ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด

THE PRODUCTION OF AN ANTIFUNGAL COMPOUND FROM BLUE GREEN ALGAE

นัฐทิชา มีสัตย์
นัดดาวัลย์ ทวีตา
ปรัชญ์ แจ้งประดิษฐ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด

THE PRODUCTION OF AN ANTIFUNGAL COMPOUND FROM BLUE GREEN ALGAE

นัฐทิชา มีสัตย์
นัดดาวัลย์ ทวีตา
ปรัชญ์ แจ้งประดิษฐ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 149053
วัน,เดือน,ปี 27 S.A. 2560

.b 12879962
.i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE PRODUCTION OF AN ANTIFUNGAL COMPOUND FROM BLUE GREEN ALGAE

NATTHICHA MEESAT

NADDAWAN TAVEETA

PRUCH JANGPRADIST

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด

The Production of an Antifungal Compound from Blue Green Algae

ชื่อนักศึกษา นางสาวนัฐทิชา มีสัตย์ รหัสนักศึกษา 55051307

นางสาวนัดดาวัลย์ ทวีตา รหัสนักศึกษา 55051308

นายปรัชญ์ แจ้งประดิษฐ รหัสนักศึกษา 55051329

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

สาขาวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีนา ชูโชติ

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการ	
ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย กรรมการ	
ผศ.วีนา ชูโชติ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ ผลของสารสกัดจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชบางชนิด

ชื่อนักศึกษา นัฐทิชา มีสัตย์ รหัสนักศึกษา 55051307
นัดดาวัลย์ ทวีตา รหัสนักศึกษา 55051308
ปรัชญ์ แจ้งประดิษฐ รหัสนักศึกษา 55051329

ปริญญา วิทยาศาตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.วีนา ชูโชติ

บทคัดย่อ

การศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผลยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. จาก *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และ *Oscillatoria* sp.PT55 พบว่า *Oscillatoria* sp.V55 มีการเจริญดีที่สุด *Oscillatoria* sp.M55 มีอัตราส่วนของน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักเส้นสายสดมากที่สุดคือ 0.25 การทดสอบกับการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสด พบว่า *Oscillatoria* sp. KP55 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากที่สุด มีขนาดโซนใสเท่ากับ 26.22±0.68 มิลลิเมตร และ *Oscillatoria* sp.M55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมสกัดด้วยสารละลายเมทานอล ทดสอบด้วยวิธี paper disc สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด มีขนาดโซนใส 20.96±0.63 มิลลิเมตร นอกจากนั้นที่ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยสุดคือ 0.6 มิลลิกรัม *Oscillatoria* sp.M55 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. มีขนาดโซนใส 11.00±1.15 มิลลิเมตร

คำสำคัญ : เชื้อราโรคพืช, *Alternaria*, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน, *Oscillatoria*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	The production of an antifungal compound from blue green algae		
Studente	Natthicha Meesat	ID	55051307
	Naddawan Taveeta	ID	55051308
	Pruch Jangpradist	ID	55051329
Degree	Bachelor of Science (Industrial Microbiology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2015		
Advisor	Asst. Prof. Weena Choochote		

Abstract

The study was conducted to determined antifungal extracts from nine strain of *Oscillatoria* including AG55, V55, SP55, RT55, M55, KP55, TK55, TP55 and PT55. The result shows that *Oscillatoria* sp.V55 had the highest growth rate. The highest yield of the algal extract (0.25) was obtained from *Oscillatoria* sp.M55. The thallus fragments were tested for antifungal activity. *Oscillatoria* sp.KP55 strongly inhibited growth of *Alternaria* sp. (26.22±0.68 mm). The extracts concentration of 1 mg were tested for antifungal activity using paper disc plate method the algal extracts from *Oscillatoria* sp.M55 strongly inhibited growth of *Alternaria* sp. (20.96±0.63 mm). Finally, The minimum extracts concentration of 0.6 mg were tested of for antifungal agent by paper disc method was found that single algal extracts from *Oscillatoria* sp.M55 inhibited growth of *Alternaria* sp. (11.00±1.15 mm)

Keyword: Fungal plant diseases, *Alternaria*, Antifungal activity, Blue green algae, *Oscillatoria*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้ ได้จัดทำตามหลักสูตรวิทยาศาตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ซึ่งสำเร็จไปได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำ ให้ความรู้ในการค้นคว้าและวิธีการวิจัย อีกทั้งให้ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ เพื่อให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.จิตติ ท่าไว และ ดร.ณัฐวุฒิ รุ่งจินดามัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับการทดลองโครงงานพิเศษนี้

สุดท้ายนี้ขอบพระคุณบิดา มารดาที่ให้ความสนับสนุนและให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษ และเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

นัฐทิชา มีสัตย์
นัดดาวัลย์ ทวีตา
ปรัชญ์ แจ้งประดิษฐ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	3
2.1.1 สาหร่าย *Oscillatoria* spp.	3
2.1.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน	6
2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา	13
2.2.1 เชื้อรา *Alternaria* sp.	13
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
3.1 สารเคมี	20
3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	20
3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง	21
3.4 เชื้อราที่ใช้ในการทดลอง	21
3.5 การเพาะเลี้ยงและการวัดการเจริญของสาหร่าย	22
3.5.1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง	22
3.5.2 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง	22
3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ	22
3.6 การเตรียมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. เพื่อใช้ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.	23
3.7 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp.	23
3.8 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี swab inculation และ paper disc	23
3.8.1 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อรา	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8.2 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก เส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	24
3.8.3 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	24
3.8.4 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปรายผล	27
4.1 การคัดแยกพันธุ์สาหร่าย	27
4.2 การศึกษาการเจริญของสาหร่าย	30
4.3 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในแต่ละสายพันธุ์	35
4.4 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จาก สาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี swab inculation และ paper disc	36
4.4.1 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก เส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	36
4.4.2 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	41
4.4.3 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้ง เชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA	45
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	53
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	61
ภาคผนวก ก	62
ภาคผนวก ข	63
ภาคผนวก ค	67
ภาคผนวก ง	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria* spp. ที่คัดแยกจากแหล่งน้ำธรรมชาติ จำนวน 9 สายพันธุ์	27
4.2 ค่าพารามิเตอร์ในการวัดการเจริญของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ในวันที่ 16 ของการทดลอง	33
4.3 แสดงน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จาก *Oscillatoria* spp. ในวันที่ 20 ของการทดลอง	36
4.4 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้เส้นสายสด *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง	40
4.5 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง	45
4.6 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างกัน ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria* sp.	4
2.2	แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria princeps*	4
2.3	แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria tenuis*	5
2.4	แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria agardhii*	5
2.5	แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria curviceps*	6
2.6	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของลาซาไฟซิน เอ	7
2.7	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของลาซาไฟซิน บี	8
2.8	แสดงโครงสร้างทางเคมีของพูไวนาไฟซิน	9
2.9	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของนอดโตคลาไมด์	9
2.10	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของนอดโตไดโอน เอ	10
2.11	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของฟิเซอเรลริล	11
2.12	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของโทลีท็อกซิน	11
2.13	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสเพอร์มีน	12
2.14	แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของพิเพอราซีน	12
2.15	แสดงลักษณะเชื้อรา *Alternaria* sp.	13
2.16	แสดงลักษณะโรคใบไหม้ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Alternaria* sp.	14
2.17	แสดงวงจรการก่อโรคของ *Alternaria* sp.	14
2.18	แสดงลักษณะอาการของโรคใบไหม้ของใบแคนตาลูป	15
2.19	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของใบคาร์เนชัน	15
2.20	แสดงลักษณะอาการของโรคผลเน่าในมะม่วง	16
2.21	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดดำของกล้วยไม้	16
2.22	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ	17
2.23	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดม่วงของพืชตระกูลหอม	17
2.24	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของใบมันฝรั่ง	18
2.25	แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาลของใบและผลของมะเขือเทศ	18
2.26	แสดงลักษณะอาการของโรคราดำของส้มโอ	19
2.27	แสดงลักษณะอาการของโรคจุดสีน้ำตาลในเสาวรส อาการบนใบ (ก) ลักษณะของแผลบนใบ (ข) อาการบนผล (ค)	19
3.1	แสดงลักษณะโคโลนีและสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่แยกจากใบคะน้า	21
3.2	แสดงลักษณะของเชื้อรา *Alternaria* ap. ลักษณะของโคโลนี (ก) ลักษณะของสปอร์ (ข)	21
3.3	แสดงตำแหน่งการวางเส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp.	25
3.4	แสดงตำแหน่งการวางแผ่นทดสอบสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตรจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. และแผ่นควบคุม	25
3.5	แสดงตำแหน่งการวางแผ่นทดสอบสารสกัดความเข้มข้น 1, 0.8, 0.6, 0.4 และ 0.2 ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. และแผ่นควบคุม	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.1	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร) ของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์	34
4.2	ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์	34
4.3	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์	35
4.4	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.AG55	37
4.5	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.V55	37
4.6	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.SP55	38
4.7	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.RT55	38
4.8	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.M55	39
4.9	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.KP55	39
4.10	การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.TP55	40
4.11	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.AG55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	41
4.12	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.V55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	42
4.13	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.SP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	42
4.14	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.RT55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	43
4.15	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	43
4.16	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.KP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	44
4.17	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.TP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร	44
4.18	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.AG55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.19	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.V55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	46
4.20	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.SP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	47
4.21	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.RT55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	47
4.22	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	48
4.23	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.KP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	48
4.24	แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.TP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน	49
4.25	กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการใช้เส้นสาย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.	50
4.26	กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตรจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในประเทศส่วนใหญ่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ปริมาณและมูลค่าของการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2553–กันยายน พ.ศ. 2558 มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2556 มีปริมาณการนำเข้าสูงที่สุดถึง 172,826 ตัน โดยมูลค่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่นำเข้าทั้งหมดคิดเป็น 24,416 ล้านบาท เมื่อพิจารณาสัดส่วนปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่มีการนำเข้าพบว่า 3 อันดับที่มีการนำเข้าสูงสุดคือ สารกำจัดวัชพืชร้อยละ 77.16 สารกำจัดแมลงร้อยละ 12.18 และสุดท้ายสารป้องกันและกำจัดราโรคพืชร้อยละ 7.97 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559) จึงนับได้ว่ามูลค่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่นำเข้าทั้งหมดนั้นเป็นจำนวนมหาศาล แม้การใช้สารเคมีอาจได้ผลดีในระยะแรกของการใช้ในแปลงปลูกพืช แต่พบว่าในปัจจุบันเกิดปัญหาศัตรูพืชขึ้นอย่างมาก ทั้งในเรื่องการต้านทานโรคที่มีต่อสารเคมีที่ใช้หรือการเกิดศัตรูพืชใหม่ ๆ ที่มีความต้านทานต่อสารเคมีและการเกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น สารพิษตกค้างในดิน ซึ่งส่วนใหญ่พบสารตกค้างในกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และออร์กาโนฟอสเฟต (พาลาภ, 2537) ส่วนการฉีดพ่นสารเพื่อป้องกันกำจัดศัตรูพืชทำให้เกิดสารตกค้างในบรรยากาศ นอกจากนั้นยังพบว่าสารเคมีที่ใช้ป้องกันศัตรูพืชสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งทางตรง และทางอ้อม ซึ่งก่อให้เกิดพิษต่อเกษตรกรและผู้บริโภค

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้นทำให้นักวิจัยหลายท่านหันมาพัฒนาการควบคุมเชื้อราโรคพืชโดยวิธีทางชีวภาพ (biological control) เช่น การใช้สารสกัดจากพืชสมุนไพร แต่สารสกัดจากพืชยังมีข้อจำกัดทางการผลิตระดับอุตสาหกรรมในแง่ที่ต้องใช้พื้นที่เพาะปลูกขนาดใหญ่ และใช้เวลาในการเพาะปลูกนาน นอกจากนี้ยังไม่สามารถควบคุมสภาพการผลิตที่เหมาะสมได้ เนื่องจากการเจริญเติบโตของพืชยังขึ้นกับองค์ประกอบต่าง ๆ เช่น สภาพดินฟ้าอากาศ อย่างไรก็ตามได้มีผู้พยายามคิดค้นหาแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่มีศักยภาพในการสร้างจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยพบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินนั้นเป็นแหล่งน่าสนใจในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีรายงานว่าสาหร่ายในสกุล *Anabaena* สามารถผลิตสารต่อต้านเชื้อรา *Aspergillus oryzae*, *Candida albicans*, *Penicillium notatum* และ *Trichophyton mentagrophytes* (Frankmölle และคณะ, 1992) การใช้สาหร่ายผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นมีข้อได้เปรียบในแง่การใช้พื้นที่ในการผลิตน้อยและระยะเวลาในการผลิตสั้นกว่าพืช สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมและเลือกรูปแบบที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงได้ เช่น การเลี้ยงในถังหมัก (Chetsumon และคณะ, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินส่วนใหญ่พบได้แพร่หลายในแหล่งน้ำทั่วไป เนื่องจากมีความสามารถตรึงไนโตรเจนภายใต้สภาวะที่มีอากาศได้และนับได้ว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นแหล่งทรัพยากรที่มีคุณค่าในด้านของผลิตยาและสารพิษ ซึ่งในปี ค.ศ. 2016 Dussault และคณะได้รายงานว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นจุลินทรีย์ที่มีความโดดเด่นในการสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียและยับยั้งเชื้อราโรคพืช อีกทั้งยังปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อเทียบกันกับสารป้องกัน และกำจัดราโรคพืชที่สังเคราะห์ทางเคมี นอกจากนี้สารทุติยภูมิที่สร้างโดยสาหร่ายยังมีโครงสร้าง และกิจกรรมทางชีววิทยาที่มีลักษณะเฉพาะ จึงมีผู้สนใจศึกษาเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในการผลิตยาปฏิชีวนะ และเภสัชวิทยาอื่น ๆ เป็นอย่างมากในช่วงเวลาไม่กี่สิบปีที่ผ่านมา (พาลาภ, 2537)

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์และความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ก่อโรค และเป็นสาเหตุของโรคใบจุดและใบไหม้พืชผัก ไม้ดอกไม้ประดับ และไม้ผลบางชนิด เพื่อเป็นแหล่งสำคัญแหล่งใหม่สำหรับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถพัฒนาเป็นสารต่อต้านเชื้อราโรคพืช และอาจช่วยลดปริมาณการนำเข้าสารป้องกัน และกำจัดราโรคพืชจากต่างประเทศต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1) คัดเลือกสายพันธุ์ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จากแหล่งน้ำในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp.

2) ศึกษาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

โครงงานพิเศษนี้ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ทั้ง 9 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้จากแหล่งน้ำจืด ภายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เพื่อใช้ทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ และทราบความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. เพื่อเป็นแนวทางในการหาแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะสามารถพัฒนาเป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

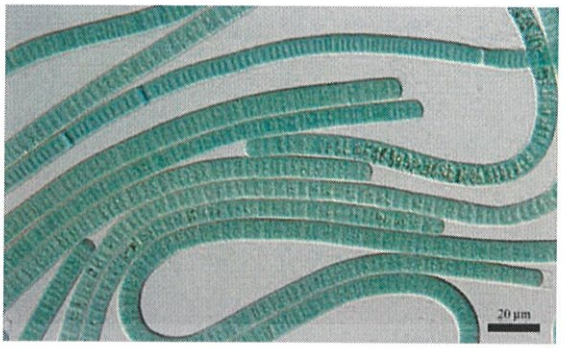
2.1 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ จำพวกโพรคาริโอตคือ สารพันธุกรรมกระจายในไซโตพลาสซึมและไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส สามารถสังเคราะห์แสงได้เช่นเดียวกับพืชชั้นสูง เนื่องจากมีคลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์ ไฟโคอีรีทริน และไฟโคไซยานิน ทั้งยังมีการสะสมอาหารในรูปไกลโค-เจน ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารอะมิโนชูการ์ และกรดอะมิโน ลักษณะโครงสร้างของเซลล์มีลักษณะเป็นเซลล์เรียงแถวเดียวเรียกว่าไตรโคม (trichome) ไตรโคมมีชั้นเมือกห่อหุ้มชั้นนอกที่เป็นชีท เรียกโครงสร้างนี้ว่าเส้นสาย (filament) อาจพบมากกว่า 1 ไตรโคมในแต่ละสาย (Ragan, 1998) แหล่งที่อยู่อาศัยของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินพบได้ทั่วไปทั้งในน้ำจืด และน้ำทะเล บนบก ภูมิอากาศทั้งเขตร้อน และหนาว สภาพที่อยู่ในน้ำอาจจะอยู่แบบอิสระ หรือเกาะติดกับวัตถุอื่นที่จมอยู่ในน้ำ บางชนิดอยู่ภายในพืชเป็นแบบเอนโดไฟต์ (endophyte) เช่น การเจริญในพืชซึ่งอยู่ในกลุ่มลิเวอร์เวิร์ต ซึ่งเป็นกลุ่มพืชที่ไม่มีเนื้อเยื่อท่อลำเลียง มีลักษณะเป็นแผ่นสีเขียว สาหร่ายสกุล *Anabaena* sp. บางชนิดอยู่ในเฟิร์นน้ำ หรืออยู่ร่วมกับพืชน้ำชนิดอื่น (สรวิศ, 2543)

2.1.1 สาหร่าย *Oscillatoria* spp.

Oscillatoria spp. เซลล์ยอดจะมีลักษณะกลมมน มีความกว้างมากกว่าความยาวของเซลล์ ขนาดของเซลล์จะสม่ำเสมอตลอดสาย ไม่มีชีทหุ้ม อาจอยู่เดี่ยว ๆ หรือรวมกลุ่มกัน ไม่มีเฮเทอโรซิสต์ สืบพันธุ์ได้โดยการขาดออกเป็นท่อน ๆ หรือมีการเพิ่มความยาวของสายโดยการแบ่งตัวของเซลล์ที่ปลายของไตรโคม ดังรูป 2.1 สาหร่ายสกุลนี้พบได้บ่อยที่สุด และพบได้ทุกหนทุกแห่งที่มีความชื้น เช่น ตามพื้นที่ชื้นแฉะ ตามบ่อน้ำ ลำธาร ท่อระบายน้ำหรือบริเวณซักล้างที่มีการใช้ผงซักฟอก น้ำยาล้างจาน หรือสบู่ซึ่งมีปริมาณฟอสเฟตสูง (ยุวดี, 2549) สาหร่ายชนิดนี้จะใช้แก๊สแวคิวโอลเป็นทุ่นลอย สามารถทำให้เกิดการบลูมโดยการลอยอยู่ใกล้ผิวน้ำเป็นจำนวนมาก เมื่อเกิดการสังเคราะห์ด้วยแสงจะหยุดผลิตแก๊สแวคิวโอล และเพิ่มน้ำหนักของเซลล์จึงเกิดการสูญเสียความสามารถในการเป็นทุ่นลอย (Singh และคณะ, 2012) มีสารสีหลักที่ใช้ในการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ เอ ที่อยู่ภายใต้เยื่อไทลาคอยด์ และยังมีสารสีเสริมในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง แคโรทีนอยด์และสารสีที่มีลักษณะเฉพาะคือ ไฟโคบิลิน ซึ่งไฟโคบิลินเป็นสารสีประเภทโปรตีนที่ละลายน้ำได้ชนิดของไฟโคบิลินที่พบคือ ซีไฟโค-ไซยานิน แอลโลไฟโคไซยานิน และไฟโคอิริโทรไซยานิน (Douglas และคณะ, 2003) การเคลื่อนที่ของสาหร่ายชนิดนี้อาศัยการโค้งงอเป็นลูกคลื่นของไฟบริลที่มีลักษณะเป็นเกลียวบริเวณชั้นกลางของผนังเซลล์ ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ในลักษณะหมุนไปรอบ ๆ และเคลื่อนไปข้างหน้าหรือถอยหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria* sp.
ที่มา : http://ccala.butbn.cas.cz/en/oscillatoria-limosa-c-agardh-0
เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

ในการค้นหาแหล่งผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดใหม่ที่มีศักยภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ พบว่า *Oscillatoria* spp. เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีศักยภาพในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนี้

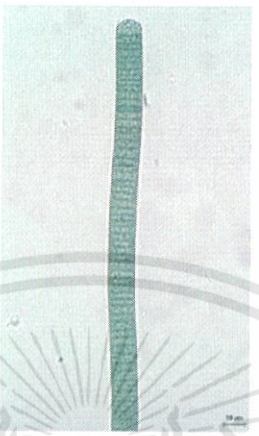
1. *Oscillatoria princeps* มีลักษณะเป็นเส้นสายตรงยาว มีสีเขียวแกมน้ำเงินเข้ม โดยแต่ละเซลล์มีความกว้างมากกว่าความยาวเรียงต่อกัน โดยแต่ละเซลล์มีความกว้าง 57-69 ไมโครเมตร ยาว 5-9 ไมโครเมตร ที่ส่วนปลายมีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ดังรูป 2.2 (Rani และคณะ, 2016)

รูปที่ 2.2 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria princeps*
ที่มา : http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/490-Introduce.htm
เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

Kiviranta และ Abdel-Hameed (1994) รายงานว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายเมทานอลเพื่อสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Oscillatoria princeps* ที่สามารถต้านเชื้อก่อโรคในคนได้ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Aspergillus niger* และ *Candida albicans* นอกจากนี้สารในกลุ่มเปปไทด์ เช่น สารไมโครคลอลิน (microcolin) ที่มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรงสร้างจาก L-amino acid ยังสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. *Oscillatoria tenuis* มีลักษณะเป็นเส้นสายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยแต่ละเซลล์มีความกว้าง 3.5-6.2 ไมโครเมตร และยาว 1.3-2.8 ไมโครเมตร เรียงต่อกันเป็นสาย (Loza และคณะ, 2013) ดังรูป 2.3



รูปที่ 2.3 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria tenuis*
ที่มา : http://dbmuseblade.colorado.edu/DiatomTwo/sbsac_site/species.php?g=Oscillatoria&s=tenuis# เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

Thangam และคณะ (2013) รายงานว่า สารสกัดไฟโคไซยานิน ซี ที่สกัดได้จากสาหร่าย *Oscillatoria tenuis* มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ทดสอบด้วยวิธีการ DPPH โดยหาจากการจับกันของสารอนุมูลอิสระและไฟโคไซยานิน ซี นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และผลการยับยั้งการเจริญจากไฟโคไซยานิน ซี ต่อเซลล์มะเร็ง พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของไฟโคไซยานิน ซี จะส่งผลให้เซลล์มะเร็งมีชีวิตรอดน้อยลง

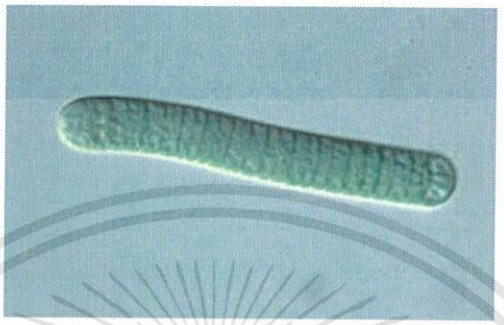
3. *Oscillatoria agardhii* มีลักษณะเป็นเส้นสายเกือบตรง ปลายเรียวลง มีสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยแต่ละเซลล์มีความกว้าง 4-6 ไมโครเมตร และยาว 2.5-4 ไมโครเมตร เรียงต่อกันเป็นสาย (Whitton และ Potts, 2012) ดังรูป 2.4

รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria agardhii*
ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Prokaryotes/Oscillatoriaceae/Oscillatoria/agardhii/sp_09.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kiviranta และ Abdel-Hameed (1994) รายงานว่า *Oscillatoria agardhii* สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความเป็นพิษต่อตัวอ่อนของยุงลาย *Aedes aegypti* ที่เป็นพาหะนำโรคไข้เลือดออก

4. *Oscillatoria curviceps* มีลักษณะเป็นเส้นสายตรง ตรงปลายงอ โดยแต่ละเซลล์มีความกว้าง 10-17 ไมโครเมตร และยาว 2-5 ไมโครเมตร ปลายโค้งมน (Hussain และคณะ, 2011) ดังรูป 2.5



รูปที่ 2.5 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria curviceps*
ที่มา : http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Prokaryotes/Oscillatoriaceae/Oscillatoria/curviceps/sp_04.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

Mostafa และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดหยาบในตัวทำละลายเมทานอล จากสาหร่ายสีเขียว-แกมน้ำเงิน *Oscillatoria curviceps* ที่แยกได้จากบ่อปลาน้ำจืด สามารถยับยั้ง *Lactobacillus* sp. และ *Aeromonas hydrophilia* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มักก่อให้เกิดโรคในปลา และนอกจากนั้นยังพบว่ามีสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus firmus*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Pseudomonas anguilliseptica* อีกทั้งยังสามารถยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Saprolegnia parasitica* ได้อีกด้วย

2.1.2 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ในการศึกษาคัดแยกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากกว่า 1,000 สายพันธุ์ เพื่อหาสายพันธุ์ที่ผลิตสารที่มีผลต่อเชื้อราและยีสต์ พบว่ามีสาหร่ายมากกว่าร้อยละ 10 สามารถผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ (Borowitzka, 1995) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตจากสาหร่ายมีองค์ประกอบของสารต่าง ๆ เช่น สารประกอบเพปไทด์ กรดไขมัน กรดอินทรีย์ โบรโมฟินอล สารยับยั้งพวกฟินอลิก แทนนิน เทอร์พีนอยด์ คาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์ ดังนี้

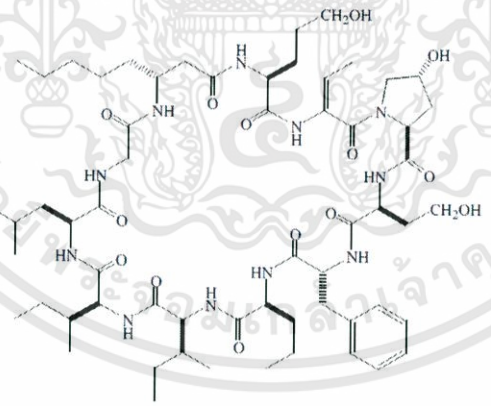
1. ลาซาไฟซิน (laxaphycin)

Frankmölle และคณะ (1992) รายงานว่าเมื่อสารลาซาไฟซินที่สกัดได้จาก *Anabaena laxa* ด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำในอัตราส่วน 7 : 3 นำสารสกัดที่ได้มาทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อราและยีสต์ด้วยวิธี paper disc พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus oryzae*, *Penicillium chrysogenum*, *Candida albicans* และ *Saccharomyces cerevisiae* โดยมีขนาดการเกิดโซนใสเท่ากับ 26, 26, 17 และ 19 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

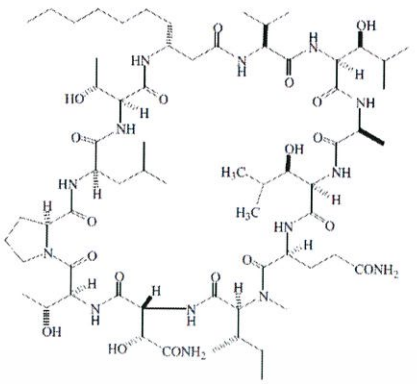
ตามลำดับ สารออกฤทธิ์นี้ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ซักซินิกดีไฮโดรจีเนส (succinic dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจของเซลล์เชื้อรา และทำให้เชื้อราตายในที่สุด

Radhakrishnan และคณะ (2009) รายงานว่าพบสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม cyclic peptides คือ ลาซาไฟซิน เอ และ บี ดังรูป 2.6 และ 2.7 จาก *Anabaena* sp. ที่แยกได้จากแหนแดงและนำมาเลี้ยงในอาหาร BG-11 ภายใต้การให้แสงสว่างสลับกับมืดในอัตราส่วน 16 : 18 ชั่วโมง ให้แสงสว่าง 5,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส พบว่ามีปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 1430.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 4.3351 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อนำ *Anabaena* sp. มาสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซีเตท แล้วนำมาทดสอบกับเชื้อราโรคพืชด้วยวิธี paper disc พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* และ *Pythium aphanidermatum* ที่เป็นสาเหตุของโรครากและโคนเน่ากับต้นสนในระยะต้นกล้า โดยการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Rhizoctonia bataticola* และ *Pythium aphanidermatum* มีขนาดการเกิดโซนใสเท่ากับ 10.33 และ 9.66 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารลาซาไฟซิน เอ และ บี มีกลไกการออกฤทธิ์เหมือนกันคือยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ซัก-ซินิก ดีไฮโดรจีเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจของเซลล์เชื้อรา และทำให้เชื้อราตายในที่สุด



รูปที่ 2.6 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของลาซาไฟซิน เอ
ที่มา : Hernández-Carlos และ Gamboa-Angulo, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

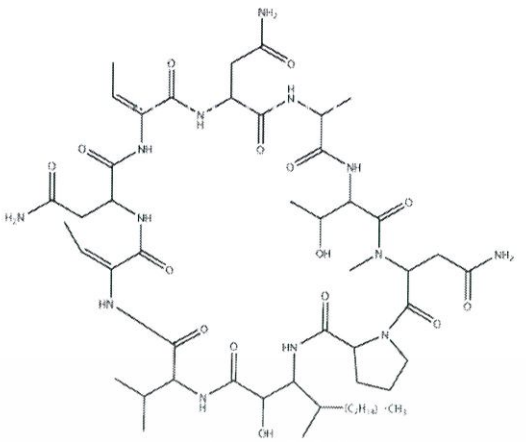


รูปที่ 2.7 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของลาซาไฟซิน บี
ที่มา : Hernández-Carlos และ Gamboa-Angulo, 2011

2. พูไวนาไฟซิน (puwainaphycins)

อาภารัตน์ (2548) รายงานว่า เมื่อนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Calothrix* sp. TISTR 8906 ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร BGA ดัดแปลงโดยการเติมโซเดียมไนเทรต 1.5 กรัมต่อลิตร ไดโพแทสเซียม-ไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.03 กรัมต่อลิตร และพีเอชเริ่มต้น 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน ในถังเพาะเลี้ยงบรรจุอาหาร 10 ลิตร ให้อาหารผสมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 ด้วยอัตราการไหล 1,000 มิลลิลิตรต่อนาที ภายใต้ความเข้มแสง 50 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่า *Calothrix* sp. TISTR 8906 น้ำหนักเส้นสายสดของสาหร่าย 1 กรัม ให้สารสกัด 28.67 มิลลิกรัม เมื่อนำ *Calothrix* sp. TISTR 8906 มาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย คลอโรฟอร์ม : เมทานอล : น้ำ ในอัตราส่วน 1 : 2 : 1 มาทดสอบกับเชื้อราโรคพืชด้วยวิธี paper disc พบว่าสารประกอบที่เกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนในกลุ่มพูไวนาไฟซิน ดังรูป 2.8 ที่พบใน *Calothrix* sp. TISTR 8906 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเน่าดำของถั่วเขียวได้ สารนี้ออกฤทธิ์โดยไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในเซลล์เชื้อราที่มีกลุ่มซัลไฮดริล เป็นผลทำให้โปรตีนในเซลล์เสื่อมสภาพและทำให้เซลล์ตายในที่สุด

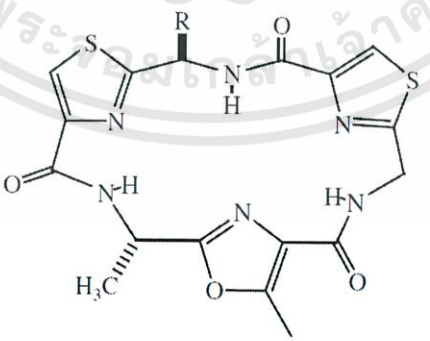
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แสดงโครงสร้างทางเคมีของพูไวนาไฟซิน
ที่มา : อาภารัตน์, 2548

3. นอคโตคลาไมด์ (noctoclamide)

Shaieb และคณะ (2014) รายงานว่าสารนอคโตคลาไมด์ ดังรูป 2.9 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอ-ทานอลจาก *Nostoc commune* ที่แยกได้จากดิน และนำมาเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหาร ASN-III ที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.4 และอุณหภูมิเท่ากับ 25±2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสงสว่างสลับกับมืด ในอัตราส่วน 12 : 12 ชั่วโมง โดยให้แสงสว่าง 50 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที พบว่าเมื่อนำสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร ทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธี paper disc บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน พบว่าสารสกัดจาก *Nostoc commune* สามารถยังยั้งการเจริญเติบโตของ *Escherichia coli* และ *Serratia marcescens* โดยขนาดการเกิดโซนใสมากกว่า 9 มิลลิเมตร ส่วนการทดสอบยังยั้งการเจริญเติบโตของ *Klebsiella pneumonia*, *Bacillus cereus* และ *Micrococcus luteus* พบว่าขนาดการเกิดโซนใสน้อยกว่า 9 มิลลิเมตร สารนี้ออกฤทธิ์โดยขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้

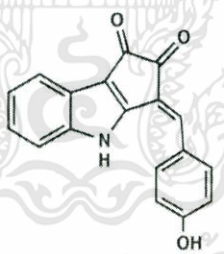


รูปที่ 2.9 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของนอคโตคลาไมด์
ที่มา : Hernández-Carlos และ Gamboa-Angulo, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นอคโตไดโอน เอ (nostodione a)

Kobayashi และคณะ (1994) รายงานว่าสารนอคโตไดโอน เอ ดังรูป 2.10 ที่ทำการสกัดได้จากสาหร่าย *Nostoc commune* ซึ่งคัดแยกได้จากแหล่งน้ำต่าง ๆ ภายในจังหวัดทากายาม่า ประเทศญี่ปุ่น คือ *Nostoc commune* OK-1, *Nostoc commune* OK-2, *Nostoc commune* Mino และ *Nostoc commune* Shiga-4 มาสกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล ก่อนนำสารสกัดมาทดสอบด้วยวิธีการเจือจางสารสกัดในอาหารเหลว (broth dilution method) คือเลี้ยงเชื้อที่ต้องการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ซึ่งมีสารสกัดในปริมาณต่าง ๆ กันผสมอยู่ และสังเกตการเจริญเติบโตของเชื้อเพื่อหาค่าของความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ (minimal inhibitory concentration ; MIC) พบว่าสารสกัดจาก *Nostoc commune* OK-1, *Nostoc commune* OK-2, *Nostoc commune* Mino และ *Nostoc commune* Shiga-4 ที่ความเข้มข้นน้อยสุดคือ 160, 320, 1,250 และ 1,250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus subtilis* และพบว่าสารสกัดจาก *Nostoc commune* OK-1, *Nostoc commune* OK-2, *Nostoc commune* Mino และ *Nostoc commune* Shiga-4 ที่ความเข้มข้นน้อยสุดคือ 640, 25,00, 1,250 และ 2,500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของ *Cladosporium herbarum* ได้ สารนี้ออกฤทธิ์โดยขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ และสามารถยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ ทำให้เชื้อราไม่เจริญเติบโต มีการแบ่งเซลล์ผิดปกติและมีการงอกของสปอร์ผิดปกติไปจากเดิม



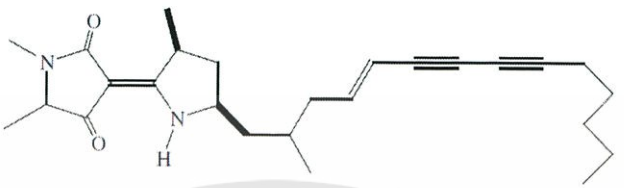
รูปที่ 2.10 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของนอคโตไดโอน เอ
ที่มา : Kobayashi และคณะ, 1994

5. ฟิเชอเรลริล (fischerellin)

Srivastava และคณะ (1998) รายงานว่าสารฟิเชอเรลริล ดังรูป 2.11 เป็นสารเมตาบอไลต์ทุติยภูมิที่พบในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Fischerella muscicola* UTEX 1829 มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยเอมีนสองวงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะที่เกิดจากอะตอมสองอะตอม ใช้อิเล็กตรอนคู่ร่วมพันธะ 2 คู่ เมื่อนำสารสกัดที่สกัดจาก *Fischerella muscicola* UTEX 1829 โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล นำมาทดสอบยับยั้งการเจริญด้วยวิธี paper disc พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

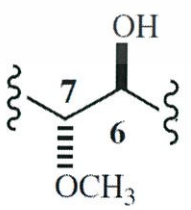
ต่อตัวทำละลาย 40 ไมโครลิตร พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Micrococcus luteus* โดยมีขนาดการเกิดโซนใสในช่วง 22-27 มิลลิเมตร สารนี้ออกฤทธิ์โดยขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้



รูปที่ 2.11 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของฟิเชอเรลริล
ที่มา : Hagmann และ Jüttner, 1996

6. โทลีท็อกซิน (tolytoxin)

Patterson และ Carmeli (1992) รายงานว่าสารโทลีท็อกซิน ดังรูป 2.12 ทำการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Scytonema ocellatum* เมื่อนำมาทดสอบด้วยวิธีการเจือจางสารสกัดในอาหารวุ้น (agar dilution method) คือการทดสอบโดยเจือจางสารสกัดในอาหารวุ้น และถ่ายเชื้อลงบนผิวของอาหารวุ้น ตรวจผลโดยดูการเจริญของเชื้อ ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่เชื้อไม่เจริญถือว่าเป็น MIC หรือค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternate* 1715, *Aspergillus oryzae*, *Bipolaris incurvata* 2118, *Candida albicans* A26, *Colletotrichum coccodes* 1809, *Penicillium notatum*, *Rhizoctonia solani* 1165, *Sclerotium rolfsii* 2133 และ *Trichophyto mentagrophytes* A23 ที่ความเข้มข้นน้อยสุด คือ 4, 0.5, 2, 8, 4, 0.25, 0.25, 1 และ 8 นาโนโมลาร์ ตามลำดับ สารนี้มีการออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างไคตินมีผลทำให้เกิดการขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา และทำให้เชื้อราไม่สามารถเจริญได้ในที่สุด



รูปที่ 2.12 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของโทลีท็อกซิน
ที่มา : Hernández-Carlos และ Gamboa-Angulo, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สเพอร์มีน (spermine) และ พิเพอราซีน (piperazine)

Shanab (2007) รายงานว่า เมื่อนำสาหร่าย *Oscillatoria* ที่แยกได้จากแหล่งน้ำพุร้อนในประเทศอียิป มา 3 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสาหร่าย *Oscillatoria hamelii, Oscillatoria platensis* และ *Oscillatoria rubescens* มาทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้แสงตลอดเวลาจนถึงช่วงปลายของการเจริญเติบโตจึงทำการเก็บเกี่ยว ทำแห้งแบบเยือกแข็ง และนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการสกัด และทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและเชื้อราด้วยวิธี paper disc โดยแบคทีเรียจะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1-2 วัน และเชื้อราจะนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน พบว่าสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus albus, Streptococcus faecalis* และ *Candida albicans* โดยมีขนาดโซนใสมากกว่า 10 มิลลิเมตร แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus flavus* และเมื่อนำไปวิเคราะห์สารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* ทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่ามีสารสเพอร์มีน และ พิเพอราซีน ดังรูป 2.13 อยู่ในสาหร่าย *Oscillatoria* ทั้ง 3 สายพันธุ์ สารนี้มีการออกฤทธิ์ โดยการยับยั้งการทำงานของยีนเกี่ยวกับการสร้าง RNA ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

รูปที่ 2.13 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสเพอร์มีน

ที่มา : Meng และคณะ, 2016

Piperazine

รูปที่ 2.14 แสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีของพิเพอราซีน

ที่มา : Terra และคณะ 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

เชื้อราดำรงชีวิตอยู่ได้โดยการรับอาหารจากพืช หรือสัตว์อื่น เชื้อราส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นใย เมื่อรวมกลุ่มกันเรียกว่าไมซีเลียม การขยายพันธุ์มีทั้งแบบใช้เพศและไม่ใช้เพศ แพร่พันธุ์ด้วยสปอร์ มีลักษณะแตกต่างกันตามชนิดของเชื้อรา เชื้อรามากกว่า 8,000 ชนิดเป็นสาเหตุของโรคพืช เช่น โรคใบไหม้ในมันฝรั่ง โรคเขม่าดำ โรคเหี่ยว และโรคใบไหม้ข้าว เป็นต้น (พิสุทธิ์, 2550)

2.2.1. เชื้อรา *Alternaria* sp.

Alternaria sp. ลักษณะเป็นเส้นสายสีดำ การเจริญในเนื้อเยื่อที่เป็นโรคโดยเชื้อจะสร้างสปอร์ตั้งตรง ขนาดสั้น ไม่แตกกิ่ง มีขนาดใหญ่สีดำ ลักษณะยาวหรือคล้ายลูกแพร์ มีผนังกั้นทั้งด้านขวางและด้านยาว หลุดได้ง่ายและปลิวไปตามลม พบในอากาศและปะปนกับฝุ่นผงทั่วไป (วิจัย, 2551)

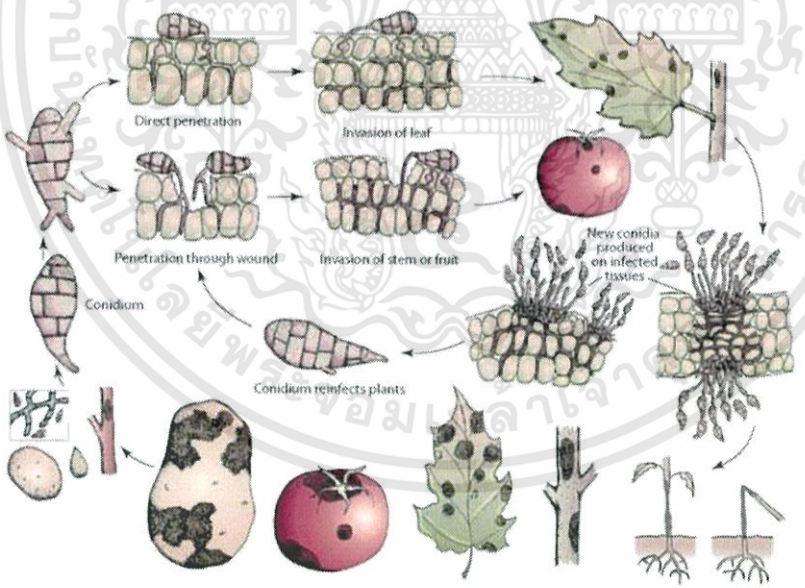
รูปที่ 2.15 แสดงลักษณะเชื้อรา *Alternaria* sp.
ที่มา : http://prgdb.crg.eu/wiki/Species:Alternaria_alternata
เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

โรคใบจุดและใบไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria* sp. พบในพืชชนิดต่าง ๆ หลายชนิด โดยเฉพาะพืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ เช่น มันฝรั่ง ถั่ว ผักกาด คะน้า เบญจมาศ และไม้ผลบางชนิด เช่น ส้ม มะนาว ฯลฯ โรคนี้ทำความเสียหายตั้งแต่ระยะกล้า ใบ กิ่งก้าน ลำต้น และผล อาการของโรค ใบมีจุดน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลจะขยายใหญ่ขึ้น ปกติเห็นวงเข้มซ้อนอยู่ในแผลเป็นชั้นคล้ายเป้ายิง โรคจะเกิดที่ใบล่างก่อนแล้วลามสู่ใบยอด ใบที่เป็นโรคจะเปลี่ยนเป็น สีเหลืองและร่วงเมื่ออากาศแห้งหรือร้อนจัด แผลที่ลำต้นของกล้าพืชอาจเกิดอาการเน่า และจะขยายใหญ่รอบก้านมีขนาดที่ไม่แน่นอน ผลที่เป็นโรคมักถูกเชื้อเข้าทำลายเมื่อผลใกล้แก่ และพืชบางชนิดเชื้ออาจเข้าทำลายที่ปลายกิ่งก้านและช่อดอก เกิดแผลเป็นจุดน้ำตาลหรือดำ (พิสุทธิ์, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.16 แสดงลักษณะโรคใบไหม้ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Alternaria* sp.
ที่มา : http://www.thealmonddoctor.com/2011/08/alternaria-found-within-merced-county.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

วงจรของโรคคือ เชื้อราอยู่ในเศษรากพืช และเมล็ดในรูปของเส้นใยหรือสปอร์ เชื้อราที่ติดไปกับเมล็ดจะเข้าทำลายพืชในระยะต้นกล้า ทำให้เกิดโรคโคนเน่าระดับดิน ลำต้นเป็นแผล และสามารถเข้าทำลายโดยแทงผ่านผิวพืช หรือทางแผล แล้วไปเจริญภายในเป็นเส้นใย สร้างสปอร์ใหม่ ปลิวไปตามลม หรือกระเด็นไปตามฝน ติดเครื่องมือทางการเกษตรและแพร่ระบาดต่อไป

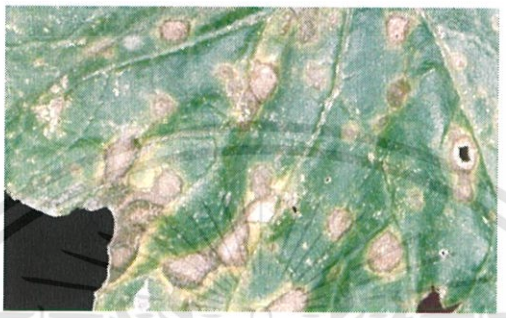


รูปที่ 2.17 แสดงวงจรการก่อโรคของ *Alternaria* sp.
ที่มา : http://www.redpalmweevil.com/Course/PPath/Alternaria.jpg เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. **เชื้อรา** *Alternaria cucumerina*

ก่อให้เกิดโรคใบไหม้ของใบแคนตาลูป อาการของโรค คือระยะแรกจะมีลักษณะเป็นจุดเล็กๆ สีน้ำตาล แล้วค่อย ๆ ขยายใหญ่ โดยริมขอบแผลเกิดเป็นวงซ้อนขึ้นมา ใบที่เกิดโรคนี้มักจะร่วงหล่น ไม่มีใบปิดบังผล ทำให้แสงแดดส่องโดนผลทำให้เกิดการไหม้ที่ผิว และโรคนี้ยังสามารถเข้าทำลายผลได้อีกด้วย โดยทำให้เกิดแผลบุ๋มลึกลงไป (เอี่ยน, 2536)



รูปที่ 2.18 แสดงลักษณะอาการของโรคใบไหม้ของใบแคนตาลูป

ที่มา : http://www.thaikasetsart.com/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B9%83%E0%B8%9A%E0%B9%84%E0%B8%AB%E0%B8%A1%E0%B9%89%E0%B9%81%E0%B8%AB%E0%B9%89%E0%B8%87/

เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 24/06/2016

2. **เชื้อรา** *Alternaria dianthi*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดของใบคาร์เนชัน อาการของโรค คือมักเกิดที่ใบ โดยมีแผลวงกลมสีน้ำตาล ถ้าใบมีแผลใหญ่มาก ปลายใบจะแห้งเหี่ยวไป เนื้อเยื่อตรงกลางแผลจะแห้งเป็นสีน้ำตาลอ่อน ขอบแผลมีสีน้ำตาลม่วงเห็นได้ชัดเจน ต้นที่มีหลายแผลบนใบจะทำให้แห้ง และต้นอาจตายได้ (อนงค์, 2544)

รูปที่ 2.19 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของใบคาร์เนชัน

ที่มา : อนงค์, 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. **เชื้อรา** *Alternaria tenuissima*

ก่อให้เกิดโรคผลเน่าในมะม่วง อาการของโรคคือเกิดจุดสีน้ำตาลบนใบแล้วขยายใหญ่ขึ้น เชื้อราจะเข้าทำลายกิ่งอ่อนที่ยังเขียวอยู่ เกิดเป็นแผลสีดำเป็นปื้น ทำให้เน่าและแห้งไป แต่ถ้าเกิดในระยะติดผลจะทำให้ผลเน่า โดยเปลือกมีสีดำ เนื้อภายในจะเน่า ฉ่ำน้ำ มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว และยังเกิดต่อเนื่องหลังการเก็บเกี่ยว (เอี่ยน, 2536)

รูปที่ 2.20 แสดงลักษณะอาการของโรคผลเน่าในมะม่วง

ที่มา : http://www.thaikasetsart.com/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B8%8A%E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B9%83%E0%B8%AB%E0%B8%A1%E0%B9%88%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%A1%E0%B8%B0%E0%B8%A1%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%87/

เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 24/06/2016

4. **เชื้อรา** *Alternaria alternate*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดในใบกล้วยไม้ อาการของโรค คือมักเกิดที่ด้านบนใบเป็นจุดดำค่อนข้างกลมขนาดต่าง ๆ กระจายอยู่เกือบทั่วทั้งใบ ตรงกลางแผลยุบตัวลงเล็กน้อย ทำให้ใบของกล้วยไม้เสียหาย (พิสุทธิ์, 2550)

รูปที่ 2.21 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดดำของกล้วยไม้

ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

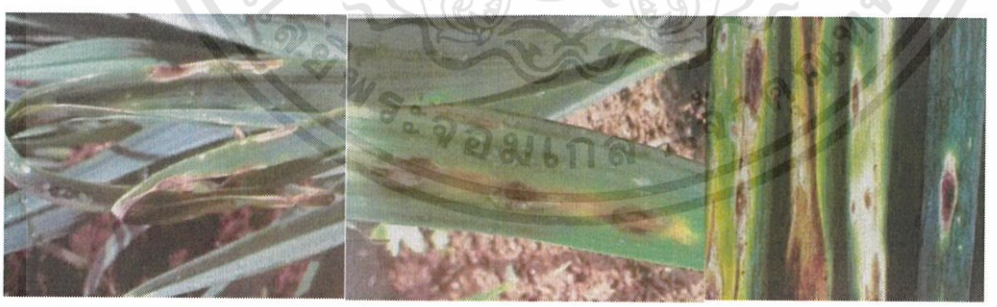
5. เชื้อรา *Alternaria brassiciola*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ อาการของโรค คือใบมีลักษณะเป็นสีน้ำตาล กลมหรือเหลี่ยมก็ได้ ขนาดแผลมีทั้งใหญ่ และเล็ก สามารถลุกลามทำให้ใบแห้งตายได้ทั้งใบ ขอบแผลเป็นจุดนูนสีดำ (พิสุทธิ์, 2550)

รูปที่ 2.22 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของพืชตระกูลกะหล่ำ
ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

6. เชื้อรา *Alternaria porri*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดม่วงของพืชตระกูลหอม อาการของโรค คือมีจุดขาวเล็ก ๆ บนใบหอม เมื่อเป็นมากขึ้นทำให้เห็นเป็นจุดขาวทั่วไป จากนั้นแผลจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นวงรี มีสีม่วง ๆ ขอบแผลมีสีเหลืองอ่อน ปลายใบมักแห้ง และหักพับลง ทำให้หอมไม่ลงหัว หรือทำให้หัวเน่าได้ (พิสุทธิ์, 2550)



รูปที่ 2.23 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดม่วงของพืชตระกูลหอม
ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

149053

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เชื้อรา *Alternaria solani*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดในใบมันฝรั่ง อาการของโรคนี้ คือมักเกิดที่ใบ แผลเริ่มจากจุดเหลือง ๆ และลุกลามขยายใหญ่ขึ้น แผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และแห้ง ใบบิดเบี้ยวเสียรูปทรง มีเชื้อราเป็นผงสีขาวขึ้นบนแผล (พิสุทธิ์, 2550)

รูปที่ 2.24 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดของใบมันฝรั่ง
ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

8. เชื้อรา *Alternaria solani*

ก่อให้เกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลของใบ และผลมะเขือเทศ อาการของโรค คือถ้าเกิดในระยะกล้าอาจทำให้ต้นตาย ลักษณะเกิดที่ใบ ลำต้น และผล แผลเป็นสีน้ำตาลไหม้ ในระยะกำลังติดผลทำให้ต้นโทรมก่อนแก่ ผลไม่สมบูรณ์ แผลมักเริ่มเกิดบริเวณรอบ ๆ ขั้วผลทำให้เก็บเกี่ยวไม่ได้ (พิสุทธิ์, 2550)

รูปที่ 2.25 แสดงลักษณะอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาลของใบและผลของมะเขือเทศ
ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. **เชื้อรา** *Alternaria citri*

ก่อให้เกิดโรคราดำในส้มโอ อาการของโรค คือราสีดำเจริญปกคลุมผิวใบ กิ่ง และผล ทำให้สูญเสียพื้นที่สีเขียวในการสังเคราะห์แสง เกิดความสกปรกและเป็นที่หลบซ่อนของแมลงส้ม ราดำมักเกิดอยู่บนมูลของแมลงจำพวกปากดูด เช่น เพลี้ยอ่อน เพลี้ยหอย และเพลี้ยแป้ง (พิสุทธิ์, 2550)

รูปที่ 2.26 แสดงลักษณะอาการของโรคราดำของส้มโอ
ที่มา : พิสุทธิ์, 2550

10. **เชื้อรา** *Alternaria passiflorae*

ก่อให้เกิดโรคจุดสีน้ำตาลของเสาวรส อาการของโรค คือแผลจุดสีน้ำตาลเกิดบนใบ บนเถา และบนผล ขนาดของจุดบนใบ อาจจะขยายตามเส้นใบ ตรงกลางแผลจะแห้ง เมื่ออาการปรากฏบนใบยอดจะทำให้เกิดอาการตายจากปลายยอดลงมา อาการบนผลจุดแผลสีน้ำตาลอ่อนรูปร่างกลมลึกลงในแผล แผลที่อยู่ใกล้กันจะรวมกัน บนแผลจะเห็นสปอร์สีน้ำตาลแดงจำนวนมาก (ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง, 2548)

รูปที่ 2.27 แสดงลักษณะอาการของโรคจุดสีน้ำตาลในเสาวรส อาการบนใบ (ก)
ลักษณะของแผลบนใบ (ข) อาการบนผล (ค)
ที่มา : ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง, 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี

1. อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11 (ภาคผนวก ก-1)
2. อาหารเลี้ยงสาหร่ายสูตร BG-11 สูตรอาหารแข็ง (ภาคผนวก ก-2)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อรา potato dextrose agar (PDA) สำเร็จรูป; Sisco research laboratories
4. อะซิโตน (CH_3COCH_3); Macron
5. เมทานอล (CH_3OH) ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ; Macron

3.2 อุปกรณ์ และเครื่องมือ

1. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง; Olympus: CH-30
2. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge); Hermle: Z 306
3. เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงขนาดเล็ก (Microcentrifuge); Eppendorf: 5415 R
4. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer); Unico: UV-2800A
5. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven); WTB binder
6. เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator); Buchi: V-800
7. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance); Adventurer: AR2140
8. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer); Kurzzeit
9. เครื่องวัดแสง (Lux meter); Lux meter model DM-28
10. เครื่องเขย่า (Orbital Shaker); Gallen Kamp
11. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter); Denver instrument: UB-10
12. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar air flow); M-tech: Cleanline BS-120
13. หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave); TOMY: ES-315
14. เตาอบไมโครเวฟ; Samsung: ME81Y
15. ตู้เย็น -18 องศาเซลเซียส; Sanyo Ultra Low MDF-U74V
16. ปิเปตแก้วขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
17. Paper disc (แผ่นทดสอบ) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร เกรด AA; Whatman
18. ไมโครปิเปตขนาด 200 ไมโครลิตร
19. หลอดไฟฟลูออเรสเซ็นต์ 18 วัตต์;Phillips : Lifemax จำนวน 6 หลอด
20. ฮีมาไซโตมิเตอร์ (Heamacytometer) ชนิด Improved neubauer; BOECO Germany
21. เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆ
22. โปรแกรม IBM SPSS Statistics เวอร์ชัน 23

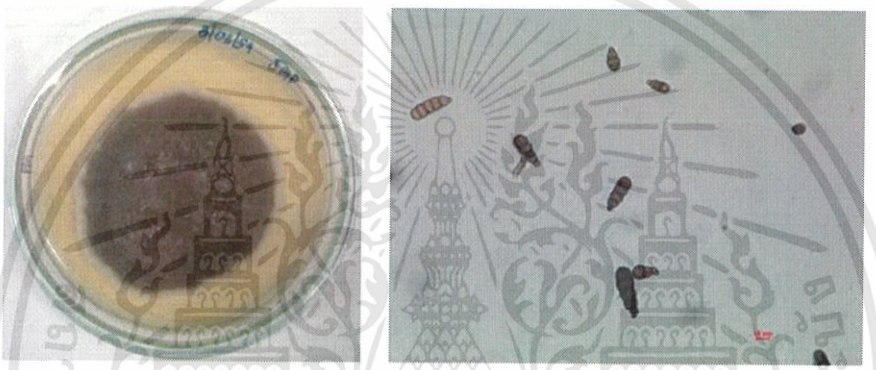
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สายพันธุ์สาหร่ายที่ใช้ในการทดลอง

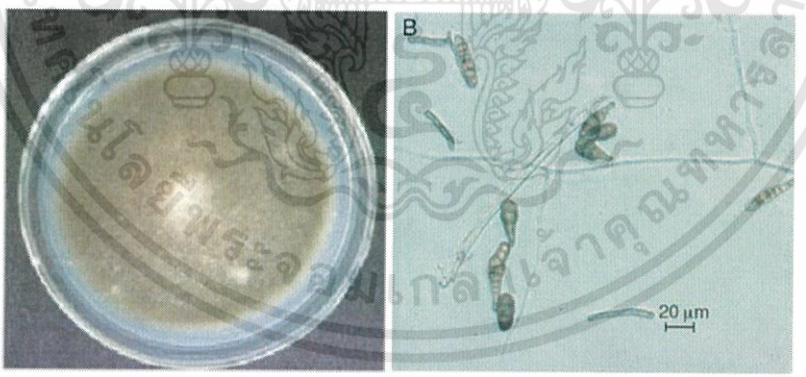
สาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากแหล่งน้ำจืดภายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ดังนี้ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และสาหร่าย *Oscillatoria* sp.PT55 (ภาคผนวก ค)

3.4 เชื้อราที่ใช้ในการทดลอง

เชื้อราโรคพืชที่ใช้ในการทดสอบการยับยั้ง คือ *Alternaria* sp. ที่ทำการแยกจากใบคะน้าที่เป็นโรค โดยการเทียบลักษณะของโคโลนี กับ สปอร์ของเชื้อรา (Lou และคณะ, 2016)



รูปที่ 3.1 แสดงลักษณะโคโลนีและสปอร์ของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่แยกจากใบคะน้า



รูปที่ 3.2 แสดงลักษณะเชื้อรา *Alternaria* sp. ลักษณะของโคโลนี (ก) (Zhong และคณะ, 2006) ลักษณะของสปอร์ (ข) (Lou และคณะ, 2016)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 การเพาะเลี้ยงและการวัดการเจริญของสาหร่าย

นำสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากแหล่งน้ำจืดภายในบริเวณสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ดังนี้ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และสาหร่าย *Oscillatoria* sp.PT55 ทำการเพาะเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณหัวเชื้อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.3 และนำหัวเชื้อปริมาณ 200 มิลลิลิตรเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร BG-11 ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง ให้แสง และอากาศต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ทำการวัดการเจริญของสาหร่ายทุก 2 วัน เป็นเวลา 20 วัน ซึ่งการวัดการเจริญของสาหร่ายมีดังนี้

3.5.1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง

เก็บตัวอย่างสาหร่าย *Oscillatoria* spp. แต่ละสายพันธุ์ในฟลาสก์ ครั้งละ 2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.2-0.8 หากมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่านี้จะต้องทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่น (ภาคผนวก ข)

3.5.2 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

เก็บตัวอย่างสาหร่าย *Oscillatoria* spp. แต่ละสายพันธุ์ในฟลาสก์ ครั้งละ 5 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสทิ้งแล้วล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง นำส่วนตะกอนที่ติดบริเวณก้นหลอดไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จึงนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสี่ตำแหน่ง (ภาคผนวก ข)

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

เก็บตัวอย่างสาหร่าย *Oscillatoria* spp. แต่ละสายพันธุ์ในฟลาสก์ ครั้งละ 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง และเติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในตะกอนเซลล์ของหลอดตัวอย่าง *Oscillatoria* spp. เขย่าให้เข้ากันเพื่อล้างตะกอนเซลล์นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง เติมอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตะกอนตัวอย่างสาหร่าย เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 647 และ 667 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ตามสูตร (Mitchell และ Kiefer, 1984) ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร) = 11.93 (A_{667}) – 1.93 (A_{647})

เมื่อ A_{664} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 667 นาโนเมตร

A_{647} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 647 นาโนเมตร

นำค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของตัวอย่างที่คำนวณได้ ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ กับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง เพื่อวัดการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์-เอ ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ (ภาคผนวก ข)

3.6 การเตรียมสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. เพื่อใช้ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.

เก็บเกี่ยวสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ทำการเพาะเลี้ยงในขวดปริมาตร 2,500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 วัน มาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเมทานอล (CH_3OH) เพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเก็บตัวอย่างสารแขวนลอยของสาหร่ายปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเซลล์สาหร่ายที่ได้ แล้วนำมาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ก่อนที่จะนำไปแช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำมาละลายที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำให้เซลล์แตก ทำซ้ำ 2 ครั้ง จนกระทั่งเซลล์แตกเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 นำส่วนที่ได้จากการกรอง (filtrarate) มาทำการระเหยแบบลดความดันด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้ง นำสารสกัดหยาบดังกล่าวมาชั่งน้ำหนักให้ได้ 1 มิลลิกรัม จากนั้นนำมาละลายในเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วหยดบนแผ่นทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (Radhakrishnan และคณะ, 2009)

3.7 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp.

หาค่าของอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. โดยนำค่าน้ำหนักสารสกัดแห้งที่ได้จาก ข้อ 3.6 หารด้วยค่าน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ได้จากข้อ 3.6

3.8 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จาก สาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี swab inculation และ paper disc

3.8.1 ขั้นตอนการเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อรา *Alternaria* sp. บริสุทธิ์ที่ทำการแยกจากใบคะน้าที่เป็นโรคไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วันจนเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สร้างสปอร์จนสมบูรณ์ จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา (spore suspension) โดยการเจือจางในน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อ นับจำนวนสปอร์โดยวิธีนับโดยตรง (direct plate count) โดยใช้ฮีมาไซโตมิเตอร์ ให้มีความเข้มข้นของเชื้อราเป็น 10^5 สปอรตอมิลลิลิตร (Sibi และคณะ, 2012) จากนั้นจึงจุ่มสำลี (cotton bud) ที่ฆ่าเชื้อแล้วในสารแขวนลอยของสปอรปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรถู (swab) จนทั่วพื้นผิวบนผิวหน้าอาหาร PDA และทิ้งให้แห้ง (Beatriz และคณะ, 2012)

3.8.2 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก เส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

ชั่งน้ำหนักเส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ๆละ 0.5 กรัม นำมาวางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ตามข้อ 3.7.1 โดยวางตำแหน่ง ดังรูป 3.3 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ไม่ให้แสง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของโซนใส (clear zone)

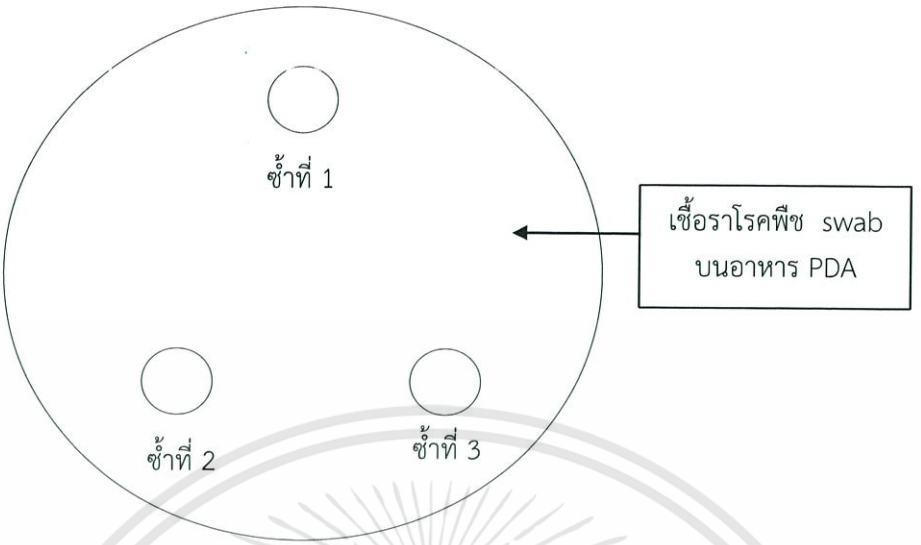
3.8.3 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

นำแผ่นทดสอบที่มีสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมในตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อแผ่น และแผ่นควบคุมที่มีเฉพาะเมทานอล วางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ตามข้อ 3.7.1 โดยวางตำแหน่งดังรูป 3.4 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ไม่ให้แสง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของโซนใส

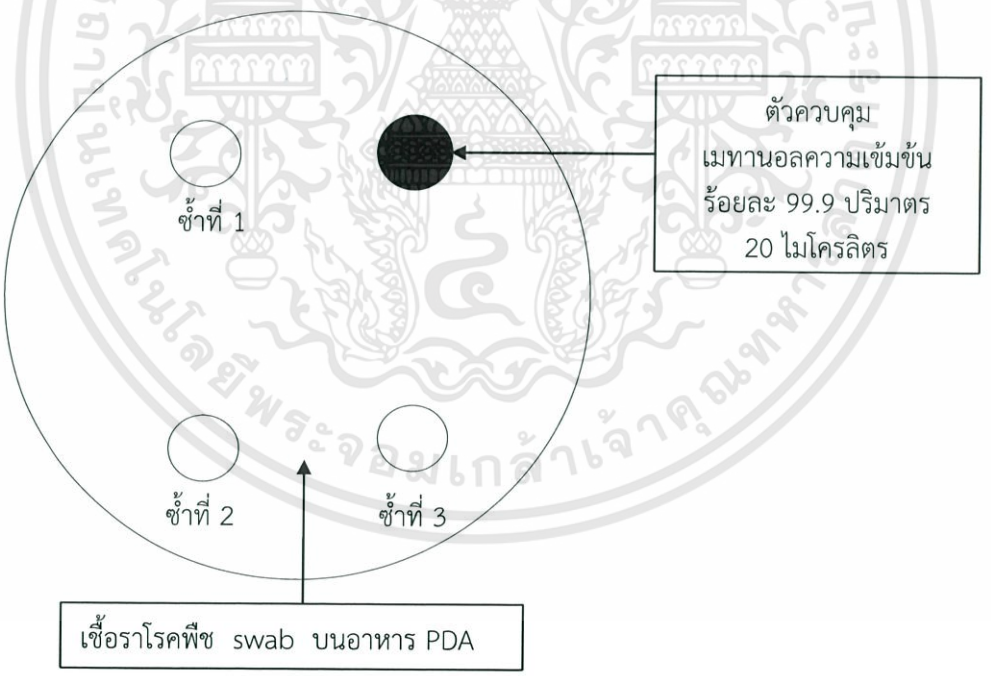
3.8.4 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

นำแผ่นทดสอบที่มีสารสกัดหยาบจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 6 แผ่น ที่ความเข้มข้น 1, 0.8, 0.6, 0.4 และ 0.2 มิลลิกรัมในตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ปริมาตร 20 ไมโครลิตรต่อแผ่น และแผ่นควบคุมที่มีเฉพาะเมทานอลวางลงบนผิวหน้าอาหาร PDA ตามข้อ 3.7.1 โดยวางตำแหน่ง ดังรูป 3.5 บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ไม่ให้แสง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจดูผลโดยวัดขนาดของโซนใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

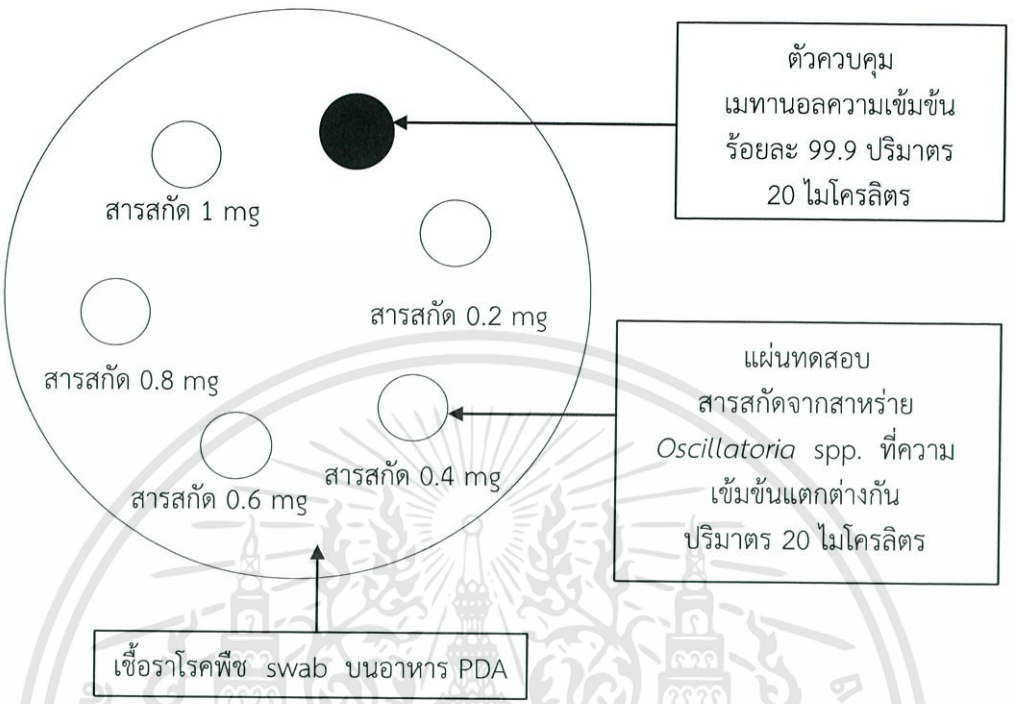


รูปที่ 3.3 แสดงตำแหน่งการวางเส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp.



รูปที่ 3.4 แสดงตำแหน่งการวางแผ่นทดสอบสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตรจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. และแผ่นควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.5 แสดงตำแหน่งการวางแผ่นทดสอบสารสกัดความเข้มข้น 1, 0.8, 0.6, 0.4 และ 0.2 ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. และแผ่นควบคุม

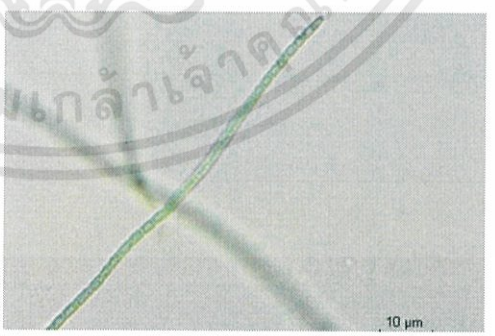
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและการอภิปรายผล

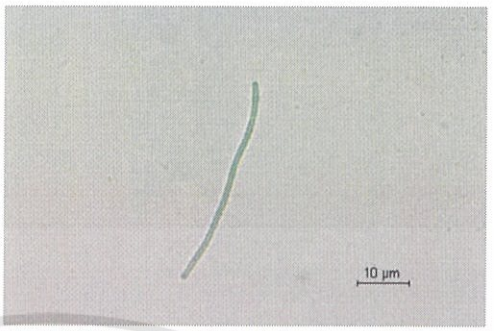
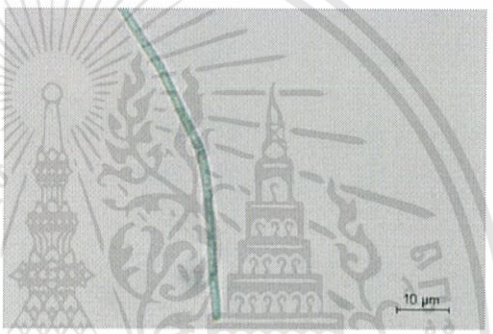
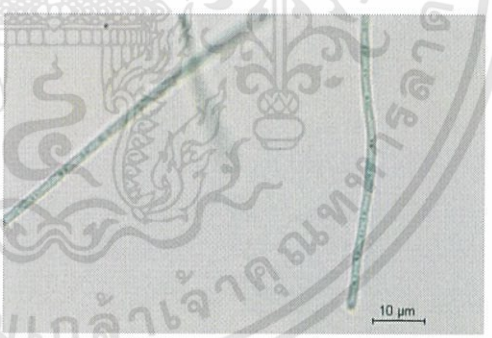
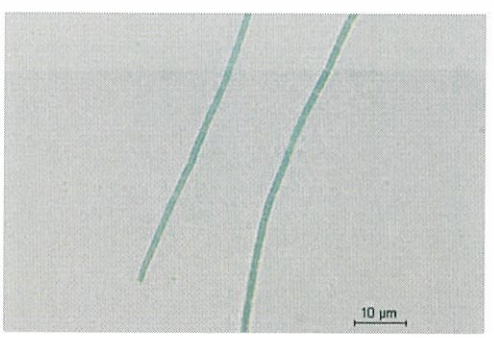
4.1 การคัดแยกพันธุ์สาหร่าย

คัดแยกสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* spp. จากแหล่งน้ำบริเวณต่าง ๆ ภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ด้วยวิธี spread plate จากนั้นแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี cross streak บนจานเพาะเลี้ยงที่มีอาหารแข็งสูตร BG-11 คัดแยกสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์คือ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และ *Oscillatoria* sp.PT55 ดังตาราง 4.1

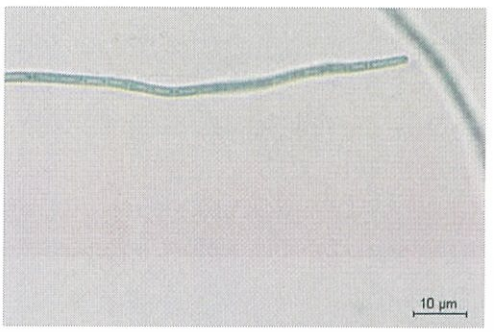
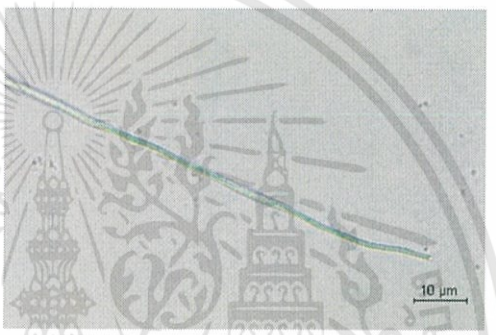
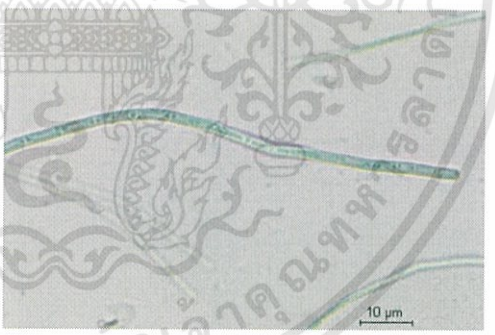
ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะเซลล์ของ *Oscillatoria* spp. ที่คัดแยกจากแหล่งน้ำธรรมชาติ จำนวน 9 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	ภาพกำลังขยาย 400 เท่า
1	*Oscillatoria* sp.AG55	
2	*Oscillatoria* sp.V55	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	ภาพกำลังขยาย 400 เท่า
3	*Oscillatoria* sp.SP55	
4	*Oscillatoria* sp.RT55	
5	*Oscillatoria* sp.M55	
6	*Oscillatoria* sp.KP55	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	ภาพกำลังขยาย 400 เท่า
7	*Oscillatoria* sp.TK55	
8	*Oscillatoria* sp.TP55	
9	*Oscillatoria* sp.PT55	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาการเจริญของสาหร่าย

จากการเพาะเลี้ยง *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และสาหร่าย *Oscillatoria* sp.PT55 ในอาหารเหลวสูตร BG-11 ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ในขวดน้ำขนาด 2,500 มิลลิลิตร โดยใส่หัวเชื้อเริ่มต้นแต่ละขวดร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร (ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.3) โดยให้แสงฟลูออเรสเซนต์อย่างต่อเนื่องที่ความเข้มแสง 2,400 ลักซ์ ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส ทำการเก็บสาหร่ายทุก 2 วัน จนกระทั่งเซลล์สาหร่ายเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ โดยทำการวัดการเจริญด้วยวิธีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ จนกระทั่งสาหร่ายอยู่ในระยะการเจริญเติบโตคงที่ พร้อมทั้งหาอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ ได้ผลการทดลองดังนี้

Oscillatoria sp.AG55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.6757±0.0156 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 3.1200±0.1637 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 1.0732±0.2141 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0665±0.0059 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.V55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.7333±0.1772 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.2800±0.0808 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 1.2868±0.0685 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0789±0.0192 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.SP55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.4733±0.0878 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.5933±0.3747 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.8125±0.1509 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0488±0.0215 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.RT55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.6893±0.1098 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.2867±0.2610 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.5196±0.3458 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0305±0.0108 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.M55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.3237±0.0564 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 1.9467±0.0600 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.6584±0.1750 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0388±0.0095 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oscillatoria sp.KP55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.4180±0.1943 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.4467±0.3780 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.2662±0.0961 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0157±0.0051 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.TK55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.7777±0.0445 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.5867±0.1527 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.8366±0.084 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0513±0.0131 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.TP55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 16 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.5313±0.2551 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.3200±0.3700 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 1.1096±0.5104 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0674±0.0313 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

Oscillatoria sp.PT55 ระยะการเจริญคงที่ในวันที่ 14 มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตรเท่ากับ 1.2023±0.2506 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.0400±0.1562 กรัมต่อลิตร ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 0.4278±0.3093 กรัมต่อลิตร และมีอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.0250±0.0042 ต่อวัน ดังตาราง 4.2

จากผลการทดลองพบว่าสาหร่ายที่มีอัตราการเจริญจำเพาะต่อวันสูงสุดคือสาหร่าย *Oscillatoria* sp.V55 ซึ่งมีอัตราการเจริญจำเพาะมากกว่าสาหร่าย *Oscillatoria* sp.TP55, *Oscillatoria* sp.AG55 และ *Oscillatoria* sp.TK55 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีอัตราการเจริญเท่ากับ 0.0789±0.0192, 0.0674±0.0313, 0.0665±0.0059 และ 0.0513±0.0131 ตามลำดับ สาหร่ายที่มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดคือ *Oscillatoria* sp.TK55 ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.RT55 และ *Oscillatoria* sp.AG55 อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 1.778±0.045, 1.733±0.177, 1.689±0.109 และ 1.676±0.016 ตามลำดับ ดังตาราง 4.2 สาหร่ายที่มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ *Oscillatoria* sp.AG55 มีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 3.120±0.164 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่า *Oscillatoria* spp. ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ส่วนสาหร่ายที่มีน้ำหนักเซลล์แห้งรองเป็นอันดับสอง คือ *Oscillatoria* sp.SP55 และ *Oscillatoria* sp.TK55 โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้งเท่ากับ 2.5933±0.3747 และ 2.5867±0.1527 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังตาราง 4.2 สาหร่ายที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุดคือ *Oscillatoria* sp.V55 มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 1.2868±0.0685 กรัมต่อลิตร ลิตร ซึ่งมากกว่า *Oscillatoria* spp. ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สาหร่ายที่มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เป็นอันดับสอง คือ *Oscillatoria* sp.TP55 และอันดับที่สาม คือสาหร่าย *Oscillatoria* sp.AG55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 1.1096±0.5104 และ 1.0732±0.2141 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังตาราง 4.2

การศึกษาการเจริญของสาหร่ายพบว่า *Oscillatoria* spp. ทั้ง 9 สายพันธุ์ มีการเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ในช่วงวันที่ 14 ถึง 16 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Fuenmayor และคณะ (2009) รายงานว่า *Oscillatoria* sp. MOF-06 มีการเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 15 ของการเพาะเลี้ยง แต่แตกต่างกับงานวิจัยของ ชำนิ (2554) ที่ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Oscillatoria* sp. อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส ให้อากาศ และแสงสว่างอย่างต่อเนื่องตลอด 24 ชั่วโมง ด้วยหลอดไฟสีขาวที่ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ พบว่ามีการเจริญเข้าสู่ระยะคงที่ในวันที่ 9 ของการเพาะเลี้ยง

ส่วนปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่สูงสุดในการทดลองนี้ เท่ากับ 3.1200±0.1637 กรัมต่อลิตร และ 1.2868±0.0685 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่มากกว่าในงานวิจัยของ Issa (1999) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Oscillatoria angustissma* พบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งและปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สูงสุดเท่ากับ 0.3100±0.0300 กรัมต่อลิตร และ 0.1300±0.0100 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ค่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ได้ในการทดลองนี้กลับมีค่าสอดคล้องกับการศึกษาของ ปิยมาภรณ์ และสุนีรัตน์ (2556) ที่ทำการเลี้ยง *Oscillatoria limnetica* เลี้ยงในอาหาร BG-11 ในขวดรูปชมพู่ ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดคือ 3.3450±0.1200 กรัมต่อลิตร

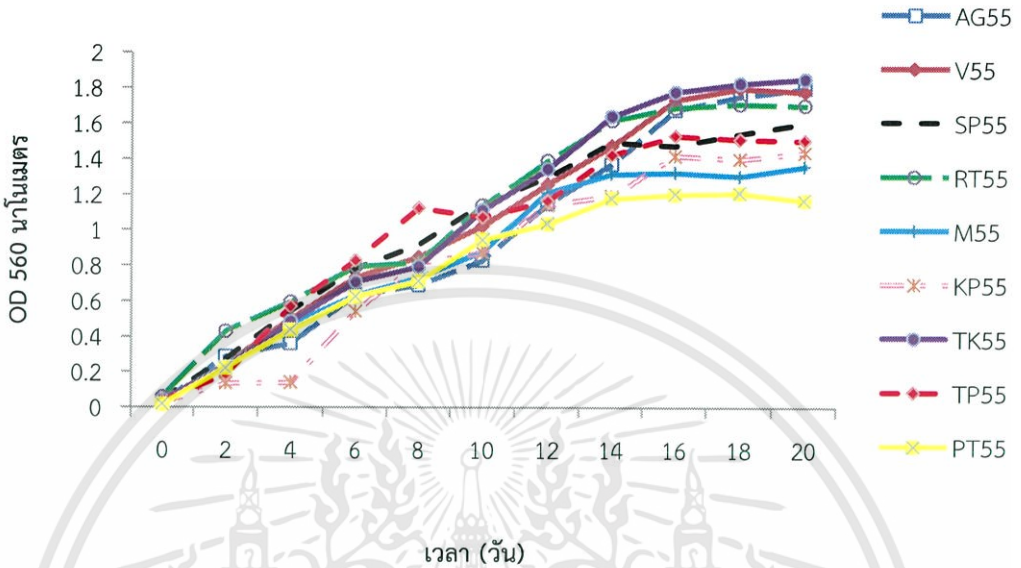
จากการวัดการเจริญโดยใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร ดังรูป 4.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ดังรูป 4.3 และวัดปริมาณน้ำหนักแห้ง ดังรูป 4.2 พบว่าปริมาณของน้ำหนักแห้งมีค่าเพิ่มขึ้นและลดลงอย่าง ไม่ต่อเนื่องอาจเกิดจากหลอดพลาสติกขนาด 50 มิลลิลิตร ที่ใช้อบเพื่อหาปริมาณน้ำหนักแห้งถูกใช้งานมาเป็นเวลานาน ทำให้บริเวณปากหลอดผุกร่อนลงมาผสมกับเซลล์สาหร่ายแห้งที่อบอยู่ในตู้ หรือตู้ที่ใช้ในการอบเป็นของส่วนรวม ผู้อื่นอาจทำการเคลื่อนย้ายของภายในตู้ อาจมีคนมาสัมผัส ทำให้ปริมาณน้ำหนักแห้งที่ได้มีค่ามากเกินความเป็นจริง แต่ค่าการดูดกลืนแสง และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ มีความสัมพันธ์กันคือ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 16 ดังนั้นวันที่ 16 ของการทดลองพบว่า *Oscillatoria* sp.V55 มีการเจริญดีที่สุด โดยมีค่าการดูดกลืนแสง และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูง รองลงมาคือสาหร่าย *Oscillatoria* sp.TK55 โดยมีค่าการดูดกลืนแสงสูง แต่พบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ที่ค่อนข้างสูง และสายพันธุ์ที่เจริญสูงเป็นอันดับสาม คือ *Oscillatoria* sp.AG55 โดยมี ค่าการดูดกลืนแสง และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ค่อนข้างสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

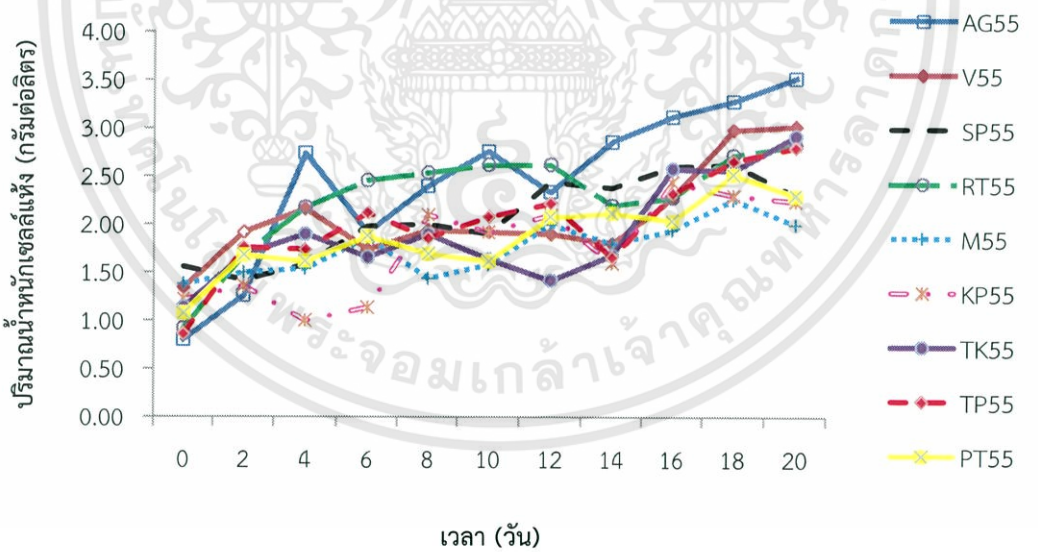
ตารางที่ 4.2 ค่าพารามิเตอร์ในการวัดการเจริญของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ในวันที่ 16 ของการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่าย	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (กรัมต่อลิตร)	อัตราการเจริญจำเพาะต่อวัน
*Oscillatoria*sp.AG55	1.6757±0.0156^{abc}	3.1200±0.1637^{a}	1.0732±0.2141^{b}	0.0665±0.0059^{ab}
Oscillatoria sp.V55	1.7333±0.1772^{ab}	2.2800±0.0808^{bc}	1.2868±0.0685^{a}	0.0789±0.0192^{a}
Oscillatoria sp.SP55	1.4733±0.0878^{cde}	2.5933±0.3747^{b}	0.8125±0.1509^{c}	0.0488±0.0215^{bc}
Oscillatoria sp.RT55	1.6893±0.1098^{abc}	2.2867±0.2610^{bc}	0.5196±0.3458^{cd}	0.0305±0.0108^{cd}
Oscillatoria sp. M55	1.3237±0.0564^{de}	1.9467±0.0600^{d}	0.6584±0.1750^{c}	0.0388±0.0095^{bcd}
Oscillatoria sp.KP55	1.4180±0.1943^{cd}	2.4467±0.3780^{bc}	0.2662±0.0961^{d}	0.0157±0.0051^{d}
Oscillatoria sp.TK55	1.7777±0.0445^{a}	2.5867±0.1527^{b}	0.8366±0.084^{c}	0.0513±0.0131^{abc}
Oscillatoria sp.TP55	1.5313±0.2551^{bcd}	2.3200±0.3700^{bc}	1.1096±0.5104^{ab}	0.0674±0.0313^{ab}
Oscillatoria sp.PT55	1.2023±0.2506^{e}	2.0400±0.1562^{cd}	0.4278±0.3093^{cd}	0.0250±0.0042^{cd}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)
ค่าที่แสดงในตาราง คือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

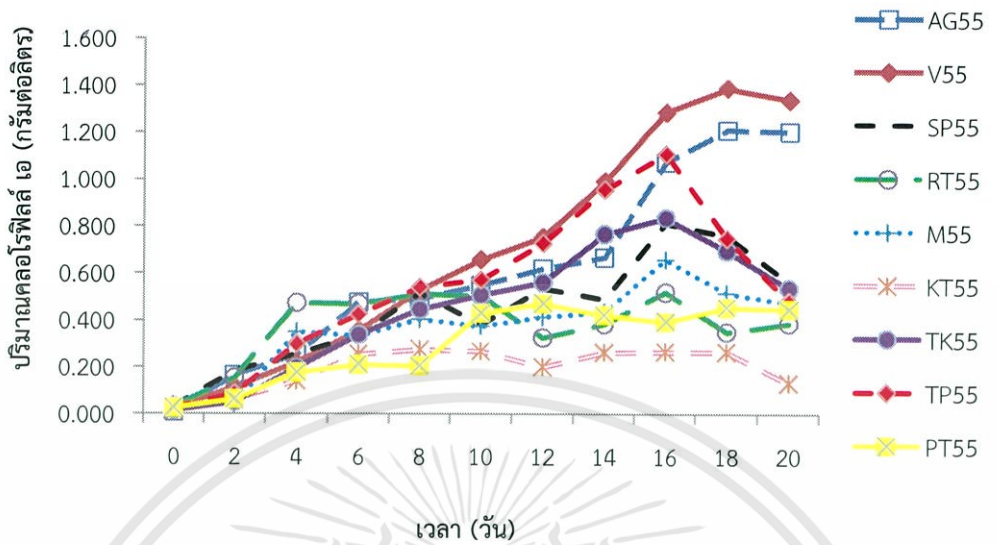


รูปที่ 4.1 ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาโนเมตร) ของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์



รูปที่ 4.2 ปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของ *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

4.3 การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp.

ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และ *Oscillatoria* sp.PT55 เมื่อนำมาคำนวณอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สาหร่ายสดพบว่า *Oscillatoria* sp.M55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดสูงที่สุด คือ 0.2525 กรัมต่อกรัมเซลล์สด รองลงมาคือ *Oscillatoria* sp.V55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดเท่ากับ 0.1627 กรัมต่อกรัมเซลล์สด อันดับสามคือ *Oscillatoria* sp.AG55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดเท่ากับ 0.1118 กรัมต่อกรัมเซลล์สด ดังตาราง 4.3 ส่วน *Oscillatoria* sp.PT55 มีอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดน้อยสุด เท่ากับ 0.0403 กรัมต่อกรัมเซลล์สด ดังตาราง 4.3 อธิบายได้ว่า น้ำหนักเซลล์สดของ *Oscillatoria* sp.M55 ปริมาณ 1 กรัม ให้น้ำหนักสารสกัดสูงสุดคือ 0.2525 กรัม ซึ่งมากกว่างานวิจัยของพัชรี (2540) รายงานว่าสาหร่าย *Calothrix* sp. TISTR 8906 เพาะเลี้ยงในอาหาร BGA ดัดแปลงโดยเติม โซเดียมไนเตรต 1.5 กรัมต่อลิตร ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร และโซเดียมคลอไรด์ 0.03 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 29±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 วัน พบว่าน้ำหนักสดของสาหร่าย 1 กรัม ให้สารสกัดแห้ง 0.0287 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงน้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จาก *Oscillatoria* spp. ในวันที่ 20 ของการทดลอง

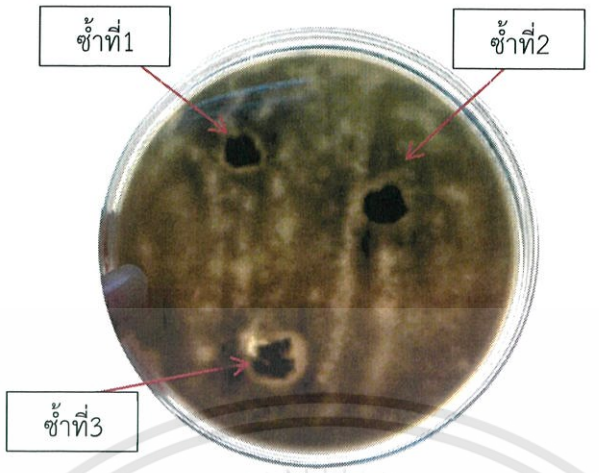
สายพันธุ์สาหร่าย	น้ำหนักสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (กรัม)	น้ำหนักเซลล์สด (กรัม)	อัตราส่วนของน้ำหนักสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สด (กรัมต่อกรัมเซลล์สด)
Oscillatoria sp.AG55	1.0830	9.6867	0.1118
Oscillatoria sp.V55	2.8761	17.6733	0.1627
Oscillatoria sp.SP55	0.5925	8.6301	0.0687
Oscillatoria sp.RT55	0.4620	9.0801	0.0509
Oscillatoria sp.M55	3.1566	4.1687	0.2525
Oscillatoria sp.KP55	0.5286	12.5061	0.0693
Oscillatoria sp.TK55	0.9348	8.4501	0.1106
Oscillatoria sp.TP55	0.6741	6.8296	0.0987
Oscillatoria sp.PT55	0.3039	7.5363	0.0403

4.4 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ผลิตได้จาก สาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยวิธี swab inculation และ paper disc

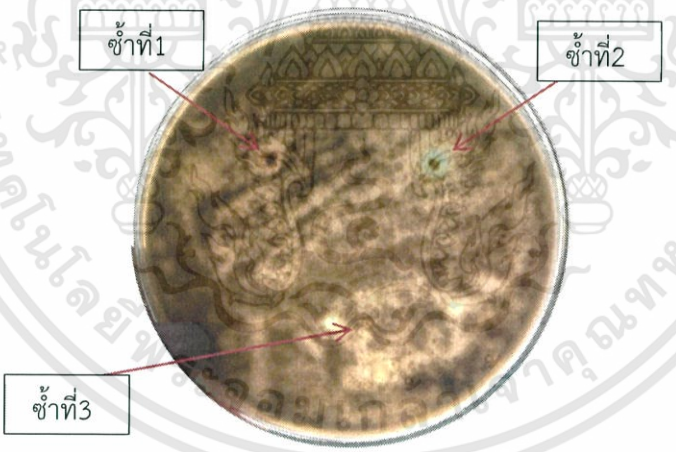
4.4.1 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก เส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

นำส่วนเส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ปริมาณ 0.5 กรัม มาทดสอบกับเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ทำการแยกได้จากใบคะน้าที่เป็นโรค จากการทดลองพบว่า *Oscillatoria* sp. KP55 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีขนาดการเกิดโซนใสเท่ากับ 26.2200±0.6749 มิลลิเมตร ดังรูป 4.9 ส่วนการเกิดโซนใสที่มีขนาดรองลงมาคือ สาหร่าย *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.TP55, *Oscillatoria* sp.SP55 และ *Oscillatoria* sp.RT5 โดยมีขนาดของการเกิดโซนใสเท่ากับ 22.2233±0.2233 ดังรูป 4.8, 21.0000±0.7679 ดังรูป 4.10, 20.2233±2.6969 ดังรูป 4.6 และ 18.6667±0.1934 มิลลิเมตร ดังรูป 4.7 ตามลำดับ ดังตาราง 4.4 และในส่วนของ *Oscillatoria* sp.V55 พบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. น้อยที่สุด อีกทั้งยังพบว่า *Oscillatoria* sp.TK55 และ *Oscillatoria* sp. PT55 ไม่พบการเกิดโซนใสในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

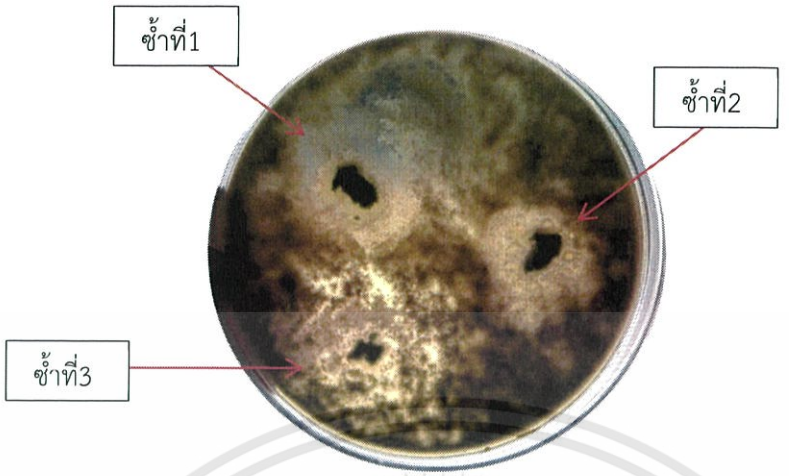


รูปที่ 4.4 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.AG55

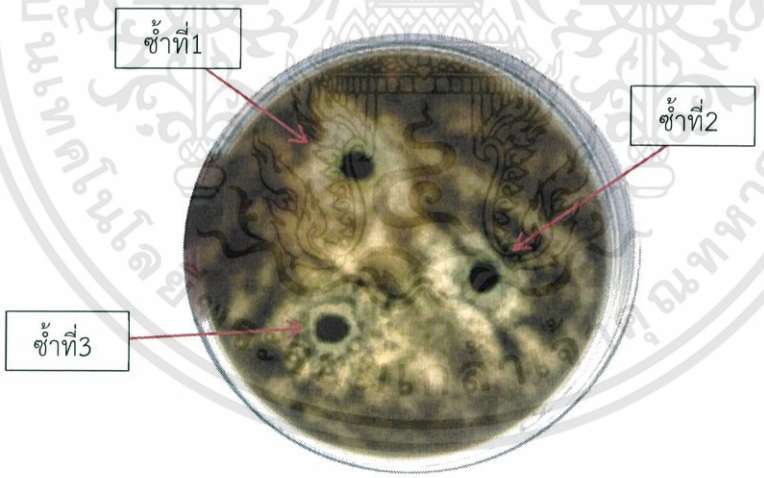


รูปที่ 4.5 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.V55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

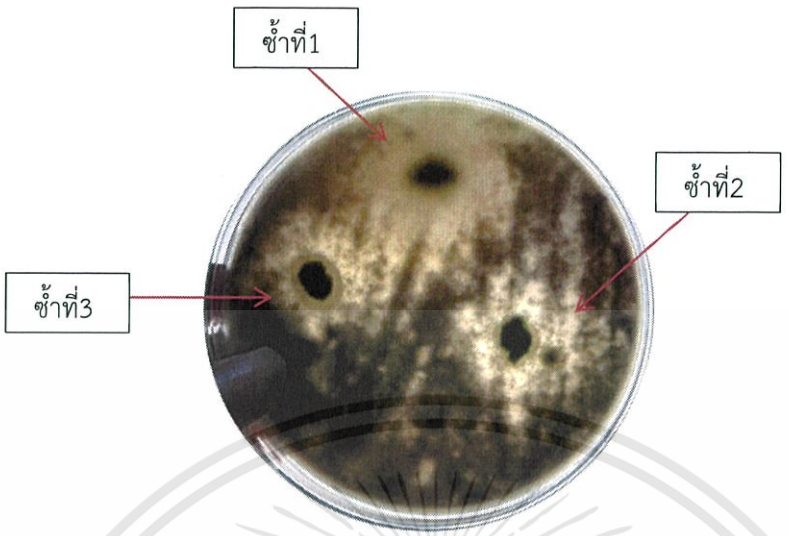


รูปที่ 4.6 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.SP55

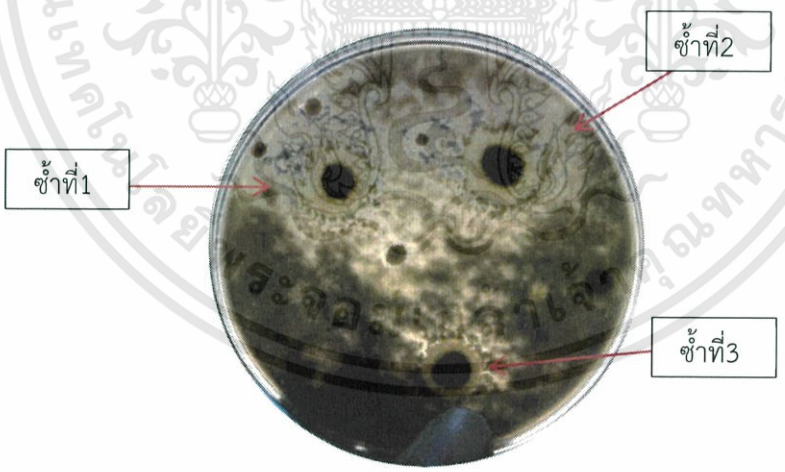


รูปที่ 4.7 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.RT55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

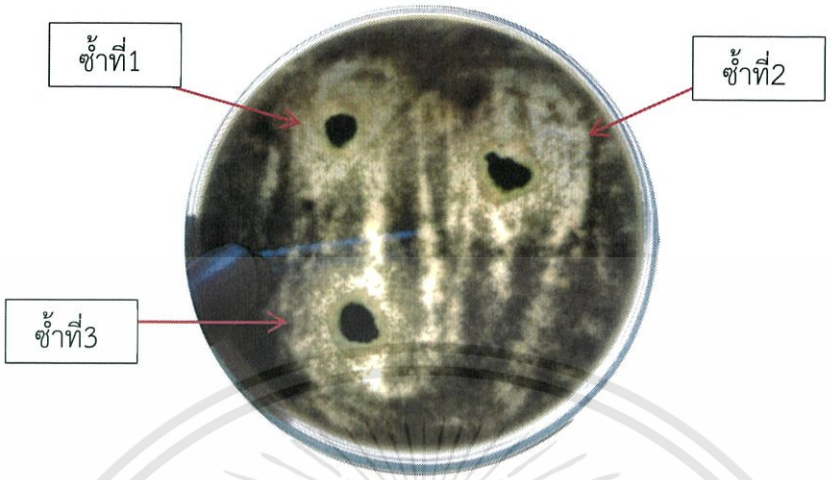


รูปที่ 4.8 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.M55



รูปที่ 4.9 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.KP55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 การเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยเส้นสายสดของ *Oscillatoria* sp.TP55

ตารางที่ 4.4 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้เส้นสายสด *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	โซนใส (มิลลิเมตร)
1	*Oscillatoria* sp.AG55	14.7800±0.8404^{c}
2	*Oscillatoria* sp.V55	6.3333±1.7613^{d}
3	*Oscillatoria* sp.SP55	20.2233±4.6712^{b}
4	*Oscillatoria* sp.RT55	18.6667±0.3350^{b}
5	*Oscillatoria* sp.M55	22.2233±0.3868^{b}
6	*Oscillatoria* sp.KP55	26.2200±1.1689^{a}
7	*Oscillatoria* sp.TK55	-
8	*Oscillatoria* sp.TP55	21.0000±1.3300^{b}
9	*Oscillatoria* sp.PT55	-

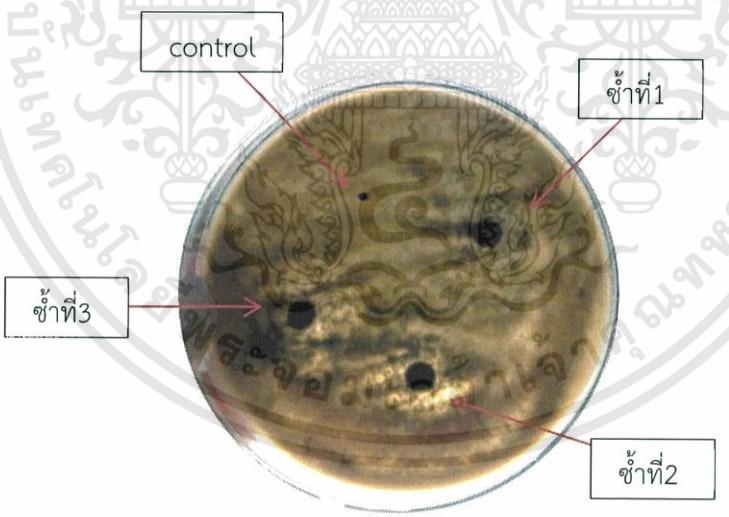
หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ($p \leq 0.05$)

- คือ สัญลักษณ์แสดงว่า ไม่พบการเกิดโซนใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

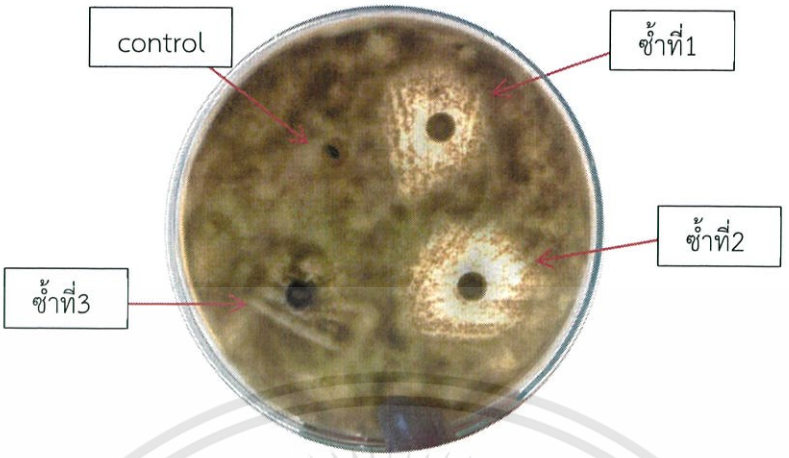
4.4.2 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจาก สาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

นำสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ มาทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่แยกได้จากใบคะน้าที่เป็นโรค จากการทดลองพบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตรจาก *Oscillatoria* sp. M55 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีขนาดการเกิดโซนใส เท่ากับ 20.9633±0.6333 มิลลิเมตร ดังรูป 4.15 ส่วนการเกิดโซนใสที่มีขนาดรองเป็นอันดับสอง คือ *Oscillatoria* sp.KP55 มีขนาดโซนใสเท่ากับ 18.0000±2.1423 ดังรูป 4.16 และการเกิดโซนใสที่มีขนาดอันดับสาม คือ *Oscillatoria* sp.V55 และ *Oscillatoria* sp.RT55 โดยมีขนาดโซนใสเท่ากับ 15.6667±1.5014 ดังรูป 4.12 และ 14.1100±0.4022 มิลลิเมตร ดังรูป 4.14 ตามลำดับ ดังตาราง 4.5 และพบว่า *Oscillatoria* sp.TK55 และ *Oscillatoria* sp.PT55 ไม่พบว่ามีการเกิดโซนใสในการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp.

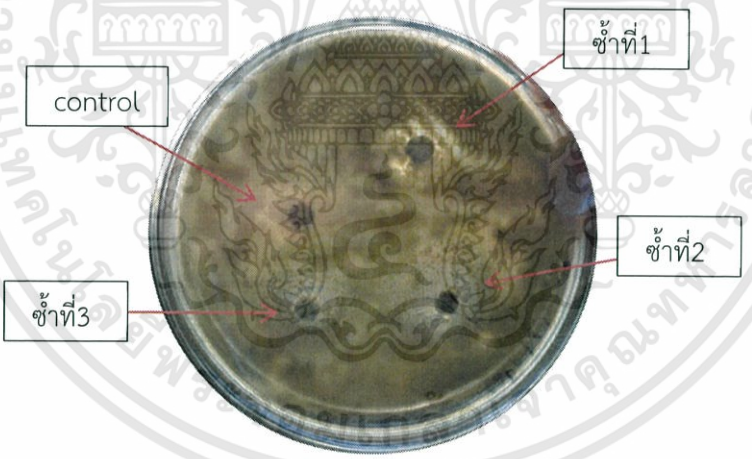


รูปที่ 4.11 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.AG55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

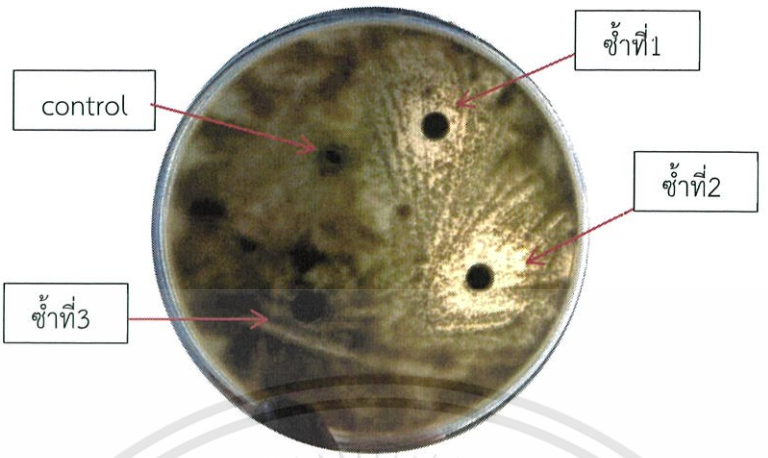


รูปที่ 4.12 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.V55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

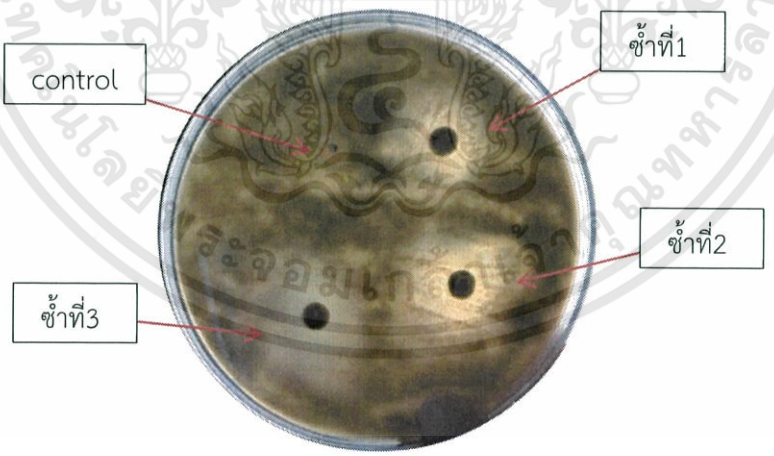


รูปที่ 4.13 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.SP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

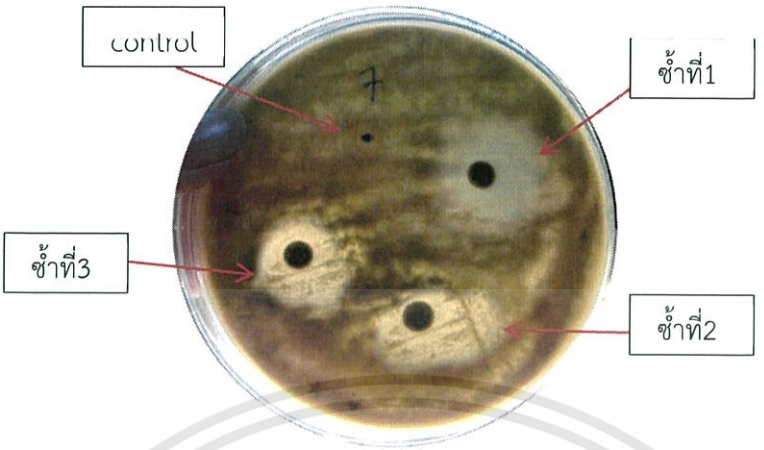


รูปที่ 4.14 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.RT55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

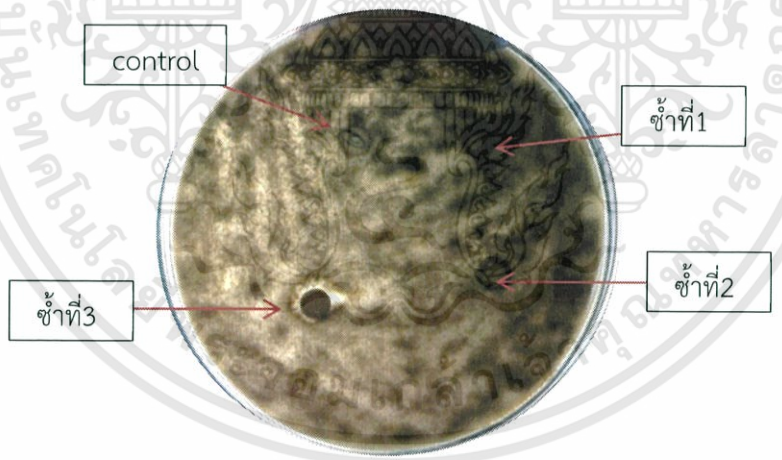


รูปที่ 4.15 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.KP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร



รูปที่ 4.17 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.TP55 ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง

ลำดับ	สายพันธุ์สาหร่าย	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)
1	*Oscillatoria* sp.AG55	10.2233±9.2460^{de}
2	*Oscillatoria* sp.V55	15.6667±2.6004^{c}
3	*Oscillatoria sp.SP55*	12.0000±2.9033^{d}
4	*Oscillatoria* sp.RT55	14.1100±0.6966^{c}
5	*Oscillatoria* sp.M55	20.9633±1.0970^{a}
6	*Oscillatoria* sp.KP55	18.0000±3.7107^{b}
7	*Oscillatoria* sp.TK55	-
8	*Oscillatoria* sp.TP55	8.3567±0.4120^{e}
9	*Oscillatoria* sp.PT55	-

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ($p \leq 0.05$)

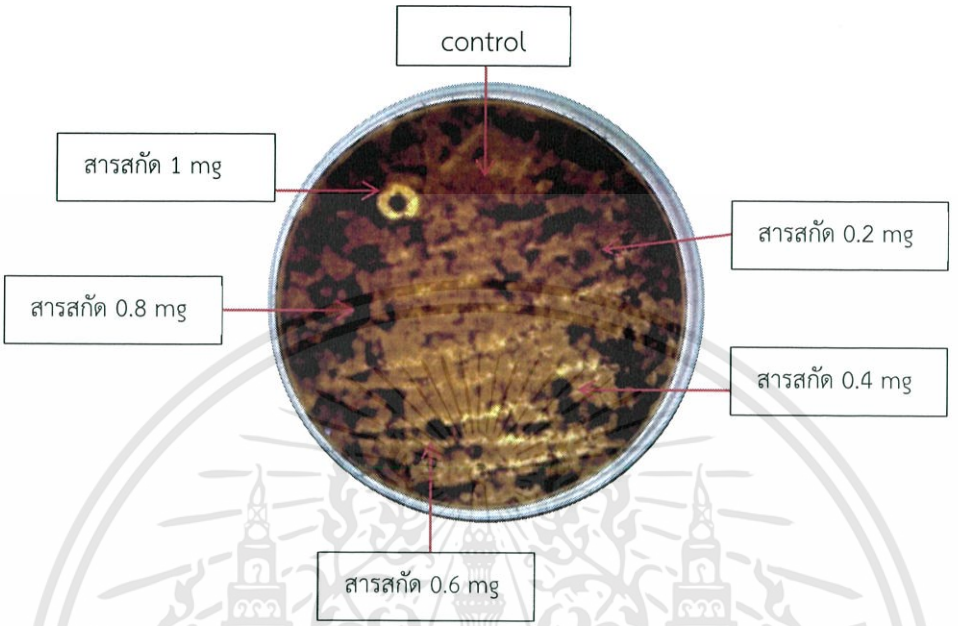
- คือ สัญลักษณ์แสดงว่า ไม่พบการเกิดโซนใส

4.4.3 การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA

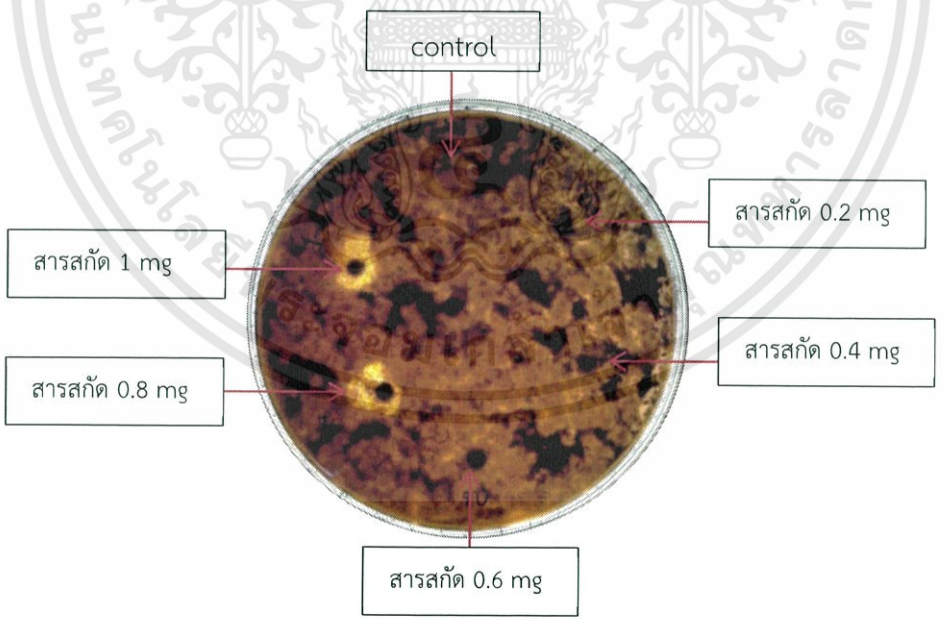
นำสารที่สกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 7 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่แยกได้จากใบคะน้าที่เป็นโรค จากข้อ 4.4.2 มาทดสอบด้วยวิธี paper disc โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ต่างกันคือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัม พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยสุดคือ 0.6 มิลลิกรัม มีเพียงสารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 เพียงสายพันธุ์เดียวที่เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยมีขนาดการเกิดโซนใสเท่ากับ 11.0000±1.15 มิลลิเมตร ดังรูป 4.22 ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 0.8 มิลลิกรัม พบว่า สารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* sp.M55 ทำให้เกิดขนาดโซนใสมากกว่าสายพันธุ์ *Oscillatoria* sp.V55 และ *Oscillatoria* sp.KP55 อย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีขนาดการเกิดโซนใสเท่ากับ 16.0000±0.58 ดังรูป 4.22, 15.0000±1.53 ดังรูป 4.19 และ 14.3333±2.19 ดังรูป 4.23 ตามลำดับ ดังตาราง 4.6 ส่วนที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร พบว่า *Oscillatoria* sp.M55 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีขนาดของการเกิดโซนใสเท่ากับ 20.3333±1.20 มิลลิเมตร ส่วนการเกิดโซนใสที่มีขนาดรองลงมา คือ *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.AG55 และ *Oscillatoria* sp.SP55 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีขนาดการเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โซนใสเท่ากับ 15.3333±1.33 ดังรูป 4.19, 14.3333±2.19 ดังรูป 4.23, 13.6667±2.85 ดังรูป 4.21, 13.0000±0.00 ดังรูป 4.18 และ 11.6667±1.20 มิลลิเมตร ดังรูป 4.20 ตามลำดับ

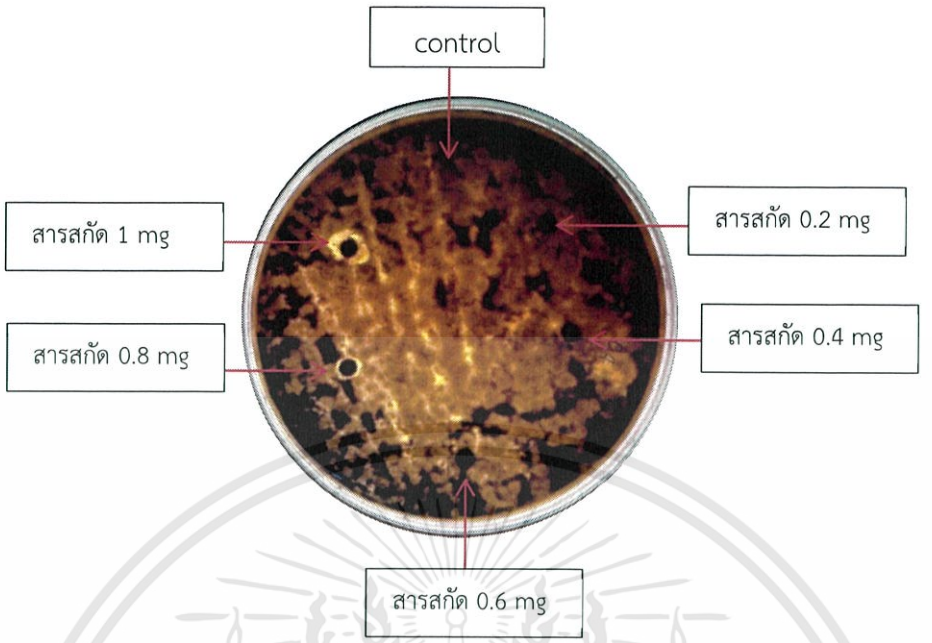


รูปที่ 4.18 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.AG55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

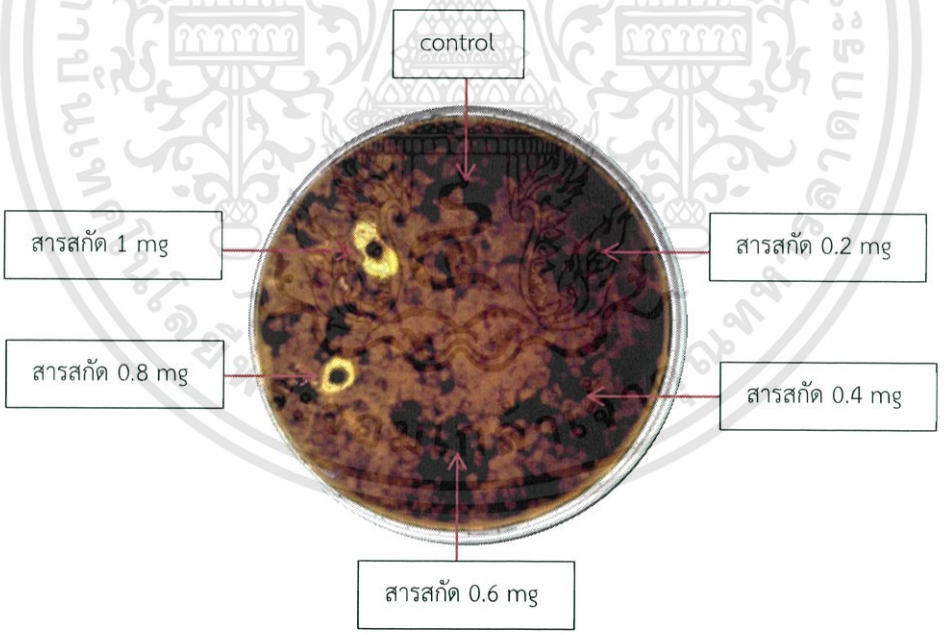


รูปที่ 4.19 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.V55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

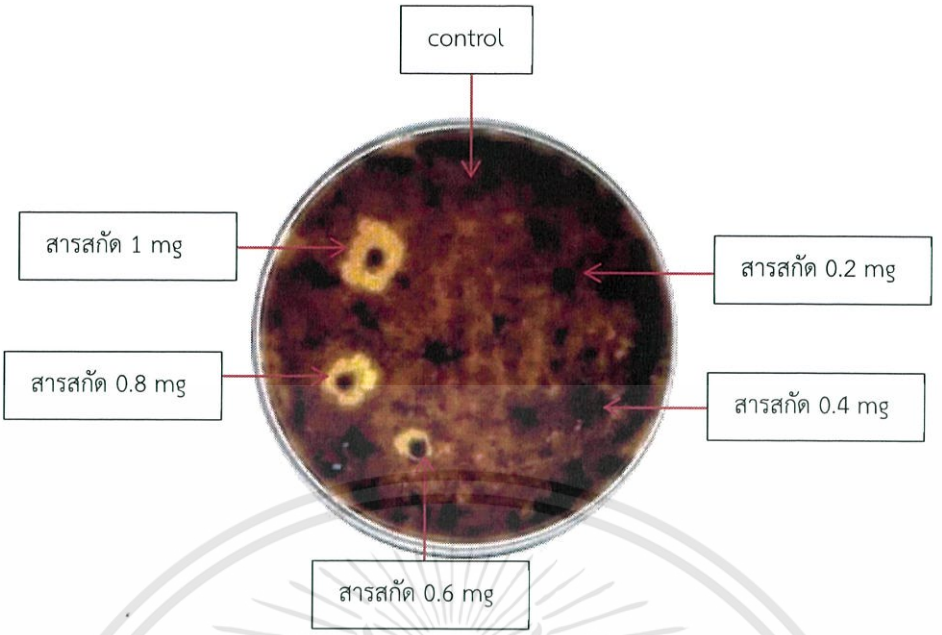


รูปที่ 4.20 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.SP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

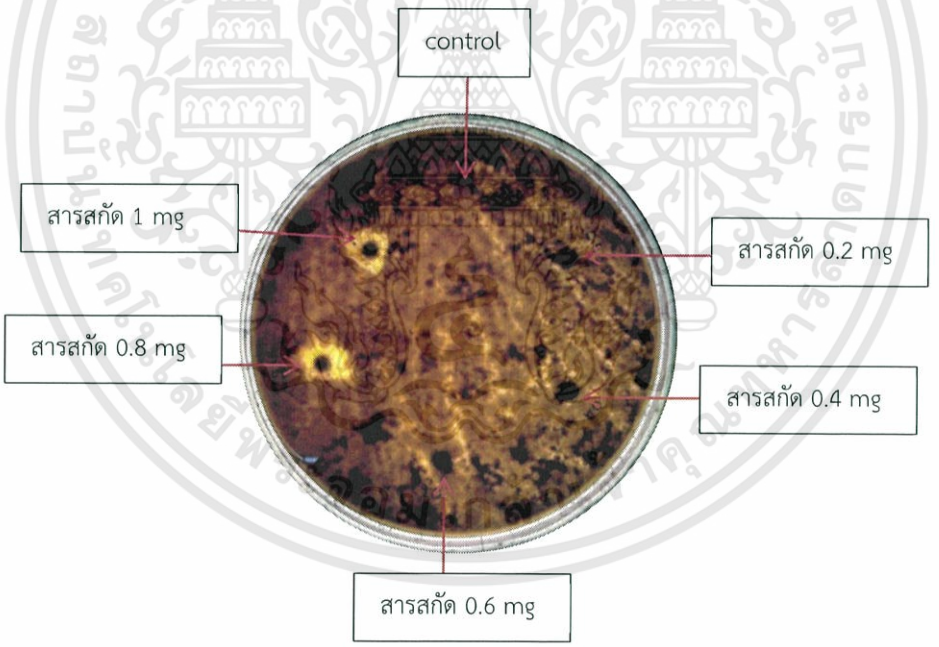


รูปที่ 4.21 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.RT55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

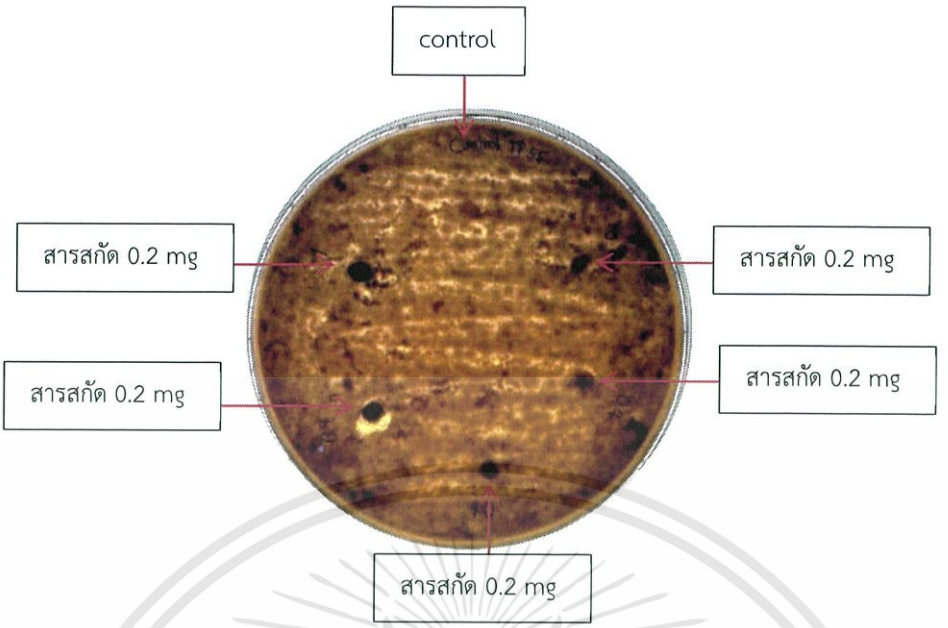


รูปที่ 4.22 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน



รูปที่ 4.23 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.KP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.24 แสดงการเกิดโซนใสจากการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. โดยใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.TP55 ที่ความเข้มข้นต่างกัน

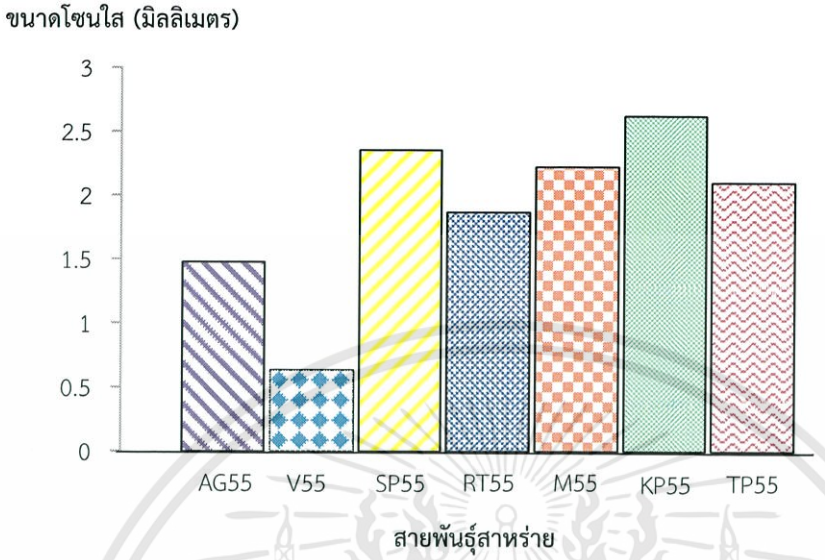
ตารางที่ 4.6 แสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดจาก *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างกันต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ในวันที่ 7 ของการทดลอง

สายพันธุ์สาหร่าย	การเกิดโซนใส (มิลลิเมตร)				
	1	0.8	0.6	0.4	0.2
Oscillatoria sp.AG55	13.0000±0.00^{bcd}	-	-	-	-
Oscillatoria sp. V55	15.3333±1.33^{bc}	15.0000±1.53^{bcd}	-	-	-
Oscillatoria sp.SP55	11.6667±1.20^{bcde}	8.0000±0.58^{e}	-	-	-
Oscillatoria sp.RT55	13.6667±2.85^{bcd}	10.6667±0.33^{cde}	-	-	-
Oscillatoria sp. M55	20.3333±1.20^{a}	16.0000±0.58^{b}	11.0000±1.15^{cde}	-	-
Oscillatoria sp.KP55	14.3333±2.19^{bcd}	12.6667±0.88^{bcd}	-	-	-
Oscillatoria sp.TP55	10.3333±0.33^{de}	-	-	-	-

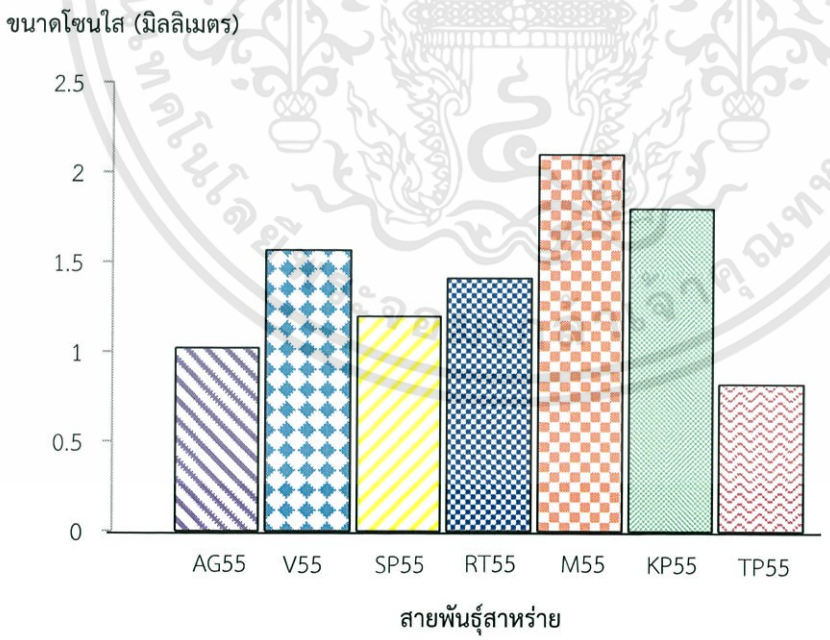
หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแต่ละสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ($p \leq 0.05$)

- คือ สัญลักษณ์แสดงว่า ไม่พบการเกิดโซนใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการใช้เส้นสาย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.



รูปที่ 4.26 กราฟแสดงผลเปรียบเทียบการใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร จากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองระหว่างการใช้เส้นสายสดเปรียบเทียบกับสารสกัดจาก *Oscillatoria* spp. เพื่อใช้ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ในแต่ละสายพันธุ์พบว่ามีความแตกต่างกัน เมื่อมองภาพรวมจะเห็นว่า ในส่วนของการใช้เส้นสายสดของสาหร่ายโดยตรง ดังรูป 4.25 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรานั้นทำให้เกิดขนาดของโซนใสที่กว้างกว่าการใช้สารสกัดจากสาหร่าย ดังรูป 4.26 ซึ่งสารประกอบที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อราที่พบใน *Oscillatoria* spp. มีหลายชนิด ยกตัวอย่าง คือ สารในกลุ่มเพปไทด์ เช่น สารไมโครคลอลินที่มีโครงสร้างเป็นโซ่ตรง เพปไทด์ที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน สารในกลุ่มอะซี-โตจีนิน เป็นต้น (Thummajitsakul, 2013) ซึ่งมีความเป็นพิษต่อเซลล์และสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิดของเชื้อราได้ จึงอาจอธิบายได้ว่า เส้นสายของสาหร่ายที่ยังมีชีวิตย่อมมีการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดเมื่อเจริญร่วมกับเชื้อรา โดยมีการปล่อยสารบางชนิดออกนอกเซลล์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของรา อีกทั้งบริเวณเมือกของสาหร่ายสีเขียว-แกมน้ำเงิน *Oscillatoria* spp. อาจมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Ghasemi และคณะ, 2003) แต่เมื่อนำเซลล์สาหร่ายไปผ่านกระบวนสกัดสารต่าง ๆ เมือกของสาหร่ายถูกกำจัดไป และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากเซลล์สาหร่ายบางชนิดอาจมีการเสียสภาพเพราะการใช้ตัวทำละลาย สารเคมีบางชนิด หรืออุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมในการสกัด ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ลดลง เนื่องจากความเป็นไปได้ที่จะมีการสูญเสียสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดไปในขั้นตอนของการสกัด (Westhuizen และ Eloff, 1985)

ในส่วนของผลการทดลองที่ได้ใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อ 20 ไมโครลิตร ที่สกัดได้จาก *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์ ด้วยตัวทำละลายคือ เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 เพื่อใช้ยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่า *Oscillatoria* sp. M55 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด มีขนาดของการเกิดโซนใสเท่ากับ 20.9633±0.6333 มิลลิเมตรซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Kim (2006) ที่ศึกษาการคัดเลือกสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่พบในนาข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำ โพลีเอทิลีน และเมทานอล เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืชพบว่าสารสกัดจาก *Oscillatoria angustissima* FK-113 และ *Oscillatoria tenuis* FK-109 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลสามารถยับยั้งเชื้อรา *Alternaria alternate* ได้ดีที่สุดโดยมีขนาดการเกิดโซนใสในช่วง 10 ถึง 20 มิลลิเมตร และ 6 ถึง 10 มิลลิเมตร ตามลำดับ อีกทั้งยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Issa (1999) ที่มีการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจาก *Oscillatoria angustissima* ที่แยกได้จากดิน โดยใช้ตัวทำละลายเอทิล อะซิเตท เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด พบว่า สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternate* ได้ โดยมีขนาดของโซนใสในช่วง 6 ถึง 10 มิลลิเมตร และสามารถยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton gourgii* และเชื้อรา *Microsporum canis* ได้อีกด้วย

คาดว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากการทดลองนี้ อาจเป็นสารในกลุ่มอะซิทิลเลท ซัลโฟไกลโคลิพิด (acetylated sulfoglycolipid) เนื่องจาก Reshef และคณะ (1997) รายงานว่าสารในกลุ่มอะซิทิลเลท ซัลโฟไกลโคลิพิด ซึ่งเป็นสารประเภทไกลโคลิพิดที่มีหมู่อะซิเตท และซัลเฟอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ในโครงสร้างที่พบได้ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* spp. และมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคในพืช อีกทั้ง ดำริห์ (2543) รายงานว่าสารในกลุ่มอะซิทิลเลท ซัลโฟไกลโคลิพิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria alternate*, *Alternaria brassicicola*, *Alternaria solani* และ *Alternaria porri* ส่วนของกลไกการออกฤทธิ์นั้น เนื่องจากสารในกลุ่มนี้มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบจึงอาจมีฤทธิ์ไปรบกวนการขนถ่ายอิเล็กตรอนในไซโตโครมของเซลล์ และจะถูกรีดิวซ์เปลี่ยนสภาพเป็นไฮโดรเจนซัลไฟด์ ซึ่งเป็นพิษทำให้โปรตีนในเซลล์เสียสภาพ และทำให้เซลล์ของเชื้อราตายในที่สุด (ดำริห์, 2543)

ในส่วนประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. พบว่ามีความสัมพันธ์กับ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์ของสาหร่ายสด กล่าวคือ *Oscillatoria* sp. M55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดสูงที่สุดและยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด โดยมีขนาดการเกิดโซนใสกว้างที่สุด และยังเป็นสาหร่ายเพียงสายพันธุ์เดียวที่พบการเกิดโซนใสที่ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยสุดคือ 0.6 มิลลิกรัมต่อปริมาตร 20 ไมโครลิตรอีกด้วย แต่กลับพบว่าประสิทธิภาพของสารสกัดในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. ไม่มีความสัมพันธ์กับการเจริญของสาหร่าย เนื่องจากสารสกัดจาก *Oscillatoria* sp.M55 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุด แต่กลับมีการเจริญเป็นอันดับท้าย ในขณะที่สาหร่าย *Oscillatoria* sp.V55 ที่มีเจริญสูงสุด แต่กลับพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. เป็นอันดับสุดท้าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. คัดแยกพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* spp. จากแหล่งน้ำจืดภายในบริเวณต่าง ๆ ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังจำนวน 9 สายพันธุ์คือ *Oscillatoria* sp.AG55, *Oscillatoria* sp.V55, *Oscillatoria* sp.SP55, *Oscillatoria* sp.RT55, *Oscillatoria* sp.M55, *Oscillatoria* sp.KP55, *Oscillatoria* sp.TK55, *Oscillatoria* sp.TP55 และ *Oscillatoria* sp.PT55

2. การศึกษาการเจริญของสาหร่ายพบว่า *Oscillatoria* sp.V55 มีการเจริญดีสุด รองลงมาคือ *Oscillatoria* sp.AG55 และ *Oscillatoria* sp.TK55 โดยมีอัตราการเจริญจำเพาะต่อวัน 0.0789±0.0192, 0.0665±0.0059 และ 0.0513±0.0131 ตามลำดับ

3. การศึกษาอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักสารสกัดแห้งต่อน้ำหนักเซลล์สดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. พบว่า *Oscillatoria* sp.M55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สดสูงที่สุด รองลงมา คือ *Oscillatoria* sp.V55 และ *Oscillatoria* sp.AG55 มีอัตราส่วนของสารสกัดต่อน้ำหนักเซลล์สด 0.2525, 0.1627 และ 0.1118 ตามลำดับ

4. การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจาก เส้นสายสดของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ในการยับยั้งเชื้อ *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA พบว่าสาหร่าย *Oscillatoria* sp.KP55 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้มากที่สุด มีขนาดโซนใสเท่ากับ 26.2200±0.6749 มิลลิเมตร

5. การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อตัวทำละลาย 20 ไมโครลิตร ในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA พบว่า *Oscillatoria* sp.M55 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้มากที่สุด มีขนาดโซนใสมี 22.2233±0.3868 มิลลิเมตร

6. การศึกษาความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้นต่างๆต่อการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp. บนอาหาร PDA พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดน้อยสุด คือ 0.6 มิลลิกรัม ของ *Oscillatoria* sp.M55 เพียงชนิดเดียวที่มีการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. มีขนาดโซนใส 11.0000±1.15 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรนำสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Alternaria* sp. ได้ดีที่สุดมาทำการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ เพื่อแยกสารประกอบในตัวอย่างสารสกัดจะทำให้การทราบชนิดของสาร และปริมาณของสาร เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

2. ควรนำสารสกัดที่มีฤทธิ์ที่ดีที่สุดมาทดสอบยับยั้งการเจริญของเชื้อราโรคพืชชนิดอื่น ๆ เพื่อที่จะได้ทราบว่าสารสกัดที่ได้มีผลต่อการเจริญของเชื้อราโรคพืชอื่นอีกหรือไม่

3. ควรมีการเติมสารทวีน 80 (tween 80) ในสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา เพื่อทำให้สปอร์แยกกระจายอย่างสม่ำเสมอ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชำนิ ด้วงเทพ. 2554. **การผลิตรงควัตถุสารสีจากสาหร่าย *Oscillatoria* sp. ในเชิงพาณิชย์.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ดำริห์ รุ่งสุข. 2543. **สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชและสัตว์.** พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

ปิยมาภรณ์ เวียนรอบทิศ และสุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์. 2556. **ผลของเหล็กต่อการเจริญเติบโต ปริมาณไขมันและชนิดกรดไขมันในไซยาโนแบคทีเรีย.** หน้า 31-33. ใน การประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ ศูนย์ประชุมนานาชาติเอ็มเพลส จังหวัดเชียงใหม่ วันที่ 28-30 มีนาคม 2556.

พัชรี ผดุงวงศ์. 2540. "การใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อควบคุมเชื้อราโรคพืช." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พาลาภ สิงหเสนี. 2537. **พิษของยาฆ่าแมลงต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม.** พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิสุทธิ์ เอกอำนวย. 2550. **โรคและแมลงของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. **สาหร่ายวิทยา.** พิมพ์ครั้งที่ 2. เชียงใหม่ : โชตนาพริ้น.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2551. **ราวิทยาเบื้องต้น.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : จามจุรีโปรดักท์.

สรวิศ เผ่าทองศุข. 2543. **สาหร่าย ศักยภาพการวิจัยและพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์จากสาหร่ายในประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2559. ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าวัตถุอันตรายทางการเกษตร ปี 2553 -2558. [Online]. Available : http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146

อนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2544. **โรค-ศัตรูไม้ประดับและวิธีการกำจัดแบบชีวภาพ.** พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ : ไทยพัฒนาพานิช.

อาภารัตน์ มหาขันธ์. 2548. **เทคโนโลยีสาหร่ายกับอนาคตการเกษตรของประเทศไทย.** พิมพ์ครั้งที่ 1. กรงเทพฯ : เซเว่น พริ้นติ้ง กรุ๊ป.

เอี่ยน ศิลาย้อย. 2536. **โรคพืชไม้ผล สมุนไพร และการป้องกันกำจัด.** พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพ : ประชาชน.

ศูนย์อารักขาพืช มูลนิธิโครงการหลวง. 2548. **คู่มือศัตรูไม้ดอก และการป้องกันกำจัด.** พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่ : ทรีโอแอดเวอร์ไทยซิ่งแอนด์มีเดีย.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Beatriz, P.-M., Ezequie, V.-V., Azucena, O.-C. and Pilar, C.-R. 2012. "Antifungal activity of *Psidium guajava* organic extracts against dermatophytic fungi." *Journal of Medicinal Plants Research.* 41 : 5435-5438.

Borowitzka, M.A. 1995. "Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds." *Journal of Applied Phycology.* 7 : 3-15.

Chetsumon, A., Maeda, I., Umeda, F., Yagi, K., Miura, Y. and Mizoguchi, T. 1995. "Continuous antibiotic production by an immobilized cyanobacterium in a seaweed-type bioreactor." *Journal of Applied Phycology.* 7 :135-139.

Douglas, S.E., Raven, J.A. and Larkum, A.W.D. 2003. The algae and their general characteristics. In Larkum, A.W.D., Douglas, S.E. and Raven, J.A. Photosynthesis in algae (1-10). Canada : Spinger Science and Business Media.

Dussault, D., Dang Vua, K., Vansachb, T., Horgenb, F.D. and Lacroixa, M. 2016. "Antimicrobial effects of marine algal extracts and cyanobacterial pure compounds against five foodborne pathogens." *Food Chemistry.* 199 : 114–118.

Frankmölle, W.P., Larsen, I.K., Caplan, F.R., Patterson, G.M.L., Knubel, G., Levine, I.A. and Moore, R.E. 1992. "Antifungal cylic peptides from the terrestrial blue green algae *Anabaena laxa.*" *Journal Antibiotic.* 45 : 1451-1457.

Fuenmayor, G., Jonte, L., Loaiza, N.R. and Morales, E. 2009. "Crecimiento de la cianobacteria marina *Oscillatoria* sp. MOF-06 en relación al pH en cultivos discontinuos." *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 29 : 21-25.

Ghasemi, Y., Yazdi, T.M., Shokravi, S., Soltani, N. and Zarrini, G. 2003. "Antifungal and antibacterial activity of paddy-fields cyanobacteria from the north of Iran." *The Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran.* 14 : 203-209.

Hagmann, L. and Jüttner, F. 1996. "Fischerellin A, a novel photosystem-ll-inhibiting allelochemical of the cyanobacterium *Fischerella muscicola* with antifungal and herbicidal activity." *Tetrahedron Letters.* 37 : 6539-6542.

Hernández-Carlos, B. and Gamboa-Angulo, M.M. 2011. "Metabolites from freshwater aquatic microalgae and fungi as potential natural pesticides." *Phytochemistry Reviews.* 10 : 261-286.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hussain, F., Humayun, S., Ali, N. and Badshah, L. 2011. "Fresh water algae of gulbahar, district Peshawar, Pakistan." *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*. 5 : 66-74.

Imamoglu, E., Sukan, F.V. and Dalay, M.C. 2007. "Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*." *International Journal of Natural and Engineering Sciences*. 3 : 5-9.

Issa, A.A. 1999."Antibiotic production by the cyanobacteria *Oscillatoria angustissima* and *Calothrix parietina*." *Environmental Toxicology and Pharmacology* 8 : 33-37.

Kiviranta, J. and Abdel-Hameed, A. 1994. "Toxicity of the blue-green alga *Oscillatoria agardhii* to the mosquito *Aedes aegypti* and shrimp *Artemia salina*." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 10 : 517-520.

Kim, J.-D. 2006. "Screening of cyanobacteria (blue-green algae) from rice paddy soil for antifungal activity against plant pathogenic fungi." *Mycobiology*. 34 : 138-142.

Kobayashi, A., Kajiyama, S., Inawaka, K., Kanzaki, H. and Kawezu, K. 1994. "Nostodione A, a novel mitotic spindle poison from a blue-green alga *Nostoc commune*." *Zeitschrift für Naturforsch*. 49 : 464-470.

Lou, J., Yu, R., Wang, X., Mao, Z., Fu, L., Liu, Y. and Zhou, L. 2016. "Alternariol 9-methyl ether from the endophytic fungus *Alternaria* sp. Samif01 and its bioactivities." *Brazilian Journal of Microbiology*. 47 : 96-101.

Loza, V., Perona, E., Carmona, J. and Mateo, P. 2013. "Phenotypic and genotypic characteristics of *Phormidium*-like cyanobacteria inhabiting microbial mats are correlated with the trophic status of running waters." *European Journal of Phycology* 48 : 235-252.

Meng, T., Wu, J., Yi, H., Liu, J., Lu, B., Yuan, M., Huang, X., Yuan, H. and Hu, F. 2016. "A spermine conjugated stearic acid-g-chitosan oligosaccharide polymer with different types of amino groups for efficient p53 gene therapy." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 145 : 695-705.

Mitchell, B.G. and Kiefer, D.A. 1984. Determination of absorption and fluorescence excitation spectra for phytoplankton. In Holm-Hansen, O., Bolis, L. and Gilles, R. Marine phytoplankton and productivity (157-171). Berlin : Spinger Science and Business Media.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mostafa, M., Aida, M., Azza, M., Hamed, M. and Reham, A. 2008. "Antimicrobial activity of the cyanobacteria *Anabaena wisconsinense* and *Oscillatoria curviceps* against pathogens of fish in aquaculture." *Annals of Microbiology. 58* : 527-534.

Ozdem, S., Bayraktar, T., Oktay, C., Sari, R. and Gültekin, M. 2006. "The prevalence of asymptomatic pyuria in diabetic patients : Comparison of the sysmex UF-100 automated urinalysis analyzer with Fuchs–Rosenthal hemacytometer." *Clinical Biochemistry*. 39 : 873–878.

Patterson, G.M., L. and Carmeli, S. 1992. "Biological effects of tolytoxin (6-hydroxy-7-O-methyl-scytophycin b), a potent bioactive metabolity from cyanobacteria." *Archives of Microbiology*. 157 : 406-410.

Radhakrishnan, B., Prasanna, R., Jaiswal, P., Nayak, S. and Dureja, P. 2009. "Modulation of biocidal activity of *Calothrix* sp. and *Anabaena* sp. by environmental factors." *Biologia* 64/5 : 881-889.

Ragan, M. 1998. "On the delineation and higher-level classification of algae." *European Journal of Phycology*. 33 : 1-15.

Rani, V.U., Peruma, U.E. and Palanivel, S. 2016. "Morphology and taxonomy of *Oscillatoria princeps* Vaucher ex gomont (Oscillatoriaes Oscillatoriaceae)." *Indian Journal of Education and Information Management*. 5 : 1-5.

Reshef, V., Mizrachi, E., Maretzki, T., Silberstein, C., Loya, S., Hizi, A. and Carmeli, S. 1997. "New acylated sulfoglycolipids and digalactolipids and related knjown glycolipids from cyanobacteria with a potential inhibit the reverse transcriptase of HIV-1." *Journal of Natural Products*. 60 : 1251-1260.

Shaieb, F.A., Issa, A.A. and Meragaa, A. 2014. "Antimicrobial activity of crude extracts of cyanobacteria *Nostoc commune* and *Spirulina platensis*. *Archives of Biomedical Sciences*. 2 : 34-41.

Shanab, S.M.M. 2007. "Bioactive allelo-chemical compounds from *Oscillatoria* species (Egyptian Isolates)." *International Journal of Agriculture & Biology*. 4 : 617-621.

Sibi, G., Awasthi, S., Dhananjaya, K., Mallesha, H. and Ravikumar, K.R. 2012. "Comparative studies of *Plumeria* species for their phytochemical and antifungal properties against *Citrus sinensis* pathogens." *International Juornal of Agricultural Research*. 7 : 324-331.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Singh, N.K., Parmar, A., Sonani, R.R. and Madamwar, D. 2012. "Isolation, identification and characterization of novel thermotolerant *Oscillatoria* sp. N9DM: change in pigmentation profile in response to temperature. *Process Biochemistry*. 47 : 2472–2479.

Srivastava, V.C., Manderson, G.J. and Bhamidimarri, R. 1998. "Inhibitory metabolites production by the cyanobacterium *Fischerella muscicola*." *Microbiological Research*. 153 : 309-317.

Susilaningsih, D. 2007. "Accelerating of pink pigment excretion from cyanobacterium *Oscillatoria* by co-cultivation with *Anabaena*." *Journal of Biosciences*. 1 : 18-22.

Terra, W.S., Ferreira, S.S., Costa, R.O., Mendes, L.L., Franco, R.W.A., Bortoluzzi, A.J., Resende J.A.L.C., Fernandes, C. and Junior, A.H. 2016. "Evaluating the influence of the diamine unit (ethylenediamine, piperazine and homopiperazine) on the molecular structure, physical chemical properties and superoxide dismutase activity of copper complexes." *Inorganica Chimica Acta*. 450 : 353-363.

Thangam, R., Suresh, V., Asenath, W., Princy, W., Rajkumar, M., SenthilKumar, N., Gunasekaran, P., Rengasamy, R., Anbazhagan, C., Kaveri, K. and Kannan, S. 2013. "C-phycocyanin from *Oscillatoria tenuis* exhibited an antioxidant and in vitro antiproliferative activity through induction of apoptosis and G0/G1 cell cycle arrest." *Food Chemistry*. 140 : 262–272.

Thummajitsakul, S. 2013. "Advantages of cyanobacterial bioactive-compounds." *Pathumwan Academic Journal*. 6 : 45-52.

Westhuizen, A.J. and Eloff, J.N. 1985. "Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006)." *Planta*. 1 : 55-59.

Whitton, B.A. and Potts, M. 2012. Introduction to the cyanobacteria. In Whitton, B.A. Ecology of cyanobacteria II their diversity in space and time (pp. 1-14). New York : Springer Science & Business Media.

Zhong, J., Shang, H.H., Zhu, C.X., Zhu, J.Z., Zhu, H.J., Hu, Y. and Gao, V.D. 2006. "Characterization of a novel single-stranded RNA virus, closely related to fusariviruses, infecting the plant pathogenic fungus *Alternaria brassicicola*. *Virus Research*. 217 : 1-7.

http://ccala.butbn.cas.cz/en/oscillatoria-limosa-c-agardh-0เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

http://dbmuseblade.colorado.edu/DiatomTwo/sbsac_site/species.php?g=Oscillatoria&s=tenuis# เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

http://lib.jiangnan.edu.cn/ASM/490-Introduce.htm เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://prgdb.crg.eu/wiki/Species:Alternaria_alternata เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Prokaryotes/Oscillatoriaceae/Oscillatoria/agardhii/sp_09.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 16/06/2016

http://protist.i.hosei.ac.jp/pdb/images/Prokaryotes/Oscillatoriaceae/Oscillatoria/curviceps/sp_04.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

http://www.thealmonddoctor.com/2011/08/alternaria-found-within-merced-county.html เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

http://www.graymed.com.au/haemocytometer-haemocytometers เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 12/05/2016

http://www.redpalmweevil.com/Course/PPath/Alternaria.jpg เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 9/05/2016

https://www.studyblue.com/notes/note/n/hematology-erythron-counts- f5/deck/5447844 เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 12/05/2016

http://www.thaikasetsart.com/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84% E0%B9%83%E0%B8%9A%E0%B9%84%E0%B8%AB%E0%B8%A1%E0%B9%89%E0%B9%81%E0%B8%AB%E0%B9%89%E0%B8%87/ เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 24/06/2016

http://www.thaikasetsart.com/%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B8%8A%E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%94%E0%B9%83%E0%B8%AB%E0%B8%A1%E0%B9%88%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%A1%E0%B8%BE0%B8%A1%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%87/ เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 24/06/2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่าย

ก-1. อาหารสูตร BG-11 สูตรอาหารเหลว (Imamoglu และคณะ, 2007)

1.	โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)	1.5	กรัมต่อลิตร
2.	ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($K_2H•PO_4$)	0.04	กรัมต่อลิตร
3.	แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4•7H_2O$)	0.075	กรัมต่อลิตร
4.	แคลเซียมคลอไรด์ไดไฮเดรต ($CaCl_2•2H_2O$)	0.036	กรัมต่อลิตร
5.	กรดซิตริค (Citric acid)	0.006	กรัมต่อลิตร
6.	แอมโมเนียมเฟอร์ริคซิเตรท (Ammonium ferric citrate)	0.006	กรัมต่อลิตร
7.	โซเดียมเอทิลีน ไดอะมีน เตตระอะซิติก ($EDTANa_2$)	0.001	กรัมต่อลิตร
8.	โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	0.02	กรัมต่อลิตร
9.	Trace element	1	มิลลิลิตร

การเตรียม Trace element

1.	กรดบอริค (H_3BO_3)	2.86	กรัมต่อลิตร
2.	แมงกานีสคลอไรด์เตตระไฮเดรต (MnCl2•4H2O)	1.81	กรัมต่อลิตร
3.	ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4•7H_2O$)	0.22	กรัมต่อลิตร
4.	โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต ($Na_2MoO_4•2H_2O$)	0.39	กรัมต่อลิตร
5.	คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4•5H_2O$)	0.08	กรัมต่อลิตร
6.	โคบอลท์(II)ไนเตรทเฮกซะไฮเดรต($Co(NO_3))2•6H2O$	0.05	กรัมต่อลิตร

ปรับค่า pH เป็น 7.1 แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

ก-2. อาหารสูตร BG-11 สูตรอาหารแข็ง

อาหารเหลว BG-11	100	มิลลิลิตร
วุ้น (Agar)	1.5	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีการวิเคราะห์

ข-1 การวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density,OD) (Susilaningsih, 2007)

1. ทำการเก็บตัวอย่างสาหร่าย ปริมาตร 3 มิลลิลิตร
2. นำตัวอย่างใส่คิวเวทท์ (cuvette) และวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
3. บันทึกผลการทดลอง และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างวันที่ทำการเพาะเลี้ยงกับค่าดูดกลืนแสง เพื่อวัดการเจริญของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์

ข-2 การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Mitchell และ Kiefer, 1984)

1 เก็บตัวอย่างสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ๆ ละ 1 มิลลิลิตร
2 นำตัวอย่างใส่หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 1.5 มิลลิลิตร โดยเก็บตัวอย่างละ 3 ซ้ำ
3 นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
4 จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง เติมน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในตะกอนเซลล์ตัวอย่างสาหร่าย เขย่าให้เข้ากันเพื่อล้างตะกอนเซลล์
5 นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
6 จากนั้นเทส่วนใสทิ้ง เติมอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 90 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในตะกอนตัวอย่างสาหร่าย เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที
7 นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงขนาดเล็กที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที
8 จากนั้นนำส่วนใสไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 647 และ 667 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ตามสูตร ดังนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)} = 11.93\,(A_{667}) - 1.93\,(A_{647})$$

เมื่อ A_{667} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 667 นาโนเมตร

A_{647} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 647 นาโนเมตร

9 นำค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของตัวอย่างที่คำนวณได้ ไปเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ กับระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง เพื่อวัดการสะสมปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์
10 สูตรที่ใช้ในการคำนวณอัตราการเจริญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{อัตราการเจริญจำเพาะ} = \frac{N2-N1}{T2-T1}$$

N1 = ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายที่ระยะเวลาการเจริญเริ่มต้น
N2 = ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของสาหร่ายที่ระยะเวลาการเจริญสูงสุด
T1 = ระยะเวลาการเจริญเริ่มต้น
T2 = ระยะเวลาการเจริญสูงสุด

ข-3 การหาน้ำหนักเซลล์แห้ง

1. นำตัวอย่างสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
2. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เทส่วนใสทิ้ง แล้วล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น
3. จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงอีกครั้ง
4. นำส่วนตะกอนที่ติดบริเวณก้นหลอดไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. จึงนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง
6. คำนวณหาค่าน้ำหนักแห้งของสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จากสูตร

น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) = น้ำหนักหลอดที่มีเซลล์แห้งสาหร่าย - น้ำหนักหลอดเริ่มต้น

ข-4 การนับจำนวนสปอร์รา

วิธีการนับสปอร์เชื้อรา (Ozdem และคณะ, 2006)

1. เจือจางสปอร์เชื้อราด้วยน้ำเกลือ
2. หยดตัวอย่างเชื้อราลงบนสไลด์นับเซลล์ นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
3. นับเซลล์ภายในบริเวณช่องสี่เหลี่ยมเล็ก จะทำการนับ 5 ช่อง (1, 2, 3, 4 และ 5 ดังรูป ข-2) ซึ่งช่องที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีความกว้างและความยาวเท่ากับ 0.2 มิลลิเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจะได้ปริมาณน้ำของช่องที่ 1, 2, 3, 4 และ5

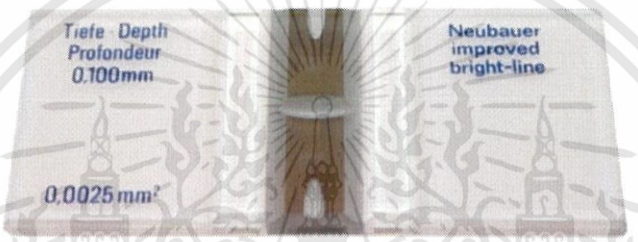
= ความกว้าง x ความยาว xความลึก x เจือจาง

= 0.2 มม. X 0.2 มม. x 0.1 มม.

= 4×10^{-6} มิลลิเมตร

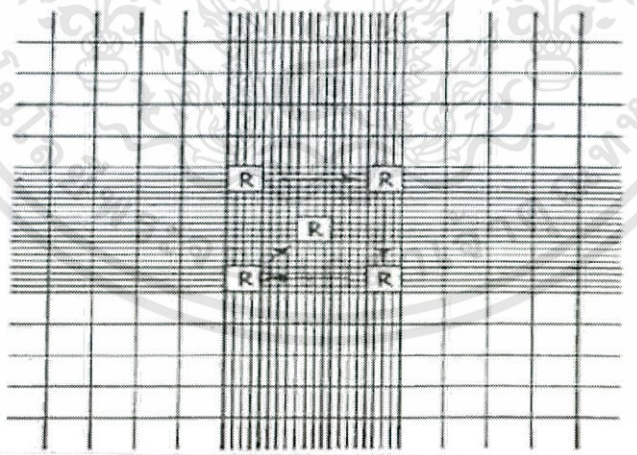
ดังนั้น จะได้ปริมาตรน้ำของช่อง $\frac{1+2+3+4+5}{5} \times \frac{1}{4} \times 10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร

4. จากนั้นบันทึกผลการทดลอง



รูปที่ ข-1 แสดงลักษณะของสไลด์นับเซลล์ (hemacytometer)

ที่มา : http://www.graymed.com.au/haemocytometer-haemocytometers เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 12/05/2016



รูปที่ ข-2 แสดงลักษณะภายในของ hemacytometer ช่องที่1, 2, 3, 4 และ5

ที่มา : https://www.studyblue.com/notes/note/n/hematology-erythron-counts-f5/deck/5447844 เข้าถึงเว็บไซต์วันที่ 12/05/2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข-5 การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.

1. เก็บเกี่ยวสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ทำการเพาะเลี้ยงในถัง 2 ลิตร ประมาณวันที่ 20 ของการเพาะเลี้ยงหรือจนเข้าระยะ stationary phase
2. ทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อรา
3. ใช้กระบอกตวงที่ฆ่าเชื้อแล้ว ตวงสารแขวนลอยของสาหร่ายปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร
4. นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง
5. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างเซลล์สาหร่ายที่ได้ แล้วนำมาเติมน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก
6. แช่แข็งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงนำมาละลายที่อุณหภูมิห้อง เพื่อทำให้เซลล์แตก ทำซ้ำ 2 ครั้ง จนกระทั่งเซลล์แตกเป็นเนื้อเดียวกัน
7. จึงสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล (CH_3OH) ความเข้มข้นร้อยละ 90 กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1
8. นำส่วนที่ได้จากการกรอง (filtrarate) มาระเหยแบบลดความดันด้วยเครื่อง Rotaty evaporator ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จนสารสกัดแห้ง
9. นำสารดังกล่าวมาชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำมาละลายในตัวทำละลายข้างต้นปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วหยดบนแผ่นทดสอบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (BBL blank paper discs ของ Becton Dickinson)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลผลการทดลอง

1. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายขนาดเล็ก

ตารางที่ ค-1 แสดงสายพันธุ์สาหร่ายที่ได้คัดแยกจากแหล่งน้ำต่างๆ

ลำดับ	รหัส	สายพันธุ์สาหร่าย	แหล่งที่มา	วันที่เลี้ยง
1	AG55	*Oscillatoria* sp.	บ่อน้ำหน้าตึก L คณะเทคโนโลยีการเกษตร	17/02/59
2	V55	*Oscillatoria* sp.	อ่างบัวหน้าตึก A คณะวิศวกรรมศาสตร์	5/03/59
3	SP55	*Oscillatoria* sp.	บ่อน้ำข้างเรือนเพาะชำคณะเทคโนโลยีการเกษตร	16/03/59
4	RT55	*Oscillatoria* sp.	บ่อน้ำระหว่างแปลงของคณะเทคโนโลยีการเกษตร	19/03/59
5	M55	*Oscillatoria* sp.	ร่องน้ำในสวนมะม่วงคณะเทคโนโลยีการเกษตร	31/03/59
6	KP55	*Oscillatoria* sp.	ร่องน้ำแปลงทดลองคณะเทคโนโลยีการเกษตร	1/04/59
7	TK55	*Oscillatoria* sp.	ร่องน้ำแปลงทดลองข้างศาลาของคณะเทคโนโลยีการเกษตร	24/03/59
8	TP55	*Oscillatoria* sp.	บ่อน้ำหน้าอาคารทรงไทย คณะสถาปัตยกรรมศาสตร์	3/04/59
9	PT55	*Oscillatoria* sp.	บ่อน้ำข้างโรงอาหารตึกเรียนรวมพระเทพฯ ตรงข้ามไปรษณีย์เจ้าคุณทหาร	3/04/59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่มีการยับยั้งเชื้อรา *Alternaria* sp.

2.1. ผลการศึกษาระยะการเจริญของสาหร่าย 9 สายพันธุ์ แสดงค่าดูดกลืนแสง ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ ค-2 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. AG55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.025	0.023	0.034	0.0273	8.7720	6.7720	10.7720	8.7720	0.5800	0.5800	1.2400	0.8000
2	0.292	0.251	0.316	0.2863	167.3700	160.9840	167.3700	165.2413	1.3400	1.1800	1.2600	1.2600
4	0.364	0.331	0.383	0.3593	270.4240	221.8620	266.4940	252.9267	2.400	2.9200	2.9200	2.7467
6	0.514	0.656	0.733	0.6343	495.0220	409.1960	523.7940	476.0040	2.0400	2.0600	1.6800	1.9267
8	0.612	0.749	0.704	0.6883	467.3020	493.9340	511.4780	490.9047	2.9000	2.5600	1.7200	2.3933
10	0.858	0.775	0.851	0.8280	633.7940	434.5300	578.6360	548.9867	2.7400	2.0000	3.5200	2.7533
12	1.102	1.232	1.111	1.1483	559.0220	589.3380	710.1460	619.5020	2.1600	2.2800	2.5600	2.3333
14	1.352	1.382	1.377	1.3703	813.1660	829.9380	359.0180	667.3740	2.9000	2.8000	2.9000	2.8667
16	1.659	1.678	1.690	1.6757	1061.5200	983.4140	1174.5740	1073.1693	3.1200	3.1800	3.0600	3.1200
18	1.708	1.759	1.791	1.7527	1337.1720	944.4660	1352.3300	1211.3227	3.2800	3.3200	3.2200	3.2733
20	1.801	1.803	1.789	1.7977	1178.2220	1083.2400	1353.2440	1204.9020	3.5000	3.5800	3.4600	3.5133

ตารางที่ ค-3 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. V55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.036	0.038	0.036	0.0367	26.7020	24.3160	21.9300	24.3160	1.4400	1.4400	1.1200	1.3333
2	0.216	0.258	0.246	0.2400	64.9480	122.7380	158.6680	115.4513	2.1800	1.9400	1.6200	1.9133
4	0.560	0.439	0.498	0.4990	270.0380	129.8260	259.6520	219.8387	2.8000	1.8000	1.8800	2.1600
6	0.784	0.674	0.739	0.7323	349.3720	329.2660	392.2140	356.9507	1.9000	1.8400	1.4600	1.7333
8	0.886	0.851	0.804	0.8470	462.0740	560.7400	561.0920	527.9687	2.0200	1.8400	1.9600	1.9400
10	1.092	0.977	1.000	1.0230	688.1120	503.2680	781.6920	657.6907	1.9600	1.9800	1.8400	1.9267
12	1.326	1.148	1.303	1.2590	776.1480	620.0060	864.0780	753.4107	2.1600	2.1000	1.4200	1.8933
14	1.582	1.315	1.528	1.4750	913.8340	749.4460	1311.7660	991.6820	1.8600	1.8800	1.6600	1.8000
16	1.888	1.540	1.772	1.7333	1419.7680	1507.4180	933.2720	1286.8193	2.3800	2.1000	2.3600	2.2800
18	2.085	1.621	1.692	1.7993	1646.1560	1357.2760	1158.8880	1387.4400	3.0000	2.8400	3.1000	2.9800
20	1.941	1.787	1.606	1.7780	1573.2100	1190.0120	1255.1360	1339.4527	3.0800	2.7000	3.2600	3.0133

ตารางที่ ค-4 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. SP55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.046	0.053	0.038	0.0457	34.2460	29.4740	27.0880	30.2693	2.0200	1.6000	1.0400	1.5533
2	0.347	0.273	0.198	0.2727	264.1780	186.4580	98.4220	183.0193	1.8000	1.2800	1.2000	1.4267
4	0.640	0.638	0.351	0.5430	358.6000	229.0540	178.9140	255.5227	1.4200	1.8200	1.5000	1.5800
6	0.862	0.844	0.641	0.7823	514.8120	308.4240	182.4580	335.2313	1.9800	2.0200	1.9200	1.9733
8	1.030	0.914	0.805	0.9163	701.8320	523.7600	324.2140	516.6020	1.9200	2.0600	2.0000	1.9933
10	1.241	1.143	1.050	1.1447	508.2860	722.3540	340.9860	523.8753	2.1400	1.9000	1.6600	1.9000
12	1.407	1.345	1.137	1.2963	526.7060	683.7260	392.4600	534.2973	2.6000	2.5000	2.2200	2.4400
14	1.543	1.596	1.336	1.4917	634.8120	697.7600	402.3540	578.3087	2.1600	2.2600	2.7000	2.3733
16	1.494	1.549	1.377	1.4733	995.9020	1027.9400	413.5480	812.4633	2.6800	2.5200	2.5800	2.5933
18	1.692	1.457	1.473	1.5407	757.5860	1148.4320	369.3720	758.4633	2.0200	2.9000	2.9600	2.6267
20	1.611	1.633	1.556	1.6000	600.2160	809.8320	274.9500	561.6660	1.4000	2.7800	2.7000	2.2933

ตารางที่ ค-5 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. RT55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.066	0.054	0.054	0.0580	33.0880	26.7020	34.7020	31.4973	0.9600	0.9400	0.8600	0.9200
2	0.486	0.393	0.410	0.4297	194.0720	120.7380	148.5980	154.4693	1.8200	1.5600	1.6800	1.6867
4	0.580	0.564	0.640	0.5947	517.3380	437.2320	463.8640	472.8113	2.2600	2.0200	2.2800	2.1867
6	0.746	0.760	0.872	0.7927	480.8120	392.7400	613.9360	495.8293	2.5400	2.4000	2.4600	2.4667
8	0.931	0.813	0.710	0.8180	521.5140	351.3720	621.5860	498.1573	2.8600	2.6600	2.0800	2.5333
10	1.089	1.161	1.162	1.1373	406.4600	625.3740	480.3900	504.0747	2.0000	2.4200	3.4400	2.6200
12	1.265	1.329	1.576	1.3900	430.0020	405.0200	680.9840	505.3353	2.9400	2.6400	2.3000	2.6267
14	1.553	1.491	1.805	1.6163	572.5300	437.4760	540.2860	516.764	2.2000	2.2200	2.1800	2.2000
16	1.641	1.612	1.815	1.6893	400.6000	437.6180	720.5680	519.5953	2.0400	2.5600	2.2600	2.2867
18	1.705	1.713	1.711	1.7097	274.1780	353.8280	420.7760	349.5940	2.5200	2.8400	2.8200	2.7267
20	1.664	1.653	1.785	1.7007	385.8980	395.5120	379.8980	387.1027	2.6600	3.0600	2.7600	2.8267

ตารางที่ ค-6 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. M55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.036	0.033	0.030	0.0330	37.0880	35.4740	37.4740	36.6787	0.5600	1.4600	2.1000	1.3733
2	0.218	0.263	0.216	0.2323	44.3860	45.0880	33.0880	40.8540	1.2000	1.5800	1.7200	1.5000
4	0.484	0.480	0.445	0.4697	303.3360	350.4940	335.3360	329.722	1.6800	1.7200	1.2400	1.5467
6	0.691	0.649	0.551	0.6303	412.3540	254.7380	332.3880	333.1600	1.9000	1.9400	1.7200	1.8533
8	0.822	0.686	0.682	0.7300	546.7760	335.7920	328.2480	403.6053	2.0000	1.7000	0.6200	1.4400
10	1.026	0.796	0.815	0.8790	486.4940	347.4760	387.5460	405.8387	2.0200	1.9000	0.8400	1.5867
12	1.525	1.053	1.055	1.2110	490.2840	411.7220	337.7920	413.2660	2.0800	2.0600	1.8600	2.0000
14	1.617	1.230	1.099	1.3153	612.7060	298.7740	391.9680	434.4827	1.9600	1.7400	1.7200	1.8067
16	1.388	1.283	1.300	1.3237	655.5840	810.7080	508.9160	658.4027	2.1800	2.1400	1.5200	1.9467
18	1.704	0.961	1.243	1.3027	696.1120	380.0740	470.1100	515.4320	2.5600	3.0200	1.2200	2.2667
20	1.818	0.956	1.299	1.3577	916.8160	206.7740	294.3540	472.6480	2.0000	2.7200	1.3000	2.0067

ตารางที่ ค-7 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. KP55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.023	0.033	0.024	0.0267	18.7020	11.1580	10.7720	13.5440	0.9800	1.0400	1.6400	1.2200
2	0.155	0.110	0.146	0.1370	88.8780	44.2460	50.2460	61.1233	1.0400	1.3000	1.7200	1.3533
4	0.139	0.157	0.123	0.1397	157.0540	144.6680	121.1940	140.9720	1.2600	0.1600	1.6000	1.0067
6	0.405	0.613	0.612	0.5433	101.8960	224.0720	238.1080	188.0253	1.3600	1.2000	0.8800	1.1467
8	0.713	0.748	0.983	0.8147	163.0540	218.2140	244.4580	208.5753	2.2600	1.8200	2.2400	2.1067
10	0.677	0.787	1.156	0.8733	227.6160	257.1600	219.7220	234.8327	1.7600	1.9000	2.1000	1.9200
12	0.742	1.259	1.427	1.1427	217.0880	199.0540	305.4060	240.5160	1.7600	2.2400	2.2800	2.0933
14	0.656	1.256	1.664	1.1920	135.4740	145.5800	509.6900	263.5813	1.5800	1.4400	1.7600	1.5933
16	1.195	1.508	1.551	1.4180	324.8800	169.8960	303.8620	266.2127	2.5800	2.0200	2.7400	2.4467
18	1.323	1.339	1.535	1.3990	416.2500	131.2640	249.2300	265.5813	2.2800	1.9200	2.6800	2.2933
20	1.462	1.445	1.406	1.4377	146.1420	113.5100	138.5980	132.7500	2.4400	1.6000	2.7000	2.2467

ตารางที่ ค-8 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. TK55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.042	0.045	0.040	0.0423	9.5440	20.7020	15.9300	15.3920	1.1600	1.0800	1.1600	1.1333
2	0.218	0.195	0.254	0.2223	51.4740	54.1760	48.6320	51.4273	1.6400	1.8200	1.5600	1.6733
4	0.454	0.480	0.523	0.4857	173.6860	222.7040	196.3880	197.5927	1.8800	1.9200	1.9000	1.9000
6	0.686	0.773	0.665	0.7080	253.4760	412.9160	350.2840	338.8920	2.0400	1.9800	0.9400	1.6533
8	0.797	0.732	0.853	0.7940	270.7740	610.8480	456.3540	445.9920	1.9400	1.8600	1.9200	1.9067
10	1.036	1.203	1.098	1.1123	455.4780	631.2340	435.5480	507.4200	1.6600	1.7200	1.5600	1.6467
12	1.264	1.445	1.324	1.3443	533.6180	746.4280	400.9160	560.3207	0.7800	2.2800	1.2200	1.4267
14	1.631	1.709	1.581	1.6403	704.5320	871.5160	725.6900	767.2460	2.1000	2.2400	0.7200	1.6867
16	1.752	1.829	1.752	1.7777	733.6200	1082.7460	693.3740	836.5800	2.4200	2.6200	2.7200	2.5867
18	1.768	1.821	1.887	1.8253	685.2340	643.3740	760.1120	696.2400	2.4600	2.6600	2.5400	2.5533
20	1.788	1.859	1.901	1.8493	446.1440	746.6380	414.6700	535.8173	2.9800	2.6800	3.0800	2.9133

ตารางที่ ค-9 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. TP55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.033	0.037	0.032	0.0340	21.1580	41.4740	26.3160	29.6493	0.8600	0.8400	0.8600	0.8533
2	0.211	0.172	0.169	0.1840	96.8780	81.7200	82.4920	87.0300	1.8800	1.5400	1.8600	1.7600
4	0.545	0.615	0.545	0.5683	280.6340	394.6000	225.6160	300.2833	1.7600	1.7400	1.7400	1.7467
6	0.758	1.002	0.725	0.8283	321.7220	525.8640	430.9860	426.1907	2.1200	2.0200	2.200	2.1133
8	0.763	1.195	1.414	1.1240	350.0380	429.8280	842.0420	540.6360	1.9600	1.8000	1.8000	1.8533
10	0.536	1.342	1.342	1.0733	419.5120	423.0200	875.3420	572.6247	1.9000	2.3000	2.0600	2.0867
12	0.526	1.635	1.336	1.1657	612.0060	377.3020	1196.0480	728.4520	1.8000	2.7800	2.1000	2.2267
14	1.129	1.773	1.367	1.4230	762.6740	1576.3680	533.7600	957.6007	1.9600	0.8400	2.1800	1.6600
16	1.356	1.824	1.414	1.5313	800.2180	1698.7900	829.8680	1109.6253	2.2000	2.0200	2.7400	2.3200
18	1.343	1.740	1.451	1.5113	678.0060	770.7440	798.2880	749.0127	2.5800	2.7200	2.6600	2.6533
20	1.323	1.745	1.443	1.5037	548.3200	439.0200	458.9500	482.0967	2.4400	3.2600	2.7000	2.8000

ตารางที่ ค-10 แสดงระยะการเจริญของสาหร่าย *Oscillatoria* sp. PT55

เวลา (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (560 นาเมตร)				ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (มิลลิกรัมต่อลิตร)				ปริมาณน้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.010	0.025	0.013	0.0160	8.7720	43.8600	27.5440	26.7253	1.2400	1.1400	0.8600	1.0800
2	0.208	0.264	0.201	0.2243	94.4920	75.3340	20.7020	63.5093	1.6400	1.6600	1.7200	1.6733
4	0.442	0.483	0.382	0.4357	210.4580	260.7740	62.9480	178.0600	1.6400	1.6000	1.6400	1.6267
6	0.598	0.704	0.573	0.6250	196.1420	221.7560	216.5980	211.4987	1.8600	1.9400	1.8600	1.8867
8	0.630	0.832	0.676	0.7127	245.7900	196.0360	278.3880	240.0713	1.8000	1.6800	1.6000	1.6933
10	0.842	0.709	1.294	0.9483	470.4260	272.2820	445.5480	396.0853	1.9200	1.5000	1.4200	1.6133
12	0.993	1.183	0.935	1.0370	430.6700	348.6700	438.1100	405.8167	1.9800	2.3200	1.9400	2.0800
14	1.210	1.397	0.931	1.1793	576.1760	329.2660	363.6880	423.0433	2.0000	2.0800	2.2800	2.1200
16	1.223	1.442	0.942	1.2023	448.7760	351.1960	483.3020	427.7580	1.8600	2.1800	2.0800	2.0400
18	1.263	1.436	0.931	1.2100	476.3200	443.0920	447.6180	455.6767	3.0400	2.4400	2.1000	2.5267
20	1.225	1.446	0.833	1.1680	469.4780	496.8120	381.5120	449.2673	2.1000	2.2400	2.5600	2.3000

2.2. ผลการทดลองสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ตารางที่ ค-11 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยเส้นสายจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

รหัสสาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp.				ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	Control (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	
AG55	-	14.0000	15.6667	14.6667	14.7778
V55	-	24.0000	25.0000	25.6667	24.8889
SP55	-	25.0000	24.0000	21.6667	23.5556
RT55	-	19.0000	18.3333	18.6667	18.6667
M55	-	22.6667	22.0000	22.0000	22.2222
KP55	-	25.0000	27.3333	26.3333	26.2222
TK55	-	-	-	-	-
TP55	-	21.0000	22.3333	19.6667	21.0000
PT55	-	-	-	-	-

ตารางที่ ค-13 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

รหัสสาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp.				ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	Control (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	
AG55	-	9.287	12.6667	8.719	
V55	9.6667	14.6667	16.3333	16.0000	
SP55	-	11.6667	11.3530	12.9800	
RT55	13.8333	14.3333	14.3333	13.3333	14.1111
M55	-	22.3333	20.3333	20.3333	21.0000
KP55	-	18.0000	18.6667	17.3333	18.0000
TK55	-	-	-	-	-
TP55	-	8.6713	7.8947	8.5133	8.3598
PT55	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-15 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 1 จำนวน 9 สายพันธุ์

รหัสสาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp.				ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	Control (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	
AG55	-	13.0000	13.0000	13.0000	13.0000
V55	-	14.0000	14.0000	18.0000	15.3333
SP55	-	11.0000	14.0000	10.0000	11.6667
RT55	-	8.0000	17.0000	16.0000	13.6667
M55	-	18.0000	22.0000	21.0000	20.3333
KP55	-	11.0000	14.0000	13.0000	12.6667
TK55	-	-	-	-	-
TP55	-	10.0000	11.0000	10.0000	10.3333
PT55	-	-	-	-	-

ตารางที่ ค-16 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 0.8 จำนวน 9 สายพันธุ์

รหัสสาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp.				ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	Control (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	
AG55	-	-	-	-	-
V55	-	16.0000	12.0000	17.0000	15.0000
SP55	-	8.0000	7.0000	9.0000	8.0000
RT55	-	10.0000	11.0000	11.0000	10.6667
M55	-	16.0000	17.0000	15.0000	16.0000
KP55	-	10.0000	16.0000	17.0000	14.3333
TK55	-	-	-	-	-
TP55	-	-	-	-	-
PT55	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค-17 แสดงขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ที่ความเข้มข้น 0.6 จำนวน 9 สายพันธุ์

รหัสสาหร่าย	ขนาดโซนใสของเชื้อรา *Alternaria* sp.				ค่าเฉลี่ย (มิลลิเมตร)
	Control (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 1 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 2 (มิลลิเมตร)	ซ้ำที่ 3 (มิลลิเมตร)	
AG55	-	-	-	-	-
V55	-	-	-	-	-
SP55	-	-	-	-	-
RT55	-	-	-	-	-
M55	-	11.0000	9.0000	13.0000	11.0000
KP55	-	-	-	-	-
TK55	-	-	-	-	-
TP55	-	-	-	-	-
PT55	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ ง-1 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

ค่าOD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=AG55	3	1.7983	.00643	.00371	1.7824	1.8143	1.79	1.80
=V55	3	1.8813	.17654	.10193	1.4428	2.3199	1.77	2.09
=SP55	3	1.6270	.06820	.03937	1.4576	1.7964	1.56	1.69
=RT55	3	1.7443	.06133	.03541	1.5920	1.8967	1.71	1.82
=M55	3	1.4670	.30409	.17557	.7116	2.2224	1.28	1.82
=KP55	3	1.5447	.10587	.06113	1.2817	1.8077	1.46	1.66
=TK55	3	1.8493	.05712	.03298	1.7074	1.9912	1.79	1.90
=TP55	3	1.5437	.24738	.14282	.9291	2.1582	1.36	1.82
=PT55	3	1.3343	.09794	.05655	1.0910	1.5776	1.26	1.45
Total	27	1.6433	.22137	.04260	1.5558	1.7309	1.26	2.09

ตารางที่ ง-2 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

ค่าOD

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		.839	8	.105	4.345	.005
	Linear Term	Contrast	.344	1	.344	14.255	.001
		Deviation	.495	7	.071	2.929	.031
Within Groups			.435	18	.024		
Total			1.274	26			

ตารางที่ ง-3 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตรของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
=PT55	3	1.3343			
=M55	3	1.4670	1.4670		
=TP55	3	1.5437	1.5437	1.5437	
=KP55	3	1.5447	1.5447	1.5447	
=SP55	3	1.6270	1.6270	1.6270	1.6270
=RT55	3		1.7443	1.7443	1.7443
=AG55	3			1.7983	1.7983
=TK55	3				1.8493
=V55	3				1.8813
Sig.		.051	.063	.086	.086

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-4 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=AG55	3	1204.9020	136.96498	79.07677	864.6621	1545.1419	1083.24	1353.24
=V55	3	1339.4527	205.04183	118.38096	830.1005	1848.8048	1190.01	1573.21
=SP55	3	561.6660	269.51673	155.60555	-107.8507	1231.1827	274.95	809.83
=RT55	3	387.1027	7.87640	4.54744	367.5366	406.6687	379.90	395.51
=M55	3	472.6480	387.14529	223.51844	-489.0742	1434.3702	206.77	916.82
=KP55	3	132.7500	17.08395	9.86342	90.3111	175.1889	113.51	146.14
=TK55	3	535.8173	183.25302	105.80118	80.5916	991.0431	414.67	746.64
=TP55	3	482.0967	58.21038	33.60778	337.4941	626.6993	439.02	548.32
=PT55	3	449.2673	60.24845	34.78446	299.6019	598.9328	381.51	496.81
Total	27	618.4114	408.73729	78.66153	456.7203	780.1025	113.51	1573.21

ตารางที่ ง-5 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		3695168.006	8	461896.001	12.820	.000
	Linear Term	Contrast	1740887.455	1	1740887.455	48.317	.000
		Deviation	1954280.551	7	279182.936	7.748	.000
Within Groups			648552.378	18	36030.688		
Total			4343720.384	26			

ตารางที่ ง-6 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของปริมาณคลอโรฟิลล์ของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
=KP55	3	132.7500		
=RT55	3	387.1027	387.1027	
=PT55	3	449.2673	449.2673	
=M55	3	472.6480	472.6480	
=TP55	3	482.0967	482.0967	
=TK55	3		535.8173	
=SP55	3		561.6660	
=AG55	3			1204.9020
=V55	3			1339.4527
Sig.		.056	.329	.397

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-7 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

ปริมาณน้ำหนักแห้ง

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=AG55	3	3.5333	.04163	.02404	3.4299	3.6368	3.50	3.58
=V55	3	3.0600	.21071	.12166	2.5366	3.5834	2.84	3.26
=SP55	3	2.8467	.14742	.08511	2.4804	3.2129	2.68	2.96
=RT55	3	3.1467	.26102	.15070	2.4982	3.7951	2.94	3.44
=M55	3	2.5600	.46000	.26558	1.4173	3.7027	2.10	3.02
=KP55	3	2.5200	.25534	.14742	1.8857	3.1543	2.24	2.74
=TK55	3	2.9133	.20817	.12019	2.3962	3.4304	2.68	3.08
=TP55	3	2.8600	.35553	.20526	1.9768	3.7432	2.58	3.26
=PT55	3	2.6800	.31749	.18330	1.8913	3.4687	2.44	3.04
Total	27	2.9022	.38070	.07327	2.7516	3.0528	2.10	3.58

ตารางที่ ง-8 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

ปริมาณน้ำหนักแห้ง

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		2.402	8	.300	3.954	.007
	Linear Term	Contrast	1.016	1	1.016	13.375	.002
		Deviation	1.386	7	.198	2.608	.048
Within Groups			1.367	18	.076		
Total			3.768	26			

ตารางที่ ง-9 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของน้ำหนักแห้งของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
=KP55	3	2.5200			
=M55	3	2.5600	2.5600		
=PT55	3	2.6800	2.6800	2.6800	
=SP55	3	2.8467	2.8467	2.8467	
=TP55	3	2.8600	2.8600	2.8600	
=TK55	3	2.9133	2.9133	2.9133	
=V55	3		3.0600	3.0600	3.0600
=RT55	3			3.1467	3.1467
=AG55	3				3.5333
Sig.		.137	.062	.080	.060

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-10 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสเส้นสายของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

ขนาดโซนใสของเส้นสายสาหร่าย

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=AG55	3	14.7800	.84042	.48521	12.6923	16.8677	14.00	15.67
=V55	3	6.3333	1.76132	1.01690	1.9580	10.7087	5.00	8.33
=SP55	3	20.2233	4.67115	2.69689	8.6196	31.8271	15.00	24.00
=RT55	3	18.6667	.33501	.19342	17.8344	19.4989	18.33	19.00
=M55	3	22.2233	.38682	.22333	21.2624	23.1843	22.00	22.67
=KP55	3	26.2200	1.16889	.67486	23.3163	29.1237	25.00	27.33
=TP55	3	21.0000	1.33000	.76788	17.6961	24.3039	19.67	22.33
Total	21	18.4924	6.29196	1.37302	15.6283	21.3564	5.00	27.33

ตารางที่ ง-11 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสเส้นสายของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

ขนาดโซนใสของเส้นสายสาหร่าย

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
Between Groups	(Combined)		733.725	6	122.288	29.492	.000
	Linear Term	Contrast	58.317	1	58.317	14.064	.002
		Deviation	675.408	5	135.082	32.578	.000
Within Groups			58.050	14	4.146		
Total			791.776	20			

ตารางที่ ง-12 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสเส้นสายของสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
=V55	3	6.3333			
=AG55	3		14.7800		
=RT55	3			18.6667	
=SP55	3			20.2233	
=TP55	3			21.0000	
=M55	3			22.2233	
=KP55	3				26.2200
Sig.		1.000	1.000	.067	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-13 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

ขนาดของโซนใส

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=AG55	3	10.2242	2.13422	1.23219	4.9225	15.5259	8.72	12.67
=V55	3	15.6667	.88160	.50899	13.4766	17.8567	14.67	16.33
=SP55	3	11.9999	.86316	.49835	9.8557	14.1441	11.35	12.98
=RT55	3	13.9997	.57735	.33333	12.5654	15.4339	13.33	14.33
=M55	3	20.9967	1.15470	.66667	18.1282	23.8651	20.33	22.33
=KP55	3	18.0000	.67000	.38682	16.3356	19.6644	17.33	18.67
=TP55	3	8.3598	.41043	.23696	7.3402	9.3793	7.89	8.67
Total	21	14.1781	4.29800	.93790	12.2217	16.1346	7.89	22.33

ตารางที่ ง-14 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

ความกว้างของโซนใส

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		352.734	6	58.789	49.218	.000
	Linear Term	Contrast	6.978	1	6.978	5.842	.030
		Deviation	345.756	5	69.151	57.894	.000
Within Groups			16.722	14	1.194		
Total			369.457	20			

ตารางที่ ง-15 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของขนาดโซนใสของสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่าย	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
=TP55	3	8.3598				
=AG55	3	10.2242	10.2242			
=SP55	3		11.9999			
=RT55	3			13.9997		
=V55	3			15.6667		
=KP55	3				18.0000	
=M55	3					20.9967
Sig.		.055	.067	.083	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ง-16 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ทุกความเข้มข้น จำนวน 9 สายพันธุ์

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
=M55ความเข้มข้น1	3	20.3333	2.08167	1.20185	15.1622	25.5045	18.00	22.00
=M55ความเข้มข้น0.8	3	16.0000	1.00000	.57735	13.5159	18.4841	15.00	17.00
=M55ความเข้มข้น0.6	3	11.0000	2.00000	1.15470	6.0317	15.9683	9.00	13.00
=KP55ความเข้มข้น1	3	12.6667	1.52753	.88192	8.8721	16.4612	11.00	14.00
=KP55ความเข้มข้น0.8	3	14.3333	3.78594	2.18581	4.9285	23.7381	10.00	17.00
=V55ความเข้มข้น1	3	15.3333	2.30940	1.33333	9.5965	21.0702	14.00	18.00
=V55ความเข้มข้น0.8	3	15.0000	2.64575	1.52753	8.4276	21.5724	12.00	17.00
=RT55ความเข้มข้น1	3	13.6667	4.93288	2.84800	1.4127	25.9206	8.00	17.00
=RT55ความเข้มข้น0.8	3	10.6667	.57735	.33333	9.2324	12.1009	10.00	11.00
=SP55ความเข้มข้น1	3	11.6667	2.08167	1.20185	6.4955	16.8378	10.00	14.00
=SP55ความเข้มข้น0.8	3	8.0000	1.00000	.57735	5.5159	10.4841	7.00	9.00
=AG55ความเข้มข้น1	3	13.0000	.00000	.00000	13.0000	13.0000	13.00	13.00
=TP55ความเข้มข้น1	3	10.3333	.57735	.33333	8.8991	11.7676	10.00	11.00
Total	39	13.2308	3.58698	.57438	12.0680	14.3935	7.00	22.00

ตารางที่ ง-17 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ทุกความเข้มข้น จำนวน 9 สายพันธุ์

ANOVA

			Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	(Combined)		351.590	12	29.299	5.547	.000
	Linear Term	Contrast	161.555	1	161.555	30.586	.000
		Deviation	190.035	11	17.276	3.271	.006
Within Groups			137.333	26	5.282		
Total			488.923	38			

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ตารางที่ ง-18 การวิเคราะห์ค่าทางสถิติของเชื้อรา *Alternaria* sp. ที่ถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากสาหร่าย *Oscillatoria* spp. ทุกความเข้มข้น จำนวน 9 สายพันธุ์

Duncan[a]

รหัสสาหร่ายและความเข้มข้น	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
=SP55ความเข้มข้น0.8	3	8.0000					
=TP55ความเข้มข้น1	3	10.3333	10.3333				
=RT55ความเข้มข้น0.8	3	10.6667	10.6667	10.6667			
=M55ความเข้มข้น0.6	3	11.0000	11.0000	11.0000	11.0000		
=SP55ความเข้มข้น1	3	11.6667	11.6667	11.6667	11.6667	11.6667	
=KP55ความเข้มข้น1	3		12.6667	12.6667	12.6667	12.6667	
=AG55ความเข้มข้น1	3		13.0000	13.0000	13.0000	13.0000	
=RT55ความเข้มข้น1	3		13.6667	13.6667	13.6667	13.6667	
=KP55ความเข้มข้น0.8	3		14.3333	14.3333	14.3333	14.3333	
=V55ความเข้มข้น0.8	3			15.0000	15.0000	15.0000	
=V55ความเข้มข้น1	3				15.3333	15.3333	
=M55ความเข้มข้น0.8	3					16.0000	
=M55ความเข้มข้น1	3						20.3333
Sig.		.090	.075	.055	.055	.055	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.