

รายงานฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำร้อน
เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า
กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี
เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์

นางสาวกัลยาณี ไพฑูรย์รังสฤษดิ์
นางสาววิภาวรรณ เสียงดัง
นางสาวศวรรณี สุธีร์วรพงศ์
นางสาวปณิตตรา ทวีแสง
นางบุษยา บุนนาค
นางสาวภาวิณี พัฒนจันทร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

อุทยานธรรมชาติวิทยาตามพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า
กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี
ประจำปีงบประมาณ 2565



รายงานฉบับสมบูรณ์

การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำร้อน
เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า
กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี
เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์

นางสาวกัลยาณี ไพฑูรย์รังสฤษดิ์
นางสาววิภาวรรณ เสียงดัง
นางสาวศวรรณี สุธีร์วรพงศ์
นางสาวปณิตตรา ทวีแสง
นางบุษยา บุนนาค
นางสาวภาวิณี พัฒนจันทร์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ลิขสิทธิ์ของโครงการส่วนพระองค์สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า
กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา ฯ สยามบรมราชกุมารี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับ**ทุนอุดหนุนการวิจัยภายใต้โครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (พื้นที่ภาคกลาง) สำนักงานคณะกรรมการพิเศษเพื่อประสานงานโครงการอันเนื่องมาจากพระราชดำริ (สำนักงาน กปร.)** ภายใต้การสนับสนุนนี้ก่อให้เกิดการสำรวจและการสร้างองค์ความรู้เกี่ยวกับทรัพยากรธรรมชาติที่มีอยู่ของประเทศ เพื่อการอนุรักษ์ และสร้างความตระหนักให้แก่ เยาวชน และประชาชนทั่วไป รวมทั้งยังนำไปสู่ความก้าวหน้าในด้านวิชาการและการพัฒนาทรัพยากรมนุษย์ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ **นายสุเทพ ไกรเทพ นางสาววาสนา วงศ์ทอง นางสาวเพ็ญประภา อิ่มโอษฐ์ นางสาวพิมพ์วิภา กองแก้ว นางสาวปัทฐมาวดี วงศ์ทอง และนายราเชนทร์ ศรดี เจ้าหน้าที่อุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้ากรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ต. สวนผึ้ง อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี และ นางสาวนารีรัตน์ ปีพิมพ์ นางสาวสายวารี เงินเพิ่มทรัพย์ นายปัญญา ไตรรัตนา และ Miss Hsu Wai Lwin นักวิจัยและนักศึกษา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี** ที่ได้ร่วมดำเนินกิจกรรมต่างๆ และให้คำแนะนำ รวมทั้งขอกราบขอบพระคุณท่าน**ผู้ทรงคุณวุฒิ** ที่ให้ความเห็นและคำแนะนำต่าง ๆ จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ธารน้ำร้อนบ่อคลึง ณ โครงการอุทยานธรรมชาติวิทยาฯ อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี มีอุณหภูมิน้ำแตกต่างกันแล้วแต่ระยะห่างจากตาน้ำตั้งแต่ 38-57 °C จึงเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์และสาหร่ายหลากหลายชนิดที่เจริญได้ในอุณหภูมิที่ต่างกัน การสำรวจสาหร่ายจากในช่วงฤดูร้อน และ ฤดูฝน บริเวณต่าง ๆ ของธารน้ำร้อน ได้แก่ จุดที่ 1 บริเวณจุดตาน้ำ จุดที่ 2 บริเวณที่ห่างจากตาน้ำไม่เกิน 10 เมตร จุดที่ 3 บริเวณกักเก็บน้ำเพื่อการใช้ประโยชน์ และจุดที่ 4 ธารน้ำร้อนก่อนเข้าพื้นที่ให้บริการแก่นักท่องเที่ยว โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย ที่มีทั้งลักษณะเป็นเส้นสาย และ เซลล์เดียว และพบไดอะตอมในบริเวณจุดที่ 4 ซึ่งอุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 40 °C เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างทั้ง 8 ตัวอย่างด้วย Shotgun metagenomics พบว่าสาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึงส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัมไซยาโนแบคทีเรียประมาณร้อยละ 2.999 – 44.428 รองลงมาคือ Bacillariophyta หรือ ไดอะตอม มีประมาณร้อยละ 0.000 – 1.5457 ของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมดในแต่ละตัวอย่าง สามารถจำแนกสาหร่ายได้ 153 จีนัส (genus) โดยสาหร่ายในตัวอย่างจุดที่ 1 และตัวอย่างจุดที่ 2 ส่วนใหญ่อยู่ในจีนัส *Thermosynechococcus* และ *Leptothermofonsia* ตัวอย่างจุดที่ 3 พบสาหร่ายในจีนัส *Fischerella* และ *Calothrix* เป็นหลัก ในขณะที่ตัวอย่างในจุดที่ 4 พบว่ามีความหลากหลายของสาหร่าย โดยมีทั้งสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และไดอะตอม ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิน้ำมีผลต่อชนิดของสาหร่าย และฤดูกาลมีผลต่อปริมาณของสาหร่าย นอกจากนี้การศึกษาด้วย Shortgun metagenomics ยังทำให้ได้ร่างของลำดับเบสจีโนมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus ที่มีขนาด 5,440,127 คู่เบส และ 2,668,062 คู่เบส ตามลำดับ ซึ่งสาหร่ายทั้งสองมักพบในบริเวณน้ำพุร้อน โดยยีนที่พบส่วนใหญ่ใน *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus อยู่ในวิถีเมแทบอลิซึม (metabolic pathway) ต่าง ๆ รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างยาปฏิชีวนะ ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดในทางเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตสารสีที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูง และสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นธารน้ำร้อนบ่อคลึงมีความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กและจุลินทรีย์ต่าง ๆ โดยสาหร่ายมีบทบาทสำคัญในฐานะผู้ผลิตในห่วงโซ่อาหาร องค์ความรู้ที่ได้จากงานวิจัยนี้ ควรนำไปต่อยอดเพื่อการศึกษาเชิงลึกถึงการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย และการอนุรักษ์สาหร่ายและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งปลูกจิตสำนึกในการร่วมอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติให้แก่เยาวชนและประชาชน ผ่านการกระบวนการเรียนรู้ต่างๆ ต่อไป

คำสำคัญ: น้ำพุร้อน สาหร่าย ไซยาโนแบคทีเรีย บ่อคลึง อุทยานธรรมชาติวิทยา

ABSTRACT

Bor Khlueng hot spring is located at the Natural Science Park project in Suan Phueng district, Ratchaburi province, a royal initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn. The temperature of the water ranges from 38–57 °C. Thus, a diverse range of microbes and algae could be found. Exploration of microalgal diversity was carried out at 4 locations along the hot stream: site 1 at the spring, site 2 located less than 10 meters away from the spring, site 3 at the water reservoir area, and site 4 at the hot stream before reaching the tourist service area. Most cyanobacteria (blue-green algae), both filamentous and unicellular cells, were observed in all samples using the microscopic examination. Furthermore, diatoms were found in a sample taken from site 4, where the water temperature was less than 40 °C. Additionally, all eight samples were subjected to a shotgun metagenomics analysis. The results revealed that the microalgae in the hot stream were dominated by the phylum Cyanophyta (cyanobacteria), followed by Bacillariophyta (diatoms), which accounted for around 2.999–44.428% and 0.000–1.5457% of all organisms discovered in each sample, respectively. A total of 153 different microalgal genera were identified. *Thermosynechococcus* and *Leptothermofonsia* were the most abundant microalgal genera in the samples from sites 1 and 2, whereas *Fischerella* and *Calothrix* were the most prevalent genera in the sample from site 3. Additionally, the sample from site 4 had a higher diversity of cyanobacteria and diatoms. The results suggested that water temperature influenced microalgal diversity, while the season influenced the abundance of each algae species. Moreover, a shotgun metagenomics study provided draft genome sequences of two cyanobacteria belonging to the Leptolyngbyaceae family and *Thermosynechococcus* genus, with genome sizes of 5,440,127 bp and 2,668,062 bp, respectively. Most of the genes found in the Leptolyngbyaceae family and *Thermosynechococcus* genus were related to diverse metabolic pathways, including antibiotic synthesis genes. These two cyanobacteria had shown an interest in producing thermostable pigments and antioxidants. As a result, the Bor Khlueng hot

spring was rich in many microorganisms, including microalgae, which played an essential role as producers in the food chain. The knowledge gained should be expanded to potential application of algae and protection of algae and environment as well as raising awareness of the importance of conserving and preserving natural resources among youth and people.

Keywords: Hot spring, algae, cyanobacteria, Bor Khlueng, national science park project

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
Abstract	ค
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
วิธีที่ดำเนินการวิจัยโดยย่อ	3
ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
สาหร่าย	4
ความหลากหลายของสาหร่าย	5
สาหร่ายในประเทศไทย	12
ประโยชน์จากสาหร่าย	12
สาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำพุร้อน (Thermophilic algae)	16
ธารน้ำร้อนบ่อคลึง	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	20
สำรวจและเก็บตัวอย่างกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในธารน้ำร้อนบ่อคลึง	20
สำรวจสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	20
ค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง	21
สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล	24
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	25
การสำรวจกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี	25
การจำแนกชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กภายใต้กล้องจุลทรรศน์	27

หน้า

การค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูงด้วยวิธีเมตาจีโนมิกส์ (metagenomics) 39

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 54

เอกสารอ้างอิง 56

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 รายชื่อและรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างที่เก็บจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง 39
ตารางที่ 2 ข้อมูลจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง 41
ตารางที่ 3 ข้อมูลจำนวน contig ทั้งหมดของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง 42
ตารางที่ 4 ข้อมูลจำนวนยีนที่ได้จากการทำนายหน้าที่ของยีน 43
ตารางที่ 5 สัดส่วนของสาหร่ายที่มีผลรวมสูงสุด 20 อันดับแรก 48

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ธารน้ำร้อนบ่อคลึง 19

รูปที่ 2 แผนผังแสดงวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลเมตาจีโนม ด้วยโปรแกรม SqueezeMeta 24

รูปที่ 3 สภาพแวดล้อม และคุณสมบัติของน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 7 มีนาคม 2565 26

รูปที่ 4 สภาพแวดล้อม และคุณสมบัติของน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 20 มิถุนายน 2565 26

รูปที่ 5 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Thermosynechococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 28

รูปที่ 6 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Leptolyngbya* spp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 29

รูปที่ 7 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Fischerella* spp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 30

รูปที่ 8 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Synechococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 31

รูปที่ 9 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcidiopsis* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 32

รูปที่ 10 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 33

รูปที่ 11 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Aphanothece* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 34

รูปที่ 12 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Calothrix* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 35

รูปที่ 13 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 36

รูปที่ 14 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 37

รูปที่ 15 ไดอะตอม *Achanathidium* spp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ 38

รูปที่ 16 ผลการตรวจสอบคุณภาพของ genomic DNA ของตัวอย่างที่เก็บจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง โดยวิธี Agarose gel electrophoresis 40

รูปที่ 17 แผนผังแสดงสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงระดับ Kingdom 44

รูปที่ 18 แผนผังแสดงสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตพบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงระดับไฟลัม 45

รูปที่ 19 แผนผังแสดงสัดส่วนของสาหร่าย (algae) ที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงในระดับไฟลัม 46
รูปที่ 20 แผนผังแสดงสัดส่วนของสาหร่ายในระดับจีนัสทั้งหมดที่พบในแต่ละไฟลัม 49
รูปที่ 21 แผนผังแสดงจำนวนของ COG ID ที่พบสูงสุด 10 อันดับแรกในแต่ละตัวอย่าง 51
รูปที่ 22 ยีนของ *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus ที่ทำหน้าต่างๆ ภายในเซลล์ จากฐานข้อมูล KEGG 52

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

สาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรีย โดยทั่วไปเรียก สาหร่าย เป็นสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อการเจริญเติบโตและผลิตสารชีวเคมี สาหร่ายถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งด้านอาหาร เครื่องดื่ม เครื่องสำอาง และเภสัชกรรม เช่น ใช้สาหร่ายเป็นอาหารเสริม เนื่องจากมีโปรตีนสูงและมีกรดไขมันจำเป็นชนิดไม่อิ่มตัว ใช้สาหร่ายเป็นแหล่งผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ต้านไวรัส ต้านสารอนุมูลอิสระ (Tuney et al., 2006; Patra et al., 2009; Mata et al., 2010) นอกจากนี้ สาหร่ายยังผลิตรงควัตถุหลายชนิดที่มีการใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ เช่น แอสต้าแซนทีน (Astaxanthin) เป็นสารสีแดง กลุ่มคาโรทีนอยด์ (carotenoid) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และ ไฟโคบิลลิโปรตีน (phycobiliprotein) (Mata et al., 2010) ซึ่งถูกนำไปใช้เป็นสีธรรมชาติแทนการใช้สีน้ำเงินสังเคราะห์อย่างแพร่หลาย (Singh et al., 2005) เป็นต้น

สภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทย มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย หลายชนิด โดยสามารถอ้างอิงจากรายงานการสำรวจสาหร่ายน้ำเค็มและน้ำจืดในประเทศไทยทั้งสาหร่ายขนาดเล็กและขนาดใหญ่ โดย Lewmanomont และคณะ (1995) พบสาหร่ายน้ำเค็มจำนวน 132 จีนัส (genus) 333 ชนิด (species) ขณะที่พบสาหร่ายน้ำจืดจำนวน 161 จีนัส 1001 ชนิด 287 พันธุ์ (variety) และ 63 แบบ (form) Peerapornpisal (2013) ได้แสดงให้เห็นถึงประโยชน์และความสำคัญของสาหร่ายในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ ด้านการลดก๊าซเรือนกระจก ด้านอาหาร ด้านอุตสาหกรรม ด้านการใช้เป็นพลังงานชีวภาพ ด้านเกษตรกรรม ด้านการแพทย์ ด้านบำบัดน้ำเสีย ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ ด้านการใช้ไดอะตอมเป็นหลักฐานทางนิติเวชศาสตร์ และด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังได้มีการรวบรวมสาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทยที่น่าสนใจจำนวน 179 จีนัส ที่พบในแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่เป็นน้ำไหล น้ำไหลเอื่อย น้ำนิ่ง น้ำพุร้อน ดินชื้น ในลักษณะน้ำที่มีคุณภาพดี และไม่ดี โดยสาหร่ายที่พบอาจเจริญในลักษณะที่ล่องลอยไปตามกระแสน้ำ หรือเกาะยึดกับก้อนหิน กรวด กิ่งไม้ วัตถุต่าง ๆ ซึ่งลักษณะของสาหร่ายอยู่ในรูปเส้นสาย หรือ ทัลลัส หรือ คราบสีน้ำตาลหรือสีเขียวเคลือบอยู่บนวัตถุ

น้ำพุร้อนเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่มีการพบสาหร่าย จากการศึกษาของ Sompong และคณะ (2005) ในน้ำพุร้อน 9 แห่งทางภาคเหนือของไทย ได้แก่ น้ำพุร้อนสันกำแพง โป่งเดือด เทพพนม แม่ฝาง ดอยสะเก็ด

ท่าปาย แจ้ซ้อน แม่จัน และห้วยหมากเลี่ยม ซึ่งมีอุณหภูมิในช่วง 30°C - 80°C พบ ไซยาโนแบคทีเรียชนิดต่างๆ จำนวน 9 จีนัส 36 ชนิด ตัวอย่างเช่น *Phormidium boryanum* , *Synechococcus lividus, Synechococcus* sp. , *S. bigranulatus, Chroococcus thermalis, Calothrix thermalis Chroococcidiopsis thermalis*, *Pseudanabaena catenata* และ *Lyngbya sp.* เป็นต้น โดยในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 40 °C - 80 °C จะพบไซยาโนแบคทีเรีย *S. lividus* และ *Synechococcus* sp. เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่พบ *P. boryanum* ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30 °C - 60 °C เนื่องจากไซยาโนแบคทีเรีย เหล่านี้สามารถเจริญได้ในภาวะอุณหภูมิสูง ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่สารชีวเคมีจากสาหร่ายขนาดเล็กหรือไซยาโนแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีคุณสมบัติที่ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี

เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี มีแหล่งน้ำพุร้อน ซึ่งเป็นที่อยู่ของสาหร่าย จากข้อสังเกตดังกล่าว จึงนำมาสู่สมมติฐานว่าสาหร่ายที่พบเหล่านี้น่าจะเป็นกลุ่มสาหร่ายที่ทนต่ออุณหภูมิสูงได้ดี และน่าจะผลิตสารสำคัญต่าง ๆ ที่มีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูง รวมทั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถต่อต้าน oxidative stress ที่อาจมีศักยภาพนำไปใช้ให้เกิดประโยชน์ได้ในอนาคต ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจสาหร่ายในแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี และสืบค้นแนวทางการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายเหล่านี้จากข้อมูลยีนที่ค้นพบ

2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เพื่อศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในเขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี อ. สวนผึ้ง จ. ราชบุรี และสืบค้นแนวทางการใช้ประโยชน์ของสาหร่ายจากข้อมูลยีนค้นที่พบ

3. ขอบเขตของการวิจัย

3.1 การสำรวจกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ในฤดูร้อน และฤดูฝน

3.2 การจำแนกชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3.3 การค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง

4. วิธีที่ดำเนินการวิจัยโดยย่อ

4.1 สำรวจกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยา ตามพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ช่วงเดือน มกราคม-มีนาคม และ ช่วงเดือน พฤษภาคม-มิถุนายน 2565

โดยสุ่มเก็บตัวอย่างสาหร่ายจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันจำนวน 4 จุด

4.2 สำรวจสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ที่มีกำลังขยายสูงสุด 1000 เท่า โดยจำแนกชนิดของสาหร่ายตามลักษณะสัณฐานวิทยา

4.3 ค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง

การศึกษาเบื้องต้นนี้เป็นการค้นหายีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง โดยนำตัวอย่างน้ำจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงทั้งหมดมาสกัด DNA เพื่อหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มจุลินทรีย์ด้วยวิธี Shotgun Metagenomics โดยใช้เทคโนโลยี Illumina และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้เครื่องมือด้านระบบชีวสารสนเทศ เพื่อการจัดกลุ่มอนุกรมวิธาน การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำพุร้อน รวมทั้งกลุ่มหน้าที่ของยีนที่พบ

5. ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

5.1 ฐานข้อมูลด้านความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กในบริเวณธารน้ำร้อนบ่อคลึง

5.2 สื่อให้ความรู้เรื่อง สาหร่ายขนาดเล็กในธารน้ำร้อนบ่อคลึง

บทที่ 2

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สาหร่าย

สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสง ที่สามารถสร้างอาหารได้เอง โดยใช้ น้ำ และ คาร์บอนไดออกไซด์ รวมทั้งแร่ธาตุต่าง ๆ เป็นวัตถุดิบ และมีแสงกับรงควัตถุคือ คลอโรฟิลล์ ทำหน้าที่ในการดูดซับพลังงานแสง และ ยังมีรงควัตถุอื่น ๆ เช่น แคโรทีนอยด์ ซึ่งเป็นสารสีเหลือง ส้ม และ แดง ที่ดูดซับพลังงานแสงในช่วงคลื่นต่างๆ แล้วส่งต่อพลังงานแสงนั้นให้กับคลอโรฟิลล์ เพื่อใช้ในการสังเคราะห์แสง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์คือ น้ำตาล น้ำและผลิตออกซิเจน โดยน้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นสารชีวเคมีอื่น ๆ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของสาหร่าย หรือสะสมไว้ภายในเซลล์ เพื่อเป็นแหล่งพลังงาน ส่วนออกซิเจนที่ผลิตได้ จะถูกปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม ให้กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

จากการศึกษาซากดึกดำบรรพ์ (ฟอสซิล) และวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสง พบว่า สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเป็นสิ่งมีชีวิตที่เกิดขึ้น ตั้งแต่ 2700 ล้านปีก่อน และเป็นผู้ผลิตออกซิเจนให้กับสิ่งมีชีวิตนับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา ในขณะที่สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีน้ำตาล เกิดขึ้นเมื่อ 1200 ล้านปีก่อน โดยสาหร่ายกลุ่มนี้มีรงควัตถุไฟโคบิลินและคลอโรฟิลล์ เช่นเดียวกับที่พบในไซยาโนแบคทีเรีย เมื่อประมาณ 750 ล้านปีก่อน พบสาหร่ายสีเขียว โดยสาหร่ายสีเขียวทนความเข้มแสงสูงได้ดีกว่า สาหร่ายสีแดงและสาหร่ายสีน้ำตาล แต่สาหร่ายสีเขียวไม่มีรงควัตถุ ไฟโคบิลิน นอกจากนี้สาหร่ายสีเขียววิวัฒนาการไปเป็นพืชบกตั้งแต่ ประมาณ 475 ล้านปีที่แล้ว โดยเป็นกลุ่มพืชที่ไม่มีเนื้อเยื่อลำเลียง อยู่ในที่ชื้นแฉะ มีโครงสร้างของเซลล์คล้ายคลึงกับสาหร่ายสีเขียว เช่น มอส (moss) ลิเวอร์เวิร์ต (liverwort) ฮอร์นเวิร์ต (hornwort) ในขณะที่พืชบนดินหรือบนบก พวกแรกที่มีเนื้อเยื่อลำเลียง เกิดขึ้นประมาณ 423 ล้านปีก่อน ซึ่งไม่มีรากและใบที่แท้จริง มีแต่ลำต้นที่หยั่งลงดิน ลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดินทำหน้าที่สังเคราะห์แสง เช่น เฟิร์น พืชใบเลี้ยงเดี่ยว และพืชใบเลี้ยงคู่ โดยรงควัตถุที่พบในพืช เช่น คลอโรฟิลล์ เอ และ บี คาโรทีนอยด์ ชนิด คาโรทีน (สีส้ม) และแซนโทฟิลล์ (สีเหลือง) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พบในสาหร่ายสีเขียว จึงเป็นหนึ่งในเหตุผลสนับสนุนว่าพืชมีวิวัฒนาการมาจากสาหร่ายสีเขียว (Kiang, 2008)

สาหร่ายแตกต่างจากพืชชั้นสูง เพราะไม่มีส่วนที่เป็นราก ลำต้น และใบที่แท้จริง นอกจากนี้รงควัตถุที่ใช้สำหรับการสังเคราะห์แสงของสาหร่ายมีความหลากหลายมากกว่าพืช และเซลล์ของสาหร่ายมีลักษณะเฉพาะที่ไม่พบในพืชและสัตว์ สาหร่ายถูกจัดอยู่ในกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สังเคราะห์แสงในน้ำเป็นส่วนใหญ่ โดยรวมสิ่งมีชีวิตที่เป็นกลุ่มโพรแคริโอต (Prokaryote) และกลุ่มยูแคริโอต (Eukaryote) โดยกลุ่ม

โพรคาริโอต (Prokaryote) เป็นสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์เซลล์ภายในเซลล์ และไม่มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส สาหร่ายในกลุ่มนี้ คือ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (Bluegreen algae) หรือ ไซยาโนแบคทีเรีย (Cyanobacteria) ในขณะที่สาหร่ายกลุ่มยูแคริโอต มีออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้ม เช่น นิวเคลียส (Nucleus) ไมโตคอนเดรีย (Mitochondria) และพลาสมิด (Plasmid) เป็นต้น สาหร่ายในกลุ่มนี้ ได้แก่ สาหร่ายทุกชนิด ยกเว้นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย

สาหร่ายมีหลากหลายขนาด โดยตั้งแต่เล็กมากต้องมองด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งอาจมีเพียงเซลล์เดี่ยว ไปจนถึงขนาดใหญ่ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ประกอบด้วยเซลล์จำนวนมาก อาจเป็นเส้นสาย หรือมีลักษณะคล้ายพืชชั้นสูง เช่น สาหร่ายเคลป์ยักษ์ที่มีความยาวถึง 60 เมตร (200 ฟุต) ด้วยลักษณะดังกล่าว จึงทำให้จำแนกสาหร่ายได้เป็นสองกลุ่มหลัก คือ สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) และสาหร่ายขนาดใหญ่ (Macroalgae) สาหร่ายถูกพบได้ในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย เช่น ทะเล น้ำกร่อย และน้ำจืด ดิน หิน หิมะ น้ำพุร้อน และน้ำเสียทิ้ง สาหร่ายยังมีบทบาทที่สำคัญทางนิเวศวิทยาในห่วงโซ่อาหารฐานะผู้ผลิตออกซิเจนและเป็นอาหารขั้นต้นสำหรับสิ่งมีชีวิตในน้ำเกือบทั้งหมด นอกจากนี้สาหร่ายยังมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยเป็นแหล่งอาหารและผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น อาหารเสริม ทั้งมนุษย์และสัตว์ เครื่องสำอาง ส่วนประกอบในอาหารต่าง ๆ และเป็นแหล่งพลังงานเชื้อเพลิงชีวภาพ รวมทั้งมีบทบาทสำคัญในการตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

ความหลากหลายของสาหร่าย

เนื่องจากสาหร่าย เป็นคำเรียกทั่วไป สำหรับกลุ่มสิ่งมีชีวิตสังเคราะห์แสงที่ให้ออกซิเจน ซึ่งรวมสิ่งมีชีวิตที่เป็นกลุ่มโพรแคริโอต (Prokaryote) และกลุ่มยูแคริโอต (Eukaryote) จึงทำให้สาหร่ายมีความแตกต่างกัน ในหลาย ๆ ด้าน ซึ่งรวมทั้งชนิดอาหารที่สะสมไว้ภายในเซลล์ สารประกอบทางเคมีของผนังเซลล์ ลักษณะและตำแหน่งของอวัยวะที่ใช้ในการเคลื่อนที่ (Flagella) และการสืบพันธุ์แตกต่างกัน ปัจจุบันความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ ทำให้จัดจำแนกสาหร่ายของนักพฤกษศาสตร์หลายกลุ่มมีความแตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับเกณฑ์ที่ใช้ อย่างไรก็ตาม หากจำแนกสาหร่ายออกเป็นกลุ่มๆ ตามลักษณะสัณฐานวิทยาตามหนังสือของ ยุวดี พีรพรพิศาล (2549) ที่ยึดตาม Bold and Wynne (1985) ทำให้จำแนกสกุลและชนิดของสาหร่ายออกเป็น 9 ดิวิชั่น (Division) หรือ ไฟลัม (Phylum) ดังนี้ Cyanophyta Chlorophyta Charophyta Euglenophyta Phaeophyta Chrysophyta Pyrrhophyta Cryptophyta และ Rhodophyta

1 Cyanophyta (สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน)

สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (blue green algae หรือ cyanophytes หรือ cyanobacteria) เป็นสาหร่ายในกลุ่มโปรคาริโอต มีคุณสมบัติคล้ายแบคทีเรีย สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดสามารถตรึงไนโตรเจนได้ จากการศึกษารูปร่างและโครงสร้างของเซลล์ (ultrastructure) และอณูพันธุศาสตร์ (molecular genetics) แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าไซยาโนแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative) อย่างไรก็ตาม สาหร่ายชนิดนี้ มีคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll *a*) และมีการปลดปล่อยออกซิเจนจากกระบวนการสังเคราะห์แสง ที่ไม่พบในแบคทีเรียสังเคราะห์แสงชนิดอื่น ๆ คำว่า “เขียวแกมน้ำเงิน (blue-green หรือ cyano) มาจากสีของไซยาโนแบคทีเรียหลายชนิดที่มีรงควัตถุไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นสารสีน้ำเงิน ที่ช่วยดูดกลืนแสงในช่วงสีแดง สาหร่ายบางชนิดมีไฟโคอีรีทรินที่มีการดูดกลืนแสงในช่วงสีเขียวที่อยู่ระหว่างช่วงสีน้ำเงินและสีแดง ที่เป็นช่วงแสงที่ถูกดูดกลืนได้ด้วยคลอโรฟิลล์ เอ ปัจจุบันสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดมี คลอโรฟิลล์ บี สามารถแทนที่ไฟโคบิลินเกือบทั้งหมด (ไฟโคไซยานินและไฟโคอีรีทีน) สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีคลอโรฟิลล์ บี เช่น *Prochlorococcus* สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดมีคลอโรฟิลล์ ดี ที่ดูดซับความยาวคลื่นแสงใกล้กับช่วงอินฟราเรดได้ สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบได้ทั้งในน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำกร่อย บางชนิดลอยตามผิวน้ำ บางชนิดเกาะกับพืชอื่น หรือก้อนหิน บางชนิดอาศัยอยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิตอื่น เช่น ในโปรโตซัว ไฮดรา หรือฟองน้ำ ในแหล่งน้ำธรรมชาติ รวมทั้งยังพบสาหร่ายชนิดนี้ในบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงมาก เช่น น้ำพุร้อน หรือ ที่อุณหภูมิต่ำมาก เช่น ในหิมะ จากซากดึกดำบรรพ์ ในยุค Archaezoic ซึ่งพบสาหร่ายกลุ่มนี้ ทำให้สาหร่ายกลุ่มนี้เป็นสิ่งมีชีวิตที่โบราณที่สุดในกลุ่มสิ่งมีชีวิตทั้งหลายที่มีคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า พลาสมิดของสาหร่ายกลุ่มยูแคริโอตและพืชมาจาก endosymbiotic cyanobacteria (ยุวดี, 2549; Raven and Giordano, 2014)

2 Chlorophyta (สาหร่ายสีเขียว)

คลอโรไฟตา (Chlorophyta) สาหร่ายในกลุ่มนี้ โดยทั่วไปเรียกว่าสาหร่ายสีเขียว (green algae) มีรงควัตถุที่ประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ เอและคลอโรฟิลล์ บี และเก็บสะสมแป้งเป็นอาหารสำรองไว้ในพลาสมิด สาหร่ายสีเขียวส่วนใหญ่มีผนังเซลล์ที่แข็งแรงซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลสพร้อมกับโพลีแซคคาไรด์และโปรตีนอื่น ๆ บางชนิดมีเปกติน (Pectin) เคลือบอยู่ภายนอก และบางชนิดมีแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium Carbonate) โดยสาหร่ายในกลุ่มนี้ บางชนิดมีเซลล์เดี่ยว บางชนิดมีหลายเซลล์และมีความซับซ้อนอย่างมาก การสืบพันธุ์เป็นทั้งแบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งเป็น 2 ส่วนเท่า ๆ กัน ในพวกเซลล์เดี่ยว การแตกหักของเส้นสาย (Fragmentation) หรือสร้างสปอร์ และแบบอาศัยเพศ โดยการ

คอนจูเกชัน (Conjugation) หรือการปฏิสนธิ (Fertilization) สาหร่ายสีเขียวจัดเป็นกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด พบได้หลากหลายของระบบนิเวศ ทั้งที่เป็นสิ่งมีชีวิตอิสระ อยู่ในน้ำจืด น้ำเค็ม และน้ำกร่อย บางชนิดลอยตามผิวน้ำ บางชนิดเกาะกับ พืชอื่นหรือก้อนหิน แต่สาหร่ายสีเขียวบางชนิดสามารถอาศัยอยู่บนหิมะ บนลำต้นของต้นไม้ ในดิน บางชนิดอาศัยอยู่ในเซลล์สิ่งมีชีวิตอื่น เช่น โปรโตซัว ไฮดรา หรือราที่ก่อตัวเป็นไลเคน ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีสีเขียว จะพบสาหร่ายในกลุ่มนี้เป็นส่วนใหญ่ (ยุวดี, 2549; Raven and Giordano, 2014)

3 Charophyta (สาหร่ายไฟ)

แคโรไฟตา (Charophyta) หรือ สาหร่ายไฟ หรือสโตนเวิร์ตส์ (Stoneworts) เป็นสาหร่ายน้ำจืดมีขนาดใหญ่ ในกลุ่มนี้พบมากในบ่อน้ำจืดในทะเลสาบ หรือแหล่งน้ำที่มีหินปูนละลายอยู่ มีการแตกกิ่งแขนงคล้ายพืชชั้นสูง (Whoried) มีไรซอยด์ยึดเกาะพื้นดินทำหน้าที่คล้ายราก และไรซอยด์ยังช่วยขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้อีกด้วย สาหร่ายในกลุ่มนี้จะมีลักษณะค่อนข้างคล้ายกับมอส ความคล้ายคลึงกันเหล่านี้ทำให้นักวิทยาศาสตร์บางกลุ่มระบุว่า charophytes เป็นบรรพบุรุษของมอส โดยสีเขียวที่เห็นมาจากคลอโรฟิลล์ เอ และ บี อาหารสะสมในเซลล์เป็นแป้ง และผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส (ยุวดี, 2549; Raven and Giordano, 2014)

4 Euglenophyta (สาหร่ายยูกลีนอยด์)

สาหร่ายในกลุ่มนี้เรียกโดยทั่วไปว่ายูกลีนอยด์ (Euglenoid) มีอยู่ 2 พวกคือ พวกที่สังเคราะห์อาหารเองได้ และพวกที่สังเคราะห์อาหารเองไม่ได้ ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างเป็นเซลล์เดี่ยว เคลื่อนที่ได้ มีลักษณะคล้ายโปรโตซัว พบได้ทั้งในน้ำ ดินชื้นแฉะ ในน้ำเค็ม รูปร่าง เป็นเซลล์เดี่ยวค่อนข้างยาว เคลื่อนที่ได้โดยใช้ แฟลเจลลัม พวกที่คล้ายสัตว์รูปร่างไม่คงที่ในขณะที่เคลื่อนที่ ได้แก่ ยูกลีนา และ ฟาคัส (Phacus) ถึงแม้จะเป็นพวกสร้างอาหารเองได้ แต่ก็สามารถกินอาหารจากสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ได้ ยูกลีนอยด์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการแบ่งเซลล์ตามความยาวและเกิดขณะที่เซลล์เคลื่อนที่ ลักษณะที่สำคัญของสาหร่ายในกลุ่มนี้คือ มีคลอโรฟีลล์ เอ และ เบต้า คาโรทีน และ แซนโทฟิลล์ สะสมอาหารประเภทแป้งที่เรียกว่า พาราไมลัม (Paramylum) ผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส บางชนิดมีแคลเซียมและซิลิกอนปนอยู่ มีแฟลกเจลลา สาหร่ายในกลุ่มนี้มีหลายประเภท เช่น ประเภทเคลื่อนที่ได้เช่น วอลวอก (*Volvox*) ยูกลีนา (*Euglena*) ประเภทเคลื่อนที่ไม่ได้เช่น ซินนิเดสมัส (*Scenedesmus*) เพดิแอสตรัม (*Pediastrum*) และประเภทเซลล์เดี่ยวเคลื่อนที่ไม่ได้ เช่น คลอสทีเรียม (*Closterium*) (ยุวดี, 2549; Lee, 2008)

5 Phaeophyta (สาหร่ายสีน้ำตาล)

ฟีโอไฟตา (Phaeophyta) โดยทั่วไปเรียกว่า สาหร่ายสีน้ำตาล โดยสีของสาหร่าย ส่วนใหญ่เกิดจากรงควัตถุฟูโคแซนทีน ซึ่งมีสีน้ำตาล ตั้งแต่สีเบจอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาลเหลืองจนถึงเกือบดำ ที่มีมากกว่าคลอโรฟิลล์ เอ และ ซี สาหร่ายในกลุ่มนี้เกือบทั้งหมดอยู่ในทะเล มักอาศัยอยู่ตามชายฝั่งหินในน้ำเย็นและน้ำอุณหภูมิปานกลางทั่วโลก ในทะเลเขตร้อน สาหร่ายมีขนาดตั้งแต่เส้นใยขนาดเล็กไปจนถึงความยาวหลายเมตร โดยสาหร่ายทะเลยักษ์หรือเคลป์ มีความยาว 60-70 เมตร เช่น *Macrocystis pyrifera* ซึ่งก่อตัวเป็นป่าสาหร่ายขนาดใหญ่เพื่อเป็นที่อยู่อาศัยและที่หลบภัยของสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ สำหรับบริเวณน่านน้ำเขตร้อนมีสาหร่ายสีน้ำตาลน้อยกว่า โดยส่วนมากจะพบสาหร่าย *Sargassum* (สาหร่ายทุ่น) และ *Turbinaria* (สาหร่ายจอก) ดังนั้นรูปร่างของสาหร่ายในกลุ่มนี้จึงแตกต่างกันไป สาหร่ายสีน้ำตาลมีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ โดยมีวงชีวิตแบบสลับ (Alternation of generation) คล้ายกับพืช ผนังเซลล์ของสาหร่ายกลุ่มนี้เป็นสารพวกเซลลูโลสและกรดอัลจินิก (alginic acid) ซึ่งสามารถสกัดสารอัลจิน (algin) มาใช้ประโยชน์ได้ สาหร่ายชนิดนี้สะสมอาหารได้แก่ โพลีแซกคาไรด์ที่ละลายน้ำ ได้แก่ ลามินาริน (Laminarin) หรือลามินาเรน (Laminaran) น้ำตาลจำพวกซูโครส (Sucrose) และกลีเซอรอล (Glycerol) และแมนนิตอล (Mannitol) ที่พบเฉพาะในสาหร่ายสีน้ำตาลเท่านั้น ปัจจุบันสาหร่ายเคลป์ขนาดใหญ่ถูกเก็บเกี่ยวเพื่อนำมาใช้เป็นสารทำให้คงตัวของอิมัลชันในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น ไอศกรีม นอกจากนี้ ยังใช้เป็นปุ๋ยและเป็นแหล่งอาหารที่อุดมด้วยวิตามิน (ยุวดี, 2549; Wehr, 2015)

6 Chrysophyta (สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง และไดอะตอม)

คริสโซไฟตา (Chrysophytes) ตามระบบของ Bold and Wynne (1985) ได้รวมกลุ่มสาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง (Golden-brown algae หรือ Class Chrysophyceae) สาหร่ายสีเขียวแกมเหลือง (yellow-green algae หรือ Class Xanthophyceae) และไดอะตอม (diatom หรือ Class Bacillariophycease) เข้ามาไว้ด้วยกัน โดยอาศัยลักษณะที่สำคัญร่วมกันคือ สาหร่ายกลุ่มนี้มีรงควัตถุแคโรทีนอยด์มากกว่าคลอโรฟิลล์ เอ และซี และมีการสะสมอาหารในรูปคริสโสลามินาแรน (ยุวดี, 2549)

โดยสาหร่ายสีน้ำตาลแกมทองมีรูปร่างแตกต่างกัน ส่วนใหญ่เป็นเซลล์เดี่ยว ไรโซโปเดียล โคโลนี หรือ พาล์เมลลอยด์ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง ส่วนใหญ่พบในแหล่งน้ำจืด โดยเฉพาะที่มีปริมาณแคลเซียมต่ำ ภายในเซลล์มีรงควัตถุคลอโรฟิลล์ เอ และซี และรงควัตถุกลุ่มแคโรทีนอยด์ เช่น แอลฟา เบต้า และ เอพซีลอน แคโรทีน รวมทั้ง ฟูโคแซนทีน (Fucoxanthin) ไม่มีผนังเซลล์แต่มีเยื่อหุ้มเซลล์ที่มีสารซิลิกา ทำให้ลักษณะผิวด้านนอกขรุขระ บางชนิดเยื่อหุ้มเซลล์มีสารลอริกา (lorica) ซึ่งเป็นสารประเภทไคตินหรือเซลลูโลส ทำให้เซลล์คงรูปร่าง สาหร่ายชนิดนี้มีลวดลายบนผนังเซลล์ที่มีลักษณะเป็น

แผ่นเกล็ดเล็ก ๆโดยเกล็ดเหล่านี้อาจมีหนาม หรือไม่มีหนาม รวมทั้งสามารถสร้างซีสต์ ที่มีชื่อว่า สแตโตสปอร์ (Statospore) ที่มีรูปร่างกลม รี หรือมีลวดลาย ลักษณะของผนังเซลล์และลวดลายบนสแตโตสปอร์สามารถช่วยในการจัดจำแนกสปีชีส์ของสาหร่ายกลุ่มนี้ได้ สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทองเก็บอาหารไว้นอกคลอโรพลาสต์ในรูปของโพลีแซคคาไรด์ลามินาริน (Polysaccharide laminarin) หรือคริสโสลามินาริน (Chrysolaminarin) รวมทั้งน้ำมัน สาหร่ายสีน้ำตาลแกมทองทุกสปีชีส์มีแฟลกเจลลา ส่วนใหญ่สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ แต่ก็มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยเช่นกัน

สาหร่ายสีเขียวแกมเหลืองมีความแตกต่างจากสาหร่ายสีน้ำตาลแกมทอง คือสาหร่ายสีเขียวแกมเหลืองส่วนใหญ่มีคลอโรฟิลล์ เอ มากกว่าคอลโรฟิลล์ ซี และมีรงควัตถุ เบต้าแคโรทีน และเซนโทฟิลล์ชนิดเด่น คือ ไดอะไดโนแซนธิน โครงสร้างของผนังเซลล์ ส่วนใหญ่เป็นเซลลูโลส ลักษณะของผนังเซลล์ประกอบด้วย 2 frustule ที่ประกบกันสนิท มีรูปร่างหลายแบบ เช่น เซลล์เดี่ยว อาจมีหรือไม่มีแฟลเจลลัม โคโลนี เส้นสาย การสร้างซีสต์ พบเฉพาะในจีนัสที่มีแฟลเจลลัม ในขณะที่บางจีนัสที่มีเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นสายลักษณะของผนังเซลล์จะเป็นรูปตัว “H” เรียงต่อกัน สาหร่ายชนิดนี้พบในน้ำจืด น้ำเค็ม และในดิน แต่ส่วนใหญ่พบในน้ำจืด และพบในดินมากกว่าน้ำเค็ม

กลุ่มไดอะตอม พบอยู่มากมายในสิ่งแวดล้อมทั้งน้ำจืดและทะเล ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแพลงก์ตอนพืช ส่วนใหญ่เป็นเซลล์เดี่ยว แต่อาจเป็นโคโลนี (colony) หรือเส้นสาย (filamentous) ก็ได้ โดยเซลล์เดี่ยวมีผนังเซลล์ ฝา หรือ (frustule) ประกอบด้วยซิลิกาและประกบด้วยสองซีก โดยซีกหนึ่งซ้อนทับกันกับอีกซีกหนึ่งคล้ายฝากล่อง โดยทั่วไปแล้ว frustule ของไดอะตอมแต่ละสายพันธุ์นั้นมีหลากหลายรูปแบบ และลวดลาย รวมทั้งการที่ซิลิกาแทรกเข้าไปในผนังเซลล์ ทำให้รูปร่างสมมาตรที่เกิดขึ้นแบ่งไดอะตอมออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่ม Pennate diatom เซลล์สมมาตรแบบซีกซ้ายและซีกขวาเท่ากัน และกลุ่ม Centric diatom เซลล์ที่มีสมมาตรแบบรัศมี ซึ่งลักษณะผนังเซลล์และลวดลายต่าง ๆ สามารถนำมาใช้ในการจำแนกชนิดของไดอะตอม ไดอะตอมส่วนใหญ่มีพลาสติดสีน้ำตาลที่มีคลอโรฟิลล์ เอ และซี และฟิวโคแซนธิน วิธีการสืบพันธุ์หลักคือการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแบ่งเซลล์ตามขวางออกเป็นสองส่วนเท่ากัน ไดอะตอมส่วนใหญ่สังเคราะห์แสงได้ แต่ก็มีบางชนิดที่ไม่มีคลอโรฟิลล์และอาศัยอยู่แบบเฮเทโรทรอฟ (Heterotroph) ท่ามกลางสาหร่ายทะเลที่เน่าเปื่อย บางชนิดมีความสามารถในการเคลื่อนที่แบบ gliding motility เมื่อสัมผัสกับพื้นผิว ทั้งนี้กลุ่ม Pennate diatoms พบได้ทั้งในแหล่งน้ำจืดและในทะเล ทั้งที่เป็นแพลงก์ตอน หรือเกาะอยู่ตามโขดหิน เป็นต้น ในขณะที่ Centric diatoms ส่วนใหญ่พบในทะเล ผนังเซลล์ที่เป็นซิลิกาจัดเป็นองค์ประกอบสำคัญของตะกอนใต้ท้องทะเลลึก ไดอะตอมมีมากกว่า 100,000 สปีชีส์ ปัจจุบันนักพฤกษศาสตร์ได้จัดแยกไดอะตอมเป็นดิวิชั่นเดี่ยว ๆ คือ Division Bacillariophyta (Medlin et al., 1993)

7 Pyrrhophyta

Pyrrophyta หรือ สาหร่ายไดโนแฟลกเจลเลต (Dinoflagellates) เป็นสาหร่ายเซลล์เดี่ยว ลักษณะเซลล์แบนมีร่องตามขวางและตามยาว โดยมีแฟลกเจลลาสองเส้นอยู่ในร่องนี้ สาหร่ายชนิดนี้ส่วนมากมีเยื่อหุ้มเซลล์ แต่บางชนิดมีผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส หรือบางชนิดมี Cellulose Plate ในเยื่อหุ้มเซลล์ Thecal Plate จึงมีลักษณะคล้ายเกราะ สาหร่ายชนิดนี้มีรงควัตถุคลอโรฟิลล์ เอ ซี รงควัตถุสีน้ำตาลทอง ซึ่งรวมถึง เพอริดินัม (peridinum) และไดโนแซนธิน (dinoxanthin) อาหารสะสมในเซลล์ได้แก่แป้งและน้ำมัน ไดโนแฟลเจลเลตส่วนใหญ่แบ่งเซลล์แบบไม่อาศัยเพศ แต่มีบางชนิดสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ สาหร่ายชนิดนี้สร้างอาหารได้เองผ่านกระบวนการสังเคราะห์แสง (autotrophy) หรือการใช้สารอินทรีย์จากสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ แบบเฮเทโรทรอฟ (heterotroph) หรือแบบ mixotrophy ที่ผสมผสานทั้งการใช้การสังเคราะห์แสงและการใช้สารอินทรีย์ สาหร่ายกลุ่มนี้ปรับตัวเข้ากับแหล่งที่อยู่อาศัย โดยลอยน้ำ เกาะติด ตามแหล่งที่อยู่ พบได้ตั้งแต่ทะเลอาร์กติกไปจนถึงทะเลเขตร้อน และความเค็มตั้งแต่น้ำจืดปากแม่น้ำ ไปจนถึงน้ำเค็ม พบหลายชนิดอาศัยอยู่ตามแหล่งอาศัยต่าง ๆ อาศัยอยู่ตามแพลงก์ตอนหรืออาศัยอยู่ตามตะกอน ทราย ปะการัง หรือตามพื้นผิวของสาหร่ายขนาดใหญ่หรือตามพืชน้ำอื่น ๆ บางชนิดพบเป็นปรสิตในสัตว์ทะเลไม่มีกระดูกสันหลังและปลา บางชนิดทำหน้าที่คล้ายซิมไบโอตหรือที่เรียกว่าซูแซนเทลลี (zooxanthellae) โดยให้คาร์บอนอินทรีย์แก่โฮสต์ (host) ของพวกมัน ได้แก่ ปะการังที่สร้างแนวปะการัง ฟองน้ำ หอยกาบ แมงกะพรุน ดอกไม้ทะเล และปลาหมึก ไดโนแฟลเจลเลตได้รับความสนใจอย่างมากจากคนทั่วไปในช่วงเวลาไม่นานมานี้ ตัวอย่างเช่นการเกิด algae bloom โดยไดโนแฟลเจลเลตอาจทำให้น้ำเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดงที่เรียกว่า "น้ำแดง" หรือปรากฏการณ์ขี้ปลาวาฬ (Red tide) กระแสน้ำสีแดงอาจส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ไดโนแฟลเจลเลตบางชนิดยังสร้างพิษต่อระบบประสาทอีกด้วย สารพิษเหล่านี้จะถูกส่งต่อไปยังห่วงโซ่อาหาร ไปจนถึงมนุษย์ และบางครั้งอาจส่งผลให้ระบบประสาทเสียหายถาวรหรือถึงขั้นเสียชีวิตได้ สาหร่ายนี้พบมากในทะเล บางพวกเรืองแสงได้ในที่มืด (Bioluminescence) ที่เราเรียกว่า พรายน้ำ ไดโนแฟลเจลเลตเป็นส่วนหนึ่งของแพลงก์ตอนพืชในระบบนิเวศทางทะเล น้ำกร่อย และน้ำจืด (ยุวดี, 2549; Soyer-Gobillard, 2009) อย่างไรก็ตาม สาหร่ายกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต อาจจัดอยู่ในไฟลัม Myzozoa (Miozoa) โดยอาศัยข้อมูลด้านวิวัฒนาการ (Cavalier-Smith and Chao, 2004)

8 Cryptophyta (สาหร่ายคริพโตโมแนดส์)

สาหร่าย Cryptophyta หรือชื่อสามัญคือสาหร่ายคริพโตโมแนดส์ (cryptomonads) เป็นกลุ่มสาหร่ายที่มีสมาชิกน้อยที่สุด มีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยว มีรูปร่างหลายแบบ เช่นรูปไข่ รูปกรวย รูปรี รูป

กลม เป็นต้น เซลล์แบน จากด้านบนลงล่าง โดยเซลล์ด้านบนมีความหนาและกว้างกว่าเซลล์ด้านล่าง มีแฟลเจลลัม 2 เส้นยาวไม่เท่ากัน โดยเส้นยาวจะมีขนแข็ง (tubular hairs) 2 แถว ส่วนเส้นสั้นจะมีขนแข็ง 1 แถว ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแพลงค์ตอนพืช พบในน้ำจืดและน้ำเค็ม บางชนิดอาศัยในเนื้อเยื่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง และโปรโตซัว สาหร่ายกลุ่มนี้มีเข็มพิษ ที่เรียกว่า ejectosome เพื่อใช้ป้องกันตัวและใช้จับเหยื่อ ที่สำคัญนอกจากจะมีรงควัตถุคลอโรฟิลล์ เอ และ ซี แอลฟา เบต้า และ เอพซีลอนแคโรทีน แล้วยังพบว่า มีรงควัตถุไฟโคบิลิโปรตีน คือ ไฟโคไซยานิน (สีน้ำเงิน) หรือ ไฟโคเออริธิน (สีแดง) อย่างใดอย่างหนึ่ง ในช่องว่างของไทลาคอยด์ ซึ่งต่างจากกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และสาหร่ายสีแดง และรงควัตถุไฟโคบิลินโปรตีนนี้จะไม่พบในสาหร่ายกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต สาหร่ายบางสปีชีส์ในกลุ่มนี้ก่อปัญหาน้ำแดง หรือปรากฏการณ์ขี้ปลาวาฬ (Red tide) เช่นเดียวกับสาหร่ายกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลต (ยุวดี, 2549; Hoef-Emden and Archibald, 2017)

9 Rhodophyta (สาหร่ายสีแดง)

โรโดไฟตา (Rhodophyta) เป็นสาหร่ายยูแคริโอตกลุ่มใหญ่ บางชนิดมีเซลล์เดี่ยว ในขณะที่ส่วนใหญ่เป็นเซลล์หลายเซลล์ ที่มีความซับซ้อนในระดับสูง สาหร่ายในกลุ่มนี้มีชื่อเรียกทั่วไปว่า สาหร่ายสีแดง เนื่องจากสาหร่ายชนิดนี้มีรงควัตถุที่ชื่อ ไฟโคอีรีทริน (phycoerythrin) ในปริมาณที่สูง อย่างไรก็ตาม ยังมีสาหร่ายสีแดง โดยเฉพาะจากน้ำจืดที่มีสีเขียวอมฟ้า และบางชนิดก็มีสีเกือบดำ ทั้งนี้เนื่องมาจากมีรงควัตถุพวกไฟโคไซยานิน (phycocyanin) รวมอยู่ในพลาสติดด้วย นอกจากนี้ สาหร่ายสีแดงมี คลอโรฟิลด์ เอ เป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์แสง และสาหร่ายสีแดงบางชนิดมีรงควัตถุแบคเทอริโอคลอโรฟิลล์ เอ (bacteriochlorophyll *a*) เช่นเดียวกันกับที่พบในแบคทีเรียสังเคราะห์แสง สาหร่ายสีแดงไม่มีแฟลกเจลลัมในการเคลื่อนที่ ส่วนใหญ่อยู่ในทะเล มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่อยู่ในน้ำจืด ผนังเซลล์ชั้นในของสาหร่ายกลุ่มนี้เป็นพวกสารเซลลูโลส ในขณะที่ผนังเซลล์ชั้นนอกมีสารเมือกพวกซัลเฟตแกแลกแตน (sulfated galactan) ได้แก่ วุ้น (Agar) พอร์ไฟแรน (porphyran) เฟอเซลลาแรน (furcellaran) และคาร์ราจีแนน (carrageenan) สาหร่ายกลุ่มที่รู้จักกันดี เช่น สาหร่ายพอร์ไฟรา (Porphyra) หรือ จีฉ่าย ถูกใช้เป็นอาหาร และสาหร่ายกราซิลาเรีย (Gracilaria) หรือสาหร่ายผมนาง หรือสาหร่ายวุ้นถูกใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับสกัดสารคาร์ราจีแนน สำหรับผลิตวุ้น ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเภสัชกรรม (ยุวดี, 2549; Heimann and Huerlimann, 2015)

สาหร่ายในประเทศไทย

สภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทย เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของสาหร่าย จากรายงานการสำรวจสาหร่ายทั้งน้ำเค็มและน้ำจืดในประเทศไทย ซึ่งรวมทั้งสาหร่ายขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ที่รวบรวมโดย Lewmanomont et al. (1995) พบสาหร่ายน้ำเค็มมีจำนวน 132 จีนัส 333 ชนิด ขณะที่สาหร่ายน้ำจืดมีจำนวน 161 จีนัส 1,001 ชนิด 287 สายพันธุ์ (variety) และ 63 form สาหร่ายเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์หลากหลาย Peerapornpisal (2013) ได้แสดงให้เห็นความสำคัญของสาหร่ายในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านระบบนิเวศแหล่งน้ำ ด้านลดก๊าซเรือนกระจก ด้านอาหาร ด้านอุตสาหกรรม ด้านการใช้เป็นพลังงานชีวภาพ ด้านเกษตรกรรม ด้านการแพทย์ ด้านบำบัดน้ำเสีย ด้านการใช้เป็นสิ่งมีชีวิตติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำ ด้านการใช้ไดอะตอมเป็นหลักฐานทางนิติเวชศาสตร์ และด้านการผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อวงการอุตสาหกรรม นอกจากนี้ยังได้รวบรวมชนิดสาหร่ายน้ำจืดในประเทศที่น่าสนใจมาจำนวน 179 จีนัส โดยพบในแหล่งน้ำตามธรรมชาติที่เป็นน้ำไหล น้ำไหลเอื่อย น้ำนิ่ง น้ำพุร้อน ดินชื้น ในลักษณะน้ำที่มีคุณภาพดี และไม่ดี โดยสาหร่ายที่พบอาจเจริญในลักษณะที่ล่องลอยไปตามกระแสน้ำ หรือเกาะยึดกับก้อนหิน กรวด กิ่งไม้ วัตถุต่าง ๆ ซึ่งลักษณะของสาหร่ายอยู่ในรูปเส้นสาย หรือ ทัลลัส หรือ คราบสีน้ำตาลหรือสีเขียวเคลือบอยู่บนวัตถุ

ประโยชน์จากสาหร่าย

สาหร่ายดำรงชีวิตโดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์แสง เพื่อผลิตสารชีวเคมีที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และเจริญเติบโต โดยสาหร่ายแต่ละสายพันธุ์จะมีชนิดและสัดส่วนของสารชีวเคมีที่แตกต่างกันไป ซึ่งสารชีวเคมีเหล่านี้มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นแหล่งโปรตีน สารออกฤทธิ์ แหล่งพลังงาน และสารสี เป็นต้น ในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากสาหร่ายอย่างแพร่หลายในระดับต้นแบบและระดับอุตสาหกรรม โดยสามารถแบ่งตามลักษณะการใช้ประโยชน์ ดังนี้

1. แหล่งอาหาร หรืออาหารเสริม

สาหร่ายมีสารชีวเคมีที่เป็นองค์ประกอบพื้นฐาน ได้แก่ โปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรต เป็นต้น ซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารและพลังงานที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์และสัตว์ มีการนำสาหร่ายหลายสายพันธุ์มาใช้เป็นแหล่งอาหารหรืออาหารเสริมอย่างแพร่หลายทั้งการรับประทานเซลล์สาหร่ายโดยตรงในรูปแบบแคปซูลและแบบเม็ด รวมถึงการนำสาหร่ายไปเป็นส่วนประกอบของอาหาร ตัวอย่างเช่น สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina*) ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบสูง มีกรดไขมันที่จำเป็น (เช่น gamma linolenic acid (GLA)) และมี β-Carotene เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ได้ถูกนำมาใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ รวมถึงเป็นส่วนผสมในอาหารต่าง ๆ เช่น ชีส คุกกี้ ขนมปัง และพาสต้า เป็นต้น (Golmakani et al., 2019; Donato et al., 2019; Fradique et al., 2010) นอกจากนี้ ยังมีการนำสาหร่ายสายพันธุ์อื่นมาใช้เพื่อบริโภคอีกด้วย เช่น *Chlorella vulgaris*, *Haematococus pluvialis* และ *Dunaliella salina* (Gouveia et al., 2006; Crampon et al., 2017; Fradique et al., 2013)

2. แหล่งผลิตสารมูลค่าสูง

สาหร่ายสามารถผลิตสารชีวเคมีที่มีมูลค่าสูงได้หลากหลายชนิด โดยสารสีจากสาหร่ายเป็นหนึ่งในสารมูลค่าสูงที่ถูกนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรม เช่น แอสตาแซนธิน (astaxanthin) และไฟโคไซยานิน (phycocyanin) เป็นต้น โดยแอสตาแซนธิน เป็นสารสีแดงที่สามารถสังเคราะห์ขึ้น และสีธรรมชาติที่สาหร่ายสร้างขึ้น ซึ่งถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารสีในอาหาร เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เครื่องสำอาง รวมถึงใช้เป็นสารออกฤทธิ์เภสัชกรรม เนื่องจากแอสตาแซนธิน มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ยับยั้งการเจริญของเชื้อไวรัส ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ เสริมสร้างการทำงานของเซลล์ตับและเซลล์ประสาท (Hussein et al., 2006) แอสตาแซนธินพบมากในสาหร่ายสายพันธุ์ *Haematococcus pluvialis* (Sarada et al., 2002) นอกจากนี้ ยังมีสารสีที่สำคัญที่ผลิตได้ในสาหร่าย นั่นคือ ไฟโคไซยานิน ซึ่งเป็นสารที่มีสีน้ำเงินที่พบได้ในสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน โดยไฟโคไซยานินจากสาหร่าย *Arthrospira platensis* (*Spirulina*) ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมอาหาร นอกจากนี้ ไฟโคไซยานินยังมีคุณสมบัติ ออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และรักษาแผลไฟไหม้ (Dranseikienė et al., 2022) ไฟโคไซยานินสามารถพบได้ในสาหร่ายสายพันธุ์อื่น ๆ มีการศึกษาในไซยาโนแบคทีเรียจากน้ำพุร้อน พบว่าสายพันธุ์ *Leptolyngbya* sp. KC45 ที่คัดแยกจากภาคใต้ของประเทศไทย มีประสิทธิภาพในการผลิตไฟโคบิลิโปรตีน (PBSs) ชนิดไฟโคอีริธรินซึ่งเป็นรงควัตถุหลักในการสังเคราะห์ด้วยแสง โดย PBSs นี้ถูกใช้ในการทำเป็นผลิตภัณฑ์สีย้อมผมต้นแบบระดับห้องปฏิบัติการ สิทธิบัตร เลขที่ 1501007917 เป็นสารสีที่มีความปลอดภัย สามารถรับประทานได้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทนอุณหภูมิได้สูงกว่าสารสีกลุ่มเดียวกันที่มีอยู่ในท้องตลาด นอกจากนี้ยังสามารถเรืองแสงฟลูออเรสเซนต์ทำให้สามารถนำไปประยุกต์ได้หลากหลาย เช่น เป็นส่วนผสมในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ หรือหากทำให้บริสุทธิ์จะสามารถเป็นสีย้อมทางการแพทย์ได้ (Mahanil et al., 2021) นอกจากนี้ ยังมีศึกษาไซยาโนแบคทีเรียทนความร้อนสายพันธุ์ *Thermosynechococcus elongatus* TA1 ซึ่งแยกได้จากบ่อน้ำพุร้อน Taian ในไต้หวัน มีอัตราการเจริญเติบโตสูงเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ 10% และ 20% ที่ อุณหภูมิ 50 °C ความเข้มแสง 6,000 lux ซึ่งให้ผลผลิต C-phycocyanin (C-PC) มีความคงอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 4-60 oC และ pH 4-9 ทำให้ C-PC จากไซยาโนแบคทีเรียทนความร้อนเป็นผลผลิตที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Leu et al., 2013)

3. แหล่งผลิตปุ๋ยชีวภาพ

ปุ๋ยชีวภาพ เป็นปุ๋ยที่เกิดจากการนำเอาจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ ซึ่งเป็นการเพิ่มแร่ธาตุในดินและส่งต่อไปยังพืชให้เจริญเติบโตได้ดี ได้มีการนำสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมาผลิตเป็นปุ๋ยชีวภาพ โดยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีเฮเทอโรซีส (heterocyst) และเอนไซม์ไนโตรจีเนส (nitrogenase) ซึ่งช่วยในการตรึงก๊าซไนโตรเจนจากอากาศแล้วเปลี่ยนให้เป็นแอมโมเนียมโดยอาศัยพลังงานจากแสงอาทิตย์ การตรึงไนโตรเจนในลักษณะนี้สามารถช่วยเพิ่มปริมาณไนโตรเจนให้กับดินและพืชสามารถนำไปใช้ได้ นอกจากนี้ สาหร่ายยัง ปลดปล่อยสารจำพวกฮอร์โมน หรือ เมื่อสาหร่าย

ตายไปแล้วจุลินทรีย์อื่น ๆ จะย่อยสลายสาหร่ายทำให้แร่ธาตุต่าง ๆ ของสาหร่ายถูกปลดปล่อยออกมาในดิน ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ และจัดเป็นการย่อยสลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม จากงานวิจัยของ พงศ์เทพ และประเสริฐ (2531) ซึ่งนำสาหร่ายที่มีคุณสมบัติในการผลิตปุ๋ยชีวภาพ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Anabaena* sp., *Hapalosiphon* sp. No. 697, *Nostoc* sp. และ *Stigonema* sp. มาทำปุ๋ยเพื่อเสริมการเจริญเติบโตในต้นข้าวที่ปลูกในดินเค็ม ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย พบว่า ให้ผลผลิตน้ำหนักเมล็ดข้าว โปรตีนในเมล็ดข้าว สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้ปุ๋ยเคมี สามารถแก้ปัญหาผลผลิตต่ำจากปัญหาดินเค็ม และทดแทนการใช้ปุ๋ยเคมีได้ นอกจากนี้การเติมสาหร่าย *Anabaena* sp. สำหรับเป็นปุ๋ยในการปลูกข้าวพื้นที่ลุ่ม ทำให้ปริมาณโพแทสเซียม และฟอสฟอรัสในเมล็ดข้าวสูงกว่าข้าวที่ไม่ได้เติมสาหร่าย อีกทั้งช่วยเพิ่มน้ำหนักให้เมล็ดข้าวมากกว่าการใช้ปุ๋ยเคมี ซึ่งเป็นประโยชน์ในการพัฒนาการผลิตข้าวอินทรีย์ต่อไป (Pimratch et al., 2015)

4. แหล่งผลิตพลังงานทดแทน

เชื้อเพลิงชีวภาพ (biofuel) เป็นเชื้อเพลิงที่ผลิตจากชีวมวล เช่น ไบโอเอทานอล (bioethanol) และ ไบโอดีเซล (biodiesel) เป็นต้น เป็นพลังงานสะอาด เนื่องจากมีการเผาไหม้ที่มีประสิทธิภาพ ไม่ปลดปล่อยแก๊สที่เป็นมลพิษและรักษาสิ่งแวดล้อม (วิภา จึงจตุพรชัย, 2561) แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพลิงชีวภาพ ได้แก่ ชีวมวลต่างๆ จากการเกษตร และของเสียชีวภาพ เป็นต้น ในการผลิตไบโอดีเซล สาหร่ายขนาดเล็กจัดเป็นแหล่งวัตถุดิบทางเลือกหนึ่งที่ถูกนำมาศึกษาเพื่อผลิตเป็นไบโอดีเซล เนื่องจากสาหร่ายขนาดเล็ก มีลิปิดที่เป็นองค์ประกอบร้อยละ 1 – 58 ของน้ำหนักแห้ง (Rocca et al., 2015) สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ (ที่ปลดปล่อยสู่บรรยากาศ เช่น จากเผาไหม้ของภาคการเกษตรและภาคอุตสาหกรรม) ในการสังเคราะห์แสงและเจริญเติบโต และสามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้พื้นที่น้อยกว่าการเพาะปลูกพืช มีการศึกษาในสาหร่ายหลายชนิด เช่น *Dunaliella*, *Chlorella*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Scenedesmus*, *Tetraselmis* และ *Nannochloropsis* (Meta et al., 2010) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาในสาหร่ายจากแหล่งน้ำพุร้อน ได้แก่ สาหร่ายเซลล์เดียว *Pseudochoricystis ellipsoidea* ซึ่งสามารถผลิตน้ำมันชีวภาพสำหรับใช้กับเครื่องยนต์ดีเซล (Satoh et al., 2010) นักวิจัยญี่ปุ่นของบริษัทเด็นโซ่ค้นพบ สาหร่ายเซลล์เดียวจากบ่อน้ำพุร้อน ที่สามารถผลิตน้ำมันได้ ชื่อว่า *Pseudochoricystis ellipsoidae* โดยสาหร่ายชนิดนี้ให้ผลผลิตเป็นน้ำมันชีวภาพสำหรับใช้กับเครื่องดีเซล และยังให้ผลผลิตที่มากกว่าสาหร่ายสายพันธุ์อื่นที่ทางบริษัทกำลังศึกษาถึง 30-40% สาหร่ายชนิดนี้สังเคราะห์แสง และดูดกลืนคาร์บอนไดออกไซด์ แล้วให้ผลผลิตออกมาเป็นแป้งและน้ำมัน ซึ่งนักวิจัยสามารถแยกน้ำมันออกมาได้ด้วยความร้อน นอกจากนี้ ในพื้นที่เพาะเลี้ยงเท่ากันสาหร่ายดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าป่าฝนถึง 10 เท่า จึงมุ่งหวังให้เป็นนวัตกรรมและเทคโนโลยีที่ตอบสนองปัญหาต่างๆ ทั้งมลภาวะสิ่งแวดล้อมและการขาดแคลนพลังงานได้ (http://www.kasetloongkim.com/modules.php?name=Forums&file=viewtopic&t=1959&start=0)

5. สาหร่ายกับการจัดการด้านสิ่งแวดล้อม

5.1 สาหร่ายช่วยบำบัดน้ำทิ้ง

น้ำทิ้งเป็นมลพิษอย่างหนึ่งที่ต้องได้รับการจัดการที่เหมาะสม เพื่อไม่ให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและระบบนิเวศ โดยน้ำทิ้งเกิดจากกิจกรรมของมนุษย์ ซึ่งมาจากทั้งภาคครัวเรือน ภาคการเกษตร และภาคอุตสาหกรรม ในปัจจุบันมีการใช้สารเคมีและจุลินทรีย์ในการบำบัดก่อนปลดปล่อยสู่แหล่งน้ำ นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาเพื่อใช้สาหร่ายในการบำบัดน้ำทิ้ง เนื่องจากน้ำทิ้งมีองค์ประกอบที่สาหร่ายสามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตได้ เช่น ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส จากการศึกษาของ Lau et al. (1996) พบว่า สาหร่าย *Chlorella vulgaris* สามารถกำจัดสารอาหารจำพวกอนินทรีย์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัสได้ถึงร้อยละ 86 และ 78 ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาการใช้สาหร่าย *Scenedesmus acuminatus* ในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงเลี้ยงสุกร และยังให้ผลผลิตเป็นน้ำมันไบโอดีเซลล์ (Unpaprom et al., 2015)

5.2 สาหร่ายช่วยลดโลกร้อน

ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) เป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งของปรากฏการณ์เรือนกระจก เนื่องจากก๊าซชนิดนี้มีคุณสมบัติในการดูดซับคลื่นรังสีความร้อน เมื่อสะสมในปริมาณมากจะส่งผลให้ชั้นบรรยากาศเก็บความร้อนไว้มากขึ้น ทำให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น ก๊าซชนิดนี้ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่ติดไฟ มีความเป็นกรดอ่อนๆ และสามารถละลายน้ำได้ สาเหตุของการเกิดก๊าซชนิดนี้มาจากโรงงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น โรงงานปิโตรเคมี หรือโรงแยกก๊าซธรรมชาติ เมื่อได้รับ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เข้าสู่ร่างกายในปริมาณมาก จะส่งผลเสียต่อร่างกายของมนุษย์ แต่ในสาหร่ายทนอุณหภูมิสูงสามารถนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสง เพื่อเปลี่ยนเป็นผลผลิตและสารชีวเคมีได้

คาร์บอนไดออกไซด์ถือเป็นปัจจัยหลักอย่างหนึ่งในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่าย โดยกระบวนการสังเคราะห์แสงจะเป็นการเปลี่ยนพลังงานแสงให้อยู่ในรูปของพลังงานเคมี สาหร่ายทนอุณหภูมิสูงสามารถนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงเพื่อผลิตชีวมวลและสารชีวเคมีที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ได้ การที่สาหร่ายสามารถนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาใช้เพื่อผลิตชีวมวลได้นั้น เป็นประโยชน์ต่อการลดก๊าซเรือนกระจกที่ปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมและช่วยลดปัญหาปรากฏการณ์เรือนกระจกได้ ขณะเดียวกันการใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการเพาะเลี้ยงสาหร่าย ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายด้านสารอาหารที่เป็นแหล่งคาร์บอนให้แก่สาหร่ายอีกด้วย ปัจจุบันสาหร่าย *Thermosynechococcus* sp. ซึ่งเป็นสายพันธุ์สาหร่ายทนร้อนสามารถนำก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่า สามารถช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ โดยจากงานวิจัยของ Sakai และคณะ (1995) มีการศึกษาพบว่าสาหร่ายน้ำพุร้อนบางชนิด มีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีความเข้มข้นสูง โดยทำการศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยง *Chlorella* จากน้ำพุร้อนในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งสามารถทนอุณหภูมิ และความเข้มข้นคาร์บอนไดออกไซด์สูงได้ โดยสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 42 °C ในสภาวะที่มี คาร์บอนไดออกไซด์ 40% ซึ่งแสดงให้เห็นว่า

สาหร่ายชนิดนี้มีความเหมาะสมในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Liang และคณะ (2019) พบว่า *Thermosynechococcus elongatus* สามารถทนต่อความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงสุดถึง 15% และเจริญได้ดีในอาหาร BG-11 ที่มี โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (M) ด้วยเหตุนี้การเพาะเลี้ยงสาหร่ายทนอุณหภูมิสูงร่วมกับการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ จึงเป็นแนวทางในการช่วยลดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และปรับปรุงสภาพแวดล้อม

สาหร่ายขนาดเล็กในแหล่งน้ำพุร้อน (Thermophilic algae)

น้ำพุร้อนเป็นแหล่งที่อยู่ของสาหร่ายหลายชนิด โดยสาหร่ายที่เจริญในที่อุณหภูมิสูง มักจะมีโครงสร้างที่ช่วยให้เซลล์สามารถเจริญเติบโตในสภาวะนี้ได้ เช่นมีชีทที่หนา และโปรตีนในโปรโตพลาสซึมจับกันแน่น โดยส่วนใหญ่บริเวณที่มีความร้อนสูง สาหร่ายที่พบโดยส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย โดยไซยาโนแบคทีเรียที่เจริญที่อุณหภูมิสูง เรียกว่า “เทอร์โมฟิลิกส์ไซยาโนแบคทีเรีย (thermophilic cyanobacteria)” ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มตามความสามารถในการเจริญเติบโตที่ช่วงอุณหภูมิแตกต่างกัน (Dadheech et al., 2013) ดังนี้ 1) ไฮเปอร์เทอร์โมไฟล์ (hyperthermophiles) เป็นกลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 65 °C 2) เทอร์โมไฟล์ (thermophiles) เป็นกลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 55-65 °C และ 3) เมโซไฟล์ (mesophiles) เป็นกลุ่มที่สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 °C โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลุ่มเมโซไฟล์ คือ 37 °C

ในประเทศไทยได้มีรายงานการสำรวจและศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อน โดยแบ่งตามภูมิภาค ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคใต้ และภาคตะวันตก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อนทางภาคเหนือ โดย สระบุรี ไชยมงคล (2523) ได้ทำการสำรวจน้ำพุร้อน โป่งฮ่อม จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า สาหร่ายส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มเทอร์โมไฟล์ ได้แก่ *Chroococcus turgidus, Anacytis* sp., *Anabaena* sp., *Oscillatoria* sp. และ *Oscillatoria terebriformis* รองลงมาเป็นสาหร่ายในกลุ่มเมโซไฟล์ ได้แก่ *Scenedesmus dimorphus*, *Spirogyra* sp., *Clodterium* sp. และ *Stigeoclonium* sp. และพบสาหร่ายในกลุ่มไฮเปอร์เทอร์โมไฟล์เพียงชนิดเดียว คือ *Anacytis* sp. นอกจากนี้ Sompong et al. (2005) ได้สำรวจสาหร่ายในน้ำพุร้อน 9 แห่งทางภาคเหนือของไทย ได้แก่ น้ำพุร้อนสันกำแพง โป่งเดือด เทพพนม แม่ฝาง ดอยสะเก็ด ท่าปาย แจ้ซ้อน แม่จัน และห้วยหมากเลี่ยม ซึ่งมีอุณหภูมิในช่วง 30-80 °C พบไซยาโนแบคทีเรียชนิดต่างๆ จำนวน 9 จีนัส 36 ชนิด ตัวอย่างเช่น *Phormidium boryanum*, *Synechococcus lividus*, *Synechococcus sp.*, *Chroococcus thermalis*, *Calothrix thermalis*, *Chroococcidiopsis thermalis*, *Pseudanabaena catenata*, *S. bigranulatus* และ *Lyngbya sp*. เป็นต้น โดยในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 40 °C และต่ำว่า 80 °C จะพบ *S. lividus* และ *Synechococcus sp.* เป็นส่วนใหญ่ ในขณะที่พบ *P. boryanum* ในช่วงอุณหภูมิที่สูงกว่า 30 °C และต่ำกว่า 60 °C

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายน้ำพุร้อนทางภาคใต้ของประเทศไทย จากรายงานของ คัทติยา (2558) ได้สำรวจน้ำพุร้อน 4 แห่ง ได้แก่น้ำพุร้อนบ่อกรัง เขาน้อย เขานางฮี และเขาตอกในจังหวัดสุราษฎ์ธานี โดยคัดแยกสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และได้คัดแยกสายพันธุ์ *Thermosynechococcus* sp. TUBT-T01 จากน้ำพุร้อนบ่อกรัง ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของเทอร์โมไฟล์ การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อนของภาคตะวันตกของประเทศไทย โดย Portillo et al. (2009) ได้ศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อนบ่อคลึง จังหวัดราชบุรี ซึ่งอุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 50-57°C โดยพบสาหร่ายกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย ได้แก่ *Chroococcales, Thermosynechococcus* และ *Synechococcus* ซึ่งจัดเป็นกลุ่มเทอร์โมไฟล์ จากการที่สาหร่ายเหล่านี้มีความสามารถทนต่ออุณหภูมิสูง ทำให้สาหร่ายกลุ่มนี้มีข้อได้เปรียบ และได้รับความสนใจในการนำมาศึกษาต่อไป เช่น ศึกษาสายพันธุ์ เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ และการนำไปใช้ประโยชน์ด้านต่าง ๆ เช่น ใช้เป็นอาหารเสริมคน อาหารเสริมสัตว์ เป็นแหล่งผลิตสารมูลค่าสูง และสารสำคัญต่อภาคอุตสาหกรรม ใช้เป็นแหล่งผลิตน้ำมันเชื้อเพลิง ปุ๋ย ช่วยบำบัดน้ำทิ้งหรือน้ำเสียจากโรงงาน อีกทั้งยังช่วยลดคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของภาวะโลกร้อน (วิภา จึงจตุพรชัย, 2561)

ในต่างประเทศมีการสำรวจสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อนหลายแหล่ง สาหร่ายที่พบโดยส่วนใหญ่เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เช่น สาหร่ายเซลล์เดียว ได้แก่ *Synechococcus* sp., *Chroococcidiopsis* และ *Chlorogloeopsis* สาหร่ายที่รูปร่างเป็นเส้นสายตรงไม่มีการแตกแขนง ได้แก่ *Lyngbya*, *Phormidium*, *Calothrix และ Leptolyngbya spp.* และ สาหร่ายที่รูปร่างเป็นเส้นสายมีการแตกแขนง *Hapalosiphon* Fischerella/Mastigocladus *Hapalosiphon* นอกจากนี้ในแหล่งน้ำพุร้อนบางแหล่งยังอาจพบสาหร่ายสีเขียว และไดอะตอม ทั้งนี้ขึ้นกับคุณสมบัติของน้ำ เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และแร่ธาตุ เป็นต้น (Ward et al., 1998; Papke; et al., 2003; Jonker et al., 2013; Ghozzi et al., 2013; Ikram et al., 2022)

ปัจจุบันมีการนำ meta-16s rRNA Gene sequencing และ Shotgun Metagenomic Sequencing มาใช้ เพื่อค้นหาสิ่งมีชีวิตจากลุ่มตัวอย่างที่สนใจ หรือที่มาจากธรรมชาติ Keshari และคณะ (2022) ได้ทำการเก็บตัวอย่างที่เมือง Tengchong และ Longling มณฑลยูนนาน ประเทศจีน จากบ่อน้ำพุร้อนโดยตัวอย่างที่เก็บจะมีลักษณะทางกายภาพที่หลากหลาย เช่น ตัวอย่างน้ำ, ดินตะกอน และชั้นที่เป็นลักษณะแผ่นจุลินทรีย์ทับถมกัน การจัดจำแนกเชื้อใช้วิธีการ meta-16s rRNA Gene sequencing ผสมผสานกับการศึกษาลักษณะปรากฏโดยตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ส่วนใหญ่ไซยาโนแบคทีเรียที่พบจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 30 - 50 °C ที่สูงกว่า pH 9 จากวิธีการจัดจำแนกโดยใช้วิธี meta-16s rRNA Gene sequencing พบกลุ่มเชื้อทั้งหมด 34 จีนัส และ 3 กลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย ประกอบไปด้วย *Synechococcus, Gloeocapsa, Aphanothece, Chroococcus, Cyanobium, Chondrocystis, Thermosynechococcus, Chroococcidiopsis, Pleurocapsa, Xenococcus, Gloeocapsopsis,* Uncultured Chroococcales*, Leptolyngbya, Oscillatoriales, Phormidium, Microcoleus,* Leptolyngbyaceae cyanobacterium*, Wilmottia, Arthronema,*

Pseudanabaena, Pseudanabaenaceae, Planktothricoides, Nodosilinea, Ancylothrix, Jaaginema, Oscillatoria, Microseira, Tolypothrix, Scytonema, Calothrix, Nostoc, Nodosilinea, Chlorogloeopsis, Stigonema, Mastigocladus, Iphinoe และ filamentous thermophilic cyanobacterium และมากกว่า 59% ของทั้งหมดอยู่ใน subsection 3 โดยเฉพาะจีนัส *Leptolyngbya* เช่นเดียวกับการจัดจำแนกโดยใช้กล้องจุลทรรศน์พบว่าไซยาโนแบคทีเรียส่วนมากอยู่ใน subsection 3 (ประมาณ 47%) และมีจีนัส *Leptolyngbya* มากที่สุดถึง 8 สายพันธุ์ รองลงมาคือ *Fischerella* พบ 3 สายพันธุ์ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าการใช้เทคนิค meta-16s rRNA Gene sequencing จะพบชนิดของไซยาโนแบคทีเรียมากกว่าการจัดจำแนกโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า มีสาหร่ายบางสายพันธุ์ที่ไม่ถูกค้นพบจากการใช้เทคนิค meta-16s rRNA Gene sequencing แต่พบจากการสังเกตผ่านกล้องจุลทรรศน์ ได้แก่ จีนัส *Cyanothece, Aphanocapsa, Thermoleptolyngbya, Planktothrix, Limnothrix, Anabaena* และ *Fischerella* จากการนำเทคนิคทั้ง 2 อย่างมาใช้ด้วยกัน ทำให้พบความหลากหลายของไซยาโนแบคทีเรียจากน้ำพุร้อนของยูนนาน รวมทั้งหมดถึง 45 จีนัส

สาหร่ายขนาดเล็กและไซยาโนแบคทีเรียที่ทนความร้อน ได้รับการระบุว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพสูงในการใช้งานทางเทคโนโลยีชีวภาพ เนื่องจากมีความสามารถที่โดดเด่นในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง การใช้สาหร่ายขนาดเล็กเหล่านี้เพื่อผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณมาก มีข้อดีของจุลินทรีย์เหล่านี้ เช่น หลายชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะการเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ มีความต้องการสารอาหารขั้นต่ำ นอกจากนี้ ยังช่วยลด CO_2, การดูดซับสารพิษของน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม, การบำบัดน้ำเสียทางชีวภาพ, การผลิตลิปิดสำหรับวัตถุดิบเชื้อเพลิงชีวภาพ และผลิตภัณฑ์สารเพิ่มมูลค่า เช่น เม็ดสี ผลิตภัณฑ์ต่างๆที่เกิดจากสาหร่ายขนาดเล็กทนอุณหภูมิสูงจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการใช้งานทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ และเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ (Patel et al., 2019)

การประยุกต์ใช้สาหร่ายขนาดเล็กที่ทนความร้อนและไซยาโนแบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ ได้ถูกศึกษาและพัฒนามาอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการผลิตสารสี เช่น แคโรทีนอยด์และไฟโคบิลิโปรตีน อาหารเสริม เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนโอเมก้า 3 (ω3) และโอเมก้า 6 (ω6) เชื้อเพลิงหมุนเวียน เช่น ไบโอเอทานอล ไบโอดีเซล และไฮโดรเจนผลิตปุ๋ย และสารทุติยภูมิ ได้แก่ exopolysaccharides วิตามิน ท็อกซิน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านไวรัส ฆ่าเชื้อ ต้านเชื้อรา และต้านมะเร็ง นอกจากนี้สาหร่ายยังเหมาะสำหรับการบำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมเกษตรและการย่อยสลายทางชีวภาพของน้ำเสียจากน้ำมัน

ธารน้ำร้อนบ่อคลึง

ธารน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ตั้งอยู่ที่บ้านห้วยผาก หมู่ที่ 7 ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัด ราชบุรี เป็นโดยธารน้ำร้อนเกิดจาก น้ำหรือน้ำฝนบางส่วนไหลซึมไปตามรอยแตก และรอยเลื่อน น้ำนั้นจะไปสะสมตัวและรับความร้อนจากชั้นหินที่มีความร้อนจนกระทั่งน้ำกลายเป็นน้ำร้อนและไอน้ำ แล้วจะพยายามแทรกตัวมาตามแนวรอยแตกของชั้นหิน ขึ้นมาบนผิวดิน โดยระหว่างที่น้ำร้อนหรือไอน้ำไหลกลับขึ้นมา จะเกิดการถ่ายเทพลังงานความร้อน หรือหินข้างเคียงที่ไหลผ่านทำให้อุณหภูมิลดลง รวมทั้งน้ำร้อนอาจเกิดการผสมกับน้ำบาดาล ทำให้อุณหภูมิลดลงได้อีก น้ำร้อนไหลซึมออกมาจากตาน้ำใต้ดินไม่ขาดสาย โดยมีน้ำไหลอยู่ตลอดปี ปรากฏเป็นธารน้ำร้อนไหลผ่านก้อนหินใหญ่เล็กเรียงรายตามร่องน้ำ (รูปที่ 1 ก) ตลอดทางประมาณ 150 เมตร โดยบริเวณตาน้ำ มีอุณหภูมิของน้ำเฉลี่ยประมาณ 55-57 ^{o}C น้ำไม่ค่อยมีกลิ่นของกำมะถัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากกำมะถัน หรือแบคทีเรีย *Desulfovibrio vulgaris* ซึ่งจะที่ปลดปล่อยแก๊ส hydrogen sulfide (H_2S) หรือแก๊สไข่เน่า มีปริมาณน้อย ธารน้ำร้อนบ่อคลึงมีการใช้ประโยชน์ เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ มีเส้นทางศึกษาธรรมชาติ นอกจากนี้มีการใช้ประโยชน์จากน้ำร้อน โดยมีการเก็บกักน้ำบางส่วน และเปิดให้ประชาชนเข้าใช้บริการ ดังนั้นจึงมีการทำความสะอาดลำน้ำเป็นระยะ ๆ



รูปที่ 1 ธารน้ำร้อนบ่อคลึง

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

สำรวจและเก็บตัวอย่างกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในธารน้ำร้อนบ่อคลึง

การสำรวจธารน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ นั้นได้เริ่มในช่วงเดือนธันวาคม 2564 เพื่อวางแผนเก็บตัวอย่างสาหร่าย โดยการสำรวจพบว่าธารน้ำร้อนบ่อคลึงมีน้ำไหลซึมออกมาจากตาน้ำใต้ดินไม่ขาดสาย แล้วไหลผ่านโขดหินไปสู่แหล่งเก็บน้ำที่ภาคเอกชนได้สร้างไว้ และน้ำร้อนบางส่วนไหลออกไปตามธารน้ำอีกครั้ง ก่อนเข้าสู่บริเวณท่องเที่ยวของภาคเอกชน สายน้ำมีระยะทางประมาณ 150 เมตร ระดับน้ำสูงไม่เกิน 20 เซนติเมตร ยกเว้นบริเวณบริเวณบ่อเก็บน้ำของภาคเอกชน ที่ระดับน้ำสูงกว่า 60 เซนติเมตร ดังนั้น ในการเก็บตัวอย่างจึงกำหนดจุดเก็บสี่จุด ดังนี้ โดยจุดที่ 1 บริเวณจุดตาน้ำ จุดที่ 2 บริเวณน้ำไหลที่ห่างจากตาน้ำเพียงประมาณไม่เกินระยะ 10 เมตร จุดที่ 3 บริเวณบ่อเก็บน้ำร้อน และจุดที่ 4 คือ บริเวณปลายธารน้ำร้อน ก่อนเข้าสู่บริเวณให้บริการนักท่องเที่ยว ทุกจุดที่เก็บตัวอย่างจะวัดอุณหภูมิและ pH รวมทั้งเก็บตัวอย่างสาหร่าย โดยเก็บตัวอย่างสาหร่ายที่เกาะตามพื้นดินหรือโขดหินใต้น้ำ

โดยในเดือนมีนาคม และ เดือนมิถุนายน 2565 คณะผู้วิจัยได้เข้าไปเก็บตัวอย่างสาหร่าย รวมทั้งตรวจวัดคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำร้อนบริเวณที่เก็บตัวอย่าง ซึ่งได้แก่ อุณหภูมิ และ pH ในการเก็บตัวอย่าง ได้เก็บสาหร่ายที่เกาะตามโขดหินหรือพื้นน้ำ รวมทั้งน้ำในบริเวณนั้น รวมกันปริมาตรประมาณ 1 ลิตร โดยกรองตัวอย่างผ่านถุงเก็บแพลงค์ตอน (Plankton Net) ขนาด 21 ไมครอน (μm) เพื่อเก็บตัวอย่างรวมทั้งหมดไม่เกิน 50 มิลลิลิตร (ml) ใส่ในหลอดเซนติฟิวก์พลาสติก (plastic centrifuge tube) ขนาด 50 ml. โดยเก็บต้วอย่างแต่ละจุดไม่น้อยกว่า 3 ซ้ำ และนำกลับมาศึกษาต่อที่ห้องปฏิบัติการวิจัย เพื่อสำรวจสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และ ค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง

สำรวจสาหร่ายขนาดเล็ก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ตัวอย่างที่เก็บจากแหล่งน้ำพุร้อน ถูกทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นด้วยการปั่นเหวี่ยง จากนั้นทำการซุ่มตัวอย่าง เพื่อศึกษาตรวจดูชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Olympus CX23LEDRF(S1/S2)) ที่มีกำลังขยายสูงสุด 1000 เท่า โดยจำแนกชนิดสาหร่ายตามลักษณะสัณฐานวิทยาตามหนังสือของยุวดี พีรพรพิศาล (2549)

ค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง

1 การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอ (DNA) เพื่อนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

1.1 การสกัดดีเอ็นเอของตัวอย่างที่เก็บจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

ตัวอย่างที่เก็บ ถูกทำให้มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นด้วยการปั่นเหวี่ยง เพื่อนำไปสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการสกัดของชุดสกัดดีเอ็นเอ PowerSoil ® Pro Kit (50) (Qiagen) โดยสรุปขั้นตอนการสกัดดังนี้

1. เติมสารละลาย CD1 ปริมาตร 800 ไมโครลิตร (µl) ลงในหลอด 1.5 มิลลิลิตร ที่มีตัวอย่างประมาณ 100 มิลลิกรัม (mg) ซึ่งผ่านการล้างด้วยบัฟฟเฟอร์ (wash buffer) จากนั้นผสมให้เข้ากันโดยใช้ Vortex

2. ปิเปตสารละลายลงในหลอด PowerBead Pro ปิดสนิท เขย่าตัวอย่าง เป็นเวลา 10 นาที เพื่อให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที

3. ปิเปตสารละลายด้านบน (supernatant) ใส่หลอดขนาด 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย CD2 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และผสมตัวอย่างเข้าด้วยกัน โดยการกลับหลอดไปมา เป็นเวลา 5 วินาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที

4. ปิเปตสารละลายด้านบนปริมาตร 600 ไมโครลิตร ลงในหลอดขนาด 2 มิลลิลิตรหลอดใหม่ เติมสารละลาย CD3 ปริมาตร 600 ไมโครลิตร และผสมตัวอย่างเข้าด้วยกัน โดยกลับหลอดไปมา เป็นเวลา 5 วินาที

5. ปิเปตสารละลายลงใน MB Spin Column ปริมาตร 650 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายที่ผ่าน MB Spin Column และทำซ้ำจนสารละลายในข้อ 4 ทั้งหมดได้ผ่าน MB Spin Column

6. วาง MB Spin Column ลงใน 2 ml Collection Tube แล้วเติมสารละลาย EA ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงใน MB Spin Column และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายส่วนที่ผ่าน MB Spin Column จากนั้นทำซ้ำเพื่อชะล้างสารอื่นๆ ออกจากดีเอ็นเอ

7. เติมสารละลาย C5 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงใน MB Spin Column และนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งสารละลายส่วนที่ผ่าน MB Spin Column และย้าย MB Spin Column ใส่หลอดใหม่ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที และย้าย MB Spin Column ใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร เพื่อ elute ดีเอ็นเอ

8. เติม nuclease free water ปริมาตร 30-100 ไมโครลิตร ลงในตำแหน่งกลาง filter membrane นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที จะได้ดีเอ็นเอที่พร้อมใช้งาน

1.2 การทำให้ดีเอ็นเอบริสุทธิ์โดยการใช้ Magnetic beads

1. ผสมดีเอ็นเอและ nuclease free water ให้มีปริมาตร 100 µl

2. เติม magnetic beads ในปริมาตร 0.8 volume หรือเท่ากับ 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ใน MagJET Separation Rack ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที แล้วปิเปตสารละลายทิ้ง (ดีเอ็นเอจะถูกดูดติดไว้ข้างหลอด)

4. เติม 70% EtOH เพื่อล้างตะกอนดีเอ็นเอ โดย ตั้งทิ้งไว้ใน MagJET Separation Rack ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที แล้วปิเปตสารละลายทิ้ง จากนั้นทำซ้ำอีกครั้ง

5. นำไปตั้งทิ้งไว้เพื่อระเหยเอทานอลในตู้บ่ม 37 °C เป็นเวลา 15 นาที

6. เติม nuclease free water 40 ไมโครลิตร เพื่อชะดีเอ็นเอ ออกจาก Beads นำดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจวัดค่าความบริสุทธิ์ และ นำไปแยกขนาดดีเอ็นเอโดยวิธีอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (Agarose gel electrophoresis) ต่อไป หลังจากนั้นนำดีเอ็นเอที่ได้ไปวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ สำหรับค้นหายีน หรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารมูลค่าสูงต่อไป

2 ค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูง

เมื่อนำตัวอย่างดีเอ็นเอที่บริสุทธิ์จำนวน 8 ตัวอย่างไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของกลุ่มสิ่งมีชีวิตด้วยวิธี Shotgun Metagenomics โดยใช้เทคโนโลยี Illumina ของผู้ให้บริการด้าน metagenome sequencing service ที่มีความเชี่ยวชาญด้านการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ หลังจากนั้นนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาวิเคราะห์โดยใช้เทคโนโลยีชีวสารสนเทศ (Bioinformatics) ซึ่งประกอบด้วยการเตรียมข้อมูล การจัดกลุ่มอนุกรมวิธาน การศึกษาความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็ก และการจัดกลุ่มหน้าที่ของยีนที่พบ โดยการวิเคราะห์ข้อมูลเมตาจีโนมิกส์ของสาหร่ายธารน้ำพุร้อน จำนวน 8 ตัวอย่าง ถูกดำเนินการด้วยโปรแกรม SqueezeMeta (Tamames et al., 2019) ซึ่งประกอบด้วย 20 ขั้นตอน (รูปที่ 2) ดังนี้

1. การประกอบเมตาจีโนม (Assembly)
2. การทำนาย RNA และการจำแนกชนิดของ RNA (RNA prediction and classification)
3. การทำนาย ORF หรือ Coding Sequence (ORF (CDS) prediction)
4. การค้นหาอนุกรมวิธานและหน้าที่ของยีนตามความเหมือนของลำดับเบส (Homology searching against taxonomic and functional databases)
5. การค้นหา Protein Domain เทียบกับฐานข้อมูล Pfam ด้วยโปรแกรม Hmmer (Hmmer searching against Pfam database)
6. การกำหนดอนุกรมวิธานของยีน (Taxonomic assignment of genes)
7. การกำหนดหน้าที่ของยีน (Functional assignment of genes (OPTIONAL))

8. การทำนายหน้าที่ของยีนจาก contigs ที่ไม่สามารถทำนายยีนได้ด้วย Blastx (Blastx on parts of the contigs with no gene prediction or no hits

9. การกำหนดอนุกรมวิธานของ contigs (Taxonomic assignment of contigs, and check for taxonomic disparities)

10. การประมาณ coverage และจำนวนของยีนและ contigs (Coverage and abundance estimation for genes and contigs

11. การประมาณจำนวนของสิ่งมีชีวิต (Estimation of taxa abundances)

12. การประมาณจำนวนของหน้าที่ (Estimation of function abundances)

13. การรวมผลให้เป็นตาราง ORF (Merging of previous results to obtain the ORF table)

14. การจำแนก contigs ตามสิ่งมีชีวิตลงใน bin ด้วยวิธีต่าง ๆ (Binning with different methods)

15. การรวม bin จากวิธีต่าง ๆ ด้วย DAS tool (Binning integration with DAS tool

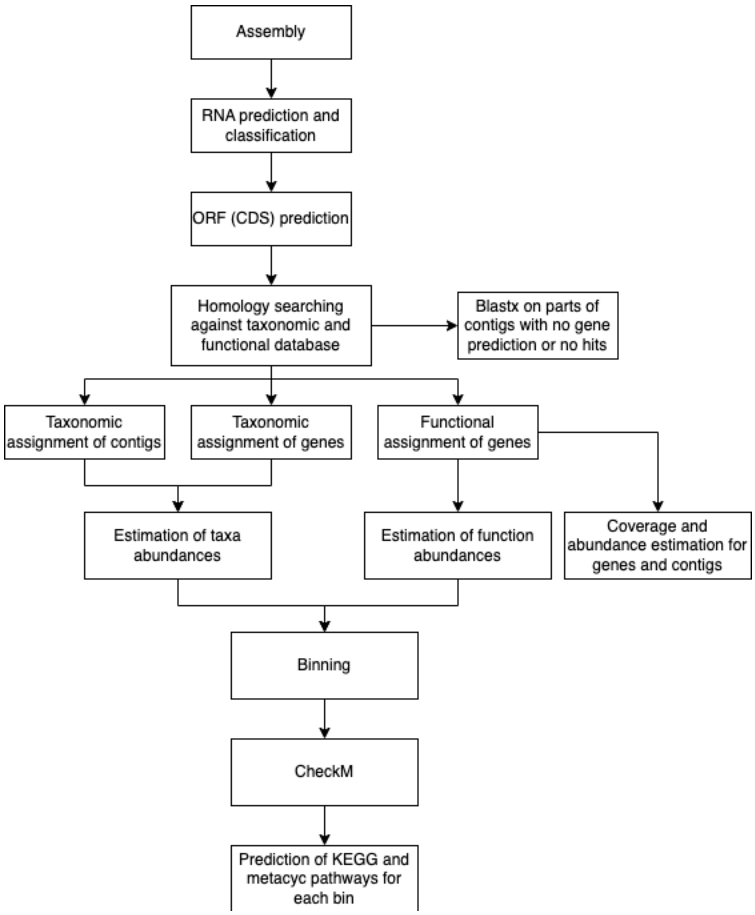
16. การกำหนดอนุกรมวิธานของ bin และเช็คความถูกต้องของอนุกรมวิธาน (Taxonomic assignment of bins, and check for taxonomic disparities

17. การตรวจสอบความสมบูรณ์ของจีโนมในแต่ละ Bin ด้วยโปรแกรม CheckM (Checking of bin with CheckM)

18. การรวมผลให้เป็นตาราง Bin (Merging of previous results to obtain the bin table)

19. การรวมผลให้เป็นตาราง Contig (Merging of previous results to obtain the contig table)

20. การทำนายวิถีเมตาบอลิซึมของแต่ละ Bin ด้วย KEGG และ Metacyc (Prediction of kegg and metacyc pathways for each bin)



รูปที่ 2 แผนผังแสดงวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลเมตาจีโนม ด้วยโปรแกรม SqueezeMeta (Tamames et al., 2019) จากข้อมูลดิบ (Raw Reads) จนกระทั่งได้ตาราง taxonomic abundance และ functional abundance

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สถานที่ทำการทดลอง ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพสาหร่าย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน เลขที่ 49 ซอยเทียนทะเล 25 ถนนบางขุนเทียน-ชายทะเล แขวงท่าข้าม เขตบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร 10150

สถานที่เก็บข้อมูล ธารน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ตั้งอยู่ที่บ้านห้วยผาก หมู่ที่ 7 ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การสำรวจกลุ่มสาหร่ายที่เจริญในแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระกนิษฐาธิราชเจ้า กรมสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

การสำรวจธารน้ำร้อนบ่อคลึง เขตอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ตั้งอยู่ที่บ้านห้วยผาก หมู่ที่ 7 ตำบลสวนผึ้ง อำเภอสวนผึ้ง จังหวัด ราชบุรี ในช่วงเดือนธันวาคม 2564 เพื่อวางแผนเก็บตัวอย่างสาหร่าย ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยการสำรวจพบว่าธารน้ำร้อนบ่อคลึง น้ำร้อนและไอน้ำจากดิน แทรกตัวมาตามแนวรอยแตกของชั้นหิน ขึ้นมาบนผิวดิน โดยน้ำจะไหลซึมออกมาจากตาน้ำใต้ดินไม่ขาดสาย โดยจุดที่ 1 บริเวณจุดตาน้ำนี้ อุณหภูมิของน้ำอยู่ที่ประมาณ 55-56 °C และค่า pH ประมาณ 7.3 โดยความลึกของน้ำประมาณ 15 เซนติเมตร สาหร่ายที่พบในบริเวณนี้ส่วนใหญ่จะเกาะติดอยู่กับโขดหินใต้น้ำ และผิวดินใต้น้ำ และเมื่อสำรวจบริเวณใกล้เคียง โดยบริเวณที่ห่างจากตาน้ำเพียงประมาณ 10 เมตร (จุดที่ 2) พบว่าอุณหภูมิของน้ำที่ไหลผ่านโขดหินไปตามเส้นทางจะลดลงเรื่อย ๆ อุณหภูมิของน้ำ ณ จุดที่ 2 ประมาณ 50-52 °C และค่า pH ประมาณ 7.4 บริเวณนี้สาหร่ายโดยส่วนใหญ่เกาะกับโขดหินใต้น้ำ โดยความลึกของน้ำไม่เกิน 10 เซนติเมตร เมื่อสำรวจต่อไปจนถึงบริเวณกักเก็บน้ำเพื่อการใช้ประโยชน์ ที่มีลักษณะเป็นบ่อลึกมากกว่า 60 เซนติเมตร (จุดที่ 3) พบว่าอุณหภูมิน้ำ ณ จุดที่ 3 ประมาณ 46-48 °C และค่า pH ประมาณ 7.4-7.6 โดยพบสาหร่ายส่วนใหญ่เกาะตามโขดหินใต้น้ำ น้ำมีลักษณะนิ่ง และจุดที่ 4 คือธารน้ำร้อนก่อนเข้าพื้นที่ให้บริการแก่ประชาชน ซึ่งห่างจากจุดตาน้ำประมาณ 150 เมตร โดยมีอุณหภูมิน้ำประมาณ 37-40 °C และค่า pH ประมาณ 7.4-8.2 น้ำ โดยความลึกของน้ำประมาณไม่เกิน 15 เซนติเมตร ผลการสำรวจเบื้องต้น พบว่าธารน้ำร้อนมีอุณหภูมิสูง สาหร่ายส่วนใหญ่ที่เห็นจะเป็นกลุ่ม นอกจากนี้ยังได้ทราบว่าภาคเอกชนมีการทำความสะอาดบริเวณบ่อน้ำและธารน้ำ เป็นครั้งคราว

การสำรวจและเก็บตัวอย่างได้ดำเนินการ 2 ช่วง คือการเข้าไปเก็บตัวอย่างสาหร่าย ณ วันที่ 7 มีนาคม 2565 (ฤดูร้อน) และ วันที่ 20 มิถุนายน 2565 (ฤดูฝน) ดังแสดงในรูปที่ 3 และรูปที่ 4 ตามลำดับ โดยสภาพแวดล้อม และคุณสมบัติของน้ำ อุณหภูมิน้ำและค่าของ pH ของทั้งสองช่วงเวลามีความใกล้เคียงกัน



รูปที่ 3 สภาพแวดล้อม และคุณสมบัติของน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 7 มีนาคม 2565



รูปที่ 4 สภาพแวดล้อม และคุณสมบัติของน้ำ ณ จุดเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 20 มิถุนายน 2565

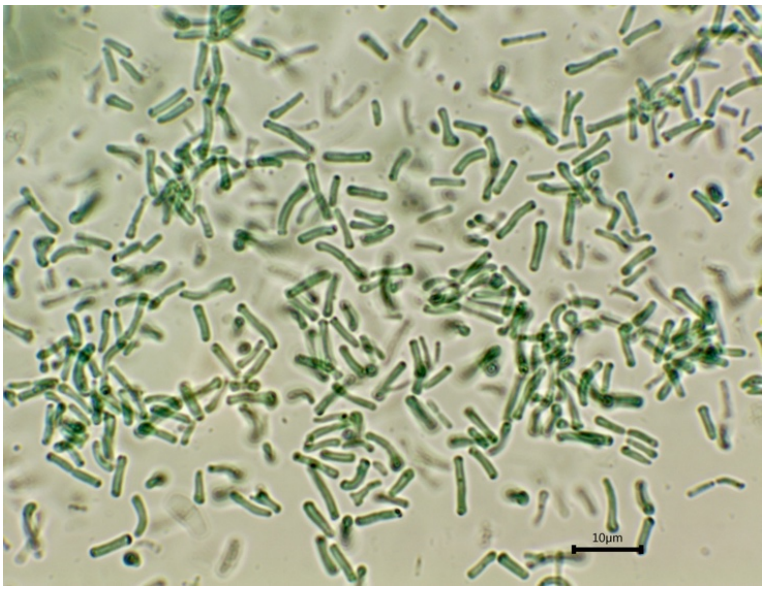
การจำแนกชนิดของสาหร่ายขนาดเล็กภายใต้กล้องจุลทรรศน์

สาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ส่วนใหญ่ที่พบเป็นในดิวิชั่น Cyanophyta (สาหร่ายเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรีย) รองลงมาคือสาหร่าย ในดิวิชั่น Bacillariophyta (ไดอะตอม) โดยสาหร่ายเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรีย เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด ทั้งในจุดที่ 1 ซึ่งเป็นบริเวณตาน้ำ จุดที่ 2 ซึ่งห่างจากตาน้ำประมาณ 10 เมตร จุดที่ 3 ซึ่งเป็นบริเวณที่กักน้ำ โดยอุณหภูมิทั้งสามจุดจะอยู่ในช่วง 46-56 °C และจุดที่ 4 ซึ่งเป็นธารน้ำร้อนก่อนเข้าพื้นที่ให้บริการประชาชน ซึ่งห่างจากจุดตาน้ำประมาณ 150 เมตร อุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 40 °C และค่า pH ประมาณ 7.4-8.2 นอกจากนี้ในจุดที่ 4 ซึ่งเป็นธารน้ำร้อนที่มี อุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 40 °C ยังสำรวจพบสาหร่ายกลุ่มไดอะตอม ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย ดังแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิน้ำลดลง สาหร่ายที่พบโดยส่วนใหญ่ได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ มีดังต่อไปนี้

Thermosynechococcus

จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Thermosynechococcus โดยเป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย ชนิดเซลล์เดียว รูปร่างเป็นท่อน (rod) หรือเป็นแท่งยาว ทรงกระบอก มีสีเขียวอ่อน สีเขียวอมฟ้า สีเขียวมะกอก โดยรงควัตถุหลักคือ คลอโรฟิลล์ เอ แคโรทีนอยด์และไฟโคไซยาโนบิลิน ไม่มีถุงก๊าซ (gas vesicles) การแบ่งเซลล์เกิดขึ้นในแนวตั้งฉากกับแกนยาว (trichome fragmentation) โดยปกติจะอยู่ตรงกลาง Thermosynechococus เป็นสาหร่ายมักพบในแหล่งน้ำพุร้อน และถูกใช้เป็นสิ่งมีชีวิตต้นแบบสำหรับการศึกษากระบวนการสังเคราะห์แสง เนื่องจากโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์สามารถทนอุณหภูมิได้สูง (Jordan et al., 2001; Zouni et al., 2001)

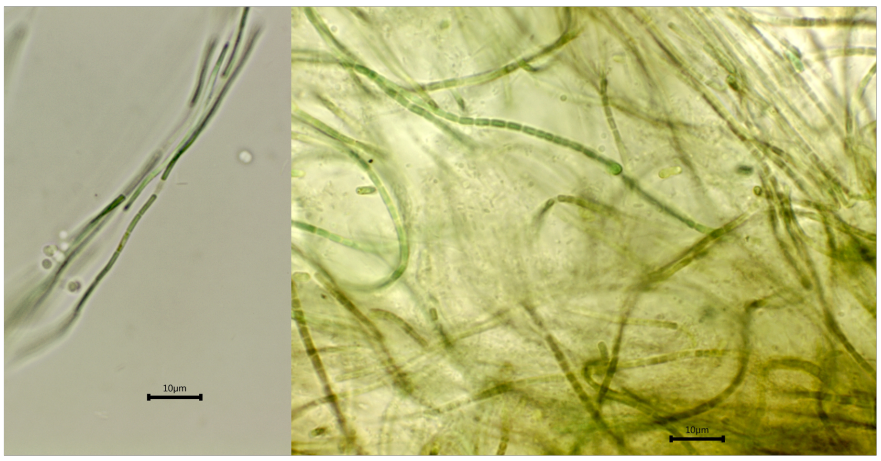
นอกจากนี้สาหร่ายชนิดนี้ยังมีศักยภาพที่จะใช้แหล่งของไฟโคไซยานินหรือสารสีน้ำเงินจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิสูง (Liang et al., 2018) เช่นเดียวกันกับผลการศึกษาของกัลยาณี และคณะ (2562) ที่ได้ค้นหาสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อนที่มีทางภาคเหนือของไทยเพื่อเป็นแหล่งผลิตไฟโคไซยานินทนอุณหภูมิสูง และพบว่าไฟโคไซยานินจากสาหร่าย *Thermosynechococcus* มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าไฟโคไซยานินจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีการจำหน่ายแล้วในเชิงพาณิชย์ ในแหล่งธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบสาหร่ายชนิดนี้ในตัวอย่างที่เก็บจากจุดที่ 1 จุดที่ 2 และ จุดที่ 3 โดยรูปร่างลักษณะที่พบใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในรูปที่ 5



รูปที่ 5 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Thermosynechococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Leptolyngbya

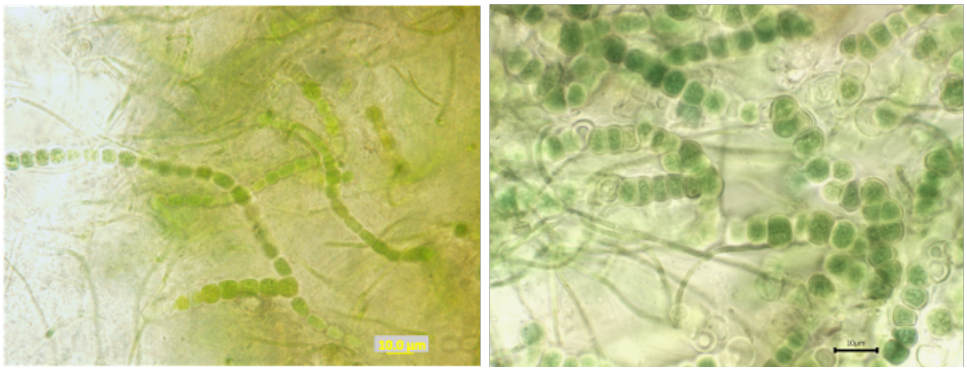
จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Leptolyngbyaceae โดยสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน Leptolyngbyaceae มีลักษณะเป็นเส้นสาย มักเกาะตัวกันหลวม ๆ เป็นกระจุก หรือเสื่อ ลอยอย่างอิสระ หรือยึดติดเกาะกับวัตถุ โดยพบสาหร่ายชนิดนี้เกาะและแขวนตัวกับวัตถุในน้ำ และพบได้หลากหลายแหล่งเช่น น้ำจืด น้ำทะเล และน้ำพุร้อน ในโดยลักษณะเด่นของ Leptolyngbyaceae คือ trichomes มีความกว้างไม่เกิน 3.5 ไมโครเมตร (μm) เป็นทรงกระบอก โดยความยาวของเซลล์มากกว่ากว้าง แต่ละ trichomes จะต้องมีชีทหุ้ม สำหรับไทลาคอยด์ภายในเซลล์ของ *Leptolyngbya* เป็นลักษณะ parietal thylakoid ที่มีการเรียงเป็นชั้น ๆ ด้านในขอบเซลล์ (Komárek and Johansen, 2015) ไม่มี heterocyst การแบ่งเซลล์แบบ trichome fragmentation *Leptolyngbya* เป็นหนึ่งในสกุลที่พบได้บ่อยที่สุด และเนื่องจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำลักษณะนี้ มีคล้ายกันจำนวนมาก จึงทำให้การจำแนกตามเชิงอนุกรมวิธาน อาจต้องใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาร่วมด้วย จากการสำรวจสาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบสาหร่าย *Leptolyngbya* จำนวนมากเกาะอยู่บนโขดหินหรือพื้นดินในน้ำ รวมอยู่กับสาหร่ายชนิดอื่นๆ จากตัวอย่างที่เก็บจากจุดที่ 1 จุดที่ 2 และ จุดที่ 3 โดยรูปร่างลักษณะที่พบใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในรูป 6 และการสำรวจสาหร่ายในแหล่งน้ำพุร้อน อื่นๆ โดยส่วนใหญ่ไซยาโนแบคทีเรียที่พบเป็นจีนัส *Leptolyngbya* spp.เช่นกัน (McGregor and Rasmussen, 2008, Coman et al., 2013, Mackenzie et al., 2013, Amarouche-Yala et al., 2014)



รูปที่ 6 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Leptolyngbya* spp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Fischerella

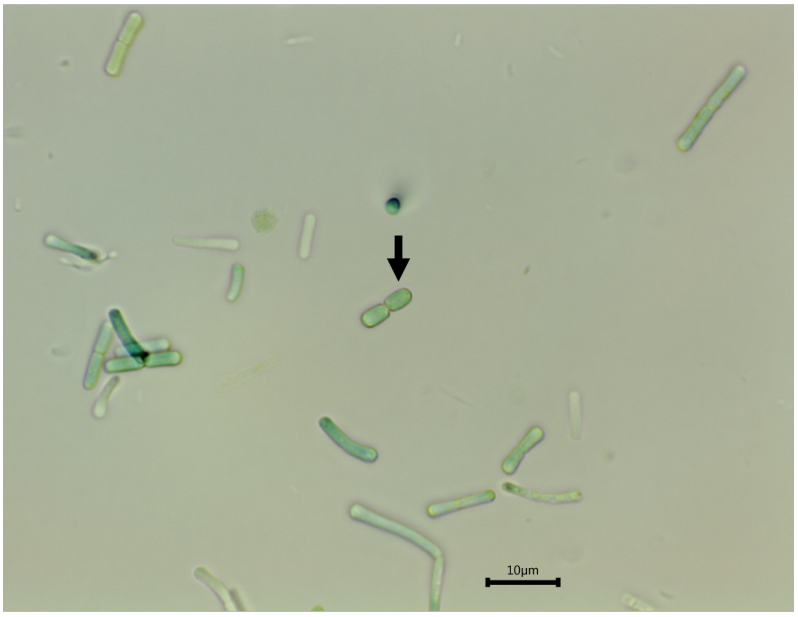
จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Hapalosiphonaceae ไซยาโนแบคทีเรียในกลุ่ม Hapalosiphonaceae มีลักษณะเป็นเส้นสายที่แตกแขนงได้หลายแบบ โดยสาหร่ายที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงคือ *Fischerella thermalis* หรือที่รู้จักในชื่อ *Mastigocladus laminosus* เป็นไซยาโนแบคทีเรียเส้นสายที่แตกแขนงอย่างแท้จริง *F. thermalis* เป็นหนึ่งในโปรคาริโอตที่ซับซ้อนที่สุด โดยมีโครงสร้างเป็นเส้นสายของ trichome ที่เชื่อมต่อกัน มีการแตกแขนงเป็นมีลักษณะเป็นรูปตัว V คว่ำออกทางด้านข้างของสายหลัก trichome และมีการแลกเปลี่ยนสารและสารควบคุมต่างๆ ผ่านทางผนังกั้น (septal junctions) เส้นสายหลัก trichome จะมีรูปทรงกระบอกสั้น เส้นสายที่แตกแขนงเป็นรูปทรงกระบอกยาว และมีเฮเทอโรซีสต์อยู่ภายในเส้นสาย *F. thermalis* สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ โดยระบบสังเคราะห์ของเซลล์ยังคงทำงานได้ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 15 ถึง 58 °C สาหร่ายชนิดนี้ยังความสามารถในการตรึงไนโตรเจน ในแหล่งน้ำพุร้อนที่มีค่า pH ในช่วงเป็นกลาง มักพบเห็นสาหร่ายชนิดนี้ โดยมักเกาะกันเป็นแผ่น (Alcorta et al., 2019) จากการสำรวจสาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบสาหร่าย *Fischerella spp.* จำนวนมากที่เกาะอยู่บนโขดหินหรือพื้นดินในน้ำ รวมอยู่กับสาหร่ายชนิดอื่นๆ จากในตัวอย่างที่เก็บจากทุกจุด โดยรูปร่างลักษณะใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Fischerella* spp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Synechococcus

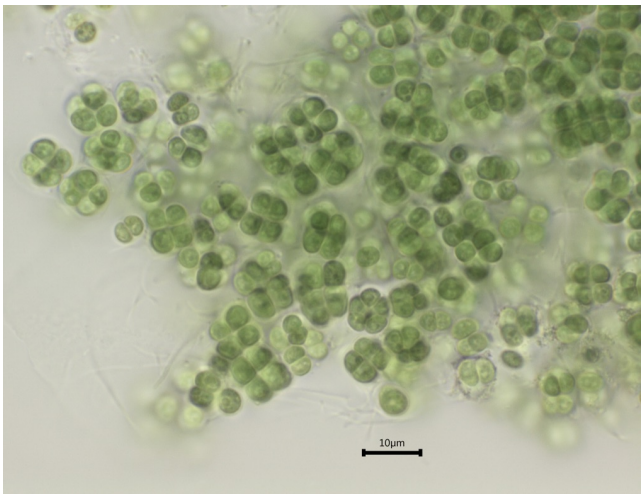
จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Synechococcaceae เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินที่มีลักษณะเป็นเซลล์เดียว ที่อาจอยู่แบบเดี่ยว ๆ หรือรวมกันเป็นโคโลนี มีรูปร่างรี ทรงกระบอก หรือรูปไข่ โดยในธารน้ำร้อนบ่อคลึงพบสาหร่าย *Synechococcus* sp. ที่มีลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็นรูปไข่ไม่มีเยื่อหุ้ม อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เมื่อแบ่งตัว มักไม่หลุดออกจากกัน จึงทำให้เห็นเป็นเซลล์คู่ (Komárek and Johansen, 2015a; ยุวดี 2556) ในแหล่งน้ำพุร้อนหลายแหล่งของไทยพบสาหร่ายชนิดนี้โดยเฉพาะในแหล่งที่อุณหภูมิน้ำสูงมากกว่า 40 °C แต่น้อยกว่า 80 °C (Sompong et al, 2005) รวมทั้งยังมีรายงานพบสาหร่ายกลุ่มนี้ในแหล่งน้ำพุร้อนที่มีอุณหภูมิสูง (Castenholz, 2015) สำหรับแหล่งธารน้ำร้อนบ่อคลึง จากการสำรวจใต้กล้องจุลทรรศน์พบสาหร่ายชนิดนี้ในตัวอย่างที่เก็บจากจุดที่ 1 และ 2 โดยรูปร่างลักษณะที่พบดังแสดงในรูปที่ 8



รูปที่ 8 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Synechococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ตามที่ชี้ด้วยลูกศร)

Chroococcidiopsis

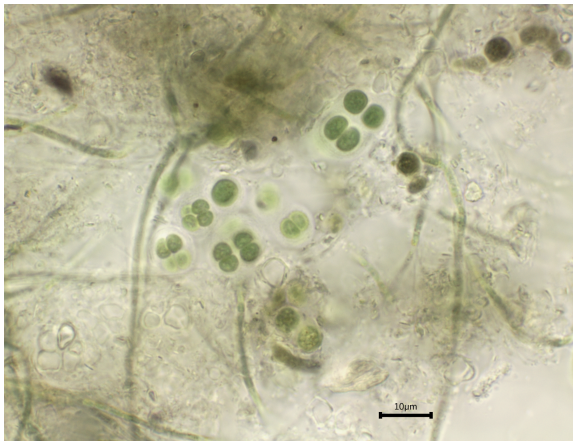
จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Xenococcaceae พบในแหล่งน้ำนิ่งอุณหภูมิสูง เช่น น้ำพุร้อน ดำรงชีวิตแบบยึดเกาะ เซลล์เป็นทรงกลม หรือครึ่งทรงกลม หรือรวมกันเป็นโคโลนี ทรงกลม หรือรูปร่างที่ไม่สม่ำเสมอ ที่ห่อหุ้มด้วยชีทบางใส เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1.5-20 ไมครอน มีเม็ดสีที่เป็นเนื้อเดียวกันมากหรือน้อย (ไทลาคอยด์กระจายอย่างเป็นระเบียบ) สีเขียวซีด หรือสีฟ้าสดใส สี การแบ่งเซลล์ไม่สม่ำเสมอ ต่อเนื่องกัน หรือเป็นลำดับอย่างรวดเร็วในเซลล์ที่มีขนาดต่างกัน ซึ่งหลุดออกจากเปลือกหุ้มที่แตกออก มักพบสาหร่ายนี้ในแหล่งน้ำนิ่งอุณหภูมิสูง และมักจะติดอยู่กับชั้นหินต่างๆ (Komárek and Johansen, 2015a; ยุวดี, 2556) จากการสำรวจในธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบสาหร่ายชนิดนี้ในจุดที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นบริเวณอุณหภูมิสูง รูปร่างลักษณะของสาหร่ายที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcidiopsis* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Chroococcus

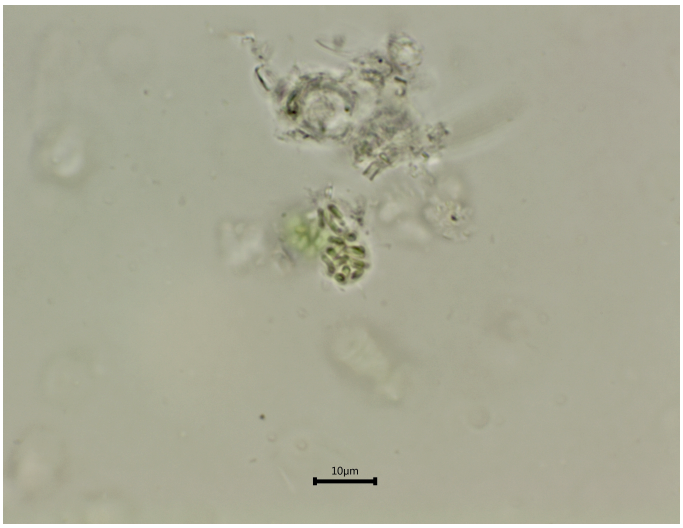
จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Chroococcaceae ไซยาโนแบคทีเรียกลุ่มนี้พบว่าเซลล์มักอยู่เป็นโคโลนีประกอบด้วยกลุ่มเซลล์เล็ก ๆ ประมาณ 2 ถึง 4 เซลล์ เนื่องจากเซลล์แบบตัวแล้วไม่แยกจากกัน มีเมือกหุ้ม (mucilaginous envelopes) เซลล์มีลักษณะกลม รี หรือครึ่งวงกลม เซลล์มีสี เขียว เขียวแกมน้ำเงิน (ยุวดี, 2556) จากการสำรวจในธารน้ำร้อนบ่อคลึงพบสาหร่ายชนิดนี้ในตัวอย่างที่เก็บจากจุดที่ 3 และ 4 ซึ่งเป็นบริเวณที่อุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 50 °C รูปร่างและลักษณะของสาหร่ายที่ปรากฏใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงรูปที่ 10



รูปที่ 10 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Chroococcus* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Aphanothece

จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Aphanothecaceae ไซยาโนแบคทีเรียกลุ่มนี้เซลล์อยู่รวมกันเป็นโคโลนี โดยมีชีท (Sheath) ซึ่งเป็นสารเมือกหุ้ม เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ๆ แท่งปลายมน ตรงหรือโค้งเล็กน้อย ขนาดเซลล์แตกต่างกันไปในแต่ละสปีชีส์ ตั้งแต่ยาว 1 - 12 ไมโครเมตร โดยรูปร่างของโคโลนีไม่แน่นอน เซลล์มีสีเขียวแกมน้ำเงิน เขียวอมฟ้า หรืออมน้ำตาล ถุงก๊าซและแอโรโทปมีอยู่ในบางชนิด การสืบพันธุ์เกิดขึ้นโดยการแบ่งเซลล์แบบไบนารี (binary fission) ตามขวางซึ่งตั้งฉากกับแกนเซลล์ยาว ไทลาคอยด์ไม่สม่ำเสมอ สาหร่ายชนิดนี้พบได้ในแหล่งน้ำนิ่งและน้ำไหลเอื่อย รวมทั้งแหล่งน้ำพุร้อน ถุงก๊าซและแอโรโทปมีอยู่ในแพลงก์ตอนบางชนิด การสืบพันธุ์เกิดขึ้นโดยการแบ่งเซลล์แบบ binary fission โดยแบ่งตัวตามขวางซึ่งตั้งฉากกับแกนเซลล์ยาว (Komárek and Johansen, 2015a; ยุวดี, 2556) จากการสำรวจในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ไม่พบสาหร่ายนี้ ในจุดที่ 1 และ 2 แต่เริ่มพบในจุด 3 และพบมากในจุดที่ 4 ซึ่งเป็นบริเวณอุณหภูมิน้ำลดลง รูปร่างลักษณะของสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ดังแสดงในรูปที่ 11



รูปที่ 11 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Aphanothece* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Calothrix

จัดอยู่ในดิวิชัน Cyanophyta แฟมิลี Rivulariaceae เซลล์มีลักษณะเป็นเส้นสายเรียวยาวจากฐานถึงปลาย มีชีท (Sheath) หุ้มตลอดสาย ไม่แตกแขนง มีเฮเทอโรซิสต์อยู่บริเวณฐาน ของเส้นสายเพียง 1 เซลล์รูปร่างค่อนข้างกลมหรือกลม เส้นสายของเซลล์อาจอยู่เดี่ยว ๆ หรืออยู่รวมกลุ่ม 3-4 เส้นสาย Calothrix มีสีเขียวแกมน้ำตาล หรือ เขียวแกมน้ำเงิน มักพบสาหร่ายชนิดนี้ในแหล่งน้ำไหลหรือน้ำนิ่ง โดยยึดเกาะกับวัตถุ (Komárek and Johansen, 2015b; ยุวดี, 2556) รายงานการพบ *Calothrix* sp. และ *Calothrix thermalis* (Schimdle) Hansg. บริเวณแหล่งน้ำพุร้อนทางภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ที่อุณหภูมิ 35-55 °C (อุดมลักษณ์ 2544) สำหรับแหล่งน้ำร้อนบ่อคลึง จากการสำรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ ไม่พบสาหร่ายชนิดนี้ในตัวอย่างจากจุดที่ 1 และจุดที่ 2 แต่จะพบสาหร่ายชนิดนี้แหล่งน้ำจุดที่ 3 ซึ่งเป็นบริเวณบ่อพักเก็บน้ำร้อน โดยรูปร่างลักษณะของสาหร่ายภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงในรูปที่ 12



รูปที่ 12 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Calothrix* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Oscillatoria

จัดอยู่ในดิวิชัน Cyanophyta แฟมิลี Rivulariaceae มีลักษณะเซลล์เรียงตัวกันเป็นเส้นสาย เซลล์ปลายยอดมีลักษณะมนโดยแต่ละเซลล์เรียก ไตรโคม (trichome) รูปร่างทรงกระบอก โดยปกติแต่ไม่มีเมือกหุ้ม trichome ไซยาโนแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สร้างเฮเทอโรซิสต์ (heterocyst) และอะคินีท (akinete) สืบพันธุ์ได้โดยการขาดออกเป็นท่อน ๆ ตรงตำแหน่งของเซเพอเรชันดิส หรือเซลล์ตาย สีของสาหร่ายที่พบมักเป็นเป็นสีเขียว สีเขียวแกมน้ำเงิน เทาเขียว น้ำตาล และดำ โดยทั่วไปพบในแหล่งน้ำจืด บริเวณแหล่งน้ำนิ่ง น้ำไหลเอื่อย และน้ำพุร้อน รวมทั้งบนผิวดินที่ชื้น เซลล์อาจล่องลอยเป็นอิสระในน้ำหรือยึดเกาะกับวัตถุ (Komárek and Johansen, 2015b; ยุวดี, 2556) โดยสาหร่ายชนิดสามารถบ่งบอกน้ำที่ค่อนข้างไม่ดีถึงไม่ดี มีสารอาหารสูงได้ (ยุวดี, 2549) การสำรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ไม่พบสาหร่ายชนิดนี้ในจุดที่ 1 และ จุดที่ 2 แต่พบสาหร่ายชนิดนี้จากตัวอย่างจุดที่ 3 และจุดที่ 4 ซึ่งอุณหภูมิของน้ำต่ำกว่าจุดที่ 1 และ 2 รูปร่างลักษณะของสาหร่ายที่พบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงในรูปที่ 13



รูปที่ 13 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Oscillatoria* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Phormidium

จัดอยู่ในดิวิชั่น Cyanophyta แฟมิลี Oscillatoriaceae ลักษณะเป็นเส้นสายยาว เป็นทรงกระบอกและอาจโค้งหรือเป็นเกลียว มี sheath ใส หุ้มยึดติดกับไตรโคม เส้นสายเคลื่อนที่โดยการเลื้อย ส่าย/กวัดแกว่ง เซลล์เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าเรียงต่อกัน ความกว้างของเซลล์มีความสม่ำเสมอตลอด ระหว่างเซลล์ไม่มีรอยคอดเว้า หรือมีเล็กน้อย บริเวณปลายเซลล์อาจจะมีโครงสร้างคล้ายหมวกคลุม (Calyptra) และหรือเซลล์บริเวณปลายสายอาจมีลักษณะแหลม แคบ หรือกลมกว่าเซลล์อื่น ๆ ไม่มี gas vesicles ในธรรมชาติเส้นใยมักพันกันเป็นกลุ่ม ก่อตัวเป็นแผ่นแบน ๆ พื้นผิวลื่น มีการยึดเกาะตัวกันบนพื้นผิวหน้าดิน ซึ่งสามารถหลุดและล่องลอยออกไป มีรายงานการค้นพบ Phormidium ในน้ำพุร้อน บริเวณภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย (อุดมลักษณ์ 2544) ซึ่งสายพันธุ์ที่พบมากที่สุด คือ *Phormidium boryanum* (Bry ex Gom.) Anagn. Et Kom โดยพบที่อุณหภูมิ 50-60 °C และ *Phormidum laminosum* Gomont พบที่อุณหภูมิ 40-50 °C นอกจากนี้ ยังมีการพบ *Phormidium ambigum* บริเวณน้ำพุร้อนภาคใต้ของประเทศไทย (อ. เขาชัยสน จ. พัทลุง) ที่อุณหภูมิ 53-59 °C (วิรัชนีย์ 2534) การสำรวจตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบสาหร่ายชนิดจากตัวอย่างในจุดที่ 3 และ 4 โดยสาหร่ายที่พบมีลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แสดงในรูปที่ 14



รูปที่ 14 สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Phormidium* sp. จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

Achanathidium

จัดอยู่ในดิวิชั่น Bacillariophyta (ไดอะตอม) แฟมิลี Achnanthaceae เป็นไดอะตอมประเภทยึดเกาะ (bentic diatom) พบบริเวณท้องน้ำและบนก้อนหิน เซลล์มีรูปร่างคล้ายกระสวย (pinnate diatom) มี เปลือกครอบเซลล์ เรียกว่า ฟรัสตูล (frustule) โครงสร้างทำจาก ซิลิกา ประกอบด้วยฝา (valve) 2 ฝาครอบกันพอดี ฝาบนเรียกเอพิธีคา (epitheca) หรือ เอพิวาล์ว (epivalve) มีขนาดใหญ่กว่าครอบฝาด้านล่างที่มีขนาดเล็กเรียก ไฮโพธีกา (hyptheca) แต่ละฝาประกอบด้วยด้านที่แผ่เป็นแผ่นกว้างเรียกวาล์ว (valve) แต่ด้านข้างที่ครอบกันอยู่เรียก เกอร์เดิล (girdle) เมื่อมองจากด้านฝา (valve view) จะเห็นเซลล์มีลักษณะรูปไข่ และเมื่อมองจากด้านข้าง (girdle view) จะเห็นเซลล์มีลักษณะรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า รงควัตถุที่ใช้สังเคราะห์แสงประกอบด้วย คลอโรฟิลล์ เอ และ คลอโรฟิลล์ ซี แคโรทีนอยด์ เอ และ แซนโทฟิลล์ (ไดอะโตแซนทิน diatoxanthin และ ฟิวโคแซนทิน fucoxanthin) มีการสำรวจพบ *Achnanthes* (ชื่อเดิม) หรือ *Achanathidium* (ชื่อปัจจุบัน) ในแหล่งน้ำพุร้อนทางภาคเหนือของประเทศไทย ที่มีอุณหภูมิ 20-50°C (อุดมลักษณ์ 2544; Pumas et al., 2018) โดยสาหร่ายชนิดสามารถบ่งบอกน้ำที่ค่อนข้างดีถึงดี มีสารอาหารน้อยได้ (ยุวดี, 2556) จากตัวอย่างทั้ง 4 จุด ที่มาจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง สำรวจพบสาหร่ายชนิดจากตัวอย่างในจุดเก็บที่ 4 โดยไดอะตอมที่พบมีโครงสร้างและรูปร่างของภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังแสดงในรูปที่ 15



รูปที่ 15 ไดอะตอม *Achanathidium spp.* จากธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
(1) *Achanathidium exiguum* Grunow (valve view) (2) *Achanathidium* sp. (valve view)

การค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูงด้วยวิธีเมตาจีโนมิกส์ (metagenomics)

เพื่อค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูงจากแหล่งน้ำพุร้อน การวิจัยนี้ จึงใช้วิธีการเมตาจีโนมิกส์ ซึ่งเป็นการศึกษาวิเคราะห์จีโนมหรือข้อมูลพันธุกรรมของจุลินทรีย์ทั้งหมด ซึ่งทำให้ทราบกลุ่มหรือชนิดของที่มีอยู่ในแหล่งนั้น ๆ และค้นหากลุ่มยีน จากดีเอ็นเอ (DNA) หรือนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาจากตัวอย่างโดยตรง ไม่ต้องทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

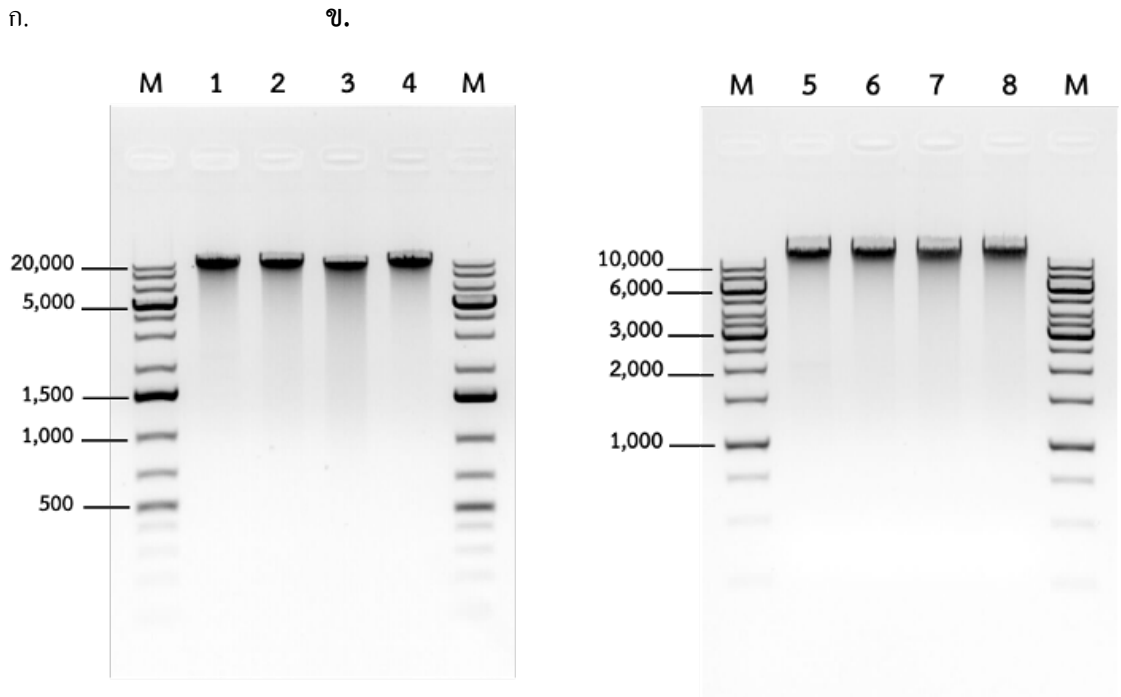
1 ผลการเตรียมตัวอย่างจีโนมิกส์ดีเอ็นเอของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

ตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงทั้ง 4 จุด ใน 2 ช่วงฤดูคือ ฤดูร้อน และ ฤดูฝน รวมเป็น 8 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 1 ได้ถูกนำไปวิเคราะห์เพื่อค้นหายีนหรือกลุ่มยีนจากสิ่งมีชีวิตในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ด้วยวิธีเมตาจีโนมิกส์ (metagenomics) โดยงานวิจัยนี้จึงเริ่มจากการเตรียมตัวอย่างจีโนมิกส์ดีเอ็นเอทั้ง 8 ตัวอย่าง เพื่อนำไปหาลำดับนิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 1 รายชื่อและรายละเอียดเกี่ยวกับตัวอย่างที่เก็บจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

ชื่อตัวอย่าง (Sample ID)	**จุดเก็บ**	**เดือน/ปี ที่เก็บตัวอย่าง**	**อุณหภูมิน้ำ (° C)**	**pH**
BKRC_HS01	จุดที่ 1	มีนาคม/2565	55-56	7.4
BKRC_HS02	จุดที่ 2	มีนาคม/2565	51-52	7.4
BKRC_HS03	จุดที่ 3	มีนาคม/2565	46-48	7.4
BKRC_HS04	จุดที่ 4	มีนาคม/2565	37-40	7.4
BKRC_RS01	จุดที่ 1	มิถุนายน/2565	55-56	7.3
BKRC_RS02	จุดที่ 2	มิถุนายน/2565	51-52	7.7
BKRC_RS03	จุดที่ 3	มิถุนายน/2565	47-48	7.6
BKRC_RS04	จุดที่ 4	มิถุนายน/2565	40-41	8.2

โดยตัวอย่าง Genomics DNA ที่ใช้ต้องมีคุณภาพดี โดยผลการวิเคราะห์ด้วยการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง พบว่ามีอัตราส่วนของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 และ 260 นาโนเมตร มากกว่า 1.8 และตรวจสอบคุณภาพอีกครั้งด้วยวิธี Agarose gel electrophoresis พบว่า Genomics DNA มีคุณภาพดี ดังแสดงในรูปที่ 16 ดังนั้นตัวอย่างที่ได้ทั้งหมด ถูกส่งไปทำการวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคโนโลยี Illumina platform



รูปที่ 16 ผลการตรวจสอบคุณภาพของ Genomics DNA ของตัวอย่างที่เก็บจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง โดยวิธี Agarose gel electrophoresis ก) ตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูร้อน ข) ตัวอย่างที่เก็บในช่วงฤดูร้อน โดย M คือ DNA marker 1 - 8 คือตัวอย่าง Genomic DNA ของ BKRC_HS01 BKRC_HS02 BKRC_HS03 BKRC_HS04 BKRC_RS01 BKRC_RS02 BKRC_RS03 และ BKRC_RS04 ตามลำดับ

2 ผลการหาลำดับเบสของ Illumina platform

จากตัวอย่างจีโนมิกซ์ดีเอ็นเอจำนวน 8 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาวิเคราะห์จีโนมของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ผลจากการหาลำดับเบสด้วยเทคโนโลยีการหาลำดับเบส Illumina platform ได้จำนวนข้อมูลของแต่ละตัวอย่าง แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ข้อมูลจำนวนลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

Sample	Number of Reads	Number of Bases
BKRC_HS01	126,711,080	19,006,662,000
BKRC_HS02	117,394,152	17,609,122,800
BKRC_HS03	119,790,602	17,968,590,300
BKRC_HS04	114,312,008	17,146,801,200
BKRC_RS01	97,624,646	14,643,696,900
BKRC_RS02	101,949,470	15,292,420,500
BKRC_RS03	96,168,360	14,425,254,000
BKRC_RS04	80,721,834	12,108,275,100

3 การวิเคราะห์ข้อมูลพันธุกรรมของกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงด้วย Shotgun Metagenomics

ข้อมูลที่ได้จากเครื่องหาลำดับเบสอยู่ในรูปของ paired-end reads สำหรับแต่ละตัวอย่าง ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำมาประกอบกัน โดยใช้ส่วนที่เหมือนกันของ reads (overlapping region) จนเป็นลำดับเบสดีเอ็นเอสายยาว (contig) จากข้อมูลตัวอย่างทั้ง 8 ตัวอย่าง สามารถ assembly เป็น contig ได้ทั้งหมด 4,589,695 contig ความยาวรวมทั้งหมด 5,227,923,165 คู่เบส (base pairs, bps) โดย contig สายยาวที่สุดมีขนาด 2,048,910 bps และสายสั้นที่สุดมีขนาด 200 bps โดยรายละเอียดเกี่ยวกับ contig ของแต่ละตัวอย่างแสดงในตารางที่ 3 จากนั้น contig ทั้งหมด ถูกนำไปทำนายบริเวณที่ถอดรหัสเป็นโปรตีน (open reading frame หรือ ORF) ด้วยโปรแกรม Prodigal ถอดรหัสเป็น tRNA และ tmRNA ด้วยโปรแกรม Aragorn และ ถอดรหัสเป็น rRNA ด้วยโปรแกรม Barrnap ข้อมูล contig และ ข้อมูลการถอดรหัสลำดับนิวคลีโอไทด์ ทั้งหมดถูกนำไปกำหนดอนุกรมวิธาน (taxonomic assignment) รวมถึงคำนวณสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดด้วย รวมทั้งข้อมูลการถอดรหัสลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้ ถูกนำไปทำนายหาหน้าที่ โดยอาศัยฐานข้อมูล KEGG, COG, และ Pfam

ตารางที่ 3 ข้อมูลจำนวน contig ทั้งหมดของตัวอย่างจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

Sample	Number of Contigs	Total Length of Contigs (bps)	Longest Length (bps)	Smallest Length (bps)
BKRC_HS01	241,087	393,960,301	1,400,413	200
BKRC_HS02	299,560	387,887,213	1,008,921	200
BKRC_HS03	734,685	795,084,082	695,685	200
BKRC_HS04	1,164,167	1,141,558,136	793,244	200
BKRC_RS01	149,952	245,600,918	956,433	200
BKRC_RS02	396,570	550,099,346	2,048,910	200
BKRC_RS03	739,100	867,732,681	1,366,774	200
BKRC_RS04	864,574	846,000,488	1,694,232	200

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูล shotgun metagenomics ของตัวอย่างทั้ง 8 ตัวอย่าง ทำให้ได้ข้อมูล contig จำนวน 4,589,695 contig จากนั้นนำ contig ทั้งหมดไปทำนายหา open reading frame (ORF) ซึ่งเป็นบริเวณนิวคลีโอไทด์ที่สามารถแปลรหัสเป็นโปรตีนได้ ซึ่งทำนายหน้าที่ของยีนด้วยโปรแกรม Aragorn, Prodigal และ Barrnap และการทำนายหน้าที่ วิถีเมตาบอลิซึม และ protein domain โดยอาศัยฐานข้อมูล Clusters of Orthologous Groups of proteins (COG), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) , และ Protein families (Pfam) ดังแสดงในตารางที่ 4 โดยพบว่าข้อมูล contig จากทั้ง 8ตัวอย่าง สามารถทำนาย ORF ได้ จำนวน 8,150,430 ORF นอกจากนี้ ยังพบ ribosomal RNA genes (rRNAs) จำนวน 8,055 ยีน และ Transfer ribonucleic acid (tRNA) และ messenger RNA (mRNA) จำนวน 45,944 ยีน จากข้อมูล ORF ที่ทำนายได้ทั้งหมด มีเพียงประมาณร้อยละ 51 69 และ 44 ที่สามารถทำหน้าที่ของ ORF ได้ จากฐานข้อมูล KEGG, COG และ Pfam ตามลำดับ ในขณะที่ ORF ส่วนที่เหลือยังไม่มีข้อมูลที่ตรงกับฐานข้อมูล ซึ่งจะรวมเป็นสิ่งมีชีวิตที่เคยมีการรายงานแล้วแต่ยังไม่มีข้อมูลยีนในฐานข้อมูลที่เลือกใช้ หรืออาจเป็นสิ่งมีชีวิตใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานมาก่อน

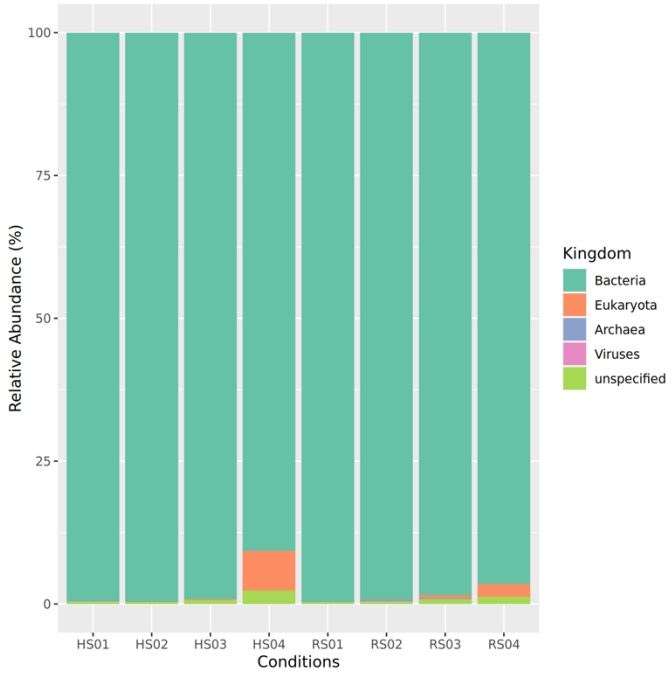
ตารางที่ 4 ข้อมูลจำนวนยีนที่ได้จากการทำนายหน้าที่ของยีน

Sample	Number of ORFs	Number of rRNAs	Number of tRNAs/mRNAs	KEGG	COG	Pfam
BKRC_HS01	538,575	471	3,963	293,004	380,726	272,344
BKRC_HS02	574,841	542	3,468	285,461	379,179	253,500
BKRC_HS03	1,297,032	1,063	7,562	691,516	923,656	577,054
BKRC_HS04	1,893,093	1,877	8,970	914,074	1,276,958	753,766
BKRC_RS01	331,855	338	2,334	176,647	229,444	167,076
BKRC_RS02	786,313	792	5,153	404,697	539,036	364,859
BKRC_RS03	1,325,840	1,453	7,640	692,947	929,436	592,301
BKRC_RS04	1,402,881	1,519	6,854	678,128	940,569	566,057

4 การกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึง

จากผลการวิเคราะห์ข้อมูล shotgun metagenomics โดยนำ ORF และ contig ทั้งหมดไปกำหนดอนุกรมวิธาน (taxonomic assignment) และหาสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด พบว่า ในตัวอย่างทั้ง 8 ตัวอย่าง เมื่อพิจารณาในระดับอาณาจักร (Kingdom) พบสิ่งมีชีวิตใน Kingdom แบคทีเรีย (Bacteria), ยูแคริโอท (Eukaryota), อาเคียร์ (Archaea), และ ไวรัส (Virus) รวมทั้งยังมีบางส่วนที่ไม่สามารถระบุกลุ่มได้ จึงถูกจัดเป็นกลุ่ม Unspecified ดังแสดงใน รูปที่ 17

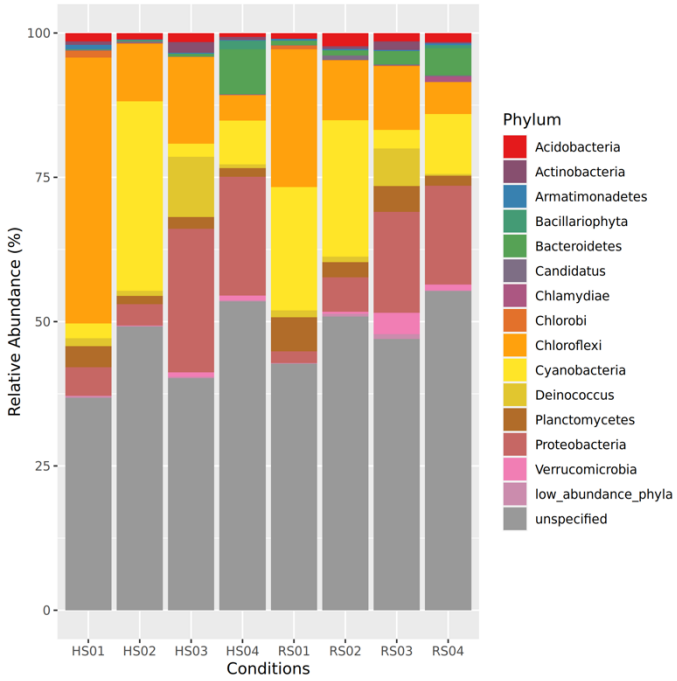
สิ่งมีชีวิตที่พบมากที่สุดในธารน้ำร้อนบ่อคลึงคือ Kingdom Bacteria ซึ่งมีสัดส่วนสูง ในช่วงประมาณร้อยละ 90.7331 – 99.6156 ตามด้วย Kingdom Eukaryota (ร้อยละ 0.0057 – 6.8713) Archaea (ร้อยละ 0.0085 – 0.3854) และ Virus (ร้อยละ 0.0004 – 0.0138) ในขณะที่กลุ่ม Unspecified จะมีประมาณร้อยละ 0.3130 – 2.3831 ทั้งนี้เป็นที่น่าสังเกตว่า ตัวอย่างจากจุดที่ 4 ของทั้งสองฤดูกาล คือ ตัวอย่าง BKRC_HS04 (HS04) และ BKRC_RS04 (RS04) ซึ่งอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วงประมาณ 37-41 ^{o}C จะพบสิ่งมีชีวิตใน Kingdom Eukaryota มากกว่าตัวอย่างน้ำจากจุดอื่น ๆ และมีความหลายหลายของสิ่งมีชีวิตเพิ่มขึ้น นั้นแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิน้ำมีผลต่อความหลากหลายของสิ่งมีชีวิต ในแหล่งน้ำร้อนซึ่งเป็นสภาวะที่มีความรุนแรง จึงมีเพียงสิ่งมีชีวิตจำนวนไม่มากที่ทนต่อสภาวะดังกล่าวได้



รูปที่ 17 สัดส่วนของสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงระดับ Kingdom
โดยที่ unspecified หมายถึง ลำดับเบสดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถระบุ Kingdom ได้

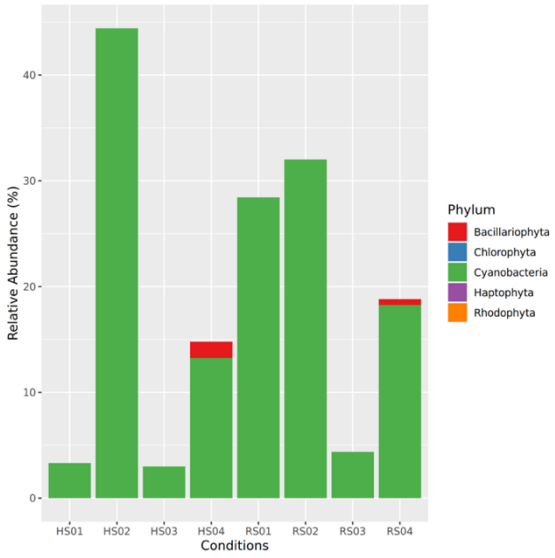
เมื่อพิจารณาในระดับไฟลัม (Phylum) ของตัวอย่างทั้งหมด ดังแสดงในรูปที่ 18 พบว่า 5 อันดับแรกของไฟลัมที่มีการกระจายตัวสูงสุด คือ ไฟลัม Chloroflexi ร้อยละ 4.390 – 46.048 Cyanobacteria ร้อยละ 2.275 – 32.818 Proteobacteria ร้อยละ 2.013 – 24.868 Deinococcus-Thermus ร้อยละ 0.3219 – 10.4389 และ Bacteroidetes ร้อยละ 0.0946 – 7.7782 ซึ่งเป็นแบคทีเรียทั้งหมด กลุ่มแบคทีเรียเหล่านี้ (รูปที่ 18) และที่น่าสนใจ คือ สาหร่ายกลุ่ม Cyanobacteria หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน จัดเป็นหนึ่งในห้าอันดับแรกของสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ซึ่งสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้น่าจะเป็นกลุ่มสิ่งมีชีวิตที่สำคัญต่อระบบนิเวศวิทยา นอกจากนี้กลุ่มสิ่งมีชีวิตที่พบในแหล่งน้ำนี้ยังถูกพบในตะกอนดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงด้วยเช่นกัน โดย Kanokratana et al. (2004) ได้ศึกษากลุ่มสิ่งมีชีวิตในตะกอนดินจากธารน้ำร้อนบ่อคลึงที่ระดับความลึก 20–30 ซม. ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2002 ด้วยวิธี 16S rRNA Amplified และ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) พบกลุ่มแบคทีเรียในไฟลัม Acidobacteria (ร้อยละ 23), Bacteriodetes (ร้อยละ 19), Nitrospirae (ร้อยละ 13), Proteobacteria (ร้อยละ 12) และ Deinococcus-Thermus (ร้อยละ 11) รวมทั้งไฟลัมอื่น ๆ ได้แก่ Actinobacteria, Chloroflexi, Cyanobacteria, Verrucomicrobia และ Candidate division "OP10" ที่มีสัดส่วนของแต่ละกลุ่มประมาณร้อยละ 5

นอกจากนี้มีการศึกษาสิ่งมีชีวิตในน้ำจากแหล่งน้ำพุร้อนในประเทศไทยด้วยเทคนิค Shotgun metagenomic sequencing บริเวณ บ่อน้ำซับอุ่น ต.ภูซาง อ.ภูซาง จ.พะเยา ซึ่งมีอุณหภูมิน้ำประมาณ 35-38 °C พบแบคทีเรียในไฟลัม Proteobacteria (ร้อยละ 84), Bacteroidetes (ร้อยละ 13), Cyanobacteria (ร้อยละ 1) และกลุ่มที่จำแนกไม่ได้ (ร้อยละ 2) (Bumrungthai et al. 2019) ดังนั้น การกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตในระดับไฟลัมอาจมีความแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ และปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และปริมาณแร่ธาตุ ณ ช่วงเวลานั้น ๆ



รูปที่ 18 แผนผังแสดงสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตพบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงระดับไฟลัม โดยแสดงเฉพาะไฟลัมที่มีสัดส่วนรวมมากกว่าร้อยละ 1 และ low_abundance_phyla และ unspecified แสดงไฟลัมที่มีสัดส่วนรวมต่ำกว่าร้อยละ 1 และสายดีเอ็นเอที่ไม่สามารถระบุไฟลัมได้ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาการกระจายตัวเฉพาะกลุ่มสาหร่ายในแต่ละตัวอย่างจากจุดเก็บต่าง ๆ ที่อยู่ในธารน้ำร้อนบ่อคลึงในระดับไฟลัมในทั้ง 2 ฤดู พบสาหร่ายกลุ่มโปรคาริโอต คือ ไฟลัม Cyanobacteria และสาหร่ายกลุ่มยูแคริโอต ที่อยู่ในไฟลัมต่างๆ ดังนี้ Bacillariophyta, Chlorophyta, Haptophyta และ Rhophyta ดังแสดงในรูปที่ 19 โดยสาหร่ายกลุ่ม Cyanobacteria หรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุด ประมาณร้อยละ 2.999 – 44.428 ของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมดในแต่ละตัวอย่าง ในขณะที่ Bacillariophyta ซึ่งเป็นไดอะตอม มีประมาณร้อยละ0.000 – 1.5457 ส่วนไฟลัม Chlorophyta, Haptophyta และ Rhophyta มีการกระจายตัวไม่เกิน ร้อยละ 0.0005 ของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมดจากตัวอย่างธารน้ำร้อนบ่อคลึง เมื่อเปรียบเทียบการสัดส่วนการกระจายตัวของสาหร่ายในแต่ละตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างจากจุดที่ 1 ซึ่งเป็นจุดตาน้ำ มีสัดส่วนของสาหร่ายค่อนข้างต่ำในฤดูร้อน แต่ในฤดูฝน พบว่า สัดส่วนของสาหร่ายเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจมีผลมาจากปัจจัยเรื่องแสงด้วยส่วนหนึ่ง เนื่องจากบริเวณนี้เป็นจุดที่ไม่มีร่มเงาของต้นไม้ ในขณะที่ตัวอย่างจากจุดเก็บอื่น ๆ มีร่มเงาต้นไม้บางช่วงเวลาของวัน ดังนั้น ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงและความเข้มแสงสูงในฤดูร้อน อาจส่งผลทำให้ประชากรของสาหร่ายลดลงในบริเวณนี้ ในขณะที่ประชากรของแบคทีเรียชนิดอื่นสูงขึ้น ในขณะที่ตัวอย่างจากจุดที่ 2 มีสัดส่วนของสาหร่ายกลุ่มนี้สูง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะบริเวณจุดเก็บเป็นจุดที่น้ำไหลผ่านโขดหิน ดังนั้นสาหร่ายซึ่งสามารถยึดเกาะกับวัตถุจึงมีการพบในสัดส่วนที่สูง สำหรับตัวอย่างจุดที่ 3 ซึ่งเป็นบริเวณบ่อพักน้ำเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ของเอกชน พบว่า สัดส่วนของสาหร่ายในตัวอย่างนี้มีน้อยเมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ และเมื่อพิจารณาตัวอย่างจากจุดที่ 4 ซึ่งอุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 40°C ในทั้ง 2 ฤดูกาล พบว่า มีการกระจายตัวของสาหร่ายในกลุ่ม Bacillariophyta หรือไดอะตอม ในสัดส่วนสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลต่อการกระจายตัวของกลุ่มสาหร่ายในน้ำ



รูปที่ 19 แผนผังแสดงสัดส่วนของสาหร่าย (algae) ที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงในระดับไฟลัม

เมื่อวิเคราะห์สาหร่ายทั้งหมดที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึงในระดับจีนัส (genus) หรือสกุล สามารถจำแนกสาหร่ายได้ 153 จีนัส โดยสาหร่ายที่มีสัดส่วนผลรวมสูงสุด 20 อันแรก ดังแสดงในตารางที่ 5 ได้แก่ *Thermosynechococcus*, *Fischerella*, *Leptothermofonsia*, *Calothrix*, *Leptodesmis*, *Leptolyngbya*, *Microseira*, *Hydrococcus*, *Fragilaria*, *Phormidium*, *Elainella*, *Pleurocapsa*, *Chroococcidiopsis*, *Fistulifera*, *Phaeodactylum*, *Moorena*, *Mastigocladus*, *Nostoc*, *Microcystis* และ *Halamphora* โดยจีนัสส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ยกเว้น *Fragilaria Fistulifera*, *Phaeodactylum* และ *Halamphora* ที่เป็นสาหร่ายในกลุ่มไดอะตอม โดย *Thermosynechococcus* เป็นจีนัสของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินชนิดเซลล์เดียว ยังถูกพบว่าเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์หลักของชั้นแผ่นจุลินทรีย์ที่เกาะกัน (microbial mats) ในแหล่งน้ำพุร้อนที่อุณหภูมิ 50–65°C และ มีค่า pH> 7 หลายแหล่งในประเทศไทย และประเทศอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโซนเอเชียตะวันออก (Everroad et al., 2012; Tang et al., 2018).

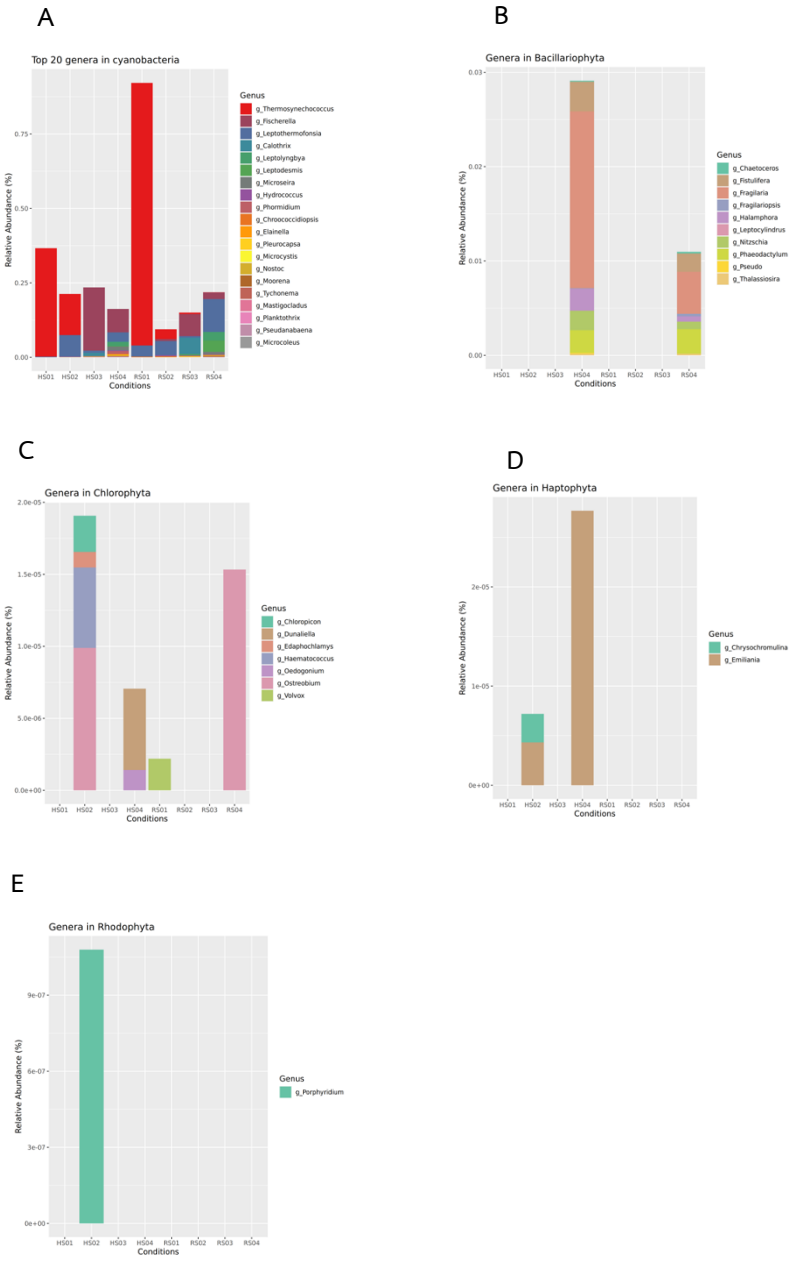
เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของจีนัสต่าง ๆ ตามไฟลัมของสาหร่ายในแต่ละตัวอย่าง ดังแสดงในรูปที่ 20 พบว่าสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่พบในตัวอย่างจุดที่ 1 และตัวอย่างจุดที่ 2 ส่วนใหญ่ อยู่ในจีนัส *Thermosynechococcus* และ *Leptothermofonsia* ในขณะที่ตัวอย่างจุดที่ 3 พบ *Fischerella* และ *Calothrix* เป็นหลัก ตัวอย่างในจุดที่ 4 พบว่ามีความหลากหลายของจีนัสในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากที่สุด โดยจีนัส *Fischerella* และ *Leptothermofonsia* มีสัดส่วนสูงที่สุดเมื่อเทียบกับจีนัสอื่น ๆ ดังแสดงในรูปที่ 20A นอกจากนี้ยังพบว่าฤดูกาลไม่ได้มีผลต่อชนิดของสาหร่าย แต่มีผลต่อปริมาณของสาหร่าย

สาหร่ายในไฟลัม Bacillariophyta (รูปที่ 20B), Chlorophyta (รูปที่ 20C), Haptophyta (รูปที่ 20D) และ Rhophyta (รูปที่ 20E) ซึ่งเป็นสาหร่ายกลุ่มยูแคริโอตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึง พบในสัดส่วนของจีนัสต่าง ๆ ที่น้อยมาก เมื่อเทียบกับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ยกเว้น Bacillariophyta ซึ่งพบในตัวอย่างจุดที่ 4 โดยจีนัสของสาหร่ายในไฟลัมนี้ที่มีสัดส่วนมากที่สุดคือ *Fragilaria* รองลงมาคือ *Phaeodactylum* และ *Fistulifera*

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับการสำรวจสาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบชนิดของสาหร่ายที่สอดคล้องกัน แต่เนื่องด้วยประสิทธิภาพของกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้อาจไม่เพียงพอที่จะทำให้แยกชนิดจีนัสของสาหร่ายบางจีนัสได้

ตารางที่ 5 สัดส่วนของสาหร่ายที่มีผลรวมสูงสุด 20 อันดับแรก

Genus	HS01	HS02	HS03	HS04	RS01	RS02	RS03	RS04
Thermosynechococcus	3.65E-01	1.38E-01	4.96E-04	5.14E-05	8.85E-01	3.37E-02	6.29E-03	1.80E-04
Fischerella	1.39E-04	1.10E-04	3.64E-01	1.60E-01	1.72E-03	1.71E-02	1.58E-01	5.44E-02
Leptothermofonsia	4.53E-03	1.44E-01	1.41E-02	6.14E-02	7.31E-02	9.42E-02	9.95E-03	2.18E-01
Calothrix	0.00E+00	1.08E-06	3.12E-02	7.89E-04	0.00E+00	5.08E-05	1.63E-01	2.75E-04
Leptodesmis	0.00E+00	1.03E-04	4.35E-04	3.19E-03	3.20E-06	6.03E-05	6.36E-03	5.58E-02
Leptolyngbya	1.11E-05	5.20E-05	4.49E-04	1.38E-02	0.00E+00	2.02E-05	1.59E-03	2.88E-02
Microseira	0.00E+00	2.88E-06	0.00E+00	2.12E-02	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.45E-02
Hydrococcus	0.00E+00	3.19E-03	2.19E-03	5.93E-03	5.76E-05	7.08E-03	4.60E-03	2.81E-03
Fragilaria	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.87E-02	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	4.46E-03
Phormidium	0.00E+00	0.00E+00	4.82E-06	1.84E-02	0.00E+00	0.00E+00	9.77E-06	8.26E-04
Elainella	0.00E+00	2.97E-05	2.29E-05	8.14E-03	0.00E+00	9.19E-06	2.16E-03	2.53E-03
Pleurocapsa	0.00E+00	2.12E-03	2.63E-04	1.55E-03	9.00E-06	1.83E-03	1.99E-03	8.42E-04
Chroococcidiopsis	1.26E-04	8.64E-06	1.50E-05	1.18E-03	2.22E-03	2.75E-03	2.22E-04	1.66E-04
Fistulifera	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	3.15E-03	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	1.93E-03
Phaeodactylum	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	2.42E-03	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	2.62E-03
Moorena	0.00E+00	2.16E-06	4.44E-05	1.22E-03	2.04E-05	1.53E-06	8.14E-05	3.09E-03
Mastigocladus	0.00E+00	5.40E-06	2.64E-03	0.00E+00	0.00E+00	1.53E-06	9.79E-04	1.05E-05
Nostoc	2.41E-05	1.21E-05	8.90E-04	1.34E-03	1.24E-05	9.57E-05	2.12E-04	8.31E-04
Microcystis	3.93E-06	6.48E-05	2.82E-04	6.97E-04	2.00E-05	1.30E-04	1.17E-03	8.18E-04
Halamphora	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	2.34E-03	0.00E+00	0.00E+00	0.00E+00	5.58E-04



รูปที่ 20 แผนผังแสดงสัดส่วนของสาหร่ายในระดับจีนัสทั้งหมดที่พบในแต่ละไฟลัมของสาหร่าย (A) Cyanobacteria (สำหรับ 20 จีนัสแรกที่มีสัดส่วนรวมทุกตัวอย่างสูงสุด) (B) Bacillariophyta (C) Chlorophyta (D) Haptophyta และ (E) Rhodophyta

5 กลุ่มยีนที่น่าสนใจ จากสิ่งมีชีวิตที่พบในธารน้ำร้อนบ่อคลึง

จากข้อมูล ORF ทั้งหมด เมื่อนำไปวิเคราะห์หน้าที่ของยีนในสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ตามฐานข้อมูล COG ประกอบด้วย orthologues (ยีนที่คล้ายคลึงกันซึ่งแยกออกจากยีนบรรพบุรุษร่วมกันในสปีชีส์ที่ต่างกัน รวมถึงความแตกต่างของสปีชีส์) และ paralogues (ยีนในสปีชีส์เดียวที่เกิดจากการทำซ้ำและความแตกต่าง) ทำให้สามารถจัดยีนเป็นกลุ่ม ๆ ซึ่งแต่ละกลุ่มมียีนที่ถูกถอดรหัสเป็นโปรตีนเดียวกัน ถูกกำหนดเป็นรหัสในรูปแบบ COG ID ที่เหมือนกัน โดย COG ID ที่มีจำนวนยีนสูงสุด 10 อันดับแรกของแต่ละตัวอย่าง แสดงในรูปที่ 21 ประกอบด้วย COG กลุ่มต่าง ๆ ดังนี้

- กลุ่ม GOC C: Energy production and conversion ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพลังงาน ได้แก่ COG1529 Aerobic-type carbon monoxide dehydrogenase large subunit CoxL/CutL homologs

- กลุ่ม GOC E: Amino acid transport and metabolism ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขนส่งเปปไทด์ ได้แก่ COG0747 ABC-type dipeptide transport system periplasmic component

- กลุ่ม GOC I: Lipid transport and metabolism ซึ่งเกี่ยวข้องกับการสร้างกรดไขมันและลิปิด ได้แก่ COG1028: Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases), COG1024: Enoyl-CoA hydratase/carnitine racemase, COG1804 Predicted acyl-CoA transferases/carnitine dehydratase, COG1960: Acyl-CoA dehydrogenases, COG0318 Acyl-CoA synthetases (AMP-forming)/AMP-acid ligases II, COG1012: NAD-dependent aldehyde dehydrogenases

- กลุ่ม GOC O: Posttranslational modification, protein turnover, chaperones ได้แก่ COG1404 Subtilisin-like serine proteasesข

- กลุ่ม GOC P: Inorganic ion transport and metabolism ซึ่งเกี่ยวข้องกับการขนส่งอิออนอนินทรีย์ ได้แก่ COG3119 Arylsulfatase A and related enzymes

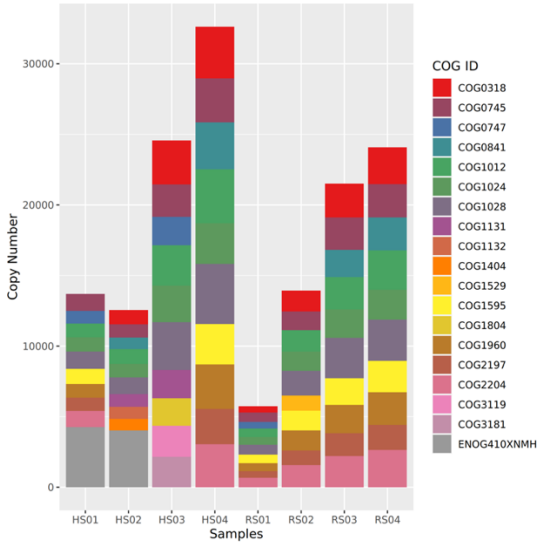
- กลุ่ม GOC S: Function unknown ได้แก่ COG3181 Uncharacterized protein conserved in bacteria

- กลุ่ม COG T: Signal transduction mechanisms ที่เกี่ยวข้องการกระบวนการส่งผ่านสัญญาณของเซลล์ (signal transduction) และ COG K: transcription ซึ่งเกี่ยวข้องกับการถอดรหัสยีนเป็นโปรตีน ได้แก่ ENOG410XNMH: Histidine kinase, COG0745: Response regulators consisting of a CheY-like receiver domain and a winged-helix DNA-binding domain, COG2204: Response regulator containing CheY-like receiver, AAA-type ATPase, and DNA-binding domains, COG2197: Response regulator containing a CheY-

like receiver domain and an HTH DNA-binding domain, COG1595: DNA-directed RNA polymerase specialized sigma subunit, sigma24 homolog

- กลุ่ม GOC V: Defense mechanisms ที่เกี่ยวกับกลไกการป้องกัน ได้แก่ COG1131 ABC-type multidrug transport system ATPase component COG0841 Cation/multidrug efflux pump และ COG1132 ABC-type multidrug transport system ATPase and permease components

โดยกลุ่ม COG ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งถ่ายและสังเคราะห์กรดไขมันและลิปิด รวมทั้งกลุ่ม COG ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งผ่านสัญญาณเพื่อตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมและกระบวนการการถอดรหัสยีนเป็นโปรตีน พบว่ามีการกระจายตัวสูง โดยในทุก ๆ ตัวอย่างมียีนใน COG1028, COG1024 และ COG1012 เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมัน Fatty acid biosynthesis และ COG0745 ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งผ่านสัญญาณและกระบวนการการถอดรหัสยีนเป็นโปรตีน แสดงให้เห็นว่ากลุ่มยีนนี้มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในฐานน้ำร้อนบ่อคลึง

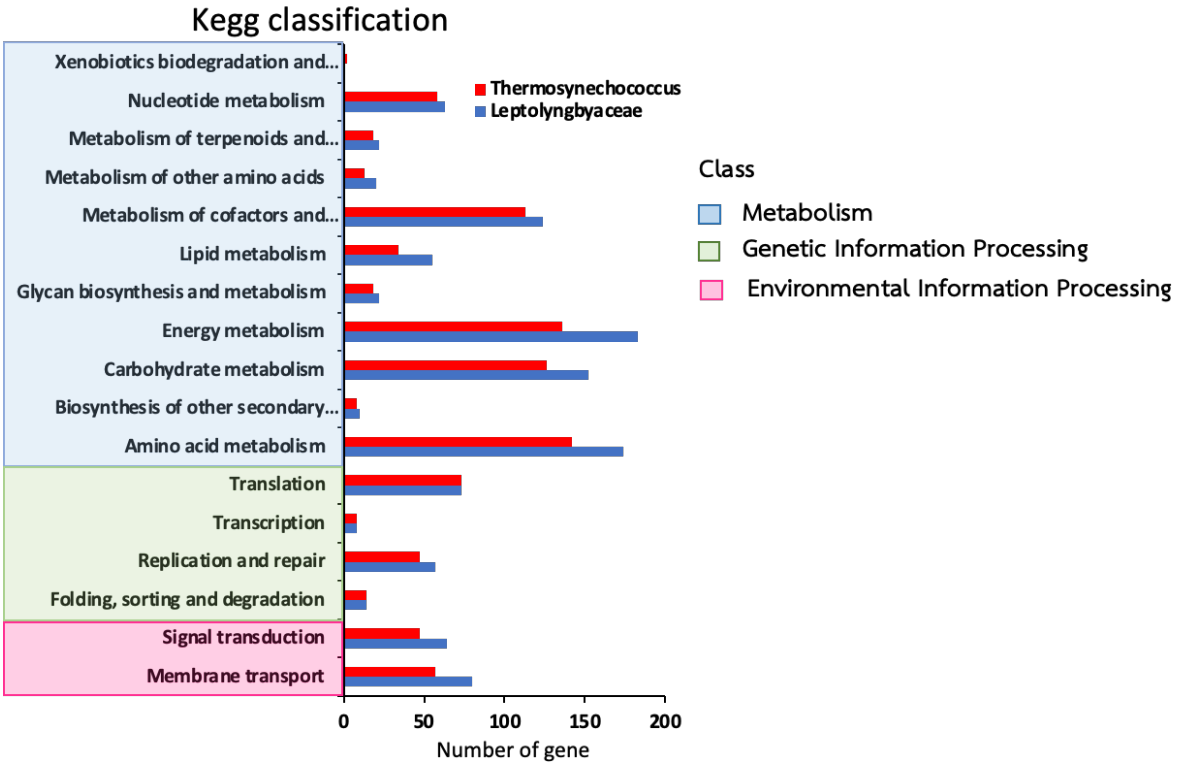


รูปที่ 21 แผนผังแสดงจำนวนของ COG ID ที่พบสูงสุด 10 อันดับแรกในแต่ละตัวอย่าง

โดยที่ ENOG410XNMH: Histidine kinase, COG1028: Dehydrogenases with different specificities (related to short-chain alcohol dehydrogenases), COG0745: Response regulators consisting of a CheY-like receiver domain and a winged-helix DNA-binding domain, COG2204: Response regulator containing CheY-like receiver, AAA-type ATPase, and DNA-binding domains, COG1595: DNA-directed RNA polymerase specialized sigma subunit, sigma24 homolog, COG1024: Enoyl-CoA hydratase/carnitine racemase, COG1012: NAD-dependent aldehyde dehydrogenases, COG1960: Acyl-CoA dehydrogenases, COG2197: Response regulator containing a CheY-like receiver domain and an HTH DNA-binding domain, COG0747 ABC-type dipeptide transport system, periplasmic component, COG0318 Acyl-CoA synthetases (AMP-forming)/AMP-acid ligases II, COG1131 ABC-type multidrug transport system, ATPase component, COG1132 ABC-type multidrug transport system, ATPase and permease components, COG1404 Subtilisin-like serine proteases, COG0841 Cation/multidrug efflux pump, COG3119 Arylsulfatase A and related enzymes, COG3181 Uncharacterized protein conserved in bacteria, COG1804 Predicted acyl-CoA transferases/carnitine dehydratase, COG1529 Aerobic-type carbon monoxide dehydrogenase, large subunit CoxL/CutL homologs

6 กลุ่มยีนที่พบในสาหร่ายจากธารน้ำร้อนบ่อคลึง

จากกระบวนการจำแนกสิ่งมีชีวิต (Binning) พบว่า มีไซยาโนแบคทีเรีย 2 ชนิด สามารถประกอบกันเป็น draft genome ได้แก่ *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus ที่มีขนาด 5,440,127 คู่เบส และ 2,668,062 คู่เบส ตามลำดับ เมื่อนำไปทำนายหน้าที่ของยีนตามฐานข้อมูล KEGG พบ 101 และ 89 pathways ตามลำดับ และมีบทบาทสำคัญภายในเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการ Metabolism, Genetic Information Processing และ Environmental Information processing ดังแสดงในรูปที่ 22



รูปที่ 22 ยีนของ *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus ที่ทำหน้าต่างๆ ภายในเซลล์ จากฐานข้อมูล KEGG

โดยที่ ABC transporters – General, Photosynthesis, Ribosome, Two-component system – General, Porphyrin and chlorophyll metabolism เป็น 5 pathways แรกที่พบมากที่สุดใน *Leptolyngbyaceae* family ในขณะที่ Ribosome, Photosynthesis, Porphyrin and chlorophyll metabolism, ABC transporters – General, Oxidative phosphorylation เป็น 5 pathways แรกที่พบมากที่สุดใน *Thermosynechococcus* genus และยังพบยีนของทั้งสองสิ่งมีชีวิตปรากฏใน Biosynthesis of vancomycin group antibiotics อีกด้วย

นอกจากนี้ ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดในทางเทคโนโลยีชีวภาพ โดยมีการศึกษาอย่างต่อเนื่อง เช่น *Thermosynechococcus* ได้ถูกศึกษาเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตสารสีที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูง เช่น สารสีฟ้าจากไฟโคบิลิโปรตีน นอกจากคุณสมบัติการเป็นสารสีดังกล่าวแล้ว ยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ด้วย ในขณะที่ *Leptolyngbya* จากแหล่งน้ำพุร้อน พบว่ามีศักยภาพที่จะนำไปพัฒนาต่อย่อเพื่อผลิต โพลีแซคคาไรด์ (exopolysaccharides) สำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร นอกจากนี้ exopolysaccharides ยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ Gongi et al. (2022) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นความเป็นไปได้ของการนำสาหร่ายจากแหล่งน้ำพุร้อนมาใช้ประโยชน์ ขณะเดียวกันการศึกษานี้ยังพบว่าความหลากหลายของสายพันธุ์สาหร่ายขึ้นกับอุณหภูมิน้ำและสภาวะแวดล้อม ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดูแลรักษาสิ่งแวดล้อมและร่วมกันอนุรักษ์สายพันธุ์สาหร่ายเหล่านี้ ซึ่งถือเป็นผู้ผลิตที่สำคัญของเป็นห่วงโซ่อาหารต่อไป

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การสำรวจสาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ณ โครงการอุทยานธรรมชาติวิทยาอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ในช่วงฤดูร้อน (วันที่ 7 มีนาคม 2565) และ ฤดูฝน (วันที่ 20 มิถุนายน 2565) ได้ดำเนินการเก็บเก็บตัวอย่างในธารน้ำร้อน 4 จุด ได้แก่ จุดที่ 1 บริเวณจุดตาน้ำ ซึ่งมีอุณหภูมิของน้ำประมาณ 55-56 °C และค่า pH ประมาณ 7.4 จุดที่ 2 บริเวณที่ห่างจากตาน้ำไม่เกิน 10 เมตร อุณหภูมิของน้ำประมาณ 50-52 °C และค่า pH ประมาณ 7.4 จุดที่ 3 เป็นบริเวณกักเก็บน้ำเพื่อการใช้ประโยชน์ อุณหภูมิของน้ำประมาณ 46-48 °C และค่า pH ประมาณ 7.4-7.6 และจุดที่ 4 คือธารน้ำร้อนก่อนเข้าพื้นที่ให้บริการแช่น้ำร้อนแก่นักท่องเที่ยว อุณหภูมิน้ำประมาณ 37-40 °C และค่า pH ประมาณ 7.4-8.2 โดยความลึกของลำธารประมาณไม่เกิน 15 เซนติเมตร ยกเว้นจุดที่ 3 ซึ่งเป็นบ่อกักเก็บน้ำที่มีความลึกมากกว่า 60 เซนติเมตร พบสาหร่ายที่เกาะตามพื้นดิน และโขดหิน ในธารน้ำร้อน เมื่อสำรวจสาหร่ายเหล่านั้นด้วยกล้องจุลทรรศน์พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน หรือไซยาโนแบคทีเรีย เป็นส่วนใหญ่ ที่มีทั้งลักษณะเป็นเส้นสาย และ เซลล์เดียว และพบไดอะตอมในบริเวณจุดที่ 4 ซึ่งอุณหภูมิน้ำต่ำกว่า 40 °C โดยสาหร่ายที่จำแนกได้อย่างชัดเจนทั้ง 4 บริเวณในธารน้ำร้อนบ่อคลึง ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ คือ กลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ได้แก่ไซยาโนแบคทีเรีย *Thermosynechococcus*, *Leptolyngbya*, *Fischerellav Synechococcus*, *Chroococcidiopsis*, *Calothrix*, *Oscillatoria*, *Phormidium*, *Chroococcus* และ *Aphanothece* กลุ่มไดอะตอมคือ *Achanathidium*

นอกจากนี้เมื่อนำเทคโนโลยี Shotgun metagenomics มาช่วยวิเคราะห์จุลินทรีย์และค้นหายีนหรือกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารเคมีมูลค่าสูงจากแหล่งน้ำพุร้อนจากตัวอย่างทั้งหมด โดยมีข้อมูลลำดับเบสทั้งหมดมากกว่า 128 Gb และรวมเป็นลำดับเบสของดีเอ็นเอสายยาว (contig) ทั้งหมด 4,589,695 contig และเมื่อนำ contig มาวิเคราะห์เพื่อทำนายหาบริเวณ open reading frame (ORF) ที่สามารถถอดรหัสสายดีเอ็นเอไปเป็นโปรตีน t/tmRNA และ rRNA ด้วยโปรแกรม Prodigal, Aragorn และ Barrnap พบ ORF จำนวน 8,150,430 ORF และ ribosomal RNA genes (rRNAs) จำนวน 8,055 ยีน และ Transfer ribonucleic acid (tRNA) และ messenger RNA (mRNA) จำนวน 45,944 ยีน เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปศึกษาการกระจายตัวของสิ่งมีชีวิตในตัวอย่างทั้งหมด พบว่า สิ่งมีชีวิตที่พบธารน้ำร้อนบ่อคลึงส่วนใหญ่เป็นกลุ่มหรืออาณาจักร (Kingdom) ซึ่งเป็นแบคทีเรียมากกกว่าร้อยละ 90 ของสิ่งมีชีวิตที่พบทั้งหมด โดยไฟลัมไซยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน พบเป็นอันดับที่สอง รองจากแบคทีเรียไฟลัม *Chloroflexi*

เมื่อพิจารณาเฉพาะการกระจายตัวของสาหร่ายในธารน้ำร้อนบ่อคลึงในระดับจีนัส (genus) พบสาหร่ายจำนวน 153 จีนัส โดยกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน ที่พบในตัวอย่างจุดที่ 1 และตัวอย่างจุดที่ 2 ส่วนใหญ่ อยู่ในจีนัส *Thermosynechococcus* และ *Leptothermofonsia* สำหรับตัวอย่างจุดที่ 3 พบสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน *Fischerella* และ *Calothrix* เป็นหลัก ในขณะที่ตัวอย่างในจุดที่ 4 พบว่ามีความหลากหลายของจีนัสในกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมากที่สุด โดยจีนัส *Fischerella* และ *Leptothermofonsia* สัดส่วนสูงที่สุด รวมทั้งพบสาหร่ายในไฟลัม Bacillariophyta ซึ่งเป็นไดอะตอม โดยจีนัสที่มีสัดส่วนมากที่สุดคือ *Fragilaria* รองลงมาคือ *Phaeodactylum* และ *Fistulifera* นอกจากนี้ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิน้ำมีผลต่อการกระจายตัวของชนิดของสาหร่าย ในขณะที่ฤดูกาลไม่ได้มีผลต่อชนิดของสาหร่าย แต่มีผลต่อปริมาณของสาหร่าย รวมทั้งเมื่อเปรียบเทียบกับการสำรวจสาหร่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าชนิดของสาหร่ายที่สอดคล้องกัน แต่เนื่องด้วยประสิทธิภาพของกล้องจุลทรรศน์อาจไม่เพียงพอที่จะทำให้แยกชนิดจีนัสของสาหร่ายบางจีนัสได้

เมื่อวิเคราะห์ยีนหรือกลุ่มยีนจากตัวอย่างทั้งหมด โดยอาศัยฐานข้อมูล COG พบกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมัน และกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งผ่านสัญญาณเพื่อตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อมและกระบวนการการถอดรหัสยีนเป็นโปรตีน มีการกระจายตัวสูง โดยในทุก ๆ ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่ากลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในฐานน้ำร้อนบ่อคลึง

นอกจากการนี้ผลจากการศึกษาด้วย Shotgun metagenomics ทำให้ได้ร่างของลำดับเบสจีโนมของสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 2 ชนิดคือ *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus ที่มีขนาด 5,440,127 คู่เบส และ 2,668,062 คู่เบส ตามลำดับ โดยสาหร่ายทั้งสองชนิดนี้มักพบในบริเวณน้ำพุร้อน และเมื่อทำนายหน้าที่ของยีนที่ได้จากสาหร่ายทั้งสองชนิด โดยอาศัยฐานข้อมูล KEGG พบยีนใน *Leptolyngbyaceae* family และ *Thermosynechococcus* genus กระจายตัวอยู่ในวิถีเมแทบอลิซึม (metabolic pathway) ต่าง ๆ รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างยาปฏิชีวนะ ปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้ไซยาโนแบคทีเรียทั้งสองชนิดในทางเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตสารสีที่มีคุณสมบัติทนอุณหภูมิสูง และสารต้านอนุมูลอิสระ

ดังนั้นงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของสาหร่ายขนาดเล็กและจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในธารน้ำร้อนบ่อคลึง เนื่องจากสาหร่ายมีบทบาทสำคัญในฐานะผู้ผลิตในห่วงโซ่อาหาร ดังนั้นข้อมูลและองค์ความรู้ควรนำไปต่อยอดเพื่อการใช้ประโยชน์จากสาหร่าย และการอนุรักษ์สาหร่ายและสิ่งแวดล้อม รวมทั้งปลูกจิตสำนึกในการร่วมอนุรักษ์รักษาทรัพยากรธรรมชาติให้แก่เยาวชนและประชาชน ผ่านการกระบวนการเรียนรู้ต่างๆ ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กัลยาณี ไพฑูรย์รังสฤษดิ์, วัฒนา เจียมตน, วิภาวรรณ เสียงดัง, สายวารี เงินเพิ่มทรัพย์ และสุภาภรณ์ ชีวะธนรักษ์. (2562). การผลิตไฟโคไซยานินทนอุณหภูมิสูงในสไปรูลิน่าเพื่อใช้ในอุตสาหกรรม. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และ สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน). 49 หน้า.

คัทติยา สุวรรณมณ. (2558). การผลิตและการศึกษาสมบัติทนอุณหภูมิของซี-ไฟโคไซยานิน จากไซยาโนแบคทีเรียที่แยกจากบ่อน้ำพุร้อน. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. 114 หน้า. สืบค้นจาก https://doi.nrct.go.th//ListDoi/listDetail?Resolve_DOI=10.14457/TU.the.2015.501.

พงศ์เทพ อันตะริกานนท์ และประเสริฐ อะมริต. (2531). การทดสอบเบื้องต้นอิทธิพลของปุ๋ยชีวภาพ (จากสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว) ที่มีผลต่อผลผลิตของข้าวที่ปลูกในดินชุดรังสิต. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 26. สาขาอุตสาหกรรมการเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยุวดี พีรพรพิศาล. (2549). สาหร่ายวิทยา. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 546 หน้า.

ยุวดี พีรพรพิศาล. (2556). สาหร่ายน้ำจืดในประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 434 หน้า.

วิภา จึงจตุพรชัย. (2561). ไซยาโนแบคทีเรียและจุลสาหร่าย พันธุศาสตร์ระดับโมเลกุลและเทคโนโลยีชีวภาพ, บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด (มหาชน). กรุงเทพฯ. หน้า 2.

วิรัชนีย์ ภูษิตย์วิทย์. (2534). การศึกษาชนิดและชีววิทยาของสาหร่ายในน้ำพุร้อน อ.เขาชัยสน จ. พัทลุง. ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สระบุรี ไชยมงคล. (2523). จุลินทรีย์ในน้ำพุร้อนโป่งฮ่อม ตำบลออนหลวย อำเภอสันกำแพง จังหวัดเชียงใหม่. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. สืบค้นจาก http://cmuir.cmu.ac.th/jspui/handle/6653943832/32474.

อุดมลักษณ์ สมพงษ์. (2544). ความหลากหลายทางชีวภาพของสาหร่ายในน้ำพุร้อนบางแหล่งในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. สืบค้นจาก http://cmuir.cmu.ac.th/jspui/handle/6653943832/33301.

Alcorta, J., Vergara-Barros, P., Antonaru, L. A., Alcamán-Arias, M. E., Nürnberg, D. J. and Díez, B. (2019). *Fischerella thermalis*: a model organism to study thermophilic diazotrophy, photosynthesis and multicellularity in cyanobacteria. Extremophiles, 23(6): 635-647. doi:10.1007/s00792-019-01125-4

Amarouche-Yala, S., Benouadah, A., El Ouahab Bentabet, A. and López-García, P. (2014). Morphological and phylogenetic diversity of thermophilic cyanobacteria in Algerian hot springs. Extremophiles, 18(6): 1035-1047. doi:10.1007/s00792-014-0680-7

Bold, H. C. and Wynne, M. J. (1985). Introduction to the Algae: Structure and Reproduction: Prentice-Hall. p. 720.

Bumrungthai, S., Duangjit, S., Somsuwan, B. and Inpeng, S. (2019). The Chemical Characteristic and Microbial Diversity of the Hot Spring at Phusang National Park: DOI: 10.32526/ennrj.18.1.2020.04. Environment and Natural Resources Journal, 18(1): 33–43. Retrieved from https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/ennrj/article/view/211787

Cavalier-Smith, T. and Chao, E. E. (2004). Protalveolate phylogeny and systematics and the origins of Sporozoa and dinoflagellates (phylum Myzozoa nom. nov.). European Journal of Protistology, 40(3): 185-212. doi: https://doi.org/10.1016/j.ejop.2004.01.002

Castenholz, R. W. (2015). Portrait of a Geothermal Spring, Hunter's Hot Springs, Oregon. Life, 5(1): 332-347. doi:10.3390/life5010332

Coman, C., Drugă, B., Hegedus, A., Sicora, C. and Dragoş, N. (2013). Archaeal and bacterial diversity in two hot spring microbial mats from a geothermal region in Romania. Extremophiles, 17(3): 523-534. doi:10.1007/s00792-013-0537-5

Crampon, C., Nikitine, C., Zaier, M., Lépine, O., Tanzi, C. D., Vian, M. A., Chemat, F. and Badens, E. (2017). Oil extraction from enriched *Spirulina platensis* microalgae using supercritical carbon dioxide. The Journal of Supercritical Fluids, 119: 289-296. doi: https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.10.006

Dadheech, P. K., Glöckner, G., Casper, P., Kotut, K., Mazzoni, C. J., Mbedi, S. and Krienitz, L. (2013). Cyanobacterial diversity in the hot spring, pelagic and benthic habitats of a tropical soda lake. FEMS Microbiology Ecology, 85(2): 389-401. doi:10.1111/1574-6941.12128

Donato, N. R., de Melo Queiroz, A. J., de Figueiredo, R. M. F., Feitosa, R. M., Moreira, I. d. S. and de Lima, J. F. (2019). Production of Cookies Enriched with *Spirulina platensis* Biomass. Journal of Agricultural Studies, 7(4): 323-342. Retrieved from https://EconPapers.repec.org/RePEc:mth:jas888:v:7:y:2019:i:2:p:323-342

Dranseikiene, D., Balčiunaite-Murzien, G., Karosiene, J., Morudov, D., Juodžiukyniene, N., Hudz, N., Gerbutavičiene, R. J. and Savickiene, N. (2022). Cyano-Phycocyanin: Mechanisms of Action on Human Skin and Future Perspectives in Medicine. Plants (Basel, Switzerland), 11(9): 1249. https://doi.org/10.3390/plants11091249

Everroad, R. C., Otaki, H., Matsuura, K. and Haruta, S. (2012). Diversification of bacterial community composition along a temperature gradient at a thermal spring. Microbes and Environments, 27: 374–381. doi: 10.1264/jsme2.ME11350

Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M. and Raymundo, A. (2010). Incorporation of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina maxima* biomass in pasta products. Part 1: Preparation and evaluation. Journal of the science of food and agriculture, 90(10): 1656–1664. https://doi.org/10.1002/jsfa.3999

Fradique, M., Batista, A. P., Nunes, M. C., Gouveia, L., Bandarra, N. M. and Raymundo, A. (2013). *Isochrysis galbana* and *Diacronema vlkianum* biomass incorporation in pasta products as PUFA's source. LWT - Food Science and Technology, 50: 312-319. doi: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.006

Ghozzi, K., Zemzem, M., Dhiab, R.B., Challouf, R., Yahia, A., Omrane, H. and Ouada, H.B. (2013). Screening of thermophilic microalgae and cyanobacteria from Tunisian geothermal sources. Journal of Arid Environments, 97: 14–17. https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2013.05.004

Gongi, W., Cordeiro, N., Pinchetti, J.L.G. and Ouada, H.B. (2022). Functional, rheological, and antioxidant properties of extracellular polymeric substances produced by a thermophilic cyanobacterium *Leptolyngbya* sp. Journal of Applied Phycology, 34: 1423–1434 https://doi.org/10.1007/s10811-022-02695-1

Golmakani, M.-T., Soleimanian-Zad, S., Alavi, N., Nazari, E. and Eskandari, M. H. (2019). Effect of Spirulina (*Arthrospira platensis*) powder on probiotic bacteriologically acidified feta-type cheese. Journal of Applied Phycology, 31: 1085-1094. doi:10.1007/s10811-018-1611-2

Gouveia, L., Raymundo, A., Batista, A. P., Sousa, I. and Empis, J. (2006). *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. European Food Research and Technology, 222: 362. doi:10.1007/s00217-005-0105-z

Heimann, K. and Huerlimann, R. (2015). Chapter 3 - Microalgal Classification: Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species. In S.-K. Kim (Ed.), Handbook of Marine Microalgae, pp. 25-41. Boston: Academic Press. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00003-0

Hoef-Emden, K. and Archibald, J.M. (2017). Cryptophyta (Cryptomonads). In: Archibald, J.M., Simpson, A.G.B., Slamovits, C.H. (eds.). Handbook of the Protists. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, pp. 851–891.

Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K. and Watanabe, H. (2006). Astaxanthin, a carotenoid with potential in human health and nutrition. Journal of natural products, 69: 443–449. https://doi.org/10.1021/np050354+

Jonker, C.Z., Van Ginkel, C. and Olivier, J. (2013). Association between physical and geochemical characteristics of thermal springs and algal diversity in Limpopo Province, South Africa. Water SA, 39: 95–104. DOI: 10.4314/wsa.v39i1.10

Jordan, P., Fromme, P., Witt, H. T., Klukas, O., Saenger, W. and Krauss, N. (2001). Three-dimensional structure of cyanobacterial photosystem I at 2.5 A resolution, Nature, 411: 909–917.

Kanokratana, P., Chanapan, S., Pootanakit, K. and Eurwilaichitr, L. (2004). Diversity and abundance of Bacteria and Archaea in the Bor Khlueng Hot Spring in Thailand. Journal of Basic Microbiology, 44: 430-444. doi:10.1002/jobm.200410388

Keshari, N., Zhao, Y., Das, S. K., Zhu, T., Lu, X. and Lu. (2022). Cyanobacterial Community Structure and Isolates from Representative Hot Springs of Yunnan Province, China Using an Integrative Approach. Frontiers in Microbiology, 13: 872598. doi:10.3389/fmicb.2022.872598

Kiang, N. (2008). The Color of Plants on Other Worlds. Scientific American, 298: 48-55. doi:10.1038/scientificamerican0408-48

Komárek, J. and Johansen, J.R. (2015a). Chapter 3: Coccoid cyanobacteria. n: Wehr J.D., Sheath R.G., Kociolek J.P. (eds.) Freshwater algae of North America: ecology and classification. Second edition. Elsevier, London, pp. 75–134.

Komárek, J. and Johansen, J.R. (2015b). Chapter 4: Filamentous Cyanobacteria. In: Wehr J.D., Sheath R.G., Kociolek J.P. (eds.) Freshwater algae of North America: ecology and classification. Second edition. Elsevier, London, pp. 135–235.

Lau, P. S., Tam, N. F. Y. and Wong, Y. S. (1996). Wastewater Nutrients Removal by *Chlorella Vulgaris*: Optimization Through Acclimation. Environmental Technology, 17: 183-189. doi:10.1080/09593331708616375

Lee, R. (2008). Euglenophyta. In Phycology (pp. 245-261). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9780511812897.010

Leu, J.-Y., Lin, T.-H., Selvamani, M. J. P., Chen, H.-C., Liang, J.-Z. and Pan, K.-M. (2013). Characterization of a novel thermophilic cyanobacterial strain from Taian hot springs in Taiwan for high CO_2 mitigation and C-phycocyanin extraction. Process Biochemistry, 48: 41-48. doi: https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.019

Lewmanomont, K., Wongrat, L. and Supanwanid, C. (1995). Algae in Thailand. Office of environmental policy and planning, Bangkok, Thailand, pp. 291.

Liang, Y., Kaczmarek, M.B., Kasprzak, A.K., Tang, J., Shah, M.M.R., Jin, P., Klepacz-Smółka, A., Cheng, J.J., Ledakowicz, S. and Daroch, M. (2018). Thermosynechococcaceae as a source of thermostable C-phycocyanins: properties and molecular insights. Algal Research, 35: 223–235. DOI: 10.1016/j.algal.2018.08.037.

Liang, Y., Tang, J., Luo, Y., Kaczmarek, M. B., Li, X. and Daroch, M. (2019). *Thermosynechococcus* as a thermophilic photosynthetic microbial cell factory for CO_2 utilisation. Bioresource technology, 278: 255–265. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.089

Ikram, S. F., Uniyal, V. and Kumar, D. (2022). Changes in species composition of cyanobacterial and microalgal communities along a temperature gradient in Tapovan Hot Spring, Garhwal Himalaya, Uttarakhand, India. Aquatic Ecology, 56: 573-584. doi:10.1007/s10452-021-09921-x

Mackenzie, R., Pedrós-Alió, C. and Díez, B. (2013). Bacterial composition of microbial mats in hot springs in Northern Patagonia: variations with seasons and temperature. Extremophiles, 17: 123-136. doi:10.1007/s00792-012-0499-z

Mahanil, K., Sensupa, A., Pekkoh, J., Tragoolpua, Y. and Pumas, C. (2021). Application of phycobiliproteins from *Leptolyngbya* sp. KC45 for natural illuminated colourant beverages. Journal of Applied Phycology, 33: 3747–3760 doi:10.1007/s10811-021-02556-3

Mata, T.M., Martins, A.A. and Caetono, N.S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14: 217-232.

McGregor, G. B. and Rasmussen, J. P. (2008). Cyanobacterial composition of microbial mats from an Australian thermal spring: a polyphasic evaluation. FEMS Microbiology Ecology, 63: 23-35. doi:10.1111/j.1574-6941.2007.00405.x

Medlin, L. K., Williams, D. M. and Sims, P. A. (1993). The evolution of the diatoms (Bacillariophyta). I. Origin of the group and assessment of the monophyly of its major divisions. European Journal of Phycology, 28: 261-275. doi:10.1080/ 09670269300650381

Mint Delta. (2555). ญี่ปุ่นให้ไทยเลี้ยงสาหร่ายน้ำมันหาเงื่อนไขเพิ่มผลผลิต. สืบค้น 25 ธันวาคม 2565, จาก http://sciencediscoverys.blogspot.com/2012/

Papke, R. T., Ramsing, N. B., Bateson, M. M. and Ward, D. M. (2003). Geographical isolation in hot spring cyanobacteria. Environmental microbiology, 5: 650–659. https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00460.x

Patel, A., Matsakas, L., Rova, U. and Christakopoulos, P. (2019). A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. Bioresource Technology, 278: 424-434. doi: https://doi.org/10.1016/j.biortech. 2019.01.063

Patra, J. K., Mahapatra, N. K., Thatoi, H., Das, S., Sahu, R. and Swain, G. C. (2009). Antimicrobial Activity of Organic Solvent Extracts of Three Marine Macroalgae

from Chilika Lake, Orissa, India. Malaysian Journal of Microbiology, 5: 128-131. doi:10.21161/mjm.15409

Peerapornpisal Y., (2013). Freshwater Algae in Thailand. Applied Algal Research Laboratory, Microbiology Section, Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University. Chotana Print Co., Ltd., Chiang Mai. P. 434.

Pimratch, S., Butsat, S. and Kesmala, T. (2015). Application of blue-green algae and mineral fertilizers to direct seeding lowland rice. ScienceAsia, 41: 305. doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2015.41.305

Portillo, M. C., Sririn, V., Kanoksilapatham, W. and Gonzalez, J. M. (2009). Differential microbial communities in hot spring mats from Western Thailand. Extremophiles, 13: 321-331. doi:10.1007/s00792-008-0219-x.

Pumas, C., Pruetiworanan, S. and Peerapornpisal, Y. (2018). Diatom diversity in some hot springs of northern Thailand. Botanica, 24: 69-86. doi:10.2478/botlit-2018-0007

Raven, J. A., & Giordano, M. (2014). Algae. Current Biology, 24(13), R590-R595. doi: https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.05.039

Rocca S, Agostini A, Giuntoli J and Marelli L. (2015). Biofuels from algae: technology options, energy balance and GHG emissions. European Commission JRC. https://doi.org/10.2790/125847.

Sakai, N., Sakamoto, Y., Kishimoto, N., Chihara, M. and Karube, I. (1995). *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO_2. Energy Conversion and Management, 36: 693-696. doi: https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00100-R

Sarada, R., Tripathi, U. and Ravishankar, G. A. (2002). Influence of stress on astaxanthin production in *Haematococcus pluvialis* grown under different culture

conditions. Process Biochemistry, 37: 623-627. doi: https://doi.org/10.1016/S0032-9592(01)00246-1

Satoh, A., Kato, M., Yamato, K., Ishibashi, M., Sekiguchi, H., Kurano, N. and Miyachi, S. (2010). Characterization of the Lipid Accumulation in a New Microalgal Species, *Pseudochoricystis ellipsoidea* (*Trebouxiophyceae*). Journal of the Japan Institute of Energy, 89: 909-913. doi:10.3775/jie.89.909

Singh, S., Kate, B. N. and Banerjee, U. C. (2005). Bioactive compounds from cyanobacteria and microalgae: an overview. Critical reviews in biotechnology, 25: 73–95. https://doi.org/10.1080/07388550500248498

Sompong, U., Hawkins, P. R., Besley, C., and Peerapornpisal, Y. (2005). The distribution of cyanobacteria across physical and chemical gradients in hot springs in northern Thailand. FEMS microbiology ecology, 52: 365–376. https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.12.007

Soyer-Gobillard, M. O. (2009). Dinoflagellates. In M. Schaechter (Ed.), Encyclopedia of Microbiology (Third Edition). Oxford: Academic Press. pp. 617-633.

Tamames, J., Cobo-Simón, M. and Puente-Sánchez, F. (2019). Assessing the performance of different approaches for functional and taxonomic annotation of metagenomes. BMC Genomics, 20: 960. doi:10.1186/s12864-019-6289-6

Tang, J., Jiang, D., Luo, Y., Liang, Y., Li, L., Shah, M. M. R. and Daroch, M. (2018). Potential new genera of cyanobacterial strains isolated from thermal springs of western Sichuan, China. Algal Research, 31: 14-20. doi: https://doi.org/10.1016/j.algal. 2018.01.008

Tuney Kızılkaya, I., Unal, D., Sukatar, A. and Cadirci, B. (2006). Antimicrobial Activities of the Extracts of Marine Algae from the Coast of Urla (¡zmir, Turkey). Turkish Journal of Biology, 30: 171-175.

Unpaprom, Y., Tipnee, S. and Ramaraj, R. (2015). Biodiesel from Green Alga *Scenedesmus acuminatus*. International Journal of Precision Engineering and Manufacturing-Green Technology, 4: 1-6. doi: 10.11648/j.ijrse.s.2015040101.11

Ward, D.M., Ferris, M.J., Nold, S.C. and Bateson, M.M. (1998). A natural view of microbial biodiversity within hot spring cyanobacterial mat communities. Microbiology and Molecular Biology Review, 62: 1353-1370. DOI: 10.1128/MMBR.62.4.1353-1370.1998

Wehr, J.D. and Sheath, R.G. (2015). Chapter 2: Habitats of freshwater algae In: Wehr J.D., Sheath R.G., Kociolek J.P. (eds.) Freshwater algae of North America: ecology and classification. Second edition. Elsevier, London, pp. 13-74.

Wehr, J.D. (2015). Chapter 19: Brown Algae In: Wehr J.D., Sheath R.G., Kociolek J.P. (eds.) Freshwater algae of North America: ecology and classification. Second edition. Elsevier, London, pp. 851–871.

Zouni, A., Witt, H.-T., Kern, J., Fromme, P., Krauss, N., Saenger, W. and Orth, P. (2001). Crystal structure of photosystem II from *Synechococcus elongatus* at 3.8 Å resolution. Nature, 409: 739-743. doi:10.1038/35055589