



การเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Hapalosiphon
ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ในระดับห้องปฏิบัติการ

ISBN : 978-974-436-978-9

โครงการวิจัยการจัดการธาตุอาหารพืชร่วมกับการใช้ประโยชน์ทรัพยากรชีวภาพ
จากจุลินทรีย์และชีวมวลในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชปลอดภัย

กรมวิชาการเกษตร 2565



การเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Hapalosiphon
ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ในระดับห้องปฏิบัติการ

ISBN : 978-974-436-978-9

คณะผู้จัดทำ

นางประไพ ทองระอา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
นางสาวณัฐนันท์ ไกรเลิศรัตนชัย	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
นางสาวศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
นางสาวแววตา พลกุล	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
นางสาววนิดา โนบรรเทา	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
นางสาวศุภกาญจน์ ล้วนมณี	กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

จัดทำโดย : กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

พิมพ์ครั้งที่ : 1

ออกเผยแพร่ : วันที่ 21 กรกฎาคม 2566

ลิขสิทธิ์ของกรมวิชาการเกษตร ห้ามคัดลอกข้อความหรือส่วนใดส่วนหนึ่งของหนังสือไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

พิมพ์เมื่อ : กรกฎาคม 2566

สถานที่ติดต่อ : กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

โทรศัพท์ 02-579-4116 โทรสาร 02-940-5942

คำนำ

ประเทศไทยมีทรัพยากรชีวภาพจุลินทรีย์ที่มีความหลากหลายซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ได้ กรมวิชาการเกษตรเป็นแหล่งรวบรวมและเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรที่มีศักยภาพสูงสามารถนำมาใช้ในการผลิตพืชได้ สำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศ สกุล *Hapalosiphon* มีศักยภาพในการเพิ่มปริมาณชีวมวลได้ดีสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ การเพิ่มปริมาณชีวมวลสำหรับในระดับที่ใหญ่ขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์จำเป็นต้องใช้หัวเชื้อตั้งต้นในการเลี้ยงขยายเพิ่มมากขึ้น การใช้อาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงมีต้นทุนค่าอาหารสูง การใช้อาหารเหลวตัดแปลงที่เตรียมได้จากปุ๋ยหมักมูลไก่ซึ่งมีปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ และสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกับอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสังเคราะห์สามารถลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงินลงได้ ดังนั้นกระบวนการเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ในระดับห้องปฏิบัติการจึงเป็นวิธีที่สะดวกและประหยัด สามารถนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับสายสีเขียวแกมน้ำเงินเพื่อเพิ่มปริมาณในระดับที่ใหญ่ขึ้นได้

คณะนักวิจัย
มกราคม 2566

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	1
เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี	1
วิธีการ	2
เอกสารอ้างอิง	3
ภาคผนวก	4

การเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลว จากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ในระดับห้องปฏิบัติการ

1. บทนำ

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินกลุ่มที่สามารถตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ จำพวกที่มีเฮเทอโรซิสต์จัดเป็นแหล่งชีวมวลที่สำคัญที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีวันหมด (renewable biomass source) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* อยู่ในกลุ่มของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีเฮเทอโรซิสต์และเป็นเส้นสาย (filament) สามารถสร้างสารอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้ หรือสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ เช่น สารคล้ายฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซิน จิบเบอเรลลิน และกรดอะมิโน เป็นต้น (Zulpa *et al.*, 2003; ประไพและคณะ, 2560) ซึ่งสารดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตแก่พืชได้ วิธีการนำชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินไปใช้ประโยชน์จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นให้มีปริมาณมากเพียงพอสำหรับการนำไปใช้เลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณในระดับที่ใหญ่ขึ้นได้ แต่การใช้อาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสังเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงมีต้นทุนสูง การใช้อาหารเหลวดัดแปลงที่เตรียมได้จากปุ๋ยหมักมูลไก่ซึ่งมีปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ และสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกับอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสังเคราะห์สามารถลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินลงได้

2. วัตถุประสงค์

เพื่อให้ได้วิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ สามารถใช้เป็นหัวเชื้อในการเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินในระดับภาคสนามได้เพิ่มขึ้น 10 เท่า

3. เครื่องมือ และวัสดุอุปกรณ์

- 3.1 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 3.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ
- 3.3 เครื่องวัดแสง (Lux meter)
- 3.4 เครื่องวัดอัตราการไหลของลม
- 3.5 ปีมล 4 ทาง
- 3.6 กระจกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.7 แท่งแก้ว
- 3.8 สายยางเติมอากาศ ขนาด 4 มิลลิเมตร
- 3.9 ถูพลาสติกใส ขนาด 14x22 นิ้ว
- 3.10 ตะแกรงร่อนขนาดช่อง 1 มิลลิเมตร
- 3.11 ผ้ากรองแพลงตอน ขนาด 30 ไมครอน
- 3.12 หัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหาร BG-11₀ แบบเหลวแขวนลอย
- 3.13 ปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งบดละเอียด ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4. วิธีการ

4.1 การเตรียมอาหารเหลวน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า สำหรับเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ ประกอบด้วย

4.1.1 น้ำสะอาด ปริมาตร 1 ลิตร

4.1.2 ปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งบดละเอียด จำนวน 4 กรัม

ละลายปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งบดละเอียดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วในน้ำสะอาด กวนส่วนผสมให้เข้ากันนาน 10 นาที กรองสารละลายผ่านผ้ากรองแพลงตอนขนาด 30 ไมครอน จากนั้นนำน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ที่กรองได้ไปใช้เพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

4.2 การเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวจากน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่

นำน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจางปริมาตร 3,240 มิลลิลิตร ใส่ถุงพลาสติกใสขนาด 5,000 มิลลิลิตร จากนั้นนำหัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหาร BG-11₀ แบบเหลวแขวนลอย ปริมาตร 360 มิลลิลิตร ปลุกเชื้อลงในถุงอาหารเหลว โดยให้ความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ เขย่าให้เข้ากันและนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพที่ร่มที่มีความเข้มแสงในช่วงวันประมาณ 4,000-7,000 ลักซ์ ทำการเติมอากาศอย่างต่อเนื่องด้วยปั๊มลมที่อัตราการไหลของลมเท่ากับ 300 คิวบิกฟุตต่อนาที เพาะเลี้ยงนาน 7 วัน จะได้หัวเชื้อตั้งต้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Hapalosiphon* ในอาหารเหลวน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ที่มีปริมาณสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีชีวิตทั้งหมด (viable cell) 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้เป็นหัวเชื้อตั้งต้นในการเลี้ยงขยายเพื่อเพิ่มปริมาณชีวมวลสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

เอกสารอ้างอิง

- ประไพ ทองระอา ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต กานดา ฉัตรไชยศิริ กัลยาณี สุวิวัฒน์ พิมพ์นิภา เพ็ญช่าง นิสารัตน์ ทวี
นุต และภาสกร สาทูลทัต. 2560. การใช้สารสกัดสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินร่วมกับปุ๋ยทางใบต่อการ
เจริญเติบโตของต้นกล้วยน้ำว้า ‘ปากช่อง 50’ จากการใช้ปุ๋ยเคมี. ว. วิทยาศาสตร์สงขลา
นครินทร์. 4(4): 16-21.
- Zulpa, G., M.C. Zaccaro, F. Boccazzi, J.L. Parada and M. Storni. 2003. Bioactivity of intra and
extracellular substances from cyanobacteria and lactic acid bacteria on “wood blue
stain” fungi. *Biol.Control*. 27:345-358.

ภาคผนวก



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)



(จ)



(ฉ)

ภาพที่ 1 กระบวนการเพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับยีสี่เขียวแถมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH 05101 ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า

(ก) ร่อนปุ๋ยหมักมูลไก่บดละเอียดผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร

(ข) ละลายปุ๋ยหมักมูลไก่ในน้ำสะอาดและกวนผสมให้เข้ากัน

(ค) กรองน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่ผ่านผ้ากรองแพลงตอนขนาด 30 ไมครอน

(ง) หัวเชื้อตั้งต้นสำหรับยีสี่เขียวแถมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH05101 ในอาหาร BG-11_o แบบเหลวแขวนลอย ปริมาตร 360 มิลลิลิตร

(จ) เพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับยีสี่เขียวแถมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH 05101 ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ในสภาพที่ร่มที่มีความเข้มแสงประมาณ 4,000-7,000 ลักซ์ มีการเติมอากาศอย่างต่อเนื่อง นาน 0 วัน หลังจากปลูกเชื้อ

(ฉ) เพาะเลี้ยงหัวเชื้อตั้งต้นสำหรับยีสี่เขียวแถมน้ำเงิน *Hapalosiphon* sp. DASH 05101 ในน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ในสภาพร่มที่มีความเข้มแสงประมาณ 4,000-7,000 ลักซ์ มีการเติมอากาศอย่างต่อเนื่อง 7 วัน หลังจากปลูกเชื้อ

ตารางที่ 1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้า และปริมาณธาตุอาหารในปุ๋ยหมักมูลไก่

พารามิเตอร์	ปุ๋ยหมักมูลไก่
pH ^{1/}	7.6
EC (เดซิซีเมนส์/ม.) ^{1/}	8.96
N (%)	1.96
P (%)	3.33
K (%)	1.34
Ca (%)	10.5
Mg (%)	1.09
Fe (มก./กก.)	4,315
Mn (มก./กก.)	1,757
Zn (มก./กก.)	948
Cu (มก./กก.)	290
Ni (มก./กก.)	8.63

หมายเหตุ : ^{1/} อัตราส่วนปุ๋ยต่อน้ำเท่ากับ 1:2

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าการนำไฟฟ้าและปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ในอาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-11₀ และน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า

พารามิเตอร์	อาหารเหลวสูตร BG-11 ₀	น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า
pH	7.80	7.63
EC (เดซิซีเมนส์/ม.)	0.20	0.64
N (มก./ล.)	nd	nd
P (มก./ล.)	9.66	4.44
K (มก./ล.)	26.9	40.1
Ca (มก./ล.)	8.30	3.03
Mg (มก./ล.)	7.78	2.14
Fe (มก./ล.)	0.08	0.03
Mn (มก./ล.)	0.51	0.02
Zn (มก./ล.)	0.12	0.01
Cu (มก./ล.)	0.04	0.03
Ni (มก./ล.)	nd	nd

nd = non-detect data

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยงสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเมื่อใช้อาหารเหลวปราศจากไนโตรเจน สูตร BG-11₀ และน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า

อาหารเพาะเลี้ยง	ต้นทุนอาหารเหลว (บาท/ลิตร)	ต้นทุนที่ลดลง (บาท/ ลิตร)
1. อาหารเหลวปราศจากไนโตรเจนสูตร BG-11 ₀	20	-
2. น้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า	0.04	19.96

หมายเหตุ : ปุ๋ยหมักมูลไก่แห้งราคากิโลกรัมละ 10 บาท สามารถผลิตน้ำปุ๋ยหมักมูลไก่เจือจาง 250 เท่า ได้ 250 ลิตร