

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อควบคุมเชื้อราโรคพืช
นักศึกษา	นางสาวพัชรี ผดุงวงศ์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร. อาภารัตน์ มหาจันทร์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. เดือนใจ บุญ-หลง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรไท สุขเจริญ
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ	2540

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้นำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินจำนวน 11 สกุล 165 สายพันธุ์ มาแยกและคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อต้านเชื้อราโรคพืช 6 ชนิด โดยนำสารสกัดที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาทดสอบกับเชื้อราด้วยวิธี paper disc พบว่าสาหร่ายที่ยับยั้งเชื้อรา มี 8 สกุล โดยสาหร่าย *Calothrix* sp. TISTR 8906 มีประสิทธิภาพในการต่อต้าน *Macrophomina phaseolina* สาเหตุโรคเน่าดำของถั่วเขียว เชื้อรา *Colletotrichum truncatum*, *Bipolaris maydis* และ *Fusarium oxysporum* ได้ดีที่สุด เมื่อนำสาหร่าย *Calothrix* sp. TISTR 8906 มาเพาะเลี้ยงในอาหาร BGA ดัดแปลงที่เหมาะสม โดยการเติมโซเดียมไนเตรด 1.5 กรัมต่อลิตร ไคโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 4.5 กรัมต่อลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.03 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้น 7 บ่มที่อุณหภูมิ 29 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน ในถัง carboy บรรจุอาหาร 10 ลิตร ให้อาหารผสมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 5% ด้วยอัตราการไหล 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที ภายใต้ความเข้มของแสง $60 \mu\text{mol photon/m}^2/\text{s}$ พบว่าสาหร่ายมีมวลชีวภาพ 3 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักสด 1 กรัมเซลล์ต่อลิตร ให้สารสกัด 28.67 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกับสารมาตรฐานของ cycloheximide พบว่าสารสกัด 100 มิลลิกรัม มีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ 1.8 มิลลิกรัม สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ไม่เสถียรเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 70 และ 100 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที และมีความเสถียรที่พีเอช 6 ถึง 7

ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และจากการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปนโดยวิธีทินแลเซอร์โครมาโทกราฟี พบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพออกจากสิ่งเจือปนคือ คลอโรฟอร์ม : เมทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 7:3:1 ตำแหน่งของสารอยู่ที่ค่า R_f 0.55 และ 0.65 และให้ผลการทดสอบเป็นลบกับ ninhydrin reaction, biuret reaction, Molisch's test, anthron test, unsaturation test รวมทั้งการทดสอบด้วยเอนไซม์โปรติเอส จึงสันนิษฐานว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะมีลักษณะเป็นโมเลกุลใหญ่ที่มีโครงสร้างสลับซับซ้อน

การศึกษารูปแบบการใช้สารสกัดจาก *Calothrix* sp. TISTR 8906 ซึ่งทำการทดลองในงานเพาะเชื้อ พบว่าสารสกัดละลายในเมทานอลผสมสารลดแรงตึงผิว เป็นรูปแบบที่เหมาะสมในการยับยั้งเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดเชือบนถั่วเขียว และความเข้มข้นของสารสกัดตั้งแต่ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งเชื้อราได้ ในระดับเดียวกับการใช้สารเคมี mancozeb ที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำสารสกัดจากสาหร่ายมาทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดเชือบนถั่วเขียว โดยทำการทดลองในถุงพลาสติกสำหรับเพาะกล้า ด้วยวิธีผสมสารละลายเชื้อราลงในดินโดยตรง (mixing method) และวิธีเคลือบสารละลายเชื้อราลงบนเมล็ด (dipping method) พบว่าค่าการติดเชื้อราของถั่วเขียวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ