

การคัดแยกเชื้อราเส้นใยผลิตเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทส (fungal protein phosphatase) จากเชื้อราที่พบอยู่กับตัวอย่างดินและใบไม้จากบริเวณพื้นที่ป่าอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ณ เขื่อนจุฬาภรณ์ อ.คอนสาร จังหวัดชัยภูมิ โดยการนำตัวอย่างเชื้อรามาเพาะเลี้ยงในอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยการเลือกจาก single colony ที่เจริญอยู่ในอาหาร เพาะเลี้ยงเชื้อราลงในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ทำการวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทส สำหรับเชื้อราที่ทำการคัดแยกได้ทั้งหมด 185 isolates พบว่ามีเชื้อราที่มีกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทสทั้งหมด 31 isolates คัดเลือกเชื้อราเฉพาะที่มีกิจกรรมเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทสสูงสุดตามลำดับจะนวน 5 isolates คือ FPP006, FPP009, FPP012, FPP020 และ FPP0021 เมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงเชื้อราแต่ละ isolate ลงในอาหาร Rice Starch Broth และ Potato Dextrose Broth พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา FPP006 ในอาหาร Rice Starch Broth ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ fungal protein phosphatase สูงกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงใน Potato Dextrose Broth ทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา FPP006 พบว่าเชื้อรา isolate FPP006 เจริญได้ดีในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นแป้งข้าวเจ้า 2% น้ำตาลกลูโคส 0.2% และความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ pH 7 เมื่อทดสอบความทนต่อความร้อน เอนไซม์จะถูกเริ่มทำลายที่อุณหภูมิ 70°C และเอนไซม์ถูกทำลายทั้งหมดที่อุณหภูมิ 100°C เชื้อรา isolate FPP006 ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์ (enzyme activity) สูงสุดเท่ากับ 23,666.67 units/ml/min และมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ 16542.79 µg/ml เมื่อคำนวณค่า specific enzyme activity ได้ค่าเท่ากับ 1.43 Unit/ µg protein ผลการทดสอบหาความสัมพันธ์แบบจำเพาะกับสารพิษก่อมะเร็งตับ microcystin LR กับเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทส พบว่าโปรตีนฟอสฟาเทสจากเชื้อ FPP006 มีค่ากิจกรรมลดน้อยลงเมื่อความเข้มข้นของสารพิษ microcystin LR เพิ่มขึ้น แต่การลดลงของค่ากิจกรรมเอนไซม์ไม่เป็นไปตามหลักการความจำเพาะสรุปได้ว่าไม่มีความจำเพาะกันระหว่างเอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทสกับสารพิษ microcystin LR ส่งผลให้ไม่สามารถใช้เอนไซม์โปรตีนฟอสฟาเทสจากเชื้อรา isolate FPP006 ในการช่วยตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษ microcystin ในน้ำดื่มได้ การระบุชนิดของเชื้อราด้วยการศึกษาทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถระบุเอกลักษณ์ของเชื้อรา isolate FPP006 สามารถจัดให้อยู่ใน genus *Neurospora* sp. FPP006

Isolation of filamentous fungi producing fungal protein phosphatase from soil and leave samples within the conserved forest region within The Plant Genetic Conservation Project Under the Royal Initiative of Her Royal Highness of Princess Maha Chakri Sirindhorn at Chulaporn Dam, Kornsarn District, Chiyapum province. Filamentous fungal in the collected samples were primarily cultivated on Potato Dextrose Agar (PDA). Single colony purified fungi were further cultivated in Potato Dextrose Broth. When analyses for fungal protein phosphatase activities, there were 185 fungal isolates could be used for further analysis. Further analyses found that 31 fungal isolates were further considered produced high fungal protein phosphatase. Among 31 fungal isolates, 5 isolates were selected for further studies depending on higher values of fungal protein phosphatase activities namely FPP006, FPP009, FPP012, FPP020 and FPP0021 respectively. Comparing the ability of the 5 fungal isolates to grow and produce fungal protein phosphatase activities on Potato Dextrose Broth and Rice Starch Broth, the result revealed that fungal isolate FPP006 produced highest fungal protein phosphatase activity on Rice Starch Broth. Suitable conditions for growth and enzyme production in the fungal isolate FPP006 were using 2% rice starch, 0.2% glucose and pH of 7. Cultivation of fungal isolate FPP006 under suitable conditions for growth produced highest enzyme activity at 23,666.67 units/ml/min with total protein of 16542.79  $\mu\text{g/ml}$ , giving a specific enzyme of 1.43 Unit/ $\mu\text{g}$  protein. Heat stability of fungal protein phosphatase from FPP006 was up to 70°C, then decline down as temperatures were raised and get completely destroyed at 100°C. Examination for the specific relationship between hepatotoxic microcystin LR and the fungal protein phosphatase under study showed slow decline of fungal protein phosphatase activity with sequential increase in concentrations of microcystin LR. Resulting to a non-complied with normal inhibitory effect of fungal protein phosphatase activity by microcystin LR. This resulting in the inability of using fungal protein phosphatase from FPP006 for the detection of hepatotoxic microcystin LR in drinking water as stated in this research objectives. Morphological microscopic observation of fungal isolate FPP006 could tentatively placed under genus *Neurospora* sp. FPP006.