



## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทรอสโทไคตริดส์จากระบบนิเวศชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี (ป่าชายเลน):  
ความหลากหลายทางชีวภาพและการคัดแยกเพื่อจัดทำฐานข้อมูล  
และการนำไปใช้ประโยชน์

Thraustochytrids along coastal ecosystem of Chon Buri Province  
(Mangrove forest): Biodiversity, screening and isolation  
for database and utilities

สมถวิล จริตควร และ สุธาร์ตน์ สวนจิตร

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้  
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)  
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557  
มหาวิทยาลัยบูรพา

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ทรอสโทไคทริดส์จากระบบนิเวศชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี (ป่าชายเลน):  
ความหลากหลายทางชีวภาพและการคัดแยกเพื่อจัดทำฐานข้อมูล  
และการนำไปใช้ประโยชน์

Thraustochytrids along coastal ecosystem of Chon Buri Province  
(Mangrove forest): Biodiversity, screening and isolation  
for database and utilities

สมถวิล จริตควร และ สุตารัตน์ สวนจิตร  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

มกราคม 2559

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน 3 แห่ง ได้แก่ สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และสถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี พบทรอสโทโคตริดส์ทั้งสิ้น 715 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 10 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum* (*Schizochytrium limacinum*) *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7 และทรอสโทโคตริดส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ Unknown 1 และ Unknown 2 ทรอสโทโคตริดส์มีการพบ (Frequency of Occurrence) เฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.50-57.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง *A. mangrovei* และ *A. limacinum* พบเป็นชนิดเด่น โดยพบสูงสุดที่ใบแสมขาว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.50% และ 28.75% ตามลำดับ

สำหรับกรดไขมัน *A. limacinum* มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด (4.71-191.07 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 1.43-29.67 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (20.75-175.34 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 0.84-31.09 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบใกล้เคียงกัน โดย *A. limacinum* มีปริมาณสูง (0.09-0.55 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 0.03-0.10 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *A. mangrovei* (0.52-5.67 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 0.13-0.60 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.37-37.71 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.41-6.08 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 4.74-41.87 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.23-7.51 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ส่วน *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.88-22.49 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 9.39-20.71 กรัม/ลิตร จะเห็นว่าทรอสโทโคตริดส์มีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง โดยเฉพาะดีเอชเอและอีพีเอที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือเชิงพาณิชย์ต่อไป

**คำสำคัญ:** ป่าชายเลน, ทรอสโทโคตริดส์, กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง, ดีเอชเอ, อีพีเอ

## ABSTRACT

Screening and isolation of thraustochytrids from fallen senescent mangrove leaves of 3 stations in Chon Buri Province: Natural and Mangrove Reservation Study Center (S1), Klong Prong Mangrove forest, Ang Sila (S2), and Sattahip Naval Base, Sattahip (S3). A total of 715 thraustochytrid isolates were obtained, classified into 10 species, namely, *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7, unknown 1 and unknown 2. Frequency of occurrence of thraustochytrids ranged from 2.50-57.50 %. The dominant species found in these areas were *A. mangrovei* and *A. limacinum*, and the leaves of *Avicennia alba* had the most abundance of *A. mangrovei* (57.50%) and *A. limacinum* (28.75%).

For the fatty acid composition in thraustochytrids, high content of DHA (Docosahexaenoic acid) were found in *A. limacinum* and *A. mangrovei* which represented as 4.71-191.07 mg/g dry weight (1.43-29.67 % of total fatty acid) and 20.75-175.34 mg/g dry weight (0.84-31.09 % of total fatty acid), respectively. Arachidonic acid (ArA) and eicosapentaenoic acid (EPA) were quite similar amount in thraustochytrids which the highest ArA and EPA found in *A. limacinum* (0.09 - 0.55 mg/g dry weight, 0.03-0.10 % of total fatty acids), and *A. mangrovei* (0.52-5.67 mg/g dry weight, 0.13-0.60 % of total fatty acids), respectively. High content of Docosapentaenoic acid (DPA) were revealed in *A. limacinum* and *A. mangrovei* as 1.37-37.71 mg/g dry weight (0.41-6.08 % of total fatty acid) and 4.74-41.87 mg/g dry weight (0.23-7.51 % of total fatty acid), respectively. The biomass of *A. mangrovei* and *A. limacinum* were revealed as 6.88-22.49 g/L, and 9.39-20.71 g/L, respectively. It is indicated that thraustochytrids have high potential for the source of polyunsaturated fatty acids, especially DHA and EPA, as an applicable for aquaculture or further commercial uses.

**Key words:** mangrove forest, Thraustochytrids, Polyunsaturated fatty acid, Docosahexaenoic acid (DHA), Eicosapentaenoic acid (EPA)

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนจากรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยบูรพา ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณภาควิชาวาริชศาสตร์ และภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา เจ้าหน้าที่ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ขอขอบคุณ คุณทิวพร ทองประสม คุณนฤมล ฐูปูชา คุณจินต์จุฑา อ่วมสุข คุณมีทนา ตามัง คุณสมพร ชังฮี และนิสิตภาควิชาวาริชศาสตร์ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างและช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สมถวิล จริตควร  
สุดารัตน์ สวนจิตร

มกราคม 2559

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่	
1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
สมมติฐานของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
สถานที่ทำการทดลอง	2
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
ทอรัสโทโคตริดส์	3
บทบาทของทอรัสโทโคตริดส์ในระบบนิเวศ	20
การแพร่กระจายทอรัสโทโคตริดส์	21
ป่าชายเลน	21
กรดไขมัน	22
การจำแนกประเภทของกรดไขมัน	23
ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า.3	24
แหล่งที่สำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า.3	25
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
3 วิธีดำเนินการวิจัย	29
การคัดแยกและจำแนกเชื้อทอรัสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้	29
ป่าชายเลนด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา	
4 ผลการทดลอง	36
5 อภิปราย สรุป และข้อเสนอแนะ	54
รายการอ้างอิง	58
ภาคผนวก	65

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ	31
4.1 พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่นำมาคัดแยกทรอสโทโคตริดส์	36
4.2 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี	40
4.3 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี	41
4.4 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี	42
4.5 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 สถานี จังหวัดชลบุรี	43
4.6 มวลชีวภาพของทรอสโทโคตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี ภาคผนวกที่ 1 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่น บริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี	49 66

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	โครงสร้าง Ectoplasmic net element	4
2.2	(I) ลักษณะขนแบบทินเชิล (II) ผนังเซลล์ทროสโทโคตริดีส์	5
2.3	วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ของทროสโทโคตริดีส์	5
2.4	(I) เอกโตพลาสซึมคเนทจากเซลล์ปกติ (II) ลักษณะซูโอสปอร์ (III) อะมิบอยด์เซลล์ของ <i>Shizochytrium limacinum</i> (IV) ซูโอสปอร์แรงเจียมของ <i>Schizochytrium mangrovei</i> O = Octad	7
2.5	คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทროสโทโคตริดีส์ระดับสกุล	8
2.6	วัฏจักรชีวิตของ <i>Schizochytrium limacinum</i>	8
2.7	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงกลุ่มเซลล์กำลังแบ่งแบบเซลล์จากหนึ่งเป็นสองใน อาหารเอช (medium H)	11
2.8	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Aurantiochytrium</i> spp.	12
2.9	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Shizochytrium sensu stricto</i>	13
2.10	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Oblongichytrium</i> sp. SEK 347	14
2.11	วัฏจักรชีวิตของ <i>Thraustochytrium</i> sp.	10
2.12	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Ulkenia</i> clade strains	16
2.13	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Sicyoidochytrium</i> clade strains	17
2.14	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Botryochytrium</i> clade strains	18
2.15	ภาพทროสโทโคตริดีส์ของ <i>Parietichytrium</i> clade strains	19
3.1	สถานที่เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน	31
3.2	สถานที่เก็บตัวอย่าง	32
3.3	คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับครอบครัวและจีนัสของทროสโทโคตริดีส์อันดับ Labyrinthulales คลาส Labyrinthulomycetes	34
4.1	ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytrids ที่เลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100 เท่า	39
4.2	เปอร์เซ็นต์การพบทროสโทโคตริดีส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 สถานที่ จังหวัดชลบุรี	45
4.3	เปอร์เซ็นต์การพบทროสโทโคตริดีส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานที่ที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี	46



## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
4.4	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคไตรดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี	47
4.5	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคไตรดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี	48
4.6	ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทโคไตรดส์แต่ละชนิด ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี ก. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ข. มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง	51
4.7	สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (ก.) และมวลชีวภาพ (ข.) ของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี	52
4.8	สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (ก.) และมวลชีวภาพ (ข.) ของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี	53

## บทที่ 1 บทนำ

ทรอสโทโคตริตส์ (Thraustochytrids) เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่ยังมีการศึกษาน้อยมากในบริเวณป่าชายเลนประเทศไทย ส่วนใหญ่ทำการศึกษากลุ่มแบคทีเรีย รา และยีสต์ ปัจจุบันทรอสโทโคตริตส์ถูกจัดอยู่ใน Kingdom Straminipila (Moss, 1986) แต่นักวิทยาศาสตร์บางท่านจัดอยู่ในกลุ่มโพรติสตา สำหรับการศึกษาคความหลากหลายของทรอสโทโคตริตส์จากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทยมีรายงานประมาณ 15 ปีที่ผ่านมา (Jaritkhuan *et al.*, 2004, 2005; Chatdumrong *et al.*, 2004) จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจถึงความหลากหลายของทรอสโทโคตริตส์บริเวณป่าชายเลนในประเทศไทย เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางวิชาการที่สำคัญในด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในประเทศไทยต่อไป

สิ่งที่มีความสำคัญมากของทรอสโทโคตริตส์คือสามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Highly unsaturated fatty acid, HUFA) ได้ในปริมาณสูง โดยเฉพาะกลุ่มโอเมก้า-3 อันได้แก่ ดีเอชเอ (DHA, docosahexaenoic acid) และอีพีเอ (EPA, eicosapentaenoic acid) และกลุ่มโอเมก้า-6 ได้แก่เออาร์เอ (ARA, arachidonic acid) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจัดเป็นสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ สามารถนำมาใช้ทางการแพทย์เพื่อบำบัดและรักษาโรคต่างๆ และสามารถออกฤทธิ์ในเชิงป้องกันโรคและภาวะผิดปกติบางชนิดเช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็ง โรคข้อ และโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ (Yongmanitchai and Ward, 1989) ดีเอชเอมีผลทำให้การตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปอย่างปกติ รวมทั้งการพัฒนาการของสมองและการมองเห็น โดยจะเห็นผลชัดเจนในวัยทารกและเด็ก (Uauy-Dagach, 1996) และได้มีการเสริมปริมาณดีเอชเอในนมผงกระป๋องสำเร็จรูปสำหรับเด็กอีกด้วย ปกติแล้วกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดดีเอชเอพบมากในส่วนของสมองและเรตินา แต่ร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ จึงต้องบริโภคจากอาหารที่มีกรดไขมันดังกล่าว และการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวในร่างกายนั้นสามารถถ่ายทอดหรือส่งต่อทางห่วงโซ่อาหารได้

จุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทโคตริตส์ เช่น *Schizochytrium* spp. และ *Thraustochytrium* spp. จึงเป็นเป้าหมายที่สำคัญ โดยมีรายงานการสะสมไขมันภายในเซลล์สูงถึง 30 % และมีความหลากหลายของชนิดกรดไขมันไม่มาก แต่มีปริมาณของเออาร์เอ อีพีเอ หรือดีเอชเอค่อนข้างสูง โดยเฉพาะดีเอชเอ มีปริมาณสูงถึง 30 - 40 % ของกรดไขมันทั้งหมด (Bajpai *et al.*, 1991a, 1991b; Li and Ward, 1994; Barclay and Zeller, 1996, Bowles *et al.*, 1999; Jaritkhuan *et al.*, 2004, 2005) ซึ่งน่าจะนำมาเป็นแหล่งทดแทนกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงจากน้ำมันปลาได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้นทรอสโทโคตริตส์มีกลิ่นน้อยมากเมื่อเทียบกับน้ำมันปลา สามารถควบคุมคุณภาพของกรดไขมันได้และมีปริมาณดีเอชเอสูงกว่าที่พบในน้ำมันปลาอีกด้วย (Nakahara *et al.*, 1996) ในแง่ของการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการผลิตภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการจะสามารถทำให้การผลิตในเชิงการค้าทำได้ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น

สำหรับการศึกษานุกรมวิชาของทรอสโทโคตริตส์อาศัยจัดจำแนกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลักเช่น ลักษณะเซลล์ในระยะการเจริญ (vegetative cells) การสร้าง

เอกโตพลาสมิคเน็ต (ectoplasmic net หรือ EN) ลักษณะซุโอสปอร์แรงเจียม (zoosporangium) การสร้างซุโอสปอร์ (zoospores) รูปแบบการปล่อยซุโอสปอร์ออกจากซุโอสปอร์แรงเจียม การสร้างรงควัตถุ เป็นต้น (Goldstein & Belsky, 1964; Ulken, Jackle, & Bahnweg, 1985; Ranghukumar, 1988; 1992; Ranghukumar & Geartner, 1992; Leander *et al.*, 2004)

จากการที่ประเทศไทยยังมีการศึกษาทออสโทโคตริตส์ค่อนข้างน้อย ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงชนิดและปริมาณของทออสโทโคตริตส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี เพื่อเป็นฐานข้อมูลด้านทรัพยากรธรรมชาติสำหรับใช้ในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

### วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสำรวจและคัดแยกทออสโทโคตริตส์จากใบไม้ป่าชายเลนชนิดต่าง ๆ จากบริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี และจัดจำแนกทออสโทโคตริตส์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา
2. เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การพบทออสโทโคตริตส์จากใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกัน
3. เพื่อคัดเลือกหาทออสโทโคตริตส์สายพันธุ์ในประเทศที่มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดดีเอชเอ อีพีเอ ดีพีเอ และเออาร์เอ จากบริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

### สมมติฐานของการวิจัย

1. ใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกันจะพบชนิดของทออสโทโคตริตส์ต่างชนิดกัน
2. เปอร์เซ็นต์การพบทออสโทโคตริตส์จากใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกันมีความแตกต่างกัน

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. ได้เชื้อทออสโทโคตริตส์ที่เป็นสายพันธุ์ในประเทศไทย มาเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า-3 ที่มีความสำคัญได้แก่อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ และโอเมก้า-6 ได้แก่เออาร์เอ
2. ได้องค์ความรู้ใหม่ด้านฐานข้อมูลทางวิชาการเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของทออสโทโคตริตส์จากป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี เพื่อประโยชน์ในการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน และสามารถนำไปใช้ในการวิจัยขั้นสูงและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและการเพาะเลี้ยงต่อไป

### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวาริชศาสตร์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ทรอสโทโคตริดส์ (Thraustochytrids)

การจัดจำแนกทรอสโทโคตริดส์มีดังนี้

Moss (1986) ได้จำแนกไว้ดังนี้

Superkingdom Eucaryota

Kingdom Stramenopila

Phylum Labyrinthulomycota

Order Labyrinthulida

Family Thraustochytriidae

ส่วน Cavalier-Smith (1994) and Cavalier-Smith *et al.* (1994) ได้จำแนกไว้ดังนี้

Kingdom Chromista

Phylum Heterokonta

Subphylum Labyrinthista

Class Labyrinthulea

Family Labyrinthulidae

Labyrinthurids

Family Thraustochytridae

Thraustochytrids

ส่วน Dick (2001) ได้จำแนกไว้ดังนี้

Kingdom Stramenopila (Straminipila)

Phylum Heterokonta

Class Labyrinthista

Order Thraustochytriales

Family Thraustochytriaceae

Order Labyrinthulales

Family Labyrinthulaceae

สำหรับ Honda (2001) ได้ทำการจัดจำแนกกลุ่มทรอสโทโคตริดส์ดังนี้

Kingdom Chromista

Phylum Sagenista

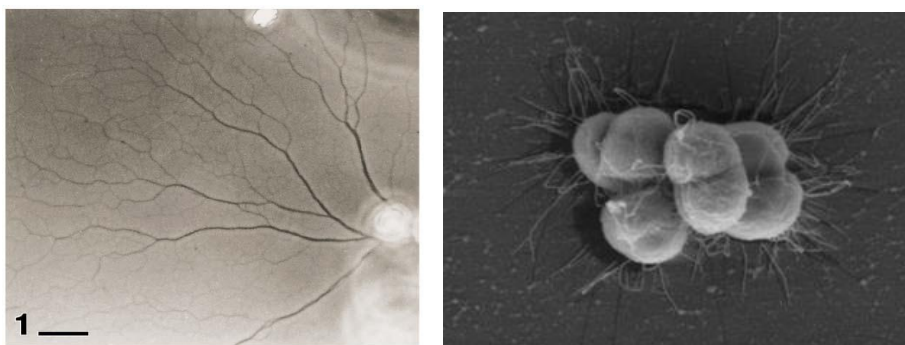
Class Labyrinthulea

Order Labyrinthulales

Family Thraustochytriaceae

### 1. ลักษณะทั่วไปของทรอสโทโคตริคส์

ทรอสโทโคตริคส์มีรูปร่างเป็นทรงกลมเดี่ยวๆ (monocentric) มีส่วนที่ยื่นยาวออกมายึดเกาะพื้นผิว เรียกว่าเอกโตพลาสมิคเนท (ectoplasmic net) ใช้ในการดูดซึมธาตุอาหารและขนส่งเอนไซม์ไลติก (lytic) ไปยังซีสเตรท แล้วย่อยสลายดูดซึมสารอาหารเพื่อไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของทาลัส (Perkin, 1973 cited in Bowles, 1997) เอกโตพลาสมิคเนท สร้างมาจากส่วนที่เรียกว่า ซาจีโนเจน (Sagenogen) (Alderman, Harrison, Bremer & Jones, 1974; Chilton, 1995; Honda *et al.*, 1998) ส่วนที่เป็นเอกโตพลาสมิคเนทไม่มีผนังเซลล์ และออแกนเนล ส่วนไซโทพลาสซึมของทาลัสจะแยกจากรูเมนของเอกโตพลาสมิคเนท โดยไปรวมกับซาจีโนเจน (Moss, 1986) ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของทรอสโทโคตริคส์ แม้ว่าจะยังไม่สามารถยืนยันหน้าที่ของซาจีโนเจนได้ชัดเจน แต่คาดว่าน่าจะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยในระบบการทำงานของเอกโตพลาสมิคเนท และช่วยป้องกันไม่ให้ออแกนเนลภายในทาลัสไหลไปยังเอกโตพลาสมิคเนท (Bowles, 1997) ลักษณะของเอกโตพลาสมิคเนทแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้าง Ectoplasmic net element ( Raghukumar, 2002; Leander, 2006)

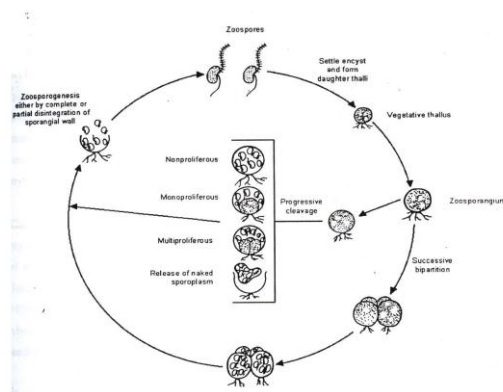
ทรอสโทโคตริคส์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยทั่วไปทาลัส (vegetative thallus) จะพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียม (sporangium) ลักษณะการแบ่งของสปอร์แรงเจียมแตกต่างกันในแต่ละสกุลเช่น แบ่ง bipartitioning หรือคลีเวท (cleavage) ภายในสปอร์แรงเจียม (sporangium) มีซุโอสปอร์ (zoospore) ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส ขนาดของซุโอสปอร์แรงเจียมอาจมีขนาดเล็กตั้งแต่ 5 ไมโครเมตรหรืออาจมีขนาดใหญ่ถึง 120 ไมโครเมตร ช่วงการสร้างซุโอสปอร์ภายในซุโอสปอร์แรงเจียมพบโปรโตพลาสซึมและนิวเคลียสจำนวนมาก เมื่อเจริญเต็มที่โปรโตพลาสซึมจะห่อหุ้มแต่ละนิวเคลียส จากนั้นผนังเซลล์จะแตกออกและปล่อยซุโอสปอร์ออกมา มีรูปร่างกลมหรือรีตามแนวยาว หรือลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว ด้านข้างมีแฟลกเจลลา 2 เส้น แฟลกเจลลาเส้นแรกมีขนาดยาวอยู่ด้านหน้าเป็นแบบทินเชิล (ภาพที่ 2.2) ทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า แฟลกเจลลาเส้นที่สองอยู่ด้านหลังมีลักษณะเรียบบมีขนาดสั้นกว่าเส้นแรก ใช้สำหรับเคลื่อนที่ย้อนกลับ (Alderman *et al.*, 1974; Porter, 1989)



ภาพที่ 2.2 (I) ลักษณะขนแบบทินเชิล (II) ผนังเซลล์ทออสโทโคตริดส์ (Honda *et al.*, 1998)

การปล่อยซุโอสปอร์เกิดจากการเกิดช่อง รู หรือการฉีกขาด สูญสลายของผนังเซลล์ของซุโอสปอร์แรงเจียม (Alderman *et al.*, 1974) จากนั้นซุโอสปอร์จะว่ายน้ำในระยะทางสั้นๆ เมื่อพบซัปสเตอร์ทที่เหมาะสม ซุโอสปอร์จะสลัดหางทิ้ง ก่อนลงเกาะซัปสเตอร์ทและเจริญเป็นเซลล์ปกติ (vegetative cell) และเข้าสู่วงจรชีวิตช่วงต่อไป (Bowles, 1997) การจัดจำแนกชนิดของทออสโทโคตริดส์สามารถใช้การสร้างและการปล่อยซุโอสปอร์จากเซลล์แม่ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง ขนาดของเซลล์ และวงจรชีวิต (Gaertner, 1972 cited in Bowles, 1997)

ทออสโทโคตริดส์แต่ละชนิดจะมีการสืบพันธุ์แตกต่างกัน เช่น *Thraustochytrium kinnei* เมื่อผนังเซลล์สปอร์แรงเจียมแตกจะปล่อยซุโอสปอร์ออกมา แต่ยังมีเหลือส่วนที่เรียกว่า poriferous body ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมได้อีกครั้ง ซึ่งลักษณะพิเศษเช่นนี้จะพบเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น และบางสายพันธุ์สามารถมี poriferous body ได้มากกว่าหนึ่ง เช่น *Thraustochytrium multirudimentale* ซึ่งการมีจำนวน poriferous body เพิ่มมากขึ้นนั้น จะมีผลต่อการพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมมากขึ้นเช่นกัน (ภาพที่ 2.3) ส่วน *Thraustochytrium roseum* จะไม่มีลักษณะเช่นนี้ (Alison, 2000)



ภาพที่ 2.3 วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ของทออสโทโคตริดส์ (Moss, 1986)

Porter (1989) รายงานว่าทรอสโทโคตริดส์พบทั้งหมด 7 สกุล

1. *Thraustochytrium* Sparrow emend. Johnson
2. *Schizochytrium* S. Goldst, et Belsky emend. Booth et Miller
3. *Ulkenia* A. Gaertn.
4. *Labyrinthuloides* F.O. Perkins
5. *Japonochytrium* Kobayasi et M. Ookubo
6. *Aplanochytrium* Bahnweg et Sparrow
7. *Althonia* E.B.G. Jones et Alderman

*Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก ผนังเซลล์มีหลายชั้น ทัลลัสส่วนล่างมีส่วนของเอกโตพลาสติคเนท ใช้ในการยึดติดกับซบสเตรท ซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ผลิตโดยซาจิโนเจน (Alderman *et al.*, 1974; Porter, 1989) ภายในซูโอสปอร์แรงเจียมมีการสร้างผนังกัน เรียกว่าพอรอติเฟอร์ส บอดี้ (proliferous body) ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ และ *Thraustochytrium* แต่ละชนิดจะมีจำนวนพอรอติเฟอร์สแตกต่างกันไปเช่น *Thraustochytrium kinnei* พบเพียง 1 พอรอติเฟอร์ส แต่ *T. multirudimentale* พบพอรอติเฟอร์สจำนวนมากและบางชนิดกลับไม่พบการสร้างพอรอติเฟอร์สเลย เช่น *T. roesum* ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Thraustochytrium* ผลิตซูโอสปอร์ 50-100 ซูโอ-สปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากแรงดันภายในทำให้ผนังเซลล์แม่แตกออก (Alderman *et al.*, 1974) โดยหลังการปล่อยซูโอสปอร์แล้วพบว่าส่วนของพอรอติเฟอร์สยังคงอยู่และสร้างซูโอสปอร์แรงเจียมขึ้นมาใหม่ (Honda, 2001) *Japonochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ส่วนล่างยึดติดกับซบสเตรทโดยส่วนของเอกโตพลาสติคเนทที่มีลักษณะบวมพองออก ถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ เรียกส่วนนี้ว่าอะโพฟิซิส (apophysis) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากรูหรือช่องว่างของซูโอสปอร์แรงเจียม (Alderman *et al.*, 1974)

สกุล *Ulkenia* ถูกตั้งโดย Gaertner (1977) เป็นกลุ่มที่ย้ายมาจากสกุล *Thraustochytrium* มีรูปร่างกลม ผนังเซลล์บาง การสืบพันธุ์เซลล์แม่จะสร้างอะมิบอยด์เซลล์และปล่อยอะมิบอยด์เซลล์ออกมา จากนั้นอะมิบอยด์เซลล์จะสร้างซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อซูโอสปอร์เจริญเต็มที่ จะดันผนังเซลล์แม่แตกออก (Hunt, 2000)

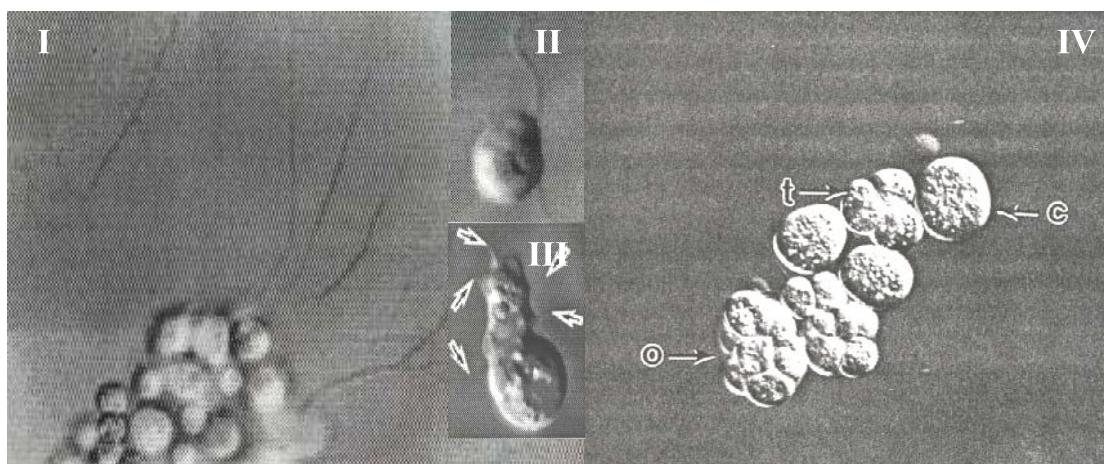
*Aplanochytrium* เป็นอีกกลุ่มที่ย้ายมาจากกลุ่ม *Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างสปอร์รูปร่างกลม ไม่พบส่วนของแฟลกเจลลา เรียกว่า อะพลาโนสปอร์ (aplanospore) จำนวน 50-100 สปอร์ ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ (Alderman *et al.*, 1974) การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการขยายขนาดของสปอร์จนผนังเซลล์แม่แตกออก (Porter, 1989)

*Labyrinthuloides* ทัลลัสมีรูปร่างกลม มีส่วนของเอกโตพลาสติคเนทซึ่งใช้ในการเคลื่อนที่ (Honda, 1998; Leander & Porter, 2000) การเคลื่อนที่เป็นแบบคืบคลานซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น เมื่อเซลล์เจริญเติบโตเต็มที่ก็จะถูกปล่อยออกจากเซลล์แม่ (Porter, 1989; Leander & Porter, 2000)

ต่อมา Leander and Porter (2000) ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและอณูโมเลกุล ของสกุล *Aplanochytrium* กับ *Labyrinthuloides* พบว่าเป็นชนิดเดียวกัน จึงได้แก้ไขรายละเอียดของ *Aplanochytrium* ใหม่ โดยรวมส่วนของ *Labyrinthuloides* ทุกชนิด และ 1 ชนิดของ *Labyrinthula*, *L. thais* B.A. Cox et Mackin. เข้าด้วย

*Althonia* ซูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างกลมล่องลอยเป็นอิสระ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 20-120 ไมโครเมตร ไม่พบส่วนของเอกโตพลาสติคเนท ผนังเซลล์มีความหนา 3-8 ไมครอน (Alderman and Jones, 1971) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น จำนวน 10-100 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเสื่อมสลายของผนังเซลล์ซูโอสปอร์แรงเจียม หลังปล่อยออกจากเซลล์แม่ซูโอสปอร์จะเคลื่อนที่เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 36 ชั่วโมง เมื่อพบซัพสเตรทที่เหมาะสมจะสลัดหางออกและเจริญเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งสกุลนี้ไม่พบระยะลงเกาะ (Jones & Alderman, 1971)

*Schizochytrium* เซลล์ปกติมีรูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือหลายเซลล์เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม มีส่วนของเอกโตพลาสติคเนทยึดเกาะกับซัพสเตรท (Raghumar, 1988) ซูโอสปอร์แรงเจียมมีการแบ่งครึ่งเซลล์แบบทวิคูณ (successive binary division) จำนวน 4-5 ครั้ง ซึ่งแต่ละเซลล์จะผลิตซูโอสปอร์ และในชนิด *S. limacinum* พบว่าบางเซลล์มีลักษณะแบบอะมิบอยด์เซลล์ (amoeboid cell) คือเซลล์มีรูปร่างยาวขึ้น (elongate) และหดตัวเป็นทรงกลม ก่อนแบ่งตัวสร้างซูโอสปอร์ (Honda et al., 1998) ซูโอสปอร์มีรูปร่างรีหรือเกือบกลมมีแฟลกเจลลา 2 เส้นทางด้านข้าง การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากส่วนปลายของซูโอสปอร์แรงเจียมฉีกขาดออก (Alderman et al., 1974; Honda, 1998) (ภาพที่ 2.4)



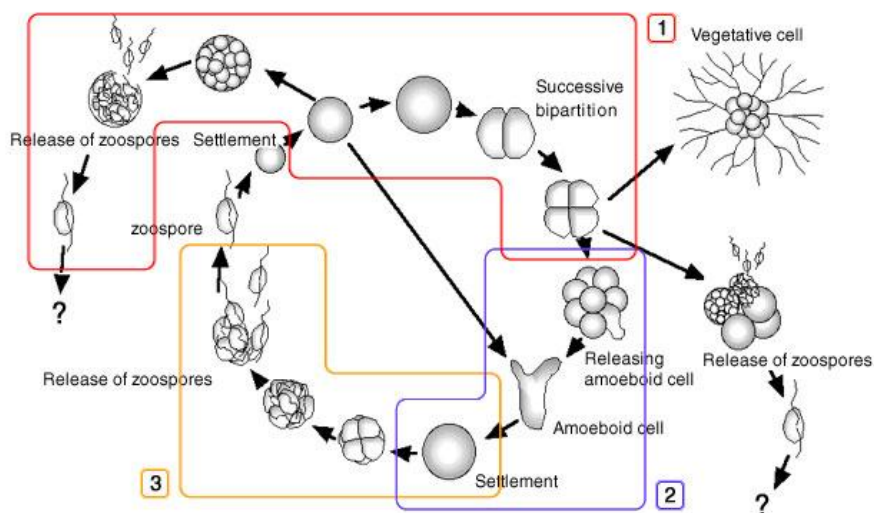
ภาพที่ 2.4 (I) เอกโตพลาสติคเนทจากเซลล์ปกติ (II) ลักษณะซูโอสปอร์  
(III) อะมิบอยด์เซลล์ของ *Schizochytrium limacinum* (Honda et al., 1998)  
(IV) ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Schizochytrium mangrovei* (C = Mature Cell, T = Tetrad, O = Octad) (Leano, 2001)



Honda (2001) ได้เสนอคีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทรอสโทโคตริตส์ระดับสกุล ดังภาพที่ 2.5

1. เซลล์รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวย.....	<i>Labyrinthula</i>
1. เซลล์รูปร่างกลม.....	ดูข้อ 2
2. ไม่มีเอคโตพลาสติคเนท.....	<i>Althonia</i>
2. มีเอคโตพลาสติคเนท.....	ดูข้อ 3
3. สร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา.....	<i>Aplanochytrium</i>
3. สร้างสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา.....	ดูข้อ 4
4. เอคโตพลาสติคเนทมีลักษณะบวมพอง.....	<i>Japonochytrium</i>
4. เอคโตพลาสติคเนทไม่บวมพอง.....	ดูข้อ 5
5. มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division.....	<i>Schizochytrium</i>
5. ไม่มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division.....	ดูข้อ 6
6. สร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อนสร้างซุโอสปอร์.....	<i>Ulkenia</i>
6. ไม่สร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อนสร้างซุโอสปอร์.....	ดูข้อ 7
7. มีพอลิเฟอริส.....	<i>Thraustochytrium</i>
7. ไม่มีพอลิเฟอริส.....	<i>Labyrinthuloides</i>

ภาพที่ 2.5 คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทรอสโทโคตริตส์ระดับสกุล (Honda, 2001)



ภาพที่ 2.6 วัฏจักรชีวิตของ *Schizochytrium limacinum*

(<http://kccn.konan-u.ac.jp/bio/syst/pages/2527b5.html>)

อย่างไรก็ตามการจำแนกระดับสกุลพบว่ายังมีปัญหา เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Thraustochytrium* มีความซ้ำซ้อนกัน (Booth and Miller, 1968; Sparrow, 1969; Alderman et al., 1974) นอกจากนี้อะมิบอยด์เซลล์สามารถพบได้ทั้ง *Ulkenia* และ *Schizochytrium sento lato* รวมถึง *Thraustochytrium* ที่เลี้ยงในบางสภาพแวดล้อม (ภาพที่ 2.7) (Yokoyama and Honda, 2007)

Yokoyama and Honda (2007) จำแนกสกุล *Schizochytrium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน และคาร์โรทีนอยด์ โดยพบว่าสกุล *Schizochytrium* สามารถแยกออกได้เป็น 3 สกุล ได้แก่ *Schizochytrium sensu stricto* และสกุลใหม่ 2 สกุลคือ *Aurantiochytrium* R. Yokoy. et D. Honda และ *Oblongichytrium* R. Yokoy. et D. Honda โดยอธิบายดังนี้

*Aurantiochytrium* R. Yokoy. et D. Honda ลักษณะทลล์มีผนังบาง ทรงกลม สีส้ม เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟินีโคแซนธิน แคนต้าแซนธินและเบต้าแคโรทีน และมีเออาร์เอ็น้อย แต่มีดีเอชเอในปริมาณสูง โคลีนีมีขนาดเล็กและมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division อนุโคพลาสซึมิกเนทพัฒนาไม่ดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างรีจนถึงทรงกลม และไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2.8)

*Schizochytrium* S. Goldst. Et Belsky emend. R. Yokoyama et D. Honda ลักษณะทลล์มีผนังบาง ทรงกลม สีเหลืองอ่อน เซลล์มีเพียงเบต้าแคโรทีน และมีเออาร์เอประมาณ 20 % โคลีนีมีขนาดใหญ่และมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division มีอนุโคพลาสซึมิกเนทที่พัฒนาดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างแบบทรงกลมและรูปรี่ ไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2.9)

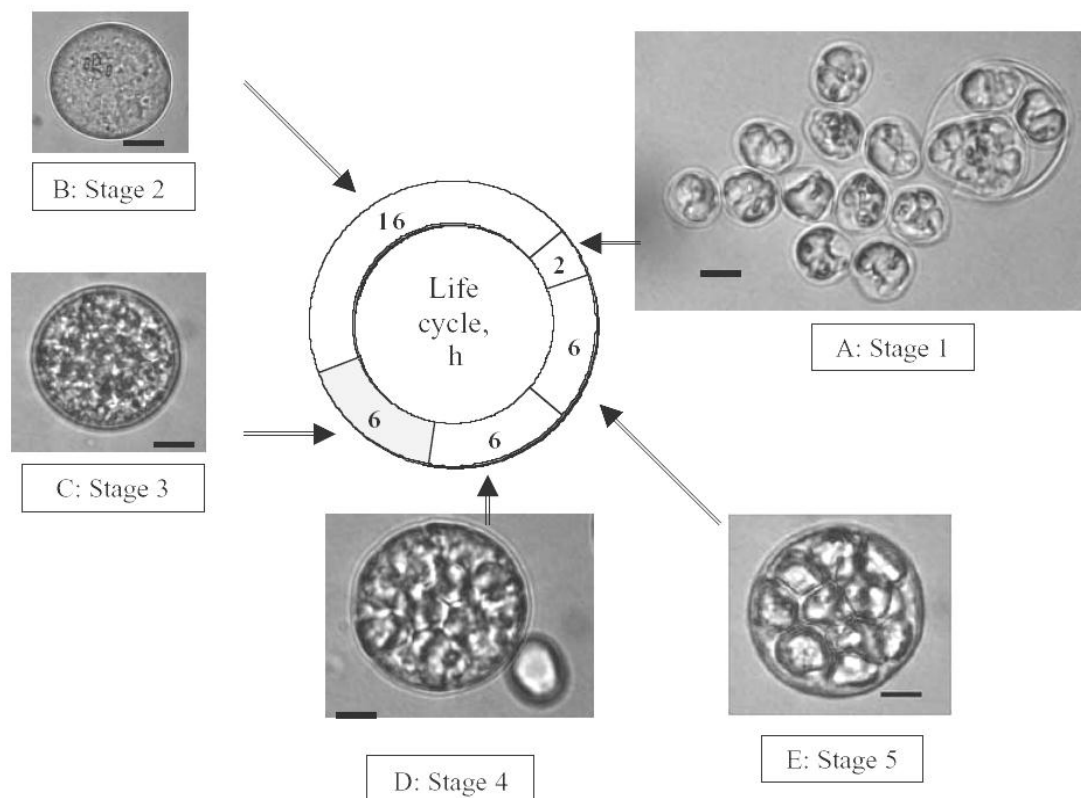
*Oblongichytrium* R. Yokoy. et D. Honda, gen. nov. ลักษณะทลล์มีผนังบาง ทรงกลม สีเหลืองอ่อน เซลล์มีแคนต้าแซนธินและเบต้าแคโรทีน และมี n-3 ดีพีเอมาก แต่มี n-6 ดีพีเอ น้อย โคลีนีมีขนาดใหญ่และมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division มีอนุโคพลาสซึมิกเนทที่พัฒนาดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างแบบรูปรี่หรือรูปไข่ ไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2.10)

Shabala et al. (2001) ได้ทำการศึกษาวัฏจักรการเจริญของ *Thraustochytrium* sp. โดยแบ่งการเจริญออกเป็น 5 ระยะ คือ

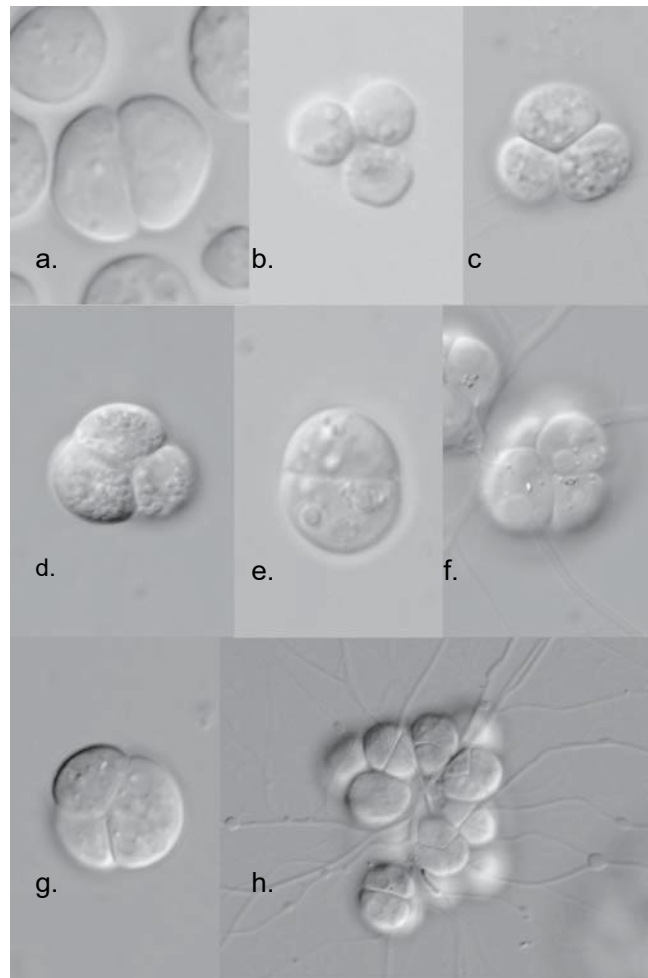
- (1) ระยะซูโอสปอร์มีขนาดค่อนข้างเล็ก โดยทั่วไปจะมีขนาดประมาณ 6-12 ไมโครเมตร
- (2) ระยะที่ซูโอสปอร์หยุดนิ่งไม่เคลื่อนไหว มีการสร้างซิสต์ (cyst) และค่อย ๆ มีขนาดใหญ่ขึ้นจนเกิดเป็นโครงสร้างซูโอสปอร์
- (3) ระยะที่มองเห็นโครงสร้างของเม็ดไขมันภายในซูโอสปอร์ได้อย่างชัดเจน เริ่มมีการสร้างหยดไขมัน รวมทั้งมีการพัฒนาของผนังเซลล์
- (4) ระยะที่เม็ดไขมันมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ทลล์มีการแผ่ขยายออกมากขึ้นมีการสร้างแคปซูลซึ่งมีผนังหนาขึ้นรอบ ๆ ซูโอสปอร์ และเริ่มมองเห็นร่องรอยของการแบ่ง (Cleavagelines) ได้อย่างชัดเจน

(5) ระยะเวลาที่มีการแบ่งตาม Cleavage lines เพื่อแยกแต่ละ Planonts ออกจากกันตามด้วยการแตกออกของผนังเซลล์ และปลดปล่อยซิวโอสปอร์ออกมาสู่สิ่งแวดล้อม จากนั้นจะเข้าสู่ระยะที่ 1 ต่อไป

วัฏจักรทั้ง 5 ดังกล่าวเกิดขึ้นและเสร็จสิ้นสมบูรณ์ภายใน 28-40 ชั่วโมง ซึ่งระยะเวลาอาจแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปริมาณสารอาหารและอัตราการให้อากาศ สอดคล้องกับรายงานของ Goldstein ในปี 1963 (<http://kccn.konan-u.ac.jp/bio/syst/pages/2527b5.html>) (ภาพที่ 2.11)

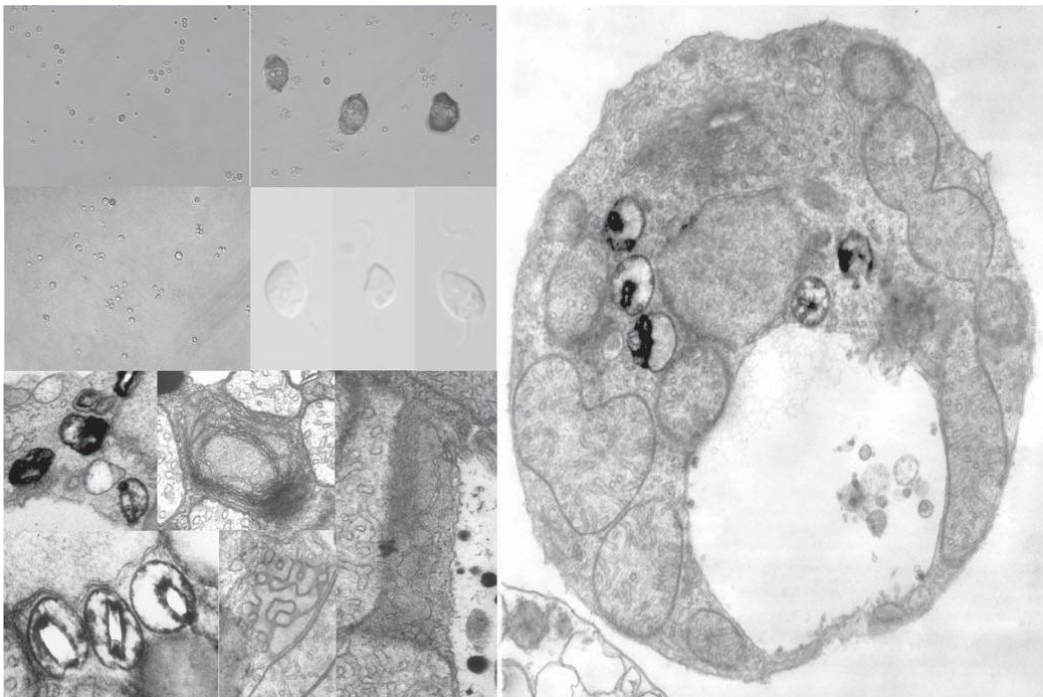


ภาพที่ 2.11 วัฏจักรชีวิตของ *Thraustochytrium* sp. (Shabala et al., 2001)



ภาพที่ 2.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงกลุ่มเซลล์กำลังแบ่งแบบเซลล์จากหนึ่งเป็นสองในอาหาร-เอช (medium-H) (Yokoyama and Honda, 2007)

- |   |   |
|---|---|
| a. <i>Aurantiochytrium limacinum</i> ;  | b. <i>Aurantiochytrium</i> sp. SEK 209; |
| c. <i>Aurantiochytrium</i> sp. SEK 217; | d. <i>Schizochytrium aggregatum</i> ;   |
| e. <i>Schizochytrium</i> sp. SEK 210;   | f. <i>Schizochytrium</i> sp. SEK 326;   |
| g. <i>Oblongichytrium</i> sp. SEK 347;  | h. <i>Oblongichytrium</i> sp. SEK 347   |



ภาพที่ 2.8 ภาพทรอสโทโคตริตส์ของ *Aurantiochytrium* spp. (Yokoyama and Honda, 2007)

a-c ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทะเลและมีแอกโตพลาสติดเนทน้อยมาก (ลูกศร)

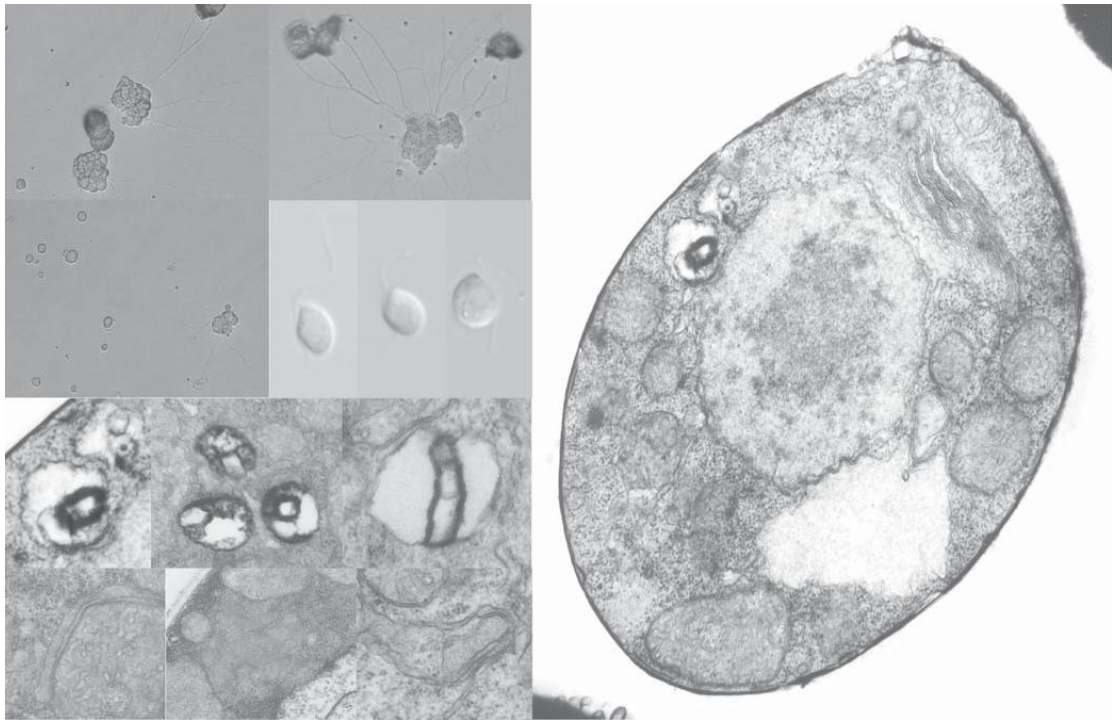
d-f ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซูโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปไข่

g-l ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง electron-dense body และ para-nuclear body (PA) ในเซลล์ปกติ

(a, d *Aurantiochytrium limacinum* NIBC SR21; b, e, g, j, l *Aurantiochytrium* sp. SEK 209;

c, f, h, i, k *Aurantiochytrium* sp. SEK 217).

EDB, electron-dense body; G, Golgi body; Mt, mitochondria; N, nucleus; V, vacuole.



ภาพที่ 2.9 ภาพทรอสโทโคตริคส์ของ *Schizochytrium sensu stricto* (Yokoyama and Honda, 2007)

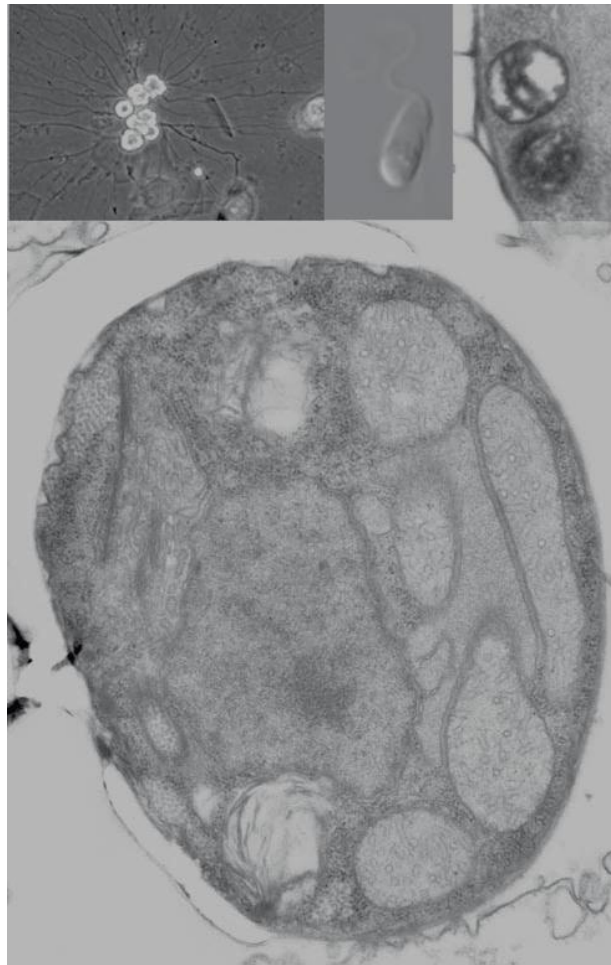
a-c ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงเซลล์ที่เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ เลี้ยงในน้ำทะเล และมี  
เอคโตพลาสซึมที่พัฒนาดี (ลูกศร)

d-f ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซูโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปไข่

g-m ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง electron-dense body และ para-nuclear  
body (หัวลูกศร) ในเซลล์ปกติ

(a, d, g, j, m *Schizochytrium aggregatum* ATCC 28209; b, e, h, k *Schizochytrium* sp. SEK  
210; c, f, i, l *Schizochytrium* sp. SEK 346).

EDB, electron-dense body; G, Golgi body; K, kinetosome; Mt, mitochondria; N,  
nucleus; V, vacuole.



ภาพที่ 2.10 ภาพทรอสโทโคตริคส์ของ *Oblongichytrium* sp. SEK 347. (Yokoyama and Honda, 2007)

- a. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงเซลล์ที่เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ เลี้ยงในน้ำทะเล และมี  
เอกโตพลาสซึมที่พัฒนาดี (ลูกศร)
- b. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซุโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปรี
- c. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง electron-dense body
- d. ภาพตัดขวางเซลล์ปกติ แสดง para-nuclear body. *G*, Golgi body; *Mt*, mitochondria; *N*,  
nucleus; *PA*, para-nuclear body; *V*, vacuole.

Yokoyama *et al.* (2007) ได้จำแนกทรอสโทโคตริดส์สกุล *Ulkenia* โดยใช้ลักษณะที่พบระยะโปรโตพลาสต์ (Protoplast stage) ในช่วงชีวิต และได้ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของ 18S rRNA พบว่า *Ulkenia* ที่ทำการศึกษานี้แบ่งออกเป็น 4 monophyletic groups ซึ่งแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันในส่วนของชนิดของกรดไขมันกับแคโรทีนอยด์ รวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และโคโลนี เช่นการคงเหลือของผนังเซลล์ (sporangial wall) ลักษณะการแบ่งเซลล์ (cell cleavage) ในการสร้างซุโอสปอร์ และการพัฒนาของเอกโทพลาสติคเนท จากการศึกษาดังกล่าวได้แบ่งสกุล *Ulkenia* ใหม่ออกเป็น 4 สกุล และได้สกุลใหม่ 3 สกุล ได้แก่ *Ulkenia sensu stricto*, *Botryochytrium*, *Parietichytrium* และ *Sicyoidochytrium* gen. nov. ซึ่งมีลักษณะดังนี้

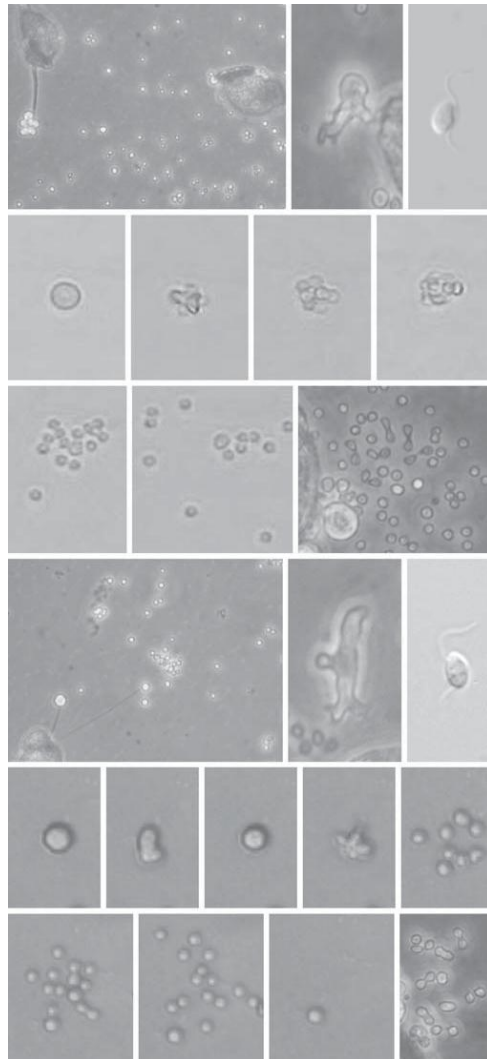
*Ulkenia* A. Gaertn. Emend. R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda ทัลลัสมีทั้งที่เป็น epibiotic, endobiotic และ interbiotic ทัลลัสมีผนังบางในช่วงที่มีการเจริญมากๆ มีเอกโทพลาสติคเนท (rhizoidal system) ทัลลัสมีรูปร่างทรงกลม กิ่งทรงกลมหรือลูกแพร์ มีขนาดที่แตกต่างกันมากในระหว่างพัฒนาการ โคโลนีมีขนาดเล็ก มีเอกโทพลาสติคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี ในระยะเจริญพันธุ์จะไม่มีผนังเซลล์ ทำให้โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มหรือมีการคืบคลานคล้ายอมีบาออกจากผนังสปอร์แรงเจียมทางรูเล็กๆที่อยู่ปลายบนของสปอร์แรงเจียม หลังจากนั้นโปรโตพลาสต์จะกลายเป็นซุโอสปอร์แรงเจียม ซึ่งจะปล่อยซุโอสปอร์ เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟินีโคแซนธิน เอกโคไนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2.12)

*Sicyoidochytrium* R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. เซลล์ปกติมีขนาดเล็ก โคโลนีเมื่อเปรียบเทียบกับมีขนาดเล็ก มีเอกโทพลาสติคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี ในระยะเจริญพันธุ์ผนังเซลล์ deliquescing อย่างสมบูรณ์ โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มและแบ่งตัวหลายครั้ง ในการแบ่งครั้งสุดท้าย ซุโอสปอร์เกิดจากการยึดตัวและตั้งตัว เซลล์มีแคนต้าแซนธิน เอกโคไนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2.13)

*Botryochytrium* R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. โคโลนีเมื่อเปรียบเทียบกับมีขนาดใหญ่ มีเอกโทพลาสติคเนทพัฒนาดี ในระยะเจริญพันธุ์ผนังเซลล์ deliquescing ทำให้โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มหรือมีการคืบคลานคล้ายอมีบาออกจากผนังสปอร์แรงเจียมทางรูเล็กๆที่อยู่ปลายบนของสปอร์แรงเจียม ทัลลัสมีทั้งที่เป็น epibiotic, endobiotic และ interbiotic ทัลลัสมีผนังบางในช่วงที่มีการเจริญมากๆ (rhizoidal system) ทัลลัสมีรูปร่างทรงกลม กิ่งทรงกลมหรือลูกแพร์ มีขนาดที่แตกต่างกันมากในระหว่างพัฒนาการ มีเอกโทพลาสติคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี หลังจากนั้นโปรโตพลาสต์จะกลายเป็นซุโอสปอร์แรงเจียม ซึ่งจะปล่อยซุโอสปอร์ เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟินีโคแซนธิน เอกโคไนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2.14)







ภาพที่ 2.13 ภาพทรอสโทโคตริตส์ของ *Sicyoidochytrium* clade strains (a–j *S. minutum* SEK 354; k–v *S. minutum* NBRC 102975). (Yokoyama *et al.*, 2007)

a, k เซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทะเล และมีเอคโตพลาสซึมที่ไมแตกแขนง (ลูกศร)

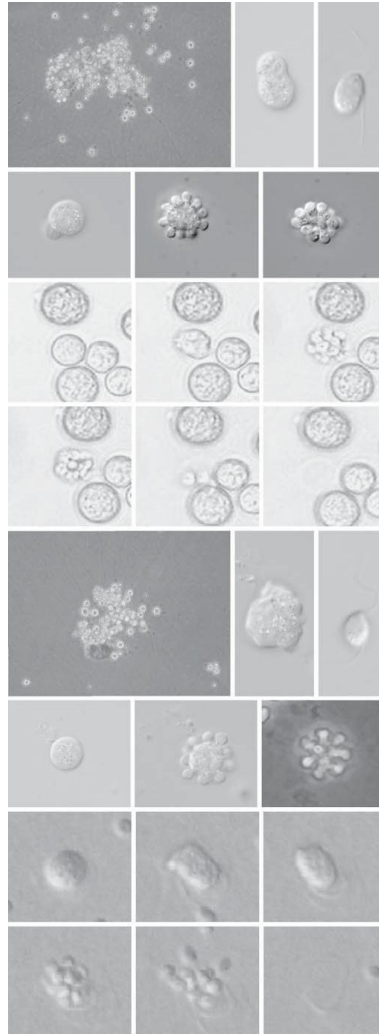
b. อมیبอยด์เซลล์ c , m ซูโอสปอร์

d-i, n–u การสร้างซูโอสปอร์โดยการแบ่งเซลล์[d. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย; e. การแบ่งเซลล์; f. eight daughter cells; g. การแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องแบบ binary cell division ที่มีลักษณะเหมือนที่ยกน้ำหนัก; h. 16 สปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่; i. ซูโอสปอร์ที่มีขนาด 2 เส้น และกำลังปล่อย; n. เซลล์ปกติ;

o. อมیبอยด์เซลล์; p. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย รูปร่างกลม; q. การแบ่งเซลล์; r. eight daughter cells; s. การแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องแบบ binary cell division ที่มีลักษณะเหมือนที่ยกน้ำหนัก; t. 16 สปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่; u. ซูโอสปอร์ที่มีขนาด 2 เส้น กำลังปล่อยและคงเหลือ proliferous body; (หัวลูกศร)] j, v การแบ่งเซลล์แบบ binary cell division ที่มีลักษณะเหมือนที่ยกน้ำหนัก



*Parietichytrium* R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. โคลนีเมื่อเปรียบเทียบกับมีขนาดใหญ่ มีเอคโทพลาสติคเนทพัฒนาดี ผนังเซลล์ยังคงเหลือหลังจากปล่อยโปรโตพลาสต์แล้ว โปรโตพลาสต์แบ่งตัวแบบ centripetal division ทำให้เกิดเป็นกลุ่มกัน แล้วมีรูปร่างเป็นรูปดาวก่อนที่จะสร้างซูโอสปอร์ เซลล์มีเบต้าแคโรทีนและมีกรดไขมัน C22:4 (docosatetraenoic acid) ในปริมาณสูง (ภาพที่ 2.15)



ภาพที่ 2.15 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Parietichytrium* clade strains (a-l *P. sarkarianum*

SEK 351; m-x *P. sarkarianum* SEK 364) (Yokoyama et al., 2007)

a, m เซลล์เลี้ยงในน้ำทะเล มีการรวมกลุ่ม และมีเอคโทพลาสติคเนทที่พัฒนาดี (ลูกศร)  
 b, n อมีบอยด์เซลล์ c, o. ซูโอสปอร์ d, p. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย e, f, q, r. เซลล์แบ่งตัวแบบรัศมี (radiated cell division) g-l. การสร้างซูโอสปอร์ [g. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย; h. อมีบอยด์เซลล์; i. การแบ่งเซลล์; j. สปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่; k. ซูโอสปอร์ถูกปล่อย; l. ผนังเซลล์ที่เหลือ (หัวลูกศร); s. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย ; t. โปรโตพลาสต์ออกจากผนังเซลล์ที่หนา (หัวลูกศร) โดยเคลื่อนที่แบบ อมีบอยด์; u. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย รูปร่างกลม; v. เซลล์แบ่งตัวเป็นซูโอสปอร์; w. ซูโอสปอร์ถูกปล่อย x. ผนังเซลล์เหลือค้างอยู่ (หัวลูกศร)].

Bongiorni *et al.* (2005) รายงานการพบเชื้อ *Thraustochytrium gaertnerium* sp. nov. ชนิดใหม่จากป่าชายเลนของ Goa ประเทศอินเดีย โดยวงจรชีวิตเริ่มจากซุโอสปอร์เจริญเป็นเซลล์ปกติที่อายุน้อย (young vegetative cells) มีขนาด 4-5 ไมโครเมตร แล้วจึงเจริญเป็นเซลล์ที่พร้อมแบ่งเซลล์ (mature thalli) ภายใน 24-25 ชั่วโมง แต่ในช่วงประมาณ 18 ชั่วโมง ภายในเซลล์เริ่มมี ดรอปเล็ต (droplets) เห็นชัดเจน หลังจากนั้นมีการเจริญและพัฒนาที่แตกต่างกัน 2 แบบ คือแบบที่ 1 Young thallus พัฒนาหรือเจริญโดยตรงไปเป็น mature thallus แล้วพัฒนาต่อเป็น zoosporangium ที่ภายในเซลล์มีลักษณะเป็นเม็ดๆ (granular) เห็นได้ชัดเจน และ zoosporangium มีผนังเซลล์บาง มีขนาดประมาณ 15-30 ไมครอน การสร้าง zoospores ในระยะเริ่มแรกสังเกตได้จากขอบนอกของ zoosporangium มีลักษณะเป็นคลื่น จากนั้นเกิดการแบ่งเซลล์แบบคลีเวต (cleavage) อย่างรวดเร็ว เห็น zoospores มีขอบเขตอย่างชัดเจน และมี proliferation body ที่เห็นได้ชัดเจนเช่นกัน จากนั้น zoospores เริ่มเคลื่อนไหวอยู่ภายใน zoosporangium เป็นเวลาสั้นๆ จึงถูกปล่อยออกมาตามรอยฉีกขาดของเซลล์ โดยผนังเซลล์ขาดออกหมด แต่ยังคงเหลือ proliferation body ที่มีขนาด 5-10 ไมครอน ค้างอยู่ zoosporangia สามารถผลิต zoospores ได้ถึง 10-75 เซล โดยมิลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว มีหนวด 2 เส้น หนวดเส้นที่ยาวติดอยู่ที่ปลายเซลล์ ส่วนเส้นที่สั้นติดอยู่ที่ด้านท้ายต่ำกว่าเส้นแรก ขนาดของ zoospores วัดได้  $3-4.5 \times 5.5-7$  ไมโครเมตร โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาว  $\times$  ความกว้าง เท่ากับ  $1.4 : 1$  ถึง  $2 : 1$  ระยะเวลาที่เริ่มสร้าง zoospores จนปล่อยออกมานั้นใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 60 นาที อย่างไรก็ตามสามารถสังเกตเห็นอะมิบอยต์ในอาหารแข็ง และ ectoplasmic net เห็นได้ชัดเจนทั้งใน pine pollen และอาหารแข็ง ลักษณะโคโลนีในอาหารแข็งเป็นวงกลมหรือครึ่งวงกลม (circular to subcircular) ที่มีเซลล์ขนาดใหญ่

ส่วนการพัฒนาแบบที่ 2 นั้น เซลล์ที่พร้อมแบ่งเซลล์ (mature thalli) แทนที่จะเจริญเป็น zoosporangium กลับเปลี่ยนเป็นอะมิบอยต์เซลล์ได้อย่างรวดเร็วภายใน 1 นาที โดยมีขนาดยาว 25-40 ไมโครเมตร และกว้าง 12.5-27.5 ไมโครเมตร ลักษณะที่สังเกตชัดคือ ectoplasm มีลักษณะเป็นแผ่น ส่วนที่เหลือรวมตัวกันแน่นเกาะเป็นก้อนอะมิบอยต์เซลล์เคลื่อนที่อย่างช้าๆ พบอยู่ระยะนี้ประมาณ 15 นาที เซลล์จะค่อยๆ กลมขึ้นมีขนาดเท่ากับ zoosporangium ที่ได้จากการพัฒนาแบบที่ 1 จากนั้น zoosporangium จึงพัฒนาต่อโดยการแบ่งตัวสร้างซุโอสปอร์ในลักษณะเดียวกับแบบที่ 1 แต่ไม่พบ proliferation body จำนวนและรูปร่างของซุโอสปอร์ในแบบที่ 1 มีเท่ากับและเหมือนกับแบบที่ 1

**บทบาทของทรอสโทโคทริตส์ในระบบนิเวศ** จุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทโคทริตส์จัดเป็นพวกเฮเทอโรโทรฟคือ ต้องการสารอินทรีย์และออกซิเจนเพื่อใช้ในการเจริญ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ (saprophyte) ใช้เอดโตพลาสติกเนททำหน้าที่ส่งเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยจากโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็ก แล้วดูดซึมกลับไปยังทาลัสส์ เพื่อใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) ทรอสโทโคทริตส์จึงทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร ซึ่งเป็นการเพิ่มและหมุนเวียนแร่ธาตุต่าง ๆ ในระบบนิเวศ (Naganuma *et al.*, 1998) และพบว่าบางกลุ่มเป็นปรสิตเช่น หอย หมึก และฟองน้ำ (Alderman & Jones,

1971) เนื่องจากทรอสโทโคไตรดส์มีปริมาณดีเอชเอสูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด จึงทำให้มีความสำคัญในแง่ของแหล่งกรดไขมันในธรรมชาติ ซึ่งกรดไขมัน เหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ในระบบนิเวศน์ (Findlay *et al.*, 1986 cited in Bremer, 2000)

**บทบาทของทรอสโทโคไตรดส์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ** แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ปัจจุบันที่ใช้ในทางการค้าประกอบไปด้วย 3 แหล่งใหญ่ ๆ คือ น้ำมันปลา สาหร่ายขนาดเล็ก และทรอสโทโคไตรดส์ ซึ่งพบว่าทรอสโทโคไตรดส์มีสัดส่วนดีเอชเอสูงกว่าอีพีเอ ขณะที่น้ำมันที่ได้จากปลาที่มีสัดส่วนดีเอชเอต่ำกว่าอีพีเอ โดยทั่วไปสัตว์น้ำมีความต้องการปริมาณดีเอชเอสูง (เวียงเชื้อโพธิ์หัก, 2542) จึงได้มีการนำทรอสโทโคไตรดส์มาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย เพื่อให้มีปริมาณ n-3 PUFAs สูง ก่อนที่จะนำไปใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไปซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน ดังนั้นการเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับสัตว์น้ำถือเป็นการถ่ายทอดดีเอชเอไปตามห่วงโซ่อาหาร เพื่อเพิ่มหรือเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับมนุษย์ทางอ้อม (Barclay & Zeller, 1996)

### การแพร่กระจายทรอสโทโคไตรดส์

ทรอสโทโคไตรดส์เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำเค็ม เช่น ปากแม่น้ำ ชายฝั่งทะเล อ่าวและมหาสมุทรทั่วโลก (Bremer, 1974; Bahnweg, 1979; Chilton, 1995; Nakahara *et al.*, 1996, Naganuma *et al.*, 1998) โดยพบทั้งในดิน น้ำ พืช สาหร่าย ซากเน่าเปื่อย (Porter, 1989; Chilton, 1995) โดยพบทรอสโทโคไตรดส์ในบริเวณปากแม่น้ำที่มีสารอินทรีย์อุดมสมบูรณ์มากกว่าน้ำที่อยู่ห่างชายฝั่งออกไป และพบว่าพืชที่มีระบบท่อลำเลียง เช่น สาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล จัดเป็นแหล่งที่อยู่ที่สำคัญของทรอสโทโคไตรดส์ (Alexopoulos, 1996) ซึ่งการแพร่กระจายของทรอสโทโคไตรดส์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามแหล่งที่อยู่อาศัย (Bremer, 2000) และบางชนิดเป็นปรสิตของหอย หมึก และฟองน้ำ (Alderman & Jones, 1971; Porter, 1989)

### ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (Mangrove Forest) เป็นกลุ่มสังคมพืชที่ขึ้นอยู่ตามแนวชายฝั่งที่มีลักษณะดินเป็นดินเลน และมีน้ำทะเลท่วมถึงสม่ำเสมอ พบได้บริเวณปากแม่น้ำ ปากอ่าว ทะเลสาบ และบริเวณรอบเกาะต่างๆ ระบบนิเวศป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่เชื่อมโยงระหว่างบกกับทะเล เกิดเป็นระบบนิเวศที่มีลักษณะเฉพาะ สิ่งมีชีวิตที่พบบนบกจากพันธุ์ไม้ป่าชายเลนชนิดต่างๆ เช่น โกงกาง แสม ลำพู เป็นต้น ยังมีสิ่งมีชีวิตอื่นอาศัยร่วมเป็นจำนวนมาก เช่น จุลินทรีย์ สาหร่าย แพลงก์ตอน เป็นต้น ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ป่าชายเลนอุดมสมบูรณ์ เนื่องจากมีความหลากหลายของถิ่นที่อยู่และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของซากพืชซากสัตว์ เศษใบไม้ร่วงหล่นกลายเป็นแหล่งอาหารปฐมภูมิสำหรับผู้บริโภคชั้นต้นในห่วงโซ่อาหารของป่าชายเลน (ศิริลักษณ์ ช่วยพจน์, 2543) ป่าชายเลนของประเทศไทยมีอยู่กระจุกกระจายตามชายฝั่งทะเลภาคใต้ ภาคกลางและภาคตะวันออก

ลักษณะสังคมพืชชนิดนี้จึงมีอิทธิพลของการขึ้นลงของน้ำเป็นปัจจัยควบคุมที่สำคัญที่มีผลต่อเนื่องไปถึงปัจจัยอื่น ๆ โดยเฉพาะความเค็มของน้ำ ซึ่งพบว่าความเค็มของน้ำบริเวณปากแม่น้ำมีความแปรผันอย่างมาก ซึ่งน้ำบริเวณปากแม่น้ำนั้นเกิดจากการผสมกันระหว่างน้ำจืดจากแม่น้ำและน้ำเค็มจากทะเล จึงทำให้มีปริมาณแร่ธาตุและสารอาหารต่าง ๆ มารวมกันมากมาย ในประเทศไทยป่าชายเลนจะพบเห็นได้ตามบริเวณชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ และบริเวณรอบเกาะ ซึ่งเป็นพื้นที่ที่น้ำทะเลท่วมถึง (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

การกระจายของพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนมีความแตกต่างจากพันธุ์ไม้ในป่าบกอย่างชัดเจนเนื่องจากป่าชายเลนมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ การขึ้นลงของน้ำทะเล การท่วมถึงของน้ำทะเลแต่ละพื้นที่ ลักษณะของดิน คุณภาพน้ำความเค็ม เป็นต้น (สนิท อักษรแก้ว, 2541; ญินฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์และคณะ, 2546)

พืชที่อาศัยอยู่ในป่าชายเลนล้วนแต่เป็นผู้ผลิตขั้นต้นในระบบนิเวศทางทะเล จากส่วนของใบที่ร่วงหล่นทับถมกัน การย่อยสลายเศษซากอินทรีย์วัตถุของแบคทีเรียและราถือว่ามีค่าสำคัญในการเพิ่มธาตุอาหารต่อระบบอย่างมาก (Sharma & Vittal, 2000) ทรอสโทโคตริคส์มีหน้าที่เป็นผู้ย่อยซากพืช ซากสัตว์ ซึ่งมีบทบาทอย่างมากในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากการย่อยสลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ซึ่งพบว่าทรอสโทโคตริคส์เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลาย ก่อนที่จะมีการย่อยสลายจากจุลินทรีย์กลุ่มอื่น (Raghukumar, 1988; Chilton, 1995) และ Ulken (1981b) รายงานการพบเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลสและโพลีกลาแลคทูโอเนส ที่ *Schizochytrium mangrovei* ใช้ในการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังการย่อยสลายทรอสโทโคตริคส์จะปลดปล่อยธาตุอาหารในรูปสารอินทรีย์คีนสู่ระบบและตัวทรอสโทโคตริคส์เองยังเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นในบริเวณนั้นอีกด้วย (Honda, 2001)

### กรดไขมัน (fatty acids)

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) ที่มีหมู่  $-COOH$  เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอม เป็นจำนวนคู่ ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid)

#### การเรียกชื่อกรดไขมัน

1. กรดไขมันอิ่มตัว เป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ การเรียกชื่อจึงเรียกตามการเพิ่มจำนวนคาร์บอนเข้าไปครั้งละ 2 อะตอม เช่น myristic acid (14:0), palmitic acid (16:0) และ stearic acid (18:0) เป็นต้น

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน มีวิธีในการนับตำแหน่งดังนี้

## การจำแนกประเภทของกรดไขมันแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. **กรดไขมันชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid)** เป็นกรดไขมันที่มีเพียงพันธะเดี่ยว มีโมเลกุลโซ่คาร์บอนสั้น เนื่องจากไม่มีพันธะคู่ (double bond) จึงทำให้มีจุดหลอมเหลวสูง (มากกว่า 60 องศาเซลเซียส) ส่วนใหญ่จะพบในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชบางชนิด โดยเฉพาะน้ำมันมะพร้าวและน้ำมันปาล์ม (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542) ซึ่งมีสภาพเป็นไขหรือแข็งตัวเมื่ออุณหภูมิต่ำ

2. **กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)** เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมอยู่ด้วย โดยมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 1-6 คู่ และโซ่คาร์บอนยาว 18-22 คาร์บอน กรดไขมันกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลและตำแหน่งของพันธะคู่ (อัคนิธย์ อิทธิภา, 2541) กรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่มคือ

2.1 **กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid)** ซึ่งมีพันธะคู่ 1 คู่ ที่สำคัญและพบมากมี 2 ชนิดคือ 16:1n-7 (palmitoleic acid) และ 18:1n-9 (oleic acid) พบได้ในไขมันแทบทุกชนิด

2.2 **กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid)** ซึ่งมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 คู่ขึ้นไป นอกจากนี้กรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 คาร์บอนอะตอมขึ้นไปเรียกว่า polyunsaturated fatty acid (PUFA) โดยทั่วไปจะใช้เรียกรวมกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-3 ดังนั้น โอเมก้า-3 HUFA จึงประกอบไปด้วย 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 กรดไขมันในกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ และจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นกับจำนวนของคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล และตำแหน่งของพันธะคู่ (สุพิศ ทองรอด, 2535)

โดยทั่วไปแล้วกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง และบางชนิดยังคงเป็นของเหลวที่จุดเยือกแข็ง เช่น กรดไลโนลินิก (18:3n-3) กรดไขมันไม่อิ่มตัวมักพบทั้งในน้ำมันจากพืช (ยกเว้นน้ำมันมะพร้าว) เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำ เป็นต้น และน้ำมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันตับปลา และที่นิยมนำมาสกัดกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 มากที่สุดคือ น้ำมันปลา

สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ตามตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่คือ

1. **กลุ่มกรดโอเลอิก (oleic acid series)** หรือกลุ่มโอเมก้า-9 (n-9 หรือ  $\omega$ -9) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดโอเลอิก (18:1n-9) ซึ่งนิยมนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันอื่น ๆ เช่น 18:2n-9, 20:1n-9 (gadoleic acid) และ 20:2n-9 โดยทั่วไปพบมากในสัตว์บก เช่น น้ำมันหมู (lard oil) และน้ำมันวัว (beef tallow oil) เป็นต้น

2. **กลุ่มไลโนลินิก (linoleic acid series)** หรือกลุ่มโอเมก้า-6 (n-6 หรือ  $\omega$ -6) กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลินิก (18:2n-6) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:3n-6 ( $\gamma$ -linolenic acid), 20:3n-6 (dihomo- $\gamma$ -linolenic acid) และ 20:4n-6 (arachidonic acid) เป็นต้น สัตว์น้ำมีความสามารถในการสังเคราะห์กรดไขมันแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ปลาน้ำจืดและปลาน้ำกร่อยบางชนิดสามารถสังเคราะห์ 18:2n-6 หรือสร้างกรดอะราคิโดนิก (20:4n-6) ได้ ในขณะที่ปลาทะเลต้องได้รับโดยตรงจากอาหารเท่านั้น (สุพิศ ทองรอด, 2535) โดยทั่วไปกรดไขมัน



กลุ่มนี้พบในน้ำมันพืชมากกว่าไขมันจากสัตว์ ซึ่งน้ำมันพืชส่วนใหญ่จะมีกรดไลโนลีนิกมากกว่ากรดไลโนลีนิก 87-99 เท่า (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542)

**3. กลุ่มไลโนลีนิก (linolenic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-3 (n-3 หรือ Ω-3)** กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลีนิก (18:3n-3) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:4n-3, 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 เป็นต้น

กรดไลโนลีนิกจะถูกใช้สังเคราะห์อีพีเอและดีเอชเอ ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ n-3 PUFA ซึ่งพบมากในพืชพืชน้ำ สาหร่าย และสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสัตว์ทะเล (marine oil) ได้แก่ น้ำมันปลา (fish oil) และน้ำมันตับปลา (fish liver oil) เป็นต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ (สุพิศ ทองรอด, 2535)

### ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

กรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย เนื่องจากร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นเองได้ จำเป็นต้องได้รับจากอาหาร ถ้าขาดไปอาจก่อให้เกิดโรคหรืออาการผิดปกติ (บุญล้อม ชิวะอิสระกุล, 2542) จึงเรียกได้ว่าเป็นกรดไขมันจำเป็น (essential fatty acid) สามารถพบได้ในไขมันจากพืชและสัตว์ในปริมาณที่แตกต่างกันไป

เออาร์เอ (ArA) มีบทบาทในการสร้างและการเก็บความจำระยะยาวของทารกซึ่งเป็นพื้นฐานของการเรียนรู้ ช่วยเพิ่มความไวของการรับแสงในส่วนเรตินาของลูกตา และความสามารถในการมองเห็น เนื่องจาก เออาร์เอคือกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ที่เป็นส่วนประกอบหลักของซินแนปส์ หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลล์ประสาท และมีบทบาทเป็นตัวนำข้อมูลตรงรอยต่อของซินแนปส์และภายในเซลล์ นอกจากนี้เออาร์เอ ยังช่วยเพิ่มความเร็วในการส่งสัญญาณประสาทระหว่างเซลล์ประสาทของทารกเพื่อนำข้อมูลมาเก็บไว้ในสมองซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการเรียนรู้และความจำในระยะยาว

อีพีเอ (EPA) อีพีเอเป็นคำที่ย่อมาจาก eicosapentaenoic acid (20:5n-3) เป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติ ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด และสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ จากสมมติฐานทางการแพทย์ของการเกิดโรคหัวใจจุดต้นพบว่าการเกิดลิ่มเลือด (thrombogenesis) เป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด กลไกในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดมีอยู่หลายประการโดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง 2 กลุ่มที่เกี่ยวข้องคือ กลุ่มโอเมก้า-6 และโอเมก้า-3 ซึ่งจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นของการสร้างไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันมาก แต่ไอโคซานอยด์ที่ได้จากกรดไขมันทั้งสองกลุ่มนี้มีหน้าที่ในทางตรงข้ามกัน เช่น การสร้าง thromboxanes A<sub>2</sub> จากอะราคิโดนิก ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งจะถูกยับยั้งด้วย thromboxanes A<sub>3</sub> ที่สร้างมาจากอีพีเอที่มีคุณสมบัติต้านการรวมตัวของเกล็ดเลือดบริเวณผนังหลอดเลือด (เดียนทิพย์ ปิยรัตน์, 2538) ทำให้สามารถลดความหนืดของเลือดลง และช่วยเพิ่มระดับของเลวโนเมมเบรน ดังภาพที่ 2.17 ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถพบได้ในน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ โดยทั้งปลาน้ำจืดและปลาทะเลต่างมีอีพีเอเป็นองค์ประกอบใน

ปริมาณสูง คิดเป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์ และ 8.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Hepher, 1988) ดังนั้นการบริโภคปลาเป็นประจำย่อมลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้

ดีเอชเอ (DHA) เป็นคำที่ย่อมาจาก docosahexaenoic acid (22:6 n-3) มีความสำคัญในร่างกายและมีผลโดยตรงต่อสุขภาพมนุษย์พบได้ที่บริเวณเรตินา ดีเอชเอมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับอีพีเอ โดยเป็นองค์ประกอบเรตินาของดวงตาและผนังเซลล์ทั่วร่างกาย ทำให้เซลล์มีความไวต่อการรับสัญญาณประสาทและที่สำคัญที่สุดคือเป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง (Bajpai *et al.*, 1991a) ดีเอชเอที่เข้าไปในสมองจะเสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เรียกว่าเดนไดรต์ (dendrite) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณและส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกัน ทำให้เกิดการเรียนรู้และความจำ และพบว่าในสมองของทารกในครรภ์มีดีเอชเอเป็นส่วนประกอบอยู่ครึ่งหนึ่งก่อนคลอด ส่วนที่เหลือได้รับจากอาหารในช่วงปีแรก ดังนั้นดีเอชเอจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อสตรีในระยะตั้งครรภ์ และมารดาในระยะให้นมบุตร เนื่องจากในน้ำนมมารดามีดีเอชเอในปริมาณสูง จึงเชื่อว่าดีเอชเอมีผลต่อการพัฒนาสมอง การมองเห็นและการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ในช่วงที่เป็นทารก (Barclay, 1992) นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเกิดโรคทางหัวใจและหลอดเลือด ช่วยบำบัดโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ และมีผลทำให้การตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปโดยปกติ (ประสงค์ เทียนบุญ, 2543; วรรณิพา วิเวโก, 2545) ดีเอชเอเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ประกอบด้วยคาร์บอน 22 อะตอม ภายในมีพันธะคู่ 6 พันธะ ซึ่งนิยมเขียนในรูป C22: 6 ร่างกายมนุษย์สามารถเปลี่ยนกรดลิโนลินิก ที่พบในผักสีเขียว น้ำมันพืช และเมล็ดพืช ให้เป็นดีเอชเอได้โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จาก 2 กระบวนการ คือ elongation โดยการเพิ่มอะตอมคาร์บอน 2 อะตอม ที่ acyl chain ภายในไมโตรคอนเดรียและเอนโดพลาสมิครีติคูลัม และกระบวนการ desaturation เป็นการเติมพันธะคู่ระหว่างพันธะคู่ที่มีอยู่ใน acyl chain กลไกการเกิดปฏิกิริยาจะถูกกระตุ้นโดย acyl-coA desaturases ( $\Delta^6$ ,  $\Delta^5$  และ  $\Delta^4$ ) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่อะตอมของกรดไขมันชนิดเดียวกัน แต่ในสภาวะร่างกายมีการสะสมกรดลิโนลินิกมาก (linoleic acid) กระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันดีเอชเอจะลดลง เนื่องจากกรดลิโนลินิกและกรดลิโนลินิกมีความต้องการเอนไซม์ชนิดเดียวกัน (Hunt, 2000) โดยปกติร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันดังกล่าวให้เพียงพอต่อความต้องการได้ ดังนั้นกรดไขมันดีเอชเอส่วนมากจึงได้รับมาจากอาหารที่มนุษย์บริโภคเข้าไปนั่นเอง

### แหล่งที่สำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

น้ำมันปลา (fish oil) อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า-3 ชนิดที่พบและมีความสำคัญคือ แอลฟา-ไลโนลินิก อีพีเอและดีเอชเอ ไขมันที่มีอยู่ในเนื้อปลาคือเป็นส่วนประกอบของเซลล์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเซลล์สมอง มีส่วนช่วยป้องกันการแข็งตัวของไขมันในเส้นเลือด เนื่องจากปลา มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า-3 สูง ทำให้ไขมันปลาแตกต่างจากไขมันสัตว์ชนิดอื่น ๆ คือ มีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำ มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของปลาคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ในน้ำแข็ง ปลาจึงสามารถย่อยและดูดซึมไขมันไปใช้ได้ จึงทำให้ปลาทะเลยังคงมีระดับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก จากการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณอีพีเอและดีเอชเอในปลาชนิดต่าง ๆ กัน พบว่า มีปริมาณอีพีเอและดีเอชเอระหว่าง 4-37 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (รัศมี ศุภศรี, 2536 อ้างอิงจาก

Kinesella, 1986) ถึงแม้ว่าปลาทะเลจะได้ชื่อว่าเป็นแหล่งสำคัญของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่ม โอเมก้า-3 แต่ปริมาณกรดไขมันภายในตัวปลาก็มีความแปรปรวนค่อนข้างสูง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ คือ ชนิดของปลา เพศ ฤดูกาล หรือแม้แต่แหล่งที่อยู่อาศัย ทั้งในธรรมชาติและการเพาะเลี้ยง (รัศมี ศุภศรี, 2536; Sargent *et al.*, 1999) รวมทั้ง กลิ่น รส และคุณภาพที่ลดลง เนื่องจากน้ำมันปลาถูกออกซิไดส์ได้ง่ายจึงทำให้ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

ต่อมาได้หันมาให้ความสนใจจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทโคทริดส์ เนื่องจากมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 โดยเฉพาะอีพีเอและดีเอชเอในปริมาณสูง โดยเฉพาะดีเอชเอมีปริมาณสูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด เช่น *Thraustochytrium aureum* สายพันธุ์ ATCC 34304 และ *Thraustochytrium aureum* ATCC 28211 สามารถผลิตดีเอชเอสูงถึง 47.4 และ 52.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ (Bajpai *et al.*, 1991a, 1991b, Bowles *et al.*, 1999) และ *Schizochytrium mangrovei* สายพันธุ์ KF5 และ KF6 มีปริมาณดีเอชเอ 41.1 และ 40.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ (Fan *et al.*, 2001)

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Karling (1981) รายงานว่า *Schizochytrium aggregatum* มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก แต่ยังพบปัญหาในการจัดจำแนก จึงทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกกว่าเป็นชนิดนี้ได้ ทำให้ในบางครั้งพบทรอสโทโคทริดส์ชนิดนี้ แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็น *Schizochytrium aggregatum*

Raghukumar (1988) พบทรอสโทโคทริดส์ชนิดใหม่คือ *S. mangrovei* จากใบไม้ป่าชายเลนที่กำลังย่อยสลายจากป่าชายเลน Goa ในประเทศอินเดีย พบว่ามีแตกต่างจาก *Schizochytrium* ชนิดอื่น คือหลังจากเซลล์มีการแบ่งตัวแบบ binary division แต่ละเซลล์จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์ ในขณะที่ *S. minutum*, *S. octosprum* และ *S. aggregatum* หลังจากแบ่งเซลล์พบว่าแต่ละเซลล์จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมและผลิตซูโอสปอร์ 2 – 64 ซูโอสปอร์

Ranghukumar (1992) แยก *Thraustochytrium striatum* และ *Schizochytrium mangrovei* จากใบโกงกางใบเล็กที่ร่วงหล่นบริเวณปากแม่น้ำ บนเกาะ Charoa ประเทศอินเดีย ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าทรอสโทโคทริดส์ถูกคัดแยกได้ง่าย โดยนำมาเลี้ยงในสภาวะปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการและพบว่าเมื่อเลี้ยง *T. striatum* และ *S. mangrovei* ร่วมกับแบคทีเรีย เชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้สร้างอะมิบอยด์เซลล์เคลื่อนที่โดยใช้เท้าเทียม (pseudopodia) และกินแบคทีเรียเป็นอาหาร ซึ่งลักษณะเด่นนี้สอดคล้องกับโปรโตซัวอีกหลายชนิด

Honda *et al.* (1998) คัดแยก *Schizochytrium limacinum* nov. จากน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลน Yap Islands มหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก โดยนำตัวอย่างน้ำที่ได้มารองผ่านกระดาษกรอง (0.4 ไมโครเมตร) แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ เปปโทน 1 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 0.5 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH เป็น 4-4.2 โดยเติมกรดแลคติกหลังจากที่นิ่งฆ่าเชื้อในอาหารด้วยแรงดันไอน้ำแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน *Schizochytrium limacinum* nov. ที่พบนั้นมีความใกล้เคียงกับ *Schizochytrium aggregatum* แต่ต่างจาก *Schizochytrium* ชนิดอื่นที่มีอะมิบอยด์เซลล์ที่กลิ้งตัวได้ (gliding) ขนาดของซูโอสปอร์

การปล่อยซูโอสปอร์ที่ไม่มีการสร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อน และความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ เป็นข้อบ่งชี้สำหรับการเจริญ

Bowles *et al.* (1998) เก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินและใบไม้ป่าชายเลน จาก 3 เขต คือ กิ่งเขตร้อน เขตอบอุ่นและเขตหนาว พบทรอสโทโคตริดส์ทั้งหมด 57 สายพันธุ์ จากทุกเขตที่ทำการศึกษามีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอที่พบอยู่ในช่วง 13.7 - 35.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

Leano (2001) เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิดจากป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ พบทรอสโทโคตริดส์ 85-100% จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา โดยชนิดทรอสโทโคตริดส์ที่พบสูงสุดคือ *S. mangrovei* (40-100% จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบ *Thraustochytrium* sp. แต่คัดแยกได้เฉพาะจากใบตะบูนขาวและโกงกางใบเล็ก

Fan and Jones (2002) พบทรอสโทโคตริดส์ 8 สายพันธุ์ คือ *Schizochytrium* sp. KF-1, *S. mangrovei* KF-12, KF-7, KF-12, *T. striatum* KF-9 และ *Ulkenia* KF-19 จากตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ประเทศฮ่องกง นอกจากนี้ Fan, Chan, Jones, Vrijmoed (2000a) ได้มีการทดลองการตอบสนองทางเคมีของซูโอสปอร์ทรอสโทโคตริดส์ที่แยกได้จากป่าชายเลนประเทศฮ่องกง พบว่าซูโอสปอร์มีการตอบสนองสารสกัดที่ได้จากใบไม้ของพืชป่าชายเลนมากที่สุด โดยเฉพาะใบพืชที่เริ่มแก่ รองลงมาคือเป้ง และกรดอะมิโน ตามลำดับ

Leano (2002) พบว่ากลุ่ม Straminipilous เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังจากที่ย่อยลงน้ำและพบว่ามีความสัมพันธ์ทุกช่วงของการย่อยสลายใบไม้ (Bremer, 1995) เนื่องจากทรอสโทโคตริดส์ทนทานต่อสารฟีนอลิกที่ใบไม้ป่าชายเลนขับออกมาช่วงการย่อยสลายและมีรายงานพบว่าทรอสโทโคตริดส์สามารถผลิตเอนไซม์ เซลลูเลส โพลีกลูโคส และ อะไมเลส ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในใบไม้ป่าชายเลน (Raghukumar *et al.*, 1994) และ *S. mangrovei* เป็นทรอสโทโคตริดส์ชนิดที่พบมากที่สุดจากป่าชายเลนทั้งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน (Leano, 2002)

Huang *et al.* (2003) จำแนกทรอสโทโคตริดส์ 7 ไอโซเลทที่สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิด docosahexaenoic acid (DHA, C22:6, n-3) ที่คัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศญี่ปุ่นและประเทศฟิจิ โดยการวิเคราะห์แบบแผนของชนิดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (C20-22 PUFA) ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA พบว่าการจัดจำแนกด้วยวิธีทั้งสองให้ผลที่สอดคล้องกัน

นอกจากงานวิจัยเกี่ยวกับการคัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากลักษณะสัณฐานวิทยาแล้วยังมีการจัดจำแนกทรอสโทโคตริดส์โดยการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA Daiske *et al.* (1999) จัดจำแนกทรอสโทโคตริดส์และลาบิลินทูลิดส์ 14 สปีชีส์ ซึ่งเป็นสมาชิกใน 6 สกุล โดยการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA และนำข้อมูลดังกล่าวมาศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าสามารถแบ่งจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาออกเป็น 2 กลุ่ม คือ labyrinthulids phylogenetic group และ thraustochytrids phylogenetic group ซึ่งผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงความขัดแย้งของผลการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีทางด้านอนุพันธุศาสตร์

Wong *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาความอุดมสมบูรณ์ของทรอสโทโคตริดส์ที่พบจากใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*) ที่มีลักษณะเน่าเปื่อยและดินตะกอนบริเวณป่าชายเลน โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนเมษายน มิถุนายน ตุลาคม 2004 และกุมภาพันธ์ 2005 จากการศึกษาพบว่าความอุดมสมบูรณ์ของทรอสโทโคตริดส์ที่ได้จากใบไม้ป่าชายเลนเท่ากับ  $4.8 \times 10^3 - 5.6 \times 10^5$  CFU g<sup>-1</sup> โดยมีค่าสูงกว่าในดินตะกอนบริเวณป่าชายเลนที่มีค่าเท่ากับ  $1.0 \times 10^2 - 1.6 \times 10^3$  CFU g<sup>-1</sup> และพบสูงสุดในเดือนตุลาคม ( $5.6 \times 10^5$  CFU g<sup>-1</sup>)

Perveen, Ando, Ueno, Ito, Yamamoto, Yamada, Takagi, Kaneko, Kogame and Okuyama (2006) คัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากป่าชายเลนที่โอกินาวา ประเทศญี่ปุ่น แล้วนำสายพันธุ์ 12B มาเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีกลูโคส อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณไขมัน 58 % กรดไขมันชนิดดีเอชเอ 43 % ของกรดไขมันทั้งหมด โดยมีอัตราการเจริญ 0.38 /ชั่วโมง อัตราผลผลิตดีเอชเอ  $2.8 \pm 0.7$  กรัม/ลิตร/วัน

จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จากพันธุ์ไม้ป่าชายเลน 5 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 2 สกุล แบ่งเป็น 4 ชนิด จากทั้งหมด 893 ไอโซเลท ใบไม้สีน้ำตาลพบทรอสโทโคตริดส์ 79% สูงกว่าใบไม้สีเหลือง 49.28% เดือนพฤศจิกายนพบทรอสโทโคตริดส์สูงสุด 69.54% (334 ไอโซเลท) รองลงมาคือกรกฎาคม 64.50% (318 ไอโซเลท) และมีนาคมพบน้อยที่สุด 60% (241 ไอโซเลท)

มยุรา ประยูรพันธ์ และคณะ (2551) คัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอมือเมือง จังหวัดสมุทรปราการ จากพันธุ์ไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 184 ไอโซเลท โดยตัวอย่างโกงกางใบเล็ก และพังกาหัวสุมดอกแดง เป็นพันธุ์ไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์พบสูงสุด คือ 75% ขณะที่ปอทะเลพบทรอสโทโคตริดส์ต่ำสุด 15% และจากการศึกษาพบทรอสโทโคตริดส์ 1 สกุล 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei* (41.44%), *Schizochytrium limacinum* (10%) และ *Schizochytrium* sp.8 (1.11%) โดย *S. mangrovei* เป็นชนิดที่พบสูงสุด และพบดีเอชเอมีปริมาณสูง (15.41-180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 8.79-48.60 %กรดไขมันทั้งหมด) ชนิดอีพีเอ (0.25-7.42 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.15-6.17 %กรดไขมันทั้งหมด) และเออาร์เอ (0.16-3.85 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.09-3.94 %กรดไขมันทั้งหมด)

Arafiles (2011) ศึกษาทรอสโทโคตริดส์ 2 ไอโซเลท ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในบริเวณป่าชายเลน เมือง Subic bay ประเทศฟิลิปปินส์ เพื่อนำมาจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา การสร้างและการปล่อยซูโอสปอร์ สามารถจัดจำแนกได้เป็นทรอสโทโคตริดส์สายพันธุ์ sp. SB04 และ *Schizochytrium* sp. SB11 จากการศึกษา Extracellular enzyme แสดงให้เห็นว่า ทั้ง 2 สายพันธุ์ ผลิตเอนไซม์ไลเปสชนิดเดียว เมื่อทำการวิเคราะห์กรดไขมัน พบว่า *Thraustochytrium* sp. ผลิตกรดไขมันชนิดโอเลอิก (18:1) ซึ่งเป็น Monounsaturated fatty acid. (MUFA) ที่ผลิตได้มากถึง 71% ของกรดไขมันทั้งหมด ส่วน *Schizochytrium* sp. สามารถผลิต DHA ได้ในปริมาณที่สูงถึง 22.5% ของกรดไขมันทั้งหมด

### บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

การคัดแยกและจำแนกเชื้อทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนด้วย  
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

#### อุปกรณ์เก็บตัวอย่างภาคสนาม

1. เครื่องมือวัดปริมาณออกซิเจน (DO meter) JANWAY
2. เครื่องมือในการวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) HORIBA
3. เครื่องมือวัดความเค็ม (Refractometer) ATAGO S/ MILL - E
4. เทอร์โมมิเตอร์
5. ถุงพลาสติก
6. กระดาษจดบันทึก ปากกา

#### อุปกรณ์และสารเคมีห้องปฏิบัติการ

##### สารเคมี

1. กลูโคส (glucose) HIMEDIA
2. ยีสต์ สกัด (yeast extract) HIMEDIA
3. เปปโตน (peptone)
4. ฐัน (agar) CHEMIKIT
5. น้ำทะเลเทียม (Q - SEA)
6. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic)
  - 6.1 เพนนิซิลิน จี (penicillin G) (M&H Manufacturing Co.,Ltd.)
  - 6.2 สเตรมัยซิน ซัลเฟต (streptomycin Sulfate) (M&H Manufacturing Co.,Ltd.)
7. สารละลาย พีบีเอส (PBS)
  - 7.1 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) UNIVAR
  - 7.2 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ ) UNIVAR
  - 7.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ ) UNIVAR
8. เมทานอล (methanol) UNIVAR
9. เฮกเซน (hexanes) FISHER SCIENTIFICRCK
10. กรดซัลฟิวริก ( $H_2SO_2$ ) MARCK
11. โซเดียมซัลเฟต ( $NaSO_4$ ) UNIVAR
12. กรดไขมันมาตรฐาน 19 : 0 nonadecanoic acid (Internal standard) FLUKA

## อุปกรณ์

1. ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow) UNIFLOW UVUB 1200 BIOHAZARA
2. ตู้บ่มเชื้อ (incubator) PUFFER HUBBARD IRI 1930 A14
3. เครื่องเขย่า ( incubator shaker) GALLENKAMP
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (refrigerated centrifuge) SANYO HARRIER 18/80
5. เครื่องอบแห้งระบบทำความเย็น (freeze dryer) FALEXI – DRY™ MP
6. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) HEWLETT PACKARD/ HP 6890 SERIES
7. เครื่องให้ความร้อน (hot plate) FRAMO-GERATETECHNIK M21/1
8. หม้อนึ่งความดันสูง (autoclave) TOMY SS-325
9. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง METTELER TOLEDO AG-285
10. เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) GENESYS 20
11. อ่างปรับอุณหภูมิ (water bath) HETRO SBD 50
12. ตู้ทำความเย็นอุณหภูมิต่ำ – 80 องศาเซลเซียส (deep freezer) SANYO
13. กล้องจุลทรรศน์ NIKON
14. เครื่องดูดความชื้น (desiccator)
15. แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar)
16. จานเพาะเชื้อ บีกเกอร์ ปีเปต เข็มเขี่ยเชื้อ ขวดรูปชมพู่

## สถานที่ตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วนหล่นบริเวณป่าชายเลน 3 สถานี (ภาพที่ 3.1 และ 3.2) ได้แก่

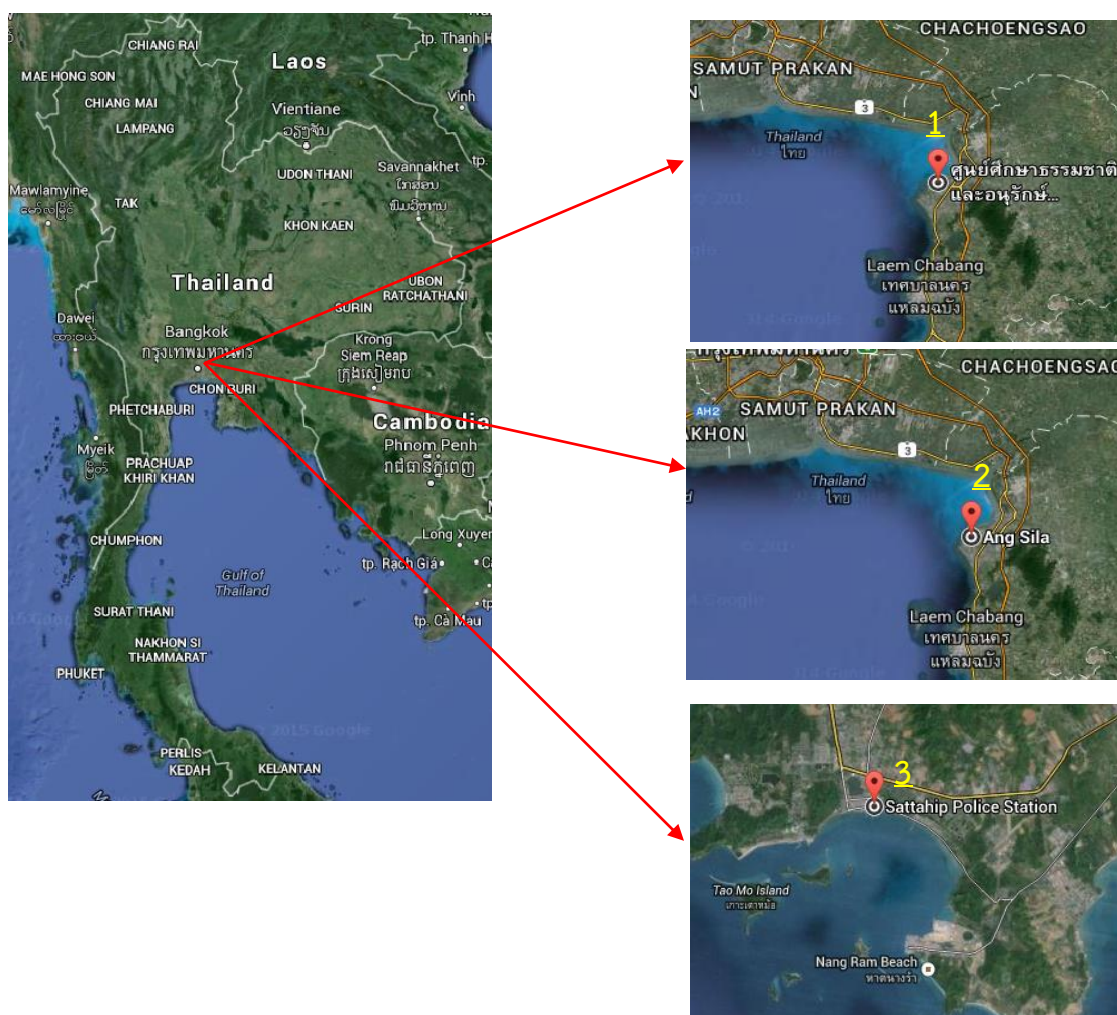
1. สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติ และอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี
2. สถานีที่ 2 ป่าชายเลน ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี
3. สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

## วิธีการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด โดยสุ่มเก็บใบไม้สีเหลืองน้ำตาลที่ร่วนหล่นชนิดละ 20 ใบ เก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 2 ครั้ง (เดือนมีนาคม 2557 เดือนพฤษภาคม 2557 และเดือนสิงหาคม เดือนกันยายน 2557) และวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดค่าปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	อุปกรณ์
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	เครื่องวัดออกซิเจน (DO meter)
ความเป็นกรด - เบส	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer)
ความเค็ม (psu)	เครื่องวัดความเค็ม (refractometer)



ภาพที่ 3.1 สถานที่เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน

สถานที่ที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

สถานที่ที่ 2 ป่าชายเลน ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

สถานที่ที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

(<http://www.googleearth.com>)

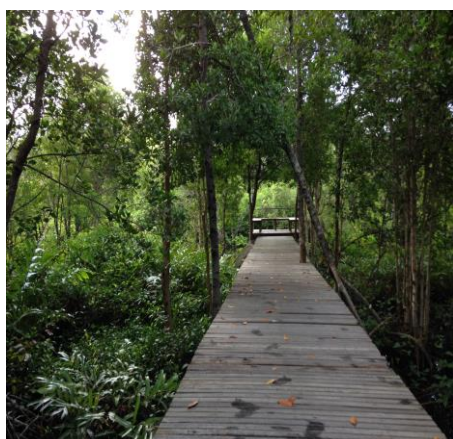




สถานที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติ และอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี



สถานที่ 2 ป่าชายเลน คลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี



สถานที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

ภาพที่ 3.2 สถานที่เก็บตัวอย่าง

### การทดลองในห้องปฏิบัติการ

1. เตรียมอาหารแข็งกลูโคส: ยีสต์สกัด (GY) ให้ได้ความเข้มข้น 1:1
  2. การคัดแยกทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ป่าชายเลน
    - 2.1 นำตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนแต่ละใบล้างด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน) ประมาณ 2-3 ครั้ง
    - 2.2 นำใบไม้ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำตัวอย่างใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทะเลปราศจากเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะ ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง
    - 2.3 นำตัวอย่างจากข้อ 2.2 จำนวน 9 ชิ้น มาปอกลงในอาหารแข็ง GY เติมน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปักใบไม้ทั้งหมด 3 เฟลท ๆ ละ 3 ชิ้น บ่มที่อุณหภูมิห้อง 27 - 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน
    - 2.4 ตรวจสอบเชื้อทรอสโทโคตริคัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และคัดแยกเชื้อจนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ (pure culture)
    - 2.5 เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร GY ผิวน้ำที่เติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน) ประมาณ 10 มิลลิลิตร และเติมยาปฏิชีวนะให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บในตู้บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อทุก ๆ 2 เดือน
  3. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริคัส (Frequency of Occurrence (%)) ของตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษ
 
$$\text{เปอร์เซ็นต์การพบ} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)}}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}} \times 100$$
  4. จัดจำแนกชนิดทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ การสร้างซูโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ ลักษณะของซูโอสปอร์แรงเจียม การปล่อยซูโอสปอร์และลักษณะโคโลนี
  5. คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับจันัสแสดงดังภาพที่ 3-3 (Honda, 2001; Goldstein & Belsky, 1964; Hunt, 2000; Alderman & Jones, 1971; Porter, 1989; Leander & Porter, 2000; Watson & Raper, 1957; Yokoyama et al., 2007a และ Yokoyama and Honda, 2007b)
- สำหรับการเรียกชื่อเชื้อทรอสโทโคตริคัสในการวิจัยนี้ มีหลักการตั้งชื่อดังนี้
1. ชื่อวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วย จันัส และชนิด เช่น *Aurantiochytrium mangrovei*
  2. ชื่อย่อของมหาวิทยาลัยบูรพา เช่น BU (Burapha University)
  3. ชื่อย่อจังหวัดที่คัดแยกเชื้อ ได้แก่ Cs (Chachoengsao Province)
  4. ชื่อย่อต้นไม้อป่าชายเลนเช่น RA (*Rhizophora apiculata*, ต้นโกงกางใบเล็ก)
  5. หมายเลขใบไม้ป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่าง เช่น 02 หมายถึง ใบที่ 2
  6. ช้ำที่คัดแยกเชื้อได้ เช่น 1 หมายถึง ช้ำที่ 1
- ตัวอย่างเช่น *Aurantiochytrium mangrovei* BUCSRA 021

1. เซลล์ปกติ (vegetative cells) รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวยและคืบคลานภายในเส้นใย เอคโตพลาสซึม.....	Family Labyrinthulaceae Single genus: <i>Labyrinthula</i>
1. เซลล์ปกติรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมและไม่อยู่ในเส้นใยเอคโตพลาสซึม.....	Family Thraustochytriaceae
2. เซลล์ปกติใช้เวลานานจึงจะเคลื่อนที่ (migrate) และสร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา (aplanospores).....	<i>Aplanochytrium</i>
2. เซลล์ปกติถ้ามีการเคลื่อนที่จะเคลื่อนที่ตั้งแต่แรก .....	ข้อ 3
3. เซลล์ปกติไม่มีเส้นใยเอคโตพลาสซึม.....	<i>Althonia</i>
3. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสซึม.....	ข้อ 4
4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสซึมที่มีลักษณะบวมพอง (apophysis) .....	<i>Japonochytrium</i>
4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสซึมที่ไม่บวมพอง (apophysis).....	ข้อ 5
5. เซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division.....	ข้อ 6
5. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยวๆ หรืออะมิบอยด์เซลล์ .....	ข้อ 8
6. โคลนีนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอคโตพลาสซึมไม่ค่อยพัฒนา.....	<i>Aurantiochytrium</i>
6. โคลนีนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอคโตพลาสซึมพัฒนาดี.....	ข้อ 7
7. ซูโอสปอร์รูปร่างรี และสร้างแคนธักแซนธิน (canthaxanthin) และ เบต้าแคโรทีน (B -carotene) .....	<i>Oblongichytrium</i>
7. ซูโอสปอร์รูปร่างกลม และสร้างเพียงเบต้าแคโรทีน (B -carotene) .....	<i>Schizochytrium</i>
8. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยวๆ.....	<i>Thraustochytrium</i>
8. เซลล์พัฒนาเป็นอะมิบอยด์เซลล์.....	ข้อ 9
9. โคลนีนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอคโตพลาสซึมไม่ค่อยพัฒนา.....	ข้อ 10
9. โคลนีนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอคโตพลาสซึมพัฒนาดี.....	ข้อ 11
10. ซูโอสปอร์ถูกสร้างด้วยวิธีการการบิดตัว (pinching) และดึงตัว (pulling).....	<i>Sicyoidochytrium</i>
10. ซูโอสปอร์ไม่ได้ถูกสร้างโดยการบิด (pinching) และดึงตัว (pulling).....	<i>Ulkenia</i>
11. ยังคงเหลือผนังเซลล์ หลังจากปล่อย อะมิบอยด์เซลล์.....	<i>Parietichytrium</i>
11. ผนังเซลล์สลายหมด หลังจากที่ปล่อยอะมิบอยด์เซลล์แล้ว.....	<i>Botryochytrium</i>

ภาพที่ 3.3 คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับครอบครัวและจีนัสของทรอสโทโคตริคัสอันดับ

Labyrinthulales คลาส Labyrinthulomycetes (Yokoyama *et al.*, 2007a)

### การวิเคราะห์กรดไขมัน (ดัดแปลงจาก Shimizu *et al.*, 1988)

- 4.1 ชั่งตัวอย่างเซลล์ของทออสโทโคทริคส์ประมาณ 0.1-0.2 กรัมน้ำหนักแห้ง ใส่ในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิดขนาด 20 มิลลิลิตร
- 4.2 เติม 2 % ซัลฟูริก ( $H_2SO_4$ ) ในเมทานอล (methanol) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Internal standard 200 ไมโครลิตร ผ่านด้วยก๊าซไนโตรเจน แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง
- 4.3 ทิ้งให้เย็นเติมเฮกเซน (ที่มี 10 ppm BHT) 1.5 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งให้แยกชั้น
- 4.4 ดูดของเหลวที่อยู่ชั้นบน ใส่ในหลอดทดลองกรองผ่านสารโซเดียมซัลเฟต ( $Na_2SO_4$ ) เพื่อดูดความชื้นออก
- 4.5 ของเหลวที่ได้ใส่ในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิดและผ่านด้วยก๊าซไนโตรเจนจนแห้ง เก็บใส่ตู้เย็น เพื่อรอการวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี
- 4.6 นำตัวอย่างจากข้อ 7.5 เติมเฮกเซน 200 ไมโครลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี
- 4.7 คำนวณหาปริมาณกรดไขมัน โดยเปรียบเทียบกับกรดไขมันมาตรฐาน (standard fatty acid)

สถานะเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ใช้ Flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ และคอลัมน์ ใช้ Capillary column HP-INNOWax polyethylene glycol (30 m x 250  $\mu$ m x 0.25  $\mu$ m) อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 175 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 10 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้น 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที (ใช้ระยะเวลาทั้งหมด 16.50 นาที) โดยใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สพา ส่วนอุณหภูมิของ Injector และ Detector คือ 250 องศาเซลเซียส

## บทที่ 4 ผลการวิจัย

### 1. การคัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน 3 แห่ง ได้แก่ สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และสถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี ได้ผลดังนี้

#### 1. ชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน

ชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่างใบไม้ทั้ง 3 แห่ง ได้ผลดังตารางที่ 4.1 โดยสถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี เก็บตัวอย่างจำนวน 6 ชนิด สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง จำนวน 7 ชนิด และสถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จำนวน 10 ชนิด

ตารางที่ 4.1 พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่นำมาคัดแยกทรอสโทโคตริดส์

พันธุ์ไม้ป่าชายเลน (ชื่อวิทยาศาสตร์, อักษรย่อ)	สถานีที่ 1	สถานีที่ 2	สถานีที่ 3
โกก่างใบเล็ก ( <i>Rhizophora apiculata</i> , RA)	X	X	X
โกก่างใบใหญ่ ( <i>Rhizophora mucronata</i> , RM)	X	X	X
ปอทะเล ( <i>Hibiscus tiliaceus</i> L., HT)			X
โปรงขาว ( <i>Ceriops decandra</i> , CD)			X
ฝาดดอกขาว ( <i>Lumnitzera racemosa</i> , LR)			X
โพทะเล ( <i>Thespesia populnea</i> , TP)	X	X	X
ลำพู ( <i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl., SC)		X	
แสมขาว ( <i>Avicennia alba</i> , AA)	X	X	X
แสมดำ ( <i>Avicennia officinalis</i> , AO)	X	X	
แสมทะเล ( <i>Avicennia marina</i> , AM)	X	X	X

หมายเหตุ สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี  
สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี  
สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

คุณภาพน้ำบางประการในบริเวณป่าชายเลน พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 1.99-2.46 มิลลิกรัม/ลิตร ความเป็นกรด-เบส มีค่าอยู่ในช่วง 7.35- 8.82 อุณหภูมิมีค่าอยู่ในช่วง 24.9-30.0 องศาเซลเซียส และความเค็มมีค่าอยู่ในช่วง 12-15 พีเอสยู

## 2. การจัดจำแนกชนิดทรอสโทโคตริคัสโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทรอสโทโคตริคัสพบทั้งหมด 715 ไอโซเลท เมื่อนำมาจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบทั้งสิ้น 10 ชนิดคือ

1. *Aurantiochytrium mangrovei*
2. *Aurantiochytrium limacinum*
3. *Aurantiochytrium* sp.1
4. *Aurantiochytrium* sp.2
5. *Aurantiochytrium* sp.3
6. *Aurantiochytrium* sp.4
7. *Aurantiochytrium* sp.5
8. *Aurantiochytrium* sp.7
9. Unknown 1
10. Unknown 2

### 1. *Aurantiochytrium mangrovei*

โคโลนีสบนอาหารแข็งมีลักษณะค่อนข้างกลม ขอบโคโลนีไม่เรียบ สีขาวขุ่นทึบแสง และพบอะมิบอยด์เซลล์กระจายอยู่รอบโคโลนี เซลล์ในอาหารเหลวส่วนใหญ่พบทั้งที่เป็นกลุ่ม และเซลล์เดี่ยวๆ มีรูปร่างค่อนข้างกลมขนาด 5-15 ไมโครเมตร สปอร์แรงเจียมมีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division ได้ พบอะมิบอยด์เซลล์ ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างซูโอสปอร์ที่มีรูปร่างรี การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเคลื่อนที่ของซูโอสปอร์ภายในเซลล์แม่อย่างรวดเร็ว โดยตำแหน่งที่ปล่อยซูโอสปอร์มีเพียงตำแหน่งเดียวจากเซลล์แม่ แล้วจึงพัฒนาเป็น Vegetative Cell ต่อไป

### 2. *Aurantiochytrium limacinum*

โคโลนีสบนอาหารแข็งมีลักษณะค่อนข้างกลม ขอบโคโลนีไม่เรียบ สีขาวขุ่นทึบแสง มีอะมิบอยด์เซลล์บริเวณขอบโคโลนีคล้ายกับโคโลนีของ *A. mangrovei* แต่อะมิบอยด์เซลล์ของ *A. limacinum* สามารถสืบคลานออกจากขอบโคโลนีแม่เป็นบริเวณกว้าง ซึ่งเห็นได้ชัดเจนเมื่อโคโลนีมีอายุตั้งแต่ 5 วันเป็นต้นไป เซลล์ในอาหารเหลวส่วนมากมีการกระจายตัวเป็นเซลล์เดี่ยวๆ โดยมีการเกาะกลุ่มของเซลล์อยู่บ้าง Vegetative Cell รูปร่างค่อนข้างกลมมีขนาด 5-10 ไมโครเมตร พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division คล้ายกับ *A. mangrovei* แต่พบว่าในช่วง 12-30 ชั่วโมงแรก อะมิบอยด์เซลล์ของ *A. limacinum* มีจำนวนมากกว่า

### 3. *Aurantiochytrium* sp.1

โคโลนีสบนอาหารแข็งมีรูปร่างค่อนข้างกลมมน ขอบไม่เรียบ มีสีส้มอ่อนทึบแสง สีส้มเห็นได้ชัดมีอายุตั้งแต่ 5 วันเป็นต้นไป ส่วนเซลล์ในอาหารเหลวเกาะเป็นกลุ่มแน่นขนาดใหญ่ ไม่ค่อยพบเซลล์เดี่ยวๆ ลักษณะเซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม Vegetative Cell มีขนาด 5-10 ไมโครเมตร พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division

#### 4. *Aurantiochytrium* sp.2

โคโลนีบนอาหารแข็งมีลักษณะค่อนข้างนูน ขอบไม่เรียบ สีเหลืองอ่อนทึบแสง เซลล์ในอาหารเหลวค่อนข้างกลม ส่วนมากเกาะกลุ่มแน่นมีขนาดใหญ่ พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division โดยแบ่งเซลล์แบบต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ แล้วเซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมคล้ายกับ *Aurantiochytrium* sp.1 และพบเส้นใย Ectoplasmic Net ค่อนข้างชัดเจน

#### 5. *Aurantiochytrium* sp.3

โคโลนีบนอาหารแข็งมีผิวเรียบ ขอบเรียบ โค้งนูน สีขาวขุ่นทึบแสง เซลล์ในอาหารเหลวค่อนข้างกลมเกาะกลุ่มขนาดใหญ่มากกว่าเป็นเซลล์เดี่ยวๆ Vegetative Cell มีขนาด 5-15 ไมโครเมตร และพบอะมิบอยด์เซลล์

#### *Aurantiochytrium* sp.4

โคโลนีบนอาหารแข็งแบน ขอบไม่เรียบ สีขาวขุ่นทึบแสง พบอะมิบอยด์เซลล์กระจายบริเวณขอบโคโลนี เซลล์ในอาหารเหลวพบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เกาะกลุ่มบ้างแต่ไม่มาก ขนาดของ Vegetative Cell และซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาดใกล้เคียงกับ *A. mangrovei* และ *A. limacinum* พบอะมิบอยด์เซลล์ แบ่งเซลล์แบบ Binary Division

#### 7. *Aurantiochytrium* sp. 5

โคโลนีบนอาหารแข็งขอบไม่เรียบ นูน มีสีขาวใส ไม่พบอะมิบอยด์ ลักษณะเซลล์ในอาหารเหลวมีการเกาะกลุ่มแน่นขนาดใหญ่ โดยมีเซลล์เดี่ยวๆ ปะปนเล็กน้อย Vegetative Cell มีขนาด 5-20 ไมโครเมตร มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division

#### 8. *Aurantiochytrium* sp. 7

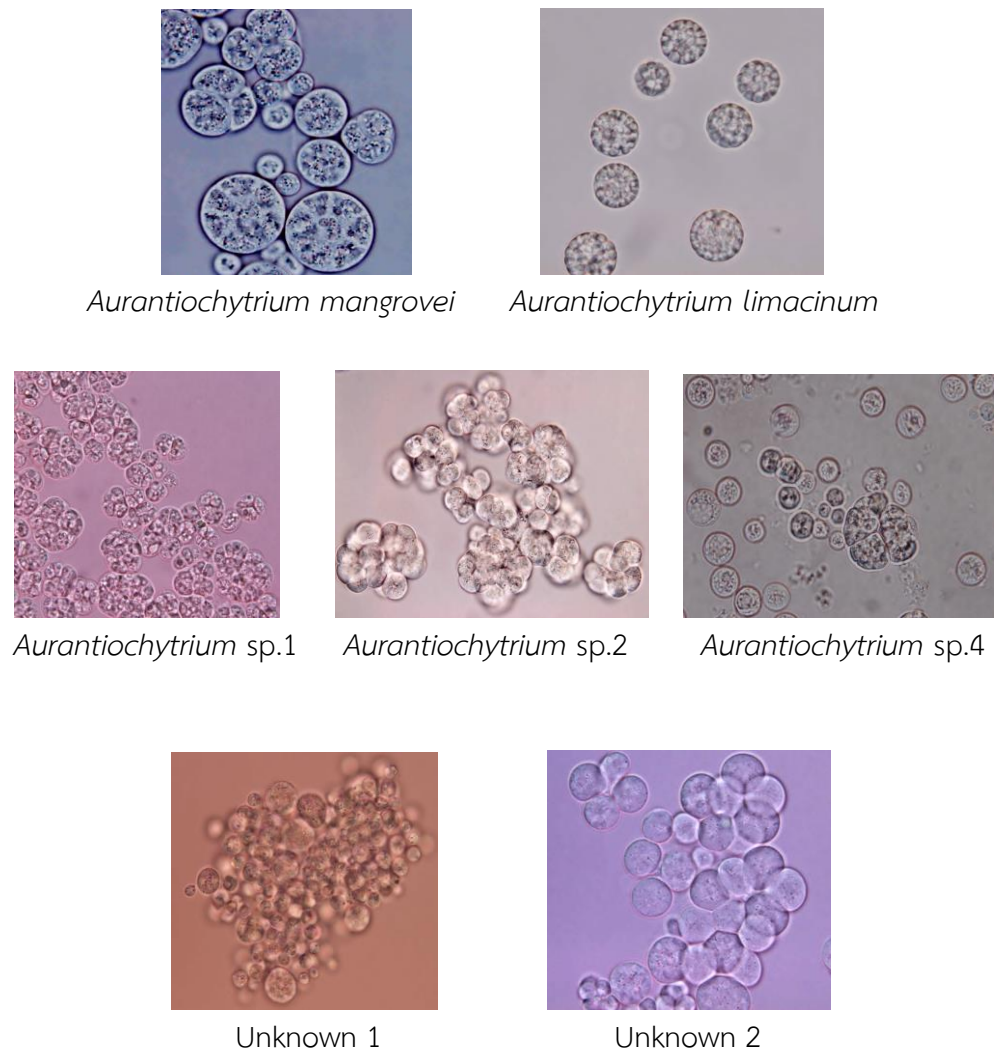
โคโลนีบนอาหารแข็งมีขอบเรียบ แบน สีขาวขุ่นทึบแสง พบอะมิบอยด์เซลล์บนอาหารแข็ง เซลล์ในอาหารเหลวมีลักษณะค่อนข้างกลม พบเซลล์เดี่ยวๆ มากกว่าอยู่เป็นกลุ่ม Vegetative Cell มีขนาด 5-15 ไมโครเมตร พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division

#### 9. Unknown 1

โคโลนีในอาหารแข็งค่อนข้างกลม นูน ขอบเรียบ สีส้มอ่อนขนาดเล็ก เซลล์ในอาหารเหลวมีรูปร่างค่อนข้างกลม ผนังเซลล์หนา มีการเกาะกลุ่มของเซลล์ขนาดเล็ก มีเซลล์เดี่ยวๆ กระจายอยู่ เซลล์มีขนาดค่อนข้างเล็กและเจริญช้า Vegetative Cell มีขนาด 3-8 ไมโครเมตร ซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาด 10-20 ไมโครเมตร พบอะมิบอยด์เซลล์

#### 10. Unknown 2

โคโลนีบนอาหารแข็งขอบไม่เรียบ สีขาวโปร่งแสง เซลล์ในอาหารเหลวมีรูปร่างค่อนข้างกลม ส่วนใหญ่เกาะกันเป็นกลุ่มมากกว่าเซลล์เดี่ยวๆ Vegetative Cell มีขนาด 4-10 ไมโครเมตร ซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาด 10-75 ไมโครเมตร ไม่พบอะมิบอยด์เซลล์



รูปที่ 4.1 ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytrids ที่เลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

### 3. ความหลากหลายและความชุกชุมของทรอสโทโคทริดส์ที่พบจากใบไม้ป่าชายเลน

จากการศึกษาพบทรอสโทโคทริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทุกชนิด โดยชนิดที่มีความโดดเด่นสูงสุดคือ *Aurantiochytrium mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุดทั้ง 3 สถานี รองลงมาคือ *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium sp.4*, Unknown 2, *Aurantiochytrium sp.5* *Aurantiochytrium sp.1*, *Aurantiochytrium sp.2*, *Aurantiochytrium sp.3*, *Aurantiochytrium sp.7* และ Unknown 1 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 ถึง 4.5) โดย *A. mangrovei* พบสูงสุดที่ใบแสมขาว (80%) *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบแสมดำ (35 %) ส่วน *Aurantiochytrium sp.4* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบใหญ่ (22.50 %) ดังภาพ ที่ 4.2 ถึง 4.5



ตารางที่ 4.2 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน  
สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

พันธุ์ไม้	ชื่อ Thraustochytrids ที่พบ	ฤดูแล้ง			ฤดูฝน			เปอร์เซ็นต์การพบ
		จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	เฉลี่ย
โกกางใบเล็ก ( <i>Rhizophora apiculata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	34	17	85	10	7	35	60.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	5	5	25	2	2	10	17.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	1	1	5	0	0	0	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	2	10	5.00
โกกางใบใหญ่ ( <i>Rhizophora mucronata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	24	15	75	19	13	65	70.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	6	5	25	5	4	20	22.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	9	9	45	22.50
โพทะเล ( <i>Thespesia populnea</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	28	18	90	19	11	55	72.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	9	9	45	4	4	20	32.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	0	0	0	2	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.7	0	0	0	1	1	5	2.50
แสมขาว ( <i>Avicennia alba</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	27	18	90	20	14	70	80.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	9	9	45	3	3	15	30.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	2	2	10	0	0	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	1	1	5	0	0	0	2.50
	Unknown 1	1	1	5	0	0	0	2.50
แสมดำ ( <i>Avicennia officinalis</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	21	13	65	21	11	55	60.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	13	10	50	4	4	20	35.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	2	2	10	2	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	2	2	10	1	1	5	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	0	0	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.7	0	0	0	0	0	0	2.50
แสมทะเล ( <i>Avicennia marina</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	21	12	60	19	15	75	30.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	14	10	50	7	7	35	25.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	3	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.7	0	0	0	1	1	5	2.50
	Unknown 2	1	1	5	0	0	0	2.50

ตารางที่ 4.3 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน  
สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปร่ง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี

พันธุ์ไม้	ชื่อ Thraustochytrids ที่พบ	ฤดูแล้ง			ฤดูฝน			เปอร์เซ็นต์การพบเฉลี่ย
		จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	
โกกวางใบเล็ก ( <i>Rhizophora apiculata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	27	14	70	0	0	0	35.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	5	5	25	1	1	5	15.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	2	10	5.00
โกกวางใบใหญ่ ( <i>Rhizophora mucronata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	22	12	60	0	0	0	30.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	4	4	20	9	6	30	25.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0		4	4	20	10.00
โพทะเล ( <i>Thespesia populnea</i> )	0	0	0	0	0	0	0	
ลำพู ( <i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.)	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	38	18	90	0	0	0	45.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	4	4	20	2	2	10	15.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	1	1	5	2.50
แสมขาว ( <i>Avicennia alba</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	21	16	80	1	1	5	42.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	13	9	45	0	0	0	22.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	0	0	1	1	5	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	2	10	5.00
แสมดำ ( <i>Avicennia officinalis</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	9	8	40	3	3	15	27.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	8	6	30	2	2	10	20.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	0	0	1	1	5	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	2	10	5.00
แสมทะเล ( <i>Avicennia marina</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	18	11	55	6	4	20	37.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	2	3	15	3	3	15	15.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	0	0	2	2	10	5.00
	Unknown 2	8	8	40	0	0	0	20.00
	Unknown 1	1	1	5	0	0	0	2.50
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	3	3	15	0	0	0	7.50	

ตารางที่ 4.4 จำนวนไอโซเลท จำนวนใบที่พบ และเปอร์เซ็นต์การพบชนิดของ Thraustochytrids ที่คัดแยกจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน  
สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

พันธุ์ไม้	เชื้อ Thraustochytrids ที่พบ	ฤดูแล้ง			ฤดูฝน			เปอร์เซ็นต์การพบเฉลี่ย
		จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	จำนวนไอโซเลท	จำนวนใบที่พบ Thraustochytrids	เปอร์เซ็นต์การพบ	
โกกวางใบเล็ก ( <i>Rhizophora apiculata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	22	11	55	0	0	0	27.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	1	1	5	0	0	0	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	1	1	5	2.50
โกกวางใบใหญ่ ( <i>Rhizophora mucronata</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	23	13	65	2	2	10	37.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	2	2	10	1	1	5	7.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	0	0	2	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	2	10	5.00
ปอทะเล ( <i>Hibiscus tiliaceus</i> L.)	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	4	3	15	0	0	0	7.50
โปรงขาว ( <i>Ceriops decandra</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	4	4	20	2	2	10	15.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0	0	0	3	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	2	1	5	2.50
	Unknown 2	2	2	10	0	0	0	5.00
ฝาดดอกขาว ( <i>Lumnitzera racemosa</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	3	2	10	0	0	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	1	1	5	0	0	0	2.50
โพทะเล ( <i>Thespesia populnea</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	15	11	55	3	3	15	35.00
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0	0	0	2	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	0	0	0	6	5	25	12.50
แสมขาว ( <i>Avicennia alba</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	0	0	0	3	3	15	7.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0	0	0	2	2	10	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	1	1	5	2.50
แสมทะเล ( <i>Avicennia marina</i> )	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	0	0	0	4	3	15	7.50
	<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	0	0	0	1	1	5	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	0	0	1	1	5	2.50

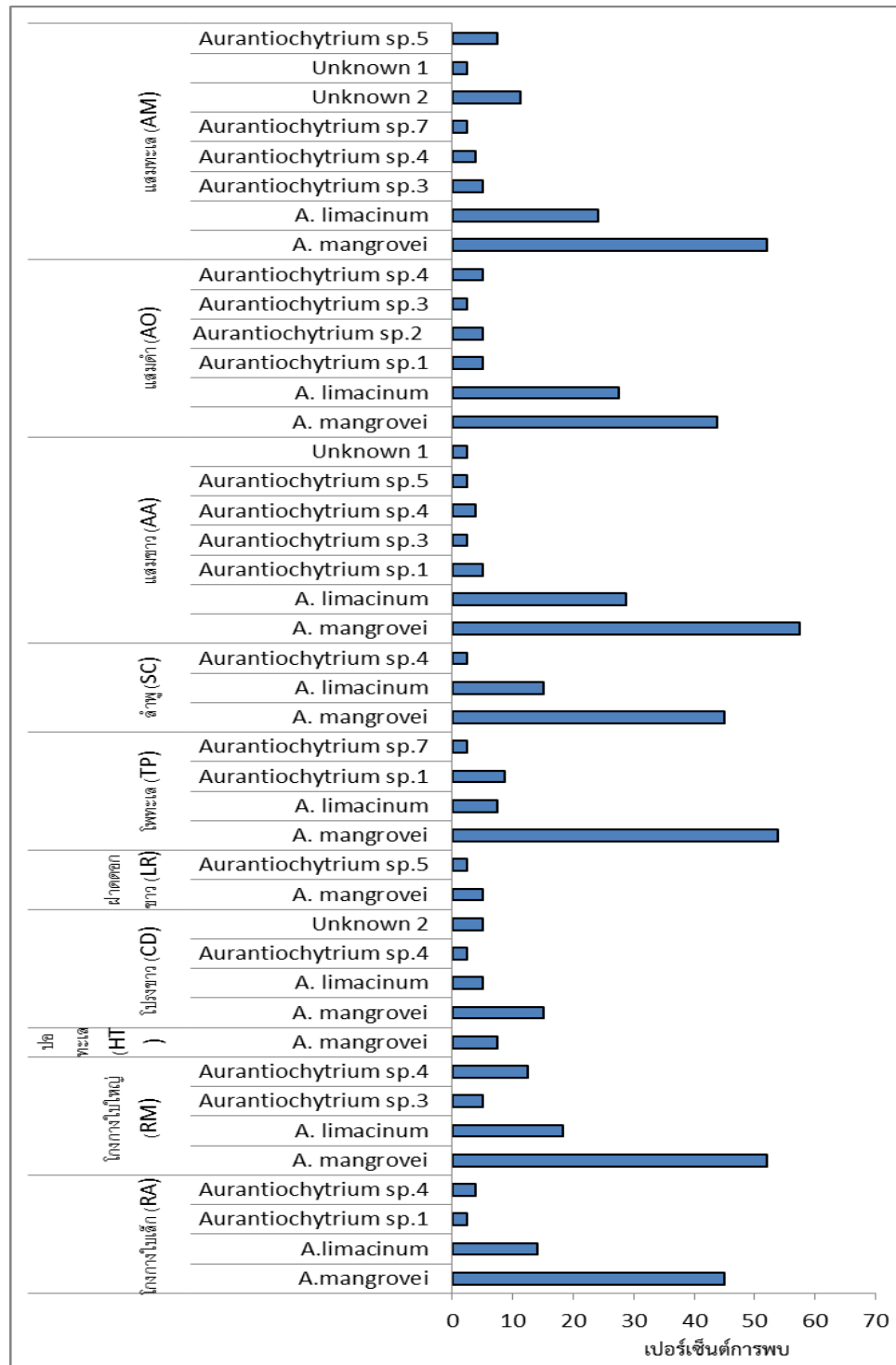
ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริคส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 สถานี จังหวัดชลบุรี

พันธุ์ไม้	เชื้อที่พบ	เปอร์เซ็นต์	เปอร์เซ็นต์	เปอร์เซ็นต์
		การพบ (ฤดูแล้ง)	การพบ (ฤดูฝน)	การพบ (เฉลี่ย)
โกก่างใบเล็ก ( <i>Rhizophora apiculata</i> )	<i>A. mangrovei</i>	70.00	20.00	45.00
	<i>A. limacinum</i>	18.33	10.00	14.16
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	5.00	0	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	7.50	3.75
โกก่างใบใหญ่ ( <i>Rhizophora mucronata</i> )	<i>A. mangrovei</i>	66.67	37.50	52.08
	<i>A. limacinum</i>	18.33	18.33	18.33
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	10.00	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	25.00	12.50
ปอทะเล ( <i>Hibiscus tiliaceus</i> L.)	<i>A. mangrovei</i>	15.00	0	7.50
โปรงขาว ( <i>Ceriops decandra</i> )	<i>A. mangrovei</i>	20.00	10.00	15.00
	<i>A. limacinum</i>	0	10.00	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	5.00	2.50
	Unknown 2	10.00	0	5.00
ฝาดดอกขาว ( <i>Lumnitzera racemosa</i> )	<i>A. mangrovei</i>	10.00	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	5.00	0	2.50
โพทะเล ( <i>Thespesia populnea</i> )	<i>A. mangrovei</i>	72.50	35.00	53.75
	<i>A. limacinum</i>	0	15.00	7.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	0	17.50	8.75
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.7	0	5.00	2.50
ลำพู ( <i>Sonneratia caseolaris</i> (L.) Engl.)	<i>A. mangrovei</i>	90.00	0	45.00
	<i>A. limacinum</i>	20.00	10.00	15.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	5.00	2.50
แสมขาว ( <i>Avicennia alba</i> )	<i>A. mangrovei</i>	85.00	30.00	57.50
	<i>A. limacinum</i>	45.00	12.50	28.75
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	10.00	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	5.00	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	7.50	3.75
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	5.00	0	2.50
	Unknown 1	5.00	0	2.50

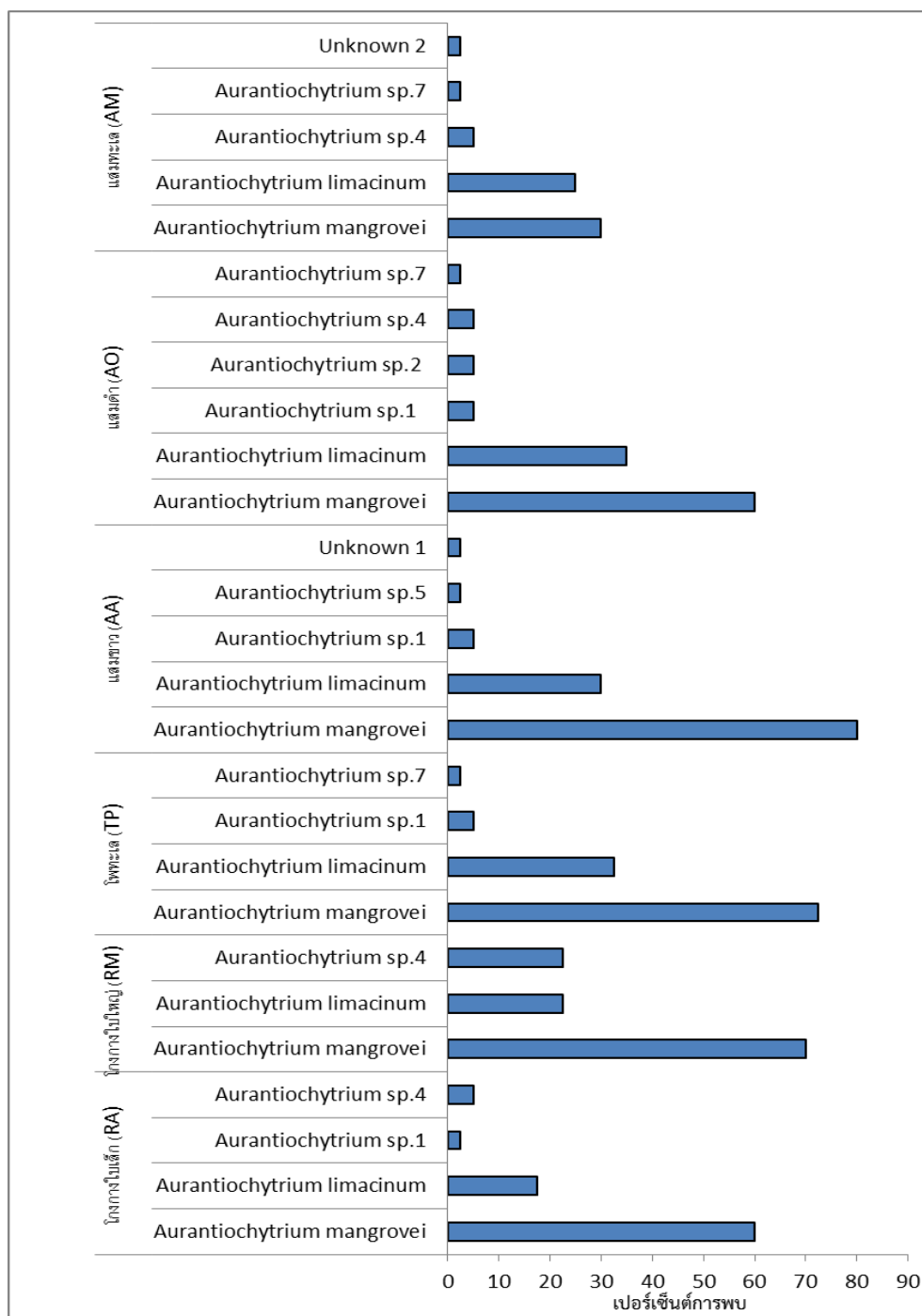
ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

พันธุ์ไม้	เชื้อที่พบ	เปอร์เซ็นต์	เปอร์เซ็นต์	เปอร์เซ็นต์
		การพบ ครั้งที่ 1	การพบ ครั้งที่ 2	การพบ (เฉลี่ย)
แสมดำ ( <i>Avicennia officinalis</i> )	<i>A. mangrovei</i>	52.50	35.00	43.75
	<i>A. limacinum</i>	40.00	15.00	27.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	10.00	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	10.00	0	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	5.00	2.50
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	10.00	5.00
แสมทะเล ( <i>Avicennia marina</i> )	<i>A. mangrovei</i>	67.50	36.67	52.08
	<i>A. limacinum</i>	30.00	18.33	24.16
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	0	10.00	5.00
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	0	7.50	3.75
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.7	0	5.00	2.50
	Unknown 2	22.50	0	11.25
	Unknown 1	5.00	0	2.50
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	15.00	0	7.50	

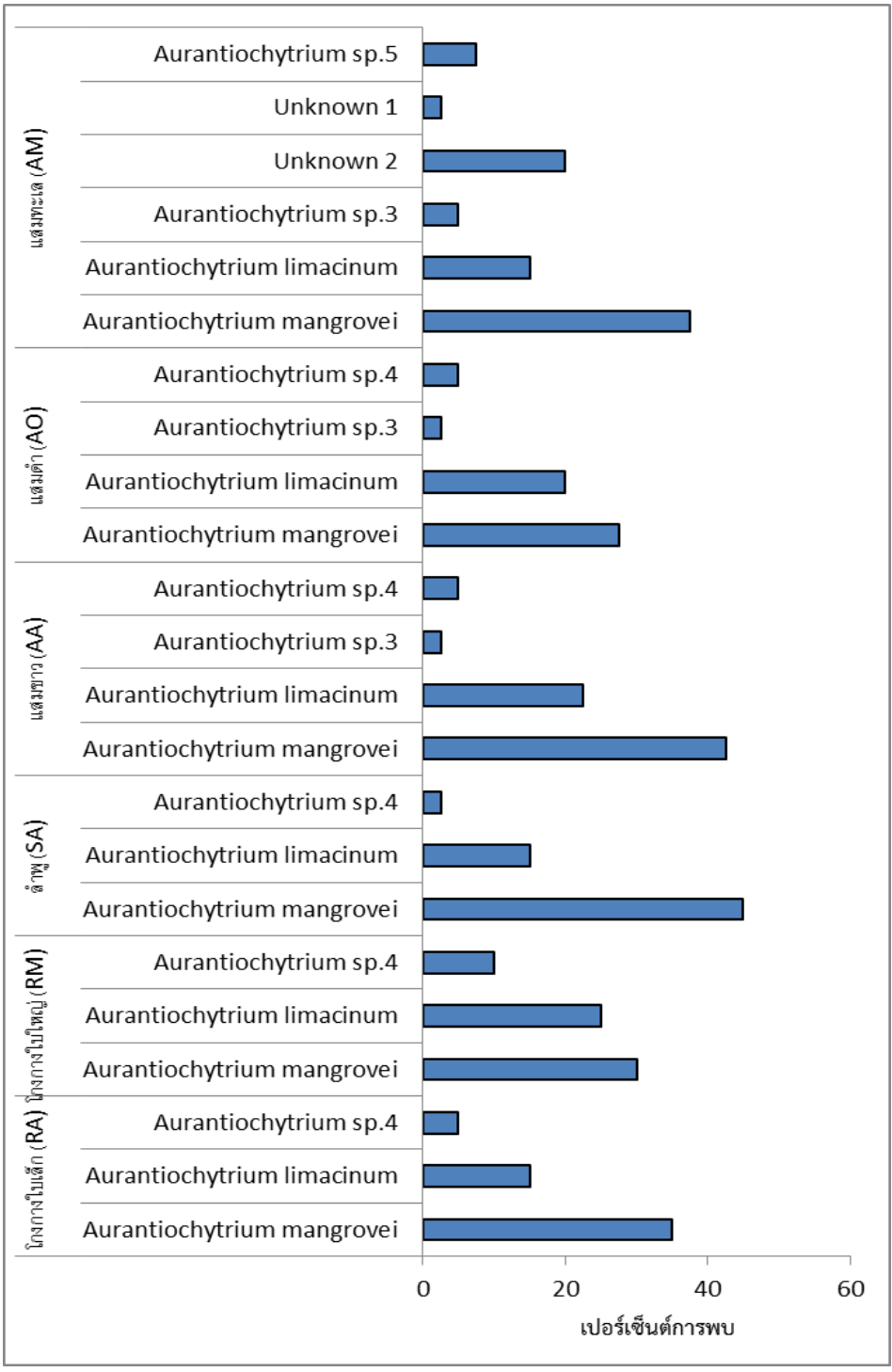
$$\text{เปอร์เซ็นต์การพบ} = \frac{\text{จำนวนใบไม้ที่พบทรอสโทโคตริดส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบไม้ทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$



ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคทริคส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 สถานี จังหวัดชลบุรี

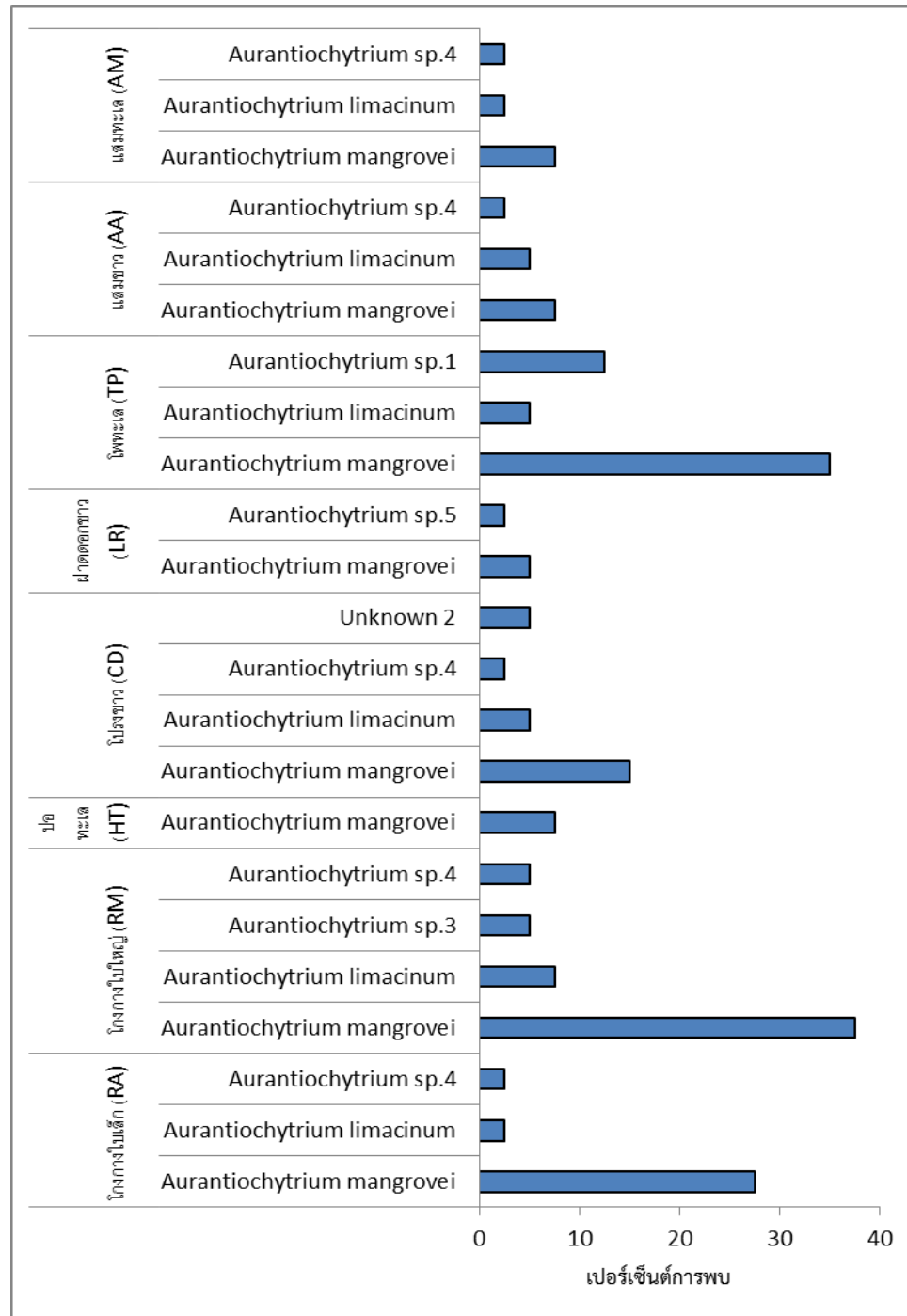


ภาพที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน  
สถานีที่ 1 ศูนย์ศึกษาธรรมชาติและอนุรักษ์ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี



ภาพที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริคส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 2 ป่าชายเลนคลองโปรง ตำบลอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี





ภาพที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน สถานีที่ 3 สวนป่าชายเลน ฐานทัพเรือสัตหีบ จังหวัดชลบุรี

#### 4. มวลชีวภาพของทროสโทโคทริคส์ที่พบจากใบไม้ป่าชายเลน

มวลชีวภาพของทროสโทโคทริคส์แต่ละชนิดของการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี โดยเลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมกลูโคส 6 % ยีสต์สกัด 1 % ความเค็ม 15 พีเอสยู อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน ได้ผลดังตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.7 ถึง 4.8 จะเห็นว่า *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.88-22.49 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 9.39-20.71 กรัม/ลิตร

ตารางที่ 4.6 มวลชีวภาพของทროสโทโคทริคส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

ทროสโทโคทริคส์	มวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)	ทროสโทโคทริคส์	มวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 032	10.22	<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 103	20.87
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 181	14.22	<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 111	6.88
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 201	15.63	<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 123	20.47
<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 052	17.04	<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 142	21.18
<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 083	17.42	<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 161	19.48
<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 071	17.18	<i>A. mangrovei</i> BUCHRM 091	11.44
<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 071	9.89	<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 202	9.67
<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 143	14.39	<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 102	16.04
<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 012	12.94	<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 121	16.29
<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 071	18.97	<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 162	17.18
<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 132	18.70	<i>A. mangrovei</i> BUCHHT 092	19.58
<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 143	18.79	<i>A. mangrovei</i> BUCHHT 172	20.11
<i>A. mangrovei</i> BUCHRM 183	18.94	<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 072	18.08
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 023	19.16	<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 073	17.61
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 072	19.69	<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 083	17.14
<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 083	19.77	<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 032	16.51
<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 021	22.49	<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 051	16.68
<i>A. limacinum</i> BUCHAA 021	9.39	<i>A. limacinum</i> BUCHRM 073	11.19
<i>A. limacinum</i> BUCHAA 082	18.12	<i>A. limacinum</i> BUCHRM 113	11.62
<i>A. limacinum</i> BUCHAO 062	19.40	<i>A. limacinum</i> BUCHRA 052	7.78
<i>A. limacinum</i> BUCHRM 052	19.06	<i>A. limacinum</i> BUCHRA 161	8.40

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

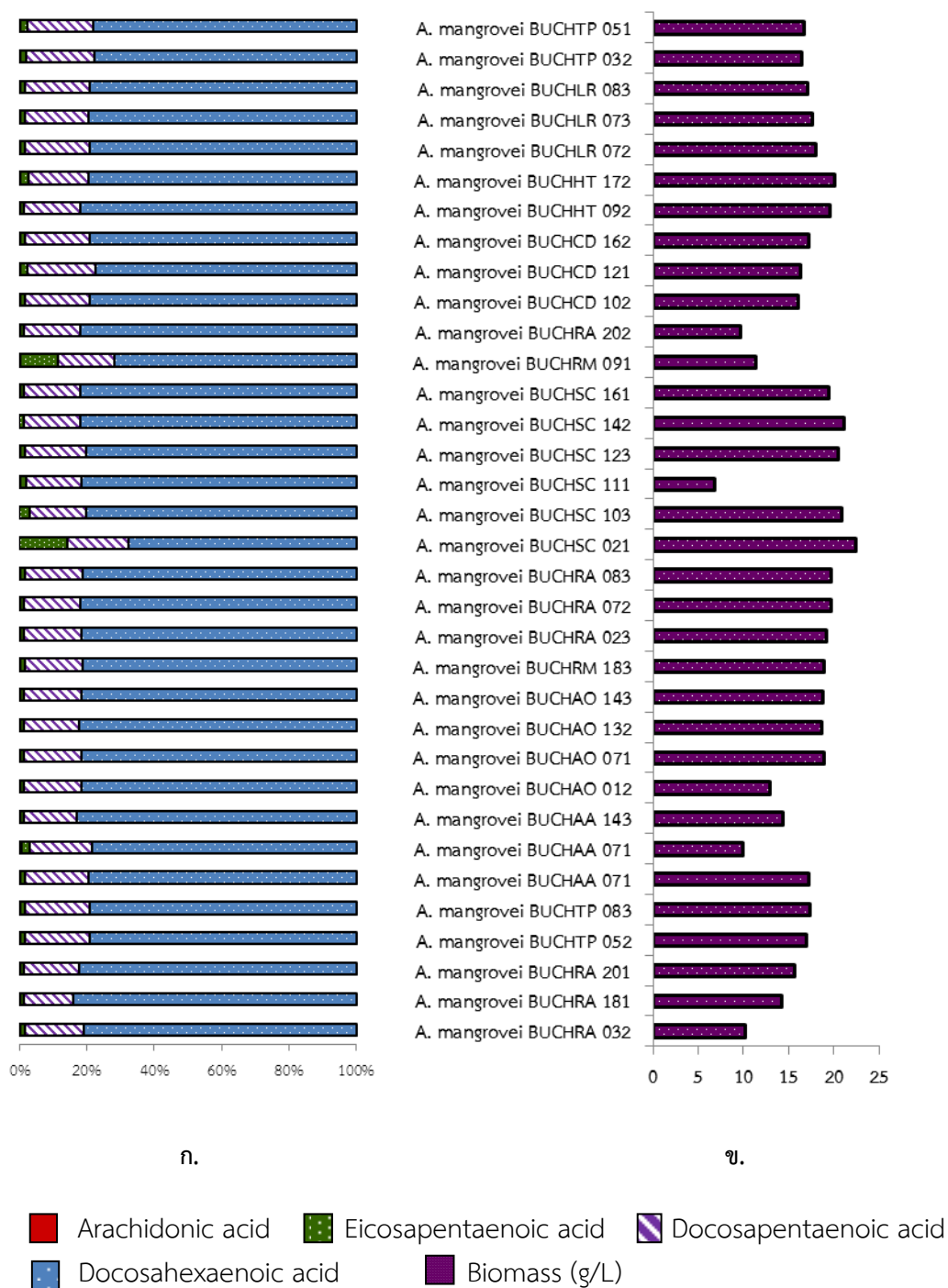
ทรอสโทโคตริคส์	มวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)	ทรอสโทโคตริคส์	มวลชีวภาพ (กรัมต่อ ลิตร)
<i>A. limacinum</i> BUCHRM 201	16.09	<i>A. limacinum</i> BUCHHT 093	20.71
<i>A. limacinum</i> BUCHSC 091	18.97	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1 BUCHAO 091	11.17
<i>Aurantiochytrium</i> sp.1 BUCHAA 153	8.45	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1 BUCHAO 103	11.14
<i>Aurantiochytrium</i> sp.2 BUCHAO 101	11.42	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHAM 023	18.31
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHAM 033	9.86	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHAA 052	18.49
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHAM 091	19.08	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHAA 102	16.44
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5 BUCHLR 111	17.98	Unknown 1 BUCHAM 173	18.01
Unknown 2 BUCHAM 012	18.39	Unknown 2 BUCHAM 083	16.40
Unknown 2 BUCHCD 091	17.41	Unknown 2 BUCHCD 103	14.94
Unknown 2 BUCHAM 111	15.14	Unknown 2 BUCHAM 162	17.74
Unknown 2 BUCHAM 191	17.64	Unknown 2 BUCHAM 192	14.58
Unknown 2 BUCHAM 201	15.93		

### 5. กรดไขมันในทรอสโทโคตริคส์ที่พบจากใบไม้ป่าชายเลน

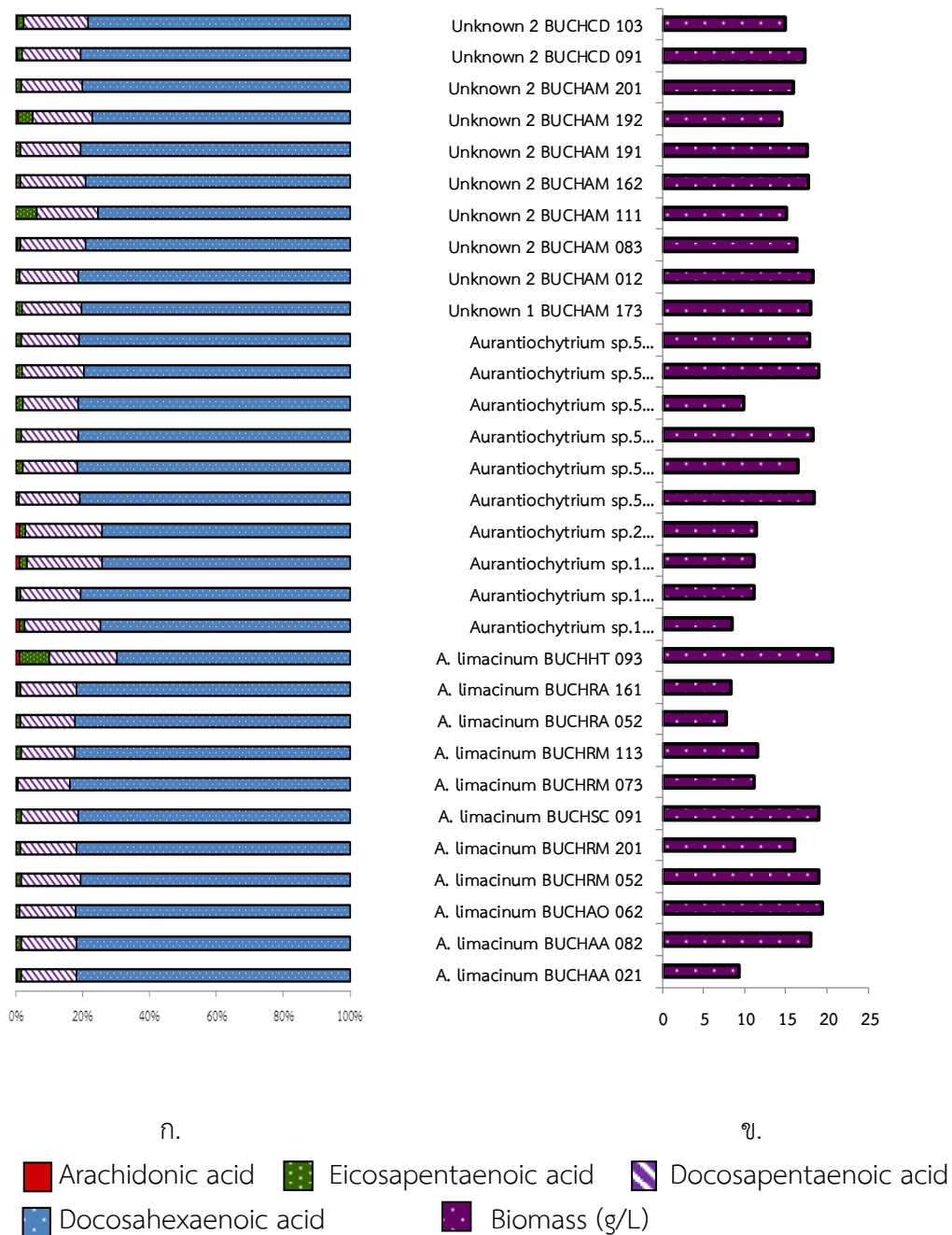
จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างทรอสโทโคตริคส์แต่ละชนิด พบกรดไขมันหลากหลายชนิด แต่ชนิดที่พบเด่นๆ และมีความสำคัญมากได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ซึ่งดีเอชเอเป็นชนิดที่พบในปริมาณที่สูงมากโดยพบสูงใน *A. limacinum* (4.71-191.07 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 1.43-29.67 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (20.75-175.34 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.84-31.09 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบใกล้เคียงกันโดยใน *A. limacinum* (0.09-0.55 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.03-0.10 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *A. mangrovei* (0.52-5.67 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.13-0.60 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.37-37.71 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.41-6.08 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 4.74-41.87 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.23-7.51 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6)

จากการศึกษาพบว่าทรอสโทโคตริคส์ที่มีศักยภาพที่จะนำไปศึกษาหรือใช้ประโยชน์ต่อไป โดยมีมวลชีวภาพและปริมาณอีพีเอสูง คือ *A. mangrovei* BUCHSC 021 และ *A. limacinum* BUCHHT 093 ส่วนไอโซเลทที่มีมวลชีวภาพและดีเอชเอสูง ได้แก่ *A. mangrovei* BUCHSC 103, *A. mangrovei* BUCHSC 111, *A. mangrovei* BUCHSC 123 และ *A. mangrovei* BUCHSC 142





ภาพที่ 4.7 สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (ก.) และมวลชีวภาพ (ข.) ของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี



ภาพที่ 4.8 สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ (ก.) และมวลชีวภาพ (ข.) ของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

## บทที่ 5

### อภิปราย สรุปและข้อเสนอแนะ

#### 1. ชนิดทรอสโทโคตริดส์

การจำแนกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบทั้งสิ้น 10 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7, unknown 1 และ unknown 2 ในขณะที่ สมถวิล จริตควร สุदारัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2549) คัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากป่าชายเลนภาคตะวันออกของประเทศไทยได้ 3 สกุล 14 ชนิด ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei* (*Aurantiochytrium mangrovei*), *Schizochytrium limacinum* (*Aurantiochytrium limacinum*), *Schizochytrium* sp. 1, *Schizochytrium* sp. 2, *Schizochytrium* sp. 4, *Schizochytrium* sp. 5, *Schizochytrium* sp. 6 และ *Schizochytrium* sp. 7, *Thraustochytrium aureum*, *Ulkenia radiata*, *Ulkenia profunda* และ *Ulkenia* sp., unknown 1 และ unknown 2 มยุรา ประยูรพันธ์ และคณะ (2551) คัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอมือง จังหวัดสมุทรปราการ จากพันธุ์ไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทโคตริดส์ 1 สกุล 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium limacinum* และ *Schizochytrium* sp.8 โดย *S.mangrovei* เป็นชนิดที่พบสูงสุด ส่วน Fan and Jones (2002) พบทรอสโทโคตริดส์ 8 สายพันธุ์ คือ *Schizochytrium* sp. KF-1, *S. mangrovei* KF-12, KF-7, KF-12, *T. striatum* KF-9 และ *Ulkenia* KF-19 จากตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ประเทศฮ่องกง

#### 2. เปรอ์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน

จากการศึกษาจำนวนไอโซเลทและเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์แต่ละชนิดจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 3 สถานี จำนวน 2 ครั้ง ได้ทั้งหมด 715 ไอโซเลท โดยมีเปอร์เซ็นต์การพบเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.50-57.50 ชนิดที่มีความโดดเด่นสูงสุดคือ *Aurantiochytrium mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุดทั้ง 3 สถานี รองลงมาคือ *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp.4, Unknown 2, *Aurantiochytrium* sp.5 *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.7 และ Unknown 1 ตามลำดับ โดย *A. mangrovei* และ *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบแสมขาว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.50% และ 28.75% ตามลำดับ ส่วนทรอสโทโคตริดส์ชนิดอื่นๆ พบในปริมาณไม่มากนัก เมื่อพิจารณาชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน พบว่าทรอสโทโคตริดส์มีเปอร์เซ็นต์การพบแตกต่างกัน อาจเนื่องจากลักษณะของใบไม้ที่แบนบาง เช่นใบโพทะเล ปอทะเลและใบอบวนหา เช่นใบแสม โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ฝาดดอกขาว เป็นต้น รวมทั้งใบที่มีความชื้นแตกต่างกัน โดยใบที่มีความชื้นมากจะมีเปอร์เซ็นต์การพบมากกว่าใบที่แห้ง ดังนั้นในการเก็บตัวอย่างใบไม้จึงควรเก็บใบไม้เปียกชื้น อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทโคตริดส์ในการศึกษาครั้งนี้พบน้อยกว่าการศึกษาของจุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ที่สำรวจป่าชายเลน จังหวัดกรุงเทพมหานคร พบทรอสโทโคตริดส์

2 สกุล 4 ชนิด โดยเดือนพฤศจิกายนพบทอรัสโทโคตริตส์สูงสุด 69.54 % (334 ไอโซเลท) รองลงมาคือเดือนกรกฎาคม 64.50% (318 ไอโซเลท) และเดือนมีนาคมพบน้อยที่สุด 60% (241 ไอโซเลท) ซึ่งพบสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างในฤดูแล้งและฤดูฝนพบชนิดของทอรัสโทโคตริตส์และเปอร์เซ็นต์การพบที่แตกต่างกัน โดยส่วนใหญ่พบชนิดของทอรัสโทโคตริตส์และเปอร์เซ็นต์การพบในฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน สอดคล้องกับ Ranghukumar and Geartner (1992) ที่พบว่าอุณหภูมิหรือฤดูกาลมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทอรัสโทโคตริตส์ โดยฤดูหนาวมีเปอร์เซ็นต์การพบทอรัสโทโคตริตส์ในน้ำทะเลน้อยกว่าฤดูร้อน แต่เปอร์เซ็นต์การพบทอรัสโทโคตริตส์ในดินตะกอนทั้งในฤดูหนาวและฤดูร้อนไม่แตกต่างกัน ส่วน Chatdumrong, Yongmanitchai, Limtong and Worawattanamateekul (2004) พบทอรัสโทโคตริตส์ 257 ไอโซเลท จากการเก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนตลอดชายฝั่งทะเลประเทศไทย ประกอบด้วย 120 ไอโซเลท จากป่าชายเลนฝั่งอันดามัน 83 ไอโซเลทจากฝั่งอ่าวไทย และ 62 ไอโซเลทจากเขตภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย ในขณะที่ สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2549) คัดแยกทอรัสโทโคตริตส์จากป่าชายเลนภาคตะวันออกของประเทศไทยได้ 1,158 ไอโซเลท ส่วนมยุรา ประยูรพันธ์ (2549) คัดแยกทอรัสโทโคตริตส์จากใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดสมุทรปราการ พบทอรัสโทโคตริตส์ 184 ไอโซเลท จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ศึกษาความหลากหลายของทอรัสโทโคตริตส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร พบทอรัสโทโคตริตส์ทั้งหมด 893 ไอโซเลท และ Leano (2001) เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิดจากป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ พบทอรัสโทโคตริตส์ 85-100% จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา โดยชนิดที่พบสูงสุดคือ *S. mangrovei* (40-100% จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบ *Thraustochytrium* sp. แต่คัดแยกได้เฉพาะจากใบตะบูนขาวและโกงกางใบเล็ก

ความหลากหลายและเปอร์เซ็นต์การพบทอรัสโทโคตริตส์มีค่าแตกต่างกัน นอกจากลักษณะของใบแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเจริญของทอรัสโทโคตริตส์ เช่น ความชื้นแห้งของใบไม้ ลักษณะทางภูมิประเทศ ปัจจัยสภาพแวดล้อมทั้งทางกายภาพและเคมี เช่น อุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-เบส ปริมาณออกซิเจนละลาย การท่วมถึงของน้ำทะเล ความถี่ของการท่วมถึงของน้ำทะเล รวมถึงการกระจายของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน สภาพป่าชายเลน ตลอดจนกิจกรรมของมนุษย์ที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเป็นต้น

### 3. กรดไขมันในทอรัสโทโคตริตส์

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างทอรัสโทโคตริตส์แต่ละชนิด พบดีเอชเอมีปริมาณสูงมากใน *A. limacinum* (4.71-191.07 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 1.43-29.67 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (20.75-175.34 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.84-31.09 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบใกล้เคียงกันโดยใน *A. limacinum* (0.09-0.55 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.03-0.10 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *A. mangrovei* (0.52-5.67 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.13-0.60 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.37-37.71 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.41-6.08 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 4.74-41.87 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.23-7.51 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ สอดคล้องกับมยุรา ประยูรพันธ์และ



คณะ (2549) พบว่าทรอสโทโคตริดส์มีดีเอชเออยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง Bowles (1997) รายงานการพบดีเอชเอในทรอสโทโคตริดส์ 17 สายพันธุ์ มีค่าอยู่ในช่วง 2.78-37.95 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และ Kamlangdee and Fan (2003) พบว่าปริมาณกรดไขมันจาก *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ (N - 1, N - 2, N - 5, N - 6 และ N - 9) มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 174.9, 203.6, 186.1, 171.3 และ 157.9 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ Fan *et al.* (2001) พบว่าทรอสโทโคตริดส์ 9 สายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร GY สามารถผลิตกรดไขมันอีพีเออยู่ในช่วง 1.4 - 12.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และดีเอชเอ 4.0 - 41.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด แต่เมื่อนำทรอสโทโคตริดส์มาเพาะเลี้ยงใน Okara Medium พบว่าปริมาณกรดไขมันลดลงคืออีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0-1.8 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และดีเอชเอ 0.5-4.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด อย่างไรก็ตามการสะสมกรดไขมันของทรอสโทโคตริดส์อาจเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะของการเลี้ยง เช่นอุณหภูมิ ความเค็ม หรือความเป็นกรด-เบส เป็นต้น

มวลชีวภาพของทรอสโทโคตริดส์แต่ละชนิดของการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 สถานี พบว่า *A. mangrovei* มีการเจริญสูงโดยมีมวลชีวภาพสูงสุด (6.88 - 22.49 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* (9.39 - 20.71 กรัม/ลิตร) ซึ่งไอโซเลทที่มีความโดดเด่นที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในส่วนของมวลชีวภาพและกรดไขมันชนิดอีพีเอสูง คือ *A. mangrovei* BUCHSC 021 และ *A. limacinum* BUCHHT 093 ส่วนไอโซเลทที่มีมวลชีวภาพและดีเอชเอสูง ได้แก่ *A. mangrovei* BUCHSC 103, *A. mangrovei* BUCHSC 111, *A. mangrovei* BUCHSC 123 และ *A. mangrovei* BUCHSC 142

### สรุปผลการทดลอง

1. ทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี พบทั้งหมด 715 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 10 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum* (*Schizochytrium limacinum*) *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7 และทรอสโทโคตริดส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ Unknown 1 และ Unknown 2 โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ *A. mangrovei* รองลงมาคือ *A. limacinum*

2. ทรอสโทโคตริดส์มีเปอร์เซ็นต์การพบเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.50-57.50 *Aurantiochytrium mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด รองลงมาคือ *Aurantiochytrium limacinum* โดย *A. mangrovei* และ *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบเสมขาว มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 57.50% และ 28.75% ตามลำดับ

3. *A. limacinum* มีปริมาณดีเอชเอสูงสุด (4.71 - 191.07 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 1.43 - 29.67 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (20.75 - 175.34 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 0.84 - 31.09 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบใกล้เคียงกันโดย *A. limacinum* มีปริมาณสูง (0.09 - 0.55 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0.03 - 0.10 % ของกรดไขมัน

ทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *A. mangrovei* (0.52 - 5.67 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง, 0.13 - 0.60 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.37 - 37.71 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.41 - 6.08 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 4.74 - 41.87 มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง (0.23 - 7.51 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ

4. *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.88-22.49 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 9.39-20.71 กรัม/ลิตร

5. ไอโซเลทที่มีศักยภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ในส่วนของกรดไขมันอีพีเอ ได้แก่ *A. mangrovei* BUCHSC 021 และ *A. limacinum* BUCHHT 093 ส่วนไอโซเลทที่มีมวลชีวภาพ และดีเอสเอสสูง ได้แก่ *A. mangrovei* BUCHSC 103, *A. mangrovei* BUCHSC 111, *A. mangrovei* BUCHSC 123 และ *A. mangrovei* BUCHSC 142

#### ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคไตรดส์จากแหล่งอื่นๆ เช่น สาหร่ายทะเล หญ้าทะเล น้ำทะเล ดินตะกอน และสัตว์ทะเล เป็นต้น เพื่อเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย

## รายการอ้างอิง

- จุฬาลักษณ์ จันทบาล. (2550). ความหลากหลายของทรอสโทโคทริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ณัฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ. (2546). คู่มือวิธีการประเมินแบบรวดเร็วเพื่อการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมพื้นที่ชายฝั่งทะเล ระบบนิเวศป่าชายเลน. กรุงเทพฯ: หจก. สุขชัยการพิมพ์.
- เดือนทิพย์ ปิยรัตน์. (2538). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันโอเมก้า-3 จากสาหร่ายน้ำเค็มขนาดเล็ก. *วารสารวิทยาศาสตร์*, 24, 14-20.
- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (2542). *ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์*. เชียงใหม่: ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ประสงค์ เทียนบุญ. (2543). น้ำมันปลากับสุขภาพ. *ใกล้หมอ*, 24(7), 66.
- มยุรา ประยูรพันธ์ สมถวิล จริตควร สุदारัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มั่นชะจิตร. (2551). กรดไขมันในทรอสโทโคทริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ. ประชุมวิชาการ “วิจัยบูรพา ครบรอบวันสถาปนา 53 ปี” 7 กรกฎาคม 2551. มหาวิทยาลัยบูรพา. หน้า 74.
- รัศมี ศุภศรี. (2536). ไขมันและบทบาทของ *omega-3 fatty acid* กับ การดูดซึมของหลอดเลือด. *อาหาร*, 23 (4). ม.ป.ท. 242-245.
- วรรณิภา วิเวโก. (2545). การพัฒนากรดไขมัน Omega-3, Omega-6 เพื่อการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม. *ข่าวเทคโนโลยีชีวภาพ*, 8(5), 10-12.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2542). *โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ* ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.
- ศิริลักษณ์ ช่วยพั่ง. (2543). ป่าชายเลนความอุดมสมบูรณ์ริมฝั่งทะเลไทย. *วารสารปารีชาติ*, 12(2), 44-48.
- สมถวิล จริตควร, สุदारัตน์ สวนจิตร และ วิภูษิต มั่นชะจิตร. (2549). จุลินทรีย์ทะเลจากป่าชายเลน: แหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่ยั่งยืน. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมถวิล จริตควร และ Jones, E.B.G. (2550). จุลินทรีย์ทะเล (*Schizochytrium* sp.) จากป่าชายเลน: แหล่งกรดไขมันเสริมคุณค่าให้อาร์ทีเมีย (*Artemia*). การประชุมวิชาการระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ “ป่าชายเลน: รากฐานเศรษฐกิจพอเพียงของชุมชนชายฝั่ง” วันที่ 12-14 กันยายน 2550. ณ โรงแรมฮอติเดย์อินน์ รีสอร์ท ชะอำ จังหวัดเพชรบุรี
- สนิท อักษรแก้ว. (2541). *ป่าชายเลนนิเวศวิทยาและการจัดการ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สุพิศ ทองรอด. (2535). ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ. *วารสารการประมง* 45 (5), 943-950.

- อัคนิตย์ อธิธาภา. (2541). การหาปริมาณไขมันและเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ในปลาทะเลโดยเทคนิคแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟี. ปัญหาพิเศษภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- Alderman, D. J., Harrison, J. L., Bremer, G. B., & Jones, E. B. G. (1974). Taxonomic revisions in the marine biflagellate fungi: The ultrastructural evidence. *Marine Biology*, 25, 345-357.
- Alderman, D. J., & Jones, E. B. G. (1971). Physiological requirement of two marine Phycomycetes, *Althornia crochii* and *Ostracoblabe implexa*. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 57(2), 213-225.
- Arafiles, K.H.V., Alcantara, J.C.O., Cordero, P.R.F., Baton, J.A.L., Galura, F.S., Leano, E.M., & Dedeles G.R. (2011). Cultural optimization of thraustochytrids for biomass and fatty acid production. *Mycosphere*, 2(5), 521-531.
- Bahnweg, G. (1979). Studies on the physiology of thraustochytriales I. Growth requirements and nutrition of *Thraustchytrium* spp., *Schizochytrium* sp., *Japonochytrium* sp., *Labyrinthulids* sp., *Ulkenia* sp. Veroff. *Inst. Meeresforsch. Bremerhaven*, 17, 245-268.
- Bajpai, P. K., Bajpai, P., & Ward, O. P. (1991a). Optimization of production of docosahexaenoic acid (DHA) by *Thraustchytrium aureum* ATCC 34304. *Journal of the American oil Chemists Society*, 68, 509-514.
- Bajpai, P., Bajpai, K., & Ward, P. O. (1991b). Production of docosahexaenoic acid by *thraustochytrium aureu*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 706-710.
- Barclay, W., & Zeller S. (1996). Nutritional enhancement of n-3 and n-6 fatty acids in rotifers and *Artemia* Nauplii by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. *Journal of the World Aquaculture Society*, 27 (3), 314-322.
- Bongiorni, L., Jain, R., Raghukumar, S., and Aggarwal, R.K. (2005). *Thraustochytrium gaertnerium* sp. nov.: A new thraustochytrid stramenopilan Protist from mangroves of Goa, India. *Protist*, 156, 303-315.
- Booth, T., & Miller, E.C. (1968). Comparative morphologic and taxonomy studies in the genus *Thraustochytrium*. *Mycologia*, 60, 480-495.
- Bowles, R. D. (1997). *Production of n-3 Polyunsaturated fatty acids by thraustochytrids*. Doctoral Dissertation, Physiology and optimization, University of Portsmouth.

- Bowles, R. D., Hunt, A. E., Bremer, G. B., Duchars, M. G., & Eaton, R. A. (1999). Longchain n-3 Polyunsaturated fatty acid production by members of the marine protistan group the Thraustochytrids: screening of isolates and optimization of docosahexaenoic acid production. *Journal of Biology*, 70, 193-202.
- Bremer, G. B. (1974) Physiological responses of some thraustochytrida fungi. *Veroff-Inst. Meeresforsch. Bremerhaven Suppl*, 5, 237-250.
- Bremer, G. B. (1995). Lower marine fungi (Labyrinthulomycetes) and the decay of mangrove leaf litter. *Hydrobiologia*, 295, 89-95.
- Bremer, G. (2000). Isolation and culture of Thraustochytrids. In Hyde, K. D., & S. B., Pointing (eds.), *Marine Mycology—A Practical Approach. Fungal Diversity Research Series I*, (49-61). Hong Kong: Fungal Diversity Press.
- Burja, A.M.; Radianingtyas, H.; Windust, A. and Barrow, C.J. (2006). Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: screening of strains and optimization of omega-3 production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72, 1161-1169.
- Chantdumrong, W., Yongmanitchai, W., Limtong, S., & Worawattanamateekul, W. (2004). Variation of polyunsaturated fatty acids profile of thraustochytrids isolated from mangrove forest in Thailand. In *IX International marine and freshwater mycology symposium* (p. 273). n.p.
- Chilton, P. M. (1995). *An investigation into the use of marine protist Thraustochytrium aureum as a dietary supplement providing Omega-3 polyunsaturates*. Doctoral Dissertation, Biology science, University of Portsmouth.
- Fan, K. W., Chen F., Jone, E. B. G., & Vrijmoed, L. L. P. (2000a). Zoospore chemotaxis and motility of thraustochytrids. In *Paper Presented at the 3<sup>rd</sup> Asia-pacific Mycological Congress on Biodiversity and Biotechnology (AMC 2000)*. n.p.
- Fan, K. W., Chen, F. J., Jones, E. B. G., & Vrijmoed, L. P. (2001). Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acids production by and okara-utilizing potential of thraustochytrids. *Journal of Industrial and Biotechnology*, 27, 199-202.
- Fan, K. W., Vrijmoed, L. P. P., & Jones, E. B. G. (2002). Physiology studies of subtropical mangrove thraustochytrids. *Journal Botanica Marina*, 45, 50-57.
- Fan, K.W., Jiang, Y., Faan, Y.W., & Chen, F. (2007) Lipid Characterization of Mangrove Thraustochytrid -Schizochytrium mangrovei. *Journal Agriculture and Food Chemistry*, 55, 2906-2910.

- Gaertner, A. (1979). Some fungal parasites found in the diatom populations of Rosfjord area (South Norway) during March 1979. *Veroff Institute of Meeresforsch Bremerh*, 18, 29-33.
- Goldstein, A., & Belsky, M. (1964). Axenic culture studies of a new marine phycomycete possessing and unusual type of asexual reproduction. *American Journal of Botany*, 51, 72-78.
- Honda, D. (2001). Phylogeny and taxonomy of labyrinthulids. *Aquabiology*, 132(23), 7-18.
- Honda, D., Yokochi, T., Nakahara, T., Erata, M., & Higashihara, T. (1998). *Schizochytrium limacinum* sp. Nov., a new thraustochytrids from a mangrove area in the west pacific ocean, *Mycol. Res.*, 102(4), 439-448
- Huang, J., Aki, T., Yokochi, T., Nakahara, T., Honda, D., Kawamoto, S., Shigeta, S., Ono, K., and Suzuki, O. (2003). Grouping newly isolated docosahexaenoic acid-producing thraustochytrids based on their polyunsaturated fatty acid profile and comparative analysis of 18S rRNA gene. *Marine Biotechnology*, 5, 450-457.
- Hunt, E. A. (2000). *The production of n-3 polyunsaturated docosahexaenoic acid by member of the marine protistan group the thraustochytrids*. Doctoral Dissertation, Biology science, University of Portsmouth.
- Jaritkhuan, S.; Jones, E.B.G. and Bremer, G. (1998). Thraustochytrids as a food source in aquaculture. Paper presented at The Asia-Pacific Mycological Conference on Biodiversity and Biotechnology, 6-9 July, 1998. Hua Hin, Thailand.
- Jaritkhuan, S. (2002). Thraustochytrids: a new alternative source of fatty acids for aquaculture. In: *Fungi in Marine Environments* (ed. K.D. Hyde). Fungal Diversity Research Series 7: 345-357.
- Jaritkhuan, S.; Suanjit, S. and Manthachitra, V. (2004). Thraustochytrids from fallen mangrove leaves along the Eastern coast of the Gulf of Thailand. Paper presented at 9<sup>th</sup> International Marine and Freshwater Mycology Symposium. 14-19 November, 2004. Chiang Mai, Thailand.
- Jaritkhuan, S.; Suanjit, S.; Prayunpun, M.; Chaouangrit, L.; Boon-Tang, S. and Manthachitra, V. (2005). Diversity of thraustochytrids from fallen leaves of pristine and anthropogenic mangrove forests in Thailand. Paper presented at the International Conference "Innovations and Technologies in Oceanography for Sustainable Development, ITOS 2005". 26-29 September 2005. Hotel Istana, Kuala Lumpur, Malaysia.

- Jones, E. B. G., & Alderman, D. J. (1971). *Althonia crouchii* gen. et. sp. nov., A marine biflagellate fungus. n.p.
- Kamlangdee, N., & Fan, K. W. (2003). Polyunsaturated fatty acid production by *Schizochytrium* sp. isolation from Songklanakarim mangrove. *Journal Science Technology*, 25 (5), 643-650.
- Karling, J. S. (1981). Predominantly holocarpic and eucarpic simple biflagellate phycomycetes. *American Journal of Botany*, 82, 51-56.
- Leano, M. (2001). Straminipilous organism from fallen mangrove leaves from Panay Island, Philippines. *Fungal Density*, 6, 75-80.
- Leano, E. M. (2002). Ecology of straminipiles from mangrove habitats. *Fungal Diversity Research Series*, 7, 111-134.
- Leander, C. A., & Porter, D. (2000). Redefining the genus *Aplanochytrium* (Phylum Labyrinthulomycota). *Mycotaxon*, 25, 439-444.
- Leander, C. A., Porter, D., & Leander, B. S. (2004). Comparative morphology and molecular phylogeny of aplanochytrids (Labyrinthulomycota). *European Journal of Protistology*, 40, 317-328.
- Li, Z.Y., & Ward, O. P. (1994). Production of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium roseum*. *Journal industrial Microbiology*, 13, 238-241.
- Moss, S. T. (1986). The biology of the Thraustochytriales and Labyrinthuloides. In S. T. Moss (ed.), *The Biology of Marine Fungi*. np.
- Naganuma, T., Takasugi, H., & Kimura, H. (1998). Abundance of thraustchytrids in coastal plankton. *Marine Ecology Progress Series*, 162, 105-110.
- Nakahara, T., Yokochi, T., Higashihara, T., Tanaka, S., Yaguchi, T., & Honda, D. (1996). Production of decosahezaenoic and decosapentaenoic acids by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap Islands. *Journal of the American oil Chemists Society*, 73(11), 1421-1426.
- Perveen, Z.; Ando, H.; Ueno, A.; Ito, Y.; Yamamoto, Y.; Yamada, Y.; Takagi, T.; Kaneko, T.; Kogame, K. and Okuyama, H. (2006). Isolation and characterization of a novel thraustochytrid-like microorganism that efficiently produces docosahexaenoic acid. *Biotechnology Letters*. 28: 197-202.
- Porter, D. (1989). *Handbook of protoctista: Phylum Labyrinthulomycota net slime mold*. n.p.
- Raghukumar, S. (1988). *Schizochytrium mangrovei* sp. nov., a thraustochytrid from mangroves in India. *Trasactions of the British Mycological Society*, 9(4), 627-631.

- Raghukumar, S. (1992). Bacterivory: a novel dual role for thraustochytrid in the sea. *Marine Biology*, *113*, 165-169.
- Ranghukumar, S., & Geartner, A. (1992). Occurrence of the thraustochytrids, *Corallochytrium limacisporum* gen. et sp. nov. in the coral reef lagoons of the Lakshadweep islands in the Arabian Sea. *The Biology Bulletin*, *170*, 72-78.
- Sargent, J., Bell, G., McEvoy, L., Tocher, D., & Estevez, A. (1999). Recent developments in the essential fatty acid nutrition of fish. *Aquaculture*, *177*, 191-199.
- Sharma, V. V., & Vittal, B. P. R. (2000). Biodiversity of manglicolous fungi on selected plants in the Godavari and Krishna deltas, East coast of India. *Fungal Diversity*, *5*, 115-129.
- Shimizu, S., Kawashima, H., Shinmen, Y., Akitomo, K., & Yamada, H. (1988). Production of eicosapentaenoic acid by *Mortierella* fungi. *Journal of the American Oil Chemists Society*, *65*, 1455-1459.
- Ulken, A. (1981b). On the role of phycomyces in the food web of different mangrove with brackish water and water of high salinity. *Kieler Meeresforsch., Sonderh*, *5*, 425-428.
- Unagul, P., Assantachai, C., Phadungruengluij, S., Suphantharika, M., Tanticharoen, M. & Verduyn, C. (2006). Coconut water as a medium additive for the production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. *Bioresource Technology*, *98*, 281-287.
- Watson, W. S., & Raper, B. K. (1957). *Labyrinthula minuta* sp. nov. *Journal of Genetic Microbiology*, *17*, 368-377.
- Wong, M. K. M., Vrijmoed, L. L. P., & Au, D. W. T. (2005). Abundance of thraustochytrids on fallen decaying leaves of *Kandelia candel* and mangrove sediment in Futian National Nature Reserve, China. *Botania Marina*, *48*, 374-378.
- Yokoyama, R., & Honda, Y. (2007a) Taxonomic rearrangement of the genus *Schizochytrium sensu lato* based on morphology, chemotaxonomic characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Schizochytrium* and erection of *Aurantiochytrium* and *Oblongichytrium* gen. nov. *Mycoscience*, *48*:199-211.



- Yokoyama, R., Salleh, B., & Honda, Y. (2007b) Taxonomic rearrangement of the genus *Ulkenia sensu lato* based on morphology, chemotaxonomical characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Ulkenia* and erection of *Botryochytrium*, *Parietichytrium*, and *Sicyoidochytrium* gen. nov. *Mycoscience* , 48:329–341.
- Yongmanitchai, W., & Ward, O. P. (1989). Omega-3 fatty acids: Alternative sources of production. In *Process Biochemistry* (pp. 117-125). np.
- Zhu, L., Zhang, X., Ji, L., Song, X., & Kuang, C. (2007) Changes of lipid content and fatty acid composition of *Schizochytrium limacinum* in response to different temperatures and salinities. *Process Biochemistry*, 42, 210–214.

ภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่ 1 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคตรีดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี

	<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 032		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 181		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 201		<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 052		<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 083		<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 071		<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 071		<i>A. mangrovei</i> BUCHAA 143		<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 012		<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 071		<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 132		<i>A. mangrovei</i> BUCHAO 143	
Fatty acid	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.00	0.00	0.20	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.01	0.07	0.01	0.07	0.01	0.00	0.00	0.14	0.03	0.06	0.01	0.07	0.01	0.00	0.00
11:0	0.15	0.03	0.25	0.05	0.13	0.02	0.08	0.01	0.07	0.01	0.12	0.02	0.12	0.02	0.38	0.08	0.13	0.02	0.09	0.02	0.12	0.02	0.07	0.01
12:0	0.40	0.10	1.06	0.20	0.93	0.18	0.47	0.09	0.45	0.08	0.56	0.11	0.56	0.11	1.11	0.23	1.01	0.19	0.56	0.10	0.56	0.11	0.62	0.11
13:0	11.48	2.73	20.43	3.87	10.60	2.03	4.92	0.91	5.46	0.99	5.54	1.08	5.54	1.08	11.73	2.47	11.50	2.16	5.00	0.86	5.54	1.08	3.19	0.56
14:0	16.27	3.87	28.82	5.46	30.11	5.77	18.27	3.37	18.78	3.39	2.12	0.42	2.12	0.42	27.42	5.77	30.32	5.69	21.22	3.66	2.12	0.42	26.01	4.58
14:1	0.61	0.15	1.65	0.31	0.92	0.18	0.74	0.14	0.75	0.13	0.39	0.08	0.39	0.08	0.79	0.17	0.99	0.19	0.65	0.11	0.39	0.08	0.71	0.13
15:0	39.63	9.44	34.20	6.47	24.77	4.75	22.29	4.11	20.15	3.64	28.53	5.58	28.53	5.58	29.35	6.17	23.68	4.45	21.79	3.76	28.53	5.58	2.23	0.39
16:0	216.39	51.53	295.12	55.87	319.48	61.22	281.49	51.90	282.84	51.11	261.91	51.19	261.91	51.19	315.70	66.41	297.06	55.80	285.64	49.27	261.91	51.19	272.57	48.00
16:1	1.08	0.26	1.87	0.35	1.08	0.21	0.96	0.18	1.28	0.23	0.97	0.19	0.97	0.19	1.12	0.24	1.20	0.23	1.12	0.19	0.97	0.19	1.17	0.21
17:0	9.26	2.20	7.03	1.33	5.98	1.15	7.46	1.38	6.78	1.22	8.55	1.67	8.55	1.67	6.91	1.45	5.55	1.04	6.04	1.04	8.55	1.67	5.64	0.99
17:1	0.47	0.11	0.94	0.18	0.69	0.13	0.89	0.16	0.88	0.16	0.69	0.13	0.69	0.13	0.39	0.08	0.85	0.16	0.98	0.17	0.69	0.13	1.01	0.18
18:0	5.27	1.26	6.33	1.20	6.71	1.29	8.36	1.54	8.51	1.54	6.08	1.19	6.08	1.19	7.35	1.55	6.34	1.19	7.25	1.25	6.08	1.19	7.08	1.25
18:1	0.99	0.24	1.02	0.19	0.46	0.09	0.53	0.10	0.65	0.12	0.25	0.05	0.25	0.05	0.57	0.12	0.44	0.08	0.45	0.08	0.25	0.05	0.60	0.11
18:2 n-6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.22	0.05	0.19	0.04	0.18	0.03	0.29	0.05	0.32	0.06	0.30	0.06	0.30	0.06	0.10	0.02	0.24	0.04	0.32	0.05	0.30	0.06	0.34	0.06
18:3 n-3	0.49	0.12	0.41	0.08	0.31	0.06	0.75	0.14	0.78	0.14	0.93	0.18	0.93	0.18	0.33	0.07	0.34	0.06	0.84	0.14	0.93	0.18	0.78	0.14
20:0	0.82	0.19	0.88	0.17	0.85	0.16	1.53	0.28	1.65	0.30	0.54	0.11	0.54	0.11	1.61	0.34	0.86	0.16	1.04	0.18	0.54	0.11	1.01	0.18
20:2 n-6	0.00	0.00	0.10	0.02	0.13	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.01	0.10	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
20:3 n-6	0.28	0.07	0.22	0.04	0.25	0.05	0.54	0.10	0.52	0.09	0.33	0.07	0.33	0.07	0.15	0.03	0.34	0.06	0.46	0.08	0.33	0.07	0.47	0.08
20:4 n-6	0.46	0.11	0.28	0.05	0.22	0.04	0.68	0.13	0.65	0.12	0.61	0.12	0.61	0.12	0.15	0.03	0.33	0.06	0.57	0.10	0.61	0.12	0.56	0.10
20:5 n-3	1.47	0.35	1.56	0.30	1.47	0.28	2.54	0.47	2.76	0.50	1.74	0.34	1.74	0.34	0.68	0.14	1.72	0.32	2.47	0.43	1.74	0.34	2.51	0.44
22:1	2.85	0.68	1.14	0.21	0.66	0.13	3.19	0.59	2.98	0.54	3.23	0.63	3.23	0.63	0.44	0.09	1.32	0.25	2.70	0.47	3.23	0.63	2.55	0.45
22:2	0.15	0.04	0.24	0.04	0.18	0.03	0.21	0.04	0.25	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.01	0.17	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22:5 n-3	18.35	4.37	16.89	3.20	18.07	3.46	34.72	6.40	36.13	6.53	26.69	5.22	26.69	5.22	9.90	2.08	23.86	4.48	36.52	6.30	26.69	5.22	36.05	6.35
24:0	0.43	0.10	0.43	0.08	0.00	0.00	0.86	0.16	0.78	0.14	0.65	0.13	0.65	0.13	0.22	0.05	0.00	0.00	0.85	0.15	0.65	0.13	0.87	0.15
22:6 n-3	86.02	20.48	98.52	18.65	90.71	17.38	142.67	26.31	150.49	27.19	133.54	26.10	133.54	26.10	51.98	10.93	115.21	21.64	175.34	30.24	133.54	26.10	171.67	30.23

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

	<i>A. mangrovei</i> BUCHRM 183		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 023		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 072		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 083		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 021		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 103		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 111		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 123		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 142		<i>A. mangrovei</i> BUCHSC 161		<i>A. mangrovei</i> BUCHRM 091		<i>A. mangrovei</i> BUCHRA 202	
Fatty acid	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.00	0.00	0.06	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	1.74	0.06	0.42	0.11	0.00	0.00	0.67	0.14	0.32	0.09	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
11:0	0.25	0.05	0.11	0.02	0.11	0.02	0.14	0.03	0.94	0.03	0.14	0.04	0.16	0.04	0.37	0.08	0.19	0.05	0.18	0.04	0.10	0.03	0.10	0.02
12:0	0.57	0.12	0.69	0.12	0.55	0.10	0.66	0.14	3.59	0.12	0.57	0.15	0.70	0.16	0.66	0.14	0.53	0.15	0.71	0.14	0.44	0.11	0.47	0.11
13:0	19.82	4.23	11.13	1.96	16.52	3.01	10.14	2.10	55.73	1.94	1.09	0.28	11.90	2.66	15.81	3.42	10.92	3.06	13.41	2.70	8.25	2.11	8.42	1.89
14:0	15.63	3.34	24.95	4.41	19.32	3.52	26.75	5.55	171.84	5.97	21.93	5.71	25.31	5.66	23.25	5.03	19.62	5.49	20.77	4.18	23.00	5.89	24.05	5.41
14:1	0.85	0.18	0.98	0.17	0.62	0.11	1.10	0.23	5.17	0.18	0.63	0.16	1.04	0.23	0.71	0.15	0.80	0.22	0.90	0.18	0.55	0.14	0.52	0.12
15:0	17.49	3.73	20.13	3.56	19.79	3.61	21.09	4.38	220.77	7.67	24.36	6.35	33.11	7.40	13.73	2.97	22.81	6.38	19.68	3.96	22.28	5.71	25.22	5.67
16:0	261.02	55.71	273.87	48.36	263.35	48.02	287.41	59.68	2169.81	75.38	282.62	73.65	275.89	61.67	243.46	52.66	245.58	68.71	259.30	52.23	267.03	68.38	294.52	66.26
16:1	1.28	0.27	1.36	0.24	1.08	0.20	1.45	0.30	9.70	0.34	0.92	0.24	1.15	0.26	1.35	0.29	1.17	0.33	1.17	0.24	0.84	0.22	0.92	0.21
17:0	5.64	1.20	5.05	0.89	6.06	1.11	5.31	1.10	60.35	2.10	6.70	1.74	7.61	1.70	3.83	0.83	5.86	1.64	5.37	1.08	5.70	1.46	6.89	1.55
17:1	0.79	0.17	0.99	0.18	0.94	0.17	1.15	0.24	0.65	0.02	0.14	0.04	0.54	0.12	0.78	0.17	0.20	0.06	1.05	0.21	0.35	0.09	0.35	0.08
18:0	6.92	1.48	6.93	1.22	6.95	1.27	6.32	1.31	62.26	2.16	7.77	2.02	6.22	1.39	6.12	1.32	5.83	1.63	5.99	1.21	6.53	1.67	7.13	1.60
18:1	0.70	0.15	0.72	0.13	0.53	0.10	0.85	0.18	5.91	0.21	0.62	0.16	0.32	0.07	0.32	0.07	0.69	0.19	0.42	0.08	0.45	0.12	0.44	0.10
18:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.21	0.05	0.39	0.07	0.32	0.06	0.27	0.06	0.00	0.00	0.07	0.02	0.14	0.03	0.27	0.06	0.09	0.03	0.28	0.06	0.16	0.04	0.11	0.03
18:3 n-3	0.66	0.14	0.75	0.13	0.86	0.16	0.59	0.12	1.67	0.06	0.32	0.08	0.21	0.05	0.63	0.14	0.25	0.07	0.66	0.13	0.20	0.05	0.25	0.06
20:0	0.65	0.14	1.24	0.22	0.92	0.17	0.65	0.13	14.12	0.49	1.07	0.28	0.98	0.22	0.99	0.21	1.03	0.29	0.74	0.15	0.96	0.24	1.14	0.26
20:2	0.05	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.01	1.51	0.05	0.12	0.03	0.07	0.01	0.05	0.01	0.48	0.13	0.03	0.01	0.10	0.03	0.06	0.01
20:3 n-6	0.35	0.07	0.47	0.08	3.90	0.71	0.30	0.06	0.44	0.02	0.29	0.08	0.19	0.04	0.40	0.09	0.00	0.00	0.34	0.07	0.15	0.04	0.17	0.04
20:4	0.31	0.07	0.48	0.09	0.46	0.08	0.31	0.06	0.00	0.00	0.00	0.00	0.23	0.05	0.35	0.08	0.00	0.00	0.42	0.08	0.22	0.06	0.22	0.05
20:5	1.72	0.37	2.54	0.45	2.23	0.41	1.58	0.33	5.08	0.18	0.52	0.13	1.24	0.28	1.99	0.43	0.45	0.13	1.88	0.38	5.67	1.45	0.68	0.15
22:1	1.24	0.26	1.97	0.35	2.15	0.39	1.30	0.27	10.77	0.37	0.65	0.17	0.87	0.19	1.25	0.27	0.47	0.13	1.94	0.39	0.69	0.18	0.98	0.22
22:2	0.00	0.00	0.32	0.06	0.42	0.08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.02	0.05	0.01
22:5	21.84	4.66	34.47	6.09	33.04	6.02	18.22	3.78	6.51	0.23	2.88	0.75	12.36	2.76	25.26	5.46	5.84	1.63	25.42	5.12	8.66	2.22	11.07	2.49
24:0	0.00	0.00	0.92	0.16	0.85	0.16	0.51	0.10	0.00	0.00	0.06	0.02	0.26	0.06	0.67	0.15	0.13	0.04	0.66	0.13	0.15	0.04	0.21	0.05
22:6	101.98	21.76	165.43	29.21	161.09	29.37	87.39	18.15	24.28	0.84	13.62	3.55	61.06	13.65	111.92	24.21	28.31	7.92	125.25	25.23	37.21	9.53	54.35	12.23

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

	<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 102		<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 121		<i>A. mangrovei</i> BUCHCD 162		<i>A. mangrovei</i> BUCHHT 092		<i>A. mangrovei</i> BUCHHT 172		<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 072		<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 073		<i>A. mangrovei</i> BUCHLR 083		<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 032		<i>A. mangrovei</i> BUCHTP 051	
Fatty acid	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.42	0.09	0.00	0.00	0.49	0.12	0.00	0.00	0.08	0.01	0.07	0.01	0.00	0.00	0.23	0.05
11:0	0.07	0.01	0.05	0.01	0.25	0.05	0.06	0.02	0.15	0.04	0.10	0.03	0.08	0.01	0.09	0.02	0.00	0.00	0.15	0.03
12:0	0.54	0.10	0.26	0.05	0.49	0.11	0.22	0.07	0.99	0.24	0.48	0.12	0.81	0.13	0.54	0.11	0.38	0.08	0.41	0.08
13:0	8.56	1.53	3.69	0.77	7.81	1.69	4.99	1.50	13.78	3.39	5.50	1.44	5.19	0.82	8.54	1.70	5.14	1.02	9.50	1.93
14:0	22.49	4.03	13.68	2.86	19.58	4.24	13.07	3.93	31.14	7.66	17.15	4.48	29.51	4.68	17.71	3.53	17.08	3.39	19.25	3.91
14:1	0.63	0.11	0.44	0.09	0.76	0.16	0.49	0.15	0.92	0.23	0.48	0.12	0.83	0.13	0.81	0.16	0.49	0.10	0.68	0.14
15:0	19.31	3.46	16.39	3.43	16.92	3.66	15.03	4.52	26.34	6.48	12.41	3.24	22.32	3.54	17.79	3.54	16.23	3.22	19.99	4.06
16:0	290.03	51.90	218.47	45.75	261.94	56.68	226.10	67.95	281.91	69.40	185.79	48.49	310.50	49.22	223.43	44.50	264.24	52.46	276.06	56.05
16:1	0.16	0.03	0.98	0.20	1.28	0.28	1.03	0.31	1.11	0.27	0.82	0.21	1.28	0.20	1.23	0.25	1.02	0.20	1.17	0.24
17:0	6.83	1.22	6.10	1.28	7.14	1.54	5.44	1.63	5.72	1.41	4.32	1.13	7.24	1.15	5.56	1.11	5.46	1.08	6.71	1.36
17:1	1.10	0.20	0.71	0.15	0.85	0.18	0.25	0.08	0.21	0.05	0.46	0.12	0.78	0.12	0.95	0.19	0.61	0.12	0.54	0.11
18:0	8.68	1.55	8.19	1.71	8.62	1.87	7.04	2.12	6.81	1.68	5.87	1.53	9.24	1.46	6.99	1.39	8.16	1.62	8.84	1.79
18:1	0.39	0.07	0.58	0.12	0.44	0.09	1.05	0.32	0.46	0.11	0.47	0.12	0.67	0.11	0.60	0.12	0.44	0.09	0.83	0.17
18:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.35	0.06	0.32	0.07	0.26	0.06	0.12	0.04	0.11	0.03	0.23	0.06	0.38	0.06	0.39	0.08	0.34	0.07	0.30	0.06
18:3 n-3	0.95	0.17	0.73	0.15	0.74	0.16	0.31	0.09	0.24	0.06	0.54	0.14	0.83	0.13	0.74	0.15	0.71	0.14	0.65	0.13
20:0	2.00	0.36	2.15	0.45	2.20	0.48	1.92	0.58	1.61	0.40	1.26	0.33	1.94	0.31	1.87	0.37	1.75	0.35	1.93	0.39
20:2	0.00	0.00	0.03	0.01	0.00	0.00	0.14	0.04	0.13	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	0.00	0.00	0.06	0.01
20:3 n-6	0.53	0.09	0.51	0.11	0.41	0.09	0.14	0.04	0.09	0.02	0.39	0.10	0.63	0.10	0.58	0.12	0.55	0.11	0.44	0.09
20:4	0.64	0.11	0.69	0.15	0.40	0.09	0.16	0.05	0.13	0.03	0.44	0.12	0.71	0.11	0.58	0.12	0.70	0.14	0.63	0.13
20:5	2.88	0.52	2.87	0.60	2.45	0.53	0.54	0.16	0.58	0.14	2.13	0.55	3.28	0.52	2.91	0.58	2.63	0.52	2.40	0.49
22:1	2.76	0.49	3.16	0.66	1.44	0.31	0.58	0.17	0.35	0.09	1.94	0.51	3.15	0.50	2.39	0.48	2.98	0.59	2.75	0.56
22:2	0.00	0.00	0.16	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.20	0.05	0.32	0.05	0.26	0.05	0.27	0.05	0.19	0.04
22:5	34.69	6.21	35.88	7.51	23.55	5.10	7.59	2.28	4.74	1.17	25.85	6.75	41.87	6.64	37.98	7.57	34.28	6.81	26.13	5.31
24:0	0.00	0.00	0.84	0.18	0.54	0.12	0.14	0.04	0.11	0.03	0.65	0.17	0.99	0.16	1.04	0.21	0.00	0.00	0.61	0.12
22:6	145.55	26.04	148.43	31.09	90.53	19.59	37.23	11.19	20.95	5.16	107.39	28.03	175.25	27.78	157.11	31.29	129.53	25.71	103.18	20.95

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

Fatty acid	<i>A. limacinum</i> BUCHAA 021		<i>A. limacinum</i> BUCHAA 082		<i>A. limacinum</i> BUCHAO 062		<i>A. limacinum</i> BUCHRM 052		<i>A. limacinum</i> BUCHRM 201		<i>A. limacinum</i> BUCHSC 091		<i>A. limacinum</i> BUCHRM 073		<i>A. limacinum</i> BUCHRM 113		<i>A. limacinum</i> BUCHRA 052		<i>A. limacinum</i> BUCHRA 161		<i>A. limacinum</i> BUCHHT 093	
	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.09	0.02	0.04	0.01	0.00	0.00	0.15	0.02	0.48	0.09	0.57	0.14	0.39	0.08	0.30	0.07	0.13	0.03	0.00	0.00	0.31	0.09
11:0	0.16	0.04	0.06	0.01	0.08	0.01	0.14	0.02	0.35	0.07	0.34	0.08	0.28	0.06	0.17	0.04	0.00	0.00	0.13	0.03	0.22	0.07
12:0	0.35	0.09	0.46	0.08	0.46	0.08	0.85	0.10	0.78	0.15	0.78	0.19	0.61	0.13	0.56	0.13	0.43	0.11	0.45	0.10	0.72	0.22
13:0	11.89	2.94	3.59	0.63	4.23	0.74	18.08	2.13	14.01	2.68	11.39	2.73	12.80	2.66	9.25	2.14	11.53	2.88	13.60	2.89	7.96	2.41
14:0	15.50	3.83	20.43	3.61	18.96	3.30	40.70	4.79	31.31	5.98	24.24	5.80	22.13	4.59	21.74	5.02	18.87	4.72	23.30	4.95	23.61	7.14
14:1	0.43	0.11	0.68	0.12	0.73	0.13	1.25	0.15	0.87	0.17	0.74	0.18	1.26	0.26	0.51	0.12	0.50	0.12	0.60	0.13	0.68	0.20
15:0	33.87	8.38	17.50	3.09	24.68	4.30	35.42	4.17	20.86	3.99	18.67	4.47	26.44	5.49	15.39	3.56	26.34	6.59	35.65	7.58	23.69	7.17
16:0	221.01	54.66	284.09	50.16	268.49	46.78	464.45	54.70	314.62	60.12	249.38	59.70	261.36	54.24	265.27	61.31	253.69	63.43	313.70	66.69	245.55	74.32
16:1	0.90	0.22	1.18	0.21	1.14	0.20	2.17	0.26	1.17	0.22	1.08	0.26	1.64	0.34	0.91	0.21	0.89	0.22	0.99	0.21	0.93	0.28
17:0	8.06	1.99	5.08	0.90	6.75	1.18	10.11	1.19	5.06	0.97	4.65	1.11	6.46	1.34	4.73	1.09	6.99	1.75	8.48	1.80	5.74	1.74
17:1	0.35	0.09	0.92	0.16	0.97	0.17	1.72	0.20	0.85	0.16	0.74	0.18	0.68	0.14	0.46	0.11	0.21	0.05	0.44	0.09	0.08	0.02
18:0	5.57	1.38	8.38	1.48	6.89	1.20	11.91	1.40	6.96	1.33	6.04	1.45	6.82	1.42	7.35	1.70	6.90	1.73	7.53	1.60	6.33	1.92
18:1	0.83	0.20	0.85	0.15	0.74	0.13	1.03	0.12	0.56	0.11	0.45	0.11	0.99	0.21	0.31	0.07	0.60	0.15	0.65	0.14	0.45	0.14
18:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.15	0.04	0.27	0.05	0.28	0.05	0.60	0.07	0.22	0.04	0.15	0.04	0.18	0.04	0.13	0.03	0.12	0.03	0.14	0.03	0.06	0.02
18:3 n-3	0.39	0.10	0.80	0.14	0.84	0.15	1.32	0.16	0.77	0.15	0.47	0.11	0.52	0.11	0.27	0.06	0.28	0.07	0.31	0.07	0.12	0.04
20:0	0.96	0.24	1.89	0.33	0.92	0.16	1.80	0.21	0.77	0.15	0.75	0.18	1.13	0.23	1.61	0.37	1.45	0.36	1.33	0.28	1.46	0.44
20:2	0.05	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.09	0.01	0.00	0.00	0.08	0.02	0.00	0.00	0.08	0.02	0.06	0.01	0.05	0.01	0.15	0.05
20:3 n-6	0.22	0.06	0.42	0.07	0.46	0.08	0.78	0.09	0.26	0.05	0.24	0.06	0.29	0.06	0.20	0.05	0.14	0.04	0.14	0.03	0.11	0.03
20:4	0.37	0.09	0.55	0.10	0.54	0.09	0.78	0.09	0.28	0.05	0.23	0.05	0.42	0.09	0.23	0.05	0.23	0.06	0.23	0.05	0.09	0.03
20:5	1.36	0.34	2.79	0.49	2.37	0.41	3.54	0.42	1.53	0.29	1.32	0.32	0.49	0.10	1.42	0.33	0.74	0.18	0.62	0.13	0.59	0.18
22:1	2.44	0.60	2.82	0.50	2.65	0.46	2.99	0.35	1.11	0.21	0.82	0.20	1.38	0.29	1.14	0.26	0.84	0.21	1.11	0.24	1.02	0.31
22:2	0.13	0.03	0.22	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05	0.01	0.00	0.00	0.10	0.02	0.10	0.02	0.08	0.02	0.00	0.00
22:5	15.59	3.86	34.42	6.08	37.71	6.57	42.02	4.95	18.85	3.60	15.10	3.61	19.61	4.07	15.11	3.49	10.12	2.53	9.30	1.98	1.37	0.41
24:0	0.31	0.08	0.74	0.13	0.00	0.00	1.15	0.14	0.53	0.10	0.34	0.08	0.40	0.08	0.38	0.09	0.21	0.05	0.18	0.04	0.00	0.00
22:6	78.18	19.34	168.04	29.67	184.49	32.15	191.07	22.50	92.79	17.73	72.02	17.24	106.47	22.10	77.04	17.81	51.61	12.90	45.34	9.64	4.71	1.43

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

Fatty acids	Aurantiochytrium sp.1 BUCHAA 153		Aurantiochytrium sp.1 BUCHAO 091		Aurantiochytrium sp.1 BUCHAO 103		Aurantiochytrium sp.2 BUCHAO 101		Aurantiochytrium sp.5 BUCHAA 052		Aurantiochytrium sp.5 BUCHAA 102		Aurantiochytrium sp.5 BUCHAM 023		Aurantiochytrium sp.5 BUCHAM 033		Aurantiochytrium sp.5 BUCHAM 091		Aurantiochytrium sp.5 BUCHLR 111		Unknown 1 BUCHAM 173	
	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.05	0.02	0.09	0.09	0.09	0.15	0.09	0.09	0.48	0.12	0.37	0.08	0.12	0.03	0.63	0.15	0.50	0.11	0.00	0.00	0.42	0.10
11:0	0.10	0.05	0.01	0.01	0.01	0.11	0.01	0.01	0.27	0.07	0.24	0.05	0.17	0.04	0.46	0.11	0.22	0.05	0.07	0.02	0.32	0.08
12:0	0.06	0.03	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.46	0.11	0.59	0.13	0.48	0.11	0.57	0.14	0.59	0.13	0.50	0.12	0.41	0.10
13:0	3.47	1.81	3.53	3.53	3.53	4.06	3.53	3.53	8.13	1.99	10.45	2.23	6.95	1.55	6.65	1.58	14.08	3.11	5.00	1.19	8.13	2.05
14:0	3.04	1.59	1.99	1.99	1.99	2.15	1.99	1.99	22.22	5.43	27.29	5.82	17.26	3.84	21.52	5.12	19.71	4.35	19.12	4.54	15.90	4.00
14:1	14.21	7.43	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.52	0.13	0.85	0.18	0.86	0.19	0.88	0.21	0.66	0.15	0.61	0.14	0.69	0.17
15:0	118.88	62.21	2.57	2.57	2.57	4.73	2.57	2.57	15.02	3.67	22.17	4.73	17.31	3.85	18.23	4.33	13.97	3.08	11.40	2.71	14.82	3.73
16:0	4.43	2.32	73.10	73.10	73.10	64.09	73.10	73.10	257.35	62.85	308.14	65.69	219.97	48.90	273.03	64.90	274.12	60.54	227.48	53.98	227.31	57.24
16:1	9.39	4.91	0.88	0.88	0.88	1.57	0.88	0.88	0.92	0.22	1.43	0.31	1.16	0.26	1.22	0.29	1.11	0.24	1.06	0.25	1.15	0.29
17:0	0.31	0.16	1.54	1.54	1.54	2.43	1.54	1.54	4.20	1.03	5.96	1.27	4.85	1.08	5.16	1.23	4.48	0.99	3.40	0.81	4.57	1.15
17:1	5.56	2.91	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.38	0.09	0.47	0.10	0.80	0.18	0.35	0.08	0.44	0.10	0.61	0.15	0.82	0.21
18:0	9.41	4.92	3.09	3.09	3.09	2.76	3.09	3.09	6.69	1.63	7.61	1.62	5.72	1.27	6.94	1.65	7.26	1.60	6.37	1.51	6.17	1.55
18:1	0.00	0.00	0.90	0.90	0.90	2.93	0.90	0.90	0.37	0.09	0.91	0.19	0.78	0.17	0.75	0.18	0.86	0.19	0.42	0.10	0.73	0.18
18:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.13	0.07	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.17	0.04	0.13	0.03	0.25	0.06	0.13	0.03	0.21	0.05	0.21	0.05	0.20	0.05
18:3 n-3	0.12	0.06	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.48	0.12	0.33	0.07	0.61	0.14	0.34	0.08	0.42	0.09	0.43	0.10	0.47	0.12
20:0	0.66	0.34	0.64	0.64	0.64	0.50	0.64	0.64	1.31	0.32	1.06	0.23	1.02	0.23	1.07	0.26	1.14	0.25	1.31	0.31	1.09	0.27
20:2	0.05	0.02	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.00	0.00	0.07	0.01	0.00	0.00	0.07	0.02	0.06	0.01	0.04	0.01	0.00	0.00
20:3 n-6	0.05	0.02	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.21	0.05	0.21	0.04	0.36	0.08	0.29	0.07	0.28	0.06	0.32	0.08	0.27	0.07
20:4	0.18	0.09	0.06	0.06	0.06	0.12	0.06	0.06	0.25	0.06	0.24	0.05	0.46	0.10	0.24	0.06	0.31	0.07	0.36	0.09	0.33	0.08
20:5	0.25	0.13	0.24	0.24	0.24	0.22	0.24	0.24	0.60	0.15	1.32	0.28	2.00	0.44	1.26	0.30	1.60	0.35	1.84	0.44	1.59	0.40
22:1	0.44	0.23	0.15	0.15	0.15	0.33	0.15	0.15	1.09	0.27	1.16	0.25	2.20	0.49	1.07	0.25	1.10	0.24	1.57	0.37	1.45	0.37
22:2	0.00	0.00	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.00	0.00	0.10	0.02	0.00	0.00	0.13	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
22:5	3.50	1.83	1.73	1.73	1.73	2.20	1.73	1.73	14.49	3.54	12.00	2.56	26.11	5.80	11.75	2.79	18.83	4.16	22.07	5.24	17.97	4.52
24:0	0.19	0.10	0.10	0.10	0.10	0.12	0.10	0.10	0.20	0.05	0.17	0.04	0.00	0.00	0.28	0.07	0.23	0.05	0.22	0.05	0.26	0.07
22:6	11.56	6.05	5.81	5.81	5.81	7.24	5.81	5.81	64.86	15.84	59.40	12.66	123.72	27.50	57.73	13.72	80.80	17.84	103.44	24.55	80.82	20.35

ตารางภาคผนวกที่ 1 (ต่อ)

Fatty acids	Unknown 2 BUCHAM 012		Unknown 2 BUCHAM 083		Unknown 2 BUCHAM 111		Unknown 2 BUCHAM 162		Unknown 2 BUCHAM 191		Unknown 2 BUCHAM 192		Unknown 2 BUCHAM 201		Unknown 2 BUCHCD 091		Unknown 2 BUCHCD 103	
	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA	mg/g dry wt.	% of FA
10:0	0.00	0.00	0.11	0.03	0.44	0.18	0.22	0.07	0.00	0.00	1.02	0.35	0.37	0.10	0.07	0.02	0.53	0.13
11:0	0.15	0.05	0.70	0.20	0.15	0.06	0.65	0.20	0.10	0.02	0.20	0.07	0.21	0.06	0.07	0.02	0.35	0.09
12:0	0.25	0.08	0.50	0.14	0.00	0.00	0.45	0.14	0.40	0.08	0.44	0.15	0.00	0.00	0.33	0.09	0.55	0.13
13:0	7.92	2.51	6.68	1.92	5.23	2.11	9.52	2.95	6.41	1.34	10.67	3.61	4.99	1.31	4.81	1.24	6.82	1.66
14:0	12.22	3.88	16.81	4.82	9.52	3.84	15.03	4.66	17.11	3.58	13.50	4.57	13.71	3.60	16.04	4.12	20.25	4.94
14:1	0.49	0.16	0.58	0.17	0.24	0.10	0.60	0.19	0.57	0.12	0.57	0.19	0.47	0.12	0.58	0.15	0.55	0.13
15:0	12.66	4.01	12.07	3.46	17.09	6.89	14.39	4.46	12.42	2.60	16.47	5.58	9.83	2.58	12.36	3.18	16.15	3.94
16:0	191.19	60.62	250.14	71.72	187.33	75.54	210.36	65.17	240.02	50.18	218.95	74.14	208.04	54.67	224.79	57.79	263.49	64.22
16:1	0.91	0.29	0.92	0.26	0.71	0.29	1.16	0.36	1.06	0.22	0.59	0.20	0.93	0.25	2.98	0.77	1.03	0.25
17:0	4.03	1.28	4.08	1.17	5.44	2.19	4.58	1.42	3.93	0.82	4.96	1.68	3.54	0.93	4.81	1.24	5.03	1.23
17:1	0.32	0.10	0.32	0.09	0.04	0.02	0.27	0.08	0.62	0.13	0.11	0.04	0.39	0.10	0.47	0.12	0.29	0.07
18:0	5.42	1.72	6.43	1.84	5.72	2.31	5.77	1.79	6.61	1.38	5.97	2.02	6.27	1.65	7.46	1.92	0.74	0.18
18:1	0.56	0.18	0.45	0.13	0.13	0.05	0.47	0.15	0.00	0.00	0.19	0.06	0.41	0.11	3.74	0.96	0.60	0.15
18:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
18:3 n-6	0.12	0.04	0.10	0.03	0.00	0.00	0.11	0.04	0.29	0.06	0.06	0.02	0.19	0.05	0.26	0.07	0.17	0.04
18:3 n-3	0.28	0.09	0.33	0.10	0.13	0.05	0.29	0.09	0.60	0.13	0.19	0.06	0.43	0.11	0.45	0.12	0.38	0.09
20:0	1.17	0.37	1.30	0.37	1.12	0.45	1.21	0.38	1.16	0.24	1.29	0.44	1.81	0.48	1.26	0.32	1.78	0.43
20:2	0.08	0.02	0.08	0.02	0.09	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11	0.04	0.00	0.00	0.10	0.03	0.00	0.00
20:3 n-6	0.17	0.06	0.14	0.04	0.00	0.00	0.16	0.05	0.43	0.09	0.07	0.02	0.32	0.08	0.22	0.06	0.25	0.06
20:4	0.20	0.06	0.20	0.06	0.00	0.00	0.16	0.05	0.46	0.10	0.08	0.03	0.35	0.09	0.45	0.12	0.31	0.07
20:5	0.70	0.22	0.42	0.12	0.45	0.18	0.55	0.17	2.15	0.45	0.51	0.17	1.81	0.48	1.54	0.40	1.47	0.36
22:1	0.85	0.27	0.56	0.16	0.10	0.04	0.60	0.19	1.90	0.40	0.20	0.07	1.47	0.39	1.89	0.49	1.25	0.30
22:2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.12	0.03	0.15	0.04	0.09	0.02
22:5	11.80	3.74	7.71	2.21	1.25	0.51	9.36	2.90	30.52	6.38	2.06	0.70	21.70	5.70	16.72	4.30	14.36	3.50
24:0	0.15	0.05	0.09	0.03	0.00	0.00	0.15	0.05	0.77	0.16	0.06	0.02	0.29	0.08	0.33	0.09	0.20	0.05
22:6	55.46	17.58	31.31	8.98	5.19	2.09	38.11	11.81	136.46	28.53	8.88	3.01	94.92	24.94	77.69	19.97	57.86	14.10