

## บทที่ 1

### บทนำ

ไลเคน (lichen) เป็นสิ่งมีชีวิตที่เกิดจากการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย(symbiosis) ระหว่างราบกับสาหร่ายหรือ cyanobacteria (Ahmadjian, 1993; Purvis, 2000) โดยที่ สาหร่ายใช้คาร์บอนไดออกไซด์จากบรรยากาศ และใช้น้ำในการสังเคราะห์ด้วยแสง สร้างอาหารที่เป็นสารอินทรีย์แล้วแบ่งให้กับรา (Purvis, 2000) ส่วนราช่วยเก็บน้ำให้ สาหร่ายและปกป้องสาหร่ายจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆ เช่น ความร้อนจาก แสงแดด กรองแสงอัลตราไวโอล็อก (Ahmadjian, 1993; Gauslaa and Solhaug, 2001; Gauslaa et al. 2001; Lawrey, 1986; Rikkinen, 1995; Solhaug and Gauslaa, 1996)

ป้องกันการกัดกินของแมลงและศัตรูตามธรรมชาติ (Emmerichet et al. 1993; Fröberg et al. 1993; Lawrey, 1980) ไลเคนมีรูปร่างที่แตกต่างไปจากต้นกำเนิดทั้งสองคือราและ สาหร่าย โดยสิ่นเชิง นักพฤกษาศาสตร์ประเมินว่ามีไลเคนประมาณมากกว่า 30,000 ชนิด ทั่วโลก (Purvis, 2000; Sipman and Aptroot, 2001) ไลเคนพบได้ทั่วไป ตั้งแต่ที่หนาวจัด แดบข้าวโลกจนถึงร้อนแห้งแล้งแบบทะเลทรายรวมไปถึงเขตร้อน ได้มีการประมาณ จำนวนชนิดราที่ก่อให้เกิด ไลเคน (lichen-forming fungi) ทั่วโลกที่ทราบชนิดแน่นอน แล้ว อยู่ระหว่าง 17,500 - 20,000 ชนิด ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 20 ของราทั้งหมด และคิดเป็น ร้อยละ 40 ของราใน Phylum Ascomycota (Kirk et al., 2008)

สารประกอบต่าง ๆ ที่สร้างขึ้นสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ ด้วยกัน คือ (1) สารที่ได้จากการสร้างและสลายปฐมภูมิ (primary metabolites) ได้จากกระบวนการแมมแทนอลิซึมของเซลล์ เป็นสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นเพื่อการเจริญของ รา เช่น กรดอินทรีย์ กรดอะมิโน พอลิแซ็คคาไรด์ (2) สารจากกระบวนการสร้างและ สลายทุติยภูมิ (secondary metabolites) เป็นโมเลกุลที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นหลังระยะการ แบ่งตัวแบบทวีคูณ (log phase) หรือสภาวะขาดแคลน สารจากกระบวนการสร้างและ

スタイルปฐมภูมิบางชนิดจะเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์สารประกอบทุติยภูมิ เช่น ยาปฏิชีวนะ เม็ดสี สารพิษ เป็นต้น

สารทุติยภูมิของไลเคนมักเกิดจากการสร้างของราเป็นหลัก ดังนั้นการเพาะเลี้ยง ราที่ก่อให้เกิดไลเคนเพื่อศึกษาชนิดของสารทุติยภูมิจึงเป็นสิ่งจำเป็น เนื่องจากความต้องการสารอาหารและสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น อุณหภูมิ แสง ความชื้น ของราที่ก่อให้เกิดไลเคนแต่ละชนิด เป็นปัจจัยสำคัญในการสร้างสารทุติยภูมิ (Stocker-Wörgötter et al, 2004) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยง จะสามารถชักนำให้เกิด การสร้างสารทุติยภูมิทั้งชนิดที่เหมือนและแตกต่างไปจากไลเคนในธรรมชาติได้ (Stocker- Wörgötter et al, 2009)

สารทุติยภูมิจากไลเคนหลายชนิดถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางมาเป็นเวลานาน และยังมีอีกหลายชนิดที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์ได้อีกมาก ตัวอย่างเช่น lichenanthone, parietin, atranorin, diffractaic acid, physodalic acid, secalonic acid, usnic acid และ vulpinic acid ในธรรมชาติไลเคนผลิตสารทุติยภูมิออกมานเพื่อป้องกันแสงแดด (Fahselt, 1994) ป้องกันตัวจากการถูกแมลงกัดกิน ป้องกันราที่เป็นปรสิต (Emmerichet et al., 1993) ได้มีการศึกษาพบว่าสารทุติยภูมิจากไลเคนมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่าง เช่น ฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรีย ฤทธิ์ในการต้านไวรัส ยับยั้งการออกของเมล็ดพืชบางชนิด (Huneck, 1999) สารทุติยภูมิจากไลเคนที่พบโครงสร้างแล้วมีประมาณ 800 ชนิด (Stocker- Wörgötter et al, 2004) ซึ่งมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์อีกมากมาย โดยได้มีการศึกษาพบว่าสารทุติยภูมิเกิดจากการสร้างของรา และราที่เพาะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการสร้างสารทั้งชนิดที่เหมือน และแตกต่างไปจากที่พบในไลเคนธรรมชาติ (Stocker-Wörgötter, 2001) ในขณะที่สาหร่ายจะสร้างสารปฐมภูมิ (primary metabolites) เป็นหลัก ซึ่งเป็นสารจำพวกสารโบไฮเดรตที่เกิดจากการกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงเท่านั้น

ราที่ก่อให้เกิดไลเคนมีอัตราการเจริญที่ช้ามากในห้องปฏิบัติการและในสภาวะการเลี้ยงที่ต่างกันจะสร้างสารทุติยภูมิทั้งที่เหมือนและต่างกัน (Ahmadjian, 1993; Kilias, 1987; Yamamoto, 1998) ดังนั้นจึงควรศึกษาเพื่อหาสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญและ

การสร้างสารทุติยภูมิของราที่ก่อให้เกิดໄลเคนเพื่อพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ชี้่งในประเทศไทยซึ่งยังมีการศึกษาในด้านนี้อยู่น้อยมาก

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดໄลเคนเพื่อให้ผลิตสารทุติยภูมิ
- ศึกษานิคของสารทุติยภูมิที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงราที่ก่อให้เกิดໄลเคนในห้องปฏิบัติการ
- เปรียบเทียบสารทุติยภูมิที่เกิดขึ้นจากสภาวะการเพาะเลี้ยงที่ต่างกัน

## นิยามศัพท์เฉพาะ

Antimicrobial activity	ปฏิกริยาในการต้านจุลชีพ
Ascospore	สปอร์มีเพศซึ่งเกิดจากการแบ่งนิวเคลียสแบบไม้อโซซีส เกิดในแอสโคส
Clear zone	เป็นบริเวณใสที่จุลินทรีย์ทดสอบถูกยับยั้งการเจริญ การวัดขนาดของบริเวณใส จะวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้น มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (มม.)
Contamination	การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ในอุปกรณ์ สิ่งของเครื่องใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดเชื้อบริสุทธิ์ฯลฯ ราที่ก่อให้เกิดໄลเคน راكฉุนนี้สามารถเกิดการรวมตัวกับสาหร่ายก่อให้เกิดเป็นໄลเคนขึ้นมา ราที่ก่อให้เกิดໄลเคนเกือบทั้งหมดจัดเป็นราใน Phylum Ascomycota
Lichen-forming fungi	

Secondary metabolites	เมแทบอไลต์ซึ่งผลิตโดยวิถีอื่น นอกเหนือจากวิถีเมแทบอไลต์ที่มีปกติ โดยมากจะผลิตหลังระยะ exponential phase หรือสภาวะขาดแคลน
Shake culture condition	การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการเขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อ
Static culture condition	การเลี้ยงเชื้อในสภาวะตั้งนิ่ง
Stir culture condition	การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการวนอาหารเลี้ยงเชื้อ
Symbiosis	การอยู่ร่วมกันของสิ่งมีชีวิต 2 ชนิดในระบบ呢เวค ในลักษณะที่ทั้ง 2 ชนิดให้ประโยชน์ซึ่งกันและกัน