ว.วิทย. มข. 41(4) 973-984 (2556) KKU Sci. J. 41(4) 973-984 (2013)

ผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย, *Phormidium angustissimum* ต่อความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง

Effect of Preservation Time, Light and Temperature of Cyanobacterial Extract, *Phormidium angustissimum*, on the Inhibit Seed Germination Ability of Chinese Cabbage

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์[1*] *ศักดิ์ชัย ชูโชติ*[1] *และ ดุสิต เอื้ออำนวย*[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของระยะเวลา แสง และอุณหภูมิ ในการเก็บรักษาสารละลายที่สกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ที่มีต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบหรือเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis* Tsen & Lee) โดยเก็บรักษาสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอลไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้การได้รับแสงและไม่ได้รับแสง เป็นระยะเวลา 15 วัน นำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมาทดสอบความคงตัวในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบในวันที่ 0 1 2 3 5 7 9 11 13 และ 15 ของการเก็บรักษา พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลในทุกสภาพการเก็บรักษาสามารถยับยั้งการงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จนถึงวันที่ 11 ของการเก็บรักษาในทุกสภาวะ หลังจากนั้นประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกจะลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น สารสกัดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการงอกได้สูงกว่าเก็บในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การเก็บรักษาสารสกัดในที่มืดทำให้ความคงตัวของสารในการยับยั้งการงอกสูงกว่าการเก็บในที่สว่าง

[1]หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพ 10520

*Corresponding Author, E-mail: krsuneer@kmitl.ac.th

ABSTRACT

The effect of preservation time, light and temperature on stability of cyanobacterium; *Phormidium angustissimum* extract to inhibit the germination of bioassay seed, *Brassica chinensis* var. *parachinensis* Tsen & Lee, were studied. Cyanobacterial extracted by water and methanol were kept under different conditions; 4°C and 25°C with and without light for 0 to 15 days. The stability of cyanobacterial extracts to inhibit the germination of bioassay seed were tested at 0, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 13 and 15 days. At 0-11 days of preservation in all conditions, cyanobacterial extracted by methanol showed 100% inhibit the germination of bioassay seed. The inhibition efficiency was decreased when the preservation time increased. Cyanobacterial extracts preserve at 4 °C had more inhibitory effect on the germination than at 25°C. Keeping the cyanobacterial extracts in the dark showed higher inhibitory effect on germination compared to that under the light.

คำสำคัญ: ระยะเวลาการเก็บรักษา แสง อุณหภูมิ สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย

Keywords: Preservation time, Light, Temperature, Cyanobacterial extract

บทนำ

การสะสมของสารอันตรายในอาหารที่มนุษย์บริโภคเป็นปัญหาที่ได้รับความใส่ใจในการแก้ไขมากขึ้นในปัจจุบัน เพราะผู้บริโภคเริ่มตระหนักว่าอาหารที่มีพิษสะสมนั้นก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพในระยะยาว สำหรับผลผลิตทางด้านการเกษตรนั้น ทางออกหนึ่งในการลดการปนเปื้อนของสารพิษคือการทำเกษตรกรรมในเชิงเกษตรอินทรีย์ โดย งดเว้นการใช้สารเคมีหรือลดปริมาณการใช้สารเคมีลง และใช้สารจากธรรมชาติทดแทน เช่น ใช้สารจากธรรมชาติในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช ในการกำจัดแมลง รวมทั้งใช้กำจัดวัชพืชต่าง ๆ สำหรับด้านการกำจัดวัชพืชนั้นพบว่าไซยาโนแบคทีเรีย (cyanobacteria) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue-green algae) เป็นสิ่งมีชีวิตตามธรรมชาติกลุ่มหนึ่งที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งสามารถใช้ควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และวัชพืชต่าง ๆ ได้ดี (Gleason and Paulson, 1984; Lee and Gleason, 1994) เช่น *Oscillatoria*, *Microsystis*, *Stigonema*, *Nostoc*, *Nodularia*, *Aphanizomenon* และ *Anabaena* (Banker and Carmeli, 1998; Freeman and Pattenden, 1998; Juttner et al., 2001; Suikkanen et al., 2004; Jang et al., 2007)

ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสาร microcystins หรือ cyanobacterin ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (antibiotic) และ/หรือแอลลิโลพาธิก (allelophatic substance) คือสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่ายและพืชชั้นสูงได้ (Lee, 1995) ซึ่งสารนี้สามารถเข้าไปทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ เยื่อหุ้มไทลาคอยด์ และยับยั้งการถ่ายทอดอิเล็กตรอนในกระบวนการสังเคราะห์แสงที่ระบบแสงที่ 2 (photosystem II) (Lee and Gleason, 1994) ไซยาโนแบคทีเรียบางชนิดสร้างสารยับยั้ง protein phosphatases ในเซลล์ยูคาริโอต

(eukaryote) ซึ่งให้ผลคล้ายกับสารเคมีสำหรับกำจัดวัชพืช (Eriksson et al., 1990) คุณสมบัติต่าง ๆ เหล่านี้จึงทำให้มีแนวโน้มในการนำสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียไปใช้เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชได้

ไซยาโนแบคทีเรียเป็นสาหร่ายกลุ่มที่ได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นสารควบคุมหรือกำจัดวัชพืช เพราะไซยาโนแบคทีเรียเป็นพวกที่พบได้ในแหล่งน้ำธรรมชาติทั่วไป และจะพบเพิ่มปริมาณมากในแหล่งน้ำที่มีธาตุอาหารสูง เช่นแหล่งน้ำนิ่งที่ได้รับน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ (Zhong et al., 2011) ซึ่งเมื่อไซยาโนแบคทีเรียเพิ่มปริมาณมากจะก่อให้เกิดโทษกับสัตว์น้ำ จึงต้องหาวิธีกำจัดออกจากบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยไม่ได้มีการนำไซยาโนแบคทีเรียดังกล่าวเพื่อไปใช้ประโยชน์แต่อย่างใด ดังนั้นหากมีการนำมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดวัชพืช จะเป็นการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ตามธรรมชาติให้เกิดประโยชน์สูงสุดได้

จากการศึกษาขั้นต้นพบว่า *Phormidium angustissimum* เป็นไซยาโนแบคทีเรียที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบคือเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* var. *parachinensis*) เมล็ดข้าวพันธุ์นครศรีธรรมราช (*Oryza sativa*) และหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli*) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สุนีรัตน์ และจำรูญ, 2548, 2549) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำมาใช้เป็นสารควบคุมและกำจัดวัชพืช แต่จากการวิจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการนำสารจากธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ พบว่าสารออกฤทธิ์ทางธรรมชาติมักมีความคงตัวต่ำ โดยมีปัจจัยหลายปัจจัยที่ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ เช่น การย่อยสลายผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน แสง อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ระยะเวลาในการเก็บรักษา (Morais et al., 2002; Chang et al., 2005; Cinar, 2005) และยังพบว่าการเก็บรักษาในรูปเซลล์แห้งจะทำให้สารในเซลล์คงอยู่ได้นานกว่าการเก็บในรูปเซลล์สด (Cinar, 2004)

เห็นได้ว่าสภาพในการเก็บรักษามีผลสัมพันธ์กับความคงตัวหรือสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทดลองถึงความสามารถของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบเมื่อมีวิธีการเก็บรักษาสารสกัด ที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอลของ *P. angustissimum* ภายใต้สภาวะของแสง อุณหภูมิ และระยะเวลาที่แตกต่างกัน เพื่อหาสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสารสกัดจาก *P. angustissimum* เพื่อให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพคงอยู่ได้นานที่สุด

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยงไซยาโนแบคทีเรีย *Phormidium angustissimum* ในอาหารสูตร BG-11 (ลัดดา, 2539) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอร้อนแรงดันสูง (autoclave) และเพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แบบต่อเนื่อง 24 ชั่วโมง ความเข้มแสง 200 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยให้อากาศตลอดเวลาของการเพาะเลี้ยงเพื่อให้มีการหมุนเวียนของน้ำภายในภาชนะเพาะเลี้ยง เก็บเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียที่ระยะเวลา 14 วันของการเพาะเลี้ยง ซึ่งเป็นช่วงปลายของระยะการเจริญเติบโตเต็มที่ (late exponential phase) ล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดอาหารที่อาจติดอยู่ที่ผิวเซลล์ของไซยาโนแบคทีเรีย อบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำเซลล์อบแห้งมาบดเป็นผง และนำไปทดสอบขั้นต่อไป

2. การสกัดสารออกฤทธิ์จาก *P. angustissimum* และการทดสอบความคงตัวของสารสกัด

สกัดสารออกฤทธิ์จากเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย โดยใช้น้ำและเมทานอลเป็นตัวสกัด ที่ระดับเซลล์ไซยาโนแบคทีเรีย 50 กรัม ต่อสารสกัด 1000 มิลลิลิตร ที่ระดับอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นแยกสารสกัดใส่ในขวดแก้วใส ปิดภาชนะให้สนิท และนำมาเก็บรักษาในสภาพที่แตกต่างกันคือ เก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่าง (ความเข้มแสง 77 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที) และไม่ได้รับแสง ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงสว่าง (ความเข้มแสง 80 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที เพื่อควบคุมความเข้มแสงให้คงที่ จึงใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ โดยใช้ระดับความเข้มแสงที่เปิดในห้องปฏิบัติการตามปกติ) และไม่ได้รับแสง โดยเก็บสารสกัดไว้ในสภาพดังกล่าวเป็นเวลา 15 วัน โดยในวันที่ 0 1 2 3 5 7 9 11 13 และ 15 ของการเก็บรักษา จะมีการนำสารสกัดที่เก็บในแต่ละสภาพการเก็บรักษา มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบคือเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง เพราะเนื่องจากการศึกษาขั้นต้นสารสกัดจาก *P. angustissimum* สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบทั้งใบเลี้ยงเดี่ยว ใบเลี้ยงคู่ และหญ้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ (สุนีรัตน์และจำรูญ, 2548) งานวิจัยนี้จึงเลือกเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้งเป็นตัวแทนในการทดสอบความคงตัวของสารสกัด เพราะเป็นเมล็ดพืชที่สามารถงอกในสภาวะปกติได้ดี

โดยใส่กระดาษเพาะเมล็ดลงในเพลทแก้วและใส่สารสกัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษเพาะเมล็ด สำหรับสารสกัดด้วยเมทานอลเมื่อใส่ลงบนกระดาษแล้ว รอจนเมทานอลระเหยออกจากกระดาษคงเหลือแต่สารสกัดแห้งบนกระดาษ (ประมาณ 7-10 นาที) จากนั้นเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ลงไปแทน จะได้ความชื้นที่พอดีต่อการงอกของเมล็ดพืช ใส่เมล็ดพืชทดสอบลงบนกระดาษทดสอบ ปิดฝาเพลทแก้ว และนำไปวางบริเวณที่ได้รับแสง (ประมาณ 80 ไมโครโมลโฟตอนต่อตารางเมตรต่อวินาที) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในชุดควบคุมจะใช้น้ำกลั่นแทนสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย โดยทดสอบ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 20 เมล็ด

หลังจากนั้น 7 วัน ทำการตรวจเช็คการงอก (โดยกำหนดให้เมล็ดพืชที่มีการเจริญเติบโตของรากเกิน 0.2 เซ็นติเมตร เป็นเมล็ดที่งอก) การเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยการวัดความยาวรากและความยาวต้น (ช่วงรอยต่อระหว่างรากไปจนถึงลำต้นก่อนที่จะแยกเป็นก้านใบ) เพื่อเปรียบเทียบการออกฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งการงอกในแต่ละสภาพการเก็บรักษา ที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

1. ผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง

เมื่อนำไซยาโนแบคทีเรีย *P. angustissimum* มาสกัดด้วยน้ำและเมทานอล และเก็บรักษาสารสกัดไว้ภายใต้สภาวะต่างกันคือที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสง และไม่ได้รับแสง, ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง จากนั้นนำสารสกัดมาทดสอบผลการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้งที่ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างกันคือ 0-15 วัน ผลพบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการงอกได้สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำ (ตารางที่ 1 และ 2) โดยสารสกัดด้วยเมทานอลในทุกสภาพการเก็บรักษาสามารถยับยั้งการงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จนถึง

วันที่ 11 ของการเก็บรักษาสารสกัด หลังจากนั้นประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกลดลง โดยในวันที่ 15 ของการเก็บรักษาสารสกัดพบว่าประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของสารสกัดด้วยเมทานอลที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีความสามารถในการยับยั้งการงอกได้ 83±1, 92±1, 70±1 และ 73±1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยชุดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่ได้รับแสงมีค่ายับยั้งการงอกสูงที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ

สารสกัดด้วยน้ำจาก *P. angustissimum* สามารถยับยั้งการงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ จนถึงเพียงวันที่ 3 ของการเก็บรักษา และความสามารถในการยับยั้งการงอกลดลงตั้งแต่วันที่ 5 ของการเก็บรักษาและลดลง เรื่อย ๆ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ 15 วัน ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง, 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีความสามารถในการยับยั้งการงอกได้ 53±1, 56±0, 33±1 และ 48±0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยชุดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่ได้รับแสงมีค่ายับยั้งการงอกสูงที่สุดและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ

การเก็บรักษาสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลนั้นพบว่า สภาวะการเก็บรักษาสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และไม่ได้รับแสงเป็นสภาวะที่ทำให้สารสกัดออกฤทธิ์มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการเก็บรักษาภายใต้สภาวะอื่น ๆ ที่ระยะเวลาเท่ากัน โดยในทุกสภาพการเก็บรักษาสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลมีความสามารถในการยับยั้งการงอกแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม โดยชุดควบคุมมีอัตราการงอก 100 เปอร์เซ็นต์ ตลอดการทดลอง (ไม่ได้แสดงผลในตารางที่ 1 และ 2)

ตารางที่ 1 การยับยั้งการงอก (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง ที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอลจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาในสภาวะและระยะเวลาแตกต่างกัน

เวลา	4 องศาเซลเซียส		25 องศาเซลเซียส	
(วัน)	ได้รับแสง	ไม่ได้รับแสง	ได้รับแสง	ไม่ได้รับแสง
0	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
1	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
2	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
3	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
5	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
7	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
9	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
11	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
13	94±0[a]	95±0[a]	92±1[b]	92±1[b]
15	83±1[a]	92±1[b]	70±1[c]	73±1[c]

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับในแถวแนวนอนวันทดสอบเดียวกัน หากมีความแตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 การยับยั้งการงอก (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง ที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาในสภาวะและระยะเวลาแตกต่างกัน

เวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส		25 องศาเซลเซียส	
	ได้รับแสง	ไม่ได้รับแสง	ได้รับแสง	ไม่ได้รับแสง
0	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
1	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
2	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
3	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]	100±0[a]
5	92±1[a]	94±1[b]	89±1[c]	92±0[a]
7	86±2[a]	89±1[b]	83±2[c]	78±1[d]
9	67±1[a]	78±2[b]	69±2[c]	75±2[d]
11	58±1[a]	64±2[b]	53±2[c]	56±2[d]
13	55±1[a]	69±1[b]	48±1[c]	53±1[a]
15	53±1[a]	56±0[b]	33±1[c]	48±0[d]

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่กำกับในแถวแนวนอนวันทดสอบเดียวกัน หากมีความแตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดเขียวกวางตุ้ง

2.1. การยับยั้งความยาวลำต้น

สารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานานขึ้น ทำให้ยับยั้งการเจริญเติบโตของลำต้นได้ลดลง (ภาพที่ 1) สารสกัดด้วยเมทานอลทำให้ลำต้นของพืชทดสอบสั้นกว่าสารสกัดด้วยน้ำ พบว่าเมื่อเก็บรักษาสารสกัดด้วยเมทานอลไว้เป็นเวลา 15 วัน การยับยั้งความยาวของลำต้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ไม่ว่าจะเก็บสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิต่างกันหรือแสงต่างกัน ส่วนสารสกัดด้วยน้ำพบว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มทำให้ยับยั้งความยาวลำต้นได้มากกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยมีความแตกต่างกันทางสถิติ

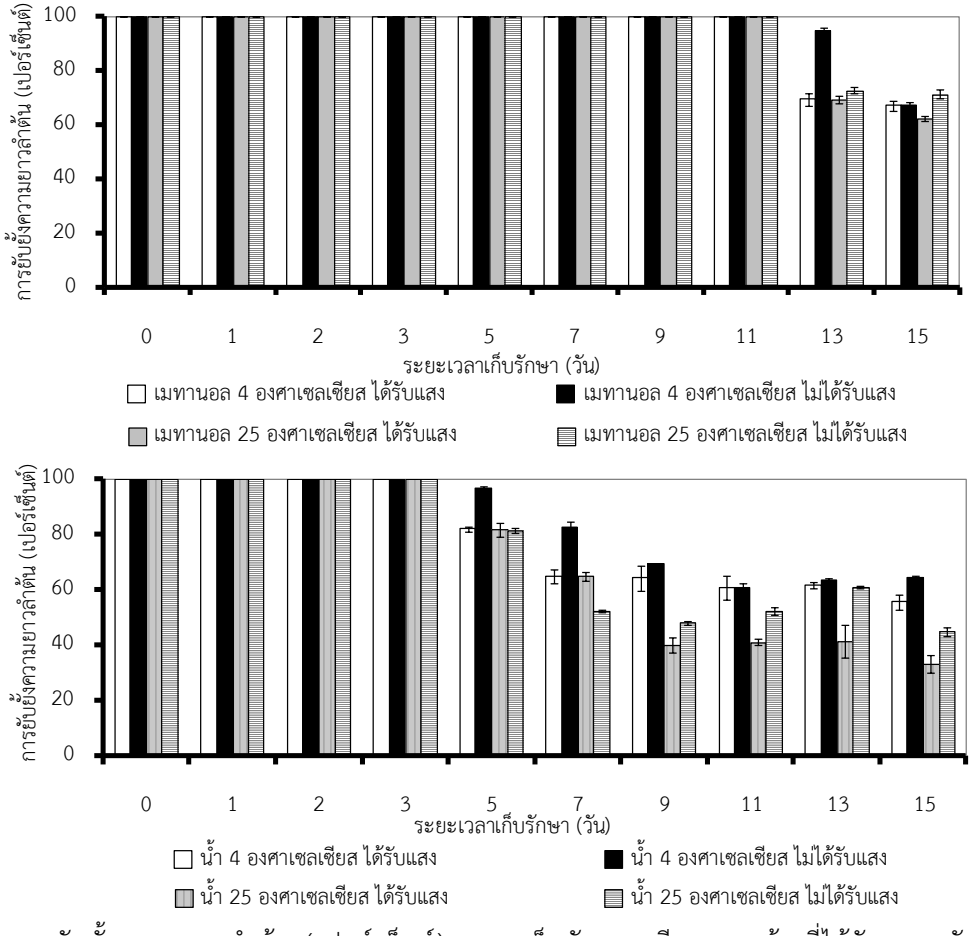
การเก็บสารสกัดไว้ 15 วัน ก่อนนำมาทดสอบกับพืชทดสอบ พบว่าผักกาดเขียวกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอล ที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง, 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นเป็น 67±2 67±1 62±1 และ 71±1 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และผักกาดเขียวกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำที่เก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง, 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวลำต้นเป็น 56±3 64±1 33±3 และ 45±2เซนติเมตร ตามลำดับ โดยค่าความยาวลำต้นของผักกาดเขียวกวางตุ้งของชุดควบคุมมีค่าอยู่ในช่วง 2.7±0.0 ถึง 2.9 ±0.2 เซนติเมตร ซึ่งความยาวลำต้นที่ทำการทดสอบการงอกทุกครั้งตั้งแต่ 0-15 วัน นั้น พบว่าค่าความยาวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

2.2. การยับยั้งความยาวราก

สารสกัดด้วยน้ำจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานานขึ้น มีผลทำให้ยับยั้งความยาวรากได้ลดลง (ภาพที่ 2) ความสามารถของสารสกัดใน

การยับยั้งความยาวของรากมีแนวโน้มเช่นเดียวกันกับความยาวต้นคือพืชทดสอบที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอลจะมีรากที่สั้นกว่าที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำ

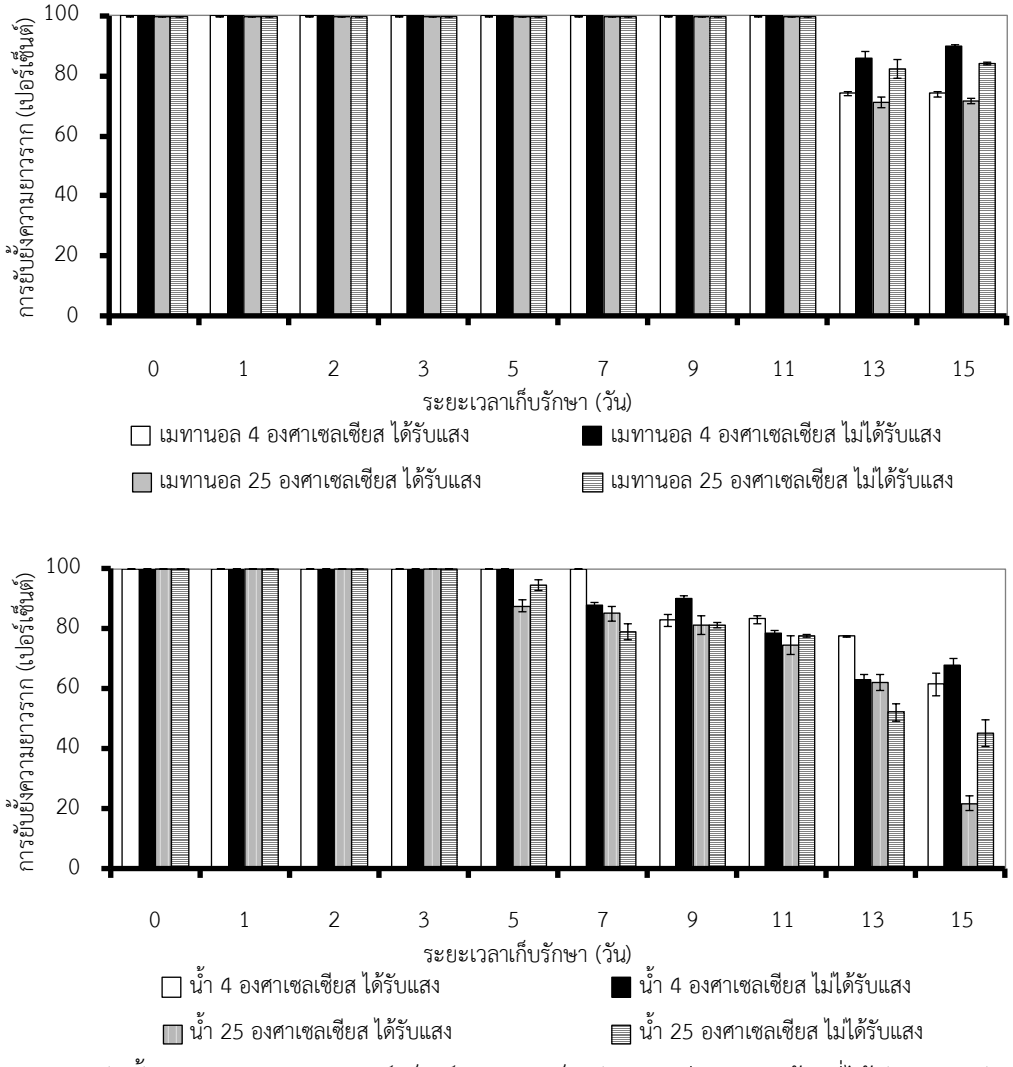
พืชทดสอบที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำมีรากพืชงอกหมดเมื่อได้รับสารในทุกสภาพการเก็บรักษาในวันที่ 9 ของการเก็บสารทดสอบ ส่วนพืชที่ได้รับสารสกัดจากเมทานอล รากจะงอกหมดเมื่อได้รับสารในทุกสภาพการเก็บรักษาในวันที่ 13 ของการเก็บสารทดสอบ โดยในวันที่ 15 พืชที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอล ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง, 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากเป็น 74±1 90±1 72±1 และ 84±0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และพืชทดสอบที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำจากสภาพการเก็บรักษาคือ ที่สภาวะ 4 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง, 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสงและไม่ได้รับแสง มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวรากเป็น 62±4 68±2 22±3 และ 40±4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยค่าความยาวรากของชุดควบคุมมีค่าอยู่ในช่วง 3.2±0.0 ถึง 3.5±0.2 เซนติเมตร ซึ่งความยาวรากที่ทำการทดสอบการงอกทุกครั้งตั้งแต่ 0-15 วัน นั้น พบว่าค่าความยาวไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกครั้งที่ทำการทดสอบ



รูปที่ 1 การยับยั้งความยาวลำต้น (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง ที่ได้รับสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาในสภาวะและระยะเวลาแตกต่าง

วิจารณ์การวิจัย

สารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต ลดปริมาณคลอโรฟิลล์ ลดประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงและเปลี่ยนองค์ประกอบของรงควัตถุในพืช (Casanova et al., 1999; Weiss et al., 2000; Pflugmacher, 2002) ลดความยาวของราก ลดน้ำหนักแห้ง ลดการดูดซับสารอาหารและการใช้ออกซิเจนของพืช (Yamasaki, 1993) ซึ่งหากมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการกำจัดวัชพืชจะมีความปลอดภัยและการตกค้างน้อยกว่าการใช้สารเคมี (Hong et al., 2004) แต่ปัญหาที่เกิดคือสารสกัดจากธรรมชาติมีความคงตัวน้อย เสื่อมสลายตัวง่าย (Chang et al., 2005; Cinar, 2005) จึงควรหาวิธีในการเก็บสารให้มีความคงตัวได้นาน



รูปที่ 2 การยับยั้งความยาวราก (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดผักกาดเขียวกวางตุ้ง ที่ได้รับสารสกัดจาก *P. angustissimum* ที่เก็บรักษาในสภาวะและระยะเวลาแตกต่าง

จากการศึกษาผลของระยะเวลา แสงและอุณหภูมิต่อความคงตัวของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย *P. angustissimum* ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ พบว่าระยะเวลา อุณหภูมิ และแสงมีผลที่ชัดเจนในการลดความคงตัวของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรีย โดยพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบจะลดลง โดยสารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ลดลงเร็วกว่าสารสกัดด้วยเมทานอล หากต้องการเก็บรักษาสารสกัดด้วยน้ำไว้ใช้ในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบให้ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บไว้ได้เพียง 3 วัน ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลสามารถเก็บไว้ได้ 11 วัน ซึ่งหากเก็บไว้ในสภาวะไม่มีแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะทำให้สารสกัดเสื่อมประสิทธิภาพช้าที่สุด

สารสกัดด้วยเมทานอลมีความคงตัวมากกว่าสารสกัดด้วยน้ำ ทั้งนี้เนื่องมาจากในสารสกัดด้วยน้ำนั้นเป็นสภาวะที่สิ่งมีชีวิตชนิดอื่น เช่นจุลินทรีย์เจือปนและสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ซึ่งสิ่งมีชีวิตเหล่านั้นย่อยสลายสารที่มีอยู่ในน้ำ ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ละลายอยู่ในน้ำเร็วขึ้น ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลนั้นอยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตชนิดอื่น จึงไม่ถูกย่อยสลายทำให้มีการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ช้ากว่า ดังเช่นรายงานของ Gleason and Paulson (1984) และ Windust et al. (1997) ซึ่งรายงานว่าความสามารถในการยับยั้งการงอกของสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียลดลงจากการเสื่อมของสารเนื่องจากการทำลายของแบคทีเรีย

สำหรับปัจจัยเรื่องแสงพบว่าเมื่อเก็บสารสกัดจากไซยาโนแบคทีเรียด้วยน้ำและเมทานอล ที่สิ้นสุดการทดลอง สารสกัดที่เก็บในที่ไม่มีแสงมีฤทธิ์ยับยั้งการงอก ยับยั้งการเจริญของรากและลำต้นได้สูงกว่าสารสกัดที่เก็บในที่มีแสง ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ Gouveia and Empis (2003) รายงานว่าแสงนั้นมีผลต่อความคงตัวของสารที่สร้างขึ้นตามธรรมชาติภายในเซลล์สาหร่าย โดยการเก็บรักษาเซลล์ของสาหร่าย *Chlorella vulgaris* และ *Haematococcus pluvialis* ไว้ที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด จะทำให้มีความคงตัวของสารสีแคโรทีนอยด์ในเซลล์สาหร่ายนานกว่าพวกที่เก็บในที่สว่าง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Ochoa et al. (2001) ซึ่งรายงานว่าการเก็บ raspberry, sour cherry และ sweet cherry ในภาชนะแก้ว และได้รับแสงทำให้ความปริมาณรงควัตถุลดลงมากกว่าการเก็บตัวอย่างในที่มืด

สำหรับปัจจัยเรื่องอุณหภูมิในการเก็บรักษาสารสกัดในการทดลองครั้งนี้พบว่าแนวโน้มการเก็บรักษาสารสกัดด้วยน้ำและเมทานอลไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ทำให้มีการเสื่อมของฤทธิ์ในการยับยั้งการงอก ความยาวรากและความยาวลำต้น น้อยกว่า การเก็บสารสกัดไว้ที่ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาเรื่องความคงตัวของสารจากธรรมชาติในหลายรายงาน เช่น ความคงตัวของสารสีแคโรทีนอยด์ในมันเทศที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส จะคงตัวอยู่ได้นานถึง 120 วัน ซึ่งมากกว่าการเก็บที่ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งคงตัวได้เพียง 34 วัน (Cinar, 2005) เช่นเดียวกับการเก็บรักษา เปลือกส้ม มันเทศ และแครอท ซึ่งพบว่าการเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส จะทำให้สารสีแคโรทีนอยด์คงตัวอยู่ได้ดีกว่าที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียส (Cinar, 2004) นอกจากนี้การเก็บรักษา anthocyanin จากเปลือกองุ่น (Morais et al., 2002) และสาร phenolic จากผล hawthorn (Chang et al., 2005) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะทำให้มีความคงตัวได้ดีกว่าที่ 25 และ 40 องศาเซลเซียส

จากการศึกษาการเก็บรักษาสารสกัดจาก *P. angustissimum* พบว่าสารสกัดด้วยน้ำมีความสามารถ

ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบได้ 100 เปอร์เซ็นต์ 3 วัน หลังการเก็บรักษาที่ทุกสภาวะ ซึ่งหากเป็นการเก็บไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ไว้ในรูปของเซลล์แห้งที่สภาวะเช่นเดียวกันกับสารสกัดนี้ พบว่าแม้เก็บไว้เป็นเวลานานถึง 180 วัน เมื่อนำเซลล์ไซยาโนแบคทีเรียมาสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยน้ำ และนำไปยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ พบว่ายังคงมีความสามารถในการยับยั้งการงอกได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (สุนีรัตน์และจำรูญ, 2549) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาในรูปสารสกัดมีความคงตัวน้อยกว่าการเก็บรักษาในรูปของเซลล์อบแห้ง เนื่องจากเซลล์อบแห้งมีความสามารถในการป้องกันการ oxidation ของเซลล์ได้เองตามธรรมชาติ (Gouveia and Empis, 2003) ดังนั้นในการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียเพื่อเป็นสารกำจัดวัชพืช จึงควรเก็บรักษาไซยาโนแบคทีเรียไว้ในรูปเซลล์แห้ง เมื่อต้องการนำมาใช้จึงนำมาแช่น้ำ และนำไปใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชจะให้ฤทธิ์ในการยับยั้งที่ดี โดยควรใช้ภายในไม่เกิน 3 วัน หลังการสกัด

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการเก็บรักษาสารสกัดจาก *P. angustissimum* เพื่อหาสภาวะและระยะเวลาการเก็บที่เหมาะสมในการเก็บสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้คงตัวอยู่ได้นานที่สุด พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีความคงตัวมากกว่าสารสกัดด้วยน้ำในทุกสภาวะการเก็บรักษา และการเก็บรักษาสารสกัดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด จะทำให้มีความคงตัวดีที่สุด โดยไม่ควรเก็บรักษาสารสกัดไว้นาน เพราะสารจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของพืชลดลง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากหลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง

ลัดดา วงศ์รัตน์. (2539). คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ หน้า 103-105.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. (2548). ผลของสารสกัดจากสาหร่ายต่อการงอกของพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 36: 978-981.

สุนีรัตน์ เรืองสมบูรณ์ และ จำรูญ เล้าสินวัฒนา. (2549). ผลของแสงและอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ *Phormidium angustissimum* ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชทดสอบ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 37: 925-928.

Banker, R. and Carmeli, S. (1998). Tenuecyclamides A-D, cyclic hexapeptides from the cyanobacterium *Nostoc spongiaeforme* var. *tenue*. Journal of Natural Products 61: 1248-1251.

Casanova, M.T., Burch, M.D., Brock, M.A. and Bond, P.M. (1999). Does toxic *Microcystis aeruginosa* affect aquatic plant establishment?. Environmental Toxicology 14: 97-109.

Chang, Q., Zuo, Z., Chow, M.S.S. and Ho, W.K.K. (2005). Effect of storage temperature on phenolics stability in hawthorn (*Crataegus pinnatifida* var. major) fruits and a hawthorn drink. Food Chemistry 38: 91-98.

Cinar, I. (2004). Carotenoid pigment loss of freeze-dried plant samples under different storage condition. Lebensmittel-Wissenschaft Und-

Technologie-Food Science and Technology 37: 363-367.

Cinar, I. (2005). Stability studies on the enzyme extracted sweet potato carotenoproteins. Food Chemistry 89: 397-401.

Eriksson, J.E., Toivola, D., Meriluoto, J.A.O., Karaki, H., Han, Y.G. and Hartshorne, D. (1990). Hepatocyte deformation induced by cyanobacterial toxins reflects inhibition of protein phosphatases. Biochemical and Biophysical Research Communications 173: 1347-1353.

Freeman, D.J. and Pattenden, G. (1998). Total synthesis and assignment of stereochemistry of raocyclamide cyclopeptides from cyanobacterium *Oscillatoria raoi*. Tetrahedron Letters 39: 3251-3254.

Gleason, F.K. and Paulson, J.L. (1984). Site of action of the natural algicide, cyanobacterin, in the blue-green alga, *Synechococcus* sp. Archieve Microbiology 138: 273-277.

Gouveia, L. and Empis, J. (2003). Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed:effect of storage conditions. Innovative Food Science and Emerging Technologies 4: 227-233.

Hong, N.H., Xuan, T.D., Tsuzuki, E., Terao, H., Matsuo, M. and Khanh, T.D. (2004). Weed control of four higher plant species in paddy rice fields in Southeast Asia. Journal of Agronomy and Crop Science 190: 59-64.

Jang, M.H., Ha, K. and Takamura, N. (2007). Reciprocal allelopathic responses between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*). Toxicon 49: 727-733.

Juttner, F., Todorova, A.K., Walch, N. and Philipsborn, W. (2001). Nostocyclamide M: a cyanobacterial cyclic peptide with allelopathic activity from *Nostoc* 31. Phytochemistry 57: 613-619.

Lee, J.E.S. and Gleason, F.K. (1994). A second algicidal natural product from the cyanobacterium, *Scytonema hofmanni*. Plant Science 103: 155-160.

Lee, R.E. (1995). Phycology. New York: Cambridge University Press. 645 p.

Morais, H., Ramos, C., Forgacs, E., Cserhati, T. and Oliviera, J. (2002). Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography B 770: 297-301.

Ochoa, M.R., Kesseler, A.G., Michelis, A.D. Mugridge, A. and Chaves, A.R. (2001). Kinetics of colour change of raspberry, sweet (*Prunus avium*) and sour (*Prunus cerasus*) cherries preserves packed in glass containers:light and room temperature effects. Journal of Food Engineering 49: 55-62.

Pflugmacher, S. (2002) Possible allelopathic effects of cyanobtoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. Environmental Toxicology 17: 407-413.

Suikkanen, S., Fistarol, G.O. and Graneli, E. (2004). Allelopathic effects of the Baltic cyanobacteria *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena lemmermannii* on algal monocultures. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 308: 85-101.

Weiss, J., Liebert, H.P. and Braune, W. (2000). Influence of microcystin-RR on growth and photosynthetic capacity of the duckweed *Lemna minor* L. Journal of Applied Botany-Angewandte Botanik 74: 100-105.

Windust, A.J., Quilliam, M.A., Wright, J.L.C. and McLachlan, J.L. (1997). Comparative toxicity of the diarrhetic shellfish poisons, okadaic acid, okadaic acid diol-ester and dinophysistoxin-4, to the diatom *Thalassiosira weissflogii*. Toxicon 35: 1591-1603.

Yamasaki, S. (1993). Probable effects of algal bloom on the growth of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. Ex. Steudel. Journal of Plant Research 106: 113-120.

Zhong, F., Gao, Y., Yu, T., Zhang, Y., Xu, D., Xiao, E., He, F., Zhou, Q. and Wu, Z. (2011). The management of undesirable cyanobacteria blooms in channel catfish ponds using a constructed wetland:Contribution to the control of off-flavor occurrences. Water Research 45: 6479-6488.

❑❑❑❑❑