บทที่ 5
อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการจัดจำแนกทรอสโทคิทริดส์

ทรอสโทคิทริดส์ที่พบในการศึกษาครั้งนี้สามารถจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยา อยู่ในจีนัส *Schizochytrium* พบ 3 ชนิด ดังนี้คือ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp. 8

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทั้ง 3 ชนิด พบว่า *S. mangrovei* และ *S. limacinum* เป็นชนิดที่มีลักษณะทางสัณฐานใกล้เคียงกันมาก โดยลักษณะของโคโลนีบนอาหารแข็งคือสีของโคโลนีทั้งสองมีสีขาวขุ่นเหมือนกัน แต่โคโลนีของ *S. limacinum* บริเวณขอบอะมิบอยด์เซลล์แผ่กระจายออกรอบ ๆ เป็นจำนวนมากเห็นได้ชัดเจน ในขณะที่ *S. mangrovei* แม้จะพบอะมิบอยด์เซลล์เหมือนกันแต่ขอบของโคโลนีจะไม่แผ่ออกกว้างเหมือนโคโลนี *S. limacinum* และเมื่อพิจารณาลักษณะของเซลล์ในอาหารเหลวพบว่าเซลล์มีขนาดใกล้เคียงกันคือ *S. mangrovei* ซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาด 10-25 ไมโครเมตร ส่วน *S. limacinum* มีขนาดซูโอสปอร์แรงเจียมเท่ากับ 15-20 ไมโครเมตร แต่โดยรวมเซลล์ *S. mangrovei* มีขนาดใหญ่กว่าและมีการเกาะกลุ่มของเซลล์มากกว่า ในขณะที่เซลล์ *S. limacinum* อยู่แบบเดี่ยว ๆ มากกว่าเป็นกลุ่ม รวมถึงสีของอาหารเหลว *S. limacinum* มีสีเหลืองเข้มกว่าอาหารเหลวของ *S. mangrovei* ลักษณะโคโลนีและขนาดเซลล์ของ *S. mangrovei* และ *S. limacinum* ที่ศึกษาครั้งนี้มีขนาดและลักษณะใกล้เคียงกับการศึกษาของ ศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ที่รายงานว่าซูโอสปอร์แรงเจียมของ *S. mangrovei* และ *S. limacinum* มีขนาด 10-25 ไมโครเมตร แต่ขัดแย้งกับ Raghugumar (1988) รายงานว่า *S. mangrovei* มีซูโอสปอร์แรงเจียมขนาด 5-12 ไมโครเมตร และ Honda et al. (1998) รายงานว่า *S. limacinum* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารกลูโคส 0.2 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 0.02 เปอร์เซ็นต์ และโมโนโซเดียมกลูตาเมต 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีซูโอสปอร์แรงเจียมขนาด 12-24 ไมโครเมตร การที่ขนาดของเซลล์ทรอสโทคิทริดส์ชนิดเดียวกันมีขนาดที่แตกต่างกัน อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ รวมถึงอาหารและสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงมีความแตกต่างกัน

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อนำเซลล์ของ *S. limacinum* เลี้ยงในอาหารแข็ง GY อาหารเหลว GY และน้ำทะเลที่ไม่เติมอาหาร พบอะมิบอยด์เซลล์ทั้งหมด ในขณะที่ *S. mangrovei* พบอะมิบอยด์เซลล์เฉพาะในอาหารแข็ง GY และอาหารเหลว GY เท่านั้น แต่กลับไม่พบอะมิบอยด์เซลล์เมื่อเลี้ยงในน้ำทะเลที่ไม่เติมอาหาร สอดคล้องกับการรายงานของ Honda et al. (1998) ที่กล่าวว่า *S. limacinum* ที่คัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลน ประเทศญี่ปุ่น พบการผลิต

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

อะมิบอยด์เซลล์ทั้งในอาหารแข็ง และในน้ำทะเลที่ไม่เติมอาหาร ในขณะที่ *Schizochytrium* ชนิดอื่นไม่พบอะมิบอยด์เซลล์เมื่อเลี้ยงในน้ำทะเลที่ไม่เติมอาหาร Honda จึงใช้ลักษณะนี้ในการจำแนก *S. limacinum* ออกจาก *Schizochytrium* ชนิดอื่น

ลักษณะของ *Schizochytrium* sp. 8 เมื่อพิจารณาสีของโคโลนีบนอาหารแข็งพบว่ามีสีขาวขุ่นเช่นเดียวกับ *S. mangrovei* และ *S. limacinum* แต่ต่างกันที่โคโลนีของ *Schizochytrium* sp. 8 มีจำนวนอะมิบอยด์เซลล์รอบ ๆ โคโลนี น้อยกว่า *S. mangrovei* และ *S. limacinum* และลักษณะเซลล์ในอาหารเหลวส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่กว่า *S. mangrovei* และ *S. limacinum* รวมถึงเซลล์มีลักษณะกลมแป้นใหญ่ และเซลล์อยู่รวมกันเป็นกลุ่มขนาดใหญ่ มากกว่าเซลล์เดี่ยว ๆ และสีของอาหารเหลวมีเหลืองเข้มกว่าอาหารเหลวที่เลี้ยงเซลล์ของ *S. mangrovei* และ *S. limacinum* อย่างชัดเจน

จากการศึกษาครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบถึงความหลากหลายของเชื้อ พบว่ามีความหลากหลายน้อยกว่าการศึกษาของศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ที่พบทรอสโทคิทริดส์ 10 ชนิด จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด ได้แก่ *S. mangrovei*, *S. limacinum*, *Schizochytrium* sp. 1, *Schizochytrium* sp. 2, *Schizochytrium* sp. 4, *Schizochytrium* sp. 6, *Ulkenia* sp. 1, *Ulkenia* sp. 2, *Ulkenia* sp. 3 และ Unknown 2 และเมื่อนำป่าชายเลนทั้ง 2 บริเวณคือบ้านเปร็ดในจากการศึกษาของศุภพิชญ์ และวัดอโศการามที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ มาเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ พบว่ามีความแตกต่างกันคือ ป่าชายเลนบ้านเปร็ดในเป็นป่าชายเลนที่มีความอุดมสมบูรณ์และอยู่ห่างไกลจากแหล่งที่พักอาศัย คุณภาพน้ำบริเวณป่าชายเลนค่อนข้างดี ในขณะที่ป่าชายเลนวัดอโศการาม เป็นป่าชายเลนที่ตั้งอยู่ในบริเวณชุมชนและแหล่งอุตสาหกรรม น้ำในบริเวณป่าชายเลนจึงได้รับอิทธิพลจากแหล่งชุมชน โดยตรง ทำให้น้ำในบริเวณวัดค่อนข้างเน่าเสีย ซึ่งอาจไม่เหมาะต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ จึงน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้การศึกษาครั้งนี้พบความหลากหลายของทรอสโทคิทริดส์ต่ำกว่าบริเวณป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน

เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน

การศึกษาครั้งนี้เป็นการคัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนบริเวณวัดอโศการาม อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ ซึ่งในบริเวณนี้พบพันธุ์ไม้ทั้งหมด 9 ชนิด คือ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ พังกาหัวสุมดอกแดง ตาตุ่มทะเล ตะบูนขาว ลำพูทะเล แสมขาว โพทะเลและปอทะเล ผลการศึกษาพบทรอสโทคิทริดส์ทั้งสิ้น 184 ไอโซเลท จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่นำมาศึกษา และมีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์อยู่ในช่วง 15-75 เปอร์เซ็นต์ ผลการศึกษาพบว่า ตัวอย่างใบโกงกางใบเล็กและพังกาหัวสุมดอกแดงเป็นพันธุ์ไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์

การพบสูงสุดคือ 75 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ปอทะเลมีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ต่ำสุดคือ 15 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับ Leano (2001) ที่รายงานว่า ทรอสโทคิทริดส์สามารถเจริญได้ดีบนใบไม้ป่าชายเลนหลากหลายชนิด และพบทรอสโทคิทริดส์ถึง 85-100 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้งหมด 11 ชนิด ในป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ และศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อทรอสโทคิทริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนชนิดต่าง ๆ ที่พบในป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด ผลการศึกษาพบทรอสโทคิทริดส์ 416 ไอโซเลท มีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ 66.67-100 เปอร์เซ็นต์ จากพันธุ์ไม้ทุกชนิดที่ศึกษา นอกจากนี้ Chatdumrong, Yongmanitchai, Limtong and Worawattanamateekul (2004) พบทรอสโทคิทริดส์ 257 ไอโซเลท จากการเก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนตลอดชายฝั่งทะเลประเทศไทย ประกอบด้วย 120 ไอโซเลท จากป่าชายเลนฝั่งอันดามัน 83 ไอโซเลทจากฝั่งอ่าวไทย และ 62 ไอโซเลทจากเขตภาคกลางและภาคตะวันออก

จากผลการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์เปรียบเทียบกับการศึกษาของศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ที่คัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด และ Leano (2001) คัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ พบว่าเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ครั้งนี้มีค่าต่ำกว่างานวิจัยดังกล่าวข้างต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากบริเวณป่าชายเลนที่ทำการศึกษาครั้งนี้ตั้งอยู่ในบริเวณชุมชน แพปลา ห้องเย็น แหล่งอุตสาหกรรมฟอกหนัง น้ำปลา และอิเล็กทรอนิคส์ เป็นต้น ทำให้ป่าชายเลนได้รับน้ำเสียจากแหล่งชุมชน โรงงานอุตสาหกรรมที่ปล่อยออกมาตามแม่น้ำโดยตรง ทำให้น้ำบริเวณป่าชายเลนอาจมีคุณสมบัติไม่เหมาะสมต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ เป็นผลให้เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ จากการศึกษาครั้งนี้มีค่าไม่สูงมากนัก

จากการจำแนกชนิดทรอสโทคิทริดส์ครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าชนิดทรอสโทคิทริดส์ที่พบสูงสุดของป่าชายเลนวัดอโศการาม คือ *S. mangrovei* (41.44 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับ Jaritkhuan et al. (2004) พบ *S. mangrovei* สูงสุดจากคัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณภาคตะวันออกของอ่าวไทย และศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) รายงานผลการคัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบ้านเปร็ดในพบ *S. mangrovei* มากที่สุดคือ 42.86 เปอร์เซ็นต์ จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด Leano (2001) รายงานผลการคัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณเกาะ Panay ประเทศฟิลิปปินส์ จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด 11 ชนิด พบว่า *S. mangrovei* Raghuk. เป็นทรอสโทคิทริดส์ที่มีเปอร์เซ็นต์สูงสุดเช่นกัน

S. limacinum เป็นทรอสโทคิทริดส์ชนิดที่มีเปอร์เซ็นต์การพบรองลงมาจากการศึกษาครั้งนี้ (10 เปอร์เซ็นต์) สอดคล้องกับรายงานของศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) พบ *S. limacinum*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

38.57 เปอร์เซ็นต์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน ซึ่งพบเป็นอันดับสองรองจาก *S. mangrovei* นอกจากนี้มีรายงานการพบ *S. limacinum* ในน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลนแถบมหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก ในประเทศญี่ปุ่น (Honda et al., 1998)

Schizochytrium sp. 8 เป็นทรอสโทคิทริดส์ชนิดที่ยังไม่พบการรายงานจากงานวิจัยอื่นในประเทศไทย พบน้อยที่สุดจากการศึกษาครั้งนี้คือ 1.11 เปอร์เซ็นต์ และพบเพียงจากใบโกงกางใบเล็กเท่านั้น สอดคล้องกับรายงานของ Leano (2001) ที่พบ *Thraustochytrium* sp. เฉพาะจากใบตะบูนขาวและโกงกางใบเล็ก จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิดบริเวณเกาะ Panay ประเทศฟิลิปปินส์ แสดงให้เห็นว่าทรอสโทคิทริดส์ชนิดนี้อาจมีความจำเพาะเจาะจงต่อการเจริญบนใบไม้แต่ละชนิด แต่ยังไม่มีรายงานยืนยันลักษณะดังกล่าว และอาจเป็นไปได้ว่าป่าชายเลนบริเวณนี้มีการเจริญของ *Schizochytrium* sp. 8 น้อย เพราะพบว่าแม้แต่ในใบโกงกางใบเล็กที่คัดแยกได้ ยังมีเปอร์เซ็นต์การพบเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น รวมถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม อาจมีผลต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp. 8 จึงควรมีการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาอื่นอีกด้วย

ผลการศึกษาครั้งนี้พบทรอสโทคิทริดส์อยู่ในช่วง 15-75 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าใบไม้ป่าชายเลนมีความเหมาะสมในการนำมาคัดแยกทรอสโทคิทริดส์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bremer (1995) ที่คัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากตัวอย่างดิน น้ำทะเล และซากใบไม้ บริเวณป่าชายเลน Morib ประเทศมาเลเซีย ผลการศึกษาพบว่าตัวอย่างใบไม้มีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์สูงสุด (53 %) รองลงมาคือดิน (46 %) และน้ำทะเล (15 %) ตามลำดับ และการศึกษาของ Wong, Vrijmoed and Au (2005) ที่คัดแยกทรอสโทคิทริดส์จากตัวอย่างใบไม้รังกะแท้และดินตะกอนบริเวณป่าชายเลน Futain ประเทศจีน พบว่าตัวอย่างใบไม้มีเปอร์เซ็นต์พบทรอสโทคิทริดส์สูงกว่าตัวอย่างดินตะกอนทุกช่วงฤดูที่ทำการศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์การพบของตัวอย่างใบไม้อยู่ในช่วง 70-100 เปอร์เซ็นต์ และตัวอย่างดินตะกอนอยู่ในช่วง 40-100 เปอร์เซ็นต์ จากการที่ตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนมีการพบทรอสโทคิทริดส์สูงกว่าทั้งในดินและน้ำ อาจเนื่องมาจากช่วงที่ใบไม้ป่าชายเลนกำลังเน่าเปื่อยมีการปล่อยสารเคมีจำพวกคาร์โบไฮเดรต น้ำตาล และสารประกอบฟีนอล ที่มีผลต่อการกระตุ้นล่อซูโอสปอร์ของทรอสโทคิทริดส์ ให้ลงเกาะบนใบไม้อย่างรวดเร็ว (Bremer, 1995; Fan et al., 2000a) อีกทั้งพบว่าทรอสโทคิทริดส์เป็นผู้ย่อยสลายที่มีความทนทานต่อสารพวกฟีนอล และมีเอนไซม์เซลลูเลสและโปรติเอส ที่ช่วยในการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน (Raghukumar, 1988)

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าชนิดของใบไม้ป่าชายเลนมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ กล่าวคือ หากลักษณะใบของพันธุ์ไม้ตัวอย่างที่ทำการคัดแยกมีลักษณะอวบหนา เช่น ใบไม้จากต้นโกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ พังกาหัวสุมดอกแดง พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การพบ

ทรอสโทคิทริดส์ค่อนข้างสูงคือ 65-75 เปอร์เซ็นต์และมีการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นค่อนข้างน้อยทำให้การคัดแยกเชื้อทำได้ค่อนข้างง่าย ในขณะที่พันธุ์ไม้มีลักษณะใบบางนิ่ม เช่น ใบไม้จากต้นปอทะเลและโพทะเล กลับมีเปอร์เซ็นต์การพบค่อนข้างน้อยเท่ากับ 15 และ 50 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และมีการปนเปื้อนจาก รา ยีสต์และแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก ทำให้การแยกเชื้อทรอสโทคิทริดส์มีความยุ่งยากเนื่องจากทรอสโทคิทริดส์เจริญช้ากว่ากลุ่มที่ปนเปื้อนดังกล่าว เมื่อทำการคัดแยกเชื้อบางครั้งทำให้ทรอสโทคิทริดส์บางไอโซเลทตายไปก่อนที่จะนำมาทำการศึกษาต่อ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานที่บ่งบอกว่าลักษณะของใบไม้มีผลต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ อีกทั้งการศึกษาครั้งนี้เปอร์เซ็นต์การพบของใบไม้จากโพทะเล ซึ่งมีลักษณะใบบางนิ่มกลับมีเปอร์เซ็นต์การพบถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์การพบจากใบไม้ของตาตุ่มทะเล ตะบูนขาว ลำพูทะเลและแสมขาว ที่มีลักษณะใบอวบหนา แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดส์นอกจากลักษณะของใบ เช่น การท่วมถึงของน้ำ ความชื้นแห้งของใบตัวอย่าง เป็นต้น

นอกจากนี้พบว่าลักษณะพื้นที่และเขตการขึ้นของป่าชายเลนเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ กล่าวคือพันธุ์ไม้ที่ขึ้นบริเวณใกล้ชายทะเล เช่น โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ พังกาหัวสุมดอกแดง ลำพูทะเล ตะบูนขาว มีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ค่อนข้างสูงคือ 45-75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ปอทะเลซึ่งเป็นพันธุ์ไม้ที่ขึ้นติดแผ่นดินเมื่อน้ำลงต่ำสุด พื้นดินบริเวณนี้ค่อนข้างแห้ง มีเปอร์เซ็นต์การพบเพียง 15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนโพทะเลที่พบบริเวณใกล้แผ่นดิน แต่มีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์ค่อนข้างสูง เนื่องจากบริเวณนี้มีแอ่งน้ำขนาดเล็กล้อมรอบอยู่

กรดไขมันในทรอสโทคิทริดส์ 184 ไอโซเลท

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าปริมาณกรดไขมันของ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp. 8 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูง โดยมีกรดไขมันอีพีเอและเออาร์เอในปริมาณต่ำ สอดคล้องกับการรายงานของ Kamlangdee and Fan (2003) ศึกษาปริมาณกรดไขมันจาก *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ เลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 ชั่วโมง พบว่าทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 5 สายพันธุ์ มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูง (30.3-36.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และมีปริมาณกรดไขมันอีพีเอและเออาร์เอต่ำ (0.3-1.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 184 ไอโซเลท จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าที่สภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมือนกันทุกประการ กรดไขมันแต่ละไอโซเลทมีปริมาณที่

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

แตกต่างกัน คือ กรดไขมันดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณกรดไขมันอีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.25-7.42 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.16-3.85 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง แสดงให้เห็นว่าทรอสโทคิทริดส์แต่ละสายพันธุ์มีปริมาณกรดไขมันที่แตกต่างกัน สอดคล้องกับการศึกษาของ Bowles (1997) ที่ศึกษาปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทคิทริดส์ 17 สายพันธุ์ ในอาหาร GYP (1 : 1: 1 กรัม/ ลิตร) เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/ นาที อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน ผลการศึกษาพบว่า ทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 17 สายพันธุ์ มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอแตกต่างกัน คือ กรดไขมันดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 2.78-37.95 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และจากรายงานของ Kamlangdee and Fan (2003) พบว่าปริมาณกรดไขมันจาก *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ (N-1, N-2, N-5, N-6 และ N-9) ที่เลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 ชั่วโมง มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ เท่ากับ 174.9, 203.6, 186.1, 171.3 และ 157.9 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

นอกจากสายพันธุ์ของเชื้อที่มีผลต่อปริมาณกรดไขมัน การผลิตกรดไขมันต้องขึ้นอยู่กับอีกหลายปัจจัย เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะของการเพาะเลี้ยง สอดคล้องกับการรายงานของ Fan et al. (2001) ที่ศึกษาปริมาณกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอจากทรอสโทคิทริดส์ 9 สายพันธุ์ ในอาหาร GY (6% : 1%) และ Okara Medium เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 52 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 9 สายพันธุ์ ผลิตกรดไขมันอีพีเอในช่วง 1.4-12.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และกรดไขมันดีเอชเอในช่วง 4.0-41.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดในอาหาร GY แต่เมื่อนำทรอสโทคิทริดส์มาเพาะเลี้ยงใน Okara Medium กลับพบปริมาณกรดไขมันลดลง โดยมีกรดไขมันอีพีเอในช่วง 0.0-1.8 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และกรดไขมันดีเอชเอในช่วง 0.5-4.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้การศึกษาของ Unagul, Assantachai, Phadungruengluij, Suphantharika and Verduyn (2005) พบว่าความเค็มและอุณหภูมิที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณกรดไขมันดีเอชเอของ *S. mangrovei* SK-02 คือ ที่ความเค็ม 4 ระดับ 0, 10, 20 และ 30 กรัม/ ลิตร มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 1.9, 2.9, 3.8 และ 4.2 กรัม/ ลิตร ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 25, 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส *S. mangrovei* SK-02 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 3.5, 2.8, 1.6 และ 0.40 กรัม/ ลิตร ตามลำดับ

ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงสุดที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ 180.74 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง จาก *S. mangrovei* BUSPRA 081 และสามารถให้ผลผลิตดีเอชเอเท่ากับ 3242.93 มิลลิกรัม/ ลิตร เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันและผลผลิตดีเอชเอที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่ามีปริมาณสูงกว่าการศึกษาของ Bowles et al. (1999), Yokochi et al. (1998) และ

Wu et al. (2005) และปริมาณกรดไขมันดีเอชเอมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Kamlungdee and Fan (2003), Fan et al. (2000) และ Fan et al. (2001) แต่มีปริมาณต่ำกว่าการศึกษาของ Yokochi et al. (1998) และ Nakahara et al. (1996) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทคิทริดส์

ชนิด ทรอสโทคิทริดส์	ปริมาณ กรดไขมัน ดีเอชเอ (มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง)	ผลผลิต กรดไขมันดี เอชเอ (มิลลิกรัม/ ลิตร)	1. อาหารที่ใช้ในการเลี้ยง 2. สภาวะที่ใช้การเลี้ยง	เอกสารอ้างอิง
S. mangrovei G13	-	575	1. กลูโคส 30 กรัม, ยีสต์สกัด 1 กรัม, เปปโตน 1 กรัม 2. อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Bowles et al. (1999)
S. mangrovei S31	56	328	1. กลูโคส 20 กรัม, ยีสต์สกัด 4 กรัม 2. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบ/ นาที เวลา 4 วัน	Wu et al. (2005)
S. mangrovei KF6	203	3094	1. กลูโคส 60 กรัม, corn steep liquor 0.7 กรัม 2. อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน 6 ชั่วโมง	Nakahara et al. (1996)
S. mangrovei N-2	204	2688	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 2 วัน 4 ชั่วโมง	Kamlungdee and Fan (2003)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 10 (ต่อ)

ชนิด ทรอสโทคิทริดส์	ปริมาณ กรดไขมัน ดีเอชเอ (มิลลิกรัม/ กรัม น้ำหนักแห้ง)	ผลผลิต กรดไขมัน ดีเอชเอ (มิลลิกรัม / ลิตร)	1. อาหารที่ใช้ในการเลี้ยง 2. สภาวะที่ใช้การเลี้ยง	เอกสารอ้างอิง
S. mangrovei KF2	209	2779	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Fan et. al. (2001)
S. limacinum SR21	224	4700	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Fan et al. (2000)
S. limacinum SR21	117	4200	1. กลูโคส 90 กรัม, corn steep liquor 20 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	Yokochi et al. (1998)
S. mangrovei BUSPRA 081	181	3250	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	การศึกษานี้

การเจริญของทรอสโทคิทริดส์

ผลการศึกษาการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 3 ไอโซเลท คือ *S. mangrovei* BUSPRA 161 *S. limacinum* BUSPTP 143 และ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 ในอาหารเหลว GY ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที จากการศึกษาพบว่า *S. limacinum* BUSPTP 143 มีการเจริญดีที่สุด โดยมีมวลชีวภาพเท่ากับ 20.24 ±1.23 กรัม/ ลิตร วันที่ 6 รองลงมาคือ *S. mangrovei* BUSPRA 161 มีมวลชีวภาพเท่ากับ 19.09 ±0.48 กรัม/ลิตร วันที่ 6 และ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Schizochytrium sp. 8 BUSPRA 122 เป็นไอโซเลทที่มีการเจริญต่ำสุดคือมวลชีวภาพเท่ากับ 4.24 ±0.10 กรัม/ ลิตร ในวันที่ 2 จะเห็นว่ามวลชีวภาพของ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 ที่ได้มีปริมาณต่ำกว่า 2 ไอโซเลทแรก 4-5 เท่า อาจเนื่องมาจากสูตรอาหาร และสภาวะการเพาะเลี้ยงครั้งนี้เหมาะต่อการเจริญของ *S. mangrovei* BUSPRA 161 และ *S. limacinum* BUSPTP 143 จึงทำให้ได้มวลชีวภาพที่สูง ในขณะที่สภาวะดังกล่าวอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 จึงทำให้มีมวลชีวภาพต่ำ ซึ่งควรมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเจริญของ *S. mangrovei* BUSPRA 161 มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของอำภา อุทรักษ์ (2548) ที่ศึกษาการเจริญของ *S. mangrovei* BUCARA 021 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GY (6% : 1%) มีมวลชีวภาพเท่ากับ 16.45 กรัม/ลิตร และการศึกษาของ ลลิดา เชาว์เรืองฤทธิ์ (2548) พบว่า *S. mangrovei* BUCARA 021 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เจริญดีที่สุดที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน มีมวลชีวภาพเท่ากับ 22.58 กรัม/ ลิตร แต่ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Fan et al. (2001) ศึกษาทรอสโทคิทริดส์ *S. mangrovei* KF2, *S. mangrovei* KF4, *S. mangrovei* KF5, *S. mangrovei* KF6, *S. mangrovei* KF7 และ *S. mangrovei* KF14 ที่คัดแยกจากใบรังกะแท้ เลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) พบว่ามีมวลชีวภาพเท่ากับ 13.3, 8.8, 7.9, 13.5, 6.6 และ 8.1 กรัม/ ลิตร ตามลำดับ และการศึกษาของ Kamlangdee and Fan (2003) นำ *Schizochytrium* จำนวน 5 สายพันธุ์ที่แยกได้จากใบรังกะแท้ที่หล่นในป่าชายเลนเกาะฮ่องกง เพาะเลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) มวลชีวภาพของทั้ง 5 สายพันธุ์มีค่าอยู่ในช่วง 10.8-13.2 กรัม/ ลิตร

มวลชีวภาพของ *S. limacinum* BUSPTP 143 ที่ทำการศึกษาครั้งนี้มีค่าเท่ากับ 20.24 กรัม/ ลิตร มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของพรรณรวี โพธิ์เทียนทอง (2548) ที่ศึกษาการเจริญของ *S. limacinum* BUCACD 032 เพาะเลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) มีมวลชีวภาพเท่ากับ 19.97 กรัม/ ลิตร และการศึกษาของลลิดา เชาว์เรืองฤทธิ์ (2548) พบว่า *S. limacinum* BUCACD 032 เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เจริญดีที่ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน มีมวลชีวภาพเท่ากับ 18.15 กรัม/ ลิตร อย่างไรก็ตามมวลชีวภาพจากการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่าการศึกษาของ Yokochi et al. (1998) ที่ศึกษาการเจริญของ *S. limacinum* SR21 ที่เลี้ยงในอาหารกลูโคส 90 กรัม และ Corn Steep Liquor 20 กรัม พบว่ามีมวลชีวภาพเท่ากับ 16 กรัม/ ลิตร

มวลชีวภาพของ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 เท่ากับ 4.24 กรัม/ ลิตร มีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Fan et al. (2001) ที่เพาะเลี้ยง *Schizochytrium* sp. KF1 ในอาหาร GY (6% : 1%) มีมวลชีวภาพเท่ากับ 4.60 กรัม/ ลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากการศึกษาการเจริญของทรอสโทคิทริดส์ทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า *S. mangrovei* BUSPRA 161 และ *S. limacinum* BUSPTP 143 มีการเจริญสู่ระยะ Stationary phase ในวันที่ 3 และเข้าระยะ Death phase ในวันที่ 7 ในขณะที่ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 มีการเจริญสู่ระยะ Stationary phase ค่อนข้างเร็วคือในวันที่ 1 และเข้าระยะ Death phase ในวันที่ 3 เมื่อนำลักษณะเซลล์มาพิจารณาร่วมกับระดับความหวานของอาหารในแต่ละวัน พบว่าเซลล์ของ *S. mangrovei* BUSPRA 161 และ *S. limacinum* BUSPTP 143 ในช่วง 2 วันแรกยังไม่มีการพัฒนามากนัก เริ่มพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเงียมในวันที่ 3 และ 4 ส่วนในวันที่ 5 และ 6 เซลล์โดยรวมยังเป็นซูโอสปอร์แรงเงียมแต่เริ่มมีซากเซลล์ปะปนในอาหาร และในวันที่ 7-8 เซลล์ไม่ค่อยมีการพัฒนาและมีซากเซลล์ปะปนมาก ซึ่งสอดคล้องกับระดับความหวานของอาหารพบว่าความหวานในวันที่ 1-5 มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วต่อเนื่องจาก 9 องศาบริกซ์ ในวันแรก เหลือเพียง 2.3 องศาบริกซ์ ในวันที่ห้า จากนั้นระดับความหวานเริ่มคงที่ส่วน *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 มีการเจริญที่แตกต่างกับ 2 ไอโซเลทข้างต้น คือเซลล์ในวันแรกมีการพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเงียมเป็นส่วนมาก และในวันที่ 2 และ 3 เซลล์ยังคงเป็นซูโอสปอร์แรงเงียม แต่เริ่มมีการปะปนของซากเซลล์ ในวันที่ 4-8 เซลล์ส่วนมากไม่พัฒนาและมีซากเซลล์ปะปนมาก การลดลงของระดับความหวาน พบว่าลดลงแบบต่อเนื่องและมีค่าต่ำสุดในวันที่ 7 ที่ 2.5 องศาบริกซ์

สรุปผลการทดลอง

1. พบทรอสโทคิทริดส์ทั้งหมด 184 ไอโซเลท จากใบไม้ป่าชายเลนทุกชนิด บริเวณวัดอโศการาม อำเภอบางปู จังหวัดสมุทรปราการ (ปอทะเล โพทะเล ตาตุ่มทะเล โกงกางใบใหญ่ โกงกางใบเล็ก พังกาหัวสุมดอกแดง ตะบูนขาว ลำพูทะเลและแสมขาว)

2. เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทคิทริดส์จากพันธุ์ไม้แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน โดยพบสูงสุดถึง 75 เปอร์เซ็นต์ จากโกงกางใบเล็ก (39 ไอโซเลท) และพังกาหัวสุมดอกแดง (33 ไอโซเลท) ในขณะที่ปอทะเลพบทรอสโทคิทริดส์ต่ำสุดคือ 15 เปอร์เซ็นต์ (4 ไอโซเลท)

3. พบทรอสโทคิทริดส์ทั้งสิ้น 3 ชนิด โดยพบ *Schizochytrium mangrovei* สูงสุด 41.44 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ *Schizochytrium limacinum* พบ 10 เปอร์เซ็นต์ และ*Schizochytrium* sp. 8 พบน้อยที่สุด 1.11 เปอร์เซ็นต์

4. *S. limacinum* BUSPTP 143 เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) เป็นเวลา 6 วัน มีมวลชีวภาพสูงสุดเท่ากับ 20.24 ± 1.23 กรัม/ ลิตร รองลงมาคือ *S. mangrovei* BUSPRA 161 มีมวลชีวภาพเท่ากับ 19.09 ± 0.48 กรัม/ ลิตร และ *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 เป็นไอโซเลทที่มีการเจริญต่ำสุดมวลชีวภาพเท่ากับ 4.24 ± 0.10 กรัม/ ลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. ปริมาณกรดไขมันจากทรอสโทคิทริดส์ 184 ไอโซเลท สรุปได้ดังนี้ คือกรดไขมันดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง โดย *S. mangrovei* BUSPRA 081 เป็นไอโซเลทที่มีดีเอชเอสูงสุด ปริมาณกรดไขมันอีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.25-7.42 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง โดย *Schizochytrium* sp. 8 BUSPRA 122 เป็นไอโซเลทที่มีปริมาณกรดไขมันอีพีเอสูงสุด และปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อยู่ในช่วง 0.16-3.85 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง โดย *S. mangrovei* BUSPRA 161 เป็นไอโซเลทที่มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอสูงสุด

ข้อเสนอแนะ

ควรนำทรอสโทคิทริดส์มาศึกษาปัจจัยทางด้านธาตุอาหาร สภาวะที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มผลผลิตทั้งด้านมวลชีวภาพและปริมาณกรดไขมัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University