ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า 2,4-D สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA ร่วมกับ 2,4-D

การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล *Sargassum* นอกห้องปฏิบัติการ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3} มีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 2.68±0.17 % day^{-1} ในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยง

Abstract

Sargassum C. Agardh (Sargassaceae, Fucales), a very large brown algal genus in Thai waters, is widely distributed in the Gulf of Thailand and the Andaman Sea**.** *Sargassum* bed play an important role in marine coastal ecosystems. Multiple shoots of *Sargassum oligocystum* were induced from young thalli on Plant Nutrition^{+} liquid (Tropica® AQUACARE, www.tropica.com) supplemented with salinity in concentrations of 25, 30 and 35 psu. Plant growth regulators were 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) in concentrations of 0, 1, 5, 10 and 15 µM. Their cultures were done under following conditions: 25 °C in temperature, 85 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ in irradiance, 12h:12h (L:D) in photoperiod. Each treatment was tested with four replicates, and statistical analyses were performed using chi-square tests. After culturing in different media for 10 weeks, the results indicated that the shoots formation are significantly different among salinities and plant growth regulators ($P<0.05$). Effects of salinity at 35 psu and plant growth regulators: BA 10-15 µM and 2,4-D 1-5 µM stimulated the shoot formation more than cultured at 25 and 30 psu.

Multiple shoots were induced from young leaves 3-5 mm wide with salinity in concentration 35 psu. Plant growth regulators were BA, 2,4-D and NAA in various concentrations**.** The statistical analyses were performed using Two-way ANOVA tests. After culturing in different media for 12 weeks, the results indicated that the shoots formation are significantly different among plant growth regulators ($P<0.05$). Effects of BA, NAA and BA+NAA stimulated the shoot formation more than cultured at 2,4-D and/or BA+2,4-D.

The growth rate of the seedlings cultivated in the nursery with seawater was clearly greater than seawater mixed with urea fertilizer 4 gm^{-3}. The maximum growth rate (2.68±0.17 % day^{-1}) obtained from cultivated with seawater at 14th day of the culture period.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฆ
สารบัญเรื่อง	ค
สารบัญตาราง	ฅ
สารบัญภาพ	ฆ
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	4
ผลการวิจัย	7
อภิปรายผลการวิจัย	18
สรุปและข้อเสนอแนะ	19
ผลผลิต	23
บรรณานุกรม	24
ประวัตินักวิจัยและคณะ	26

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาการชักนำให้เกิดยอด 6
ตารางที่ 2 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ 6

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ต้นพันธุ์สาหร่าย; (a) *Sargassum aquifolium*, (b) *Sargassum oligocystum* 4
ภาพที่ 2 สถานที่เก็บต้นพันธุ์สาหร่าย; (a) หาดนางรอง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี, (b) อ่าวทองหลาง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ 4
ภาพที่ 3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. oligocystum*; (a) เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต้นอ่อนสาหร่าย 3 เดือน, (b) เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต้นอ่อนสาหร่าย 4 เดือน, (c) เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการที่เกาะแสมสาร, (d) ต้นอ่อนสาหร่าย 6 เดือน 7
ภาพที่ 4 สาหร่าย *S. aquifolium* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Plant Nutrition^{+} liquid (Tropica® AQUACARE) อุณหภูมิ 25 ℃ ความเข้มแสง 85 μmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง; (a) 1 วัน, (b) 7 วัน (หัวลูกศร=ไรซอยด์), (c) 14 วัน, (d) 30 วัน 8
ภาพที่ 5 สาหร่าย *S. oligocystum* เพาะเลี้ยงในอาหาร Plant Nutrition^{+} liquid (Tropica® AQUACARE) อุณหภูมิ 25 ℃ ความเข้มแสง 85 μmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง; (a) 1 วัน, (b) 7 วัน (หัวลูกศร=ไรซอยด์), (c) 14 วัน, (d) 30 วัน 9
ภาพที่ 6 การพัฒนาการเกิดยอดของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 μM 9
ภาพที่ 7 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอด ของสาหร่าย *S. oligocystum*; (a) ความเค็ม 25 psu BA 1 μM, (b) ความเค็ม 25 psu BA 10 μM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่), (c) ความเค็ม 30 psu BA 1 μM, (d) ความเค็ม 30 psu BA 5 μM, (e) ความเค็ม 35 psu BA 1 μM, (f) ความเค็ม 35 psu BA 10 μM 10
ภาพที่ 8 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดของสาหร่าย *S. oligocystum*; (a) ความเค็ม 25 psu 2, 4-D 5 μM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่), (b) ความเค็ม 30 psu 2, 4-D 5 μM, (c) ความเค็ม 30 psu 2, 4-D 10 μM (ลูกศรตรง=ไรซอยด์), (d) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 1 μM, (e) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 5 μM, (f) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 10 μM 11

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 9 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดของสาหร่าย *S. oligocystum*; (a) ความเค็ม 30 psu NAA 5 µM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่, ลูกศรตรง=ไรซอยด์), (b) ความเค็ม 30 psu NAA 10 µM, (c) ความเค็ม 30 psu NAA 15 µM, (d) ความเค็ม 35 psu NAA 5 µM, (e) ความเค็ม 35 psu NAA 10 µM, (f) ความเค็ม 35 psu NAA 15 µM 12

ภาพที่ 10 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4_D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย± standard error) 14

ภาพที่ 11 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ระดับความเค็ม 35 psu โดยการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA กับกลุ่มออกซิน (Auxin) คือ 2,4-D และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย± standard error) 14

ภาพที่ 12 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการชักนำยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ความเค็ม 35 psu; (a) BA 20 µM (ลูกศร=แผ่นใบ, หัวลูกศร=ยอดที่เกิดใหม่), (b) 2,4-D 1 µM, (c) NAA 20 µM, (d) BA 30 µM ร่วมกับ 2,4-D 1 µM, (e) BA 1 µM ร่วมกับ NAA 1 µM, (f) BA 1 µM ร่วมกับ NAA 5 µM (ลูกศร=ปุ่มเล็ก ๆ จำนวนมากที่จะพัฒนาเป็นยอด) 15

ภาพที่ 13 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) คือ GA และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA (ค่าเฉลี่ย± standard error) 16

ภาพที่ 14 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในการพัฒนาปุ่มยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย *S. oligocystum* ที่ความเค็ม 35 psu; (a1) GA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 1), (a2) GA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 6), (b1) GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 1), (b2) GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 6) 16

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 15 เพาะเลี้ยงสาหร่าย *S. oligocystum* นอกห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 5 สัปดาห์; (a) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเล, (b) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียความเข้มข้น 4 gm^{-3} 17

ภาพที่ 16 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย *S. oligocystum* ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย± standard error) 18

ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพของน้ำทะเลกับของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย *S. oligocystum* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียความเข้มข้น 4 กรัมต่อตัน; (a) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, (b) อุณหภูมิ, (c) ความเข้มแสง, (d) ความเค็ม, (e) ความเป็นกรด-ด่าง 19

ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางเคมีของน้ำทะเลกับของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย *S. oligocystum* ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียความเข้มข้น 4 กรัมต่อตัน; (a) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, (b) แอมโมเนีย, (c) ไนไตรท, (d) ไนเตรท, (e) ฟอสเฟต (■ คุณภาพน้ำหลังเปลี่ยนน้ำใหม่) 20

บทนำ

ประเทศไทยอยู่ในภูมิภาคเขตร้อน มีชายฝั่งทะเลทอดยาวประมาณ 2,650 กิโลเมตร ประกอบด้วยชายฝั่งทะเลอ่าวไทย 1,880 กิโลเมตร ซึ่งตั้งอยู่ในทะเลจีนใต้ มหาสมุทรแปซิฟิก และชายฝั่งทะเลอันดามัน 770 กิโลเมตร ในมหาสมุทรอินเดีย ซึ่งมีความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายทะเลทั้งสองฝั่งทะเล เนื่องจากลักษณะภูมิประเทศและภูมิอากาศมีความเหมาะสมต่อการการเจริญเติบโตของสาหร่ายเป็นอย่างดี Lewmanomont. et al. (1995) ได้ทำการรวบรวมชนิดสาหร่ายทะเลที่มีผู้เคยทำการสำรวจในประเทศไทย พบว่ามีจำนวนทั้งสิ้น 333 ชนิด 132 สกุล ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Division Cyanophyta) 63 ชนิด สาหร่ายสีเขียว (Division Chorophyta) 91 ชนิด สาหร่ายสีน้ำตาล (Division Phaeophyta) 48 ชนิด และสาหร่ายสีแดง (Division Rhodophyta) 131 ชนิด เป็นชนิดที่พบในอ่าวไทย 254 ชนิด และพบที่ทะเลอันดามัน 149 ชนิด มีเพียง 77 ชนิด ที่พบทั้งฝั่งอ่าวไทยและทะเลอันดามัน สาหร่ายสกุล Sargassum มีชื่อท้องถิ่นต่างๆกัน อาทิ สาหร่ายทุ่น สาหร่ายใบ หรือสาย ความสำคัญของสาหร่าย Sargassum ในระบบนิเวศ นับว่าเป็นผู้ผลิตเบื้องต้น รวมทั้งเป็นแหล่งวางไข่ อนุบาล หลบภัย และแหล่งอาหารของสัตว์น้ำวัยอ่อน ช่วยดูดซับสารอาหาร เป็นตัวปรับสภาพน้ำให้น้ำมีคุณภาพดีขึ้น และรักษาสมดุลของระบบนิเวศทางทะเล สาหร่าย Sargassum สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ อาทิ ชาวจีนเป็นชาติที่รู้จักนำสาหร่ายสกุลนี้มาใช้เป็นยานานกว่าพันปีมาแล้ว โดยใช้เป็นยารักษาคอพอก เนื่องจากมีปริมาณไอโอดีนสูง นอกจากนี้ยังนำสาหร่าย Sargassum ตากแห้งมาชงน้ำดื่มแก้ร้อนในและลดไข้ ร้านขายยาจีนบางร้าน ในกรุงเทพฯ ยังมีสาหร่าย Sargassum แห้งขาย ใช้ชื่อว่า "*ไฮเฉ้า*" ในประเทศที่มีสาหร่าย Sargassum ขึ้นอยู่หนาแน่น สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัด alginate หรือ algin ซึ่งเป็นสารแขวนลอยใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิ อุตสาหกรรมนม ไอสครีม ขนมปัง ขนมหวาน และลูกกวาด อุตสาหกรรมทำกระดาษป้องกันการซึมของหมึกทำให้เห็นตัวพิมพ์ชัดเจนขึ้น อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง เช่น แชมพูสระผม ครีมโกนหนวด และโลชั่นต่างๆ ทำปุ๋ย ผสมในอาหารสัตว์เพื่อสร้างภูมิคุ้มกันโรคต่างๆ และยังนำส่วนของยอดอ่อนมาประกอบอาหารรับประทานได้หลายชนิด (กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์, 2527; 2550) สำหรับงานวิจัยทางด้านสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า S. coreanum และ S. siliquastrum สามารถยับยั้ง Tumor cell lines ชนิด LU937, HL60 และ HeLa cell (Kim et al., 2006) สำหรับการศึกษาในประเทศไทย พบว่าฤทธิ์ของสารสกัดจากสาหร่าย S. binderi และ S. oligocystum สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็งปากมดลูก (HeLa) และกระตุ้นอะโพโทซิส โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 90 และ 132 $\mu g\ ml^{-1}$ ตามลำดับ (Saengkhae, et al., 2010; จันทรวรรณ แสงแข และคณะ, 2553)

ในปัจจุบันปัญหาภาวะโลกร้อน (Global Warming) หรือภาวะภูมิอากาศเปลี่ยนแปลง (Climate Change) เป็นปัญหาใหญ่ของโลกสังเกตได้จากอุณหภูมิของโลกที่สูงขึ้นเรื่อยๆ สาเหตุหลักมาจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือ มีเทนจะกักเก็บความร้อนบางส่วนไว้ ไม่ให้สะท้อนกลับสู่บรรยากาศทั้งหมดจนเกิดเป็นภาวะโลกร้อน คณะนักวิจัยชาวญี่ปุ่นได้มีแนวคิดร่วมกันถึงสาหร่ายทะเลสามารถช่วยลดภาวะโลกร้อนได้ จึงเริ่มให้ความสนใจสาหร่าย Sargassum ที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วและช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้เป็นอย่างดี พบว่าในแหล่งสาหร่าย Sargassum พื้นที่ 857 Km^{-2} สามารถดูดซับคาร์บอนได้ประมาณ $3.46X10^{5}$ TonC $Year^{-1}$ (Muraoka, 2004)

ในน่านน้ำไทยปริมาณสาหร่าย Sargassum ในธรรมชาติลดลงจากเดิมมาก เนื่องจากพื้นที่ชายฝั่งถูกทำลาย ทำให้สาหร่ายมีพื้นที่ยึดเกาะลดลง รวมทั้งปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของ

ชนิดสาหร่าย Sargassum ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาบริเวณฝั่งทะเลอ่าวไทย ส่วนทางทะเลฝั่งอันดามันมีค่อนข้างน้อย และพื้นที่ศึกษาส่วนใหญ่เป็นบริเวณชายฝั่ง ซึ่งบริเวณเกาะต่างๆนั้นมีการศึกษาค่อนข้างน้อย สำหรับข้อมูลทางด้านเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum ได้ทราบข้อมูลจากผู้เชี่ยวชาญทางด้านสาหร่ายของประเทศไทยคือ ศาสตราจารย์ ดร. กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์ ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ว่าเคยมีนักวิจัยจากประเทศญี่ปุ่นมาทำวิจัยร่วมกับสถาบัน Southeast Asian Fisheries Development Center (SEAFDEC) ทำการย้ายปลูกสาหร่าย Sargassum ที่ตำบลบ้านเพ อำเภอเมือง จังหวัดระยอง แต่โครงการยังไม่แล้วเสร็จ หลังจากนั้นยังไม่มีผู้ศึกษาวิจัยต่ออีก เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาวิจัยการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum ในประเทศไทย จึงได้รวบรวมจากงานวิจัยในต่างประเทศ ได้แก่ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสภาพปลอดเชื้อของสาหร่าย Sargassum confusum ที่เก็บจากบริเวณชายฝั่ง Ohoma ประเทศญี่ปุ่น โดยใช้เนื้อเยื่อจากส่วนที่ใช้ยึดเกาะ (holdfast) ลำต้น และกิ่ง ตัดเป็นชิ้นขนาด 3x3x3 mm เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Modified Grund Medium (McLachlan 1973) ที่อุณหภูมิ 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ^{o}c ความเข้มแสง 0, 10, 20, 40 และ 80 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเกิดการพัฒนาของเนื้อเยื่อสามแบบคือ เป็นเส้นสีขาวหรือเหลืองอ่อน เป็นก้อน (callus) และเป็นต้นอ่อน ซึ่งลักษณะของเนื้อเยื่อที่เป็นเส้นพบทั้งสามส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยง ลักษณะเป็นก้อนพบในส่วนของที่ใช้ยึดเกาะและลำต้น ลักษณะต้นอ่อนพบเฉพาะส่วนของลำต้น โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของต้นอ่อนในส่วนของลำต้นคืออุณหภูมิ 20 ^{o}c ความเข้มแสง 80 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ หลังจากนั้นนำต้นที่ได้ ขนาดยาว 1 mm เพาะเลี้ยงต่อไป และพบว่าที่ อุณหภูมิ 25 ^{o}c มีการเจริญเติบโตดี ต้นมีขนาดยาว 50 mm มีใบ 8-10 ใบ ภายใน 6 สัปดาห์ แต่ไม่พบการพัฒนาของรากหรือส่วนที่ใช้ยึดเกาะ แล้วนำต้นใหม่ขนาดยาว 5 mm สอดเข้าไปในเส้นเชือกนำไปเพาะเลี้ยงในทะเลที่ระดับความลึก 1-3 m หลังจาก 14 สัปดาห์พบว่าที่ระดับความลึก 1 m กิ่งมีความยาว 21.4 cm มีกิ่ง 5 กิ่ง มีใบ 31 ใบซึ่งมีพัฒนาการดีกว่าที่ความลึกระดับอื่นๆ พร้อมทั้งพบการสร้างอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่ระดับความลึก 1 และ 2 m (Kirihara et al., 1997) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum horneri และ S. filicinum ภายในห้องปฏิบัติการ พบว่าที่อุณหภูมิ 20 หรือ 25 ^{o}c ความเข้มแสง 100 µEm^{-2}s^{-1} และ 15 ^{o}c ความเข้มแสง 25 µEm^{-2}s^{-1} เหมาะต่อการเจริญของต้นอ่อน (Yoshida et al., 1999) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum fulvellum โดยนำต้นพันธุ์จากธรรมชาติที่มีอวัยวะสืบพันธุ์ โดยตัดเอาอวัยวะสืบพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 5, 10, 15, 20 และ 25 ^{o}c ความเข้มแสง 20, 50, 80 และ 100 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ระยะเวลาให้แสง 16:8 ชั่วโมง (ให้แสง:ไม่ให้แสง) อาหารเพาะเลี้ยงสูตร PESI ศึกษาระยะสมบูรณ์เพศภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการณ์ พบว่า สภาวะอุณหภูมิ 20 ^{o}c ความเข้มแสง 80 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ มีอัตราการปล่อยไข่ร้อยละ 97 ส่วนต้นสาหร่ายนำไปยึดไว้กับท่อพีวีซีที่มีความยาว 150 cm ในถังคอนกรีตปริมาตร 2 ตัน เป็นเวลา 2 เดือน ให้อากาศตลอดเวลา เมื่อต้นสาหร่ายผสมพันธุ์จนได้ต้นอ่อนเกาะอยู่ที่อวัยวะสืบพันธุ์ ต้นอ่อนจะถูกแยกออกจากต้นพันธุ์เดิม แล้วนำไปเพาะเลี้ยงโดยใช้แปรงขุดต้นอ่อนที่แยกออกมาแล้วป้ายลงบนแผ่นเฟรมที่มีเส้นใยผสมระหว่าง nylon และ polypropylene ข้อสำคัญเส้นใยควรจะแห้งเมื่อป้ายต้นอ่อนลงไปเส้นใยจะได้ดูดซับต้นอ่อนเอาไว้ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในถัง 1 เดือน มีความยาวเฉลี่ย 5.2 mm แล้วย้ายแผ่นเฟรมที่มีต้นอ่อนไปปรับสภาพในทะเลบริเวณที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ต้นอ่อนมีความยาวเพิ่มขึ้น 1-3 cm หลังจากนั้นนำเส้นใยออกจากแผ่นเฟรม แล้วพันเข้ากับเส้นเชือกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 10 mm เพาะเลี้ยงบนเส้น

เชือก ที่ระดับน้ำลึก 1 m พบว่าเมื่ออุณหภูมิลดลงการเจริญเติบโตของสาหร่ายมีมากขึ้น (Hwang et al., 2006) พร้อมทั้งได้ศึกษาการเจริญเติบโตของสาหร่าย Sargassum fulvellum บริเวณ Wando ชายฝั่งตะวันตกเฉียงใต้ ประเทศเกาหลี โดยศึกษาปัจจัยต่างๆได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม การนำไฟฟ้า (conductivity) ความเข้มแสงที่ส่องผ่านลงในน้ำระดับต่างๆ และอัตราการสังเคราะห์แสง โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ระยะ คือ ระยะที่ 1 ต้นยาว 0.5-2 cm ระยะที่ 2 ต้นยาว 2-10 cm ระยะที่ 3 ต้นยาว 0.7-2 m การเพาะเลี้ยงในทะเลใช้วิธีเลี้ยงบนเส้นเชือกความยาว 100 m ที่ระดับความลึก 0.5-3.0 m ระยะที่ 1 และ 2 วัดความยาวต้นและชั่งน้ำหนัก ทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 28 วัน นับจำนวนใบต่อต้น จำนวนต้นที่ใช้ศึกษา 100-150 ต้นต่อการทดลอง ระยะที่ 3 วัดความยาวต้น และชั่งน้ำหนัก ทุกๆ 14 วัน เป็นเวลา 120 วัน จำนวน 140 ต้น วัดอัตราการสังเคราะห์แสงด้วยเครื่อง PAM-2000 เป็นเวลา 28 วัน จากการศึกษาพบว่า ระยะที่ 1 ที่ระดับความลึก 1.5 m ความเข้มแสง 488±57 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ มีความยาวต้นและน้ำหนักมากกว่าความลึกที่ระดับอื่นๆ ระยะที่ 2 ที่ระดับความลึก 1 m ความเข้มแสง 845±169 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ความยาวต้นและจำนวนใบต่อต้นมีมากกว่าความลึกระดับอื่นๆ ส่วนระยะที่ 3 ความยาวต้นไม่มีความแตกต่างที่ระดับความลึก (Hwang et al., 2007) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Hizikia fusiformis (Sargassum fusiformis) ในระบบฟาร์มที่เมือง Doungtou ประเทศจีน เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีต้นเพศผู้และเพศเมียแยกกันจึงมีปัญหาในความพร้อมของเซลล์สืบพันธุ์ที่จะมาผสมกัน ในเดือนมกราคมนำต้นพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในฟาร์มที่ระดับน้ำสูง 1.2 m จนถึงเดือนเมษายนสาหร่ายเริ่มสร้างอวัยวะสืบพันธุ์ ต่อมาในเดือนพฤษภาคมและมิถุนายน เป็นช่วงที่น้ำมีอุณหภูมิ 18-20 ^{o}c ต้นมีขนาดยาวประมาณ 1 m ซึ่งเป็นช่วงอวัยวะสืบพันธุ์มีความสมบูรณ์เต็มที่ โดยใช้ต้นพันธุ์ 1:1 ความหนาแน่น 3 kg m^{-2} ใช้เวลา 1 สัปดาห์ ในการผสมพันธุ์โดยมีการตรวจสอบเซลล์สืบพันธุ์ที่ปล่อยออกมาอย่างสม่ำเสมอ หลังจากพัฒนาเป็นต้นอ่อน (embryo) ได้ 3 วัน จึงแยกออกมาบ่อพ่อแม่พันธุ์ โดยพบว่ามีจำนวนต้นอ่อน 5.5x10^{8} ต้น จากต้นแม่ 100 kg (0.06-0.4x10^{8} ต้นอ่อนต่อต้นแม่ 1 ต้น) เพาะเลี้ยงต้นอ่อนให้เกาะกับเส้นเชือกในบ่อคอนกรีตเป็นเวลา 35 วัน ต้นมีขนาด 3.5 mm มีใบ 2-3 ใบ จึงย้ายต้นอ่อนลงเพาะเลี้ยงต่อในทะเลโดยขึงเชือกขนานกับพื้นหลังจากเพาะเลี้ยงในทะเลได้2เดือนต้นมีความยาว 5 cm (Pang et al., 2008) การเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum thunberrgii ในห้องปฏิบัติการภายใต้อุณหภูมิ 10-25 ^{o}c ความเข้มแสง 9-88 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ด้วยหลอดไฟแสงสีน้ำเงิน และสีขาว จากการศึกษาพบว่าในสภาวะอุณหภูมิ 20 ^{o}c ความเข้มแสง 44 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง การพัฒนาของต้นอ่อนดีกว่าระดับอื่นๆ มีความยาว 2-3 mm หลังจากเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 10 ^{o}c ทำให้การเจริญเติบโตช้า สำหรับหลอดไฟแสงสีขาวช่วยให้การเจริญเติบโตดีกว่าแสงสีน้ำเงิน (Zhao et al., 2008)

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ฮอร์โมนช่วยเพิ่มปริมาณต้นอ่อนและการเตรียมต้นอ่อนก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในธรรมชาติ งานวิจัยนี้เป็นงานสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี เป็นประโยชน์ในด้านการพัฒนาฐานข้อมูลที่สำคัญเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum และพัฒนาการเพาะเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ ให้กับหน่วยงานภาครัฐและเอกชน

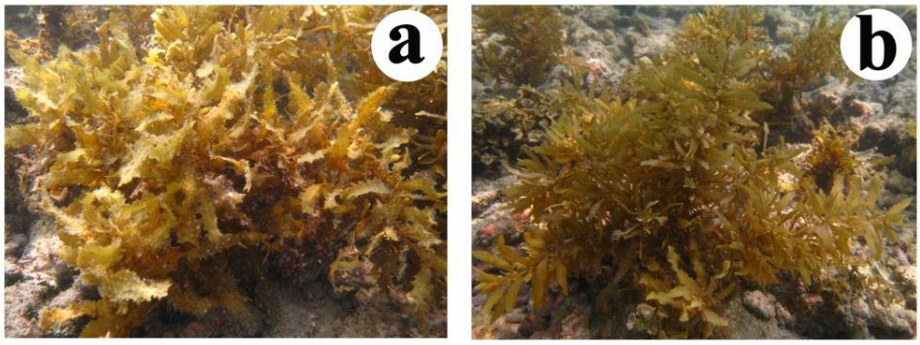
วิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน คือ การศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ และภายนอกห้องปฏิบัติการ

- การศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
- การศึกษาภายนอกห้องปฏิบัติการ: เกาะแสมสาร อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

<u>วิธีการศึกษาภายในห้องปฏิบัติการ</u>

1. นำต้นพันธุ์สาหร่าย Sargassum aquifolium และ S. oligocystum (ภาพที่ 1) จากธรรมชาติบริเวณหาดนางรอง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี และอ่าวทองหลาง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (ภาพที่ 2) ที่สมบูรณ์เพศและพร้อมจะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ นำกลับมาที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อเก็บต้นอ่อน



ภาพที่ 1 ต้นพันธุ์สาหร่าย; (a) Sargassum aquifolium, (b) Sargassum oligocystum

ภาพที่ 2 สถานที่เก็บต้นพันธุ์สาหร่าย; (a) หาดนางรอง อำเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี, (b) อ่าวทองหลาง อำเภอบางสะพาน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

2. การเตรียมต้นอ่อนสาหร่ายโดยเพาะเลี้ยงต้นอ่อนสาหร่าย Sargassum ในน้ำทะเลนึ่งฆ่าเชื้อร่วมกับอาหารที่ใช้เลี้ยงพรรณไม้น้ำ Plant Nutrition+ liquid (Tropica® AQUACARE, www.tropica.com) อุณหภูมิ 25 ^{o}c ความเข้มแสง 85 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง

3. การเพาะเลี้ยงต้นอ่อน นำต้นอ่อนมีอายุประมาณ 5-6 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 µM (การทดลองละ 4 ซ้ำ)

วิเคราะห์ข้อมูล คือการแสดงผลของความเค็ม และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอด ใช้การวิเคราะห์ Chi-square test เป็นการเปรียบเทียบข้อมูลในลักษณะแจกแจงความถี่ระหว่างการเกิดยอด และไม่เกิดยอด

4. การเพาะเลี้ยงแผ่นใบ นำต้นอ่อนมีอายุประมาณ 8-10 สัปดาห์ ตัดแผ่นใบมีขนาดกว้าง 3-5 **mm** เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ตารางที่ 1) การทดลองละ 5 ซ้ำ

วิเคราะห์ข้อมูลแบ่งออกเป็น 2 ชุด คือ

- การวิเคราะห์ความแปรปรวนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) และความเข้มข้นต่อการชักนำให้เกิดยอด ด้วยวิธี Two-way analysis of variance (Two-way ANOVA)
- การวิเคราะห์ความแปรปรวนการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA กับกลุ่มออกซิน (Auxin) คือ 2,4-D และ NAA และความเข้มข้นต่อการชักนำให้เกิดยอด ด้วยวิธี Two-way analysis of variance (Two-way ANOVA)

5. นำยอดใหม่ที่เกิดจากแผ่นใบในข้อที่ 4 เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับความเค็ม 35 พีเอสยู ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) คือ Gibberellic acid (GA) และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ 2 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM เพื่อพัฒนาปุ่มยอดอ่อนให้เป็นยอดที่สมบูรณ์ขึ้น การทดลองละ 10 ซ้ำ

วิเคราะห์ความแปรปรวนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM ต่อการพัฒนาปุ่มยอดอ่อนให้เป็นยอดที่สมบูรณ์ ด้วยวิธี One-way analysis of variance (One-way ANOVA)

ตารางที่ 1 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการศึกษาการชักนำให้เกิดยอด

สารควบคุมการเจริญเติบโต (µM)						
BA	2,4-D	NAA	BA+2,4-D	BA+2,4D	BA+NAA	BA+NAA
1	1	1	1+1	1+5	1+1	1+5
10	10	10	10+1	10+5	10+1	10+5
20	20	20	20+1	20+5	20+1	20+5
30	30	30	30+1	30+5	30+1	30+5
40	40	40	40+1	40+5	40+1	40+5

วิธีการศึกษานอกห้องปฏิบัติการ

1. นำต้นอ่อนสาหร่ายจากห้องปฏิบัติการอายุประมาณ 6 เดือน เพาะเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาส ปริมาตร 500 L (ภาพที่ 3) โดยแบ่งการทดลอง 2 ชุดการทดลอง (การทดลองละ 2 ซ้ำ)

ชุดการทดลองที่ 1 น้ำทะเล

ชุดการทดลองที่ 2 น้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3}

วัดการเจริญเติบโตโดยสุ่มวัดความกว้างทรงพุ่มของต้นอ่อนสาหร่ายจำนวน 15 ต้น ทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ วิเคราะห์ข้อมูลอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) หน่วยเป็น % day^{-1}

$$SGR = \frac{\ln Wt - \ln Wo}{t} \times 100$$

โดย W_t = ความกว้างทรงพุ่มของต้นอ่อนเฉลี่ย เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (mm)

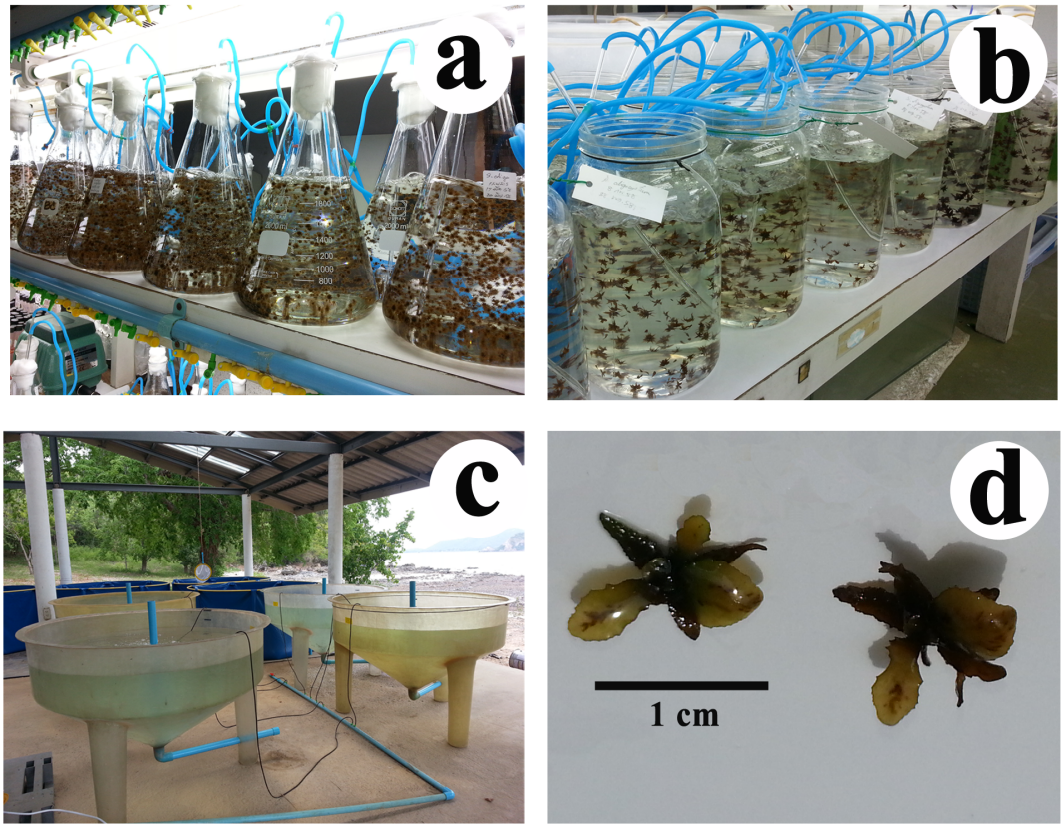
W_o = ความกว้างทรงพุ่มของต้นอ่อนเฉลี่ย เมื่อเริ่มต้นการทดลอง (mm)

t = เวลาของการทดลอง (วัน) ดัดแปลงจาก Luhan and Sollesta (2010)

2. เก็บข้อมูลปัจจัยทางกายภาพและปัจจัยทางเคมีของคุณภาพน้ำทะเลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (ตารางที่ 2) โดยเก็บข้อมูลทุก 7 วัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์และวิธีวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

พารามิเตอร์	หน่วย	วิธีวิเคราะห์	อ้างอิง
อุณหภูมิ	℃	Data Loggers	HOBO Pendant UA-002-64
ความเข้มแสง	µmol photons $m^{-2}s^{-1}$	Data Loggers	HOBO Pendant UA-002-64
ความเป็นกรด-ด่าง	-	pH meter	Metter Toledo pH Five Go
ความเค็ม	psu	Hand refractometer	ATAGO 508 IIW
แอมโมเนียทั้งหมด	µg N L^{-1}	Phenol-hypochlorite	Grasshoff et al.(1983)
ไนไตรท	µg N L^{-1}	Diazotization	Strickland and Parsons (1972)
ไนเตรท	µg N L^{-1}	Cadmium reduction + diazotization	Strickland and Parsons (1972)
ฟอสเฟต	µg P L^{-1}	Ascorbic acid	Strickland and Parsons (1972)



ภาพที่ 3 การเพาะเลี้ยงสาหร่าย S. oligocystum; (a) เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต้นอ่อนสาหร่าย 3 เดือน, (b) เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการต้นอ่อนสาหร่าย 4 เดือน, (c) เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการที่เกาะแสมสาร, (d) ต้นอ่อนสาหร่าย 6 เดือน

ผลการวิจัย

1. ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum ภายในห้องปฏิบัติการ

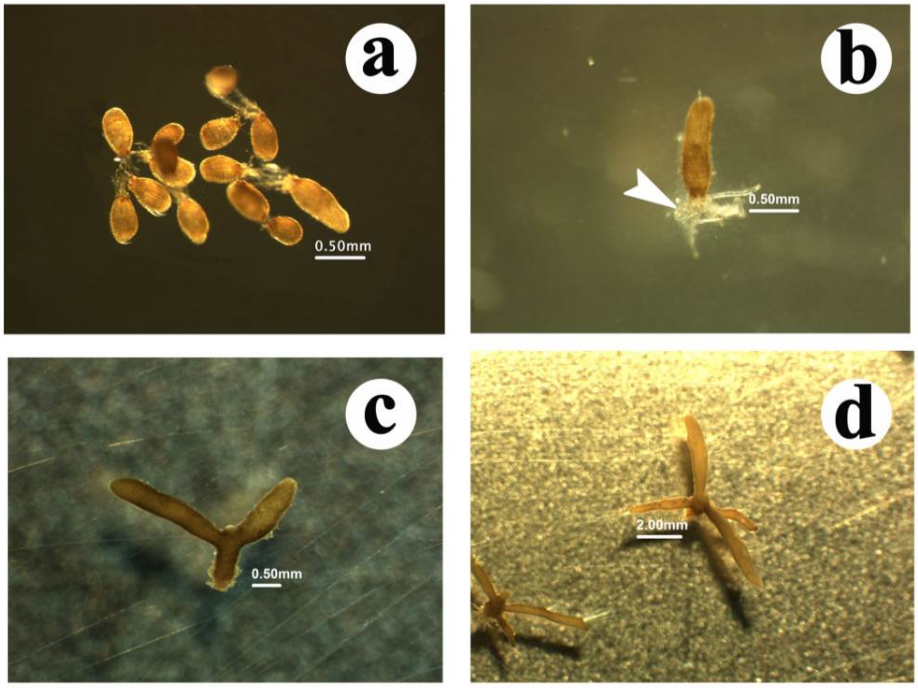
<u>การเพาะเลี้ยงต้นอ่อน</u>

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย Sargassum aquifolium และ S. oligocystum ต้นอ่อนอายุ 1 วัน มีการแบ่งเซลล์เป็นจำนวนมาก และเริ่มมีการพัฒนาของไรซอยด์บริเวณด้านล่างของต้นอ่อน ต้นอ่อนอายุ 7 วัน ต้นอ่อนและไรซอยด์มีการขยายขนาดยาวขึ้น ต้นอ่อนอายุ 14 วัน ต้นอ่อนเริ่มแตกแขนงออก ส่วนไรซอยด์เริ่มหลุดออกจากต้นอ่อน ต้นอ่อนอายุ 30 วัน ต้นอ่อนมีการแตกแขนงออกเพิ่มมากขึ้นจากแขนงกลม ๆ เริ่มแผ่แบนคล้ายใบ ไรซอยด์หลุดออกจากต้นอ่อนมากขึ้น (ภาพที่ 4 และ 5)

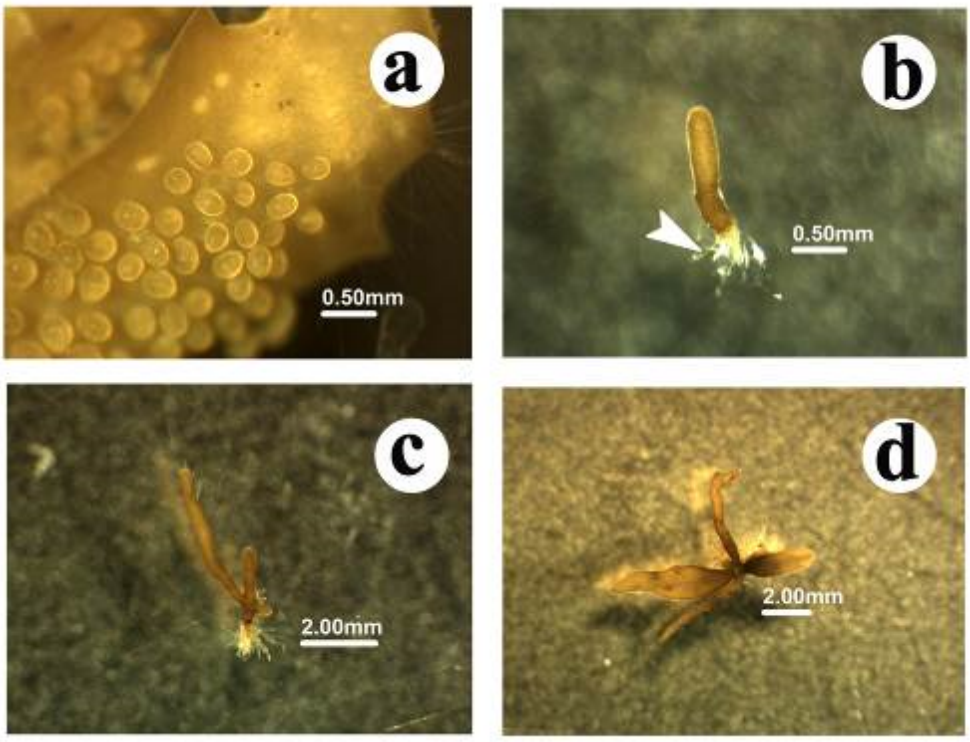
ต้นอ่อน S. oligocystum มีอายุได้ประมาณ 5-6 สัปดาห์ ย้ายลงในอาหารที่มีความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 µM หลังจากเพาะเลี้ยง

10 สัปดาห์ เก็บข้อมูลการเกิดยอด และไม่เกิดยอด จากการวิเคราะห์ Chi-square test พบว่าความเค็ม และสารควบคุมการเจริญเติบโต มีผลต่อการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) สามารถอธิบายด้วยการนำข้อมูลที่แจกแจงความถี่ของการเกิดยอดมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการเกิดยอด พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid มีเปอร์เซ็นต์ของการเกิดยอดได้ดีกว่าความเค็ม 25 และ 30 psu (ภาพที่ 6)

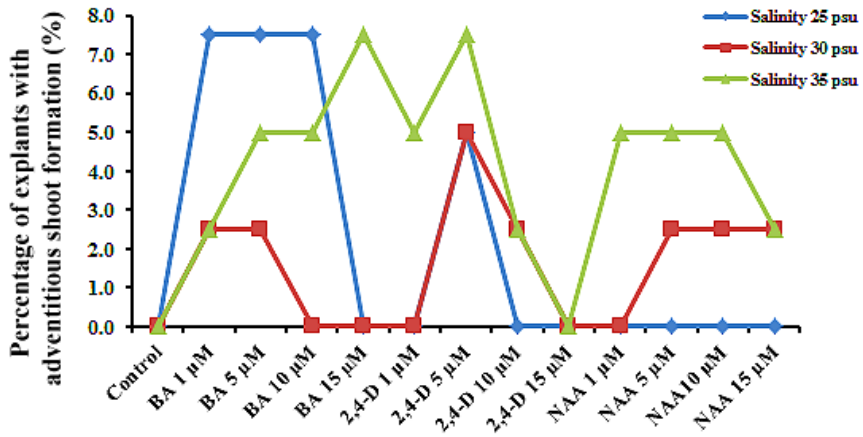
ผลของสารควมคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine เป็นสารสังเคราะห์กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อน S. oligocystum สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทุกความเข้มข้น ยอดเกิดขึ้นที่บริเวณแผ่นใบที่หลุดออกมาจากต้นเดิมและแผ่นใบที่ติดอยู่กับต้น ลักษณะของยอดมีการเจริญเติบโตดี (ภาพที่ 7) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid เป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มออกซิน (Auxin) พบว่า 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้ดีกว่า 1-Naphthaleneacetic acid สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดสามารถชักนำให้เกิดไรซอยด์ได้ (ภาพที่ 8 และ9)



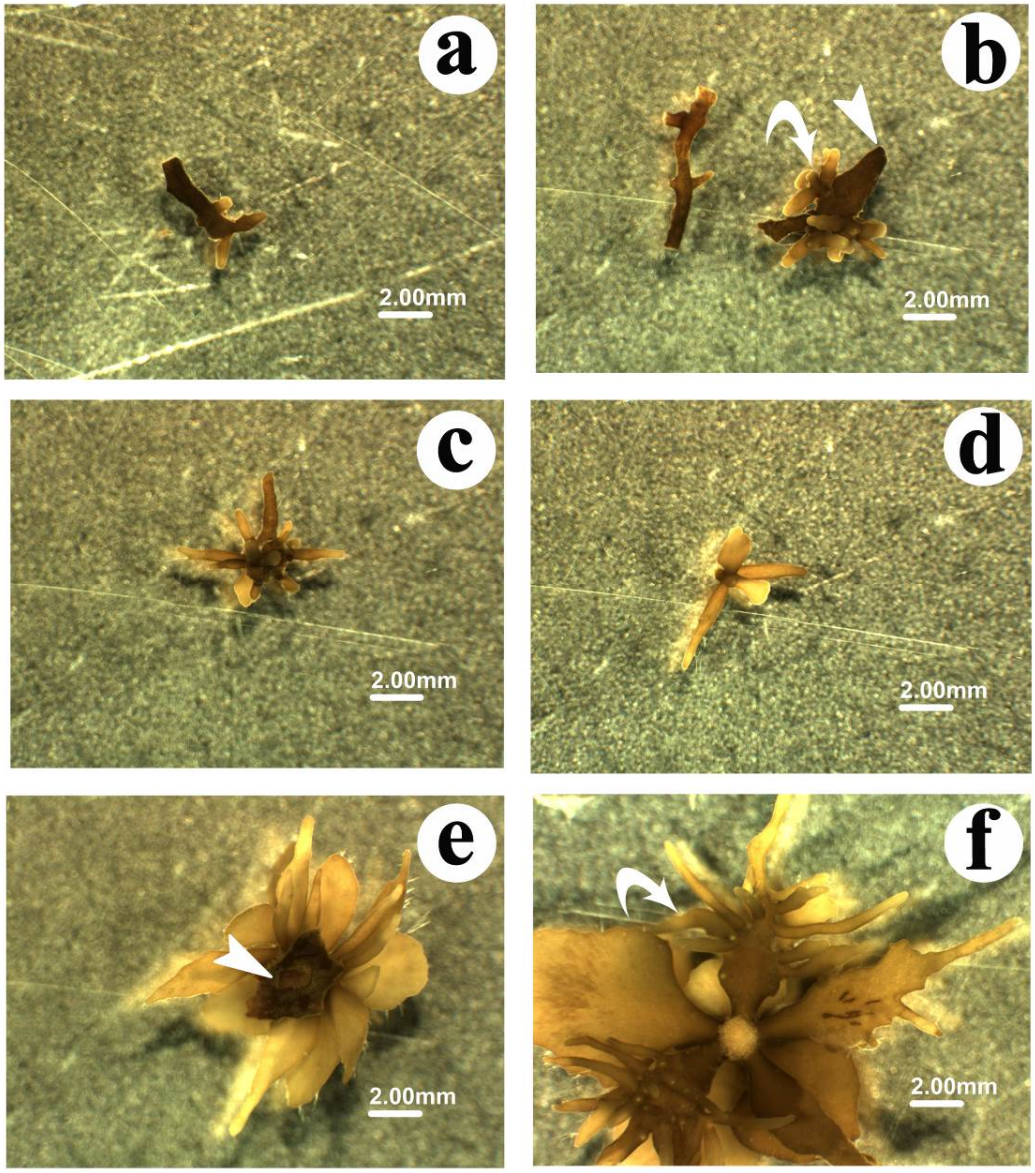
ภาพที่ 4 สาหร่าย S. aquifolium ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร Plant Nutrition^{+} liquid (Tropica® AQUACARE) อุณหภูมิ 25 ℃ ความเข้มแสง 85 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง; (a) 1 วัน, (b) 7 วัน (หัวลูกศร=ไรซอยด์), (c) 14 วัน, (d) 30 วัน



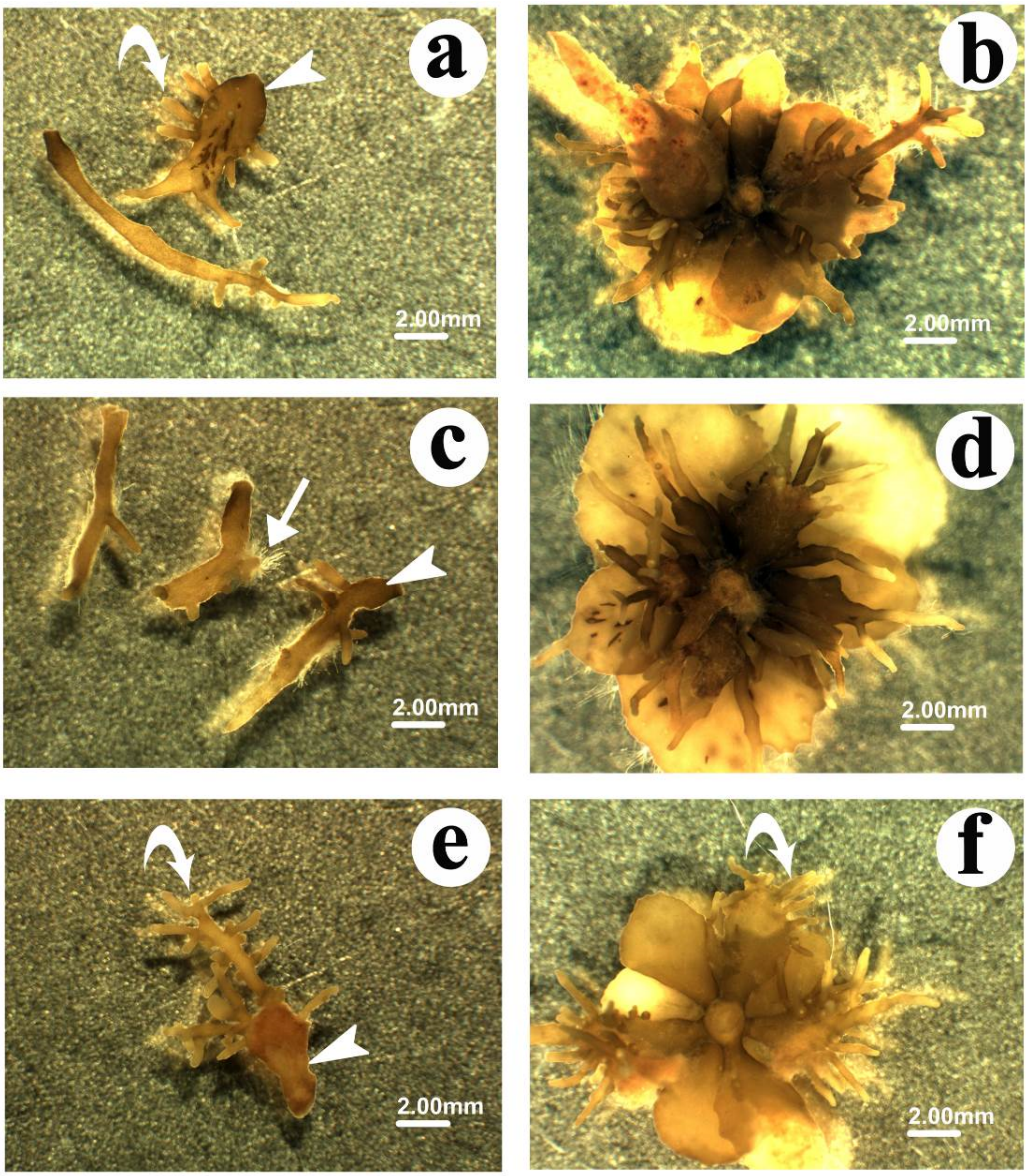
ภาพที่ 5 สาหร่าย S. oligocystum เพาะเลี้ยงในอาหาร Plant Nutrition+ liquid (Tropica® AQUACARE) อุณหภูมิ 25 ℃ ความเข้มแสง 85 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ โดยให้แสง 12 ชั่วโมง ไม่ให้แสง 12 ชั่วโมง; (a) 1 วัน, (b) 7 วัน (หัวลูกศร=ไรซอยด์), (c) 14 วัน, (d) 30 วัน



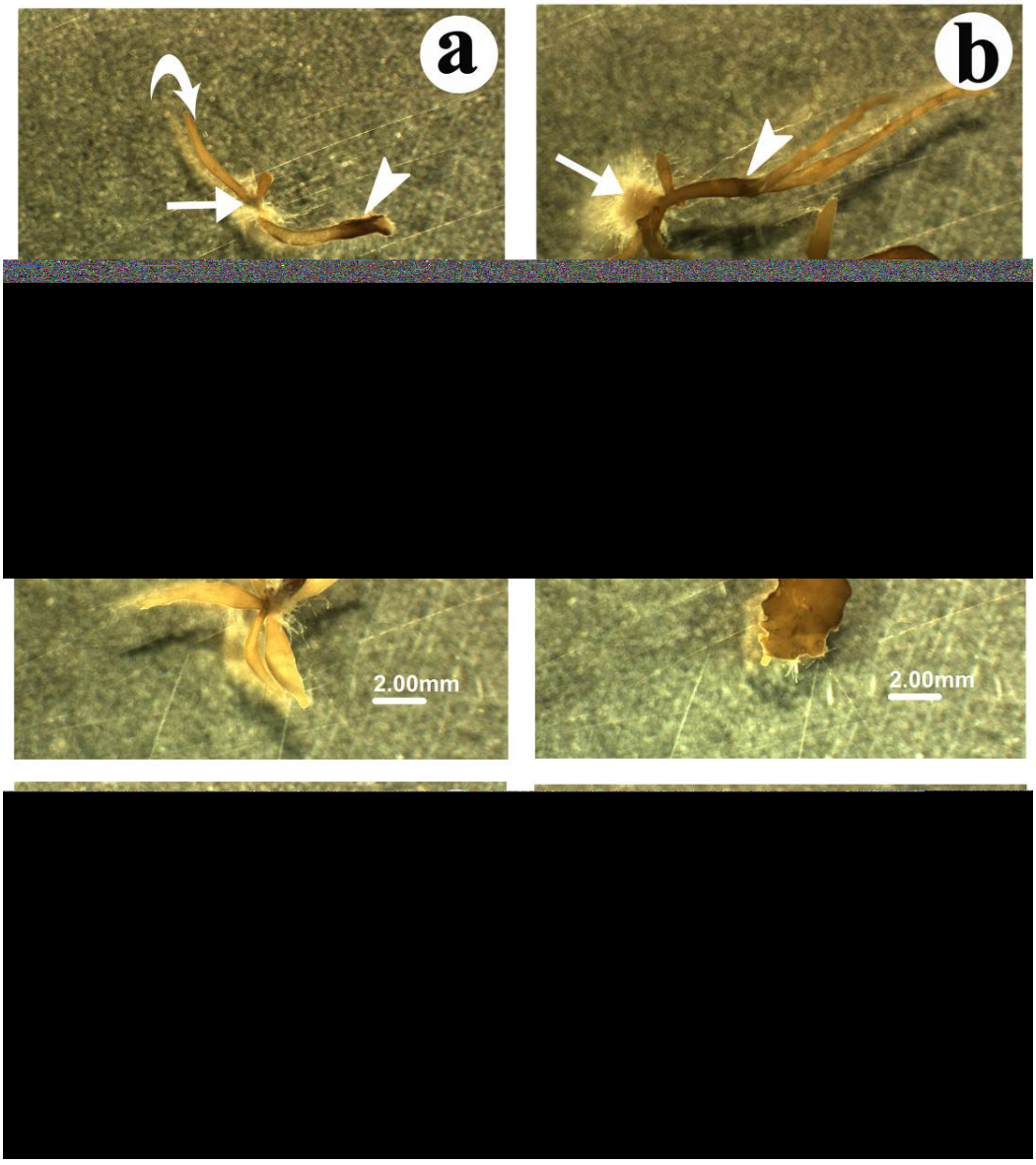
ภาพที่ 6 การพัฒนาการเกิดยอดของสาหร่าย S. oligocystum ที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดต่าง ๆ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 µM



ภาพที่ 7 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอด ของสาหร่าย S. oligocystum; (a) ความเค็ม 25 psu BA 1 µM, (b) ความเค็ม 25 psu BA 10 µM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่), (c) ความเค็ม 30 psu BA 1 µM, (d) ความเค็ม 30 psu BA 5 µM, (e) ความเค็ม 35 psu BA 1 µM, (f) ความเค็ม 35 psu BA 10 µM



ภาพที่ 8 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดของสาหร่าย S. oligocystum; (a) ความเค็ม 25 psu 2, 4-D 5 µM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่), (b) ความเค็ม 30 psu 2, 4-D 5 µM, (c) ความเค็ม 30 psu 2, 4-D 10 µM (ลูกศรตรง=ไรซอยด์), (d) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 1 µM, (e) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 5 µM, (f) ความเค็ม 35 psu 2, 4-D 10 µM



ภาพที่ 9 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ในความเค็มระดับต่าง ๆ ต่อการเกิดยอดของสาหร่าย S. oligocystum; (a) ความเค็ม 30 psu NAA 5 µM (หัวลูกศร=ใบที่หลุดจากต้นอ่อน, ลูกศรโค้ง=ยอดที่เกิดใหม่, ลูกศรตรง=ไรซอยด์), (b) ความเค็ม 30 psu NAA 10 µM, (c) ความเค็ม 30 psu NAA 15 µM, (d) ความเค็ม 35 psu NAA 5 µM, (e) ความเค็ม 35 psu NAA 10 µM, (f) ความเค็ม 35 psu NAA 15 µM

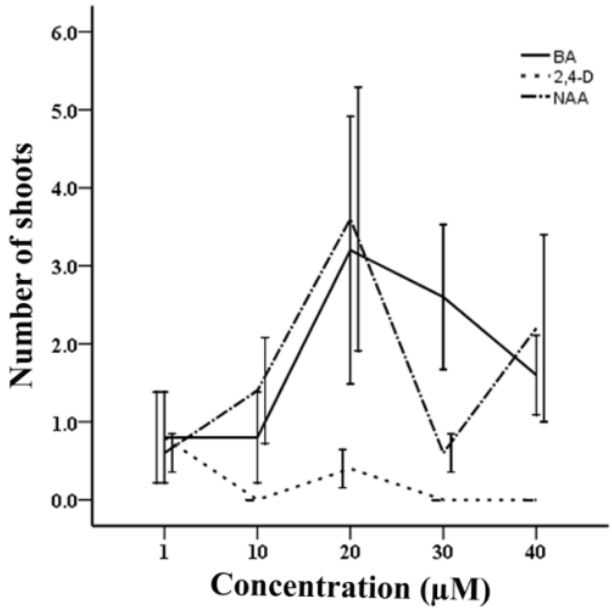
การเพาะเลี้ยงแผ่นใบ

ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย S. oligocystum นำต้นอ่อนมีอายุประมาณ 8-10 สัปดาห์ ตัดแผ่นใบมีขนาดกว้าง 3-5 mm เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลนึ่งฆ่าเชื้อที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ตารางที่ 2) การทดลองละ 5 ซ้ำ หลังจากเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ เก็บข้อมูลการเกิดยอด

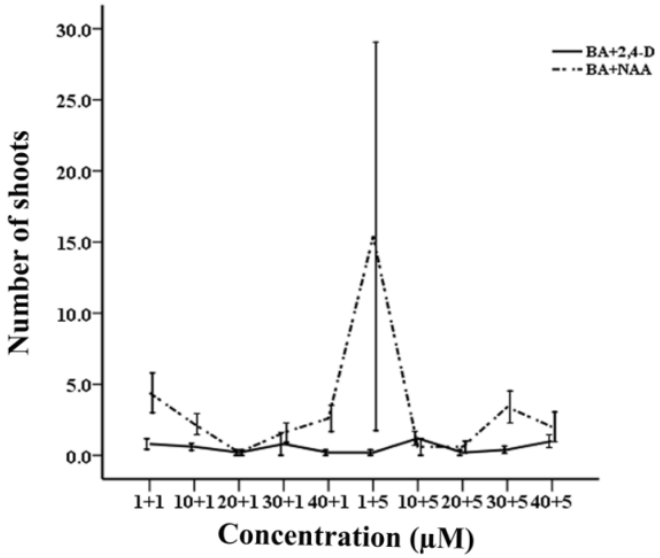
การวิเคราะห์ความแปรปรวนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิด และความเข้มข้นต่อการชักนำให้เกิดยอดด้วย Two-way ANOVA พบว่า ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA และ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า 2,4-D โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่มี NAA 20 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4 ยอด รองลงมาในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี BA 20 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอด (ภาพที่ 10)

การวิเคราะห์ความแปรปรวนการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA กับกลุ่มออกซิน (Auxin) คือ 2,4-D และ NAA และความเข้มข้นต่อการชักนำให้เกิดยอดด้วย Two-way ANOVA พบว่า การผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) กับกลุ่มออกซิน (Auxin) และความเข้มข้นมีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA ร่วมกับ 2,4-D โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA 1 µM ร่วมกับ NAA 5 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 15 ยอด รองลงมาอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA 1 µM ร่วมกับ NAA 1 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ย 4 ยอด (ภาพที่ 11)
การเพาะเลี้ยงพบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ เริ่มมีพัฒนาการเกิดยอดในสัปดาห์ที่ 3 มีลักษณะเป็นปุ่มนูน และเจริญยาวขึ้นเป็นแท่งกลม หลังจากนั้นมีการขนาดเป็นแผ่นค่อนข้างแบน (ภาพที่ 12)

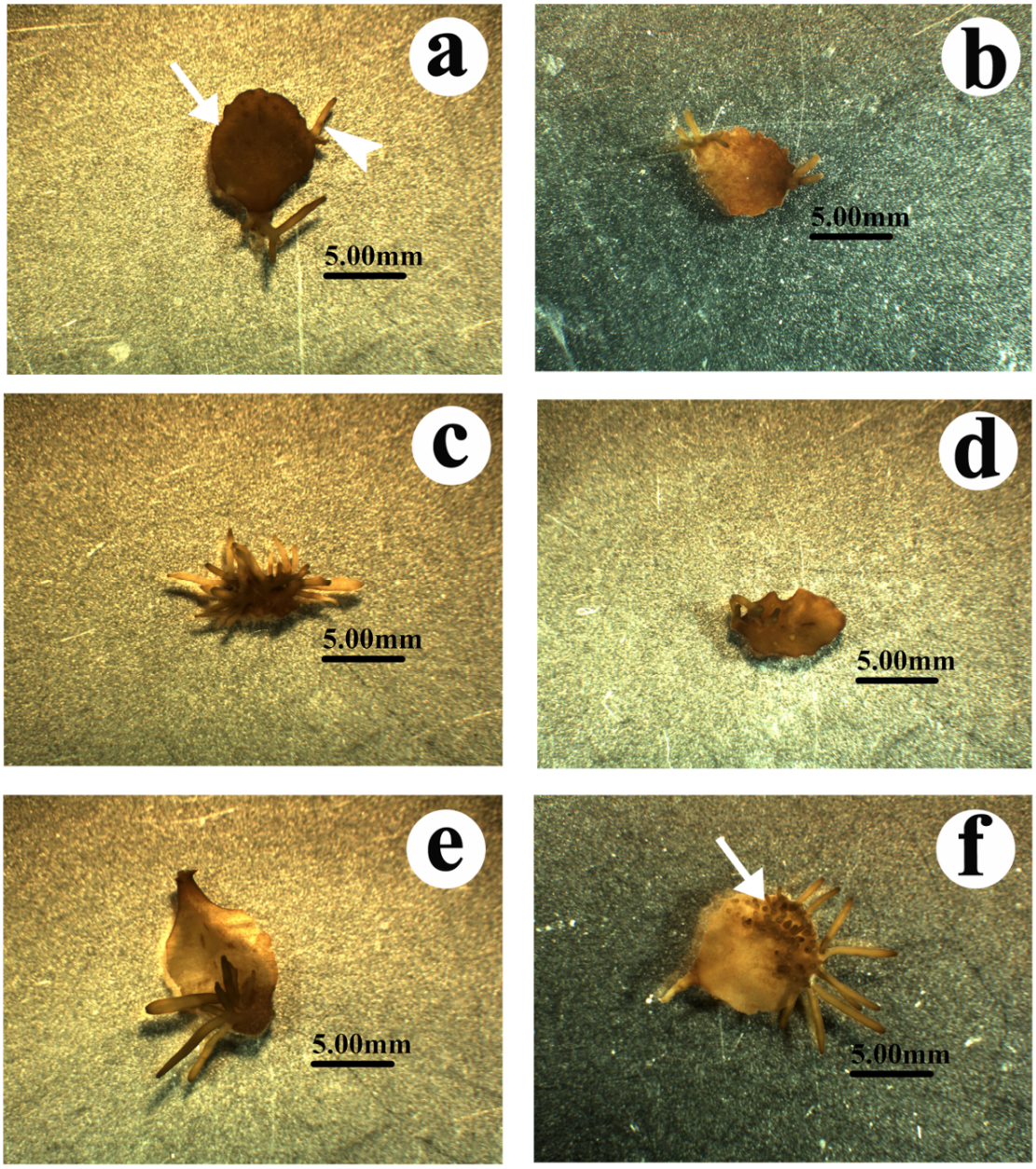
จากการเพาะเลี้ยงเบื้องต้นพบว่ายอดที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบมีลักษณะเป็นปุ่มนูนเล็กจำนวนมาก จึงย้ายชิ้นเนื้อเยื่อลงในอาหารร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) คือ Gibberellic acid (GA) และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ 2 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM การทดลองละ 10 ซ้ำ หลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ เก็บข้อมูลการพัฒนาของยอดต่อจากสัปดาห์แรก จากวิเคราะห์ความแปรปรวนชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM ต่อการพัฒนาปุ่มยอดอ่อนให้เป็นยอดที่สมบูรณ์ ด้วยวิธี One-way ANOVA พบว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM ต่อการพัฒนาปุ่มยอดอ่อนให้เป็นยอดที่สมบูรณ์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย GA 1 µM มีการพัฒนาของยอดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกเฉลี่ย 5 ยอด ส่วนในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM มีการพัฒนาของยอดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกเฉลี่ย 2 ยอด (ภาพที่ 13) จากการศึกษาในสารควบคุมการเจริญเติบโต GA และ BA พบว่ามีการพัฒนาของยอดอ่อนเดิมที่มีลักษณะเป็นปุ่มเล็ก ๆ หรือเป็นแท่งกลม มีการขยายขนาดออกเป็นแผ่นแบนใหญ่ พร้อมทั้งมีการเพิ่มจำนวนยอดมากขึ้นจากที่เริ่มทำการเพาะเลี้ยงโดยพบยอดใหม่เกิดบนแผ่นใบและบริเวณยอดอ่อนเดิม (ภาพที่ 14)



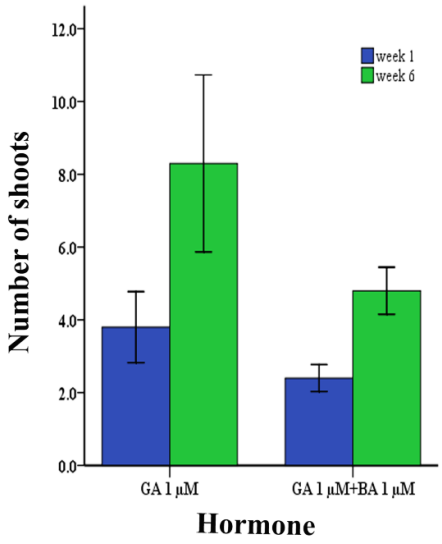
ภาพที่ 10 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย S. oligocystum ที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4_D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย± standard error)



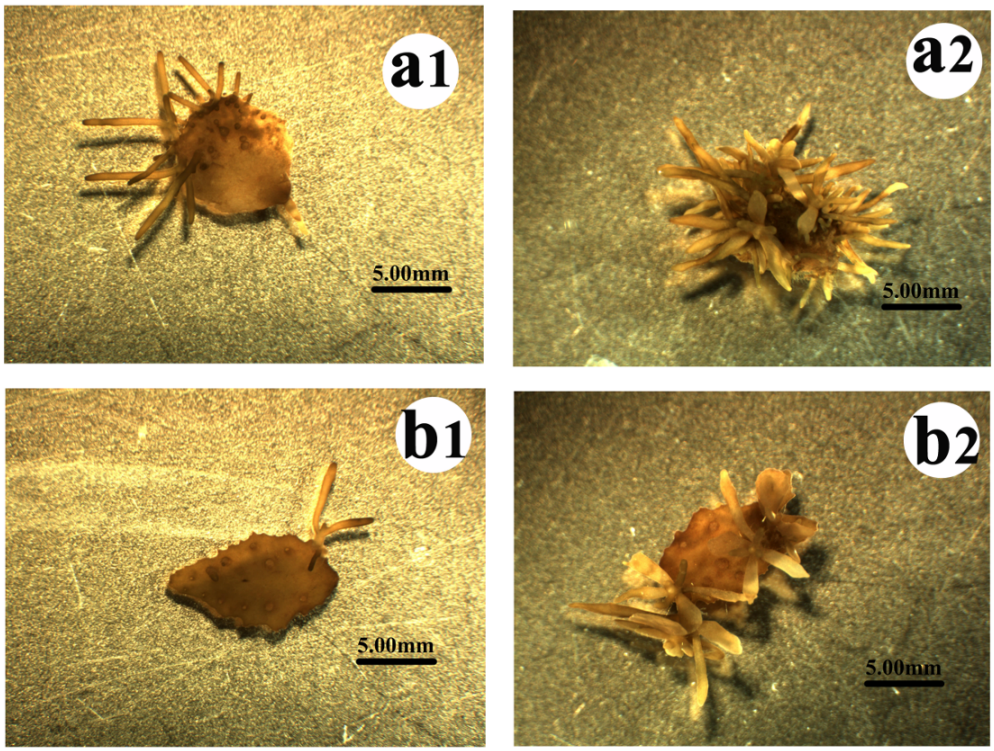
ภาพที่ 11 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย S. oligocystum ที่ระดับความเค็ม 35 psu โดยการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA กับกลุ่มออกซิน (Auxin) คือ 2,4-D และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ค่าเฉลี่ย± standard error)



ภาพที่ 12 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ในการชักนำยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย S. oligocystum ที่ความเค็ม 35 psu; (a) BA 20 µM (ลูกศร=แผ่นใบ, หัวลูกศร=ยอดที่เกิดใหม่), (b) 2,4-D 1 µM, (c) NAA 20 µM, (d) BA 30 µM ร่วมกับ 2,4-D 1 µM, (e) BA 1 µM ร่วมกับ NAA 1 µM, (f) BA 1 µM ร่วมกับ NAA 5 µM (ลูกศร=ปุ่มเล็ก ๆ จำนวนมากที่จะพัฒนาเป็นยอด)



ภาพที่ 13 การพัฒนาการเกิดยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย S. oligocystum ที่ระดับความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) คือ GA และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA (ค่าเฉลี่ย± standard error)



ภาพที่ 14 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ในการพัฒนาปุ่มยอดจากแผ่นใบของสาหร่าย S. oligocystum ที่ความเค็ม 35 psu; (a1) GA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 1), (a2) GA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 6), (b1) GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 1), (b2) GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM (ในสัปดาห์ที่ 6)

2. ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum นอกห้องปฏิบัติการ

จากการนำต้นอ่อนสาหร่ายที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการอายุประมาณ 6 เดือน ออกมาเพาะเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสปริมาตร 500 L พบว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลลักษณะของต้นอ่อนสาหร่ายมีการพัฒนาได้ดีกว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3} (ภาพที่ 15) โดยต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย ในระหว่างการเพาะเลี้ยง 5 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 2.68±0.17 % day^{-1} ส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยงมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด 1.26±0.18 % day^{-1} (ภาพที่ 16) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียมีการเจริญเติบโตลดลงอย่างเห็นได้ชัดเนื่องจากมีการปนเปื้อนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเกาะติดบนต้นอ่อนเป็นจำนวนมากจนทำให้ใบอ่อนหลุดร่วงลง

ปัจจัยทางกายภาพของน้ำทะเลที่ศึกษา ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความเค็ม และความเป็นกรด-ด่าง อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะที่เหมาะสมของต้นอ่อนสาหร่าย S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียพบว่าน้ำทะเลมีค่าอุณหภูมิ 30.4-30.6 ℃ ความเข้มแสง 34.7-36.6 µmol photons $m^{-2}s^{-1}$ ความเค็ม 33.9-34.5 psu และความเป็นกรด-ด่าง 8.1-8.2 (ภาพที่ 17)

ปัจจัยทางกายเคมีของน้ำทะเลที่ศึกษา ได้แก่ แอมโมเนีย ไนไตรท ไนเตรท และฟอสเฟต ระหว่างการเพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียพบว่าแอมโมเนียและไนไตรทมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 1 และค่อยๆเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และมีค่ามากในสัปดาห์ที่ 3 โดยเฉพาะชุดการทดลองน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย ลักษณะของน้ำทะเลที่ใช้เพาะเลี้ยงจะขุ่นขาวแต่เมื่อได้เปลี่ยนน้ำใหม่แอมโมเนียและไนไตรทจึงมีค่าลดลง ส่วนค่าไนเตรทและฟอสเฟตจะมีค่าลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 อันเป็นผลมาจากต้นอ่อนสาหร่ายได้นำไนเตรทและฟอสเฟตไปใช้เมื่อเปลี่ยนน้ำใหม่ไนเตรทและฟอสเฟตจึงมีค่าเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 18)

อภิปรายผลการวิจัย

1. ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum ภายในห้องปฏิบัติการ

<u>การเพาะเลี้ยงต้นอ่อน</u>

จากการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกสาหร่าย S. aquifolium และ S. oligocystum เนื่องจากสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดนี้มีการแพร่กระจายในบริเวณชายฝั่งภาคตะวันออกของประเทศไทย (Noiraksar, et al., 2006; Noiraksar and Ajisaka, 2008) โดยมีงานวิจัยของสาหร่ายทั้ง 2 ชนิดนี้เกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Saengkhae, et al., 2010; Boonchum, et al., 2011; จันทรวรรณ แสงแข และคณะ; 2552; 2553) และคุณค่าทางโภชนาการ (สุธาสินี มนูญปรัชญาภรณ์ และคณะ 2557) การเพาะเลี้ยงจึงนับว่าเป็นส่วนสำคัญที่เป็นการรักษาและผลิตทรัพยากรทางทะเลเพื่อต่อยอดการศึกษาวิจัยอย่างยั่งยืน

การเพาะเลี้ยงภายในห้องปฏิบัติการปัญหาหลักคือการปนเปื้อนของต้นพันธุ์ที่นำมาจากธรรมชาติรวมไปถึงช่วงระยะโตเต็มวัยของต้นพันธุ์ ทั้งนี้พบว่าต้นอ่อนของ S. aquifolium มีการปนเปื้อนจากสาหร่ายชนิดอื่น ได้แก่สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน สาหร่ายสีเขียว สาหร่ายสีแดง รวมทั้งกลุ่มไดอะตอมมากกว่า S. oligocystum จึงได้เลือก S. oligocystum มาศึกษาเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต

ต้นอ่อน S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ระดับความเค็ม 25, 30 และ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 5, 10 และ 15 µM หลังจากเพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารความเค็ม 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid มีเปอร์เซ็นต์ของการเกิดยอดได้ดีกว่าความเค็ม 25 และ 30 psu ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine เป็นสารสังเคราะห์กลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ เพิ่มขนาดเซลล์ ตาข้างหรือยอด 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid และ 1-Naphthaleneacetic acid เป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มออกซิน (Auxin) ช่วยส่งเสริมการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเกิดราก (พีรเดช ทองอำไพ, 2537) พบว่า 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้ดีกว่า 1-Naphthaleneacetic acid สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดสามารถชักนำให้เกิดไรซอยด์ได้

<u>การเพาะเลี้ยงแผ่นใบ</u>

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนพบว่าความเค็ม 35 psu มีการชักนำให้เกิดยอดได้ดี จึงได้นำศึกษาการเพาะเลี้ยงแผ่นใบโดยตัดแผ่นใบมีขนาดกว้าง 3-5 mm เพาะเลี้ยงร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต 6-Benzylaminopurine (BA), 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ พบว่า BA และ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า 2,4-D โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่มี NAA 20 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4 ยอด รองลงมาในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี BA 20 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอด และการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ BA กับกลุ่มออกซิน (Auxin) คือ 2,4-D และ NAA ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA ร่วมกับ 2,4-D โดยอาหาร

เพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA 1 µM ร่วมกับ NAA 5 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 15 ยอด รองลงมาอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย BA 1 µM ร่วมกับ NAA 1 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ย 4 ยอด

จากการเพาะเลี้ยงเบื้องต้นพบว่ายอดที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบมีลักษณะเป็นปุ่มนูนเล็กจำนวนมาก จึงย้ายชิ้นเนื้อเยื่อลงในอาหารร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มจิบเบอเรลลิน (Gibberellin) เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการยืดตัวของเซลล์คือ Gibberellic acid (GA) และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) คือ 6-Benzylaminopurine (BA) ที่ 2 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ GA 1 µM กับ GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย GA 1 µM มีการพัฒนาของยอดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกเฉลี่ย 5 ยอด ส่วนในอาหารเพาะเลี้ยงที่ประกอบด้วย GA 1 µM ร่วมกับ BA 1 µM มีการพัฒนาของยอดเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกเฉลี่ย 2 ยอด จากการศึกษาในสารควบคุมการเจริญเติบโต GA และ BA พบว่ามีการพัฒนาของยอดอ่อนเดิมที่มีลักษณะเป็นปุ่มเล็ก ๆ หรือเป็นแท่งกลม มีการขยายขนาดออกเป็นแผ่นแบนใหญ่ พร้อมทั้งมีการเพิ่มจำนวนยอดมากขึ้นจากที่เริ่มทำการเพาะเลี้ยงโดยพบยอดใหม่เกิดบนแผ่นใบและบริเวณยอดอ่อนเดิม

2. ศึกษาการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum นอกห้องปฏิบัติการ

ต้นอ่อน S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการ พบว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลลักษณะของต้นอ่อนสาหร่ายมีการพัฒนาได้ดีและมีการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่ากว่าชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3} ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียมีการเจริญเติบโตลดลงอย่างเห็นได้ชัดเนื่องจากมีการปนเปื้อนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเกาะติดบนต้นอ่อนเป็นจำนวนมากจนทำให้ใบอ่อนหลุดร่วงลง

ปัจจัยทางกายภาพและเคมีของน้ำทะเลมีส่วนสำคัญต่อการเจริเติบโตของสาหร่ายเช่นกัน โดยเฉพาะไนเตรท และฟอสเฟตซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญที่พืชต้องนำไปใช้ ส่วนชุดการทดลองที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3} พบว่ามีค่าแอมโมเนียและไนไตรทค่อนข้างสูงเนื่องจากมีการปนเปื้อนของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยปกติแอมโมเนียเป็นอาหารของพวกแบคทีเรียซึ่งส่งผลให้คุณภาพน้ำไม่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเช่นกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

1. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum ภายในห้องปฏิบัติการ

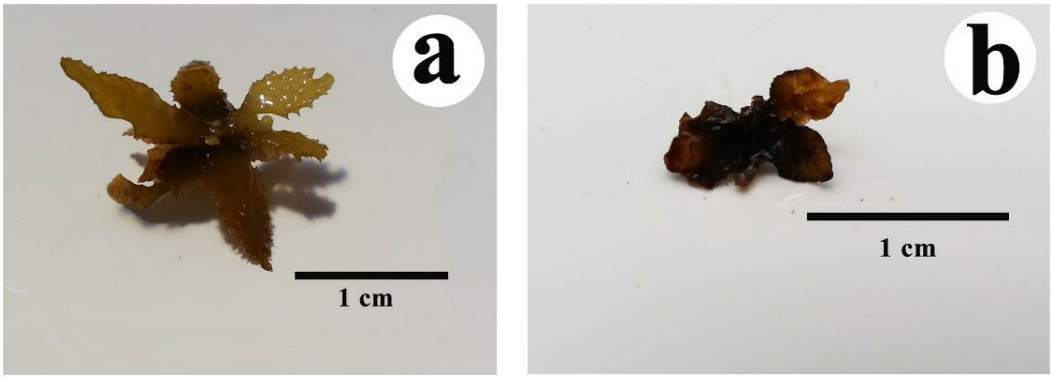
การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนและแผ่นใบสาหร่าย S. oligocystum ความเค็มที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตคือ 35 psu ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA และ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า 2,4-D และการผสมสารควบคุมการเจริญเติบโตประกอบด้วย BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีกว่า BA ร่วมกับ 2,4-D

<u>ข้อเสนอแนะ</u> ปัญหาหลักคือการปนเปื้อนจากธรรมชาติ ควรหาวิธีการลดปัญหาการปนเปื้อนที่เหมาะสมไปกระทบต่ออัตราการรอดของต้นอ่อน

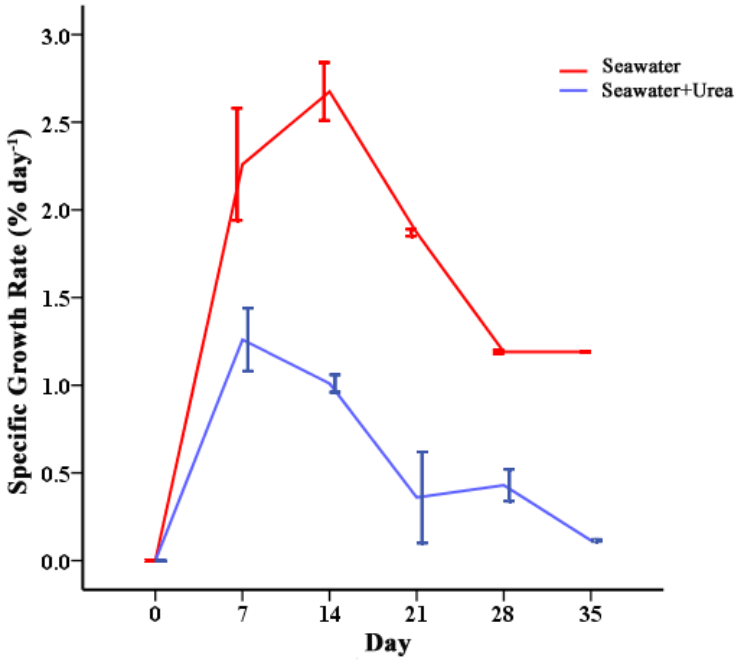
2. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสกุล Sargassum นอกห้องปฏิบัติการ

การเจริญเติบโตของสาหร่าย S. oligocystum ในน้ำทะเลดีกว่าทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย 4 gm^{-3} ทั้งนี้เป็นผลมาจากการปนเปื้อนด้วยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และข้อจำกัดของพลังงานไฟฟ้าบนเกาะแสมสาร ซึ่ง

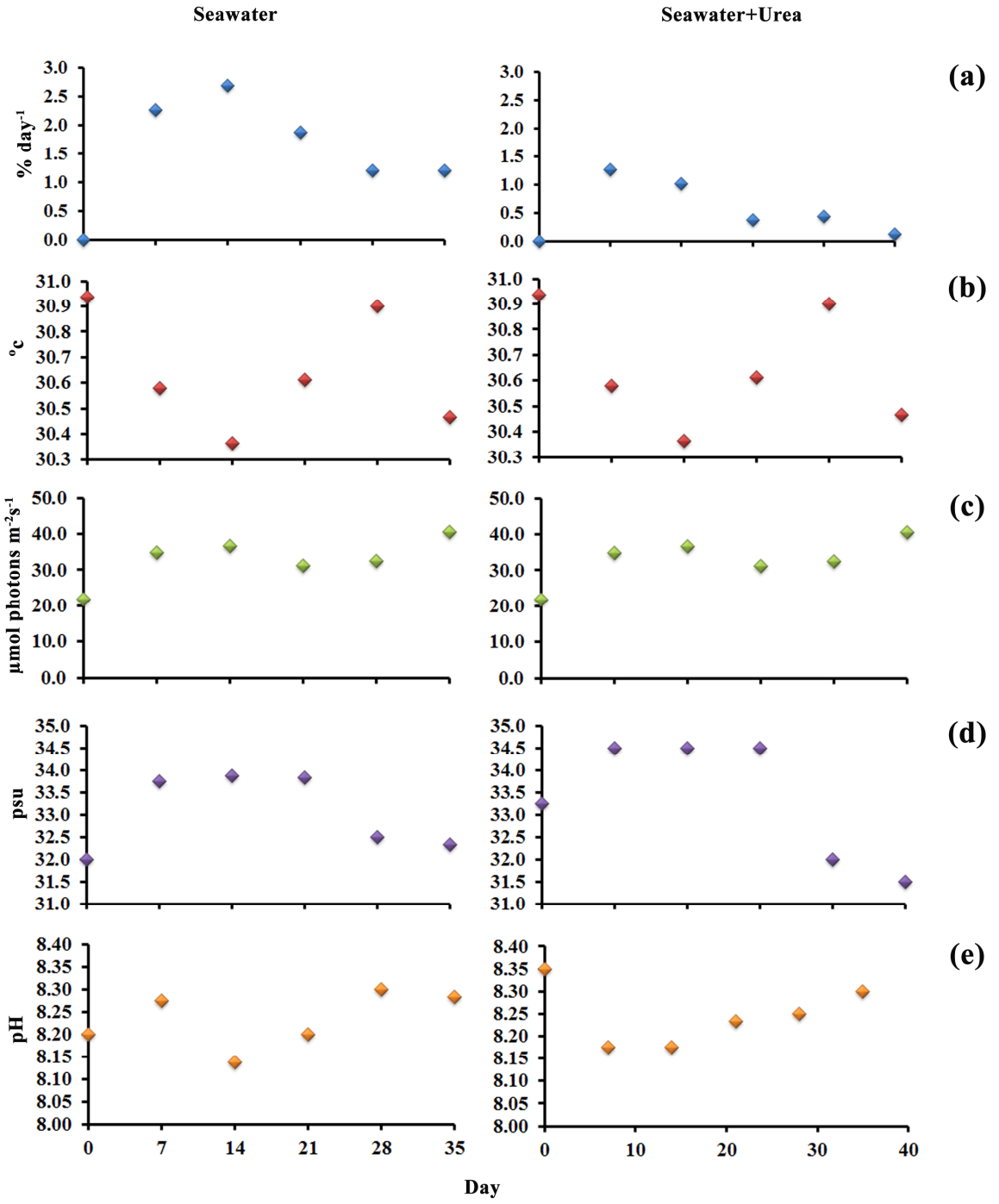
ในระหว่างดำเนินการทดลองทางโครงการวิจัยได้ติดตั้งระบบโซล่าเซลล์ด้วยงบประมาณสนับสนุนที่มีจำกัด จึงไม่สามารถกำหนดชุดการทดลองได้มากกว่านี้ จึงส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในด้านความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายกับปัจจัยทางกายภาพและเคมีของน้ำทะเลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ได้ใช้วิธีสร้างกราฟเพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตของสาหร่ายกับปัจจัยทางกายภาพและเคมีของน้ำทะเลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง



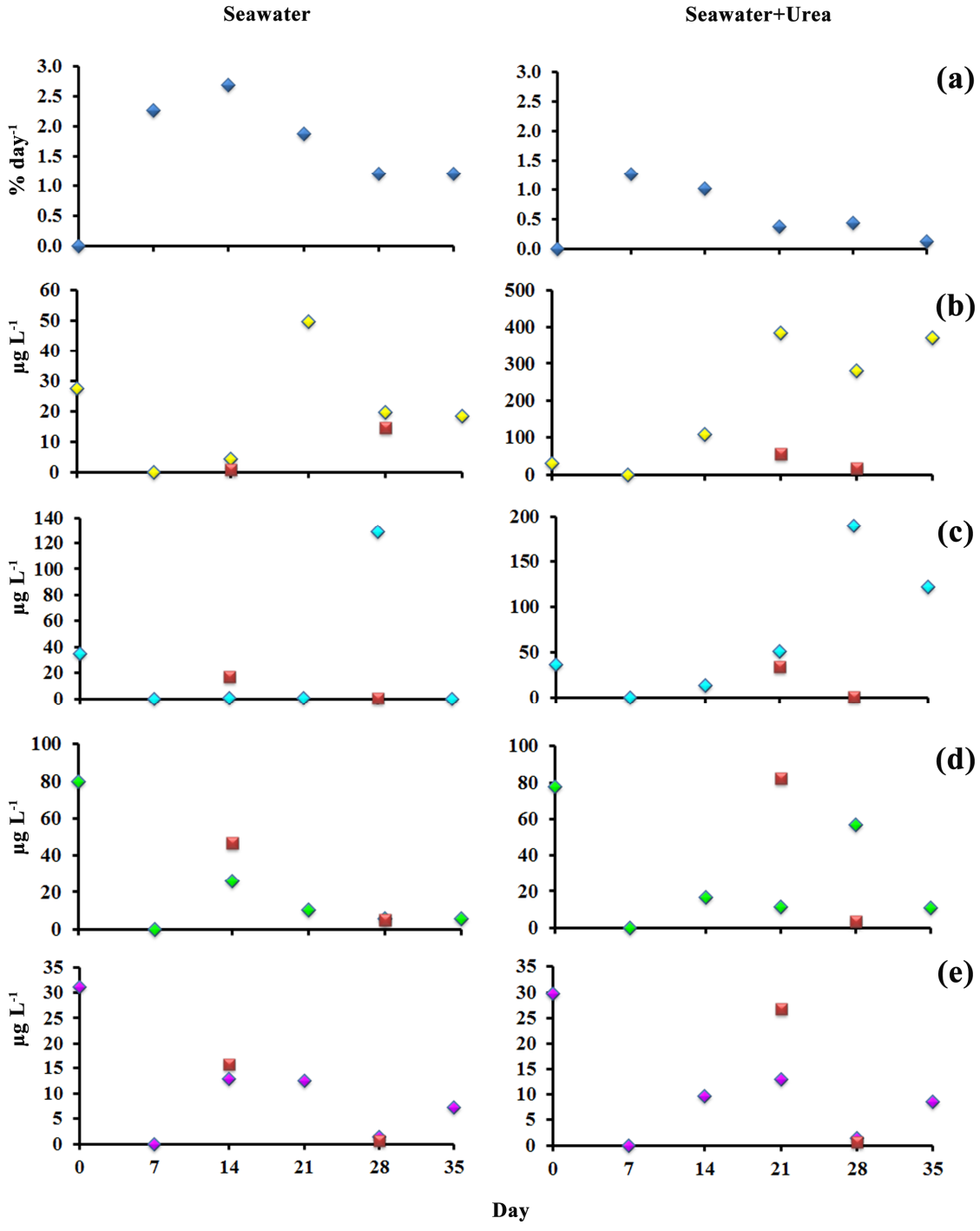
ภาพที่ 15 เพาะเลี้ยงสาหร่าย S. oligocystum นอกห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 5 สัปดาห์; (a) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเล, (b) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียความเข้มข้น 4 gm^{-3}



ภาพที่ 16 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงนอกห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 5 สัปดาห์ (ค่าเฉลี่ย± standard error)



ภาพที่ 17 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางกายภาพของน้ำทะเลกับของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรียความเข้มข้น 4 กรัมต่อตัน; (a) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, (b) อุณหภูมิ, (c) ความเข้มแสง, (d) ความเค็ม, (e) ความเป็นกรด-ด่าง



ภาพที่ 18 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทางเคมีของน้ำทะเลกับของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) ของต้นอ่อนสาหร่าย S. oligocystum ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทะเลและน้ำทะเลร่วมกับปุ๋ยยูเรีย ความเข้มข้น 4 กรัมต่อตัน; (a) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ, (b) แอมโมเนีย, (c) ไนไตรท, (d) ไนเตรท, (e) ฟอสเฟต (■ คุณภาพน้ำหลังเปลี่ยนน้ำใหม่)

ผลผลิต

ส่งบทความวิจัยเรื่อง “การศึกษาเบื้องต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาหร่ายสีน้ำตาล Sargassum oligocystum Montagne” ในการประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ครั้งที่ 7 “ทรัพยากรไทย: หวนดูทรัพย์สิ่งสินตน” 15-17 ธันวาคม พ.ศ. 2558 ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

เอกสารหมายเลข ๒

แบบลงทะเบียน
การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ ๗
“ทรัพยากรไทย : หวนดูทรัพย์สิ่งสินตน”
๑๕-๑๗ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๕๘
ณ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

ชื่อ-นามสกุล นางสาวธิดารัตน์ น้อยรักษา
หน่วยงาน/สถาบัน สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา
ที่อยู่ 169 ถนนลงหาดบางแสน ตำบลแสนสุข อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131
โทรศัพท์ 038391671-3 โทรสาร 038391674
อีเมลแอดเดรส sargassum2005@gmail.com

ประเภทการลงทะเบียน:

☐ ลงทะเบียนนำเสนอผลงาน : ☑ ภาคบรรยาย ☐ ภาคนิทัศน์

หัวข้อเรื่อง : (ภาษาไทย/ภาษาอังกฤษ)

๑. ภาษาไทย: ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล บริเวณอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะลันตา จังหวัดกระบี่
ภาษาอังกฤษ: BIODIVERSITY OF SEAWEEDS AND SEAGRASSES IN LANTA ISLANDS NATIONAL PARK, KRABI PROVINCE

๒. ภาษาไทย: การศึกษาเบื้องต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาหร่ายสีน้ำตาล *Sargassum oligocystum* Montagne
ภาษาอังกฤษ: PRELIMINARY STUDY ON TISSUE CULTURE OF BROWN SEAWEED *SARGASSUM OLIGOCYSTUM* MONTAGNE

๓. ภาษาไทย: รูปแบบการเติบโตของสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล *SARGASSUM* (HETEROKONTOPHYTA : PHAEOPHYCEAE) บริเวณเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี
ภาษาอังกฤษ: GROWTH PATTERNS OF BROWN SEAWEED GENUS *SARGASSUM* (HETEROKONTOPHYTA : PHAEOPHYCEAE) IN SAMAESAN ISLAND, CHON BURI PROVINCE

☐ ลงทะเบียนเข้าร่วมการประชุมโดยไม่นำเสนอผลงาน

พร้อมกันนี้ได้ชำระค่าลงทะเบียนประชุมวิชาการฯ เป็นจำนวนเงิน 4,000 บาท โดยโอนเงินเข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาย่อยสวนจิตรลดา ชื่อบัญชี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช บัญชี ๑ เลขที่บัญชี ๐๖๗-๒๐๒๐๕๗-๕ (067-202057-5) ของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ เรียบร้อยแล้ว

ลงชื่อ ธิดารัตน์ น้อยรักษา
(นางสาวธิดารัตน์ น้อยรักษา)
วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2558

การชำระเงิน 1. ผู้สนใจเข้าร่วมงานสามารถลงทะเบียนโดยการโอนเงินในอัตราคนละ ๑๐๐๐ บาท เข้าบัญชีออมทรัพย์ ธนาคารไทยพาณิชย์ สาขาย่อยสวนจิตรลดา ชื่อบัญชี โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช บัญชี ๑ เลขที่บัญชี ๐๖๗-๒๐๒๐๕๗-๕ (067-202057-5) โดยจะได้รับใบเสร็จรับเงินในวันประชุมวิชาการฯ (รับที่หน้างาน) พร้อมเอกสารประกอบการประชุมวิชาการฯ และคูปองอาหารว่าง

เว็บไซต์โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ http://www.rspg.or.th

บรรณานุกรม

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2527. สาหร่าย คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 343 หน้า.

กาญจนภาชน์ ลิ่วมโนมนต์. 2550. จากวันนั้นถึงวันนี้...6 ปีที่ผ่านไป. ใน: โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ บรมราชกุมารี, จากยอดเขาถึงใต้ทะเล 2 สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว.. สู่ .. ประโยชน์แท้แก่มหาชน. หน้า 42-48.

จันทรวรรณ แสงแข ธิดารัตน์ น้อยรักษา และจงกลณี จงอร่ามเรือง. 2553. *ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งและอะโพโทซิส ของสารสกัดจาก* Sargassum oligocystum Montagne. รายงานวิจัย งบประมาณแผ่นดินประจำปี 2553. 27 หน้า.

จันทรวรรณ แสงแข จงกลณี จงอร่ามเรือง และธิดารัตน์ น้อยรักษา. 2552. การศึกษาฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายทะเลบริเวณอ่าวไทย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา 14(2): 88-98.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์. วิชัยการพิมพ์, กรุงเทพมหานคร. 196 หน้า.

สุธาสินี มนูญปรัชญาภรณ์ ธิดารัตน์ น้อยรักษา อนงค์ จีรภัทร์ และจันทนา ไพรบูรณ์. 2557. การผันแปรตามฤดูกาลของคุณค่าทางโภชนาการในสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลสกุล Sargassumm ที่พบบริเวณหาดนางรอง จังหวัดชลบุรี. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52: สาขาประมง, สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์. 4-7 กุมภาพันธ์ 2557. 487 หน้า.

Boonchum, W., Peerapornpisal Y., Kanjanapothi D., Pekkoh J., Pumas, C., Jamjai, U., Amornlerdpison, D., Noiraksar. T. and Vacharapiyasophon, P. 2011. Antioxidant Activity of some Seaweed from the Gulf of Thailand. Int. J. Agric. Biol., 13: 95–99.

Hwang, E.K., Baek, J.M. and Park, C.S. 2007. Assessment of Optimal Depth and Photon Irradiance for Cultivation of the Brown Alga, Sargassum fulvellum (Turner) C. Agardh. J Appl Phycol 19: 787-793.

Hwang, E.K., Park, C.S. and Baek, J.M. 2006. Artificial Seed Production and Cultivation of the Edible Brown Alga, Sargassum fulvellum (Turner) C. Agardh: Developing a New Species for Seaweed Cultivation in Korea. J Appl Phycol 18: 251-257.

Grasshoff, K., Ehradt, M., and Kremling, K. 1983. Method of seawater analysis 2nd ed. Rev. and extend ed. Weinheim: Verlag Chemiv of Germany.

Kim, K.N., Lee, K.W., Song, C.B. and Jeon, Y.J. 2006. Cytotoxic activities of green and brown seaweeds Collected from Jeju Island against four tumor cell lines. J. Food Sci. Nutr. 11: 12-24.

Kirihara, S., Fujikawa, Y. and Notoya, M. 1997. Axenic Tissue Culture of Sargassum confusum C. Agardh (Phaeophyta) as a Source of Seeds for Artificial Marine Forests. J Mar Biotechnol 5: 142-146.

Lewmanomont, K., Wongrat, L. and Supanwanid, C. 1995. Algae in Thailand. Biodiversity series. Office of Environmental Policy and Planning. 344 pp.

Luhan M.R.J. and Sollesta H., 2010. Growing the reproductive cells (carpospores) of the seaweed, Kappaphycus striatum, in the laboratory until outplanting in the field and maturation to tetrasporophyte. J Appl Phycol 22: 579-585.

Muraoka, D. 2004. Seaweed Resources as a Source of Carbon Fixation. Bull. Fish. Res. Agen. Supplement No. 1, 59-63.

Noiraksar T. and Ajisaka T. 2008. Taxonomy and distribution of Sargassum (Phaeophyceae) in the Gulf of Thailand. J. appl. Phycol. 20: 963-977.

Noiraksar T., Ajisaka T. and Kaewsuralikhit C. 2006. Species of Sargassum in the East Coat of the Gulf of Thailand. ScienceAsia 32 Supplement 1: 99-106.

Pang, S.J., Shan, T.F., Zhang, Z.H. and Sun, J.Z. 2008. Cultivation of the Intertidal Brown Alga Hizikia fusiformis (Harvey) Okamura: Mass Production of Zygote-derived Seedlings under Commercial Cultivation Conditions, A Case Study Experience. Aquaculture Research 39: 1408-1415.

Saengkhae, C., Jongaramruong, J. Noiraksar T. and Piekpia, J. 2010. Antiproliferative and Apoptosis-Inducing Activities of Extracts from Sargassum binderi Sonder on Human Cervical Cancer Cells. Burapha Sci. J. 15(1): 3-12.

Strickland, J.G.H. and Parsons, T.R. 1972. A Practical handbook of seawater analysis. Ottawa: Fisheries research board of Canada.

Yoshida, G., Murase, N. and Terawaki, T. 1999. Comparision of Germling Abilities under Various Culture Conditions among Two Sargassum horneri Populations and S. filicinum in Hiroshima Bay. Bull. Fish. Environ. Inland Sea 1: 45-54.

Zhao, Z., Zhoa, F., Yao, J. Lu, J., Ang, P.O. and Duan, D. 2008. Early Development of Germling of Sargassum thunbergii (Fucales, Phaeophyta) under Laboratory Condition. J Appl Phycol 20: 925-931.

ประวัตินักวิจัยและคณะ

หัวหน้าโครงการ

นางสาวธิดารัตน์ น้อยรักษา

สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี

โทรศัพท์ 038-391671-3

โทรสาร 038-391674

e-mail: sargassum2005@yahoo.com

ผู้ร่วมงานวิจัย

1. Professor Dr. Hisao Ogawa

Professor Emeritus from Department of Marine Bioscience, School of Fisheries Science, Kitasato University, Tokyo, Japan 6-15, 8-Choume, Shougen, Isumu-Ku, Sendai City, Miyagi Prefecture, 981-3132 Japan

โทรศัพท์/โทรสาร 81-22-373-3556

e-mail: ogaa18@hotmail.com

2. รองศาสตราจารย์ ดร. วิภูษิต มัณฑะจิต

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

โทรศัพท์ 038-745900 ต่อ 3094

โทรสาร 038-390354

e-mail: vipoosit @buu.ac.th