

อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

อภิปรายผลการทดลอง

1. จุลินทรีย์ทะเลที่แยกจากตัวอย่างน้ำบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขูดจากก้อนปะการัง

1.1 ยีสต์ที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขูดจากก้อนปะการัง

จากการศึกษาพบยีสต์จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces* sp.1, *Saccharomyces* sp.2, *Saccharomyces* sp.3, *Kloeckera* sp. *Nadsonia* sp. *Zygosaccharomyces* sp.2 *Zygosaccharomyces* sp.1 แต่จากการศึกษาของ Atlas and Bartha (1981) พบยีสต์ในน้ำทะเล ได้แก่ ยีสต์ในสกุล *Candida*, *Torulopsis*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* และ *Rhodotorala* นอกจากนี้ยังพบ *Rhodospiridium* ซึ่งเป็น basidiomycete-related yeast ในระบบนิเวศทางทะเลด้วยเช่นกัน

กรดไขมันที่พบในยีสต์ส่วนใหญ่เป็นพวกกรดไขมันไม่อิ่มตัวพันธะเดี่ยว ส่วน PUFA ที่มีอยู่จะเป็น C18:2 (linoleic acid) และ C18:3 (linolenic acid) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Zelles (1997) เมื่อนำยีสต์มาเลี้ยงด้วยอาหารที่แตกต่างกัน พบว่ายีสต์ต่างชนิดกันสามารถผลิตกรดไขมันได้แตกต่างกัน และยีสต์ชนิดเดียวกันแต่เลี้ยงด้วยอาหารต่างชนิดกัน มีผลต่อปริมาณและชนิดของ กรดไขมันที่แตกต่างกันด้วย กล่าวคือ *Saccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM สามารถผลิตกรดไขมันชนิดดีเอสเอ (C22:6, n-3) ได้ แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร SB ไม่พบดีเอสเอ ในขณะที่ *Saccharomyces* sp.3 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDB สามารถผลิตกรดไขมันชนิดดีเอสเอได้ แต่เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร SB ไม่พบดีเอสเอเช่นกัน ส่วน *Saccharomyces* sp.1 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDB ไม่สามารถผลิตกรดไขมันชนิดดีเอสเอได้ ส่วน *Zygosaccharomyces* sp.2 เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร PDB และ SB ไม่พบการสร้างกรดไขมันชนิดดีเอสเอเช่นกัน ดังนั้นถ้าต้องการเลี้ยงยีสต์ให้ผลิตดีเอสเอจึงต้องพิจารณาทั้งชนิดและอาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นสิ่งสำคัญ ซึ่งควรเลี้ยงยีสต์ในอาหารที่มีไนโตรเจนค่อนข้างจำกัด (N-limited medium) รวมถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ ออกซิเจน และความเป็นกรด-เบส เป็นต้น แต่จากการศึกษารุ่นนี้ยีสต์ที่พบผลิตกรดไขมันค่อนข้างน้อย จึงไม่จัดอยู่ในกลุ่ม fat yeast อย่างไรก็ตามยีสต์เหล่านี้สามารถนำมาปรับปรุงสายพันธุ์เพื่อให้มีการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ต่อไปในอนาคต

เมื่อพิจารณาปริมาณดีเอสเอในยีสต์ที่ทำการศึกษา มีปริมาณค่อนข้างน้อยมากเมื่อเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยพบประมาณ 0.55 - 2.38 % ของกรดไขมันทั้งหมด ในขณะที่ทรอสโทรคิทริน (*Schizochytrium* sp.) ผลิตดีเอสเอได้ประมาณ 30 - 40 % ของกรดไขมันทั้งหมด (Jaritkhuan, 2002) สำหรับทะเลขนาดเล็กชนิด *Isochrysis* spp. มีดีเอสเอ และ กรดไขมันชนิด C18:4

ในปริมาณสูง แต่มีอีพีเอเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่ *Monochrysis luteri*, *Coccolithus huxleyi* และ *Cricosphaera* มีองค์ประกอบของอีพีเอถึง 17-28 % ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้โคอะตอมบางชนิดเช่น *Phaeodactylum tricornutum* สามารถผลิตอีพีเอได้ประมาณ 3 กรัม/น้ำหนักแห้ง / ลิตร และ ไดโนแฟลกเจลเลตหลายชนิดสามารถผลิตอีพีเอ และ ดีเอชเอได้ในปริมาณสูงเช่นกัน (Yongmanitchai and Ward, 1989)

การควบคุมการสร้างกรดไขมันในยีสต์ค่อนข้างซับซ้อน โดยปกติแล้วเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในขบวนการสร้างกรดไขมันที่สำคัญคือ fatty acid synthase และ acetyl-Co-A carboxylase แต่สำหรับยีสต์นั้นเอนไซม์ fatty acid synthase เป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วย  $\alpha$ - subunits และ  $\beta$ - subunits ถึงอย่างละ 6 units ส่วน acetyl-Co-A carboxylase ในยีสต์เป็นเอนไซม์ที่เป็น homotetramer ([www.bcm.tmc.edu/chirala.subrahmaniam](http://www.bcm.tmc.edu/chirala.subrahmaniam), 2001)

ถ้าเป็นในสัตว์ อาหารที่ไม่มีไขมันสามารถกระตุ้นการสร้าง fatty acid synthase และ acetyl-Co-A carboxylase ได้ แต่สำหรับยีสต์อาจไม่เป็นเช่นนั้น นอกจากว่ายีสต์ที่ควบคุม acetyl-Co-A carboxylase ในยีสต์เป็นยีสต์ที่จำเป็น (essential) และขาดไม่ได้ จากการศึกษาพบว่ายีสต์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDB ซึ่งมีไขมันต่ำ หรือในอาหารที่เติมไปด้วย N-source อย่าง YM ก็สามารถตรวจพบการสร้างกรดไขมันดีเอชเอได้

## 1.2 Thraustochytrids จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขูดจากก้อนปะการัง

จากการศึกษาครั้งนี้พบ Thraustochytrids ทั้งหมด 30 isolates จากน้ำในแนวปะการังที่เกาะเต่า แต่ไม่พบจากเมือกปะการัง โดยขนาดของ Thraustochytrids ที่พบมีขนาดเล็กมาก ประมาณ 5-8 ไมโครเมตร เท่านั้น โดยทั่วไปแล้ว Thraustochytrids มักมีขนาดประมาณ 40 -50 ไมโครเมตร แต่เมื่อทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ ทั้งโดยวิธีเชื้อเชื้อและเกษตรน ซึ่งจากรายงานของ Hyde และ Pointing (2000) พบว่าเชื้อล่อที่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์ทะเลโดยเฉพาะกลุ่ม Thraustochytrids ที่มีประสิทธิภาพในการล่อ ได้แก่ เกสรสน ซึ่งเป็นสนสายพันธุ์ *Pinus* แต่จากการแยกเชื้อเพื่อทำให้บริสุทธิ์นั้น ไม่สามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเลี้ยงต่อได้ เนื่องจากเซลล์อาจไม่แข็งแรง ทำให้ไม่ค่อยเจริญและตายในที่สุด อย่างไรก็ตาม การที่ไม่พบ Thraustochytrids ในบางบริเวณอาจเนื่องมาจากการเก็บตัวอย่างน้ำทะเลดังกล่าวเป็นการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำ ซึ่งเป็นโอกาส (probability) ที่อาจจะพบเชื้อจุลินทรีย์มากน้อยหรือไม่พบก็ได้ หรืออาจเนื่องจากบริเวณดังกล่าวไม่มีเชื้อจุลินทรีย์นั้น ๆ หรือมีน้อยมากจนไม่สามารถคัดแยกได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานพบ Thraustochytrids ชนิด *Schizochytrium aggregatum* จากตัวอย่างน้ำที่สหรัฐอเมริกา (Goldstein and Belsky, 1964), *Aplanochytrium kerguelensis* จากตัวอย่างน้ำที่ South Indian Ocean (Bahnweg and Sparrow, 1972), *Ulkenia visurgensis* จากตัวอย่างน้ำที่ Weser Estuary,

Germany (Gaertner, 1977), *Corallochytrium limacisporum* จากตัวอย่างน้ำที่แนวปะการัง Indian Ocean (Raghu-Kumar, 1987), *Schizochytrium limacinum* จากตัวอย่างน้ำที่ Yap Island, ประเทศญี่ปุ่น (Nakahara et al. , 1996) เป็นต้น

## 2. จุลินทรีย์ทะเลที่แยกจากตัวอย่างหญ้าทะเล

จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่ม Thraustochytrids จากตัวอย่างใบหญ้าทะเลชนิด กุ้ยช่ายเข็ม และหญ้าชะเงา โดยเก็บใบหญ้าทะเลที่มีสีเขียวอ่อน เขียวแก่ เขียวปนเทา เทาปนเขียว เทาอ่อน เทาแก่ เขียวปนน้ำตาล น้ำตาลปนเขียว น้ำตาลอ่อน น้ำตาลเข้ม และดำเริ่มเน่า ผลปรากฏว่าไม่พบจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่ม Thraustochytrids เลย อาจเนื่องจากใบหญ้าทะเลที่สุ่มเก็บดังกล่าวไม่มีเชื้อจุลินทรีย์นั้น ๆ หรือมีน้อยมากจนไม่สามารถคัดแยกได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานพบ Thraustochytrids (*Halophytophthora* spp. , *Schizochytrium* spp. และ *Thraustochytrium* spp.) จากใบไม้ป่าชายเลนที่ Panay Island, Philippines (Leano, 2001) แล จากสาหร่ายทะเล (*Bryopsis plumosa*) พบ *Thraustochytrium proliferum* ที่ Massachusetts, USA (Sparrow , 1936) และสาหร่ายทะเล (*Gracillaria confervoides*) พบ *Japonochytrium marinum* ที่ Yokohama, Japan (Kobayashi and Ookubo, 1953) เป็นต้น

## สรุปผลการทดลอง

1. คัดแยกยีสต์จากตัวอย่างน้ำบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขูดจากก้อนปะการัง พบยีสต์จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้งสิ้น 7 ชนิด ได้แก่ *Saccharomyces* sp.1, *Saccharomyces* sp.2, *Saccharomyces* sp.3, *Kloeckera* sp., *Nadsonia* sp., *Zygosaccharomyces* sp.2, *Zygosaccharomyces* sp.1
2. กรดไขมันของยีสต์ที่แยกได้พบทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยพบว่า *Kloeckera* sp. ที่เลี้ยงด้วยอาหาร PDB ผลิตกรดไขมัน Palmitic acid (C16:0) ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 30.19 ของกรดไขมันทั้งหมด *Saccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB ผลิตกรดไขมัน C18:1 n-9 ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 47.73 ของกรดไขมันทั้งหมด *Zygosaccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB ผลิตกรดไขมัน C18:2 n-6 ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 28.17 ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วน C18:3 n-6 พบสูงสุดใน *Saccharomyces* sp.3 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร SB (3.45 % ของกรดไขมันทั้งหมด) แต่ไม่พบกรดไขมันชนิดกรดอะราชิโดนิก (arachidonic acid, C20:4 n-6) และ กรดไอโคซะเพนตะอีโนอิก (ecosapentaenoic acid, C20:5) ส่วน ดีเอชเอ (C22:6, n-3) พบสูงสุดใน *Saccharomyces* sp.2 ที่เลี้ยงด้วยอาหาร YM (2.38 % ของกรดไขมันทั้งหมด)

3. คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทคิทริด (Thraustochytrids) จากตัวอย่างน้ำบริเวณแนวปะการังและเมือกที่ขูดจากก้อนปะการัง พบ Thraustochytrids จากตัวอย่างน้ำทะเลทั้งสิ้น 30 isolates แต่ไม่สามารถแยกเชื้อให้บริสุทธิ์และเลี้ยงต่อได้

4. ไม่พบจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่ม Thraustochytrids จากตัวอย่างใบหญ้าทะเลชนิดกุ่มช่ายเข็ม และหญ้าชะเงา

#### ข้อเสนอแนะ

1. ควรเก็บตัวอย่างน้ำทะเลจากแหล่งอื่นๆ เพื่อให้ได้ชนิดของจุลินทรีย์ทะเลที่แตกต่างกันมากขึ้น
2. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัว เพื่อให้ได้ปริมาณสูง
3. ควรศึกษาชนิดอื่น ๆ ที่มีความเป็นไปได้ว่าจะพบจุลินทรีย์ทะเล โดยเฉพาะทรอสโทคิทริด เช่น สาหร่ายทะเล เป็นต้น