

ทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ทาสอน) จังหวัดจันทบุรี

Thraustochytrids from Mangrove Leaves at Mangrove Resources Development Station 2 Tha Son, Chanthaburi Province

อุทุมพร อู๋ยยก¹, สุदारัตน์ สวนจิต², สมถวิล จิตตकर^{1,1*}

Autumporn Auiyok¹, Sudarat Suanjit², Somtawin Jaritkhuang^{1, 1*}

(Received: October 30, 2017; Revised: December 8, 2017; Accepted: December 13, 2017)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณ สถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ทาสอน) จังหวัดจันทบุรี ในฤดูฝน จากพันธุ์ไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 123 ไอโซเลท สามารถจำแนกทรอสโทโคตริดส์ได้ 3 ชนิดคือ *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium* sp. โดยมีความถี่ของการพบ (Frequency of occurrence) 5 – 40 % และ *A. mangrovei* เป็น ชนิดที่พบมากที่สุด นอกจากนั้นยังพบกลุ่มอะพลาโนโคตริดส์ (Aplanochytrids) 1 ชนิด คือ *Aplanochytrium* sp. ที่เป็น สายพันธุ์ใกล้เคียงกับทรอสโทโคตริดส์จำนวน 21 ไอโซเลท โดยมีความถี่ของการพบ 5 – 35 % เมื่อพิจารณาชนิดของพันธุ์ไม้ ป่าชายเลน พบว่าความถี่ของการพบทรอสโทโคตริดส์มีค่าสูงในใบเสมขาว ประทะเล และตะบูนดำ ส่วนชีวมวลเฉลี่ยพบสูงสุดใน *Aurantiochytrium* sp. BUCHA0101 (18.01 ± 3.36 กรัม/ลิตร) และ *Aplanochytrium* sp., *A. limacinum*, และ *A. mangrovei* มีชีวมวลเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 15.35 – 16.77 กรัม/ลิตร สำหรับปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคตริดส์ วิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (Gas Chromatography, GC 6890) พบว่า ดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 138.82 – 182.08 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (29.69 – 34.99 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเออยู่ในช่วง 28.99 – 43.63 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (6.57 – 8.38 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และเออาร์เออยู่ในช่วง 0.38 – 0.46 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.08 – 0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

คำสำคัญ: ทรอสโทโคตริดส์ ป่าชายเลน กรดไขมัน ดีเอชเอ

Abstract

Diversity of thraustochytrids from fallen senescent leaves of 11 mangrove trees collected from Mangrove Resources Development Station 2 Tha Son, Chanthaburi Province were investigated. A total of 123 isolates of thraustochytrids were found which classified into 3 species, namely *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum* and *Aurantiochytrium* sp. The frequency of occurrence of these thraustochytrids were 5 – 40 % and *A. mangrovei* was the predominant species. This study also found 21 isolates (1 species)

^{1,1*} ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

^{1,1*} Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University

² ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

² Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University

^{1*} ผู้ติดต่อประสานงาน : somtawin@buu.ac.th

^{1*} Corresponding author: somtawin@buu.ac.th



of *Aplanochytrids* (*Aplanochytrium* sp.) which is close to a group of *thraustochytrids* and expressed as 5 – 35 % of occurrence. Consider with the species of mangrove trees, the percentage of occurrence were rather high in leaves of *Avicennia alba*, *Acrostichum aureum* and *Xylocarpus moluccensis*. The highest biomass was found in *Aurantiochytrium* sp. BUCHA0101 (18.01 ± 3.36 g/L), whereas *A. limacinum*, *A. mangrovei*, and *Aplanochytrium* sp. were quit similar amount (15.35 – 16.77 g/L). For fatty acid content analyzed by Gas Chromatography 6890, docosahexaenoic acid (DHA) was found in a range of 138.82 – 182.08 mg/g dry wt. (29.69 – 34.99 % of total fatty acids), while docosapentaenoic acid and arachidonic acid were found of 28.99 – 43.63 mg/g dry wt. (6.57 – 8.38 % of total fatty acids) and of 0.38 – 0.46 mg/g dry wt. (0.08 – 0.10 % of total fatty acids), respectively.

Keywords: Thraustochytrids, Mangrove forest, Fatty acids, Docosahexaenoic acid (DHA)

บทนำ

ป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่มีคุณค่าและมีความสำคัญต่อมนุษย์ เมื่อใบไม้หล่นลงสู่พื้นดิน จะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์เปลี่ยนเป็นอินทรีย์สารต่างๆ ที่ผู้ผลิตเบื้องต้น เช่น แพลงก์ตอนพืชนำไปใช้ในการเจริญเติบโตเป็นอาหารชั้นปฐมภูมิในระบบนิเวศ ทำให้มีแพลงก์ตอนสัตว์และสัตว์ต่างๆ เป็นจำนวนมาก และเป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำขนาดใหญ่ต่อไป (Aksornkoaw, 1998) ทอรอสโโคไตรีดส์เป็นจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มหนึ่งที่มีประโยชน์และมีคุณค่าทางอาหาร พบได้ทั่วไปในสภาพแวดล้อมทางทะเล เช่น บริเวณชายฝั่ง ปากแม่น้ำ และป่าชายเลน (Nakahara et al., (1996); Naganuma, Takasugi, & Kimura, 1998) ทอรอสโโคไตรีดส์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะดีเอชเอ (Docosahexaenoic Acid, DHA) มีปริมาณสูงถึง 35 – 40 % ของกรดไขมันทั้งหมด (Naganuma, Kimura, Karimoto, & Pimenov, 2006; Yokochi, Honda, Higashihara, & Nakahara, 1998; Barclay, Meager, & Abril, 1994) ในขณะที่น้ำมันปลาที่ดีเอชเอเพียง 7 – 14 % ของกรดไขมันทั้งหมด (Bajpai, Bajpai, & Ward, 1991) ประโยชน์ของดีเอชเอทางการแพทย์ใช้ในการบำบัดและรักษาโรค มีความสำคัญในการพัฒนาสมอง ความจำและการมองเห็น รวมทั้งการเรียนรู้ในทารก และพบมากในบริเวณสมองและเรตินาของดวงตา โดยทารกจะได้รับดีเอชเอสูงจากน้ำนมมารดา (Natiwaranon, 2003) อีกทั้งทอรอสโโคไตรีดส์สามารถนำมาเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอชเอในลูกปลาและลูกกุ้งอีกด้วย (Jaritkhuan, Jones, & Bremer, 1998)

การศึกษาความหลากหลายของทอรอสโโคไตรีดส์ในป่าชายเลนของประเทศไทยยังมีไม่มากนัก เช่น Yimyuan, Jaritkhuan, & Suanjit (2007) ศึกษาความหลากหลายของทอรอสโโคไตรีดส์ในป่าชายเลนที่จังหวัดเพชรบุรี พบทอรอสโโคไตรีดส์ 6 ชนิด ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei*, *S. limacinum*, *Schizochytrium* sp. 1, *Schizochytrium* sp. 2, *Ulkenia visurgensis* และ *Thraustochytrid* 1 ส่วน Jantaban, Jaritkhuan, & Suanjit (2007) พบทอรอสโโคไตรีดส์ในป่าชายเลนที่บางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จำนวน 4 ชนิด คือ *S. mangrovei*, *S. limacinum*, *Schizochytrium* sp. 2 และ *U. visurgensis* และพบทอรอสโโคไตรีดส์จากป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาครคือ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *U. visurgensis* (Iamla-or, Jaritkhuan, & Suanjit, 2012) และจังหวัดสมุทรปราการ พบ *S. mangrovei*, *S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp. 8 (Prayunpun, Jaritkhuan, Suanjit, & Manthachitra, 2006)

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อคัดแยกชนิดและศึกษาความถี่ของการพบทอรอสโโคไตรีดส์จากใบไม้บริเวณป่าชายเลนของสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 จ. จันทบุรี
2. ตรวจสอบปริมาณกรดไขมันจากทอรอสโโคไตรีดส์ที่คัดแยกได้ เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่สามารถนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์

ระเบียบวิธีวิจัย

สถานที่เก็บตัวอย่างและการทดลองในห้องปฏิบัติการ

เก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสอน) จังหวัดจันทบุรี ในช่วงฤดูฝน (ในเดือนตุลาคม) จำนวน 11 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ตะบูนดำ ปอทะเล ประทะเล โปรงแดง ฝาด ดอกแดง ฝาดดอกขาว พังกาหัวสุมดอกแดง พังกาหัวสุมดอกขาว และเสม็ดขาว ชนิดละ 20 ใบ โดยคัดเลือกจากใบที่มีสีเหลือง อมน้ำตาลที่อยู่บริเวณดินที่มีความชื้น จากนั้นนำมาคัดแยกเชื้อรอสโทโคริดีสในห้องปฏิบัติการ โดยล้างใบไม้แต่ละใบแล้วตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร (ใบละ 9 ชิ้น) ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทะเลปราศจากเชื้อและเติมเพนนิซิลิน จี และสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต แช่ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง นำใบไม้ทั้ง 9 ชิ้น ปักลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็งกลูโคส ยีสต์สกัดและเปปโตน (ในอัตราส่วน 6 : 1 : 1) จำนวน 3 ชิ้น/จาน แล้วเติมน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อที่เติมเพนนิซิลิน จี และสเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (ความเข้มข้นเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร) บ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 28 - 32 องศาเซลเซียส สังเกตการเจริญและตรวจเชื้อรอสโทโคริดีส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน จากนั้นคัดแยกเชื้อรอสโทโคริดีสบนอาหารแข็งกลูโคส ยีสต์สกัดและเปปโตน โดยคัดแยกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ การสร้างชูโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ ลักษณะของชูโอสปอร์แรงเจียม การปล่อยชูโอสปอร์ และลักษณะโคโลนีจากคู่มือการจัดจำแนกของ Yokoyama & Honda (2007) จนได้เชื้อบริสุทธิ์ และคำนวณหาอัตราการพบรอสโทโคริดีสในใบไม้ทุกชนิด ดังสูตร

$$\text{ความถี่ของการพบ} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบรอสโทโคริดีส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

การเก็บเชื้อบริสุทธิ์ให้เก็บในอาหารแข็งผิวเอียงที่มีกลูโคสและยีสต์สกัด (6:1) และเติมน้ำทะเลความเค็ม 30 พีเอสยู ปริมาตร 3 มิลลิตร เก็บในตูบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส และถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน

การเลี้ยงเชื้อเพื่อวิเคราะห์กรดไขมัน

นำรอสโทโคริดีสแต่ละไอโซเลท เลี้ยงในอาหารเหลวกลูโคส : ยีสต์สกัด (6:1) ปริมาตร 50 มิลลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นเก็บเซลล์โดยปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวส์ (ยี่ห้อ KUBOTA) ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำตะกอนเซลล์มาล้างด้วยสารละลายฟอสเฟต (Phosphate buffered saline) ปริมาตร 30 มิลลิตร บั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ - 80 องศาเซลเซียส ทำให้แห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง (Freeze Dry) และนำไปวิเคราะห์กรดไขมัน (ดัดแปลงจาก Shimizu, Kawashima, Shinmen, Akitamo, & Yamada, 1988) โดยใส่สารมาตรฐาน (Nonadecanoic Acid; C19:0) ลงไปในตัวอย่างก่อนการสกัดกรดไขมัน เพื่อใช้ในการคำนวณปริมาณกรดไขมัน

การวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

- สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

ใช้ Flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ ส่วนคอลัมน์ใช้ Capillary Column (Agilent J&W DB - 23) ขนาด 60 เมตร x 250 ไมโครเมตร x 0.25 ไมโครเมตร ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา โดยอุณหภูมิของคอลัมน์ เริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้น 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 14 นาที และใช้อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียสในส่วนของ Injector และ Detector



ผลการวิจัย

ชนิดและความถี่ของการพบทอรอสโทโคตริดส์

จากการศึกษาความหลากหลายของทอรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่น บริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสนอน) จังหวัดจันทบุรี พบทอรอสโทโคตริดส์ทั้งหมด 123 ไอโซเลท จำแนกได้ 3 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei*, *A. limacinum*, *Aurantiochytrium* sp. และความถี่ของการพบ (Frequency of occurrence) 5 - 40 % โดยมี *A. mangrovei* เป็นชนิดที่พบมากที่สุด (40 %) และอีก 1 ชนิด ที่อยู่ในกลุ่มใกล้เคียงกับทอรอสโทโคตริดส์ คือ *Aplanochytrium* sp. โดยมีความถี่ของการพบอยู่ในช่วง 5 - 35 % ดังตารางที่ 1 และภาพที่ 1

เมื่อพิจารณาชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน พบว่าใบโกงกางใบเล็กและเสมชามีความถี่ของการพบสูงสุด (Frequency of occurrence) 5 - 40 % โดยพบ *A. mangrovei* มากที่สุด (40 %) และปอทะเลมีความถี่ของการพบน้อยที่สุด (20 %)

ตารางที่ 1 ความถี่ของการพบทอรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณป่าชายเลนในฤดูฝน

พันธุ์ไม้	ทอรอสโทโคตริดส์	จำนวนเชื้อไอโซเลท (n = 144)	จำนวนใบที่พบ ทอรอสโทโคตริดส์ (n = 20)	ความถี่ของการพบ (%)
โกงกางใบเล็ก	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	3	3	15
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	9	8	40
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	1	1	5
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	1	1	5
โกงกางใบใหญ่	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	6	6	30
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	6	6	30
ตะบูนดำ	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	9	7	35
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	6	5	25
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	5	4	20
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	5	4	20
ปอทะเล	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	4	4	20
ปรังทะเล	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	7	7	35
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	8	6	30
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	2	2	10
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	2	2	10
โปรงแดง	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	4	4	20
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	1	1	5
ฝาดดอกแดง	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	5	4	20
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	5	4	20
ฝาดดอกขาว	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	4	4	20
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	3	3	15

ตารางที่ 1 (ต่อ) ความถี่ของการพบทอรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณป่าชายเลนในฤดูฝน

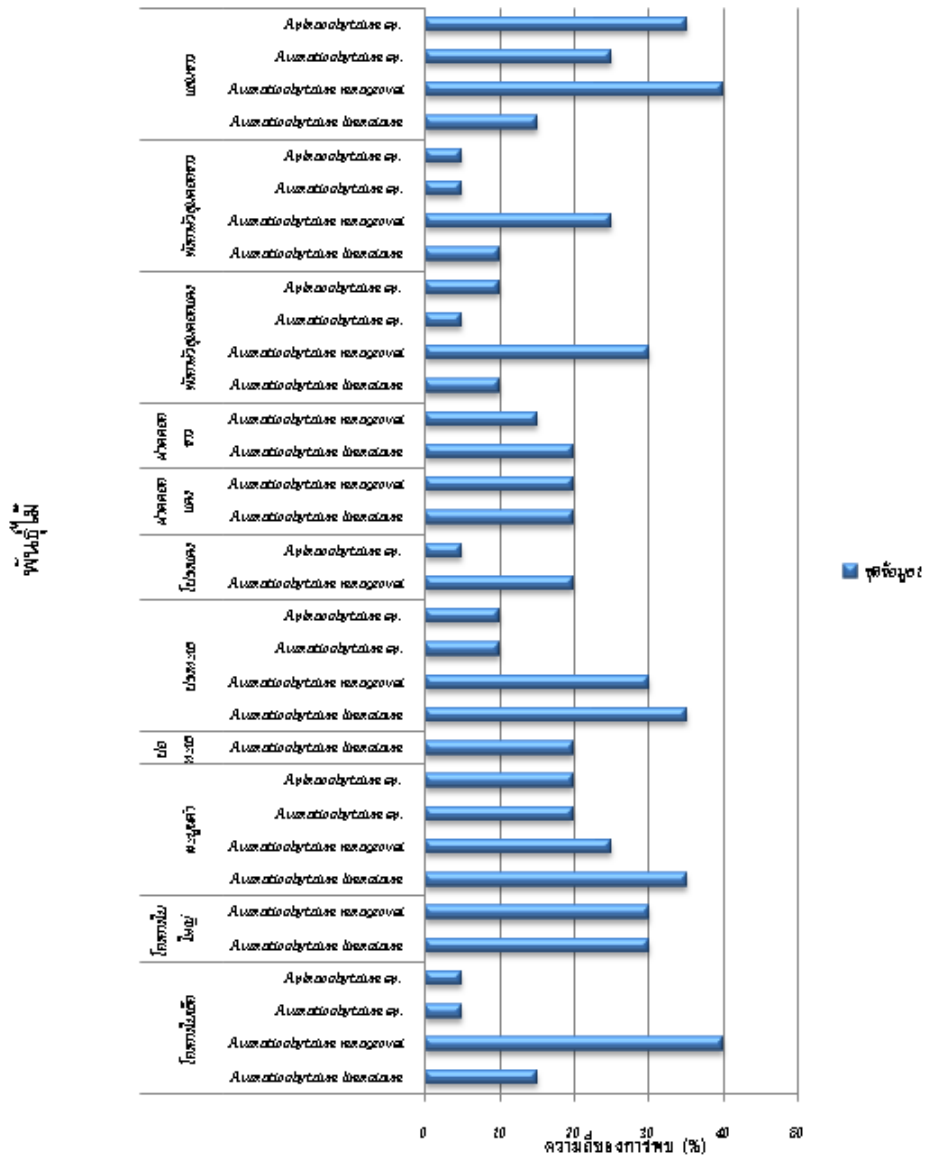
พันธุ์ไม้	ทอรอสโทโคตริดส์	จำนวนเชื้อไอโซเลท (n = 144)	จำนวนใบที่พบ ทอรอสโทโคตริดส์ (n = 20)	ความถี่ของการพบ (%)
พังกาหัวสุมดอกแดง	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	3	2	10
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	7	6	30
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	1	1	5
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	2	2	10
พังกาหัวสุมดอกขาว	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	2	2	10
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	5	5	25
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	1	1	5
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	1	1	5
แส้มขาว	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	3	3	15
	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	11	8	40
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.	5	5	25
	<i>Aplanochytrium</i> sp.	9	8	35

ชีวมวลของทอรอสโทโคตริดส์

จากการศึกษาพบชีวมวลของทอรอสโทโคตริดส์มีค่าอยู่ในช่วง 12.46 - 21.37 กรัม/ลิตร โดย *Aurantiochytrium* sp. มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 18.01 ± 3.36 กรัม/ลิตร และ *Aplanochytrium* sp., *A. limacinum*, และ *A. mangrovei* มีชีวมวลเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 15.35 - 16.46 กรัม/ลิตร ดังตารางที่ 2 และภาพที่ 2

ตารางที่ 2 ชีวมวลของทอรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลน

ทอรอสโทโคตริดส์	ชีวมวล (กรัม/ลิตร)	ค่าเฉลี่ย (กรัม/ลิตร)
<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	12.46 - 17.84	15.35 ± 2.14
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	14.14 - 17.45	15.97 ± 1.24
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	12.70 - 21.37	18.01 ± 3.36
<i>Aplanochytrium</i> sp.	15.20 - 17.51	16.46 ± 0.98



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบความถี่ของการพบเชื้อราที่โคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณป่าชายเลนในฤดูฝน

กรดไขมันในเชื้อราที่พบในใบไม้ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมัน เออาร์เอ ดีพีเอ ดีเอชเอ ที่มีในเชื้อราที่โคตริดส์แต่ละชนิด พบว่า ดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 138.82 – 182.08 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (29.69 – 34.99 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 28.99 – 43.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (6.57 – 8.38 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และเออาร์เอมีค่าอยู่ในช่วง 0.38 – 0.46 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.08 – 0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) โดย *Aurantiochytrium* sp. และ *A. limacinum* มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด 182.08 และ 178.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (34.99 และ 37.41 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

ส่วน *Aplanochytrium* sp., *A. limacinum* และ *A. mangrovei* มีปริมาณที่ใกล้เคียงกันคือ 145.31, 145.49 และ 138.82 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับและมีปริมาณกรดไขมันเป็น 30.38, 32.91 และ 29.69 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันเฉลี่ยในทออสโทโคไตรดส์แต่ละชนิด

Fatty acid	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>		<i>Aurantiochytrium limacinum</i>		<i>Aurantiochytrium</i> sp.		<i>Aplanochytrium</i> sp.	
	mg/g DW	(% of Total FA)	mg/g DW	(% of Total FA)	mg/g DW	(% of Total FA)	mg/g DW	(% of Total FA)
C 12:0	0.56±0.14	0.12±0.02	0.55±0.09	0.12±0.02	0.60±0.04	0.11±0.00	0.55±0.06	0.11±0.01
C 13:0	0.49±0.04	0.10±0.03	0.33±0.10	0.07±0.02	0.30±0.04	0.06±0.01	0.38±0.08	0.08±0.02
C 14:0	18.31±2.95	3.91±0.52	17.04±1.83	3.83±0.36	17.11±0.83	3.29±0.06	17.11±0.76	3.58±0.15
C 15:0	22.62±1.87	4.86±0.58	17.68±2.75	3.99±0.47	20.03±1.23	3.85±0.09	21.29±0.59	4.45±0.21
C 15:1	0.09±0.02	0.02±0.00	0.08±0.02	0.02±0.00	0.12±0.02	0.02±0.00	0.09±0.01	0.02±0.00
C 16:0	235.91±21.76	50.48±2.40	214.57±15.33	48.41±3.01	235.73±10.42	45.31±1.17	239.89±11.69	50.12±1.51
C 16:1	1.09±0.23	0.23±0.04	1.20±0.17	0.27±0.04	1.51±0.29	0.29±0.06	1.14±0.18	0.24±0.04
C 17:0	5.45±0.44	1.17±0.11	4.92±0.44	1.11±0.08	5.81±0.36	1.12±0.04	5.38±0.52	1.12±0.11
C 17:1	ND	ND	ND	ND	0.04±0.10	0.01±0.02	ND	ND
C 18:0	7.46±0.63	1.60±0.06	6.71±0.48	1.51±0.11	7.68±0.39	1.48±0.06	7.39±0.48	1.54±0.07
C 18:1n-9	0.13±0.08	0.03±0.04	0.09±0.08	0.02±0.02	0.11±0.10	0.02±0.02	0.07±0.06	0.01±0.01
C 18:3n-6	0.23±0.01	0.05±0.00	0.19±0.06	0.04±0.01	0.33±0.03	0.06±0.00	0.31±0.02	0.06±0.00
C 18:3n-3	0.44±0.16	0.09±0.00	0.26±0.19	0.06±0.04	0.50±0.02	0.10±0.00	0.46±0.03	0.10±0.01
C 20:0	1.30±0.08	0.28±0.02	1.02±0.06	0.23±0.02	1.40±0.08	0.27±0.01	1.25±0.08	0.26±0.01
C 20:1n-9	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:2n-6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 20:3n-6	0.49±0.04	0.10±0.01	0.48±0.04	0.11±0.01	0.77±0.08	0.15±0.01	0.60±0.04	0.13±0.00
C 20:4n-6 (ARA)	0.39±0.03	0.08±0.01	0.38±0.05	0.09±0.01	0.42±0.04	0.08±0.01	0.46±0.04	0.10±0.00
C 22:0	0.18±0.28	0.04±0.09	0.48±0.35	0.11±0.08	0.13±0.18	0.03±0.03	0.31±0.38	0.07±0.08
C 20:5n-3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C 22:1n-9	1.99±0.20	0.43±0.08	2.28±0.20	0.51±0.02	2.01±0.25	0.39±0.05	2.17±0.18	0.45±0.02
C 22:5 (DPA)	31.34±2.71	6.71±0.85	28.99±4.16	6.57±0.67	43.63±3.62	8.38±0.55	34.38±2.09	7.18±0.29
C 22:6n-3 (DHA)	138.82±7.51	29.69±2.59	145.49±18.97	32.91±2.57	182.08±9.28	34.99±0.88	145.31±7.37	30.38±1.59
Total unsat fat	143.66	30.73	167.02	36.31	187.91	36.11	150.60	31.48
Total sat fat	323.63	69.27	292.19	63.69	332.43	63.89	327.92	68.52
Total n-3	139.25	29.79	162.17	35.25	182.59	35.09	145.77	30.47
n-3 HUFA	138.82	29.69	161.76	35.16	182.08	34.99	145.31	30.38
Total n-6	1.11	0.24	1.17	0.25	1.53	0.29	1.36	0.28
n-3/n-6	126.08	126.08	138.96	138.96	119.85	119.85	107.17	107.17

หมายเหตุ Non Detect หมายถึง มีปริมาณน้อยมากจนไม่สามารถตรวจวัดได้



อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาความหลากหลายของทอรสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วนหล่นบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสน) จังหวัดจันทบุรี ทอรสโทโคตริคัสที่พบมีความถี่ของการพบอยู่ในช่วง 5 - 35 % ซึ่งจำนวนชนิดที่พบเท่ากับการศึกษาของ Jantaban et al., (2007) ที่พบทอรสโทโคตริคัส 4 ชนิด คือ *A. mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*), *Aurantiochytrium* sp. 2 (*Schizochytrium* sp. 2) และ *U. visurgensis* นอกจากนี้ Iamla-or et al., (2012) ยังได้คัดแยกทอรสโทโคตริคัสจำนวน 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) และ *U. visurgensis* ส่วน Prayunpun et al., (2006) พบทอรสโทโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดสมุทรปราการ 3 ชนิด คือ *A. mangrovei* (*S. mangrovei*), *A. limacinum* (*S. limacinum*) และ *Schizochytrium* sp. 8 โดยมีความถี่ของการพบ 15 - 75 % ส่วน Leano (2001) ได้เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนจาก Panay ประเทศฟิลิปปินส์ จำนวน 11 ชนิด พบทอรสโทโคตริคัส 85 - 100 % จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดโดยพบ *S. mangrovei* สูงสุด (40 - 100 %) และ Fan, Vrijmoed, & Jones (2002) ยังรายงานการพบทอรสโทโคตริคัสจากป่าชายเลนในเขตร้อน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *Schizochytrium* sp. KF-1, *S. mangrovei*, KF-2, KF-7, KF-12, *Thraustochytrium striatum* KF-9 และ *Ulkenia* KF-13 ดังนั้นความถี่ของการพบทอรสโทโคตริคัสในใบไม้แต่ละชนิดแตกต่างกัน อาจเนื่องจากลักษณะใบไม้ต่างกัน เช่น ใบมีลักษณะอวบหนาหรือบางนึ่ง การท่วมถึงของน้ำ ความชื้นของใบ การเน่าเปื่อยของใบ และสิ่งของใบที่พบว่าใบไม้สีน้ำตาลมีความถี่ของการพบทอรสโทโคตริคัสมากกว่าใบไม้สีเขียวทุกชนิดพันธุ์ไม้ เป็นต้น Jantaban et al., (2007) ยังพบว่าใบโกงกางใบใหญ่ โกงกางใบเล็ก และพังกาหัวส้มดอกแดง มีความถี่ของการพบทอรสโทโคตริคัสค่อนข้างสูงถึง 65 - 75 % โดยใบจะมีลักษณะบางนึ่ง เช่น ปอทะเลและโปทะเล มีความถี่ของการพบค่อนข้างน้อยคือ 15 และ 50 % ตามลำดับ

ส่วนชีวมวล จากการศึกษาพบว่า *Aurantiochytrium* sp. มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 18.01 ± 3.36 กรัม/ลิตร และ *Aplanochytrium* sp., *A. limacinum*, และ *A. mangrovei* มีชีวมวลเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 15.35 - 16.46 กรัม/ลิตร ในขณะที่โดยก่อนหน้านี้ Kamlangdee & Fan (2003) ได้คัดแยก *Schizochytrium* sp. จำนวน 5 สายพันธุ์ (N-1, N-2, N-5, N-6 และ N-9) จากใบรังกะเท้ (*Kandelia candel*) ในป่าชายเลนบริเวณเกาะช้องกง พบว่าสายพันธุ์ N-2 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ 13.2 กรัม/ลิตร สายพันธุ์ N-9 เจริญได้น้อยที่สุดและมีชีวมวลเท่ากับ 10.8 กรัม/ลิตร ต่อมา Jantaban et al., (2007) พบว่า ดีเอชเอในทอรสโทโคตริคัสมีค่าอยู่ในช่วง 0.98 - 243.19 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.55 - 49.47 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) อีพีเออยู่ในช่วง 0.18 - 6.47 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.08 - 5.65 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และเออาร์เออยู่ในช่วง 0.20 - 9.88 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.10 - 14.23 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบว่ากรดไขมันในทอรสโทโคตริคัสชนิด *Aurantiochytrium* sp. และ *A. limacinum* มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด 182.08 และ 178.02 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (34.99 และ 37.41 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วน *Aplanochytrium* sp., *A. limacinum* และ *A. mangrovei* มีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ความแตกต่างกันระหว่างชนิดของใบไม้ มีกรดไขมันบางตัวในปริมาณสูง ได้แก่ Palmitic acid (C16: 0), Docosapentaenoic acid (C22: 5) และ Docosahexaenoic acid (C22: 6n-3) เช่นเดียวกับ Iamla-or et al., (2012) พบว่าทอรสโทโคตริคัสแต่ละไอโซเลท แต่ละชนิดที่คัดแยกได้ภายใต้สภาวะการเลี้ยงที่เหมือนกัน มีชีวมวลและกรดไขมันในทอรสโทโคตริคัสแตกต่างกันระหว่างชนิดของใบไม้ ปริมาณกรดไขมันแปรผันตามความเค็ม อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเลี้ยง

สรุป

จุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทโคตริตส์คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 2 (ท่าสนอน) จังหวัดจันทบุรีในฤดูฝน จากพันธุ์ไม้ 11 ชนิด พบทรอสโทโคตริตส์ 123 ไอโซเลท จำแนกได้ 3 ชนิด ได้แก่ *A. mangrovei*, *A. limacinum*, *Aurantiochytrium* sp. โดยมีความถี่ของการพบ (Frequency of occurrence) 5 – 40 % และอีก 1 ชนิด ที่เป็นสายพันธุ์ใกล้เคียงกับทรอสโทโคตริตส์จำนวน 21 ไอโซเลท คือกลุ่มอะพลาโนโคตริตส์ (*Aplanochytrids*) *Aplanochytrium* sp. โดยมีความถี่ของการพบ 5 – 35 % พบว่าความถี่ของการพบทรอสโทโคตริตส์มีค่าสูงในใบแสมขาว ประทล และตะบูนดำ ส่วนชีวมวลเฉลี่ยพบสูงสุดใน *Aurantiochytrium* sp. BUCHA0101 *Aurantiochytrium* sp. มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุด 18.01 ± 3.36 กรัม/ลิตร และ *A. mangrovei* มีชีวมวลเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 15.35 ± 2.14 กรัม/ลิตร ส่วนทรอสโทโคตริตส์มีกรดไขมันชนิดดีเอชเออยู่ในช่วง 138.82 – 182.08 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (29.69 – 34.99 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเออยู่ในช่วง 28.99 – 43.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (6.57 – 8.38 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และเออาร์เออยู่ในช่วง 0.38 – 0.46 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.08 – 0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ สายพันธุ์ที่เหมาะสมและมีความโดดเด่น สำหรับนำไปใช้ในการพัฒนาเชิงพาณิชย์ต่อไปคือ *Aurantiochytrium* sp. เนื่องจากเป็นทรอสโทโคตริตส์ชนิดที่มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุดมีปริมาณดีเอชเอและดีพีเอสูงสุด โดยพบมากในใบโกงกางใบเล็ก

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาทรอสโทโคตริตส์จากแหล่งอื่นๆ เช่น ทุ่นทะเล และสาหร่ายทะเล เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลด้านความหลากหลายทางชีวภาพ
2. ควรมีการศึกษาชนิด ปริมาณสารสี และองค์ประกอบทางเคมีที่พบในทรอสโทโคตริตส์ เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาครั้งต่อไป

รายการอ้างอิง (References)

- Aksornkoaw, S. (1998). *Ecology and management mangrove*. (2nd ed.). Bangkok: Kasetsart University. (in Thai)
- Bajpai, P., Bajpai, K., & Ward, P. O. (1991). Production of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium aureum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 706-710.
- Barclay, W. R., Meager, K. M., & Abril, J. R. (1994). Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acid utilizing algae and algae-like microorganisms. *Journal of Applied Phycology*, 6, 123-129.
- Fan, K. W., Vrijmoed, L.L.P., & Jones, E.B.G. (2002). Physiological studies of subtropical mangrove thraustochytrids. *Journal Botanica Marina*, 45, 50-57.
- Iamla-or, K., Jaritkhuan, S. & Suanjit, S. (2012). *Diversity of Thraustochytrids in mangrove forest at Samutsakhon Province*. Aquatic Science, Burapha University. (in Thai).
- Jantaban, J., Jaritkhuan, S. & Suanjit, S. (2007). Diversity of thraustochytrids isolated from mangrove leaves at Bangkhunthean, Bangkok. 8th National Grad Research Conference 7-8 September, 2007. Mahidol University, Salaya. (In Thai).
- Jaritkhuan, S., Jones, E. B. G. & Bremer, G. 1998. Thraustochytrids as a food source in aquaculture. Paper presented at The Asia – Pacific Mycological Conference on Biodiversity and Biotechnology, 6 – 9 July, 1998. Hua Hin, Thailand.

