



การศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

Study on Preservation Techniques of Cyanobacteria

ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุริยจิต กัลยกร ไปรงจันทิก

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา

สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้และมีเฮเทอโรซิสต์จำนวน 8 สกุล คือ *Anabaena* sp.(DASH01101), *Calothrix* sp.(DASH02101), *Cylindrospermum* sp.(DASH03101), *Hapalosiphon* sp.(DASH05102), *Nostoc* sp.(DASH06101), *Scytonema* sp.(DASH07103), *Tolypothrix* sp.(DASH08103) และ *Stigonema* sp.(DASH09101) โดยแบ่งการศึกษาเป็น 3 การทดลองย่อย คือ 1) ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศ 2) ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการเยือกแข็ง 3) ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็ง โดยแต่ละการทดลองย่อยทำการเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุลต่างๆ ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-11 ในสภาพควบคุม จนถึงระยะปลาย stationary phase จากนั้นทำการเก็บเซลล์สาหร่ายตามวิธีการต่างๆ ที่กำหนดของแต่ละการทดลองย่อย ทำการหาปริมาณการรอดชีวิตของสาหร่ายแต่ละสกุลก่อนการเก็บรักษา และหลังการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ โดยวิธี Dilution Plate คำนวณการรอดชีวิตของเชื้อเป็นค่า logarithmic count เปรียบเทียบกับก่อนเก็บรักษา ผลการทดลองการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา 1 2 4 และ 6 เดือน พบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเกือบทุกสกุลมีการรอดชีวิตใกล้เคียงกับก่อนการเก็บรักษา มีเพียง *Calothrix* sp. (02101), *Nostoc* sp. (DASH06101) และ *Tolypothrix* sp. (DASH08103) ที่เมื่อเก็บรักษาที่ระยะเวลา 4 และ 6 เดือน การรอดชีวิตมีค่าลดลงจากก่อนเก็บรักษาประมาณ 1 log ส่วนผลการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการเยือกแข็งพบว่า ก่อนเก็บรักษาสาหร่ายทุกสกุลมีค่าเฉลี่ย logarithmic count อยู่ระหว่าง 4.60 ถึง 6.11 เมื่อเก็บรักษานาน 1 2 4 และ 6 เดือน พบว่าสาหร่ายทุกสกุลไม่รอดชีวิตเลยตั้งแต่เดือนแรกที่เก็บรักษาจนถึง เดือนที่ 6 ส่วนผลการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็งพบว่าเมื่อทำการระเหยน้ำออกจากเซลล์ นาน 1 สัปดาห์สาหร่ายสกุลต่างๆ มีความชื้นอยู่ระหว่าง 5 -10 เปอร์เซ็นต์และเมื่อนำไปเก็บโดยวิธีการเยือกแข็งพบว่าสามารถทำให้สาหร่ายทุกสกุลมีการรอดชีวิตได้นานถึง 16 เดือน โดยในช่วงเดือนที่ 4 และ 8 สาหร่ายมีการรอดชีวิตใกล้เคียงกับก่อนการเก็บรักษา แต่เมื่อถึงเดือนที่ 12 และ 16 สาหร่ายมีการรอดชีวิตลดลงประมาณ 1-2.5 logs ซึ่งขึ้นอยู่กับสกุลของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เหมาะสมคือวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็ง



คำนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Cyanobacteria) เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำจำพวกโปรคาริโอตที่มีขนาดเล็กพบได้ทั่วไปทั้งในน้ำ บนดิน ตามเปลือกไม้ ใบไม้ และที่ชื้นแฉะทั่วไปจัดอยู่ในดิวิชันไซยาโนไฟตา (division cyanophyta) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีประโยชน์ที่มีความสำคัญยิ่งคือสามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ซึ่งมีประโยชน์สามารถนำมาใช้ผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพได้ ซึ่งพวกที่มีเฮเทอโรซิสต์มีประมาณ 50 ชนิด ดังนั้นจึงต้องหาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายพันธุ์เพื่อไม่ให้สูญเสียพันธุ์และเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ซึ่งวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยทั่วไปจะเก็บรักษาโดยวิธีการต่อเชื้อเป็นลำดับ (serial subculture) ซึ่งเป็นวิธีการง่าย ๆ แต่ก็ไม่ดีเพราะจะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของบางสายพันธุ์ระหว่างการเลี้ยงยาวนาน (สมบุญ, 2539) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาหาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ที่เหมาะสมเพื่อให้สามารถเก็บรักษาสายพันธุ์และลักษณะพันธุกรรมไว้ใช้ประโยชน์ได้อย่างยืนนาน

วิธีดำเนินการ

การทดลองย่อยที่ 1 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศ (air-dried) ทำโดยเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้และมีเฮเทอโรซิสต์ จำนวน 7 สกุล คือ *Anabaena* sp.(DASH01101), *Calothrix* sp.(DASH02101), *Cylindrospermum* sp.(DASH03101), *Hapalosiphon* sp.(DASH05102), *Nostoc* sp.(DASH06101), *Scytonema* sp.(DASH07103) และ *Tolypothrix* sp.(DASH08103) ในอาหารเหลว BG-11(Rippka *et al.*, 1979; Allen and Arnon., 1955) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกรูปชมพู่ในสภาพควบคุมที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และความเข้มแสง 4,000 ลักซ์ เขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที จนสาหร่ายเจริญเติบโตที่ระยะปลาย Stationary phase ใช้เวลาประมาณ 45 วัน กรองเซลล์ผ่านชั้นเชื้อผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ที่นั่งฆ่าเชื้อ เพื่อเก็บเซลล์สาหร่ายบนกระดาษกรอง ทำการระเหยน้ำออกจากเซลล์ให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อนาน 1 สัปดาห์ ห่ออะลูมิเนียมฟอยด์และเก็บไว้ในโถทำแห้ง (desicator) ที่อุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส เมื่อถึงระยะเวลา 1 2 4 และ 6 เดือน นำเชื้อออกมาเพาะเลี้ยงเพื่อหาการรอดชีวิตของเชื้อเปรียบเทียบกับก่อนการเก็บรักษา โดยตัดกระดาษกรองให้มีขนาดสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 ตร.ซม. จำนวน 10 ชิ้น ใส่ลงในพลาสติกอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว รอจนสาหร่ายปรับตัวและเจริญเติบโตนาน 30 วัน ทำจำนวน 3 ซ้ำ ทำการนับปริมาณสาหร่ายที่เจริญเติบโตโดยวิธี Dilution Plate และคำนวณค่าที่ได้เป็น logarithmic count เปรียบเทียบการรอดชีวิตของสาหร่ายสกุลต่างๆ เมื่อเก็บรักษาในช่วงระยะเวลาที่กำหนดกับก่อนการเก็บรักษา

การทดลองย่อยที่ 2 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการเยือกแข็ง (Freezing)

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงไนโตรเจนได้และมีเฮเทอโรซิสต์ จำนวน 7 สกุล เช่นเดียวกับการทดลองย่อยที่ 1 เมื่อเชื้อเจริญเติบโตถึงระยะปลาย stationary phase ทำการเก็บเชื้อในหลอด screw cap tube โดยผสมเซลล์ผ่านชั้นเชื้อจำนวน 700 ไมโครลิตรกับกลีเซอรอลเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 300 ไมโครลิตร ให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของกลีเซอรอลเท่ากับ 15 เปอร์เซ็นต์ นำไปเก็บรักษาโดยแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เมื่อถึงระยะเวลา 1 2 4 และ 6 เดือน นำเชื้อออกมาเพาะเลี้ยงเพื่อหาการรอดชีวิตของเชื้อเปรียบเทียบกับก่อนการเก็บรักษา ทำการนับปริมาณสาหร่ายที่เจริญเติบโตโดยวิธี Dilution Plate และคำนวณค่าที่ได้



เป็น logarithmic count เปรียบเทียบการรอดชีวิตของสาหร่ายสกุลต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่ช่วงระยะเวลาที่กำหนดกับก่อนการเก็บรักษา

การทดลองย่อยที่ 3 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็ง

ทำการเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่ตรึงในโตรเจนได้และมีเฮเทอโรซิสต์ จำนวน 8 สกุล คือ *Anabaena* sp. (DASH01101), *Calothrix* sp. (DASH02101), *Cylindrospermum* sp. (DASH03101), *Hapalosiphon* sp. (DASH05102), *Nostoc* sp. (DASH06101), *Scytonema* sp. (DASH07103), *Tolypothrix* sp. (DASH08103) และ *Stigonema* sp. (DASH09101) เช่นเดียวกับการทดลองย่อยที่ 1 เมื่อสาหร่ายเจริญเติบโตถึงระยะปลาย Stationary phase กรองซัสเพนชั่นเชื้อผ่านกระดาษกรอง whatman เบอร์ 4 ที่นั่งมาเชื้อเพื่อเก็บเซลล์สาหร่ายบนกระดาษกรอง ปล่อยให้น้ำระเหยออกจากเซลล์นาน 1 สัปดาห์ภายในตู้ปลอดเชื้อ นำตัวแทนไปหาความชื้นโดยน้ำหนักเพื่อทราบความชื้นที่อยู่ในเซลล์สาหร่าย จากนั้นตัดกระดาษกรองที่มีเซลล์สาหร่ายแห้งเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 ตร.ซม. จำนวน 10 ชิ้นใส่ลงไปในหลอดเก็บเชื้อที่มีกลีเซอรอลเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ นำไปเก็บรักษาโดยการเยือกแข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส เมื่อถึงระยะเวลา 4 8 12 และ 16 เดือน นำเชื้อออกมาเพาะเลี้ยงเพื่อหาการรอดชีวิตของเชื้อเปรียบเทียบกับก่อนการเก็บรักษา โดยนำหลอดเก็บเชื้อเหลวเลี้ยงในอาหารเหลว BG-11 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปล่อยให้สาหร่ายโตในสภาพควบคุมจนสาหร่ายปรับตัวและเจริญเติบโตนาน 30 วัน ทำการนับปริมาณสาหร่ายที่เจริญเติบโตโดยวิธี Dilution Plate และคำนวณค่าที่ได้เป็น logarithmic count เปรียบเทียบการรอดชีวิตของสาหร่ายสกุลต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่ช่วงระยะเวลาที่กำหนดกับก่อนการเก็บรักษา

ระยะเวลา

การทดลองย่อยที่ 1 และ 2 เริ่มต้น ตุลาคม 2550 สิ้นสุด กันยายน 2551

การทดลองย่อยที่ 3 เริ่มต้น ตุลาคม 2551 สิ้นสุด กันยายน 2553

สถานที่ทำการทดลอง

กลุ่มงานวิจัยจุลินทรีย์ดิน กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศ (air-dried)

จากการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 7 สกุล โดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศผลการทดลองพบว่า การรอดชีวิตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Anabaena* sp. (DASH01101), *Calothrix* sp. (DASH02101), *Cylindrospermum* sp. (DASH03101), *Hapalosiphon* sp. (DASH05102), *Nostoc* sp. (DASH06101), *Scytonema* sp. (DASH07103) และ *Tolypothrix* sp. (DASH08103) ก่อนการเก็บรักษามีค่าเฉลี่ย logarithmic count เท่ากับ 5.6 5.6 4.6 5.9 6.2 4.7 และ 5.2 ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษานาน 1 2 4 และ 6 เดือน พบว่าสาหร่ายเกือบทุกสกุลมีการรอดชีวิตใกล้เคียงกับก่อนการเก็บรักษา ยกเว้น *Calothrix* sp. (DASH02101) *Nostoc* sp. (DASH06101) และ *Tolypothrix* sp. (DASH08103) ที่เมื่อเก็บรักษาระยะเวลา 1 และ 2 เดือน มีการรอดชีวิตใกล้เคียงกับก่อนการเก็บรักษา แต่ที่ระยะเวลา 4 และ 6 เดือนหลังพบว่า การรอดชีวิตมีค่าลดลงประมาณ 1 log (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามจะเห็นว่าการรอดชีวิตยังไม่ลดต่ำลงมากนักถ้ามีการเก็บรักษาต่อไปอีกเรื่อยๆ คาดว่าจะยัง



มีการรอดชีวิตได้เนื่องจากสาหร่ายสามารถทนอยู่ในสภาวะพักตัวได้นานหรือเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น แห้งแล้ง ร้อน และเย็น

2. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการเยือกแข็ง (Freezing)

จากการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 7 สกุล โดยวิธีการเยือกแข็งผลการทดลองพบว่าการรอดชีวิตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Anabaena* sp. (DASH01101), *Calothrix* sp. (DASH02101), *Cylindrospermum* sp. (DASH03101), *Hapalosiphon* sp. (DASH05102), *Nostoc* sp. (DASH06101), *Scytonema* sp. (DASH07103) และ *Tolypothrix* sp. (DASH08103) ก่อนการเก็บรักษามีค่าเฉลี่ย logarithmic count เท่ากับ 5.9 5.6 4.6 5.9 6.1 4.6 และ 5.7 ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษานาน 1 2 4 และ 6 เดือน พบว่าสาหร่ายทุกสกุลไม่รอดชีวิตเลยตั้งแต่อายุ 1-6 เดือน (ตารางที่ 2) จากผลการทดลองดังกล่าวที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่าในขั้นตอนการผสมซัสเพนชันเชื่อมกับกลีเซอรอลนั้นมีน้ำอยู่ในซัสเพนชันเชื่อมและในเซลล์มากเกินไปซึ่งในระหว่างการเยือกแข็งจะทำให้เกิดน้ำแข็งภายในเซลล์ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ได้ ดังนั้นจึงควรทำให้เซลล์เยือกแข็งพร้อมไปกับการทำให้เซลล์แห้งซึ่งเป็นการขจัดเอาน้ำภายในเซลล์ออกไป ซึ่งพบว่าเซลล์ของจุลินทรีย์จะทนทาน(resistant) ต่อการทำให้เยือกแข็งหรือการทำให้แห้งมากกว่าเซลล์ของสัตว์ (สมบุญ, 2539)

3. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็ง

จากการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 8 สกุล โดยทำการระเหยน้ำออกจากเซลล์เพื่อให้เซลล์แห้งก่อนทำการเยือกแข็งพบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินสกุล *Anabaena* sp. (DASH01101), *Calothrix* sp. (DASH02101), *Cylindrospermum* sp. (DASH03101), *Hapalosiphon* sp. (DASH05102), *Nostoc* sp. (DASH06101), *Scytonema* sp. (DASH07103), *Tolypothrix* sp. (DASH08103) และ *Stigonema* sp. (DASH09101) มีความชื้นเฉลี่ยเท่ากับ 10.9 9.0 9.8 5.0 10.0 7.5 12.3 และ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และผลการรอดชีวิตของเชื้อก่อนการเก็บรักษามีค่าเฉลี่ย logarithmic count เท่ากับ 7.2 5.8 5.0 5.7 7.2 5.5 7.2 และ 5.7 ตามลำดับ และเมื่อนำไปเก็บรักษาแบบเยือกแข็งนาน 4 8 12 และ 16 เดือน พบว่าในช่วงเดือนที่ 4 และ 8 สาหร่ายทุกสกุลมีการรอดชีวิตใกล้เคียงกับก่อนการเก็บรักษา แต่เมื่อถึงเดือนที่ 12 และ 16 สาหร่ายมีการรอดชีวิตลดลงทุกสกุลโดยลดลงเฉลี่ยประมาณ 1-2.5 logs ซึ่งขึ้นอยู่กับสกุลโดยเฉพาะ *Cylindrospermum* sp. (DASH03101) การรอดชีวิตลดลงถึง 2.5 logs (ตารางที่ 3) จากผลการทดลองจะเห็นว่าการขจัดน้ำออกจากเซลล์และการเยือกแข็งสามารถทำให้สาหร่ายเจริญเติบโตมีการรอดชีวิตได้มากกว่าการทำแห้งหรือการเยือกแข็งอย่างเดียว ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสามารถนำไปใช้สำหรับเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้มีการรอดชีวิตที่ยาวนานเพื่อการใช้ประโยชน์ในด้านเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของดินต่อไป



ตารางที่ 1. การรอดชีวิตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เก็บรักษาโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศ

| สกุล (Genus) | ค่าเฉลี่ย logarithmic count ของสาหร่าย | | | | |
|---|--|--|---------|---------|---------|
| | ก่อนเก็บรักษา | หลังการเก็บรักษาโดยวิธีทำแห้งโดยอากาศที่ | | | |
| | | ระยะเวลา | | | |
| | | 1 เดือน | 2 เดือน | 4 เดือน | 6 เดือน |
| 1. <i>Anabaena</i> sp. (DASH01101) | 5.6 | 5.3 | 5.3 | 5.0 | 4.0 |
| 2. <i>Calothrix</i> sp. (DASH02101) | 5.6 | 5.4 | 4.8 | 4.8 | 4.7 |
| 3. <i>Cylindrospermum</i> sp. (DASH03101) | 4.6 | 4.5 | 4.4 | 4.3 | 4.0 |
| 4. <i>Hapalosiphon</i> sp. (DASH05102) | 5.9 | 5.9 | 5.7 | 5.7 | 5.5 |
| 5. <i>Nostoc</i> sp. (DASH06101) | 6.2 | 6.1 | 6.1 | 5.9 | 5.7 |
| 6. <i>Scytonema</i> sp. (DASH07103) | 4.7 | 4.6 | 4.3 | 4.2 | 4.0 |
| 7. <i>Tolypothrix</i> sp. (DASH08103) | 5.2 | 5.1 | 5.0 | 4.3 | 4.3 |

ตารางที่ 2. การรอดชีวิตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เก็บรักษาโดยวิธีการเยือกแข็ง

| สกุล (Genus) | ค่าเฉลี่ย logarithmic count ของสาหร่าย | | | | |
|---|--|--|---------|---------|---------|
| | ก่อนเก็บรักษา | หลังการเก็บรักษาโดยวิธีการเยือกแข็งที่ระยะเวลา | | | |
| | | ระยะเวลา | | | |
| | | 1 เดือน | 2 เดือน | 4 เดือน | 6 เดือน |
| 1. <i>Anabaena</i> sp. (DASH01101) | 5.9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2. <i>Calothrix</i> sp. (DASH02101) | 5.6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3. <i>Cylindrospermum</i> sp. (DASH03101) | 4.6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4. <i>Hapalosiphon</i> sp. (DASH05102) | 5.9 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5. <i>Nostoc</i> sp. (DASH06101) | 6.1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6. <i>Scytonema</i> sp. (DASH07103) | 4.6 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7. <i>Tolypothrix</i> sp. (DASH08103) | 5.7 | 0 | 0 | 0 | 0 |



ตารางที่ 3. การรอดชีวิตของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เก็บรักษาโดยการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็ง

| สกุล (Genus) | %ความชื้น | ก่อนเก็บรักษา | ค่าเฉลี่ย logarithmic count ของสาหร่าย | | | |
|---|-----------|---------------|--|---------|----------|----------|
| | | | หลังการเก็บรักษาโดยวิธีทำแห้งร่วมกับวิธีเยือกแข็งที่ระยะเวลา | | | |
| | | | 4 เดือน | 8 เดือน | 12 เดือน | 16 เดือน |
| 1. <i>Anabaena</i> sp. (DASH01101) | 10.9 | 7.2 | 7.2 | 6.2 | 5.5 | 3.6 |
| 2. <i>Calothrix</i> sp. (DASH02101) | 9.0 | 5.8 | 5.7 | 5.3 | 4.6 | 4.3 |
| 3. <i>Cylindrospermum</i> sp. (DASH03101) | 9.8 | 5.0 | 4.9 | 4.8 | 2.5 | 2.5 |
| 4. <i>Hapalosiphon</i> sp. (DASH05102) | 5.0 | 5.7 | 5.7 | 5.7 | 5.0 | 3.3 |
| 5. <i>Nostoc</i> sp. (DASH06101) | 10.0 | 7.2 | 7.2 | 6.7 | 6.3 | 5.0 |
| 6. <i>Scytonema</i> sp. (DASH07103) | 7.5 | 5.5 | 5.5 | 5.3 | 5.2 | 4.8 |
| 7. <i>Tolypothrix</i> sp. (DASH08103) | 12.3 | 7.2 | 7.2 | 7.2 | 6.9 | 5.8 |
| 8. <i>Stigonema</i> sp. (DASH09101) | 6.2 | 5.7 | 5.7 | 5.3 | 4.8 | 3.8 |

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า

1. การเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศสามารถทำให้สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินทั้ง 7 สกุล มีชีวิตรอดได้มากกว่า 6 เดือน
2. การเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการเยือกแข็ง โดยมีน้ำผสมอยู่ในชั้นแช่แข็งจะทำให้เซลล์สาหร่ายเสียหายและทำให้ไม่รอดชีวิตในการเก็บรักษา
3. การเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินโดยวิธีการทำแห้งโดยอากาศร่วมกับวิธีการเยือกแข็งสามารถทำให้สาหร่ายทุกสกุลรอดชีวิตได้นานถึง 18 เดือนหรือมากกว่า ซึ่งเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินให้มีชีวิตรอดยาวนานและมีลักษณะทางพันธุกรรมไม่เปลี่ยนแปลง

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำวิธีการเก็บรักษาสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่เหมาะสมไปใช้ในการเก็บรักษาสายพันธุ์สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้และมีเฮเทอโรซิสต์สกุลต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ในการผลิตปุ๋ยชีวภาพและเป็นเอกลักษณ์ในการจำแนกเชื้อเพื่อประกอบกรวิเคราะห์ลักษณะสกุลในการขึ้นทะเบียนปุ๋ยชีวภาพ และเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรสำหรับไว้ใช้ในอนาคตได้อย่างยั่งยืน



เอกสารอ้างอิง

- สมบุญ ธนาศุภวัฒน์ 2539. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 184 น.
- Allen, M. B., and D.I. Arnon. 1955. Studies on nitrogen-fixing blue-green algae. *Plant Physiol.* 30:366-372.
- Rippka, R., J. Deruelles, J.B. Waterbury, M. Herdman, and R.Y. Stainer. 1979. Generic assignment stain histories and properties of pure culture of cyanobacteria. *J. of Gen Microbiol* 111:1-61.
- Boonkerd, N., and R. W. Weaver. 1982. Survival of cowpea rhizobia in soil as affected by soil temperature and moisture. *Appl and Envi Microbio* 43(3):585-589.