สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานการวิจัย

ความหลากหลายทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้ทรอสโทไคตริดส์ จากป่าชายเลนเป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

Biodiversity of thraustochytrids from mangrove forest and its application as the food source of highly unsaturated fatty acids in aquaculture

สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และ เศรษฐวัชร ฉ่ำศาสตร์

เริ่มบริการ
1 ก.ย. 255
16 ส.ค. 2552 BKA 7626
255355

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2551

คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

ประกาศคุณูปการ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2551 มหาวิทยาลัยบูรพา ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์และโครงการจัดตั้งบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบคุณ คุณคณิฎฐา เอี่ยมละออ คุณอุทุมพร อุ่ยยก คุณหาญณรงศ์ ชูพูล คุณผาณิต จันโอกุล คุณโสพิศ มะสะ คุณหนึ่งฤทัย คำถนอม คุณพระรถ ใจแจ้ง ที่ช่วยในการเก็บตัวอย่างและศึกษาในห้องปฏิบัติการจนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

สมถวิล จริตควร
สุดารัตน์ สวนจิตร
เศรษวัตร ฉ่ำศาสตร์

พฤษภาคม 2552

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา จากจำนวนพันธุ์ไม้ทั้งหมด 5 ชนิด พบทรอสโทไคตริดส์ทั้งสิ้น 687 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 2 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum* (*Schizochytrium limacinum*) และ *Ulkenia visurgensis* โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ *A.mangrovei* รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *Ulkenia visurgensis* ตามลำดับ เมื่อพิจารณาพันธุ์ไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด พบว่าตาตุ่มทะเลมีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ (Frequency of Occurrence) สูงสุดเท่ากับร้อยละ 43 รองลงมาคือแสมทะเล (ร้อยละ 39) โพทะเล (ร้อยละ 35) โกงกางใบใหญ่ (ร้อยละ 34) และโกงกางใบเล็ก (ร้อยละ 27) ตามลำดับ โดยพบ *A. mangrovei* สูงสุดที่ใบแสมทะเล (53.33 %) และ *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบใหญ่ (38.33 %) ส่วน *Ulkenia visurgensis* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบเล็ก (18.33 %)

สำหรับกรดไขมันชนิดเด่นๆ ที่พบในทรอสโทไคตริดส์ พบว่า *A. limacinum* มีปริมาณดีเอชเอสูงเท่ากับ 0.93-197.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-42.44 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A.mangrovei* มีดีเอชเออยู่ในช่วง 5.12-195.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (2.76-41.14% ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอและอีพีเอพบค่อนข้างมากใน *U. visurgensis* โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0-6.93 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-10.48 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-2.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-3.24 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0-35.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-9.46 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-40.58 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-11.92 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ส่วนมวลชีวภาพของทรอสโทไคตริดส์ทั้ง 3 ชนิดพบว่า *A. mangrovei* มีสูงสุด (6.05-21.55 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visurgensis* มีค่าอยู่ในช่วง 3.83-21.18 กรัม/ลิตร และ 6.73-19.86 กรัม/ลิตร ตามลำดับ จะเห็นว่าทรอสโทไคตริดส์มีศักยภาพสูงในการเป็นแหล่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำต่อไป

คำสำคัญ: ทรอสโทไคตริดส์, กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง, กรดไขมันชนิดดีเอชเอ, ป่าชายเลน

ABSTRACT

Screening and isolation of thraustochytrids from fallen senescent leaves of 5 mangrove trees collected from Chachoengsao Province. A total of 687 thraustochytrid isolates were obtained, classified into 2 genera and 3 species, namely, *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum* (*Schizochytrium limacinum*) and *Ulkenia visurgensis*. The dominant species found in this area was *A.mangrovei*, followed by *A. limacinum* and *Ulkenia visurgensis*, respecially. Considering with mangrove trees, *Excoeoaria agallocha* had the highest frequency of occurrence of thraustochytrids (43 %), followed by *Avicennia marina* (39 %), *Thespesie populnea* (35 %), *Rhizophora mucronata* (34 %), and *Rhizophora apiculata* (27 %), respectively. The most abundance of *A. mangrovei* found in *Avicennia marina* (53.33 %), while *A. limacinum* and *Ulkenia visurgensis* were highest in *Rhizophora mucronata* (38.33 %), and *Rhizophora apiculata* (18.33 %), respectively.

For the fatty acid composition in thraustochytrids, high levels of DHA (Docosahexaenoic acid) were found in *A. limacinum* and *A. mangrovei* which represented as 0.93-197.02 mg/g dry weight (0-42.44 % of total fatty acid) and 5.12-195.18 mg/g dry weight (2.76-41.14 % of total fatty acid), respectively. ArA (Arachidonic acid) and EPA (eicosapentaenoic acid) was the highest fatty acid found in *U. visurgensis* as 0-6.93 mg/g dry weight (0-10.48 % of total fatty acids) and 0-2.63 mg/g dry weight (0-3.24 % of total fatty acids), respectively. High levels of DPA (Docosapentaenoic acid) were revealed in *A. limacinum* and *A. mangrovei* as 0-35.19 mg/g dry weight (0-9.46 % of total fatty acid) and 0-40.58 mg/g dry weight (0-11.92 % of total fatty acid), respectively. For the biomass of these 3 thraustochytrids, it was showed that the biomass of *A. mangrovei* was 6.05-21.55 g/L, while *A. limacinum* and *U. visurgensis* was revealed as 3.83-21.18 g/L, and 6.73-19.86 g/L, respectively. It is indicated that these strains possesses the applicability for the production of polyunsaturated fatty acids in aquaculture.

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

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่	
1 บทนำ	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
สมมติฐานของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	3
สถานที่ทำการทดลอง	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
ทรอสโทไคตริดส์	4
การแพร่กระจายทรอสโทไคตริดส์	23
ป่าชายเลน	25
กรดไขมัน	27
การจำแนกประเภทของกรดไขมัน	28
ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3	30
การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทไคตริดส์	33
แหล่งที่สำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3	40
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	41
3 วิธีดำเนินการวิจัย	52
การคัดแยกและจำแนกเชื้อทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา	52
4 ผลการทดลอง	60

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
5 อภิปราย สรุป และข้อเสนอแนะ	79
รายการอ้างอิง	88
ภาคผนวก	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2-1	ทรอสโทไดตริดส์ที่พบจากซับสเตรท และสถานที่ที่แตกต่างกัน	23
2-2	กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ (%โดยน้ำหนัก)	31
3-1	อุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการ	56
4-1	พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่นำมาคัดแยกทรอสโทไดตริดส์	59
4-2	คุณภาพน้ำบางประการบริเวณป่าชายเลน	59
4-3	ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทไดตริดส์ ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา	63
4-4	ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทไดตริดส์ที่เลี้ยงในอาหารเหลว	64
4-5	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง	70
4-6	ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง)	74
4-7	มวลชีวภาพของทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	73
5-1	ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทไดตริดส์	84
ภาคผนวก 1	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1	99
ภาคผนวก 2	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2	100
ภาคผนวก 3	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3	101
ภาคผนวก 4	ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	102
ภาคผนวก 5	ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	103
ภาคผนวก 6	ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	104

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2-1	(I) ลักษณะขนแบบทินเซิล (II) ผนังเซลล์ทรอสโทไคตริดส์	6
2-2	วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ของทรอสโทไคตริดส์	7
2-3	วงจรชีวิตของทรอสโทไคตริดส์และลาบิรินทูริดส์	9
2-4	(I) เอคโตพลาสมิคเนทจากเซลล์ปกติ (II) ลักษณะซูโอสปอร์ (III) อะมิบอยด์เซลล์ของ *Shizochytrium limacinum* (IV) ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Schizochytrium mangrovei* O = Octad)	11
2-5	คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ระดับสกุล	11
2-6	ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงกลุ่มเซลล์กำลังแบ่งแบบเซลล์จากหนึ่งเป็นสองใน อาหาร-เอช (medium-H)	13
2-7	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Aurantiochytrium* spp.	14
2-8	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Shizochytrium* sensu stricto	15
2-9	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Oblongichytrium* sp. SEK 347.	16
2-10	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Ulkenia* clade strains	18
2-11	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Sicyoidochytrium* clade strains	19
2-12	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Botryochytrium* clade strains	20
2-13	ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Parietichytrium* clade strains	21
2-14	แนวเขตการขึ้นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน	26
2-15	วงจรโซ่อาหารในป่าชายเลน	27
2-16	การนับตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว	28
2-17	วิถีของการสร้างกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 และเมตาบอลิซึมในมนุษย์	33
2-18	วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (desaturation และ elongation) ใน *Thraustochytrium* และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม	35
2-19	วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจนของ *Schizochytrium*	36
2-20	ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน	37
2-21	การสังเคราะห์และการเผาผลาญคีโตนบอดี	38
2-22	กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในจุลินทรีย์ (elongation-desaturation)	39
3-1	พื้นที่เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา	54

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3-2	สถานที่เก็บตัวอย่าง	55
3-3	คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับครอบครัวและจีนัสของทรอสโทไคตริดส์อันดับ Labyrinthulales คลาส Labyrinthulomycetes	58
4-1	(ก) ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium mangrovei* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน (ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Aurantiochytrium mangrovei* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน	61
4-2	ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium mangrovei* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	62
4-3	(ก) ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium limacinum* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน (ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Aurantiochytrium limacinum* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน	65
4-4	ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium limacinum* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	66
4-5	(ก) ลักษณะโคโลนีของ *Ulkenia visurgensis* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน (ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Ulkenia visurgensis* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน	67
4-6	ลักษณะเซลล์ของ *Ulkenia visurgensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า	68
4-7	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา	71
4-8	เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา	72
4-9	ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง)	75
4-10	สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	76
4-11	สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	77

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4-12	สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	78
ภาคผนวก 1	ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	105
ภาคผนวก 2	ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	106
ภาคผนวก 3	ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	107
ภาคผนวก 4	ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	108
ภาคผนวก 5	ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	109
ภาคผนวก 6	ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	110
ภาคผนวก 7	ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	111
ภาคผนวก 8	ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	112
ภาคผนวก 9	ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	113

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
ภาคผนวก 10 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	114
ภาคผนวก 11 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	115
ภาคผนวก 12 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	116
ภาคผนวก 13 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)	117
ภาคผนวก 14 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)	118
ภาคผนวก 15 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)	119

บทที่ 1
บทนำ

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ทะเลในป่าชายเลน ส่วนใหญ่ทำการศึกษาในกลุ่มแบคทีเรีย รา และยีสต์ แต่ยังมีจุลินทรีย์ทะเลอีกมากมายในประเทศไทยที่ยังไม่ได้ทำการศึกษา หนึ่งในจำนวนนั้นได้แก่ทรอสโทไคตริดส์ (Thraustochytrids) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ทะเลที่เคยจัดเป็นกลุ่มหนึ่งของราทะเล แต่ปัจจุบันถูกจัดอยู่ใน Kingdom Straminipila (Moss, 1986) สำหรับการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์จากแหล่งต่างๆ ทั้งจากต่างประเทศและประเทศไทยมีน้อยมาก (Jaritkhuan *et al.*, 2004, 2005; Chatdumrong *et al.*, 2004) โดยเฉพาะในประเทศไทยที่มีรายงานเกี่ยวกับทรอสโทไคตริดส์ไม่เกิน 10 ปีที่ผ่านมานี้เอง จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจถึงความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์บริเวณป่าชายเลนในประเทศไทย เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางวิชาการที่สำคัญในด้านความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตในประเทศไทยต่อไป

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

อย่างไรก็ตามตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่นำมาผลิตในเชิงพาณิชย์นั้นสกัดจากน้ำมันปลาและน้ำมันตับปลา แต่เนื่องจากชนิดของปลาที่นำมาสกัดกรดไขมัน รวมถึงแหล่งและฤดูกาลที่จับ มีผลต่อปริมาณและชนิดของกรดไขมัน ทำให้การควบคุมคุณภาพ

ของกรดไขมันทำได้ค่อนข้างยาก นอกจากนั้นการมีกลิ่นคาวปลาในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้บริโภคบางกลุ่ม และน้ำมันปลามีกรดไขมันหลากหลายชนิดทำให้ยากต่อการแยกกรดไขมันชนิดที่ต้องการให้บริสุทธิ์ได้ และน้ำมันปลายังถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายทำให้คุณภาพลดน้อยลงอีกด้วย (Sargent *et al.*, 1999) จากปัญหาข้างต้นทำให้มนุษย์หันมาคัดเลือกหาสายพันธุ์สิ่งมีชีวิตที่มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง เพื่อเป็นแหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันดังกล่าว

จุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ 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 นอกจากนั้นทรอสโทไคตริดส์มีกลิ่นน้อยมากเมื่อเทียบกับน้ำมันปลา สามารถควบคุมคุณภาพของกรดไขมันได้ และมีปริมาณดีเอชเอสูงกว่าที่พบในน้ำมันปลาอีกด้วย (Nakahara *et al.*, 1996) ในแง่ของการควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการผลิตภายใต้สภาวะควบคุมในห้องปฏิบัติการจะสามารถทำให้การผลิตในเชิงการค้าทำได้ง่ายและสะดวกยิ่งขึ้น

ปัจจุบันได้มีการนำทรอสโทไคตริดส์มาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยนำมาเลี้ยงอาร์ทีเมีย แล้วนำอาร์ทีเมียที่อุดมไปด้วยดีเอชเอนี้ไปเลี้ยงลูกกุ้งและลูกปลา มีผลทำให้ลูกกุ้งและลูกปลามีปริมาณดีเอชเอสูงตามไปด้วยในลักษณะของการถ่ายทอดตามห่วงโซ่อาหาร และสามารถนำทรอสโทไคตริดส์ไปผสมเป็นอาหารเม็ดในการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำวัยรุ่น เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอชเอในตัวกุ้งให้สูงขึ้นได้ดีอีกด้วย (Jaritkhuan *et al.*, 1998; Jaritkhuan and Jones, 1999; Jaritkhuan and Jones, 2001, Jaritkhuan, 2002; สมถวิล จริตควร และ Jones, 2550)

สำหรับการศึกษาอนุกรมวิธานของทรอสโทไคตริดส์ในปัจจุบันยังมีน้อยมาก โดยอาศัยจัดจำแนกจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นหลัก เช่น ลักษณะเซลล์ในระยะการเจริญ (vegetative cells) การสร้างเอคโตพลาสมิคเนท (ectoplasmic net หรือ EN) ลักษณะซูโอสปอร์-แรงเจียม (zoosporangium) การสร้างซูโอสปอร์ (zoospores) รูปแบบการปล่อยซูโอสปอร์ออกจากซูโอสปอร์แรงเจียม การสร้างรงควัตถุ เป็นต้น (Goldstein & Belsky, 1964; Ulken, Jackle, & Bahnweg, 1985; Ranghukumar, 1988; 1992; Ranghukumar & Geartner, 1992; Moo, Douck and Rinkevich, 2002; Leander *et al.*, 2004)

จากการที่ประเทศไทยมีการศึกษาทรอสโทไคตริดส์น้อยมาก หรืออาจกล่าวได้ว่ายังอยู่ในระยะเริ่มต้น รวมทั้งยังขาดบุคลากรที่มีทักษะและความชำนาญในด้านนี้ ดังนั้นในการศึกษาครั้ง

นี้จึงมุ่งเน้นศึกษาถึงชนิดและปริมาณของทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน เพื่อเป็นฐานข้อมูลด้านทรัพยากรธรรมชาติสำหรับใช้ในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อสำรวจและคัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนชนิดต่าง ๆ จากบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา และจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา
2. เพื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกัน
3. เพื่อคัดเลือกหาทรอสโทไคตริดส์สายพันธุ์ในประเทศที่มีการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดดีเอชเอ อีพีเอ ดีพีเอ และเออาร์เอ จากบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา

สมมติฐานของการวิจัย

1. ใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกันจะพบชนิดของทรอสโทไคตริดส์ต่างชนิดกัน
2. เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนต่างชนิดกันมีความแตกต่างกัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้เชื้อทรอสโทไคตริดส์ที่เป็นสายพันธุ์ในประเทศไทย มาเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า – 3 ที่มีความสำคัญได้แก่อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ และโอเมก้า – 6 ได้แก่ เออาร์เอ
2. ได้องค์ความรู้ใหม่ด้านฐานข้อมูลทางวิชาการเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลนในประเทศไทย เพื่อประโยชน์ในการอนุรักษ์และจัดการทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนและสามารถนำไปใช้ในการวิจัยขั้นสูงและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมและการเพาะเลี้ยงต่อไป

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทรอสโทไคตริดส์ (Thraustochytrids)

การจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ เริ่มต้นจาก Sparrow ในปี 1973 ได้จัดทรอสโทไคตริดส์ไว้ในกลุ่ม Oomycetes (Saprolegniales) โดยใช้ลักษณะของซูโอสปอร์ที่มีรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่วและมีแฟลกเจลลา 2 เส้น และได้ให้คำจำกัดความไว้ว่า เป็นกลุ่มราทะเลที่มีความต้องการเกลือ ทัลลัสเมื่อเจริญพันธุ์บางส่วนจะพัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (eucarpic) มีส่วนร่างแหภายนอกเซลล์หรือเส้นใยเอคโตพลาสมิคหรือเอคโตพลาสมิคเนท (ectoplasmic net) สร้างโดยซาจีโนเจน (sagenogen) สปอร์แรงเจียม (sporangium) ประกอบด้วยผนังหลายชั้นผลิตซูโอสปอร์ (zoospore) หรืออะพลาโนสปอร์ (aplanospore) ไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการพักตัว (Alderman *et al.*, 1974) ต่อมา Olive (1975) ได้จัดทรอสโทไคตริดส์อยู่ในไฟลัม Labyrinthulidae โดยใช้พื้นฐานองค์ประกอบทางเคมีของผนังเซลล์และโครงสร้างภายในเซลล์ (ultrastructure) เป็นตัวจัดจำแนก (Honda *et al.*, 1998) การจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ได้มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาทั้งนี้ขึ้นอยู่กับช่วงระยะเวลารายละเอียดข้อมูลที่มีมากขึ้นและกลุ่มผู้จัดจำแนก (Porter, 1989) เช่น

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) ได้ทำการจัดจำแนกกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ดังนี้

Kingdom Chromista

Phylum Sagenista

Class Labyrinthulea

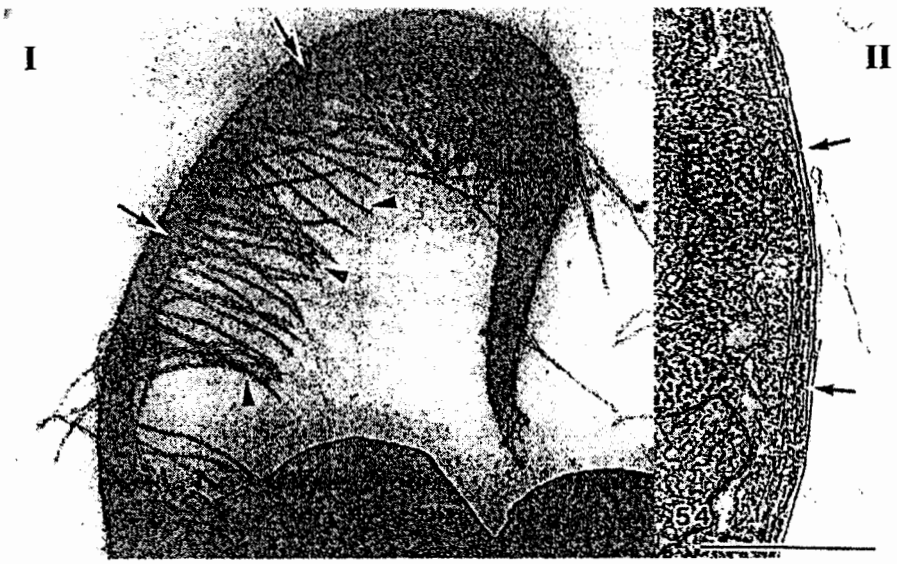
Order Labyrinthulales

Family Thraustochytriaceae

1. ลักษณะทั่วไปของทรอสโทไคตริดส์

ทรอสโทไคตริดส์มีรูปร่างเป็นทรงกลมเดี่ยวๆ (monocentric) ประกอบด้วยส่วนเอคโตพลาสมิคเนท (ectoplasmic net) ที่ยื่นยาวออกมายึดเกาะพื้นผิว สำหรับการดูดซึมธาตุอาหารและขนส่งเอนไซม์เอนไซม์ไลติก (lytic) ไปยังซับสเตรท แล้วย่อยสลายดูดซึมสารอาหารเพื่อไปเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของทัลลัส (Perkin, 1973 cited in Bowles, 1997) เอคโตพลาสมิคเนท สร้างมาจากส่วนที่เรียกว่าซาจีโนเจน (Sagenogen) (Alderman, Harrison, Bremer & Jones, 1974; Chilton, 1995; Honda *et al.*, 1998) ส่วนที่เป็นเอคโตพลาสมิกเนทไม่มีผนังเซลล์ และออแกนแนล (หน่วยเล็ก ๆ ที่อยู่ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ทำหน้าที่เสมือนหนึ่งเป็นอวัยวะของเซลล์) ส่วนไซโทพลาสซึมของทัลลัสจะแยกจากรูเมนของเอคโตพลาสมิกเนท โดยไปรวมกับซาจีโนเจน (Moss, 1986) ซึ่งเป็นลักษณะพิเศษของทรอสโทไคตริดส์ แม้ว่าจะยังไม่สามารถยืนยันหน้าที่ของซาจีโนเจนได้ชัดเจน แต่คาดว่าน่าจะเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยในระบบการทำงานของเอคโตพลาสมิกเนท และช่วยป้องกันไม่ให้ออแกนแนลภายในทัลลัสไหลไปยังเอคโตพลาสมิกเนท (Bowles, 1997) ลักษณะของเอคโตลาสมิคเนทแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน

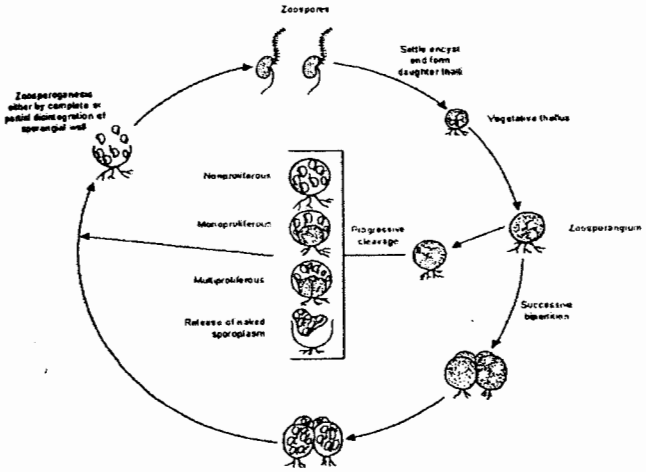
การสืบพันธุ์ของทรอสโทไคตริดส์ เป็นการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) โดยทั่วไปทัลลัส (vegetative thallus) จะพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียม (sporangium) ลักษณะการแบ่งของสปอร์แรงเจียมแตกต่างกันในแต่ละสกุลคือ สามารถแบ่ง bipartitioning หรือ คลีเวท (cleavage) ภายในสปอร์แรงเจียม (sporangium) มีซูโอสปอร์ (zoospore) ซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส ขนาดของซูโอสปอร์แรงเจียมอาจมีขนาดเล็กตั้งแต่ 5 ไมโครเมตรหรืออาจมีขนาดใหญ่ถึง 120 ไมโครเมตร ช่วงการสร้างซูโอสปอร์ภายในซูโอสปอร์แรงเจียมพบโปรโต-พลาสซึมและนิวเคลียสจำนวนมาก เมื่อเจริญเต็มที่โปรโตพลาสซึมจะห่อหุ้มแต่ละนิวเคลียส จากนั้นผนังเซลล์จะแตกออกและปล่อยซูโอสปอร์ออกมา มีรูปร่างกลมหรือรีตามแนวยาว หรือลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว ด้านข้างมีแฟลกเจลา 2 เส้น แฟลกเจลลาเส้นแรกมีขนาดยาวอยู่ด้านหน้าเป็นแบบทินเซิล (ภาพที่ 2-1) ทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า แฟลกเจลลาเส้นที่สองอยู่ด้านหลังมีลักษณะเรียบมีขนาดสั้นกว่าเส้นแรก ใช้สำหรับเคลื่อนที่ย้อนกลับ (Alderman *et al.*, 1974; Porter, 1989)



ภาพที่ 2-1 (I) ลักษณะขนแบบทินเซิล (II) ผนังเซลล์ทรอสโทไคตริดส์ (Honda *et al.*, 1998)

การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเกิดช่อง รู หรือการฉีกขาด สูญสลายของผนังเซลล์ของซูโอสปอร์แรงเจียม (Alderman et al., 1974) จากนั้นซูโอสปอร์จะว่ายน้ำในระยะทางสั้น ๆ เมื่อพบซับสเตรทที่เหมาะสม ซูโอสปอร์จะสลัดหางทิ้ง ก่อนลงเกาะซับสเตรทและเจริญเป็นเซลล์ปกติ (vegetative cell) และเข้าสู่วงจรชีวิตช่วงต่อไป (Bowles, 1997) การจัดจำแนกชนิดของทรอสโทไคตริดส์สามารถใช้การสร้างและการปล่อยซูโอสปอร์จากเซลล์แม่ร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา เช่น รูปร่าง ขนาดของเซลล์ และวงจรชีวิต (Gaertner, 1972 cited in Bowles, 1997)

ทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดจะมีการสืบพันธุ์แตกต่างกัน เช่น *Thraustochytrium kinnei* เมื่อผนังเซลล์สปอร์แรงเจียมแตกจะปล่อยซูโอสปอร์ออกมา แต่ยังเหลือส่วนที่เรียกว่า poriferous body ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมได้อีกครั้ง ซึ่งลักษณะพิเศษเช่นนี้จะพบเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้น และบางสายพันธุ์สามารถมี poriferous body ได้มากกว่าหนึ่ง เช่น *Thraustochytrium multirudimentale* ซึ่งการมีจำนวน poriferous body เพิ่มมากขึ้นนั้น จะมีผลต่อการพัฒนาไปเป็นสปอร์แรงเจียมมากขึ้นเช่นกัน (ภาพที่ 2-2) ส่วน *Thraustochytrium roseum* จะไม่มีลักษณะเช่นนี้ (Alison, 2000)



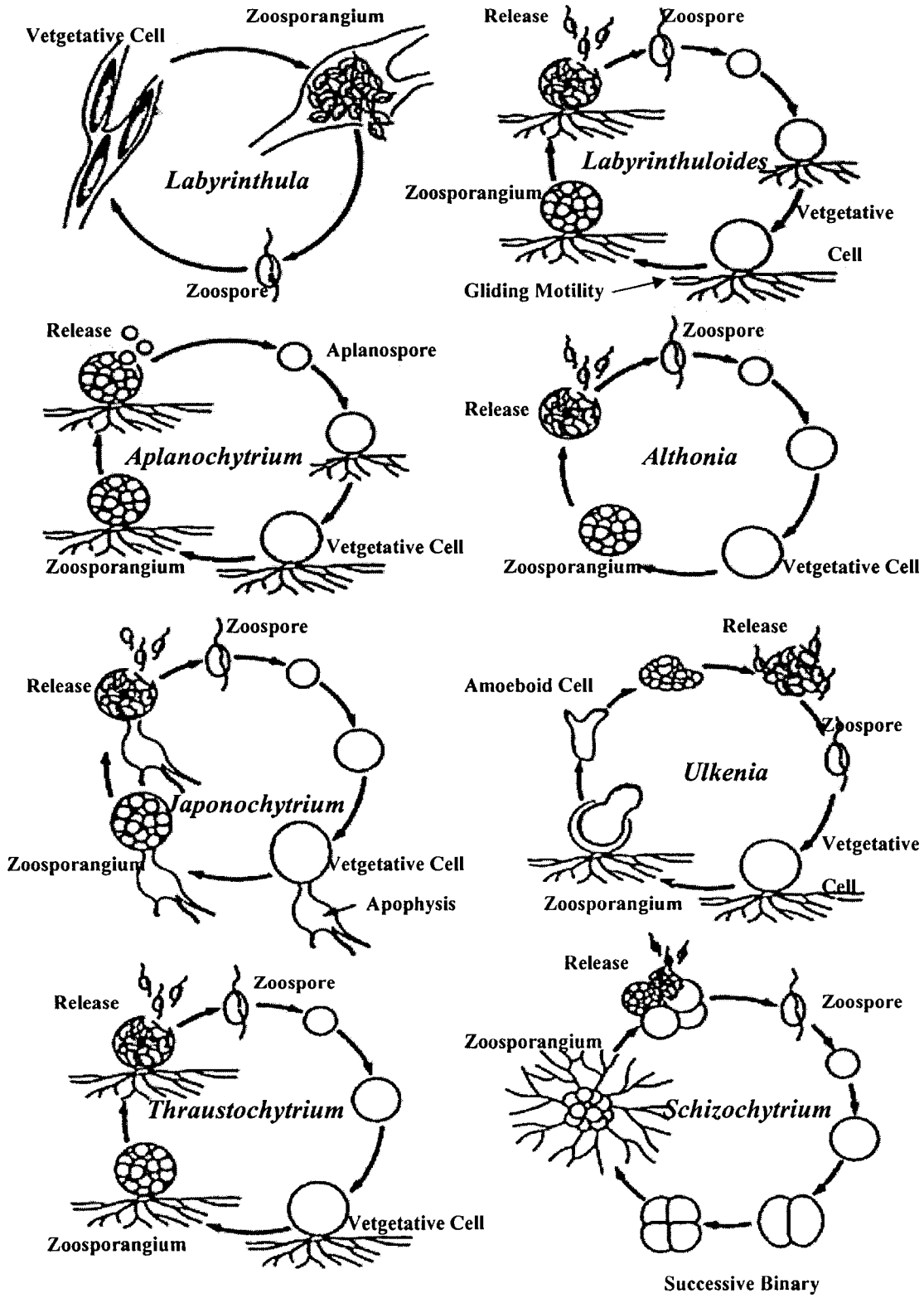
ภาพที่ 2-2 วงจรการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) ของทรอสโทไคตริดส์ (Moss, 1986)

Porter (1989) รายงานว่าทรอสโทไคตริดส์พบทั้งหมด 7 สกุล (ภาพที่ 2-3)

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 ทัลลัสส่วนล่างมีส่วนของเอคโตพลาสมิคเนทใช้ในการยึดติดกับซับสเตรทซึ่งไม่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ ผลิตโดยซาจีโนเจน (Alderman *et al.*, 1974; Porter, 1989) ภายในซูโอสปอร์แรงเจียมมีการสร้างผนังกั้นเรียกส่วนนี้ว่าพรอลิเฟอรัสบอดี้ (proliferous body) (ภาพที่ 2-4) ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้และ *Thraustochytrium* แต่ละชนิดจะมีจำนวนพรอลิเฟอรัสแตกต่างกันไปเช่น *Thraustochytrium kinner* พบเพียง 1 พรอลิเฟอรัส แต่ *T. multirudimentale* พบพรอลิเฟอรัสจำนวนมากและบางชนิดกลับไม่พบการสร้างเพอริเฟอรัสเลย เช่น *T. roesum* ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Thraustochytrium* ผลิตซูโอสปอร์ 50-100 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากแรงดันภายในทำให้ผนังเซลล์แม่แตกออก (Alderman *et al.*, 1974) โดยหลังการปล่อยซูโอสปอร์แล้ว พบว่าส่วนของพรอลิเฟอรัสยังคงอยู่และสร้างซูโอสปอร์แรงเจียมขึ้นมาใหม่ (Honda, 2001) *Japonochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ส่วนล่างยึดติดกับซับสเตรทโดยส่วนของเอคโตพลาสมิคเนทที่มีลักษณะบวมพองออก ถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ เรียกส่วนนี้ว่าอะโพฟีซิส (apophysis) ซูโอสปอร์แรงเจียมผลิตซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากรูหรือช่องว่างของซูโอสปอ์แรงเจียม (Alderman *et al.*, 1974)

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



ภาพที่ 2-3 วงจรชีวิตของทรอสโทไคตริดส์และลาบิรินทูริดส์ (Honda, 2001)

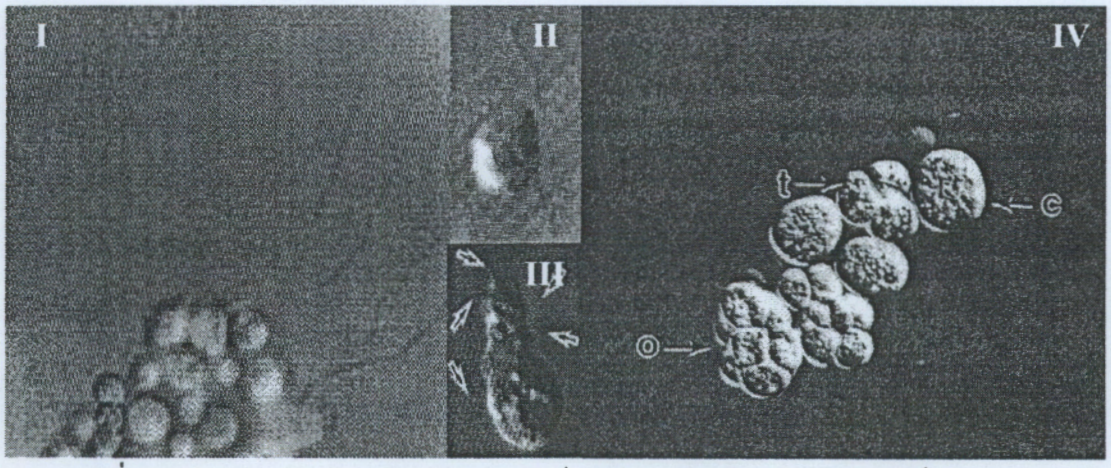
Aplanochytrium เป็นอีกกลุ่มที่ย้ายมาจากกลุ่ม *Thraustochytrium* ทัลลัสมีรูปร่างกลม ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างสปอร์รูปร่างกลม ไม่พบส่วนของแฟลกเจลลา เรียกว่า อะพลาโนสปอร์ (aplanospore) จำนวน 50-100 สปอร์ ซึ่งถือเป็นลักษณะเด่นของสกุลนี้ (Alderman *et al.*, 1974) การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการขยายขนาดของสปอร์จนผนังเซลล์แม่แตกออก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

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

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

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

Schizochytrium เซลล์ปกติมีรูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือหลายเซลล์เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม มีส่วนของเอคโตพลาสมิคเนทยึดเกาะกับซับสเตรท (Raghumar, 1988) ซูโอสปอร์แรงเจียมมีการแบ่งครึ่งเซลล์แบบทวีคูณ (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) เอคโตพลาสมิคเนทจากเซลล์ปกติ (II) ลักษณะซูโอสปอร์ (III) อะมิบอยด์เซลล์ของ *Shizochytrium limacinum* (Honda *et al.*, 1998) (IV) ซูโอสปอร์แรงเจียมของ *Schizochytrium mangrovei* (C = Mature Cell, T = Tetrad, O = Octad) (Leano, 2001)

Honda (2001) ได้เสนอคีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ระดับสกุล ดังภาพที่ 2-5

1. เซลล์รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวย.....	*Labyrinthula*
1. เซลล์รูปร่างกลม.....	ดูข้อ 2
2. ไม่มีเอคโตพลาสมิคเนท.....	*Althonia*
2. มีเอคโพพลาสมิคเนท.....	ดูข้อ 3
3. สร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา.....	*Aplanochytrium*
3. สร้างสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา.....	ดูข้อ 4
4. เอคโตพลาสมิคเนทมีลักษณะบวมพอง.....	*Japonochytrium*
4. เอคโตพลาสมิคเนทไม่บวมพอง.....	ดูข้อ 5
5. มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division.....	*Schizochytrium*
5. ไม่มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division.....	ดูข้อ 6
6. สร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อนสร้างซูโอสปอร์.....	*Ulkenia*
6. ไม่สร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อนสร้างซูโอสปอร์.....	ดูข้อ 7
7. มีพอลิเฟอรัส.....	*Thraustochytrium*
7. ไม่มีพอลิเฟอรัส.....	*Labyrinthuloides*

ภาพที่ 2-5 คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ระดับสกุล (Honda, 2001)

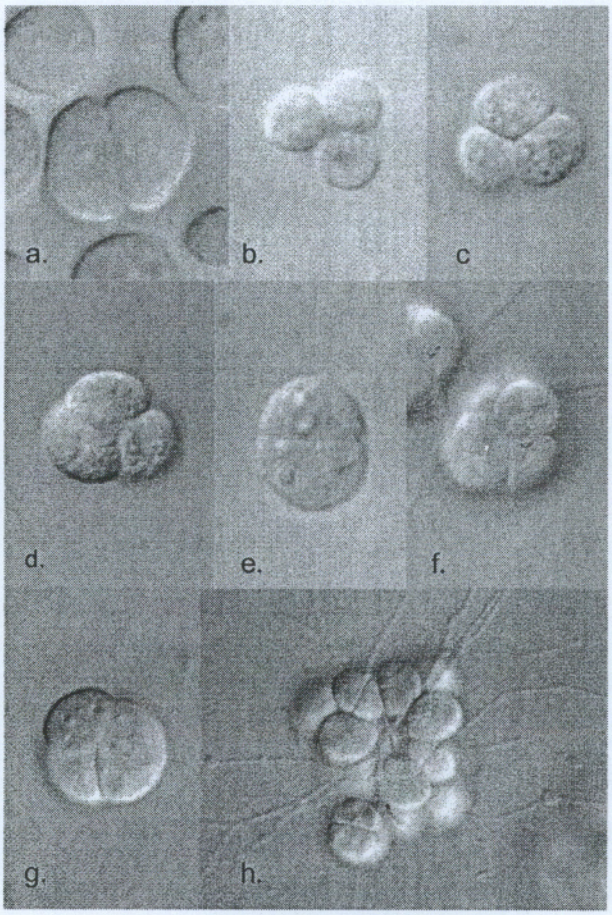
อย่างไรก็ตามการจำแนกระดับสกุลพบว่ายังมีปัญหา เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Thraustochytrium* มีความซ้ำซ้อนกัน (Booth and Miller,1968; Sparrow,1969 ; Alderman et al.,1974) นอกจากนั้นอะมิบอยด์เซลล์สามารถพบได้ทั้ง *Ulkenia* และ *Schizochytrium* sento lato รวมถึง *Thraustochytrium* ที่เลี้ยงในบางสภาพแวดล้อม (ภาพที่ 2-6) (Yokoyama and Honda, 2007)

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

Aurantiochytrium R. Yokoy. et D. Honda ลักษณะทัลลัสมีผนังบาง ทรงกลม สีส้ม เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟีนิโคแซนธิน แคนต้าแซนธินและเบต้าแคโรทีน และมีเออาร์เอน้อย แต่มีดีเอชเอในปริมาณสูง โคโลนีมีขนาดเล็กและมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division เอคโพพลาสมิคเนทพัฒนาไม่ดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างรีจนถึงทรงกลม และไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2-7)

Schizochytrium S. Goldst. Et Belsky emend. R. Yokoyama et D. Honda ลักษณะทัลลัสมีผนังบาง ทรงกลม สีเหลืองอ่อน เซลล์มีเพียงเบต้าแคโรทีน และมีเออาร์เอประมาณ 20 % โคโลนีมีขนาดใหญ่และมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division มีเอคโพพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างแบบทรงกลมและรูปรี ไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2-8)

Oblongichytrium R. Yokoy. et D. Honda, gen. nov. ลักษณะทัลลัสมีผนังบาง ทรงกลม สีเหลืองอ่อน เซลล์มีแคนต้าแซนธินและเบต้าแคโรทีน และมี n-3 ดีพีเอมาก แต่มี n-6 ดีพีเอน้อย โคโลนีมีขนาดใหญ่และมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division มีเอคโพพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี ซูโอสปอร์มีแฟลกเจลลา 2 เส้น และมีรูปร่างแบบรูปรีหรือรูปไข่ ไม่พบ resting spores (ภาพที่ 2-9)



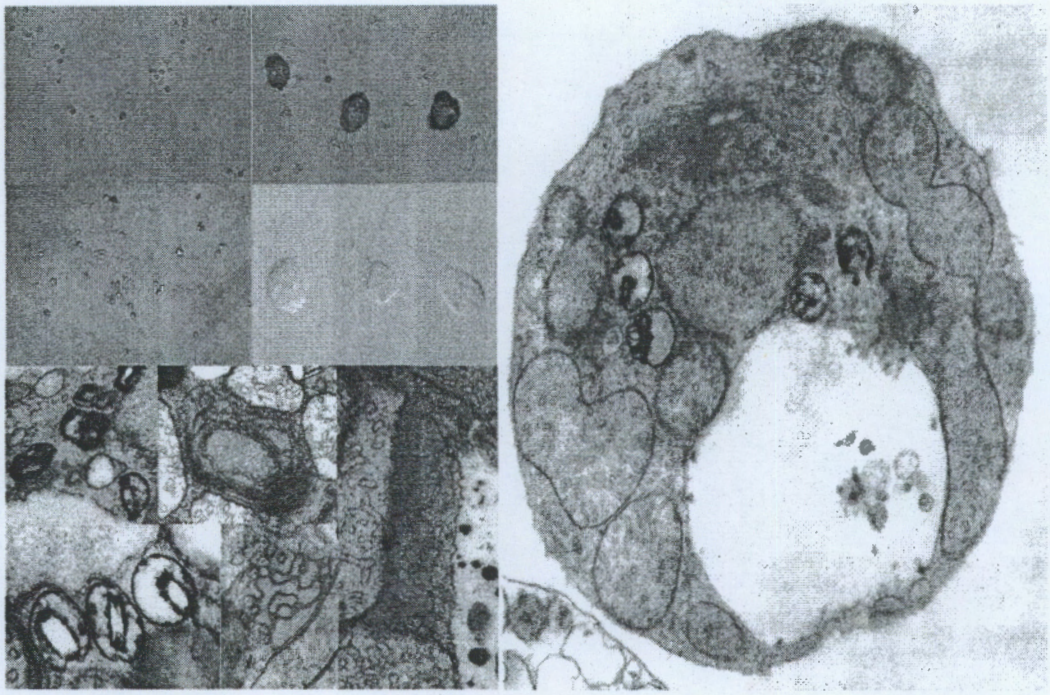
ภาพที่ 2-6 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงกลุ่มเซลล์กำลังแบ่งแบบเซลล์จากหนึ่งเป็นสองใน อาหาร-เอช (medium-H) (Yokoyama and Honda, 2007)

a. *Aurantiochytrium limacinum*; b. *Aurantiochytrium* sp. SEK 209;

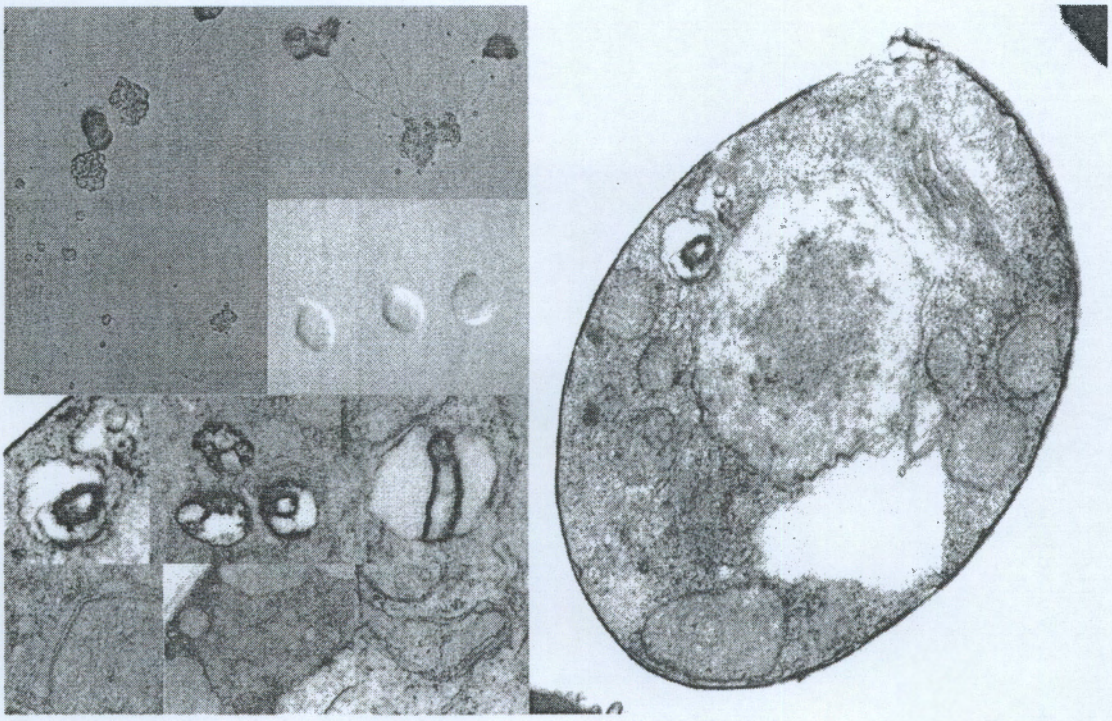
c. *Aurantiochytrium* sp. SEK 217; d. *Schizochytrium aggregatum*;

e. *Schizochytrium* sp. SEK 210; f. *Schizochytrium* sp. SEK 326;

g. *Oblongichytrium* sp. SEK 347; h. *Oblongichytrium* sp. SEK 347



ภาพที่ 2-7 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Aurantiochytrium* spp. (Yokoyama and Honda, 2007)
a–c ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทะเลและมีเอคโตพลาสมิคเนทน้อยมาก (ลูกศร)
d–f ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซูโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปไข่
g–l ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแสดง 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 2-8 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Schizochytrium* sensu stricto (Yokoyama and Honda, 2007)

a–c ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงเซลล์ที่เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ เลี้ยงในน้ำทะเล และมีเอคโตพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี (ลูกศร)

d–f ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซูโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปไข่

g–m ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแสดง 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 2-9 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Oblongichytrium* sp. SEK 347. (Yokoyama and Honda, 2007)

a. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์แสดงเซลล์ที่เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ เลี้ยงในน้ำทะเล และมีเอคโตพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี (ลูกศร)

b. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์ แสดงซูโอสปอร์มีรูปร่างเป็นรูปรี

c. ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนแสดง electron-dense body

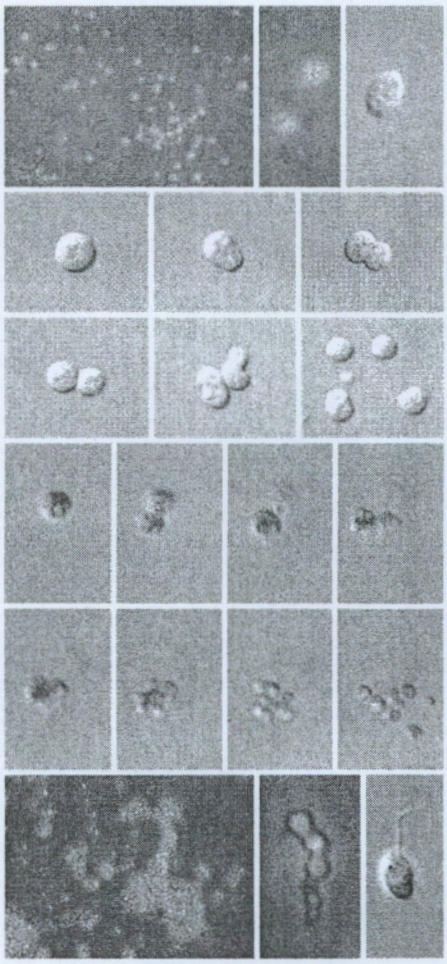
d. ภาพตัดขวางเซลล์ปกติ แสดง para-nuclear body. *G*, Golgi body; *Mt*, mitochondria; *N*, nucleus; *PA*, para-nuclear body; *V*, vacuole.

Yokoyama *et al.* (2007) ได้จำแนกทรอสโทไคตริดส์สกุล *Ulkenia* โดยใช้ลักษณะที่พบระยะโปรโตพลาสต์ (Protoplast stage) ในช่วงชีวิต และได้ศึกษาเพิ่มเติมในส่วนของ 18S rRNA พบว่า *Ulkenia* ที่ทำการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 monophyletic groups ซึ่งแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันในส่วนของชนิดของกรดไขมันกับแคร์โรทีนอยด์ รวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และโคโลนี เช่นการคงเหลือของผนังเซลล์ (sporangial wall) ลักษณะการแบ่งเซลล์ (cell cleavage) ในการสร้างซูโอสปอร์ และการพัฒนาของเอคโตพลาสมิคเนท 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 ทัลลัสพบทั้งที่เป็น epibiotic, endobiotic และ interbiotic ทัลลัสมีผนังบางในช่วงที่มีการเจริญมากๆ มีเอคโพพลาสมิคเนท (rhizoidal system) ทัลลัสมีรูปร่างทรงกลม กึ่งทรงกลมหรือลูกแพร์ มีขนาดที่แตกต่างกันมากในระหว่างพัฒนาการ โคโลนีมีขนาดเล็ก มีเอคโพพลาสมิคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี ในระยะเจริญพันธุ์จะไม่มีผนังเซลล์ ทำให้โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มหรือมีการคืบคลานคล้ายอมีบาออกจากผนังสปอร์แรงเจียมทางรูเล็กๆที่อยู่ปลายบนของสปอร์แรงเจียม หลังจากนั้นโปรโตพลาสต์จะกลรายเป็นซูโอสปอร์แรงเจียม ซึ่งจะปล่อยซูโอสปอร์ เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟีนิโค-แซนธิน เอคไคนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2-10)

Sicyoidochytrium R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. เซลล์ปกติมีขนาดเล็ก โคโลนีเมื่อเปรียบเทียบมีขนาดเล็ก มีเอคโพพลาสมิคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี ในระยะเจริญพันธุ์ผนังเซลล์ deliquescing อย่างสมบูรณ์ โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มและแบ่งตัวหลายครั้ง ในการแบ่งครั้งสุดท้าย ซูโอสปอร์เกิดจากการยืดตัวและดึงตัว เซลล์มีแคนต้าแซนธิน เอคไคนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2-11)

Botryochytrium R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. โคโลนีเมื่อเปรียบเทียบมีขนาดใหญ่ มีเอคโพพลาสมิคเนทพัฒนาดี ในระยะเจริญพันธุ์ผนังเซลล์ deliquescing ทำให้โปรโตพลาสต์ไม่มีผนังหุ้มหรือมีการคืบคลานคล้ายอมีบาออกจากผนังสปอร์แรงเจียมทางรูเล็กๆที่อยู่ปลายบนของสปอร์แรงเจียม ทัลลัสพบทั้งที่เป็น epibiotic, endobiotic และ interbiotic ทัลลัสมีผนังบางในช่วงที่มีการเจริญมากๆ (rhizoidal system) ทัลลัสมีรูปร่างทรงกลม กึ่งทรงกลมหรือลูกแพร์ มีขนาดที่แตกต่างกันมากในระหว่างพัฒนาการ มีเอคโพพลาสมิคเนทที่พัฒนาไม่ค่อยดี หลังจากนั้นโปรโตพลาสต์จะกลรายเป็นซูโอสปอร์แรงเจียม ซึ่งจะปล่อยซูโอสปอร์ เซลล์มีแอสต้าแซนธิน ฟีนิโคแซนธิน เอคไคนีโอนและเบต้าแคโรทีน (ภาพที่ 2-12)



ภาพที่ 2-10 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Ulkenia* clade strains [a–r *U. amoeboidea* SEK 214; s–u *Ulkenia* sp. (deposited as *Japanochytrium* sp.) ATCC 28207]. (Yokoyama *et al.*, 2007)

a. ภาพจากกล้องจุลทรรศ์แสดงเซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทะเล และมีเอคโตพลาสมิคเนท (ลูกศร)

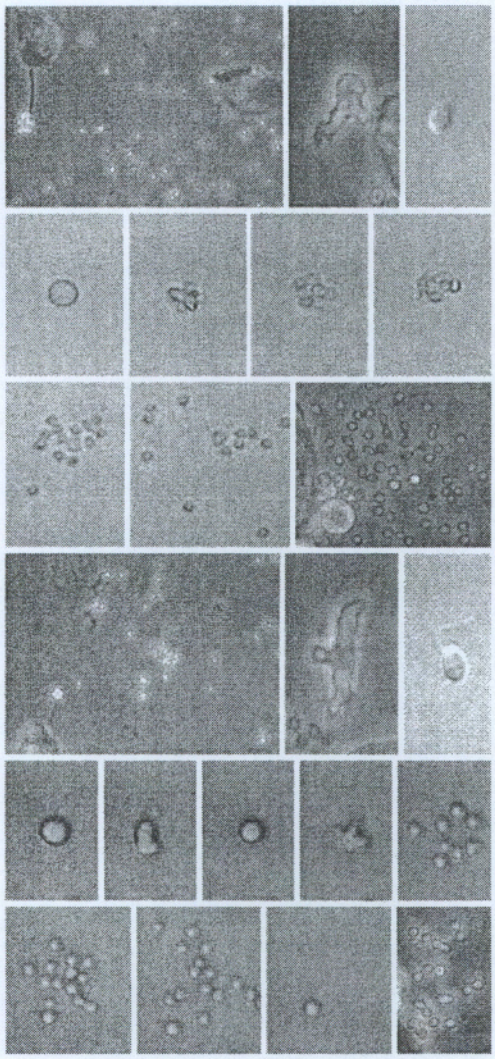
b. อมีบอยด์เซลล์ c. ซูโอสปอร์

d-i ภาพจากกล้องจุลทรรศ์แสดงการแบ่งเซลล์ของอมีบอยด์เซลล์ (d. เซลล์เป็นรูปทรงกลม; e. เซลล์มีรูปร่างอิสระ; f. binary cell division; g two daughter cells; h binary cell divisions; i four daughter cells)

j–q. อมีบอยด์เซลล์และการสร้างซูโอสปอร์ [j เซลล์ปกติ; k, l protoplast ที่ออกมาจากผนังเซลล์ (หัวลูกศร); m. อมีบอยด์เซลล์กำลังเปลี่ยนจากโปรโตพลาสต์; n. อมีบอยด์เซลล์ที่อยู่กับที่; o. การแบ่งเซล; p. eight daughter cells; q. กำลังปล่อยซูโอสปอร์]

r. เซลล์รวมกลุ่มกันในน้ำทะเลและมีเอคโตพลาสมิคเนทมาก (ลูกศร)

s. อมีบอยด์เซลล์ t. ซูโอสปอร์



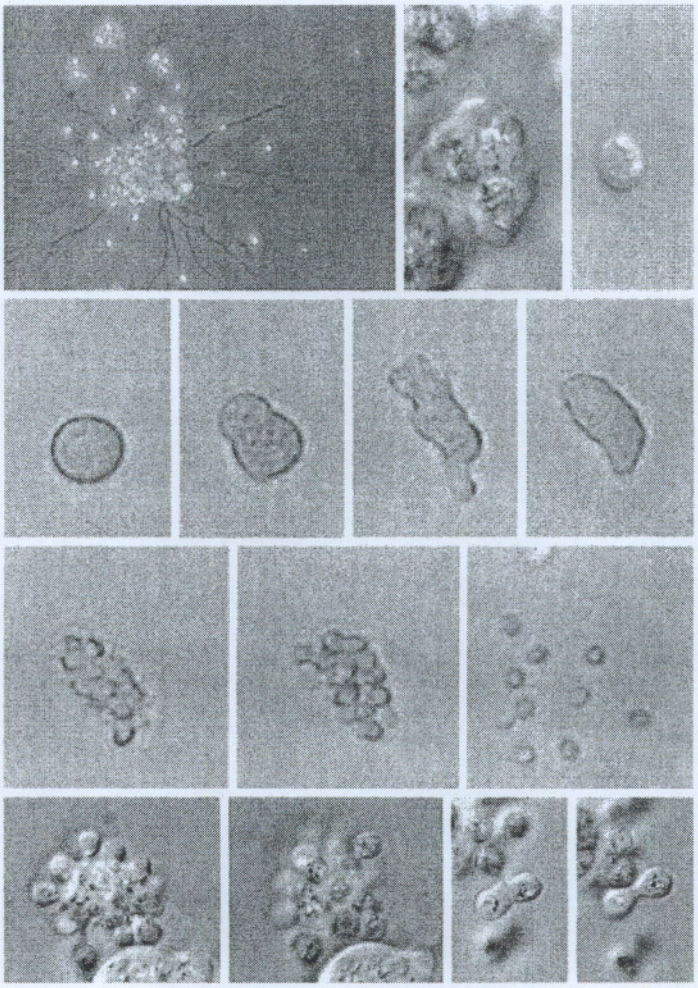
ภาพที่ 2-11 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Sicyoidochytrium* clade strains (a–j *S.minutum* SEK 354; k–v *S. minutum* NBRC 102975). (Yokoyama *et al.*, 2007)

a, k เซลล์ที่เลี้ยงในน้ำทะเล และมีเอคโตพลาสมิคเนทที่ไม่แตกแขนง (ลูกศร)

b. อมีบอยด์เซลล์ 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. ซูโอสปอร์ที่มีหนวด 2 เส้น และกำลังปล่อย; n. เซลล์ปกติ; o.อมีบอยด์เซลล์; p. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย รูปร่างกลม; q. การแบ่งเซลล์; r. eight daughter cells; s. การแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องแบบ binary cell division ที่มีลักษณะเหมือนที่ยกน้ำหนัก; t. 16 สปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่; u. ซูโอสปอร์ที่มีหนวด 2 เส้น กำลังปล่อยและคงเหลือ proliferous body; (หัวลูกศร)]

j, v การแบ่งเซลล์แบบ binary cell division ที่มีลักษณะเหมือนที่ยกน้ำหนัก



ภาพที่ 2-12 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Botryochytrium* clade strains (**a–n** *B.radiatum* SEK 353) (Yokoyama *et al.*, 2007)

a. เซลล์เลี้ยงในน้ำทะเล มีการรวมกลุ่มขนาดใหญ่ และมีเอคโตพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี (ลูกศร)

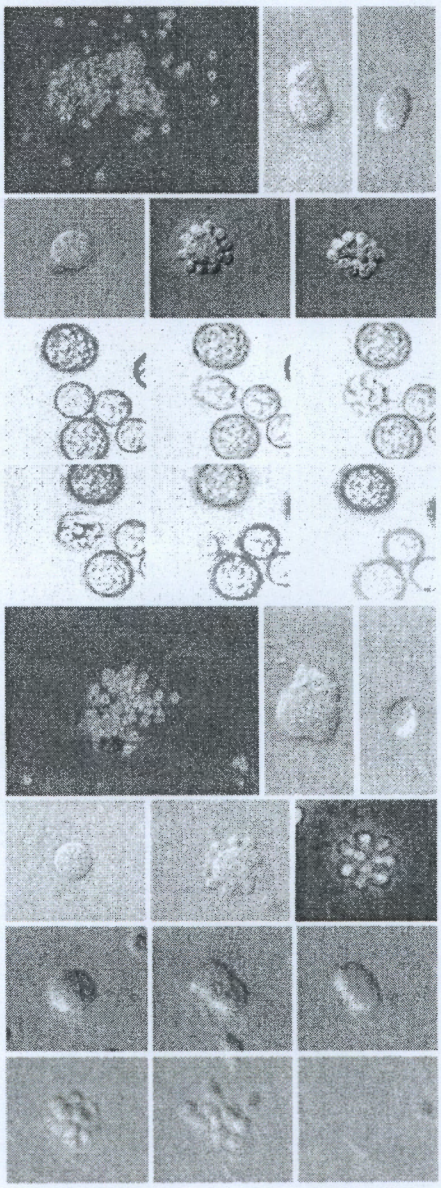
b. อมีบอยด์เซลล์ c. ซูโอสปอร์

d–j การสร้างซูโอสปอร์ [d. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย; e. โปรโตพลาสต์ออกจากผนังเซลล์บางๆ ; f. อมีบอยด์เซลล์เคลื่อนที่; g. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย รูปร่างกลม h. การแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องแบบรัศมี (radiated cell division) และแตกหน่ออย่างมากบริเวณขั้ว (multipolar budding); i. ซูโอสปอร์พร้อมถูกปล่อย; j. ซูโอสปอร์ถูกปล่อยโดยไม่มีผนังเซลล์เหลืออยู่

k, l. แบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องแบบรัศมี (radiated cell division) และแตกหน่ออย่างมากบริเวณขั้ว (multipolar budding);

m, n ซูโอสปอร์ถูกสร้างโดยการยืดตัวและการดึงตัว (pinching and pulling)

Parietichytrium R. Yokoyama, B. Salleh et D. Honda gen. nov. โคโลนีเมื่อเปรียบเทียบมีขนาดใหญ่ มีเอคโทพลาสมิคเนทพัฒนาดี ผนังเซลล์ยังคงเหลือหลังจากปล่อยโปรโตพลาสต์แล้ว โปรโตพลาสต์แบ่งตัวแบบ centripetal division ทำให้เกิดเป็นกลุ่มกัน แล้วมีรูปร่างเป็นรูปดาวก่อนที่จะสร้างซูโอสปอร์ เซลล์มีเบต้าแคโรทีนและมีกรดไขมัน C22:4 (docosatetraenoic acid) ในปริมาณสูง (ภาพที่ 2-13)



ภาพที่ 2-13 ภาพทรอสโทไคตริดส์ของ *Parietichytrium* clade strains

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

a, m เซลล์เลี้ยงในน้ำทะเล มีการรวมกลุ่ม และมีเอคโตพลาสมิคเนทที่พัฒนาดี (ลูกศร)

b, n อมีบอยด์เซลล์ c, o. ซูโอสปอร์

d, p. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย e, f, q, r. เซลล์แบ่งตัวแบบรัศมี (radiated cell division) g–l, s–x การสร้างซูโอสปอร์ [g. ปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย; h. อมีบอยด์เซลล์; i. การแบ่งเซลล์; j. สปอร์ที่ไม่เคลื่อนที่; k. ซูโอสปอร์ถูกปล่อย; l. ผนังเซลล์ที่เหลือ (หัวลูกศร); s. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย ; t. โปรโตพลาสต์ออกจากผนังเซลล์ที่หนา (หัวลูกศร) โดยเคลื่อนที่แบบอมีบอยด์; u. สปอร์แรงเจียมโตเต็มวัย รูปร่างกลม; v. เซลล์แบ่งตัวเป็นซูโอสปอร์; w. ซูโอสปอร์ถูกปล่อย x. ผนังเซลล์เหลือค้างอยู่ (หัวลูกศร)].

บทบาทของทรอสโทไคตริดส์ในระบบนิเวศ จุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทไคตริดส์จัดเป็นพวกเฮเทอโรโทรฟคือ ต้องการสารอินทรีย์และออกซิเจนเพื่อใช้ในการเจริญ ส่วนใหญ่ดำรงชีวิตเป็นแซโพรไฟต์ (saprophyte) ใช้เอคโตพลาสมิกเนททำหน้าที่ส่งเอนไซม์ออกมาย่อยสลายสารอินทรีย์ที่เน่าเปื่อยจากโมเลกุลใหญ่ให้เป็นโมเลกุลที่เล็ก แล้วดูดซึมกลับไปยังทัลลัสเพื่อใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ (นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544) ทรอสโทไคตริดส์จึงทำหน้าที่ย่อยสลายอินทรีย์สาร ซึ่งเป็นการเพิ่มและหมุนเวียนแร่ธาตุต่าง ๆ ในระบบนิเวศ (Naganuma *et al.*, 1998) และพบว่าบางกลุ่มเป็นปรสิตเช่น หอย หมึก และฟองน้ำ (Alderman & Jones, 1971) เนื่องจากทรอสโทไคตริดส์มีปริมาณดีเอชเอสูงถึง 30-40 เปอร์เซนต์ของกรดไขมันทั้งหมด จึงทำให้มีความสำคัญในแง่ของแหล่งกรดไขมันในธรรมชาติ ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้สามารถถ่ายทอดไปตามห่วงโซ่อาหาร ทำให้เกิดความอุดมสมบูรณ์ในระบบนิเวศน์ (Findlay *et al.*, 1986 cited in Bremer, 2000)

บทบาทของทรอสโทไคตริดส์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ปัจจุบันที่ใช้ในทางการค้าประกอบไปด้วย 3 แหล่งใหญ่ ๆ คือ น้ำมันปลา สาหร่ายขนาดเล็ก และทรอสโทไคตริดส์ ซึ่งพบว่าทรอสโทไคตริดส์มีสัดส่วนดีเอชเอสูงกว่าอีพีเอ ขณะที่น้ำมันที่ได้จากปลานั้นมีสัดส่วนดีเอชเอต่ำกว่าอีพีเอ โดยทั่วไปสัตว์น้ำมีความต้องการปริมาณดีเอชเอสูง (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542) จึงได้มีการนำทรอสโทไคตริดส์มาใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้กับโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย เพื่อให้มีปริมาณ n-3 PUFAs สูง ก่อนที่จะนำไปใช้ในการอนุบาลสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไปซึ่งกรดไขมันเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของสัตว์น้ำวัยอ่อน ดังนั้นการเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับสัตว์น้ำถือเป็นการถ่ายทอดดีเอชเอไปตามห่วงโซ่อาหาร เพื่อเพิ่มหรือเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับมนุษย์ทางอ้อม (Barclay & Zeller, 1996)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

การแพร่กระจายทรอสโทไคตริดส์

ทรอสโทไคตริดส์เป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปตามแหล่งน้ำเค็ม 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)โดยพบทรอสโทไคตริดส์ในบริเวณปากแม่น้ำที่มีสารอินทรีย์อุดมสมบูรณ์มากกว่าน้ำที่อยู่ห่างชายฝั่งออกไป และพบว่าพืชที่มีระบบท่อลำเลียง เช่น สาหร่ายทะเลและหญ้าทะเล จัดเป็นแหล่งที่อยู่ที่สำคัญของทรอสโทไคตริดส์ (Alexopoulos, 1996) ซึ่งการแพร่กระจายของทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามแหล่งที่อยู่อาศัย (Bremer, 2000) และบางชนิดเป็นปรสิตของหอย หมึก และฟองน้ำ (Alderman & Jones, 1971; Porter, 1989) การแพร่กระจายของทรอสโทไคตริดส์มีการศึกษาดังตารางที่ 2-1

ตารางที่ 2-1 ทรอสโทไคตริดส์ที่พบจากซับสเตรท และสถานที่ที่แตกต่างกัน

ชนิด	ซับสเตรท	สถานที่	References
Thraustochytrium proliferlum	สาหร่ายทะเล (*Bryopsis plumose*)	Woods Hole, Massahusetts, USA	Sparrow (1936) cited in Behnweg (1979)
Schizochytrium aggregatum	น้ำทะเล	Long Island Sound, New Heaven, Connecticut, USA	Goldstein and Belsky (1964) cited in Behnweg (1979)
Althornia crouchii	หอยนางรม (*Ostrea edulis*)	Althorne Creek, River Crouch, Essex, UK	Jones and Alderman (1971)
Ulkenia visurgensis	สาหร่ายทะเล (*Cladophora)*	Baga, Goa, India	Ranghukumar (1988 a)
Thraustochytium striatum และ *S. mangrovei*	เมล็ดสน (pine pollen)	Mangrove, Goa, India	Raghukumar (1992)
Ulkenia visurgensis และ *Labylinthuloid minuta*	สาหร่ายทะเล (*Sargassum cinereum*)	Dona Paula Jetty, Goa, India	Sharma,Ranghukumar, Sathe-Pathak, & Chandramohan, (1994)

255355

674
ส2449
ค.2

ตารางที่ 2-1 (ต่อ)

ชนิด	ซับสเตรท	สถานที่	References
S. limacinum	น้ำทะเล	Mangrove area in, West Pacific Ocean	Honda *et al.* (1998)
T. roseum	ดิน	Lang Island, Papua New Guinei	Ulken (1981a)
S. mangrovei, T. striatum และ *Ulkenia* KF-13	ใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*)	Mai Po, Three Fathoms Cove and Tingkok, Hong Kong	Fan, Chan, Jones and Vrijmoed (2000b)
Schizochytrium mangrovei, Schizochytrium sp.และ *Thraustochytrium sp.*	ใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน	Panay island, Philippines	Leano (2001)
Schizochytrium sp. (N-1, N-2, N-5, N-6 และ N-9)	ใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*)	Mangrove area in, Hong Kong	Kamlangdee and Fan (2003)
Aplanochytrium sp. SC1 - 1	ใบไม้ป่าชายเลน	Sweetings Cay, Bahamas	Leander, Porter and Leander (2004)
Thraustochytrium striatum	น้ำทะเล	Atlantic Canadian	Burja(2006)
thraustochytrid strain 12B	ใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน	Okinawa, Japan	Perveen et al. (2006)
Schizochytrium mangrovei FB3	ใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*)	intertidal zone from local mangrove in Sai Keng, Hong Kong	Fan, Jiang, Faan & Chen (2007)
Aurantiochytrium sp. strain T66	ดินตะกอนและน้ำทะเล	coast of Madeira, Portugal	Jakobsen, Aasen, Josefsen & Strom (2008)
Aurantiochytrium mangrovei MP2	ใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*)	Mai Po Nature Reserve in Hong Kong	Wong, Tsui, AU & Vrijmoed (2008)

ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (Mangrove Forest) เป็นกลุ่มสังคมพืชที่ขึ้นอยู่ตามแนวชายฝั่งที่มีลักษณะดินเป็นดินเลน และมีน้ำทะเลท่วมถึงสม่ำเสมอ พบได้บริเวณปากแม่น้ำ ปากอ่าว ทะเลสาบ และบริเวณรอบเกาะต่างๆ ระบบนิเวศป่าชายเลนเป็นระบบนิเวศที่เชื่อมโยงระหว่างบกกับทะเล เกิดเป็นระบบนิเวศที่มีลักษณะเฉพาะ สิ่งมีชีวิตที่พบนอกจากพันธุ์ไม้ป่าชายเลนชนิดต่างๆ เช่น โกงกาง แสมลำพูเป็นต้น ยังมีสิ่งมีชีวิตอื่นอาศัยร่วมเป็นจำนวนมาก เช่น จุลินทรีย์ สาหร่าย แพลงก์ตอน เป็นต้น ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ป่าชายเลนอุดมสมบูรณ์ เนื่องจากมีความหลากหลายของถิ่นที่อยู่และความอุดมสมบูรณ์ของอาหารที่ได้จากการย่อยสลายของซากพืชซากสัตว์ เศษใบไม้ร่วงหล่นกลายเป็นแหล่งอาหารปฐมภูมิสำหรับผู้บริโภคขั้นต้นในห่วงโซ่อาหารของป่าชายเลน (ศิริลักษณ์ ช่วยพนัง, 2543) ป่าชายเลนของประเทศไทยมีอยู่กระจัดกระจายตามชายฝั่งทะเลภาคใต้ ภาคกลางและภาคตะวันออก ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าชายเลนทั้งหมดประมาณ 1,054,194 ไร่ ภาคกลาง 2.2% ภาคตะวันออก 7.7% และภาคใต้ 89.1% (สุพรรณี อัศวศิริเลิศ, 2541)

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

ป่าชายเลนประกอบด้วยพืชหลายชนิด พันธุ์ไม้โดยส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ไม้ไม่พลัดใบ และมีลักษณะทางสรีระวิทยาและการปรับตัวทางโครงสร้างที่คล้ายคลึงกัน พืชที่ขึ้นอยู่ในป่าชายเลนเป็นพวกที่ทนทานต่อสภาพความเค็มได้ดี (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

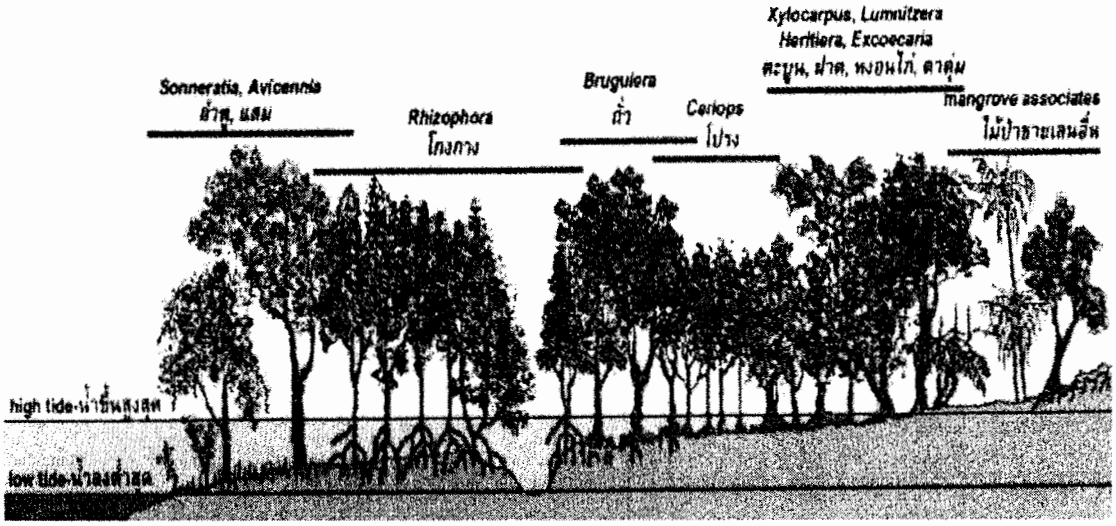
การกระจายของพันธุ์ไม้ในป่าชายเลนมีความแตกต่างจากพันธุ์ไม้ในป่าบกอย่างชัดเจน เนื่องจากป่าชายเลนมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ได้แก่ การขึ้นลงของน้ำทะเล การท่วมถึงของน้ำทะเลแต่ละพื้นที่ ลักษณะของดิน คุณภาพน้ำความเค็มเป็นต้น (สนิท อักษรแก้ว, 2541; ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์และคณะ, 2546) การแบ่งเขตพันธุ์ไม้ป่าชายเลนของประเทศไทย มีการศึกษาจากบริเวณชายฝั่งลึกเข้าไปด้านในสุดจดป่าบก พอสรุปได้ดังนี้

โซนแรก เป็นพวกไม้ป่าโกงกาง ทั้งโกงกางใบเล็กและโกงกางใบใหญ่ ซึ่งเป็นบริเวณที่ใกล้กับชายฝั่งน้ำ

โซนที่สอง เป็นบริเวณที่ถัดจากไม้โกงกาง เป็นไม้แสมและประสัก ซึ่งแสมบางครั้งก็พบว่าขึ้นอยู่ติดกับชายฝั่งน้ำ

โซนที่สาม เป็นโซนที่ลึกเข้าไปจากโซนแสมและประสัก พบกลุ่มไม้ตะบูนขึ้นอย่างหนาแน่น พบว่าดินบริเวณนี้มีลักษณะแข็ง

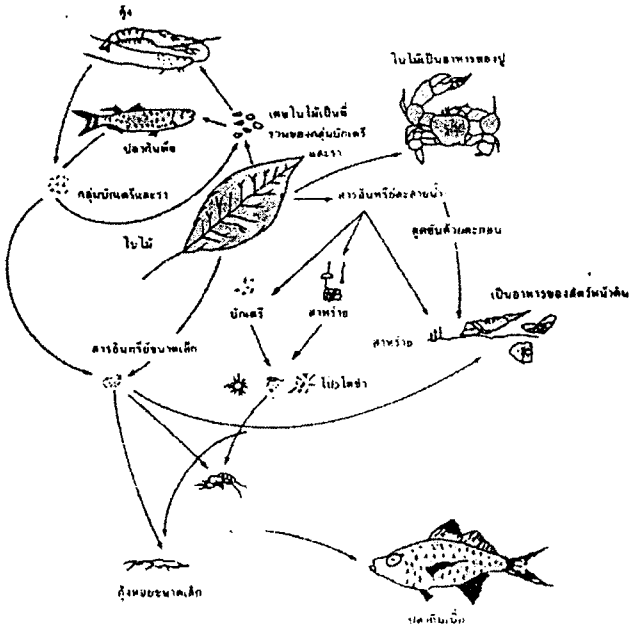
โซนสุดท้าย เป็นพื้นที่ซึ่งเป็นดินเลนแข็ง และเป็นบริเวณที่มีน้ำท่วมถึงในบางครั้ง เฉพาะเวลาที่ระดับน้ำทะเลขึ้นสูงสุดเท่านั้น คือโซนของไม้เสม็ดจะขึ้นอย่างหนาแน่น ซึ่งโซนนี้ถือเป็นแนวติดต่อระหว่างป่าชายเลนและป่าบก (สนิท อักษรแก้ว, 2541) ดังภาพที่ 2-14



ภาพที่ 2-14 แนวเขตการขึ้นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2550)

พืชที่อาศัยอยู่ในป่าชายเลนล้วนแต่เป็นผู้ผลิตขั้นต้นในระบบนิเวศทางทะเล จากส่วนของใบที่ร่วงหล่นทับถมกัน การย่อยสลายเศษซากอินทรีย์วัตถุของแบคทีเรียและราถือว่ามีความสำคัญในการเพิ่มธาตุอาหารต่อระบบอย่างมาก (Sharma & Vittal, 2000) ทรอสโทไคตริดส์มีหน้าที่เป็นผู้ย่อยซากพืช ซากสัตว์ ซึ่งมีบทบาทอย่างมากในการเปลี่ยนแปลงทางเคมีจากการย่อยสลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน ซึ่งพบว่าทรอสโทไคตริดส์เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลาย ก่อนที่จะมีการย่อยสลายจากจุลินทรีย์กลุ่มอื่น (Raghukumar, 1988; Chilton, 1995) และ Ulken (1981b) รายงานการพบเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลสและโพลีกาแลคทูโอเนส ที่ *Schizochytrium mangrovei* ใช้ในการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังการย่อยสลาย

ทรอสโทไดตริดส์จะปลดปล่อยธาตุอาหารในรูปสารอินทรีย์คืนสู่ระบบและตัวทรอสโทไดตริดส์เองยังเป็นอาหารของสิ่งมีชีวิตอื่นในบริเวณนั้นอีกด้วย (Honda, 2001) ดังภาพที่ 2-15



ภาพที่ 2-15 วงจรโซ่อาหารในป่าชายเลน (สนิท อักษรแก้ว, 2541)

กรดไขมัน (fatty acids)

กรดไขมันจัดเป็นกรดคาร์บอกซิลิค (carboxylic acid) ที่มีหมู่ –COOH เพียงหมู่เดียวต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาวเส้นตรง กรดไขมันที่พบในธรรมชาติมักมีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นจำนวนคู่ ระหว่าง 4-24 อะตอม และพบในรูปกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) เล็กน้อย แต่ส่วนใหญ่พบในรูปที่ละลายในไขมัน (saponifiable lipid)

การเรียกชื่อกรดไขมัน

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

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวและชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน มีวิธีในการนับตำแหน่งดังนี้

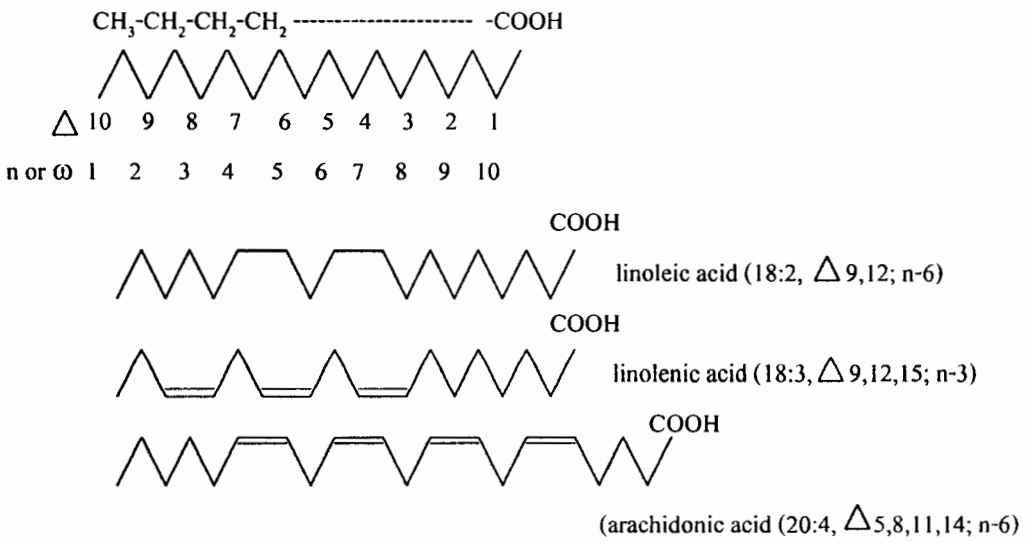
การนับตำแหน่งของคาร์บอนเพื่อบอกตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวมี 2 วิธี

1. นับจากปลาย –COOH และนับทุกตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่ ใช้สัญลักษณ์การนับเป็น Δ (delta)

2. นับจากปลาย $-CH_3$ และนิยมนับตำแหน่งคาร์บอนของพันธะคู่แรกเพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น เนื่องจากพันธะคู่ถัดไปจะต่างกัน 3 คาร์บอนเสมอ ใช้สัญลักษณ์เป็น n หรือ ω (omega) ซึ่งการระบุตำแหน่งนี้มีประโยชน์ โดยทำให้ทราบว่ากรดไขมันชนิดนั้น ๆ อยู่ในกลุ่มเดียวกัน หรือมีความสัมพันธ์ทางด้านเมตาบอลิซึม (metabolism) หรือไม่ (รัศมี ศุภศรี, 2536) การนับตำแหน่งพันธะคู่แสดงในภาพที่ 2-16

การจำแนกประเภทของกรดไขมันแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ

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



ภาพที่ 2-16 การนับตำแหน่งพันธะคู่ในสายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว
(ดัดแปลงจาก มนตรี จุฬาวัฒนทลและคณะ, 2542)

2. กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมอยู่ด้วย โดยมีพันธะคู่อยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 1-6 คู่ และโซ่คาร์บอนยาว 18-22 คาร์บอน กรดไขมันกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุลและตำแหน่งของพันธะคู่ (อัคนิตย์ อิทธิอาภา, 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) โดยทั่วไปจะใช้เรียกกรดไขมันในกลุ่มโอเมก้า-3 ดังนั้น โอเมก้า-3 HUFA จึงประกอบไปด้วย 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 กรดไขมัน ในกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำ และจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นกับจำนวนของคาร์บอนอะตอม จำนวนพันธะคู่ในโมเลกุล และตำแหน่งของพันธะคู่ (สุพิศ ทองรอด, 2535)

โดยทั่วไปแล้วกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง และบางชนิดยังคงเป็นของเหลวที่จุดเยือกแข็ง เช่น กรดไลโนลีนิค (18:3n-3) กรดไขมันไม่อิ่มตัวมักพบทั้งในน้ำมันจากพืช (ยกเว้นน้ำมันมะพร้าว) เช่น น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำ เป็นต้น และน้ำมันจากสัตว์ เช่น น้ำมันตับปลา และที่นิยมนำมาสกัดกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 มากที่สุดคือน้ำมันปลา

สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ ๆ ตามตำแหน่งของคาร์บอนตัวแรกที่มีพันธะคู่คือ

1. กลุ่มกรดโอลีอิค (oleic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-9 (n-9 หรือ ω-9) กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดโอลีอิค (18:1n-9) ซึ่งนิยมนำมาใช้สังเคราะห์กรดไขมันอื่น ๆ เช่น 18:2n-9, 20:1n-9 (gadoleic acid) และ 20:2n-9 โดยทั่วไปพบมากในสัตว์บก เช่น น้ำมันหมู (lerd oil) และน้ำมันวัว (beef tallow oil) เป็นต้น

2. กลุ่มไลโนลีอิค (linoleic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-6 (n-6 หรือ ω-6) กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลีอิค (18:2n-6) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:3n-6 (γ-linolenic acid), 20:3n-6 (dihomo-γ-linolenic acid) และ 20:4n-6 (arachidonic acid) เป็นต้น สัตว์น้ำมีความสามารถในการสังเคราะห์กรดไขมันแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ปลาน้ำจืด และปลาน้ำกร่อยบางชนิดสามารถสังเคราะห์ 18:2n-6 หรือสร้างกรดอะราคิโดนิค (20:4n-6) ได้

ในขณะที่ปลาทะเลต้องได้รับโดยตรงจากอาหารเท่านั้น (สุพิศ ทองรอด, 2535) โดยทั่วไปกรดไขมันกลุ่มนี้พบในน้ำมันพืชมากกว่าไขมันจากสัตว์ ซึ่งน้ำมันพืชส่วนใหญ่จะมีกรดไลโนลีอิคมากกว่ากรดไลโนลีนิค 87-99 เท่า (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2542)

3. กลุ่มไลโนลีนิค (linolenic acid series) หรือกลุ่มโอเมก้า-3 (n-3 หรือ ω-3) กรดไขมันในกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลีนิค (18:3n-3) ซึ่งนำมาสังเคราะห์กรดไขมันชนิดอื่น ๆ เช่น 18:4n-3, 20:3n-3, 20:4n-3, 20:5n-3 และ 22:6n-3 เป็นต้น

กรดไลโนลีนิคจะถูกใช้สังเคราะห์อีพีเอและดีเอชเอ ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ของ n-3 PUFA ซึ่งพบมากในวัชพืชน้ำ สาหร่าย และสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากสัตว์ทะเล (marine oil) ได้แก่ น้ำมันปลา (fish oil) และน้ำมันตับปลา (fish liver oil) เป็นต้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2-3 (สุพิศ ทองรอด, 2535)

ความสำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

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

เออาร์เอ (ArA) มีบทบาทในการสร้างและการเก็บความจำระยะยาวของทารกซึ่งเป็นพื้นฐานของการเรียนรู้ ช่วยเพิ่มความไวของการรับแสงในส่วนเรตินาของลูกตา และความสามารถในการมองเห็น เนื่องจาก เออาร์เอคือกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ที่เป็นส่วนประกอบหลักของซินแนปซ์หรือจุดเชื่อมต่อระหว่างเซลประสาท และมีบทบาทเป็นตัวนำข้อมูลตรงรอยต่อของซินแนปซ์และภายในเซล นอกจากนี้เออาร์เอ ยังช่วยเพิ่มความเร็วในการส่งสัญญาณประสาทระหว่างเซลล์ประสาทของทารกเพื่อนำข้อมูลมาเก็บไว้ในสมอง ซึ่งเป็นการช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพของกระบวนการเรียนรู้และความจำในระยะยาว
(http://apichoat.spaces.live.com/blog/cns!9891083BDDC31311!395.entry?sa=714862788)

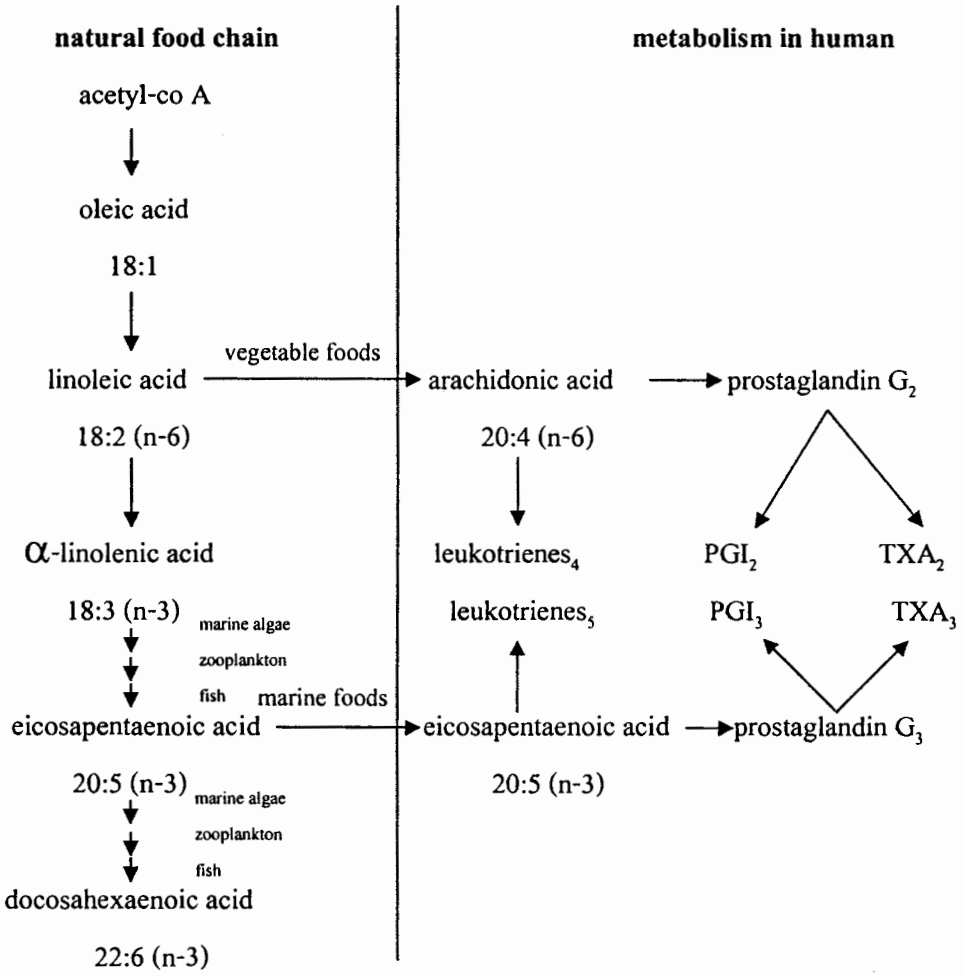
อีพีเอ (EPA) อีพีเอเป็นคำที่ย่อมาจาก eicosapentaenoic acid (20:5n-3) เป็นกรดไขมันที่มีคุณสมบัติ ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด และสร้างสารที่ทำให้เส้นเลือดขยายตัวได้ดี จึงลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้ จากสมมติฐานทางการแพทย์ของการเกิดโรคหัวใจอุดตันพบว่าการเกิดลิ่มเลือด (thrombogenesia) เป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งของปัญหาโรคหัวใจและหลอดเลือด กลไกในการป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดมีอยู่หลายประการ โดยมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง

2 กลุ่มที่เกี่ยวข้องคือ กลุ่มโอเมก้า-6 และโอเมก้า-3 ซึ่งจะถูกใช้เป็นสารตั้งต้นของการสร้างไอโคซานอยด์ (eicosanoid) ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันมาก แต่ไอโคซานอยด์ที่ได้จากกรดไขมันทั้งสองกลุ่มนี้มีหน้าที่ในทางตรงข้ามกัน เช่น การสร้าง thromboxanes A_2 จากอะราคิโดนิค ทำให้เกิดการรวมกลุ่มของเกล็ดเลือดซึ่งจะถูกยับยั้งด้วย thromboxanes A_3 ที่สร้างมาจากอีพีเอที่มีคุณสมบัติต้านการรวมตัวของเกล็ดเลือดบริเวณผนังหลอดเลือด (เดือนทิพย์ ปียรัตน์, 2538) ทำให้สามารถลดความหนืดของเลือดลง และช่วยเพิ่มระดับของเหลวในเมมเบรน ดังภาพที่ 2-17 ซึ่งคุณสมบัตินี้สามารถพบได้ในน้ำมันปลาชนิดต่าง ๆ โดยทั้งปลาน้ำจืดและปลาทะเลต่างมีอีพีเอเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง คิดเป็น 5.9 เปอร์เซ็นต์ และ 8.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Hepher, 1988) ดังนั้นการบริโภคปลาเป็นประจำย่อมลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจขาดเลือดได้

ตารางที่ 2-2 กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวสูงในไขมันสัตว์และน้ำมันพืชต่าง ๆ (%โดยน้ำหนัก)
(สุพิศ ทองรอด, 2535)

ไขมันหรือน้ำมัน	กรดไลโนลีอิก (n-6)	กรดไลโนลีนิค (n-3)	n-3/n-6
ไขมันสัตว์:			
หมู	11.0	0.6	0.1
วัว	2.0	0.5	0.3
ปลาเมนเฮเดน (menhaden)	3.9	23.9	8.4
ปลาเฮริง (herring)	3.3	16.8	5.1
ปลาแซลมอน	5.0	26.4	5.3
ปลากดหลวง	26.3	6.4	0.2
กุ้งทะเล	14.9	23.2	1.6
น้ำมันพืช:			
รำข้าว	32.1	1.4	0.0
ข้าวโพด	455.0	0.5	0.0
เมล็ดฝ้าย	51.1	0	0.0
ถั่วเหลือง	54.4	7.0	0.1
ถั่วลิสง	27.5	0.0	0.0
งา	14.5	56.0	3.9
ปาล์ม	9.0	-	-
มะกอก	9.0	-	-
มะพร้าว	1.6	0.0	0.0

ดีเอชเอ (DHA) เป็นคำที่ย่อมาจาก docosahexaenoic acid (22:6 n-3) มีความสำคัญในร่างกายและมีผลโดยตรงต่อสุขภาพมนุษย์ พบได้ที่บริเวณเรตินา ดีเอชเอมีโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับอีพีเอ โดยเป็นองค์ประกอบเรตินาของดวงตาและผนังเซลล์ทั่วร่างกาย ทำให้เซลล์มีความไวต่อการรับสัญญาณประสาท และที่สำคัญที่สุดคือ เป็นส่วนประกอบของเซลล์สมองซึ่งพบในปริมาณสูง (Bajpai *et al.*, 1991a) ดีเอชเอที่เข้าไปในสมองจะเสริมสร้างการเจริญเติบโตของปลายประสาทที่เรียกว่าเดนไดรต์ (dendrite) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายทอดสัญญาณและส่งผ่านข้อมูลระหว่างสมองด้วยกัน ทำให้เกิดการเรียนรู้และความจำ และพบว่าในสมองของทารกในครรภ์มีดีเอชเอเป็นส่วนประกอบอยู่ครึ่งหนึ่งก่อนคลอด ส่วนที่เหลือได้รับจากอาหารในช่วงปีแรก ดังนั้นดีเอชเอจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อสตรีในระยะตั้งครรภ์ และมารดาในระยะให้นมบุตร เนื่องจากในน้ำนมมารดามีดีเอชเอในปริมาณสูง จึงเชื่อว่าดีเอชเอมีผลต่อการพัฒนาสมอง การมองเห็นและการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ในช่วงที่เป็นทารก (Barclay, 1992) นอกจากนั้นยังช่วยป้องกันการเกิดโรคทางหัวใจและหลอดเลือด ช่วยบำบัดโรคที่เกี่ยวข้องกับความชราภาพ และมีผลทำให้การตั้งครรภ์และการคลอดบุตรเป็นไปโดยปกติ (ประสงค์ เทียนบุญ, 2543; วรรณิพา วิเวโก, 2545) ดีเอชเอเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ประกอบด้วยคาร์บอน 22 อะตอม ภายในมีพันธะคู่ 6 พันธะ ซึ่งนิยมเขียนในรูป C22: 6 ร่างกายมนุษย์สามารถเปลี่ยนกรดลิโนลีนิค ที่พบในผักสีเขียว น้ำมันพืช และเมล็ดพืช ให้เป็นดีเอชเอได้โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จาก 2 กระบวนการ คือ elongation โดยการเพิ่มอะตอมคาร์บอน 2 อะตอม ที่ acyl chain ภายในไมโตรคอนเดียและ เอนโดพลาสมิคเรติคูลัม และกระบวนการ desaturation เป็นการเติมพันธะคู่ระหว่างพันธะคู่ที่มีอยู่ใน acyl chain กลไกการเกิดปฏิกิริยาจะถูกกระตุ้นโดย acyl - coA desaturases (Δ^6,Δ^5 และ Δ^4) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่อะตอมของกรดไขมันชนิดเดียวกัน แต่ในสภาวะร่างกายมีการสะสมกรด ลิโนลีอิคมาก (linoleic acid) กระบวนการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันดีเอชเอจะลดลง เนื่องจากกรด ลิโนลีนิคและกรดลิโนลีอิคมีความต้องการเอนไซม์ชนิดเดียวกัน (Hunt, 2000) โดยปกติร่างกายไม่สามารถสังเคราะห์กรดไขมันดังกล่าวให้เพียงพอต่อความต้องการได้ ดังนั้นกรดไขมันดีเอชเอส่วนมากจึงได้รับมาจากอาหารที่มนุษย์บริโภคเข้าไปนั้นเอง



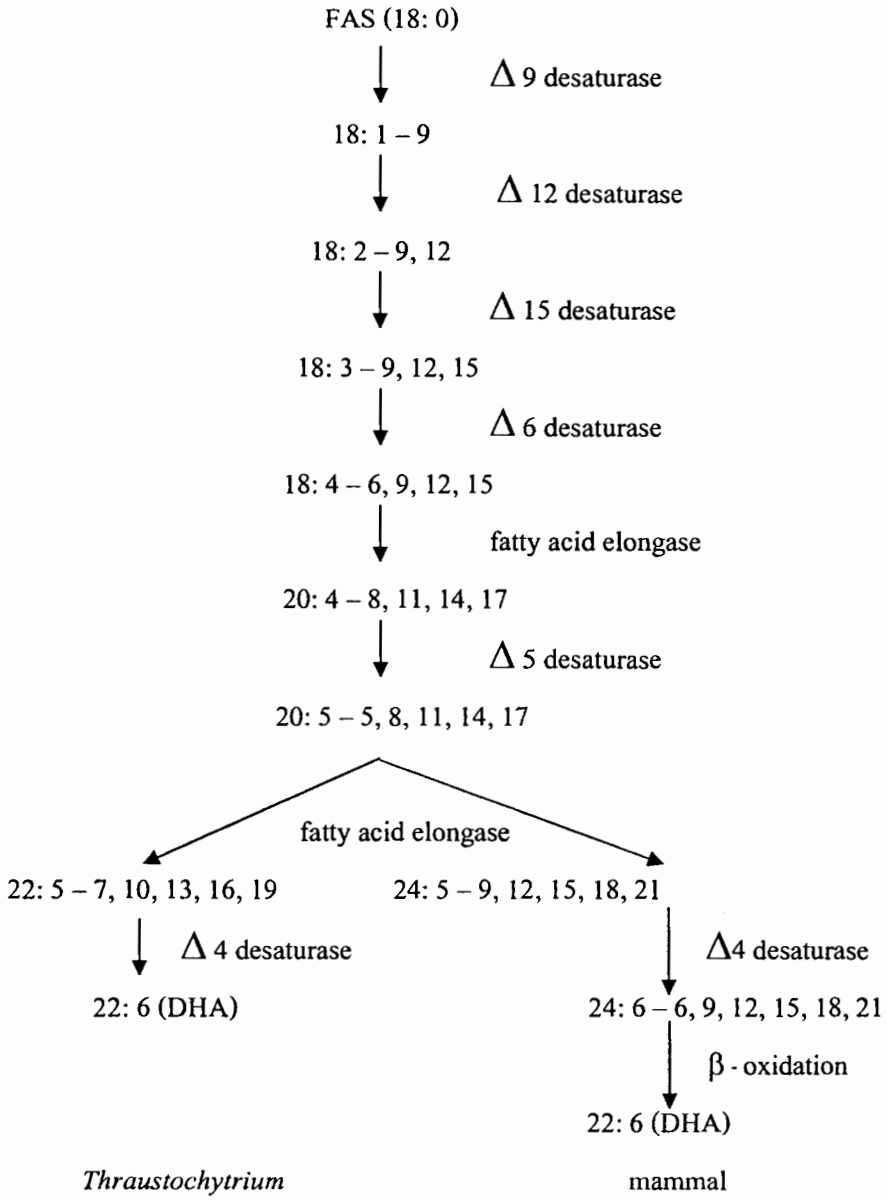
ภาพที่ 2-17 วิถีของการสร้างกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3 และเมตาบอลิซึมในมนุษย์ (เดือนทิพย์ ปียรัตน์, 2538)

การสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทไดตริดส์ แบ่งเป็น 2 วิถี ดังนี้

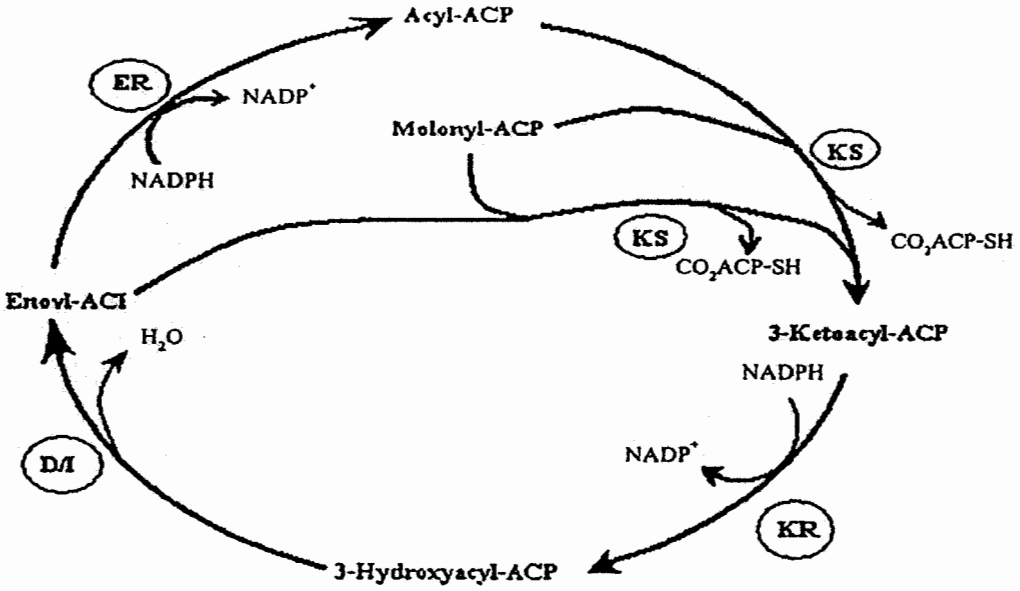
1. วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (aerobic pathway) เป็นวิถีการสังเคราะห์ที่ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนเป็นโคแฟคเตอร์ในกระบวนการ พบการสังเคราะห์วิถีนี้ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า *Thraustochytrium* มีกระบวนการผลิตกรด ไขมันดีเอชเอผ่านวิถีการใช้ออกซิเจนเช่นเดียวกัน เริ่มกระบวนการโดยกรดไขมันลิโนลีนิค (18 : 3) เป็นสารตั้งต้น จากนั้นเพิ่มพันธะคู่โดย $\Delta 6$ desaturase เปลี่ยนจาก 18: 3 เป็น18: 4 เพิ่มคาร์บอน

2 อะตอม ผ่านกระบวนการ elongation เปลี่ยน 18: 4 เป็น 20: 4 แล้วเพิ่มพันธะคู่โดย $\Delta 5$ desaturase เปลี่ยนจาก 20: 4 เป็น 20: 5 เพิ่มคาร์บอน 2 อะตอม ผ่านกระบวนการ elongation เปลี่ยน 20: 5 เป็น 22: 5 (DPA) และเพิ่มพันธะคู่โดย $\Delta 4$ desaturase เปลี่ยนจาก 22: 5 เป็น 22: 6 (DHA) ซึ่งกระบวนที่กล่าวมาเป็นการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอใน *Thraustochytrium* แต่ในสัตว์พบว่ากระบวนการจะแตกต่างออกไปคือ จาก 20: 5 ทำการเพิ่มคาร์บอน 4 อะตอม เปลี่ยน 20: 5 เป็น 24: 5 เพิ่มพันธะคู่โดย $\Delta 6$ desaturase เปลี่ยนจาก 24: 5 เป็น 24: 6 และลดจำนวนคาร์บอน 2 อะตอม จากปฏิกิริยา β - oxidation เป็นกรดไขมันดีเอชเอ (22: 6) (ภาพที่ 2-18)

2. วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic pathway) เป็นวิถีการสังเคราะห์ที่ไม่ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนเป็นโคแฟคเตอร์ในกระบวนการ พบการสังเคราะห์วิถีนี้ในแบคทีเรีย รา และทรอสโทไคตริดส์สกุล *Schizochytrium* การสังเคราะห์กรดไขมันผ่านวิถีนี้อาศัยการทำงานของเอนไซม์ polyketide synthase (PKS) การสังเคราะห์เกิดจากการรวมตัวกันของ acyl – ACP และ malonyl – ACP โดยเอนไซม์ 3 – ketoacyl – ACP synthase เกิดเป็น 3 – ketoacyl – ACP จากนั้นผ่านกระบวนการ ketoreduction โดยเอนไซม์ 3 – hydroxyacyl – ACP reductase เป็น 3 – hydroxyacyl – ACP เกิดกระบวนการ dehydration จาก 3 – hydroxyacyl – ACP เป็น unsaturated enoyl – ACP และเกิดกระบวนการ reduction เป็น saturated acyl chain (ภาพที่ 2-19) แต่เนื่องจากกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันแบบไม่ใช้ออกซิเจนมักเกิดไม่ครบทั้งวงจร คืออาจเกิดการข้ามกระบวนการ dehydration และ reduction ทำให้ผลิตภัณฑ์จากกระบวนการนี้มีความหลากหลายทางด้านโครงสร้างและผลิตภัณฑ์ที่ได้มักประกอบด้วยหมู่ keto หมู่ hydroxyl และพันธะคู่ (Qui, 2003)



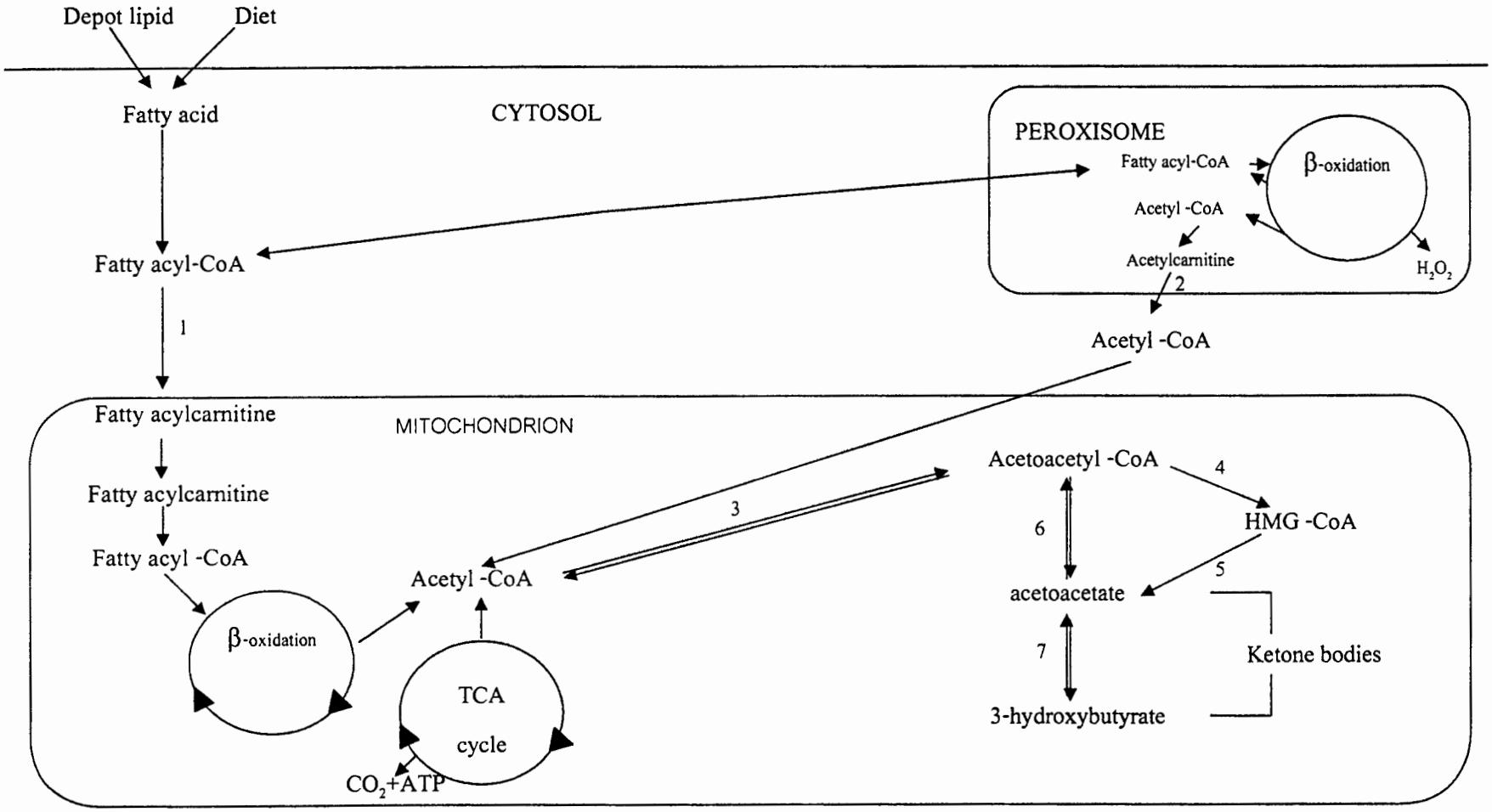
ภาพที่ 2-18 วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบใช้ออกซิเจน (desaturation และ elongation) ใน *Thraustochytrium* และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Qui, 2003)



ภาพที่ 2-19 วิถีการสังเคราะห์กรดไขมันดีเอชเอแบบไม่ใช้ออกซิเจนของ *Schizochytrium* (ACP, acyl carrier protein: KS, 3 – ketoacyl – ACP synthase: KR, 3 – hydroxyacyl – ACP reductase, D/I, bifuntional dehydrase/isomerase: (Qui, 2003)

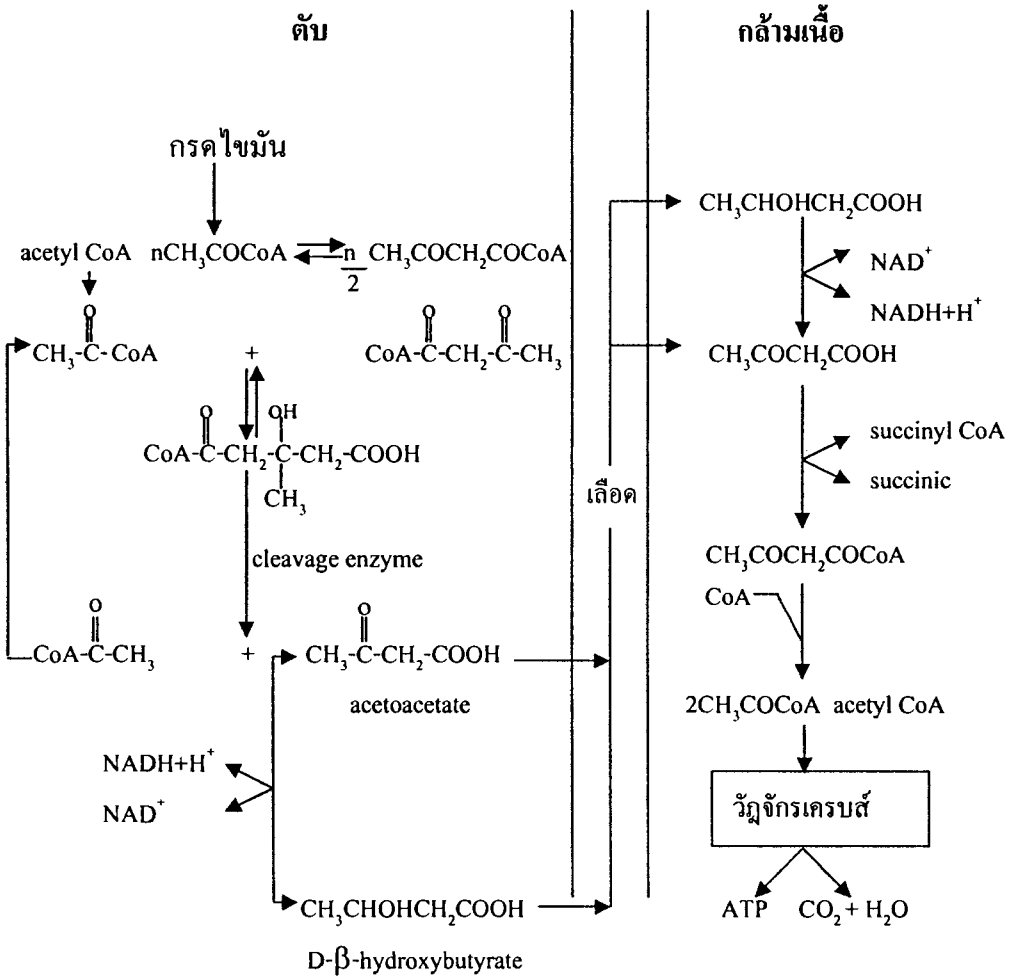
การสลายกรดไขมัน หรือการเผาผลาญกรดไขมัน หมายถึง การนำกรดไขมันมาออกซิไดส์ เพื่อให้ได้พลังงานออกมา โดยอาจเกิดได้ทั้งในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) และเพอร์ออกซิโซม (peroxisome) ดังภาพที่ 2-20

การสลายกรดไขมันเริ่มจากกรดไขมันรวมกับโคเอนไซม์เอ (coenzyme A) ได้เป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอ (fatty acyl-coA) จากนั้นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะเปลี่ยนเป็นแฟตตีเอซิลคาร์นิทีน (fatty acylcarnitine) โดยอาศัยเอนไซม์คาร์นิทีนเอซิลทรานเฟอเรส (carnitine acyltransferase) เป็นตัวนำกรดไขมันเข้าผนังไมโทคอนเดรีย แล้วจึงกลับมาเป็นแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เออีกครั้งหนึ่ง ต่อมาแฟตตีเอซิลโคเอนไซม์เอจะถูกนำไปสลายในไมโทคอนเดรียโดยกระบวนการเบตา-ออกซิเดชั่น (β-oxidation) ได้อะซิติลโคเอนไซม์เอ (acetyl-coA) ซึ่งจะถูกนำเข้าวัฏจักรไทรคาร์บอกซิลิค (TCA cycle) เพื่อให้ได้พลังงานออกมา ในบางครั้งอะซิติลโคเอนไซม์เอไม่ได้ถูกสลายให้เกิดพลังงานทำให้อะซิติลโคเอนไซม์เอ 2 ตัวรวมกันเป็นอะซิโตอะซิติล



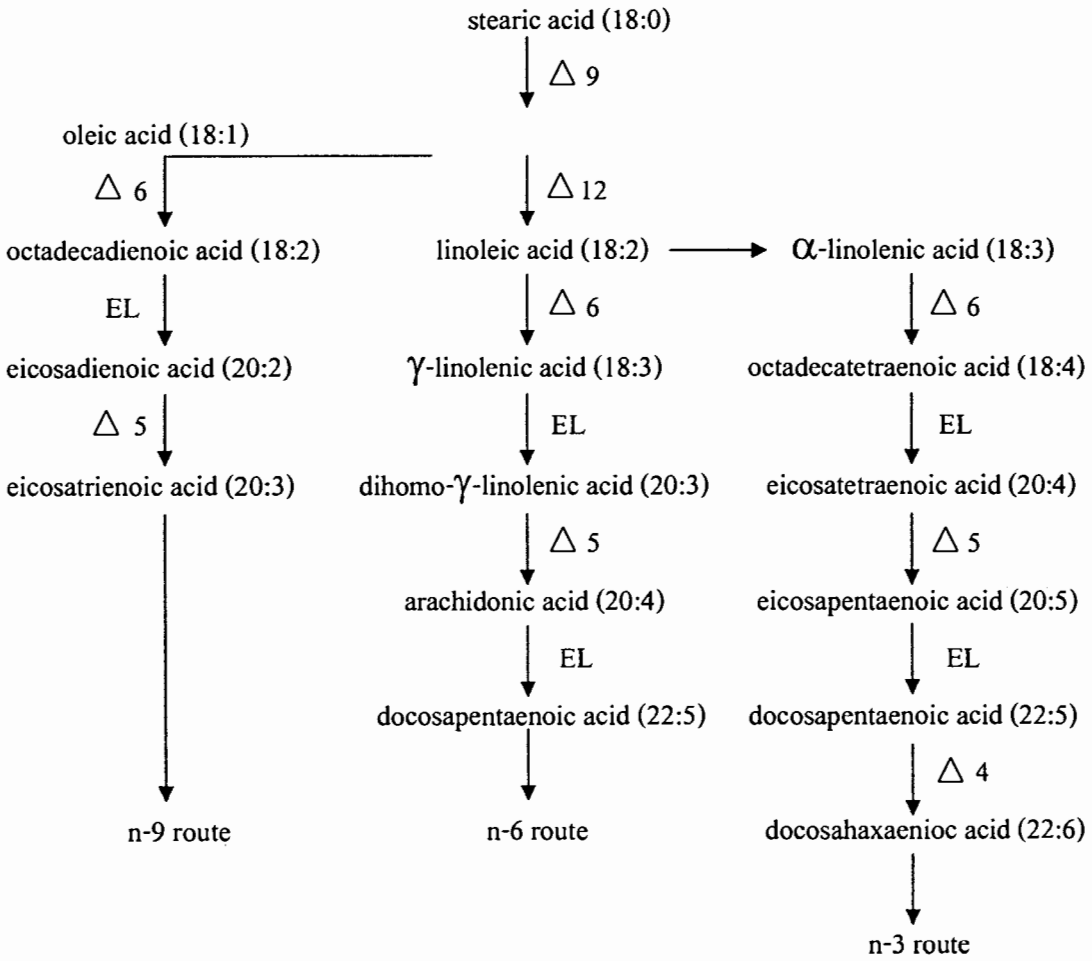
ภาพที่ 2-20 ขั้นตอนการสลายกรดไขมัน (Henderson & Sargent, 1985)

โค-เอนไซม์เอ (acetoacetyl-coA) เพราะขาดออกซาโลอะซิเตท (oxaloacetate) โดยการรวมตัวกันอาศัยเอนไซม์อะซิโตอะซิติลโคเอนไซม์เอไทโอเลส (acetoacetyl-coA thiolase) จากนั้นอะซิโต-อะซิติลโคเอนไซม์เอจะถูกเร่งโดยเอนไซม์เอชเอ็มจี-โคเอนไซม์เอซินทีเทส (HMG-coA systhetase) เป็นเอชเอ็มจีโคเอนไซม์เอ (HMG-coA) และเปลี่ยนเป็นอะซิโตอะซิเตท (acetoacetate) และ 3-ไฮดรอก-ซีบิวไทเรท (3-hydroxybutyrate) ซึ่งจัดเป็นสารคีโตนบอดี (ketone body) โดยคีโตน-บอดีจะถูกส่งผ่านไปยังกระแสเลือดเข้าสู่เซลล์ เพื่อให้เกิดปฏิกริยาออกซิเดชั่นอย่างสมบูรณ์ในวัฏจักรเครบส์ (ดังภาพที่ 2-21) ปกติเลือดจะมีปริมาณคีโตนบอดีต่ำมาก ในขณะที่ร่างกายขาดพลังงานจากสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต ลิพิดจะถูกย่อยสลายเป็นกรดไขมันเพื่อนำไปใช้ในการสร้างพลังงานทดแทนทำให้ปริมาณอะซิติลโคเอนไซม์-เอสูง มีผลให้ปริมาณคีโตนบอดีสูงขึ้นด้วย ถ้าหากมีปริมาณคีโตนบอดีสะสมอยู่มากในเลือดจะทำให้เกิดภาวะคีโตซิส (ketosis) (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2538)



ภาพที่ 2-21 การสังเคราะห์และการเผาผลาญคีโตนบอดี (ดาวัลย์ ฉิมภู่, 2538)

ส่วนในจุลินทรีย์จะมีกระบวนการสังเคราะห์และสลายกรดไขมันคล้ายกับในสิ่งมีชีวิตขนาดใหญ่ โดยกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันมีขบวนการ elongation (เพิ่มจำนวนคาร์บอน) และขบวนการ desaturation (มีความไม่อิ่มตัวสูงขึ้นคือมีจำนวนพันธะคู่มากขึ้น) ดังภาพที่ 2-22



ภาพที่ 2-22 กระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันในจุลินทรีย์ (elongation-desaturation) (Hunt, 2000)

แหล่งที่สำคัญของกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า-3

น้ำมันปลา (fish oil) อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า-3 ชนิดที่พบและมีความสำคัญคือ แอลฟา-ไลโนลีนิค อีพีเอและดีเอชเอ ไขมันที่มีอยู่ในเนื้อปลาจะเป็นส่วนประกอบของเซลล์ต่าง ๆ โดยเฉพาะเซลล์สมอง มีส่วนช่วยป้องกันการแข็งตัวของไขมันในเส้นเลือด ส่วนวิตามินและแร่ธาตุที่มีอยู่ในเนื้อปลาจะควบคุมการทำงานของร่างกายให้ทำหน้าที่ได้ตามปกติ (วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย, 2536) นอกจากนี้ขบวนการเมตาบอลิซึมของปลาก็มีส่วนอย่างมาก ในการสร้างและรักษากรดไขมันเหล่านี้ไว้ เนื่องจากปลามีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า-3 สูง ทำให้ไขมันปลาแตกต่างจากไขมันสัตว์ชนิดอื่น ๆ คือ มีสภาพเป็นของเหลวที่อุณหภูมิต่ำ มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของปลาคงสภาพเป็นของเหลวอยู่ได้ในน้ำแข็ง ปลาจึงสามารถย่อยและดูดซึมไขมันไปใช้ได้ จึงทำให้ปลาทะเลยังคงมีระดับกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงมาก จากการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณอีพีเอและดีเอชเอในปลาชนิดต่าง ๆ กัน พบว่า มีปริมาณอีพีเอและดีเอชเอระหว่าง 4-37 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (รัศมี ศุภศรี, 2536 อ้างอิงจาก Kinesella, 1986)

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

จากปัญหาข้างต้นจึงทำให้นักวิทยาศาสตร์ได้หันมาให้ความสนใจแหล่งไขมันที่ได้จากสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ พวกสาหร่ายและแพลงก์ตอนต่าง ๆ Yongmanitchai and Ward (1989) รายงานว่า สาหร่ายขนาดเล็กสายพันธุ์ *Isochrysis* spp. มีกรดไขมันชนิด 18:4 และดีเอชเอในปริมาณสูง แต่มีปริมาณอีพีเอเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ *Monochrysis luteri, Coccolithus huxleyi* และ *Cricosphaera elongata* มีปริมาณอีพีเอ 17-28 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และจากการศึกษาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงในสาหร่ายเซลล์เดียวพบว่า *Chaetoceros* sp., *Isochrysis* sp. และ *Tetraselmis* sp. มีปริมาณอีพีเอเท่ากับ 8.43±0.29, 0.41± 0.21 และ 3.34± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ โดย *Chaetoceros* sp. และ *Isochrysis* sp. มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 0.70±0.03 และ 7.13±0.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ปริมาณรวมอีพีเอและดีเอชเอพบสูงสุดใน *Chaetoceros* sp. เท่ากับ 9.13±0.32 รองลงมาคือ *Isochrysis* sp. มีปริมาณ 8.54±0.44 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ศิริวรรณ เพชรสมบัติ, 2541)

นอกจากนี้ไดอะตอมบางชนิดเช่น *Phaeodactylum tricornutum* ที่เลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน สามารถผลิตอีพีเอได้ 3 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร และยังมีรายงานด้วยว่าไดโนแฟลกเจลเลตหลายชนิดสามารถผลิตอีพีเอและดีเอชเอได้ ส่วนในแบคทีเรียชนิด *Shewanella purtefaciens* ที่แยกได้จากลำไส้ปลาทะเลสามารถผลิตอีพีเอ แต่ไม่พบดีเอชเอ (วรพจน์ สุนทรสุข, 2541) ขณะที่ยีสต์หลายสกุลเช่น *Candida, Crytococcus, Hansenula, Lipomyces* และ *Rhodotorula* เป็นแหล่งผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้แก่ กรดไลโนลีอิคและกรดไลโนลีนิค (Zelles, 1997 อ้างถึงใน Bowles *et al.*, 1999) ต่อมาได้หันมาให้ความสนใจจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ 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) จะเห็นได้ว่าทรอสโทไคตริดส์สามารถผลิตดีเอชเอได้ในปริมาณสูง รวมทั้งไม่ก่อให้เกิดปัญหาเช่นในน้ำมันปลา จึงทำให้เกิดทางเลือกใหม่ที่จะสกัดโอเมก้า-3 จากจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทไคตริดส์

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ทรอสโทไคตริดส์เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่พบได้โดยทั่วไปบริเวณป่าชายเลนทั่วโลก เช่น อินเดีย (Raghukumar, 1992) ญี่ปุ่น (Honda *et al.*, 1998) ฮ่องกง (Fan, Vrijmoed & Jones, 2000) ฟิลิปปินส์ (Leano, 2001) มาเลเซีย (Bremer, 1995) เป็นต้น โดยมีความสำคัญโดดเด่นในส่วนของการสะสมกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดดีเอชเอได้สูงถึง 30-40 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด (Bowles,1997) และมีการนำมาเป็นอาหารสัตว์น้ำเพื่อเพิ่มคุณค่าทางอาหารอย่างแพร่หลาย (สมถวิล จริตควร และ Jones, 2551) ทำให้นักวิทยาศาสตร์มีความสนใจศึกษาทรอสโทไคตริดส์ เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกลุ่มโอเมก้า- 3

Watson and Raper (1957) คัดแยก *Labyrinthula minuta* จากสาหร่ายทะเลโดยนำมาเลี้ยงในอาหารที่มีซีรัม พบว่า vegetative colony ประกอบไปด้วยเซลล์เดี่ยวที่เชื่อมต่อกันด้วยเอคโตพลาสมิคเนท หรือที่เรียกว่าเส้นใยเมือก อย่างไรก็ตามจะสามารถมองเห็นเส้นใยเหล่านี้ได้เมื่อศึกษาโดยใช้กำลังขยาย 400 เท่า หรือสูงกว่านี้ เมื่อศึกษาโดยใช้กำลังขยายต่ำกว่านี้จะมองเห็นเซลล์อยู่กันแบบกระจัดกระจายบนผิวของอาหารแข็ง ซึ่งตรงข้ามกับเอคโตพลาสมิคเนทของ

Labyrinthula ชนิดอื่นที่สามารถมองเห็นได้ง่ายถึงแม้ว่าจะใช้กำลังขยายต่ำกว่า 400 เท่า ลักษณะเด่นของเชื้อชนิดนี้คือมีการจัดเรียงตัวของเอคโตพลาสมิคเนทไม่เป็นระเบียบ เอคโตพลาสมิคเนทบอบบางมาก เซลล์อยู่เป็นกลุ่มเล็กหรืออยู่เป็นเซลล์เดี่ยวแยกจากกัน แต่เซลล์เหล่านี้จะเชื่อมต่อกันอยู่ในเอคโตพลาสมิคเนท เซลล์แต่ละเซลล์ไม่ได้เรียงชิดกันทำให้มองเห็นเซลล์อยู่กันอย่างไม่เป็นระเบียบ เอคโตพลาสมิคเนท มีความกว้าง 1 ถึง 2 ไมโครเมตร และตัวเซลล์จะเคลื่อนที่อยู่ในเส้นใยนี้เท่านั้น vegetative cell ของ *Labyrinthula minuta* มีความยาว 5 ถึง 10 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับ *Labyrinthumyza sauvageaui* Duboscq, *Pseudoplasmodium aurantiacum* Molisch และ *Labyrinthula zopfii* Valk ซึ่งเมื่อพิจารณาจาก ขนาดเซลล์ไม่สามารถแยกเชื้อเหล่านี้ออกจากกันได้ อย่างไรก็ตามสามารถแยกเชื้อนี้จากเชื้ออื่นโดยอาศัยลักษณะรูปร่างของเซลล์ปกติที่มีลักษณะเป็นรูปไข่

Goldstein and Belsky (1964) คัดแยก *Schizochytrium* จาก New Haven ประเทศอเมริกาและจัดให้อยู่ในสกุลใหม่ชื่อว่า *Schizochytrium aggregatum* โดยพิจารณาจากเซลล์ปกติมีการแบ่งแบบ binary division เพื่อสร้างซูโอสปอร์ อย่างไรก็ตามพบว่า *Labyrinthuloides* ก็มีการแบ่งเซลล์แบบ binary division เพื่อสร้างซูโอสปอร์เช่นเดียวกัน

Boot and Miller (1968) เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและจัดจำแนกจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ โดยอาศัยลักษณะการสร้างซูโอสปอร์ ขนาดของซูโอสปอร์ ขนาดของซูโอสปอร์แรงเจียม ความหนาของซูโอสปอร์แรงเจียม ลักษณะการปล่อยซูโอสปอร์ออกจากซูโอสปอร์แรงเจียม การเกิดเม็ดสีของทัลลัส และลักษณะของไรซอยด์ ซึ่งการจำแนกทรอสโทไคตริดส์โดยอาศัยลักษณะดังกล่าวต้องอาศัยความชำนาญเป็นอย่างสูง

Boot and Miller (1969) รายงานว่าการจัดจำแนกชนิดของ *Schizochytrium* เป็น *Schizochytrium aggregatum* หรือไม่นั้นประสบปัญหาในการจัดจำแนกเนื่องจากทรอสโทไคตริดส์ที่พบน่าจะใช่ *S. aggregatum* แต่พบว่ามีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างจากลักษณะของ *S. aggregatum* ที่จำกัดความไว้โดย Goldstein and Belsky (1964) ในครั้งแรก อย่างไรก็ตามเขาสรุปว่าทรอสโทไคตริดส์ที่พบเป็นชนิดเดียวกับที่พบโดย Goldstein and Belsky (1964)

Olive (1975) ย้าย Thraustochytrids จาก Oomycetes และจัดจำแนกให้อยู่ใน Family Thraustochytriaceae และจัด Thraustochytriaceae และ Labyrinthulaceae ไว้ใน Order Labyrinthulales โดยพิจารณาจากองค์ประกอบทางเคมี และการสร้างผนังเซลล์ และโครงสร้างภายในของเอคโตพลาสมิคเนท

Gaertner (1979) พบทรอสโทไดตริดส์สกุล *Schizochytrium* เจริญเป็นพาราสิตอยู่ร่วมกับไดอะตอม *Thalassiosira nordenskioeldii* โดยพบว่า *Schizochytrium* เกาะติดอยู่กับผิวของไดอะตอม และเจริญพัฒนาจนเป็นสปอร์แรงเจียม แต่ไม่ได้ศึกษาวงจรชีวิตของ *Schizochytrium* เนื่องจากขาดเครื่องมือที่ใช้ศึกษาแต่คาดว่าน่าจะเป็นเชื้อเดียวกันกับที่ศึกษาโดย Drebes (1974) ที่พบว่าสปอร์แรงเจียมสร้างซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้น สำหรับเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และย้อนกลับ และพบว่าซูโอสปอร์ที่สร้างขึ้นไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ซึ่งอาจเกิดจากการที่สภาวะแวดล้อมเรื่องอุณหภูมิที่ใช้ยังไม่เหมาะสมกับการเจริญของ *Schizochytrium*

Karling (1981) กล่าวไว้ว่า *Schizochytrium aggregatum* มีการแพร่กระจายอยู่ทั่วโลก แต่ยังพบปัญหาในการจัดจำแนกอยู่ จึงทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกว่าเป็นชนิดนี้ได้ ทำให้ในบางครั้งพบทรอสโทไดตริดส์ชนิดนี้อยู่แต่ไม่สามารถระบุได้ว่าเป็น *Schizochytrium aggregatum*

Riemann and Schrage (1983) คัดแยกทรอสโทไดตริดส์จากดินตะกอนในทะเลในมหาสมุทรแอนตาร์คติก พบทรอสโทไดตริดส์มีวงจรชีวิตที่มีการสร้างอะมิบอยด์เซลล์ และจากอะมิบอยด์เซลล์มีการเปลี่ยนรูปร่างเป็นทรงกลม ซึ่งการเปลี่ยนรูปร่างเป็นอะมิบอยด์เซลล์น่าจะเปลี่ยนเพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ ในการแบ่งเซลล์สร้างโคโลนีจะมีการสร้างอะมิบอยด์เซลล์ขึ้นก่อนแล้วจึงแบ่งเซลล์สร้างซูโอสปอร์ ซึ่งจากลักษณะที่กล่าวมานี้คล้ายกับ *Ulkenia amoeboida*

Ulken, Jackle, and Bahnweg (1985) แยกจุลินทรีย์ทะเล *Aplanochytrium* sp. 2400/57 จากทะเลซาแกสโซ (Sargasso) พบว่าไอโซเลทนี้คล้ายกับ *A. kerguelensis* มาก โดยลักษณะสำคัญที่ใช้ในการจำแนก *Aplanochytrium* sp. 2400/57 ได้แก่ ลักษณะการสร้างซูโอสปอร์ โดยพบว่า *Aplanochytrium* sp. 2400/57 มีการสร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา (aplanospore) โดยการแบ่งตัวของโปรโตพลาสต์จาก 1 เป็น 2 อย่างต่อเนื่อง (successive bipartitioning) สปอร์ที่สร้างขึ้นจะหลุดออกมาจากสปอร์แรงเจียมอย่างต่อเนื่อง และค่อย ๆ ล่องลอยออกมาอย่างช้า ๆ โดยสปอร์อาจสร้างไรซอยด์ในขณะที่ลอยออกมาจากสปอร์แรงเจียม ซึ่งการปล่อยสปอร์ในลักษณะนี้เหมือนกับการปล่อยสปอร์ของ *Diplophrus marina* ซึ่งเป็นโปรติสต์ที่อยู่ในทะเล *D. marina* นั้นมีลักษณะที่คล้ายกับจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มลาบิรินทูลิดส์ (Labyrinthulids) มาก แต่ไม่มีซาจีโนเจนหรือโบโทรโซมที่ทำหน้าที่สร้างไรซอยด์เพื่อเกาะติดกับสับสเตรท และนำอาหารเข้าสู่ร่างกายซึ่ง ซาจีโนเจนเป็นลักษณะที่สำคัญของทรอสโทไดตริดส์ และเมื่อพิจารณาที่ องค์ประกอบของผนังเซลล์ ดีเอ็นเอและอาหาร พบว่าจุลินทรีย์ทะเลสกุล *Aplanochytrium* มีลักษณะที่กล่าวมานี้คล้ายกับจุลินทรีย์ทะเลสกุล *Labyrinthuloides* มาก โดยผนังเซลล์ของ *Aplanochytrium* ประกอบด้วยฟูโคส กาแลกโตส ซูโครส กลูโคส และกรดกาแลกทูโรนิก โดยพบฟูโคสมากที่สุด ซึ่งองค์ประกอบของผนังเซลล์ของ

Aplanochytrium นี้คล้ายกับองค์ประกอบของผนังเซลล์ของ *L. yorkensis* 15-6-2 และ *L. minuta* T-61 แต่ทรอสโทไคตริดส์ *Thraustochytrium* และ *Schizochytrium* มีกาแลกโตสเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์พบกลูโคสและกาแลกโตสในปริมาณน้อย

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

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

Ranghukumar and Geartner (1992) ศึกษาการแพร่กระจายของทรอสโทไคตริดส์ในทะเลเหนือ พบว่าความลึกไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ แต่อุณหภูมิหรือฤดูกาลมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ในน้ำทะเล โดยพบว่าฤดูหนาวที่มีอากาศหนาวเย็นเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ในน้ำทะเลจะน้อยกว่าฤดูร้อน แต่เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ในดินตะกอนทั้งในฤดูหนาวและฤดูร้อนไม่แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างฤดูร้อนและฤดูหนาวไม่มีผลต่อกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ ที่อาศัยอยู่ในน้ำทะเลมากนัก การหมุนเวียนของแร่ธาตุทั้งในฤดูหนาวและฤดูร้อนไม่แตกต่างกันทำให้พบทรอสโทไคตริดส์ไม่แตกต่างกัน

Sharma *et al.* (1994) พบ *Ulkenia visurgensis* และ *Labyrinthuloides minuta* จากตัวอย่างสาหร่ายทะเล *Sargassum cinereum* ที่ Dona Paula Jetty, Goa ประเทศอินเดีย และพบว่า *L. Minuta* เจริญได้ดีในสาหร่ายที่กำลังย่อยสลาย 14 วัน

Honda *et al.* (1998) คัดแยก *Schizochytrium limacinum* nov. จากน้ำทะเลบริเวณป่าชายเลน Yap Islands มหาสมุทรแปซิฟิกตะวันตก โดยนำตัวอย่างน้ำที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง (0.4 ไมโครเมตร) แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ เปปโทน 1 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 0.5 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปรับ pH เป็น pH 4-4.2 โดยเติมกรดแลคติกหลังจากที่นึ่ง

ฆ่าเชื้อในอาหารด้วยแรงดันไอน้ำแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน *Schizochytrium limacinum* nov. ที่พบนั้นมีความใกล้ชิดกับ *Schizochytrium aggregatum* แต่ต่างจาก *Schizochytrium* ชนิดอื่นที่มีอะมิบอยด์เซลล์ที่กลิ้งตัวได้ (gliding) ขนาดของซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์ที่ไม่มีการสร้างอะมิบอยด์เซลล์ก่อน และความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ เป็นซับสเตรทสำหรับการเจริญ

Jensen *et al.* (1998) พบว่าทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากหญ้าทะเล *Thalassia testudinun* ที่มีสีเขียวมีร้อยละการพบทรอสโทไคตริดส์ต่ำคือพบเพียงร้อยละ 60 แต่เมื่อทิ้งไว้ 15 วัน จนหญ้าทะเลเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองจะมีร้อยละการพบเพิ่มสูงขึ้นถึงร้อยละ 78 และพบว่าหญ้าทะเลที่มีสีเขียวจะสร้างสารปฏิชีวนะ Flavone Glycoside ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของทรอสโทไคตริดส์ และยังพบว่าพืชทะเลและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังเป็นแหล่งอาศัยที่สมบูรณ์ของทรอสโทไคตริดส์

Bowles *et al.* (1998) เก็บตัวอย่างน้ำทะเล ดินและใบไม้ป่าชายเลน จาก 3 เขต คือ กึ่งเขตร้อน เขตอบอุ่นและเขตหนาว พบทรอสโทไคตริดส์ทั้งหมด 57 สายพันธุ์ จากทุกเขตที่ทำการศึกษาปริมาณกรดไขมันดีเอชเอที่พบอยู่ในช่วง 13.7 - 35.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

Ranghukumar and Chandralata (1999) ศึกษาทรอสโทไคตริดส์ในอุจจาระของ *Pegea confoederata* โดยนำมาเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีเรณูสนเป็นเหยื่อล่อ ในการจัดจำแนกว่าเป็นทรอสโทไคตริดส์นั้นพิจารณาจากมีการสร้างเส้นใยเอคโตพลาสมิค เซลล์ที่เจริญเต็มที่มีขนาด 7 ถึง 10 ไมโครเมตร แบ่งเซลล์แบบ binary division อย่างสมบูรณ์ ซึ่งการแบ่งเซลล์แบบ binary division แบบซ้ำๆ (repeated binary division) เป็นลักษณะเด่นของ *Schizochytrium* ซึ่งแต่ละเซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์ และหลุดออกมาจากผนังของซูโอสปอร์แรงเจียม ซูโอสปอร์ที่พบมีแฟลกเจลลา 2 เส้น แบบมีขน และแบบเรียบทำหน้าที่เคลื่อนตัวไปข้างหน้าและย้อนกลับ ซึ่งจากลักษณะที่กล่าวมานี้มีความใกล้ชิดกับ *Schizochytrium limacinum* และต่างจาก *Schizochytrium mangrovei* อย่างไรก็ตามในขณะที่มีการแบ่งเซลล์เป็น 4 เซลล์ ยังคงมี 1 เซลล์ ที่ไม่แบ่งเซลล์แบบ binary division ต่อเหมือนเซลล์อื่น สปอร์แรงเจียมที่มีขนาดเล็กสร้างซูโอสปอร์ 4 ถึง 8 เซลล์ ทำให้ไม่สามารถจัดจำแนกได้ถึงระดับสปีชีส์

Ragan *et al.* (2000) จัดจำแนกชนิดของ Quahaug Parasite X (QPX) ซึ่งเป็นพาราสิตของหอยสองฝา *Mercenaria mercenaria* โดยศึกษาเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA ที่เพิ่มขยายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส พบว่า QPX เป็นสมาชิกในไฟลัมลาบิรินทูโลมัยคอตา เมื่อจัดจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่าสอดคล้องกับการจัด

จำแนกโดยอาศัยลักษณะทางอณูวิทยา ในการจัดจำแนกจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มนี้มีความสับสนเป็นอย่างมากทั้งในการจำแนกระดับสกุลและสปีชีส์ เนื่องจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและโครงสร้างขนาดเล็กภายในแต่ละแหล่งไม่เหมือนกัน ซึ่งเดิมที QPX ถูกจัดอยู่ในกลุ่มคิตริดส์ แต่ต่อมาถูกจัดให้อยู่ในไฟลัมลาบิรินทูโลมัยคอตา เนื่องจากมีซาจีโนเจนหรือโบโทรโซมที่ทำหน้าที่สร้างไรซอยด์เพื่อเกาะติดกับสับสเตรทและนำอาหารเข้าสู่เซลล์ ซึ่งซาจีโนเจนเป็นลักษณะที่สำคัญของสิ่งมีชีวิตในกลุ่มนี้ แต่ยังไม่รู้แน่ชัดว่า QPX อยู่ในกลุ่มทรอสโทไคตริดส์หรือกลุ่มลาบิรินทูลิดส์ แต่จากข้อมูลลำดับนิวคลีโอ-ไทด์ของยีน 18S rRNA สามารถชี้ชัดลงไปได้ว่า QPX เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่ดำรงชีวิตเป็นพาราสิตอยู่ในกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ที่มีความใกล้ชิดกับ *T. pachydermum* มากที่สุด

Leano (2001) เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด จากป่าชายเลน Panay ประเทศฟิลิปปินส์ พบทรอสโทไคตริดส์ 85-100% จากตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา โดยชนิดทรอสโทไคตริดส์ที่พบสูงสุดคือ *S. mangrovei* (40-100% จากตัวอย่างใบไม้ทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบ *Thraustochytrium* sp. แต่คัดแยกได้เฉพาะจากใบตะบูนขาวและโกงกางใบเล็ก

Fan and Jones (2002) พบทรอสโทไคตริดส์ 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) ได้มีการทดลองการตอบสนองทางเคมีของซูโอสปอร์ทรอสโทไคตริดส์ที่แยกได้จากป่าชายเลนประเทศฮ่องกง พบว่าซูโอสปอร์มีการตอบสนองสารสกัดที่ได้จากใบไม้ของพืชป่าชายเลนมากที่สุด โดยเฉพาะใบพืชที่เริ่มแก่ รองลงมาคือแป้ง และกรดอะมิโน ตามลำดับ

Leano (2002) พบว่ากลุ่ม Straminipilous เป็นกลุ่มแรกที่เข้าทำการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน หลังจากที่ร่วงลงน้ำและพบว่ามีความสัมพันธ์ทุกช่วงของการย่อยสลายใบไม้ (Bremer, 1995) เนื่องจากทรอสโทไคตริดส์ทนทานต่อสารฟีนอลิกที่ใบไม้ป่าชายเลนขับออกมาช่วงการย่อยสลายและมีรายงานพบว่าทรอสโทไคตริดส์สามารถผลิตเอนไซม์ เซลลูเลส โพลีกาแลคทูโรเนส และอะไมเลส ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในใบไม้ป่าชายเลน (Raghukamar *et al.*, 1994) และ *S. mangrovei* เป็นทรอสโทไคตริดส์ชนิดที่พบมากที่สุดจากป่าชายเลนทั้งในเขตร้อนและกึ่งเขตร้อน (Leano, 2002)

Douck and Rinkevich (2002) จัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์จำนวน 26 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จาก *Botryllus schlosseri* (tunicate) และจากปะการังของพิพิธภัณฑ์สัตว์น้ำ โดยใช้เทคนิค amplified fragment length polymorphism (AFLP) และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA พบว่าทรอสโทไคตริดส์ต่างชนิดกันแสดงแบบแผนดีเอ็นเอ (AFLP pattern) ที่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ยังพบว่าทรอสโทไคตริดส์ชนิดเดียวกันตามการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา เมื่อนำมาศึกษาโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA พบว่ามีความแตกต่างกันในระดับที่สามารถจัดให้อยู่ต่างสปีชีส์กันได้

Huang *et al.* (2003) จำแนกทรอสโทไคตริดส์ 7 ไอโซเลทที่สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิด docosahexaenoic acid (DHA, C22:6, n-3) ที่คัดแยกได้จากน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งทะเลของประเทศญี่ปุ่นและประเทศฟิจิ โดยการวิเคราะห์แบบแผนของชนิดของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (C_{20-22} PUFA) ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์และการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA พบว่าการจัดจำแนกด้วยวิธีทั้งสองให้ผลที่สอดคล้องกัน

Bongiorni, Pignataro & Santange (2004) เก็บตัวอย่างดินทรายบริเวณชายฝั่งทะเล Ligurian Sea ประเทศอิตาลี ที่ระดับความลึก 5 เมตรจากผิวดิน พบความหนาแน่นทรอสโทไคตริดส์ 61 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร และในช่วงหลังฤดูฝนความหนาแน่นจะเพิ่มขึ้นเป็น 200 เซลล์ต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

Bongiorni *et al.* (2005) รายงานการพบเชื้อ *Thraustochytrium gaertnerium* sp. nov. ชนิดใหม่จากป่าชายเลนของ Goa ประเทศอินเดีย โดยวงจรชีวิตเริ่มจากซูโอสปอร์เจริญเป็นเซลล์ปกติที่อายุยังน้อย (young vegetative cells) มีขนาด 4-5 ไมโครเมตร แล้วจึงเจริญเป็นเซลล์ที่พร้อมแบ่งเซลล์ (mature thalli) ภายใน 24-25 ชั่วโมง แต่ในช่วงประมาณ 18 ชั่วโมง ภายในเซลล์เริ่มมีดรอปเพล็ท (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 โดยผนังเซลขาดออกหมด แต่ยังคงเหลือ proliferation body ที่มีขนาด 5-10 ไมครอน ค้างอยู่ zoosporangia สามารถผลิต zoospores ได้ถึง 10-75 เซล โดยมีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว มีหนวด 2 เส้น หนวดเส้นที่ยาวติดอยู่ที่ปลายเซลล์ ส่วนเส้นที่สั้นติดอยู่ที่ด้านท้ายต่ำกว่าเส้นแรก ขนาดของ zoospores วัดได้ 3-4.5 ×5.5-7 ไมโครเมตรโดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาว × ความกว้าง เท่ากับ 1.4 : 1 ถึง 2 : 1 ระยะเวลาที่เริ่มสร้าง zoospores จนปล่อยออกมานั้นใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 60 นาที อย่างไรก็ตามสามารถสังเกตเห็น อะมีบอยด์ในอาหารแข็ง และ

ectoplasmic net เห็นได้ชัดเจนทั้งใน pine pollen และอาหารแข็ง ลักษณะโคโลนีในอาหารแข็งเป็นวงกลมหรือครึ่งวงกลม (circular to subcircular) ที่มีเซลล์ขนาดใหญ่

ส่วนการพัฒนาแบบที่ 2 นั้น เซลล์ที่พร้อมแบ่งเซลล์ (mature thalli) แทนที่จะเจริญเป็น zoosporangium กลับเปลี่ยนเป็นอะมีบอยด์เซลล์ได้อย่างรวดเร็วภายใน 1 นาที โดยมีขนาดยาว 25-40 ไมโครเมตร และกว้าง 12.5-27.5 ไมโครเมตร ลักษณะที่สังเกตชัดคือ ectoplasm มีลักษณะเป็นแผ่น ส่วนที่เหลือรวมตัวกันแน่นเกาะเป็นก้อนอะมีบอยด์เซลล์เคลื่อนที่อย่างช้าๆ พบอยู่ระยะนี้ประมาณ 15 นาที เซลล์จะค่อยๆ กลมขึ้นมีขนาดเท่ากับ zoosporangium ที่ได้จากการพัฒนาแบบที่ 1 จากนั้น zoosporangium จึงพัฒนาต่อโดยการแบ่งตัวสร้างซูโอสปอร์ในลักษณะเดียวกับแบบที่ 1 แต่ไม่พบ proliferation body จำนวนและรูปร่างของซูโอสปอร์ในแบบที่1 มีเท่ากันและเหมือนกับแบบที่ 1

นอกจากรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการคัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากลักษณะสัณฐานวิทยาแล้วยังมีการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์โดยการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA Daiske *et al.* (1999) จัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์และลาบิลินทูลิดส์ 14 สปีชีส์ ซึ่งเป็นสมาชิกใน 6 สกุล โดยการวิเคราะห์ลำดับ นิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA และนำข้อมูลดังกล่าวมาศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ พบว่าสามารถแบ่งจุลินทรีย์ที่นำมาศึกษาออกเป็น 2 กลุ่ม คือ labyrinrhulids phylogenetic group และ thraustochytrids phylogenetic group ซึ่งผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงความขัดแย้งของผลการจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวิธีทางด้านอณูพันธุศาสตร์ที่ใช้ในการศึกษานี้

Wong *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาความอุดมสมบูรณ์ของทรอสโทไคตริดส์ที่พบจากใบรังกะแท้ (*Kandelia candel*) ที่มีลักษณะเน่าเปื่อยและดินตะกอนบริเวณป่าชายเลน โดยเก็บตัวอย่างในช่วงเดือนเมษายน มิถุนายน ตุลาคม 2004 และกุมภาพันธ์ 2005 จากการศึกษาพบว่าความอุดมสมบูรณ์ของทรอสโทไคตริดส์ที่ได้จากใบไม้ป่าชายเลนเท่ากับ $4.8x10^3$– $5.6x10^5$ CFU g^{-1} โดยมีค่าสูงกว่าในดินตะกอนบริเวณป่าชายเลนที่มีค่าเท่ากับ $1.0x10^2$ – $1.6x10^3$ CFU g^{-1} และพบสูงสุดในเดือนตุลาคม ($5.6x10^5$ CFU g^{-1})

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

Burja, Radianingtyas, Windust and Barrow (2006) คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากแหล่งต่างๆ ทั้งหมด 19 แห่งในประเทศแคนาดา โดยเก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 70 ตัวอย่าง จากหญ้าทะเล (*Spartina alterniflora, Zostera marina*) และดินตะกอน และนำทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จำนวน 68 สายพันธุ์ มาทำการเลี้ยงเพื่อหามวลชีวภาพ ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด อีพีเอและดีเอชเอ จากการศึกษาพบว่าทรอสโทไคตริดส์สามารถแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มตามปริมาณและชนิดของกรดไขมัน โดยมีมวลชีวภาพ 0.1-2.3 กรัม/ลิตร และไขมัน อีพีเอและดีเอชเอ มีค่าอยู่ในช่วง 27.1-321.14, 2.97-21.25 และ 5.18-83.63 มิลลิกรัม/กรัม มวลชีวภาพ ตามลำดับ

การศึกษาทรอสโทไคตริดส์ในประเทศไทยยังมีไม่มากนักโดยเฉพาะความหลากหลายทางชีวภาพในแหล่งต่างๆ เช่นน้ำทะเล ปะการัง หรือป่าชายเลน เป็นต้น ส่วนใหญ่ทำการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์บริเวณป่าชายเลน เช่น สมถวิล จริตควร รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2545) คัดแยกจุลินทรีย์ทะเลจากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี และเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี และจากตัวอย่างใบหญ้าทะเล อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี อ่าวมะขามป้อม จังหวัดระยอง อ่าวสัตหีบ และเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี พบยีสต์จำนวน 7 ชนิดจากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการัง ส่วนจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทไคตริดส์พบทั้งสิ้น 30 ไอโซเลท จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณเกาะเต่า ส่วนในใบหญ้าทะเลไม่พบจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทไคตริดส์

สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2549) ทำการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนของประเทศไทยโดยเก็บตัวอย่างบริเวณบ้านเปร็ด ในจังหวัดตราด และบางปู จังหวัดสมุทรปราการ จากการสำรวจพบว่า *Schizochytrium mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบมากที่สุดที่บ้านเปร็ด จังหวัดตราด 51.73% รองลงมาคือ *Schizochytrium limacinum* 33.53% , *Schizchytrim* sp.1 13.22%, *Schizchytrim* sp.2 3.22%, *Schizchytrim* sp.6 0.36%, *Schizchytrim* sp.8 2.86%, *Ulkenia* spp. 12.64%, *Ulkenia visurgensis*. 7.45%, Unknown 1 เท่ากับ 12.12%, Unknown 2 เท่ากับ 3.57% และ *Labyrinthula* sp. เท่ากับ 9.12% ส่วนที่บางปู จังหวัดสมุทรปราการพบ *Schizochytrium mangrovei* 41.44%, *Schizochytrium limacinum*10%, *Schizchytrim* sp.4 1.11% และ *Labyrinthula* sp. 9.12 % จังหวัดตราดเป็นพื้นทีที่มีความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์สูงกว่าจังหวัดสมุทรปราการ

จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จากพันธุ์ไม้ป่าชายเลน 5 ชนิด พบทรอสโทไคตริดส์ 2 สกุล แบ่งเป็น 4 ชนิด จากทั้งหมด 893 ไอโซเลท ใบไม้สีน้ำตาลพบทรอสโทไคตริดส์ 79%

สูงกว่าใบไม้สีเหลือง 49.28% เดือนพฤศจิกายนพบทรอสโทไคตริดส์สูงสุด 69.54% (334ไอโซเลท) รองลงมาคือ เดือนกรกฎาคม 64.50% (318 ไอโซเลท) และเดือนมีนาคมพบน้อยที่สุด 60% (241 ไอโซเลท)

มยุรา ประยูรพันธ์ และคณะ (2551) คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ จากพันธุ์ไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทไคตริดส์ 184 ไอโซเลท โดยตัวอย่างโกงกางใบเล็ก และพังกาหัวสุมดอกแดง เป็นพันธุ์ไม้ที่มีเปอร์เซ็นต์พบสูงสุด คือ 75% ขณะที่ปอทะเลพบทรอสโทไคตริดส์ต่ำสุด 15% และจากการศึกษาพบทรอสโทไคตริดส์ 1 สกุล 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei* (41.44%), *Schizochytrium limacinum*(10%) และ *Schizchytrim* sp.8 (1.11%) โดย *S.mngrovei* 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)

สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2551) ทำการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจำนวน 17 ชนิด บริเวณบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด เพื่อนำมาศึกษาความหลากหลายและปริมาณกรดไขมัน จากการศึกษาพบทรอสโทไคตริดส์ทั้งสิ้น 10 ชนิด รวม 532 ไอโซเลท โดย *Schizochytrium mangrovei* เป็นชนิดที่พบสูงสุด (76.33%) รองลงมาคือ *Schizochytrium limacinum* (32.24%) ตัวอย่างใบพังกาหัวสุมดอกแดงพบจำนวนชนิดของทรอสโทไคตริดส์สูงสุด (8 ชนิด) รองลงมาคือโปรงแดง หงอนไก่ทะเล ฝาดดอกแดง เป้งทะเล และตะบูนขาวพบอย่างละ 7 ชนิด จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง พบว่าดีเอชเอมีปริมาณสูงสุดอยู่ในช่วง 1.12-173.21 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (6.57-40.90 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันทั้งหมด) และมีกรดไขมันอีพีเอ (eicosapentaenoic acid, C20:5 n-3) และเออาร์เอ (arachidonic acid, C20:4 n-6) เท่ากับ 0.42-3.56 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.31- 7.82 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันทั้งหมด) และ 1.53-5.49 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0.59-6.68 เปอร์เซ็นต์กรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ

จากรายงานการศึกษาดังกล่าวข้างต้น เห็นได้ว่าการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์ยังประสบกับปัญหาหลายประการ ซึ่งทำให้ขาดความชัดเจนในการบ่งชี้ความแตกต่างและจัดจำแนกกลุ่ม (สกุลและสปีชีส์) ได้อย่างเหมาะสมตามที่ควรจะเป็น ทำให้ในปัจจุบันมีความสนใจในการนำข้อมูลในระดับพันธุกรรมมาใช้ประกอบการจัดจำแนกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ ซึ่งถึงแม้ว่าข้อมูลในส่วนนี้ยังคงมีอยู่ในปริมาณจำกัดและขาดความหลากหลายของชนิดของทรอสโทไคตริดส์เองเนื่องจากมีผู้

ที่ศึกษาไม่มากนัก แต่หากมีการศึกษามากขึ้นและนำข้อมูลดังกล่าวนี้มาใช้ประโยชน์ร่วมกับลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา จะทำให้สามารถพัฒนาแนวทางในการจัดจำแนกจุลินทรีย์กลุ่มนี้ได้อย่างเป็นมาตรฐานต่อไป

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พยายามนำจุลินทรีย์ทะเลบางชนิดที่ทราบว่ามีปริมาณอีพีเอและดีเอชเอสูงมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ จากการศึกษาของ Jaritkhuan *et al.* (1998) พบว่าทรอสโทไคตริดส์ชนิด *Schizochytrium* sp. (MP3) มีปริมาณดีเอชเอสูงถึง 30-40 % ของกรดไขมันทั้งหมด เมื่อนำไปเป็นอาหารของอาร์ทีเมีย สามารถเพิ่มปริมาณดีเอชเอในอาร์ทีเมียให้สูงขึ้น (สมถวิล จริตควร และ Jones, 2550) และเมื่อนำอาร์ทีเมียที่อุดมไปด้วยดีเอชเอนี้ไปเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ (PL4-PL16) จะทำให้ลูกกุ้งมีปริมาณดีเอชเอสูงตามไปด้วยในลักษณะของการถ่ายทอดตามห่วงโซ่อาหาร และสามารถนำทรอสโทไคตริดส์ชนิดนี้ไปผสมเป็นอาหารเม็ดในการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำวัยรุ่นเพื่อเพิ่มปริมาณดีเอชเอใน ตัวกุ้งให้สูงขึ้นได้ดีอีกด้วย ซึ่งเป็นการเพิ่มหรือเสริมปริมาณดีเอชเอให้กับมนุษย์ทางอ้อมนั่นเอง (Jaritkhuan and Jones,1999) นอกจากลูกกุ้งแล้วยังสามารถนำทรอสโทไคตริดส์ในกลุ่มนี้เป็นแหล่งของดีเอชเอที่เพิ่มให้กับลูกปลากะพงขาว (Jaritkhuan and Jones, 2001, Jaritkhuan, 2002) เช่นเดียวกับ Song *et al.* (2007) ที่นำ *Schizochytrium limacinum* OUC88 มาเป็นอาหารเลี้ยงโรติเฟอร์และอาร์ทีเมีย แล้วจึงนำไปเลี้ยงลูกปลาซีกเดียวอีกทอดหนึ่ง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การคัดแยกและจำแนกเชื้อทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

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. วุ้น (agar) CHEMIKIT
5. น้ำทะเลเทียม (Q - SEA)
6. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic)
   - 6.1 เพนนิซิลิน จี (penicillin G) (M&H Manufacturing Co.,Ltd.)
   - 6.2 สเตรปโตมัยซิน 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 (Na_2SO_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. เครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี (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. ตู้ทำความเย็นอุณหภูมิ – 80 องศาเซลเซียส (deep freezer) SANYO
13. กล้องจุลทรรศน์ NIKON
14. เครื่องดูดความชื้น (desiccator)
15. แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar)
16. จานเพาะเชื้อ บีกเกอร์ ปิเปต เข็มเขี่ยเชื้อ ขวดรูปชมพู่

สถานที่ตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่น บริเวณป่าชายเลน โรงเรียนบางปะกง "บวรวิทยายน" อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ดังแสดงในภาพที่ 3-1 และ 3-2 โดยพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างมี 2 บริเวณ และแบ่งออกเป็น 4 สถานี โดยสถานีที่ 1 และสถานีที่ 2 อยู่ในบริเวณเดียวกัน ห่างกันประมาณ 50 เมตร ส่วนสถานีที่ 3 และสถานีที่ 4 อยู่ในบริเวณเดียวกัน ห่างกันประมาณ 50 เมตรเช่นกัน

ภาพที่ 3-1 พื้นที่เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา (http://www.google earth.com)

ก.

ข.

ค. ง.

รูปที่ 3-2 สถานที่เก็บตัวอย่าง ก. สถานีที่ 1 ข. สถานีที่ 2 ค. สถานีที่ 3 ง. สถานีที่ 4

วิธีการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด โดยสุ่มเก็บใบไม้สีเหลืองน้ำตาลที่ร่วงหล่นชนิดละ 20 ใบ เก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 3 ครั้ง (เดือนพฤศจิกายน 2550, เดือนมีนาคม 2551 และเดือนสิงหาคม 2551) 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)

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

1. เตรียมอาหารแข็งกลูโคส: ยีสต์สกัด (GY) ให้ได้ความเข้มข้น 1:1

2. การคัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน

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 มาปักลงในอาหารแข็ง GY เติมน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยาปฏิชีวนะ เท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปักใบไม้ทั้งหมด 3 เพลท เพลทละ 3 ชิ้น บ่มที่อุณหภูมิห้อง 27 - 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน

2.4 ตรวจหาเชื้อทรอสโทไคตริดส์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และคัดแยกเชื้อจนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ (pure culture)

2.5 เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหาร GY ผิวเอียงที่เติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน) ประมาณ 10 มิลลิลิตร และเติมยาปฏิชีวนะให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของยา

ปฏิชีวนะเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บในตู้บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียส ทำการถ่ายเชื้อทุก ๆ 2 เดือน

3. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ (Frequency of Occurrance (%)) ของตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษา

$$\text{เปอร์เซ็นต์การพบ} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์ (แต่ละชนิด)}}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}} \times 100$$

4. จัดจำแนกชนิดทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่การสร้างซูโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ ลักษณะของซูโอสปอร์แรงเจียม การปล่อยซูโอสปอร์และลักษณะโคโลนี

5. คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับจีนัสแสดงดังภาพที่ 3-2 (Honda, 2001; Goldstein & Belsky, 1964; Hunt, 2000; Alderman & Jones, 1971; Porter, 1989; Leander & Porter, 2000; Watson & Raper, 1957; Yokoyama et al.,2007 และ Yokoyama and Honda,2007)

สำหรับการเรียกชื่อเชื้อทรอสโทไคตริดส์ในการวิจัยนี้ มีหลักการตั้งชื่อดังนี้

1. ชื่อวิทยาศาสตร์ ประกอบด้วย จีนัส และชนิด เช่น *Aurantiochytrium mangrovei*
2. ชื่อย่อของมหาวิทยาลัยบูรพา เช่น BU (Burapha University)
3. ชื่อย่อจังหวัดที่คัดแยกเชื้อ ได้แก่ Cs (Chachoengsao Province)
4. ชื่อย่อต้นไม้ป่าชายเลนเช่น RA (*Rhizophora apiculata*, ต้นโกงกางใบเล็ก)
5. หมายเลขใบไม้ป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่าง เช่น 02 หมายถึง ใบที่ 2
6. ซ้ำที่คัดแยกเชื้อได้ เช่น 1 หมายถึง ซ้ำที่ 1

ตัวอย่างเช่น *Aurantiochytrium mangrovei* BUCSRA 021

1. เซลล์ปกติ (vegetative cells) รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวยและคืบคลานภายในเส้นใยเอคโตพลาสมิค.....	Family Labyrinthulaceae Single genus: *Labyrinthula*
1. เซลล์ปกติรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมและไม่อยู่ภายในเส้นใยเอคโตพลาสมิค.....	Family Thraustochytriaceae
2. เซลล์ปกติใช้เวลานานจึงจะเคลื่อนที่ (migrate) และสร้างสปอร์ที่ไม่มีแฟลกเจลลา (aplanospores).....	*Aplanochytrium*
2. เซลล์ปกติถ้ามีการเคลื่อนที่จะเคลื่อนที่ตั้งแต่แรก	ข้อ 3
3. เซลล์ปกติไม่มีเส้นใยเอคโตพลาสมิค.....	*Althonia*
3. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสมิค.....	ข้อ 4
4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสมิคที่มีลักษณะบวมพอง (apophysis)	*Japonochytrium*
4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอคโตพลาสมิคที่ไม่บวมพอง (apophysis).....	ข้อ 5
5. เซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division.....	ข้อ 6
5. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยวๆ หรืออะมิบอยด์เซลล์	ข้อ 8
6. โคโลนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอคโตพลาสมิคไม่ค่อยพัฒนา.....	*Aurantiochytrium*
6. โคโลนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอคโตพลาสมิคพัฒนาดี.....	ข้อ 7
7. ซูโอสปอร์รูปร่างรี และสร้างแคนต้าแซนธิน (canthaxanthin) และเบต้าแคโรทีน (B -carotene)	*Oblongichytrium*
7. ซูโอสปอร์รูปร่างกลม และสร้างเพียงเบต้าแคโรทีน (B -carotene)	*Schizochytrium*
8. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยวๆ.....	*Thraustochytrium*
8. เซลล์พัฒนาเป็นอะมิบอยด์เซลล์.....	ข้อ 9
9. โคโลนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอคโตพลาสมิคไม่ค่อยพัฒนา.....	ข้อ 10
9. โคโลนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอคโตพลาสมิคพัฒนาดี.....	ข้อ 11
10. ซูโอสปอร์ภูกสร้างด้วยวิธีการการบิดตัว (pinching) และดึงตัว (pulling)...	*Sicyoidochytrium*
10. ซูโอสปอร์ไม่ได้ถูกสร้างโดยการบิด (pinching) และดึงตัว (pulling).....	*Ulkenia*
11. ยังคงเหลือผนังเซลล์ หลังจากปล่อย อะมิบอยด์เซลล์.....	*Parietichytrium*
11. ผนังเซลล์สลายหมด หลังจากที่ปล่อยอะมิบอยด์เซลล์แล้ว.....	*Botryochytrium*

ภาพที่ 3-2 คีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับครอบครัวและจีนัสของทรอสโทไคตริดส์อันดับ Labyrinthulales คลาส Labyrinthulomycetes (Yokoyama *et al.*,2007)

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

4.1 ชั่งตัวอย่างเซลล์ของทรอสโทไคตริดส์ประมาณ 0.1-0.2 กรัมน้ำหนักแห้ง ใส่ในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิดขนาด 20 มิลลิลิตร

4.2 เติม 2 % ซัลฟูริค (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 ของเหลวที่ได้ใส่ในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิดและผ่านด้วยก๊าซไนโตรเจน จนแห้ง เก็บใส่ตู้เย็น เพื่อรอการวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี

4.6 นำตัวอย่างจากข้อ 7.5 เติมเฮกเซน 200 ไมโครลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี

4.7 คำนวณหาปริมาณกรดไขมัน โดยเปรียบเทียบกับกรดไขมันมาตรฐาน (standard fatty acid)

สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี ใช้ Flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ และคอลัมน์ ใช้ Capillary column HP-INNOWax polyethylene glycol (30 m x 250 μm x 0.25 μm) 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) โดยใช้ฮีเลียมเป็นแก๊ซพา ส่วนอุณหภูมิของ Injector และ Detector คือ 250 องศาเซลเซียส

บทที่ 4
ผลการวิจัย

การคัดแยกทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา

จากการศึกษาทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทราได้ผลดังนี้

1. ชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน

จากการเก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนทั้งสิ้น 4 ชนิด จากสถานีต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 4-1 จะเห็นว่าสถานีที่ 1 พันธุ์ไม้ที่พบได้แก่แสมทะเลทั้งหมด พื้นดินชื้นแฉะและมีน้ำท่วมเกือบตลอด สถานีที่ 2 พบแสมทะเลเป็นส่วนใหญ่ และมีโกงกางใบเล็กบ้าง มีน้ำท่วมเกือบตลอด สำหรับสถานีที่ 3 พบพันธุ์ไม้หลายชนิด แต่ใบไม้ที่เก็บได้ ได้แก่ตาตุ่มทะเล และโกงกางใบเล็ก ส่วนสถานีที่ 4 พบโกงกางใบใหญ่ และโพทะเล

ตารางที่ 4-1 พันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่นำมาคัดแยกทรอสโทไดตริดส์

พันธุ์ไม้ป่าชายเลน (ชื่อวิทยาศาสตร์, อักษรย่อ)	สถานีที่ 1	สถานีที่ 2	สถานีที่ 3	สถานีที่ 4
แสมทะเล (*Avicennia marina*, AM)	X	X		
โกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata*, RA)		X	X	
โกงกางใบใหญ่ (*Rhizophora mucronata*, RM)				X
โพทะเล (*Thespesie populnea*, TP)				X
ตาตุ่มทะเล (*Excoeoaria agallocha*, EA)			X	

จากการวัดคุณภาพน้ำบางประการในบริเวณป่าชายเลนได้ผลดังตารางที่ 4-2 พบว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 0.19-3.56 มิลลิกรัม/ลิตร ความเป็นกรด-เบสมีค่าอยู่ในช่วง 6.75-8.21 อุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ในช่วง 24.9-28.4 องศาเซลเซียส และความเค็มมีค่าอยู่ในช่วง 15-32 พีเอสยู

ตารางที่ 4-2 คุณภาพน้ำบางประการในบริเวณป่าชายเลน

คุณภาพน้ำ	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	0.19	2.28	3.56
ความเป็นกรด-เบส	6.75	7.5	8.21
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	24.9	28.9	28.4
ความเค็ม (psu)	15	28	32

2. การจัดจำแนกชนิดทรอสโทไคตริดส์โดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทรอสโทไคตริดส์พบทั้งหมด 687 ไอโซเลท เมื่อนำมาจัดจำแนกโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบทั้งสิ้น 3 สปีชีส์คือ

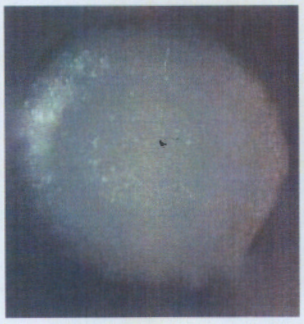
1. *Aurantiochytrium mangrovei*
2. *Aurantiochytrium limacinum*
3. *Ulkenia visurgensis*

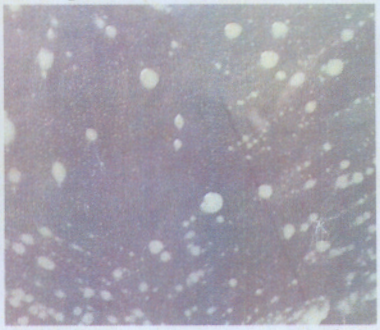
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและวงชีวิตของทรอสโทคิทริดส์แต่ละชนิด มีรายละเอียดดังนี้

1. *Aurantiochytrium mangrovei*

จากการศึกษาพบทรอสโทไคตริดส์ชนิดนี้มากที่สุด โดยโคโลนีบนอาหารแข็ง GY มีลักษณะค่อนข้างกลม สีขาวขุ่นทึบแสง แบนเรียบ ขอบโคโลนีไม่เรียบ และพบอะมิบอยด์เซลล์กระจายอยู่รอบโคโลนี (ภาพที่ 4-1 และตารางที่ 4-3 ถึง 4-4)

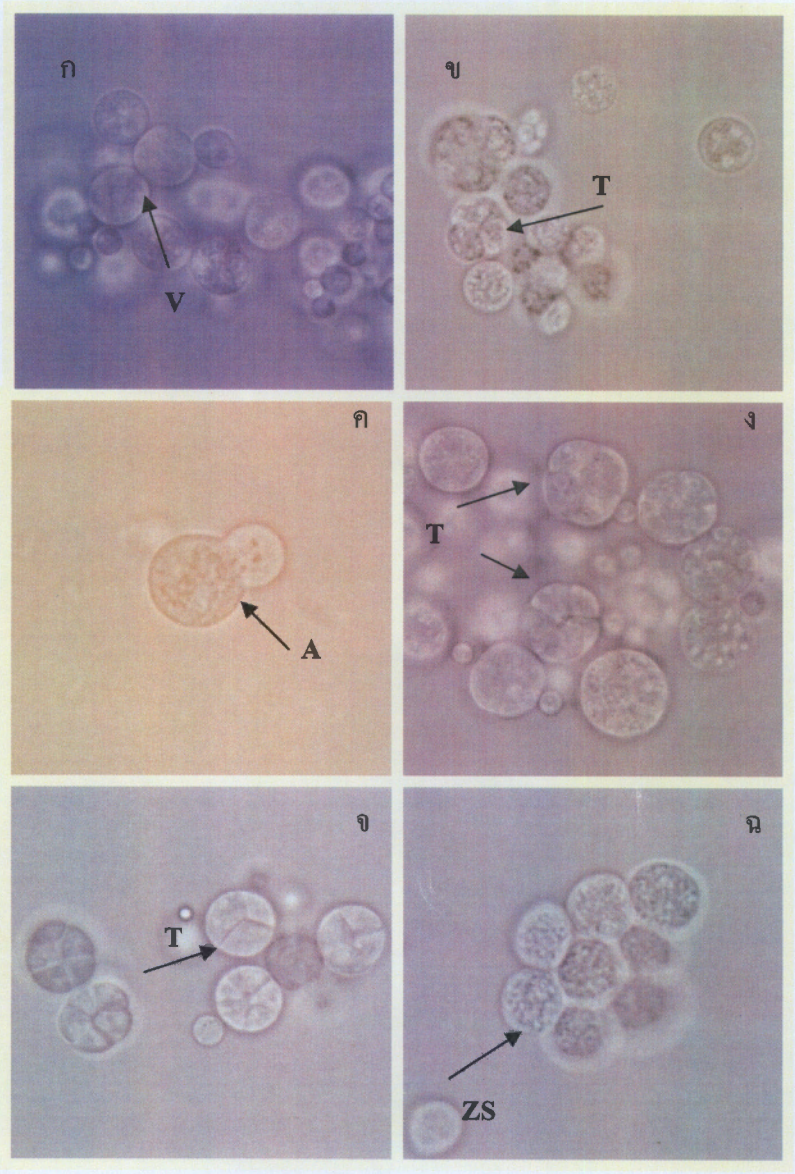
เซลล์ปกติ (Vegetative Cell) มีรูปร่างค่อนข้างกลมเล็ก มีขนาดประมาณ 5-15 ไมโครเมตร เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์มักเกาะกันเป็นกลุ่มมากกว่าอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆ สปอร์แรงเจียมมีขนาด 10-35 ไมโครเมตร จากนั้นพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมมีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division ได้ 2-64 เซลล์ หลังการแบ่งเซลล์พบว่าบางเซลล์มีการพัฒนาเป็นอะมิบอยด์เซลล์ขนาดกว้าง 2-3 ไมโครเมตรและยาว 6-8 ไมโครเมตร แล้วจึงเจริญเป็นเซลล์ปกติที่มีรูปร่างกลมและมีการแบ่งเซลล์ต่อไป และบางเซลล์ที่พัฒนามาจากอะมิบอยด์เซลล์มีการสร้างซูโอสปอร์รูปร่างรี จำนวน 8 ซูโอสปอร์ ซึ่งลักษณะดังกล่าวพบมากในช่วง 12-30 ชั่วโมงแรก ส่วนซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างซูโอสปอร์ที่มีรูปร่างรี ความยาว 7-10 ไมโครเมตร จำนวน 16-64 ซูโอสปอร์ การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการเคลื่อนที่ของซูโอสปอร์ภายในเซลล์แม่อย่างรวดเร็วโดยตำแหน่งที่ปล่อยซูโอสปอร์มีเพียงตำแหน่งเดียวจากเซลล์แม่ แล้วจึงพัฒนาเป็น Vegetative Cell ต่อไป (ภาพที่ 4-2)





ภาพที่ 4-1 (ก) ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium mangrovei* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน

(ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Aurantiochytrium mangrovei* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน



ภาพที่ 4-2 ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium mangrovei* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

(ก-ฉ) *A. mangrovei* อายุ 12-56 ชั่วโมง

(A) Amoeboid Cell, (T) Tetrad, (V) Vegetative Cell, (ZS) Zoosporangium

ตารางที่ 4-3 ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทคิทริดส์ ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา

ไอโซเลท	ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง (4วัน)				ลักษณะเซลล์ในอาหารเหลว (4วัน)		ผนังเซลล์	อะมีบอยด์เซลล์
	สี (Color)	ลักษณะ (Form)	ความสูง (Elevation)	ขอบโคโลนี (Margin)	ความยาว ซูโอสปอร์แรงเจียม (ไมโครเมตร)	ความยาว ซูโอสปอร์ (ไมโครเมตร)		
1. *Aurantiochytrium mangrovei*	ขาวขุ่น ทึบแสง	irregular	flat	undulate	10-35	3-10	บาง	มี
2.*Aurantiochytrium limacinum*	ขาวขุ่น ทึบแสง	irregular spread	flat	undulate	7-25	3-8	บาง	มี
3. *Ulkenia visurgensis*	ขาวขุ่น ทึบแสง เป็นเมือก	irregular	flat	undulate	10-100	3-8	หนา	มี

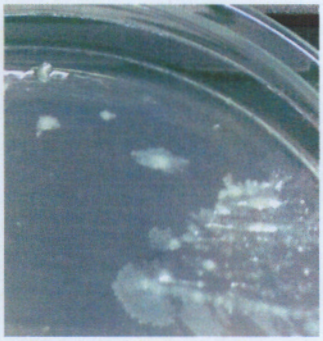
ตารางที่ 4-4 ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทคิทริดส์ที่เลี้ยงในอาหารเหลว

ชนิด ทรอสโทคิทริดส์ / ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	*Aurantiochytrium mangrovei*	*Aurantiochytrium limacinum*	*Ulkenia visurgensis*
Zoospore	พบซูโอสปอร์ 2 รูปแบบคือ รูปร่างรีขนาด 7-10 ไมโครเมตร การปลดปล่อยเกิดจากการเกิดช่องของเซลล์แม่ และซูโอสปอร์รูปร่างเกือบกลม ขนาด 2-6 ไมโครเมตร การปลดปล่อยเกิดจากการค่อยๆ หลุดออกจากเซลล์แม่	ซูโอสปอร์มี 2 รูปแบบคือ รูปร่างรีขนาด 6-8 ไมโครเมตร การปลดปล่อยเกิดจากการเกิดช่องของเซลล์แม่ และซูโอสปอร์รูปร่างเกือบกลม ขนาด 2-6 ไมโครเมตร การปลดปล่อยเกิดจากการค่อยๆ หลุดออกจากเซลล์แม่	ซูโอสปอร์มี 2 แบบ คือรูปร่างรีขนาด 3-8 ไมโครเมตร การปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากการดันตัวออกจากเซลล์แม่ และซูโอสปอร์ที่มีรูปร่างเกือบกลมขนาด 3-5 ไมโครเมตร การปล่อยเกิดจากซูโอสปอร์หลุดออกจากเซลล์เซลล์แม่
Vegetative Cell	เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม ช่วง 24 ชั่วโมงแรก ภายในเซลล์จะพบออเกลเนลเป็นเพียงจุดเล็กๆ กระจายทั่วทั้งเซลล์ ในขณะที่เซลล์ที่มีอายุตั้งแต่ 24 ชั่วโมงขึ้นไปจะเห็นลักษณะออเกลเนลเป็นเม็ดขนาด 2-3 ไมโครเมตร	เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม และมีลักษณะคล้ายกันกับ *A. mangrovei*	เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม ผนังเซลล์หนา ภายในมีออเกลเนลเป็นจุดขนาดเล็กกระจายทั้งเซลล์
Zoosporangium	พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division โดยพบว่าการแบ่งเซลล์ในช่วงแรกเกิดขึ้นเพื่อเป็นการเพิ่มจำนวนเซลล์ ซึ่งเซลล์ที่ได้มีทั้งเซลล์รูปร่างปกติและอะมิบอยด์เซลล์ จากนั้นเซลล์ทั้งสองรูปร่างจึงจะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเงียมเพื่อสร้างซูโอสปอร์ต่อไป โดยอะมิบอยด์เซลล์จะเจริญเป็นเซลล์รูปร่างกลมก่อนที่จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเงียม	มีการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division โดยช่วง 12-24 ชั่วโมงพบว่าหลังการแบ่งเซลล์ เซลล์จะมีรูปร่างเป็นอะมิบอยด์เซลล์และเริ่มคืบคลานหลุดออกจากเซลล์เดิม ซึ่งพบลักษณะนี้เช่นเดียวกันกับ *A. mangrovei* แต่พบว่าอะมิบอยด์มีขนาดใหญ่กว่าและมีจำนวนมากกว่า จากนั้นเซลล์จะพัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเงียมรูปแบบเดียวกันกับ *A. mangrovei*	ช่วงแรกเซลล์จะมีการแบ่งตัว จากนั้นแต่ละเซลล์จะเจริญและหลุดออกจากกันเป็นเซลล์รูปร่างกลมและอะมิบอยด์เซลล์ ซึ่งเซลล์ทั้งสองแบบจะมีการสร้างเซลล์โดยพัฒนาจากภายนอกเซลล์เข้าหาภายในเซลล์จนเต็มทั้งเซลล์ จากนั้นเซลล์ที่อยู่ภายในจึงพัฒนาเป็นซูโอสปอร์ ก่อนที่จะถูกปลดปล่อยออกมา

2. *Aurantiochytrium limacinum*

โคโลนีบนอาหารแข็งมีสีขาวขุ่นทึบแสง ลักษณะค่อนข้างกลม แบนเรียบ ขอบโคโลนีไม่เรียบ มีอะมิบอยด์เซลล์บริเวณขอบโคโลนีซึ่งลักษณะที่พบคล้ายกับโคโลนีของ *A. mangrovei* แต่อะมิบอยด์เซลล์ของ *A. mangrovei* จะเคลื่อนที่เฉพาะขอบโคโลนีเท่านั้น ในขณะที่อะมิบอยด์เซลล์ของ *A. limacinum* สามารถคืบคลานออกจากขอบโคโลนีแผ่เป็นบริเวณกว้างจำนวนมาก ซึ่งเห็นได้ชัดเจนเมื่อโคโลนี มีอายุตั้งแต่ 5 วันเป็นต้นไป (ภาพที่ 4-3 และตารางที่ 4-3 ถึง 4-4)

เซลล์ในอาหารเหลวมักพบกระจายตัวเป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีการเกาะกลุ่มของเซลล์บ้าง เซลล์ปกติมีรูปร่างค่อนข้างกลมมีขนาด 5-10 ไมโครเมตร ซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาด 7-25 ไมโครเมตร พบการแบ่งเซลล์แบบ Binary Division การเจริญมีลักษณะคล้ายกับ *A. mangrovei* แต่พบว่าในช่วง 12-30 ชั่วโมงแรก อะมิบอยด์เซลล์ของ *A. limacinum* มีจำนวนมากกว่า และอะมิบอยด์เซลล์มีขนาดกว้าง 5-10 ไมโครเมตรและยาว 6-25 ไมโครเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าอะมิบอยด์เซลล์ของ *A. mangrovei* ซูโอสปอร์แรงเจียมสร้างซูโอสปอร์ที่มีรูปร่างรีความยาว 6-8 ไมโครเมตร จำนวน 16-64 ซูโอสปอร์ (ภาพที่ 4-3 และ ภาพที่ 4-4)

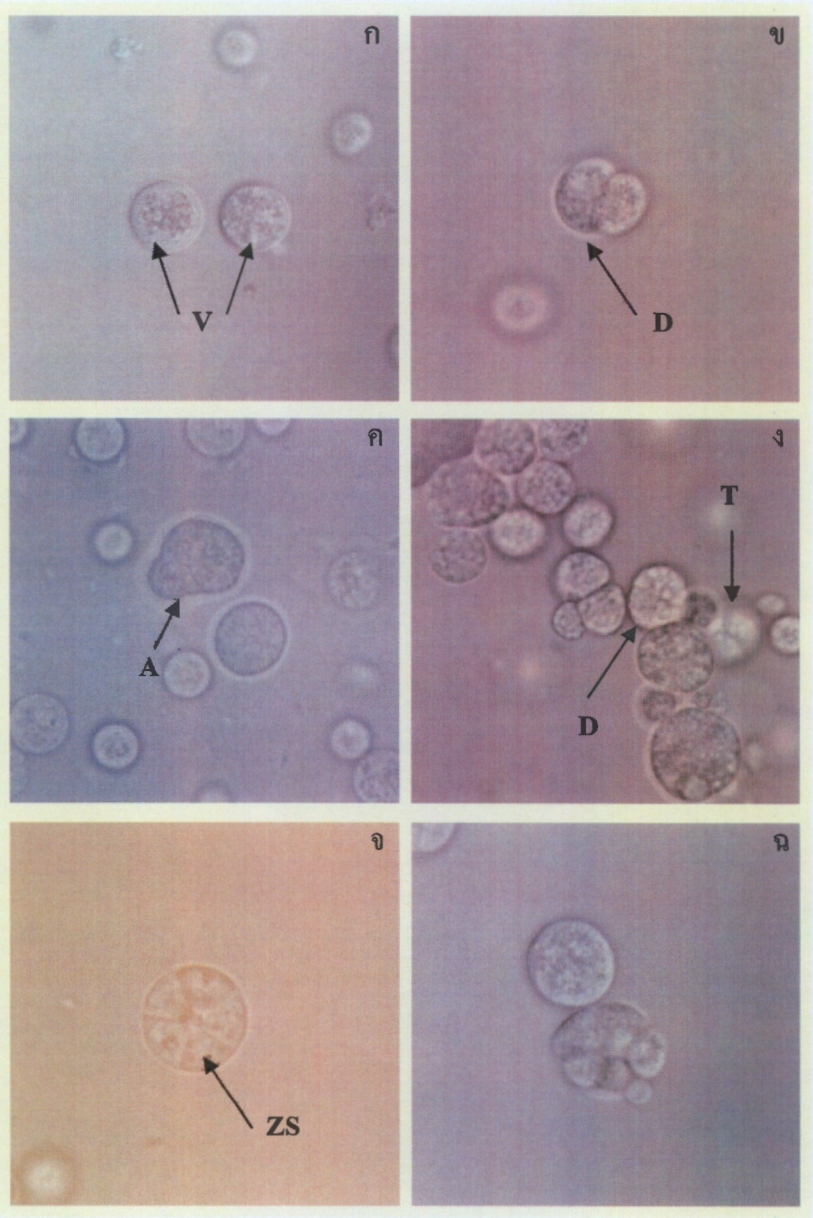


ก

ข

ภาพที่ 4-3 (ก) ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium limacinum* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน

(ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Aurantiochytrium limacinum* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน



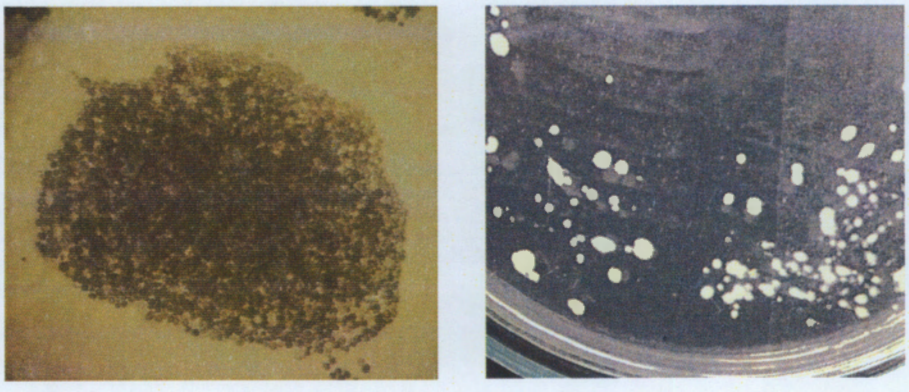
ภาพที่ 4-4 ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium limacinum* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า (ก-ฉ) *A. limacinum* อายุ 12-56 ชั่วโมง (ฉ) หลังการแบ่งเซลล์ เซลล์จะค่อยๆหลุดออกเป็นเซลล์ปกติ (V) Vegetative Cell, (A) Amoeboid Cell, (D) Diad, (T) Tetrad, (ZS) Zoosporangium

3. *Ulkenia visurgensis*

ลักษณะโคโลนีมีสีขาวขุ่น ทึบแสง มีลักษณะเป็นเมือกเยิ้ม ค่อนข้างกลม นูน ขอบไม่เรียบ บริเวณขอบด้านนอกสามารถมองเห็นอะมีบอยด์เซลล์ชัดเจน (ภาพที่ 4-5 และตารางที่ 4-3 ถึง 4-4)

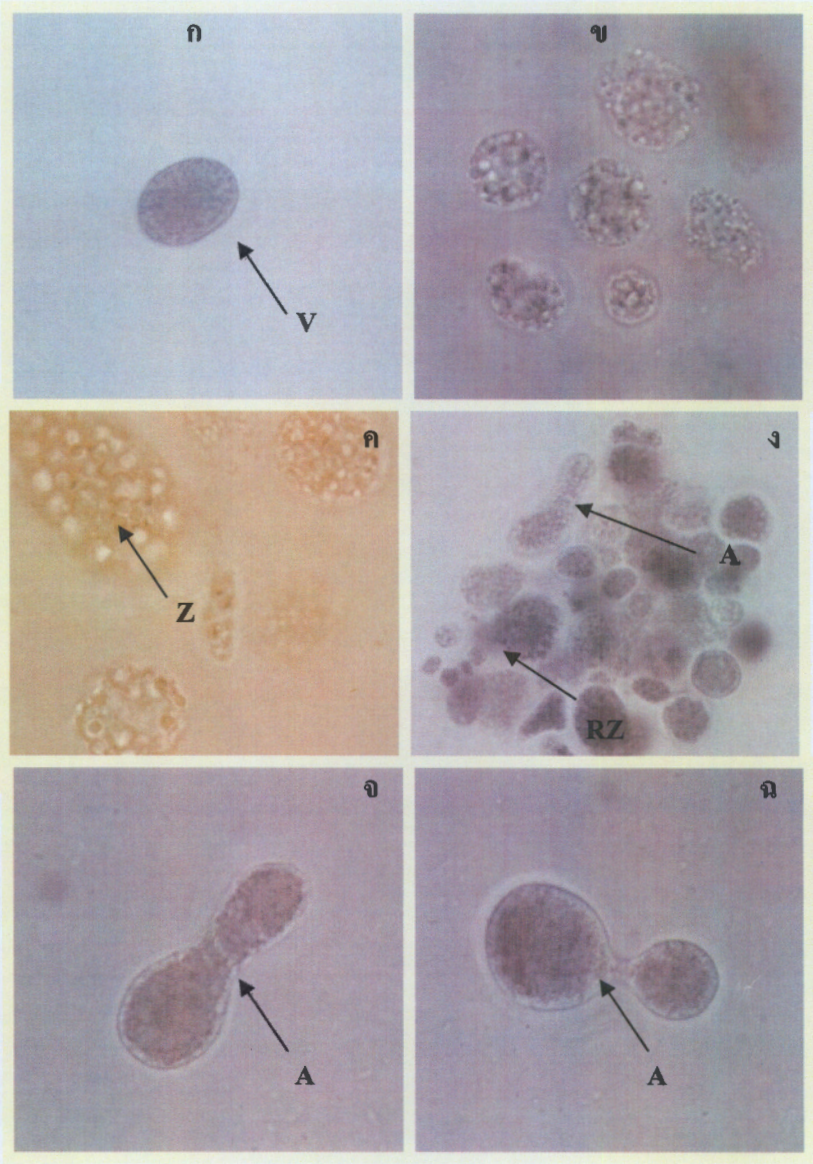
เซลล์ปกติมีรูปร่างกลม ขนาดใหญ่ ผนังเซลล์หนา มีขนาด 5-50 ไมโครเมตร มักเกาะกันเป็นกลุ่มขนาดเล็ก และมีเซลล์เดี่ยวๆ ซูโอสปอร์แรงเจียมมีขนาด 10-100 ไมโครเมตร พบอะมีบอยด์เซลล์ที่มีขนาดแตกต่างกันจำนวนมาก ช่วงการเจริญพบว่าภายในสปอร์แรงเจียมมีการสร้างเซลล์แล้วจะหลุดออกจากกัน ซึ่งแต่ละเซลล์สามารถเจริญเป็นเซลล์ 2 รูปร่างคือรูปร่างค่อนข้างกลมหรืออะมิบอยด์เซลล์ ที่มีรูปแบบการสร้างซูโอสปอร์ที่แตกต่างกัน 3 แบบ คือแบบแรกซูโอสปอร์แรงเจียมรูปร่างกลมเซลล์จะสร้างซูโอสปอร์รูปร่างกลมขนาด 3-5 ไมโครเมตร เมื่อซูโอสปอร์เจริญเต็มที่จึงหลุดออกจากเซลล์แม่ แบบที่สองซูโอสปอร์แรงเจียมรูปร่างกลม ผนังเซลล์หนา ซึ่งการสร้างซูโอสปอร์จะเกิดจากขอบเซลล์เข้าหาภายในจนเต็มเซลล์ ซูโอสปอร์มีรูปร่างรี การปลดปล่อยเกิดจากการดันผนังเซลล์แม่จนแตกออก แบบที่สามซูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างแบบอะมิบอยด์เซลล์ การสร้างซูโอสปอร์เกิดจากบริเวณผนังเซลล์เข้าหาภายในเซลล์ ซูโอสปอร์มีรูปร่างรี และมีรูปแบบการปล่อยเช่นเดียวกับซูโอสปอร์แรงเจียมรูปแบบที่สอง (ภาพที่ 4-6)

ก ข



ภาพที่ 4- 5 (ก) ลักษณะโคโลนีของ *Ulkenia visurgensis* บนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน

(ข) ลักษณะโคโลนีภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของกลุ่มเซลล์ *Ulkenia visurgensis* เจริญบนอาหารแข็ง GYP บ่มที่อุณหภูมิห้อง อายุ 4 วัน



ภาพที่ 4-6 ลักษณะเซลล์ของ *Ulkenia visurgensis* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว GY บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

(ก-ฉ) *U. visurgensis* อายุ 12-56 ชั่วโมง

(V) Vegetative Cell, (A) Amoeboid Cell, (Z) Zoospore, (ZS) Zoosporangium, (RZ) Release Zoospore

3. ความหลากหลายและความชุกชุมของทรอสโทไคทริดส์ที่พบจากใบไม้ป่าชายเลน

เมื่อพิจารณาพันธุ์ไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด พบว่า ตาตุ่มทะเลมีเปอร์เซ็นต์การพบ (Frequency of Occurrence) สูงสุด เท่ากับร้อยละ 43 รองลงมาคือแสมทะเล (ร้อยละ 39) โพทะเล (ร้อยละ 35) โกงกางใบใหญ่ (ร้อยละ 34) และโกงกางใบเล็ก (ร้อยละ 27) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-5 และตารางภาคผนวกที่ 1-3 และภาพที่ 4-7 ถึง 4-8)

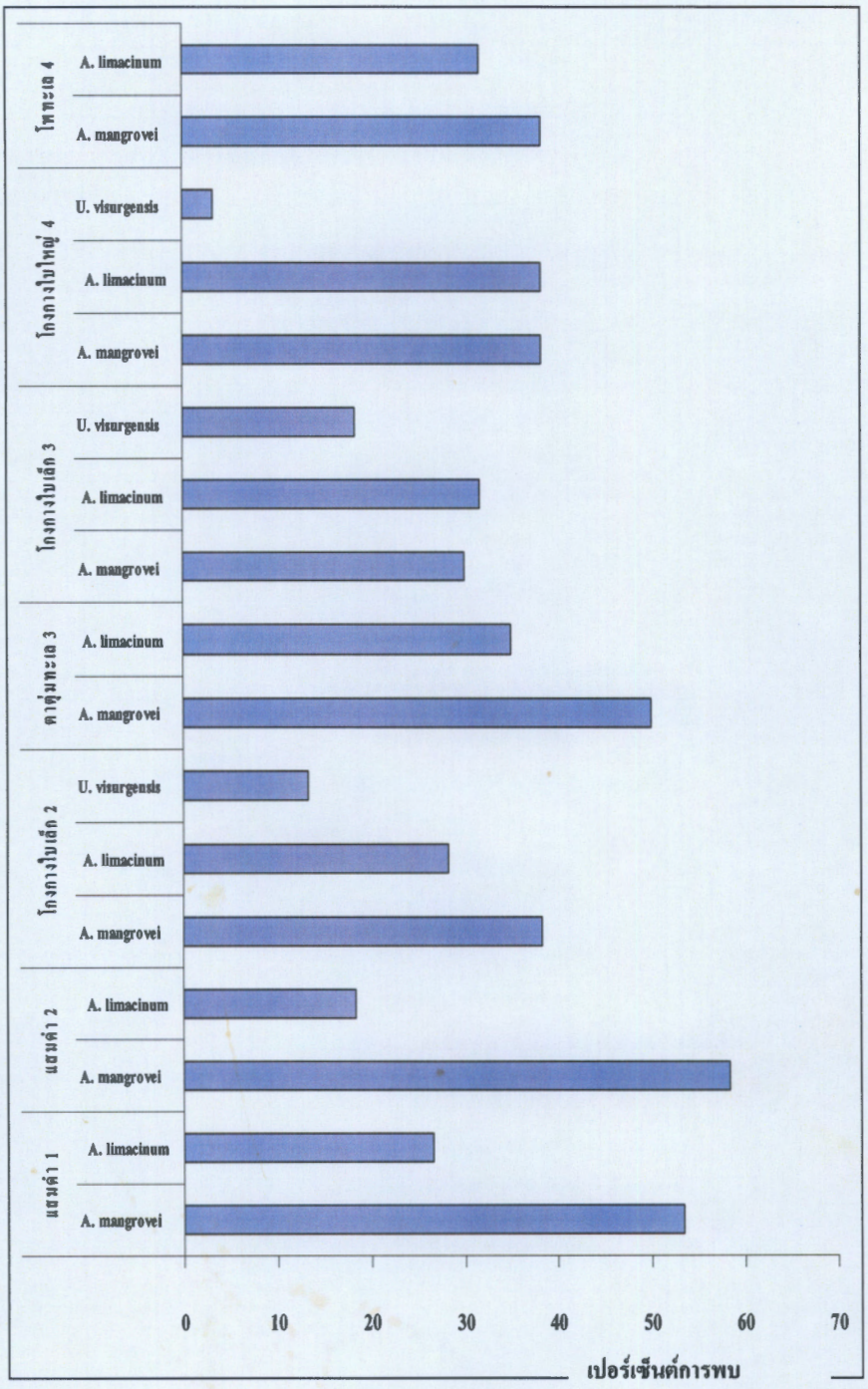
จากการศึกษาพบทรอสโทไคตริดส์จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทุกชนิด โดยกลุ่มทรอสโทไคตริดส์ที่มีความโดดเด่นสูงสุดคือ *Aurantiochytrium mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุดทั้ง 3 ครั้ง รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *Ulkenia visurgensis* ตามลำดับ (ตารางที่ 4-5 และตารางภาคผนวกที่ 1-3) โดย *Aurantiochytrium mangrovei* พบสูงสุดที่ใบแสมทะเล (53.33 %) *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบใหญ่ (38.33 %) ส่วน *Ulkenia visurgensis* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบเล็ก (18.33 %) ดังภาพที่ 4-7 ถึง 4-8

สำหรับจำนวนไอโซเลทและเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคทริดส์แต่ละชนิดจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 ครั้ง พบว่าการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (เดือนพฤศจิกายน 2550) มีจำนวน 380 ไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 40 เปอร์เซ็นต์ รองลงคือครั้งที่ 2 (เดือนมีนาคม 2551) มีจำนวน 164 ไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 38 เปอร์เซ็นต์และครั้งที่ 3 (เดือนสิงหาคม 2551) มีจำนวน 143 ไอโซเลท และเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4-5 และตารางภาคผนวกที่ 1-3 และภาพที่ 4-7 ถึง 4-8)

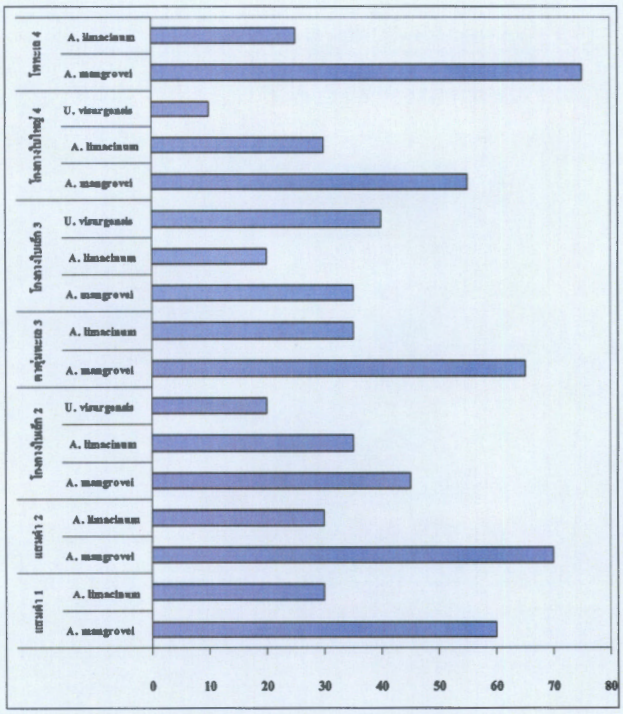
ตารางที่ 4-5 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง

พันธุ์ไม้	เชื้อที่พบ	เปอร์เซ็นต์การพบครั้งที่ 1	เปอร์เซ็นต์การพบครั้งที่ 2	เปอร์เซ็นต์การพบครั้งที่ 3	เปอร์เซ็นต์การพบ (เฉลี่ย)
แสมดำ 1	*A. mangrovei*	60	80	20	53.33
	A. limacinum	30	5	45	26.67
แสมดำ 2	*A. mangrovei*	70	60	45	58.33
	A. limacinum	30	15	10	18.33
โกงกางใบเล็ก 2	*A. mangrovei*	45	35	35	38.33
	A. limacinum	35	25	25	28.33
	U. visurgensis	20	10	10	13.33
ตาตุ่มทะเล 3	*A. mangrovei*	65	65	20	50.00
	A. limacinum	35	40	30	35.00
โกงกางใบเล็ก 3	*A. mangrovei*	35	30	25	30.00
	A. limacinum	20	40	35	31.67
	U. visurgensis	40	10	5	18.33
โกงกางใบใหญ่ 4	*A. mangrovei*	55	30	30	38.33
	A. limacinum	30	45	40	38.33
	U. visurgensis	10	0	0	3.33
โพทะเล 4	*A. mangrovei*	75	25	15	38.33
	A. limacinum	25	45	25	31.67

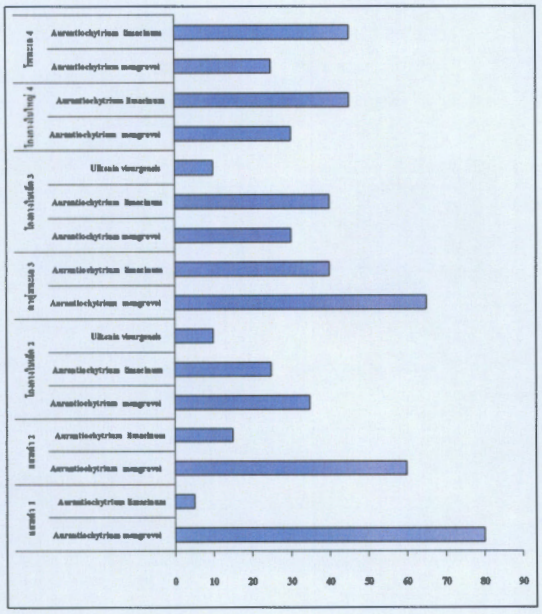
$$\text{เปอร์เซ็นต์การพบ} = \frac{\text{จำนวนใบไม้ที่พบทรอสโทไคตริดส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบไม้ทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด}}$$



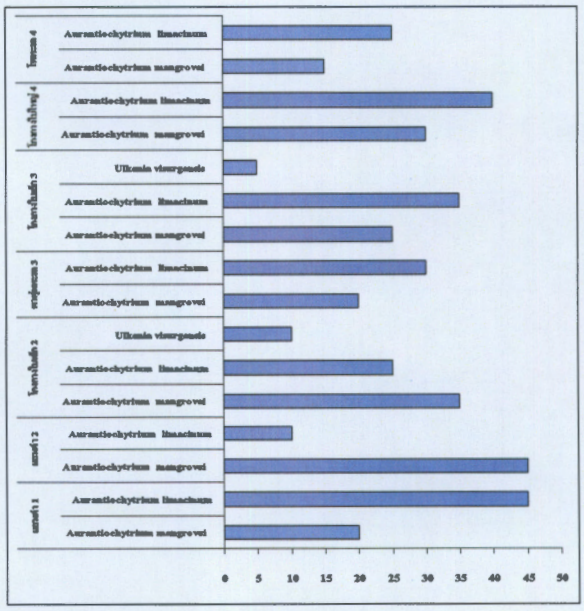
ภาพที่ 4-7 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา



ก.



ข.



ค.

ภาพที่ 4-8 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา
ก. เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ข. เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 ค. เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3

4. กรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิด พบกรดไขมันหลากหลายชนิด แต่ชนิดที่พบเด่นๆ และมีความสำคัญมากได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ ดีพีอ และดีเอชเอ ซึ่งดีเอชเอเป็นชนิดที่มีพบในปริมาณที่สูงมากในทรอสโทไคตริดส์ โดยพบสูงใน *A. limacinum* (0.93-197.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-42.44 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (5.12-195.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 2.76-41.14 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบค่อนข้างมากใน *U. visuegensis* (0-6.93 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-10.48 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *U. visuegensis* (0-2.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-3.24 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0-35.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-9.46 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-40.58 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-11.92 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ (ตารางที่ 4-6 ภาพที่ 4-9 ถึง 4-12 และภาพภาคผนวกที่ 1-12)

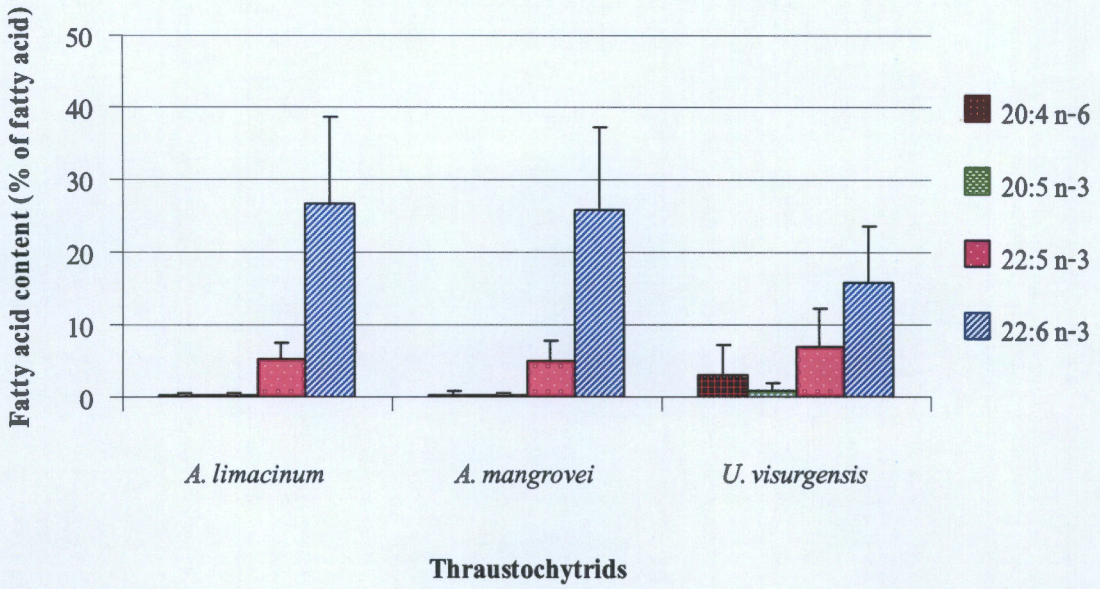
เมื่อพิจารณามวลชีวภาพของทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดของการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง โดยเลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมกลูโคส 6 % ยีสต์สกัด 1 % ความเค็ม 15 พีเอสยู อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน เพื่อหามวลชีวภาพและกรดไขมัน ได้ผลดังตารางที่ 4-7 และภาพที่ 4-10 ถึง 4-12 จะเห็นว่า *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.05-21.55 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visuegensis* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 3.83-21.18 กรัม/ลิตรและ 6.73-19.86 กรัม/ลิตร

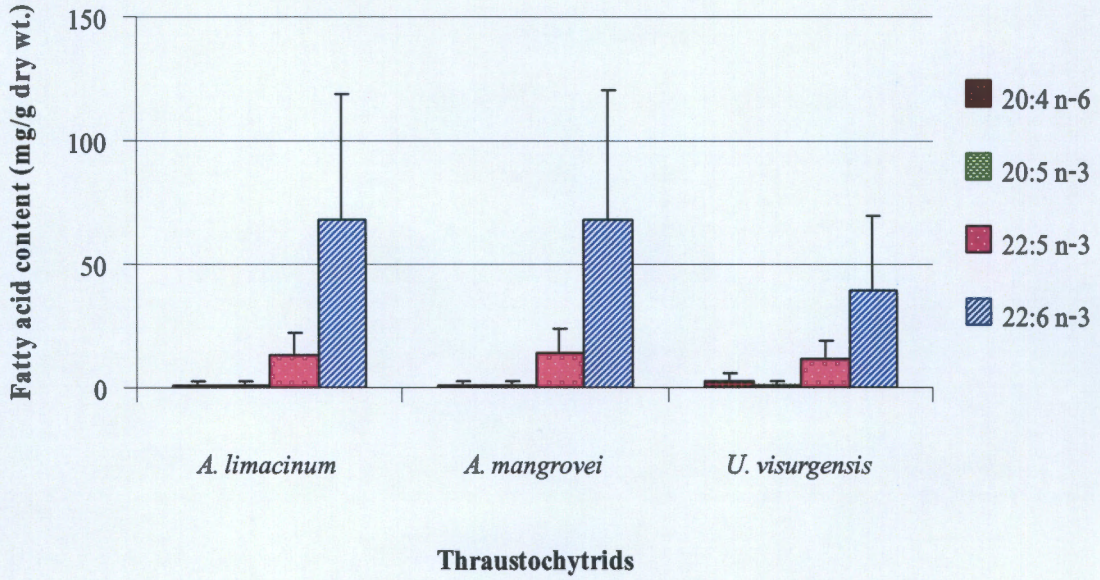
ตารางที่ 4-7 มวลชีวภาพของทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)

ชนิดทรอสโทไคตริดส์	มวลชีวภาพ (กรัมต่อลิตร)			
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	เฉลี่ย
Aurantiochytrium limacinum	16.73±3.71 (8.83-21.18)	12.26±4.19 (3.83-18.98)	15.75±3.57 (5.16-20.74)	14.95±4.21 (3.83-21.18)
Aurantiochytrium mangrovei	18.33±2.08 (13.01-21.55)	12.58±4.27 (6.05-18.91)	15.58±4.36 (7.31-20.95)	15.59±4.34 (6.05-21.55)
Ulkenia visurgensis	11.78±4.95 (6.83-18.39)	10.67±5.57 (6.73-14.61)	12.07± 6.76 (1.86-19.86)	11.63±4.98 (6.73-19.86)

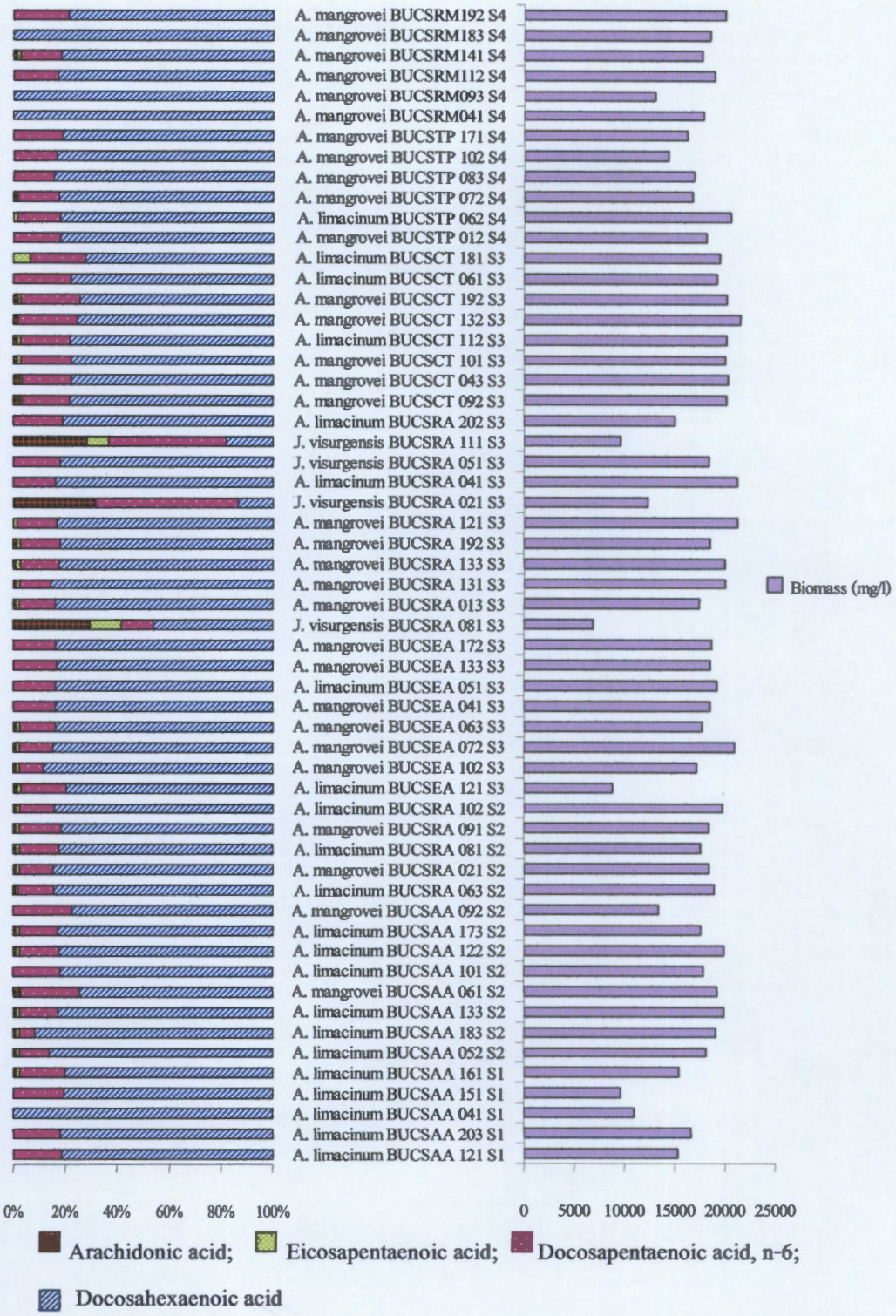
ตารางที่ 4-6 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง)

ชนิด ทรอสโทไคตริดส์	ปริมาณกรดไขมัน							
	เออาร์เอ		อีพีเอ		ดีพีเอ		ดีเอชเอ	
	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด
Aurantiochytrium	0.97±1.55	0.28±0.31	1.07±1.14	0.33±0.34	13.01±9.02	5.17±2.31	67.72±51.21	26.65±11.88
limacinum	(0-11.34)	(0-1.24)	(0-0.40)	(0-1.26)	(0-35.19)	(0-9.46)	(0.93-197.02)	(0-42.44)
Aurantiochytrium	1.00±1.14	0.33±0.39	1.08±1.08	0.33±0.35	13.54±10.26	5.13±2.59	67.76±52.57	25.75±11.49
mangrovei	(0-4.52)	(0.00-1.67)	(0-3.50)	(0-1.10)	(0.00-40.58)	(0.00-11.92)	(5.12-195.18)	(2.76-41.14)
Ulkenia visurgensis	2.42±2.98	2.92±4.27	1.20±1.16	0.88±1.19	11.76±7.34	6.98±5.30	39.28±30.65	15.92±7.72
	(0-6.93)	(0-10.48)	(0-2.63)	(0-3.24)	(1.98-28.04)	(2.65-16.91)	(2.94-77.91)	(3.60-23.50)

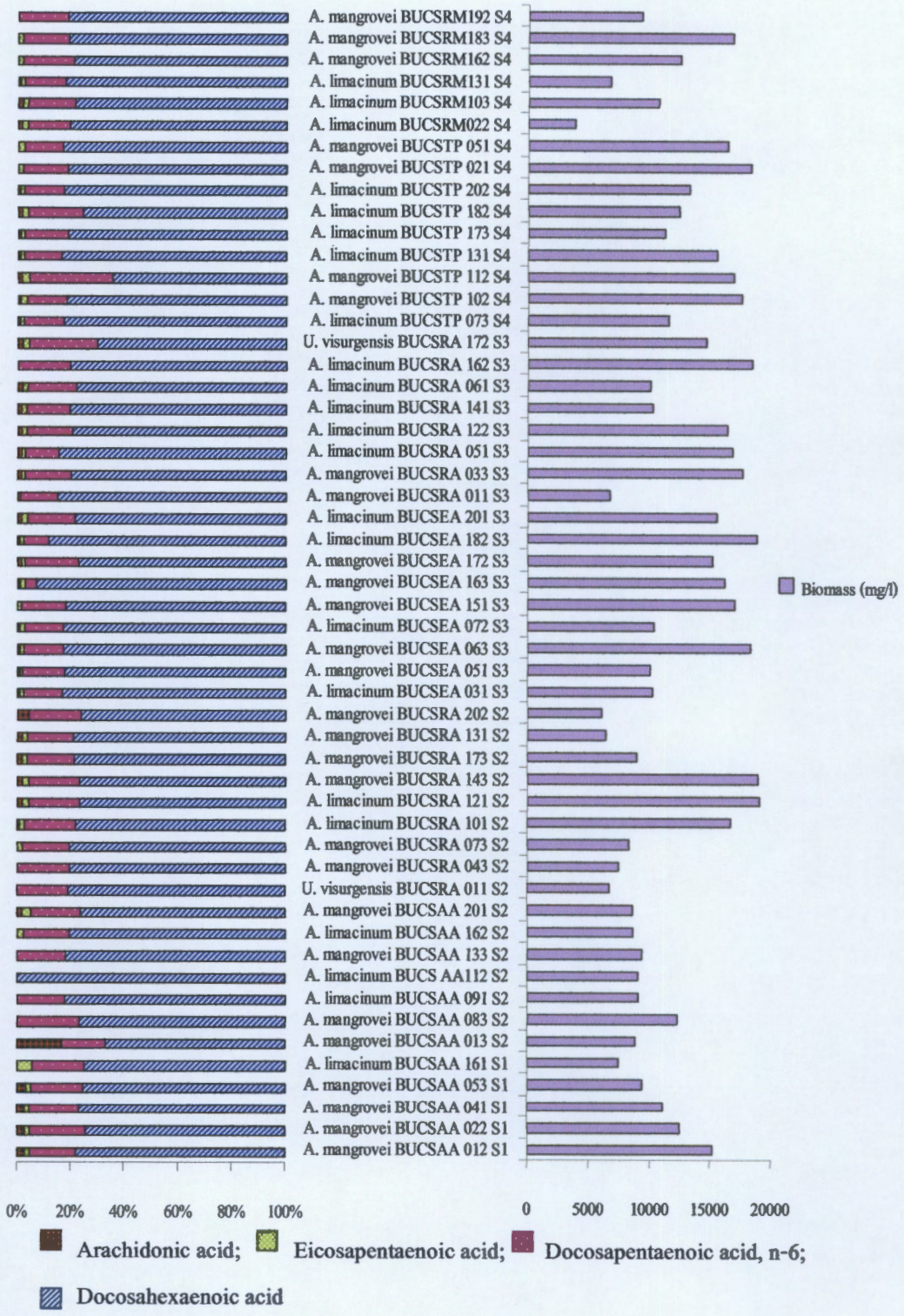




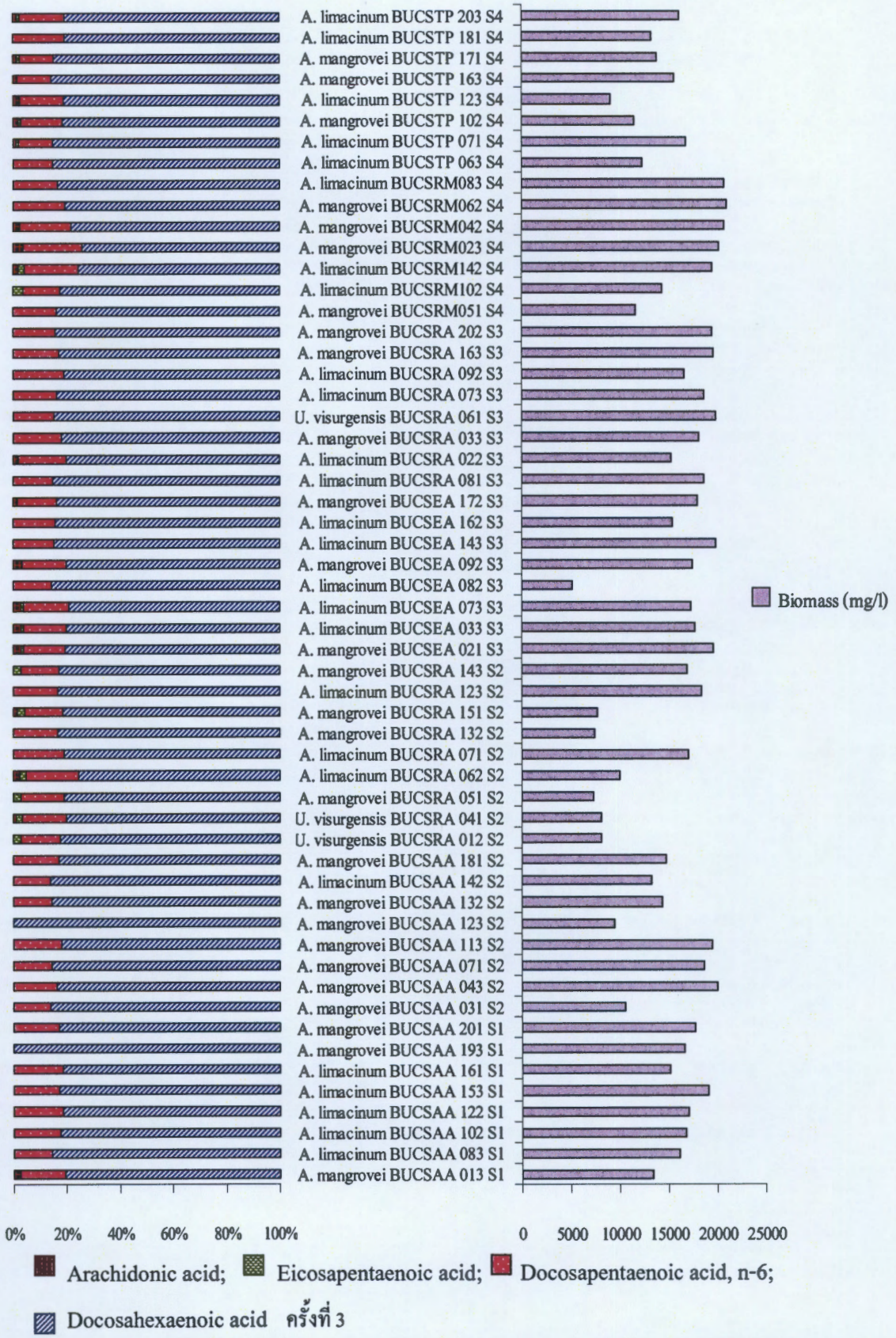
ภาพที่ 4-9 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างทั้ง 3 ครั้ง)



ภาพที่ 4-10 สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)



ภาพที่ 4-11 สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



ครั้งที่ 3

ภาพที่ 4-12 สัดส่วนกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)

บทที่ 5
อภิปราย สรุปและข้อเสนอแนะ

1. ลักษณะสัณฐานวิทยาและการจัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์

ทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยลักษณะเด่นๆ ที่ใช้ในการจำแนกได้แก่ ขนาดเซลล์ปกติหรือเซลล์ในระยะเจริญ (vegetative cell) ขนาดสปอร์แรงเจียม ขนาดและจำนวนของซูโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ อะมิบอยด์เซลล์ ตลอดจนวงชีวิต ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าลักษณะโคโลนีที่เลี้ยงในอาหารแข็ง เช่น สี ลักษณะโคโลนีเป็นมันเยิ้ม ทึบแสงหรือโปร่งแสง ขอบเรียบหรือไม่เรียบ มีบทบาทสำคัญในการแยกชนิดทรอสโทไคตริดส์ในกรณีที่มีขนาดของสปอร์แรงเจียม และขนาดของซูโอสปอร์ ใกล้เคียงหรือเหลื่อมล้ำกันโดยเฉพาะ *Aurantiochytrium* อีกทั้งยังอาศัยลักษณะของเซลล์ที่เลี้ยงในอาหารเหลวประกอบการจัดจำแนก เช่น เซลล์อยู่แบบกระจายเป็นเซลล์เดี่ยวๆ หรือเกาะกันเป็นกลุ่ม และการเกาะเป็นกลุ่มยังคงลักษณะกลมเหมือนเดิมหรือมีรูปร่างค่อนข้างกลม เป็นต้น

ต่อมา Yokoyama and Honda (2007) จำแนกสกุล *Schizochytrium* ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน และคาร์โรทีนอยด์ โดยพบว่าสกุล *Schizochytrium* สามารถแยกออกได้เป็น 3 สกุล ได้แก่ *Schizochytrium* sensu stricto และ สกุลใหม่ 2 สกุลคือ *Aurantiochytrium* R. Yokoy. et D. Honda และ *Oblongichytrium* R. Yokoy. et D. Honda ส่วน Yokoyama *et al.* (2007) ได้จำแนกทรอสโทไคตริดส์สกุล *Ulkenia* ด้วย 18S rRNA พบว่า *Ulkenia* ที่ทำการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 monophyletic groups ซึ่งแต่ละกลุ่มมีความแตกต่างกันในส่วนของชนิดของกรดไขมันกับแคร์โรทีนอยด์ รวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และโคโลนี เช่น การคงเหลือของผนังเซลล์ (sporangial wall) ลักษณะการแบ่งเซลล์ (cell cleavage) ในการสร้างซูโอสปอร์ และการพัฒนาของเอคโตพลาสมิคเนท จากการศึกษาดังกล่าวได้แบ่งสกุล *Ulkenia* ใหม่ออกเป็น 4 สกุล และได้สกุลใหม่ 3 สกุล ได้แก่ *Ulkenia* sensu stricto, *Botryochytrium, Parietichytrium* และ *Sicyoidochytrium* gen. nov. ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้คีย์ของ Yokoyama and Honda (2007) และ Yokoyama *et al.* (2007) ประกอบการจัดจำแนก และใช้ลักษณะของการแพร่กระจายของอะมีบอยด์ออกจากโคโลนีมากหรือน้อยอีกด้วย อย่างไรก็ตาม Bongiorni *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้สัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวอาจไม่เพียงพอในการจัดจำแนกทรอสโทไค-ตริดส์

ในการศึกษานี้สามารถจำแนกทรอสโทไคตริดส์ได้จำนวน 2 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum*

(*Schizochytrium limacinum*) และ *Ulkenia visurgensis* ในขณะที่ สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2549) คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลนภาคตะวันออกของประเทศไทยได้ 3 สกุล 14 ชนิด ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei*, *S. 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

2. เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน

จากการศึกษาจำนวนไอโซเลทและเปอร์เซ็นต์การพบแต่ละชนิดจากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนทั้ง 3 ครั้ง ได้จำนวนทั้งหมด 687 ไอโซเลท โดยการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (เดือนพฤศจิกายน 2550) มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 40 เปอร์เซ็นต์ (380 ไอโซเลท) รองลงคือครั้งที่ 2 (เดือนมีนาคม 2551) มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 38 เปอร์เซ็นต์ (164ไอโซเลท) และครั้งที่ 3 (เดือนสิงหาคม 2551) มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 26 เปอร์เซ็นต์ (143ไอโซเลท) ตามลำดับ ซึ่งพบน้อยกว่าการศึกษาของจุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ที่สำรวจป่าชายเลน จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยพบทรอสโทไคตริดส์ 2 สกุล 4 ชนิด โดยเดือนพฤศจิกายนพบทรอสโทไคตริดส์สูงสุด 69.54 % (334 ไอโซเลท) รองลงมาคือเดือนกรกฎาคม 64.50% (318 ไอโซเลท) และเดือนมีนาคมพบน้อยที่สุด 60% (241 ไอโซเลท) ซึ่งพบสูงสุดในเดือนพฤศจิกายนเช่นเดียวกัน Ranghukumar and Geartner (1992) พบว่าอุณหภูมิหรือฤดูกาลมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคทริดส์โดยพบว่าในฤดูหนาวที่มีอากาศหนาวเย็น มีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคทริดส์ในน้ำทะเลน้อยกว่าฤดูร้อน แต่เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ในดินตะกอนทั้งในฤดูหนาวและฤดูร้อนไม่แตกต่างกัน การที่พบชุกชุมต่างกันอาจเนื่องจากใบไม้ที่เก็บมีความชื้นต่างกัน จากการศึกษาพบว่าใบไม้ที่มีความชื้นน้อยจะพบทรอสโทไคทริดส์น้อยด้วยและพบว่าใบไม้สีน้ำตาลมีเปอร์เซนต์การพบทรอสโทไคตริดส์สูงกว่าใบไม้สีเหลือง สอดคล้องกับ จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) เช่นกัน Chatdumrong, Yongmanitchai, Limtong and Worawattanamateekul (2004) พบทรอสโทไคตริดส์ 257 ไอโซเลท จากการเก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนตลอดชายฝั่งทะเลประเทศไทย ประกอบด้วย 120 ไอโซเลท จากป่าชายเลนฝั่งอันดามัน 83 ไอโซเลทจากฝั่งอ่าวไทย และ 62 ไอโซเลทจากเขตภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย ในขณะที่ สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2549) คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลนภาคตะวันออกของประเทศไทยได้ 1,158 ไอโซเลท ส่วนมยุรา ประยูรพันธ์ (2549) คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดสมุทรปราการ พบทรอสโทไคตริดส์ 184 ไอโซเลท จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) ศึกษาความ

หลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร พบทรอสโทไคตริดส์ทั้งหมด 893 ไอโซเลท

จากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ชนิดต่างๆ จากตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าตาตุ่มทะเลมีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุดร้อยละ 43 รองลงมาคือแสมทะเล (ร้อยละ 39) โพทะเล (ร้อยละ 35) โกงกางใบใหญ่ (ร้อยละ 34) และโกงกางใบเล็ก (ร้อยละ 27) ตามลำดับ โดยทรอสโทไคตริดส์ที่มีความโดดเด่นสูงสุดคือ *A. mangrovei* มีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุดทั้ง 3 ครั้ง รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *Ulkenia visurgensis* ตามลำดับ โดย *Aurantiochytrium mangrovei* พบสูงสุดที่ใบแสมดำ (53.33 %) *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบใหญ่ (38.33 %) ส่วน *Ulkenia visurgensis* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบเล็ก (18.33 %) เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ที่ จังหวัดสมุทรปราการพบสูงสุดถึง 75 เปอร์เซ็นต์จากโกงกางใบเล็กและพังกาหัวสุมดอกแดง ในขณะที่ปอ-ทะเลพบทรอสโทไคตริดส์ต่ำสุดคือ 15 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาพบทรอสโทไคตริดส์ 1 สกุล 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei* (41.44%), *Schizochytrium limacinum* (10%) และ *Schizchytrim* sp.8 (1.11%) โดย *S.mangrovei* เป็นชนิดที่พบสูงสุด (มยุรา ประยูรพันธ์และคณะ, 2551) ในขณะที่จุฬาลักษณ์ จันทบาล (2550) รายงานว่าพังกาหัวสุมดอกแดงมีเปอร์เซ็นต์การพบสูงสุด 86.66 % และโพทะเลพบต่ำที่สุด 40 % จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ กล่าวคือ ลักษณะของใบไม้ป่าชายเลนที่มีลักษณะอวบหนา เช่น ตาตุ่มทะเล โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การพบสูง ซึ่งจากการศึกษาของสมถวิล จริตควร และคณะ (2549) และ มยุรา ประยูรพันธ์ (2549) พบว่าใบไม้ป่าชายเลนที่มีลักษณะใบบางนิ่ม เช่น โพทะเล มีเปอร์เซ็นต์การพบที่ค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานที่บ่งบอกว่าลักษณะของใบไม้ว่ามีผลต่อการเจริญของทรอสโทไคตริดส์ อีกทั้งการศึกษาครั้งนี้เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์จากใบโพทะเล ซึ่งมีลักษณะใบบางนิ่มกลับมีเปอร์เซ็นต์การพบสูง แสดงให้เห็นว่าน่าจะมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทไคริดส์นอกเหนือจากลักษณะของใบ เช่น การท่วมถึงของน้ำ ความชื้นแห้งของใบไม้ตัวอย่าง เป็นต้น นอกจากนั้น Leano (2001) รายงานว่าทรอสโทไคตริดส์ในป่าชายเลน Panny ประเทศฟิลิปปินส์ มีเปอร์เซ็นต์การพบถึง 85-100 % การที่ทรอสโทไคตริดส์มีจำนวนไอโซเลทและเปอร์เซ็นต์การพบต่างกันอาจเนื่องจากลักษณะทางภูมิประเทศ ปัจจัยสภาพแวดล้อมทั้งทางกายภาพและเคมี เช่นอุณหภูมิ ความเค็ม ความเป็นกรด-เบส ปริมาณออกซิเจนละลาย การท่วมถึงของน้ำทะเล ความถี่ของการท่วมถึงของน้ำทะเล รวมถึงการกระจายของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน สภาพป่าชายเลน ตลอดจนกิจกรรมของมนุษย์ที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเป็นต้น จากการสังเกตสภาพป่าชายเลนมีอายุมาก สถานีที่ 1

และ 2 มีน้ำเน่าขัง และใบที่เก็บมักแช่น่ำ ในขณะที่สถานีที่ 3 และ 4 พื้นดินค่อนข้างแห้ง ซึ่งอาจมีผลต่อจำนวนชนิดและเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์อีกด้วย

เมื่อพิจารณาความชุกชุมของทรอสโทไดตริดส์ที่พบในป่าชายเลนเปรียบเทียบกับแหล่งอื่นๆ ดังรายงานของ Wong, Vrijmoed and Au (2005) ที่พบว่าใบไม้ป่าชายเลนมีทรอสโทไดตริดส์มากกว่าดินตะกอน โดยศึกษาจากตัวอย่างใบรังกะแท้และดินตะกอนบริเวณป่าชายเลน Futain ประเทศจีน โดยเปอร์เซ็นต์การพบของตัวอย่างใบไม้อยู่ในช่วง 70-100 % ในขณะที่เปอร์เซ็นต์การพบจากตัวอย่างดินตะกอนอยู่ในช่วง 40-100 % และตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนมีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์สูงกว่าตัวอย่างดินตะกอนในทุกช่วงฤดูที่ทำการศึกษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) และจากงานวิจัยของ Bremer (1995) ที่ทำการศึกษาบริเวณป่าชายเลน Morib ประเทศมาเลเซียพบว่าตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนมีเปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไดตริดส์สูงที่สุด (53 %) รองลงมาคือดิน (46 %) และน้ำทะเล (15 %) ตามลำดับ จากการที่ใบไม้ป่าชายเลนมีการพบทรอส-โทไดตริดส์สูงกว่าในดิน และน้ำ อาจเนื่องจากช่วงที่ใบไม้ป่าชายเลนกำลังเน่าเปื่อยมีการปล่อยสารเคมีจำพวกคาร์โบไฮเดรต น้ำตาล และสารประกอบฟีนอล โดยมีผลในการกระตุ้นให้ซูโอ-สปอร์ของทรอสโทไดตริดส์ลงเกาะกับซับสเตรท อีกทั้งพบว่าทรอสโทไดตริดส์เป็นผู้ย่อยสลายที่ทนทานต่อสารพวกฟีนอล และมีเอนไซม์ที่ช่วยในการย่อยสลายใบไม้ป่าชายเลน (Raghukumar, 1998)

3. กรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์

จากการศึกษาปริมาณกรดไขมันในตัวอย่างทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิด พบดีเอชเอมีปริมาณสูงมากใน *A. limacinum* (0.93-197.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-42.44 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A. mangrovei* (5.12-195.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 2.76-41.14 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบค่อนข้างมากใน *U. visurgensis* (0-6.93 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-10.48 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอพบใกล้เคียงกันแต่มีค่าสูงใน *U. visurgensis* (0-2.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-3.24 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูงใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0-35.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-9.46 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-40.58 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-11.92 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ สอดคล้องกับมยุรา ประยูรพันธ์และคณะ (2549) พบว่าทรอสโทไค-ตริดส์มีดีเอชเออยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง สอดคล้องกับ Bowles (1997) ที่ศึกษาปริมาณดีเอชเอในทรอสโทไดตริดส์ 17 สายพันธุ์ ในอาหาร GYP (1: 1: 1 กรัม/ลิตร) เขย่าที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่าทรอสโทไดตริดส์ทั้ง 17 สายพันธุ์ มีปริมาณดีเอชเอแตกต่างกัน (2.78–37.95 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน

ทั้งหมด) และ Kamlangdee and Fan (2003) พบว่าปริมาณกรดไขมันจาก *Schizochytrium* 5 สายพันธุ์ (N – 1,N – 2,N – 5,N – 6 และ N – 9) ที่เลี้ยงในอาหาร GY (6% : 1%) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 ชั่วโมง มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 174.9, 203.6, 186.1, 171.3 และ 157.9 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

เมื่อพิจารณามวลชีวภาพของทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดของการเก็บตัวอย่างทั้ง3 ครั้ง โดยเลี้ยงด้วยอาหารที่ผสมกลูโคส 6 % ยีสต์สกัด 1 % ความเค็ม 15 พีเอสยู อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 200 รอบ/นาที เลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน เพื่อหามวลชีวภาพและกรดไขมัน จะเห็นว่า *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.05-21.55 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visurgensis* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 3.83-21.18 กรัม/ลิตรและ 6.73-19.86 กรัม/ลิตร สอดคล้องกับ Fan *et al.* (2001) ที่ศึกษาปริมาณกรดไขมันดีเอชเอและอีพีเอจากทรอสโทไคตริดส์ 9 สายพันธุ์ ในอาหาร GY (6% :1%) และ Okara Medium โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าที่ความเร็ว 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 52 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าทรอสโทไคตริดส์ทั้ง 9 สายพันธุ์ที่เลี้ยงด้วยอาหาร GY สามารถผลิตกรดไขมันอีพีเออยู่ในช่วง 1.4 – 12.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และดีเอชเอ 4.0 – 41.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด แต่เมื่อนำทรอสโทไคตริดส์มาเพาะเลี้ยงใน Okara Medium พบว่าปริมาณกรดไขมันลดลง คืออีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0-1.8 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และดีเอชเอ 0.5–4.9 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด นอกจากนี้ Unagul, Assantachai, Phadungruengluij, Suphantharika and Verduyn (2005) พบว่าความเค็มและอุณหภูมิที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณของ *S. mangrovei* SK–02 คือ ที่ความเค็ม 0, 10, 20 และ 30 กรัม/ลิตร มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 1.9, 2.9, 3.8 และ 4.2 กรัม/ลิตร ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 25, 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณดีเอชเอเท่ากับ 3.5, 2.8, 1.6 และ 0.40 กรัม/ลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการสะสมกรดไขมันของทรอสโทไคตริดส์อาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะของการเลี้ยง เช่นอุณหภูมิ ความเค็ม หรือความเป็นกรด-เบส เป็นต้น (ตารางที่ 5-1)

ตารางที่ 5-1 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอในทรอสโทไดตริดส์

ชนิด ทรอสโทไดตริดส์	ปริมาณ กรดไขมัน ดีเอชเอ (มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ผลผลิต กรด ไขมันดี เอชเอ (มิลลิกรัม / ลิตร)	อาหารและสภาวะที่ใช้ ในการเลี้ยง	รายการอ้างอิง
S. mangrovei KF6	203	3094	- กลูโคส 60 กรัม, corn steep liquor 0.7 กรัม - อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน 6 ชั่วโมง	Nakahara *et al.* (1996)
S. mangrovei G13	-	575	- กลูโคส 30 กรัม, ยีสต์สกัด 1 กรัม เปปโตน 1 กรัม - อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Bowles *et al.* (1999)
S. mangrovei KF2	209	2779	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Fan *et. al.* (2001)
S. mangrovei N - 2	204	2688	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 2 วัน 4 ชั่วโมง	Kamlungdee and Fan (2003)
S. mangrovei S31	56	328	- กลูโคส 20 กรัม, ยีสต์สกัด 4 กรัม - อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบ/ นาที เวลา 4 วัน	Wu *et al.* (2005)
S. limacinum SR21	117	4200	1. กลูโคส 90 กรัม, corn steep liquor 20 กรัม, 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน	Yokochi *et al.* (1998)

ตารางที่ 5-1 ต่อ)

ชนิด ทรอสโทไคตริคส์	ปริมาณ กรดไขมัน ดีเอชเอ (มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนัก แห้ง)	ผลผลิต กรด ไขมันดี เอชเอ (มิลลิกรัม / ลิตร)	อาหารและสภาวะที่ใช้ ในการเลี้ยง	รายการอ้างอิง
S. limacinum SR21	224	4700	1. กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 120 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	Fan *et al.* (2000)
S. mangrovei BUSPRA 081	181	3250	- กลูโคส 60 กรัม, ยีสต์สกัด 10 กรัม - - อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบ/ นาที เป็นเวลา 4 วัน	มยุรา ประยูรพันธ์ และคณะ (2549)
S. limacinum OUC88			1. กลูโคส 60 กรัม, soybean cake hydrolysate 40 กรัม 2. อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 วัน	Zhu *et al.* (2007)
S. mangrovei Sk-02		6000	1. กลูโคส 60 กรัม, yeast extract 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 4 วัน	*Unagul et al.*(2007)
S. limacinum OUC88		4700	1. กลูโคส 60 กรัม, soybean cake hydrolysate 40 กรัม 2. อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 250 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 วัน	Song *et al.* (2007)

ตารางที่ 5-1 ต่อ)

ชนิด *ทรอสโทไคตริดส์*	ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง)	ผลผลิตกรดไขมันดีเอชเอ (มิลลิกรัม / ลิตร)	อาหารและสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง	รายการอ้างอิง
S. limacinum BUCACD 032	114.71	2647.51	1. กลูโคส 60 กรัม, yeast extract 10 กรัม 2. อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็ม 25 ส่วนในพันส่วน ความเร็วรอบ 200 รอบ/นาที เป็นเวลา 6 วัน	ลลิดา เชาว์เรืองฤทธิ์ (2548)

สรุปผลการทดลอง

1. ทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทราพบทั้งหมด 687 ไอโซเลท สามารถจัดจำแนกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้ 2 สกุล 3 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei* (*Schizochytrium mangrovei*), *Aurantiochytrium limacinum* (*Schizochytrium limacinum*) และ *Ulkenia visurgensis* โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ *A.mangrovei* รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *Ulkenia visurgensis* ตามลำดับ

2. *Aurantiochytrium mangrovei* พบสูงสุดที่ใบแสมดำ (53.33 %) และ *A. limacinum* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบใหญ่ (38.33 %) ส่วน *Ulkenia visurgensis* พบสูงสุดที่ใบโกงกางใบเล็ก (18.33 %) เมื่อพิจารณาพันธุ์ไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด พบว่า ตาตุ่มทะเลมีเปอร์เซ็นต์การพบ (Frequency of Occurrence) สูงสุด เท่ากับร้อยละ 43 รองลงมาคือแสมทะเล (ร้อยละ 39) โพทะเล (ร้อยละ 35) โกงกางใบใหญ่ (ร้อยละ 34) และโกงกางใบเล็ก (ร้อยละ 27) ตามลำดับ

3. ทรอสโทไคตริดส์ชนิด *A. limacinum* มีดีเอชเอ 0.93-197.02 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-42.44 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ *A.mangrovei* มีดีเอชเอ 5.12-195.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (2.76-41.14% ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนเออาร์เอพบค่อนข้างมากใน *U. visuegensis* (0-6.93 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-10.48 % ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับอีพีเอมีค่าสูงใน *U. visuegensis* (0-2.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง, 0-3.24 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ดีพีเอพบสูง

ใน *A. limacinum* และ *A. mangrovei* ที่มีค่าใกล้เคียงกัน โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0-35.19 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-9.46 % ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 0-40.58 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง (0-11.92 % ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ

4. *A. mangrovei* มีมวลชีวภาพสูงสุด (6.05-21.55 กรัม/ลิตร) รองลงมาคือ *A. limacinum* และ *U. visuegensis* มีมวลชีวภาพอยู่ในช่วง 3.83-21.18 กรัม/ลิตรและ 6.73-19.86 กรัม/ลิตร

ข้อเสนอแนะ

ควรศึกษาทรอสโทไคตริดส์จากแหล่งอื่นๆ เช่น สาหร่ายทะเล หญ้าทะเล น้ำทะเล ดิน ตะกอน และในสัตว์ทะเล เป็นต้น เพื่อเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของประเทศไทย

รายการอ้างอิง

จุฬาลักษณ์ จันทบาล. (2550). *ความหลากหลายของทรอสโทไคทริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร*.วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ. (2546). *คู่มือวิธีการประเมินแบบรวดเร็วเพื่อการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมพื้นที่ชายฝั่งทะเล ระบบนิเวศป่าชายเลน*. กรุงเทพฯ: หจก. สุขชัยการพิมพ์.

Burja, A. M., Radianingtyas, H., Windust, A., & Barrow, C. J. (2006). Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: screening of strains and optimization of omega-3 production. *Microbiology Biotechnology*, 72, 1161-1169.

ดาวัลย์ ฉิมภู่. (2538). *ชีวเคมีเล่ม1 โมเลกุลชีวภาพ*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ประกายพรึก.

เดือนทิพย์ ปียรัตน์. (2538). การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไขมันโอเมก้า-3 จากสาหร่ายน้ำเค็มขนาดเล็ก. *วารสารวิทยาศาสตร์*, *24*, 14-20.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (2542). *ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์*. เชียงใหม่: ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประสงค์ เทียญบุญ. (2543). น้ำมันปลากับสุขภาพ. *ใกล้หมอ, 24*(7), 66.

มนตรี จุฬาวัฒนกล, ชิษณุสรร สวัสดิวัฒน์, ยงยุทธ ยุทธวงศ์, ภิญโญ พานิชพันธ์, ประหยัด โกมารทัต, พิณทิพ รื่นวงษา, ธีรยศ วิทิตสุวรรณกุล, บุรชัย สนธยานนท์, สุมาลี ตั้งประดับสกุล และมธุรส พงษ์ลิขิตมงคล. (2542). *ชีวเคมี*. ชลบุรี: ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

มยุรา ประยูรพันธ์ สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร. (2551). กรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ. ประชุมวิชาการ "วิจัยบูรพา ครบรอบวันสถาปนา 53 ปี" 7 กรกฎาคม 2551. มหาวิทยาลัยบูรพา. หน้า 74.

รัศมี ศุภศรี. (2536). *ไขมันและบทบาทของ omega-3 fatty acid กับ การอุดตันของหลอดเลือด*. *อาหาร, 23* (4). ม.ป.ท. 242-245.

ลลิดา เชาว์เรืองฤทธิ์. (2548). *ผลของความเค็มและอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงชนิดดีเอชเอ โดย Schizochytrium spp.*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา

วรพจน์ สุนทรสุข. (2541). การผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดสายยาวจากจุลินทรีย์. *วารสารจาร์พา, 5* (44), 52-56.

วรรณิพา วิเวโก. (2545). การพัฒนากรดไขมัน Omega-3, Omega-6 เพื่อการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรม. *ข่าวเทคโนโลยีชีวภาพ, 8*(5), 10-12.

วีรพงษ์ วุฒิพันธุ์ชัย. (2536). *อาหารปลา*. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. 216 หน้า.

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2542). *โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ* ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 255 หน้า.

ศิริลักษณ์ ช่วยพนัง. (2543). ป่าชายเลนความอุดมสมบูรณ์ริมฝั่งทะเลไทย. *วารสารปาริชาต, 12*(2), 44-48.

ศิริวรรณ เพชรสมบัติ. (2541). *ปริมาณโปรตีนไขมันและกรดไขมันชนิด EPA และ DHA สาหร่ายเซลล์เดียว*. ปัญหาพิเศษปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมถวิล จริตควร, สุดารัตน์ สวนจิตร และ วิภูษิต มัณฑะจิตร. (2549). *จุลินทรีย์ทะเลจากป่าชายเลน: แหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่ยั่งยืน*. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.

สมถวิล จริตควร สุดารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มัณฑะจิตร (2551). ความหลากหลายและกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดตราด ประเทศไทย. ประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเล 2551, 25-27 สิงหาคม 2551. โรงแรมเมโทรโพล จังหวัดภูเก็ต. หน้า 58.

สมถวิล จริตควร และ Jones, E.B.G. (2550). จุลินทรีย์ทะเล (*Schizochytrium* sp.) จากป่าชายเลน: แหล่งกรดไขมันเสริมคุณค่าให้อาร์ทีเมีย (*Artemia*). การประชุมวิชาการระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ "ป่าชายเลน: รากฐานเศรษฐกิจพอเพียงของชุมชนชายฝั่ง" วันที่ 12-14 กันยายน 2550. ณ โรงแรมฮอลิเดย์อินน์ รีสอร์ท ชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน. (2550). *พันธุ์ไม้ป่าชายเลนในประเทศไทย*. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

สนิท อักษรแก้ว. (2541). *ป่าชายเลนนิเวศวิทยาและการจัดการ*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุพรรณี อัศวศิริเลิศ. (2541). ป่าชายเลนทรัพยากรล้ำค่า. *วารสาร ธ.ก.ส., 20*(3), 31-100.

สุพิศ ทองรอด. (2535). ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ. *วารสารการประมง 45* (5), 943-950.

อัคนิตย์ อิทธิอาภา. (2541). *การหาปริมาณไขมันและเปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ในปลาทะเลโดยเทคนิคแก๊สลิควิดโครมาโตกราฟฟี.* ปัญหาพิเศษภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

_____. *ประโยชน์ของ DHA และ ARA ในน้ำมันปลา.* วันที่ค้นข้อมูล 27 พฤษภาคม 52, เข้าถึงได้จาก http://apichoat.spaces.live.com/blog/cns!9891083BDDC31311!395.entry?sa=714862788

Alexopoulos, C. W., Charles, W. M., & Blackwell, M. (1996). *Introductory mycology.* (4th ed.). New York: John Wiley & Sons.

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.

Bahnweg, G. (1979). Studies on the physiology of thraustochytriales I. Growth requirements and nutrition of *Thraustchytrium* spp., *Schizochytrium* sp., *Japonochytrium* sp., *Labyrinthulaids* sp., *Ulkenia* sp. Veroff. Inst. Meeresforsch. *Bremerhaven*, *17*, 245-268.

Bajpai, P. K., Bajpai, P., & Ward, O. P. (1991a). Optimization of production of docosahaxaenoic 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). Nutrional 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.

Bongiorni, L., Pignataro, L., & Santange, G. (2004). Thraustochytrids (Fungoid protists): An unexplored component of marine sediment microbiota. *SCI. MAR., 68*(1), 43-48.

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 Thraustchytrids: 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 invertigation into the use of marine protest 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 3rd Asia-pacific Mycological Congress on Biodiversity and Biotechnology (AMC 2000)*. n.p.

Fan, K. W., Chen F., Jones E. B. G., & Vrijmoed L. P. (2000b). Utilization of food processing waste by thraustochytrids. In K. D. Hyde., W. H. Ho., & S. B. pointing (eds.), *Aquatic Mycology across the Millennium, 5*, (185-194).

Fan, K. W., Chen, F. J., Jones, E. B. G., & Vrijmoed, L. P. (2001). Eicosapentaenoics 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. and Jones, E.B.G. (1999). Aquaculture feed from Thraustochytrids. Paper presented at The 7th International Marine and Freshwater Mycology Symposium. 4-9 July 1999. City University of Hong Kong, Hong Kong.

Jaritkhuan, S. and Jones, E.B.G. (2001). Thraustochytrids: A new alternative fatty acid source for aquaculture. Paper presented at The 8th International Marine and Freshwater Mycology Symposium. 7-12 July 2001. Hurghada Holiday Resort, Hurghada, Egypt.

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 9th International Marine and Freshwater Mycology Symposium. 14-19 November, 2004. Chiang Mai, Thailand.

Jaritkhuan,S.; Suanjit, S.; Prayunpun, M.; Chaoruangrit, 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.

Jensen, R. P., Jenkins, M. K., Porter, D., & Fenical, W. (1998). Evidence that a new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *Thalassia testudinum* against zoosporic fungi. *Applied and Environmental Microbiology, 64*(4), 1490-1496.

Jones, E. B. G., & Alderman, D. J. (1971). *Althonia crouchii gen. et. sp. nov., A marine biflagellate fungus*. n.p.

Jakobsen, A.N., Aasen, I.M., Josefsen, K.D., & Strom, A.R. (2008) Accumulation of docosahexaenoic acid-rich lipid in thraustochytrid Aurantiochytrium sp. strain T66: effects of N and P starvation and O2 limitation. *Microbiol Biotechnol*, 80, 297–306.

Kamlangdee, N., & Fan, K. W. (2003). Polyunsaturated fatty acid production by *Schizochytrium* sp. isolation from Songklanakarin mangrove. *Journal Scince 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.

Mo, C., Douek, J., & Rinkevich, B. (2002) Development of a PCR strategy for thraustochytrids Identification based on 18S rDNA sequence, *Marine Biology*, 140, 883-889.

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.

Olive, L. S. (1975). *The Mycetozoan*. New York: Academic Press.

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.

Qiu, X. (2003). Biosynthesis of docosahexaenoic acid (DHA, 22: 6-4, 7, 10, 13, 16, 19): two distinct pathways. *Prostagiandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 68*, 181-186.

Ragan, A. M., MacCallum, S. G., Murphy, A. C., Cannone, J. J., Gutell, R. R., & McGladdery, E. S. (2000). Protistan parasite QPX of hard-shell clam *Mercenaria mercenaria* is a member of labyrinthulomycota. *Diseases of Aquatic Organisms, 42*, 185-190.

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., & Chandralata, R. (1999). Thraustochytrids fungoid protists in faecal pellets of the tunicate *Pegea confoederata*, their tolerance to deep-sea conditions and implication in degradation process. *Marine Ecology Progress Series, 190*, 133-140.

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.

Riemann, F., & Schrage, M. (1983). On a mass occurrence of a thraustochytrids protist (fungi or rhizopoda protozoa) in an Antarctic anaerobic marine sediment. Veroff Insttitute ofMeeresforsch Bremerh, 19, 191-202.

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.

Sharmar, S., Raghukumar, S., Pathak, S. V., & Chandramohan, D. (1994). Thraustochytrids and fungal component of marine detritus II Labolatory studies on decomposition of brown algae Sarrgassum cinereum. *Marine Biology, 175*, 227-242.

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.

Song, X., Zhang, X., Kuang, C., Zhu, L., & Guo, N. (2007) Optimization of fermentation parameters for the biomass and DHA production of Schizochytrium limacinum OUC88 using response surface methodology. *Process Biochemistry*, 42, 1391–1397.

Song, X.; Zhang, X.; Guo, N.; Zhu, L. and Kuang, C. (2007). Assessment of marine thraustochytrid *Schizochytrium limacinum* OUC88 for mariculture by enriched feeds. *Fisheries Science*. 73: 565-573.

Ulken, A. (1981a). The phycomycetes flora of mangrove swamps in the South Pacific. Veroff, *Inst. Meeresforsch. Bremerh, 19,* 45-59.

Ulken, A. (1981b). On the role of phycomycetes in the food web of different mangrove with brackish water and water of high salinity. *Kieler Meeresforsch., Sonderh, 5,* 425-428.

Ulken, A., Jackle, I., and Bahnweg, G. (1985). Morphology , nutrition and taxonomy of an *Aplanochytrium* sp. from the sargasso sea. *Marine Biology* 85, 89-95.

Unagul, P., Assantachai, C., Phadungruengluij, S., Suphantharika, M., & Verduyn, C. (2005). Properties of the docosahexaenoic acid-producer *Schizochytrium mangrovei* Sk-02: Effect of glucose, temperature and salinity and their interaction. *Botania Marina, 48*, 387-394.

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.

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.

Wong, M.K.M., Tsui, C.K.M., Au, D.W.T., & Vrijmoed, L.L.P. (2008) Docosahexaenoic acid production and ultrastructure of the thraustochytrid *Aurantiochytrium mangrovei* MP2 under high glucose concentrations. *Mycoscience*, 49, 266–270.

Wu, S. T., Yu, S. T., & Lin, L. P. (2005, June 19). *Effect of culture condition on docosahexenoic acid production by Schizochytrium sp. S31.* Abstract retrieved May 31, 2005, from http://www.Sciencedirect.com/science

Yokochi, T., Honda, D., Higashihara, T., & Nakahara, T. (1998). Optimization of docosahexaenioc acids production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Applied Microbiology and Biotechnology, 49*, 72-76.

Yokoyama, R., & Honda., Y. (2007) 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. (2007) 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 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1

พันธุ์ไม้	เชื้อที่พบ	จำนวนเชื้อ (ไอโซเลท)	จำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์	เปอร์เซ็นต์การพบ (%)
แสมดำ 1	*A. mangrovei*	35	12	60
	A. limacinum	16	6	30
แสมดำ 2	*A. mangrovei*	38	14	70
	A. limacinum	18	6	30
โกงกางใบเล็ก 2	*A. mangrovei*	17	9	45
	A. limacinum	19	7	35
	U. visurgensis	12	4	20
ตาตุ่มทะเล 3	*A. mangrovei*	35	13	65
	A. limacinum	17	7	35
โกงกางใบเล็ก 3	*A. mangrovei*	21	7	35
	A. limacinum	10	4	20
	U. visurgensis	27	8	40
โกงกางใบใหญ่ 4	*A. mangrovei*	33	11	55
	A. limacinum	18	6	30
	U. visurgensis	6	2	10
โพทะเล 4	*A. mangrovei*	44	15	75
	A. limacinum	14	5	25
	รวม	380	136	40

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

ตารางภาคผนวกที่ 2 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2

พันธุ์ไม้	เชื้อที่พบ	จำนวนเชื้อ (ไอโซเลท)	จำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์	เปอร์เซ็นต์การพบ (%)
แสมดำ 1	*A. mangrovei*	21	16	80
	A. limacinum	3	1	5
แสมดำ 2	*A. mangrovei*	15	12	60
	A. limacinum	6	3	15
โกงกางใบเล็ก 2	*A. mangrovei*	12	7	35
	A. limacinum	6	5	25
	U. visurgensis	2	2	10
ตาตุ่มทะเล 3	*A. mangrovei*	18	13	65
	A. limacinum	12	8	40
โกงกางใบเล็ก 3	*A. mangrovei*	13	6	30
	A. limacinum	11	8	40
	U. visurgensis	3	2	10
โกงกางใบใหญ่ 4	*A. mangrovei*	9	6	30
	A. limacinum	12	9	45
โพทะเล 4	*A. mangrovei*	9	5	25
	A. limacinum	12	9	45
	รวม	164	112	38

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

ตารางภาคผนวกที่ 3 เปอร์เซ็นต์การพบทรอสโทไคตริดส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3

พันธุ์ไม้ (สถานี)	เชื้อที่พบ	จำนวนเชื้อ (ไอโซเลท)	จำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์	เปอร์เซ็นต์การพบ (%)
แสมดำ (1)	*A. mangrovei*	11	4	20
	A. limacinum	13	9	45
แสมดำ (2)	*A. mangrovei*	16	9	45
	A. limacinum	5	2	10
โกงกางใบเล็ก (2)	*A. mangrovei*	11	7	35
	A. limacinum	7	5	25
	U. visurgensis	3	2	10
ตาตุ่มทะเล (3)	*A. mangrovei*	10	4	20
	A. limacinum	12	6	30
โกงกางใบเล็ก (3)	*A. mangrovei*	9	5	25
	A. limacinum	11	7	35
	U. visurgensis	1	1	5
โกงกางใบใหญ่ (4)	*A. mangrovei*	9	6	30
	A. limacinum	12	8	40
โพทะเล (4)	*A. mangrovei*	5	3	15
	A. limacinum	8	5	25
	รวม	143	83	26

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

ตารางภาคผนวกที่ 4 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)

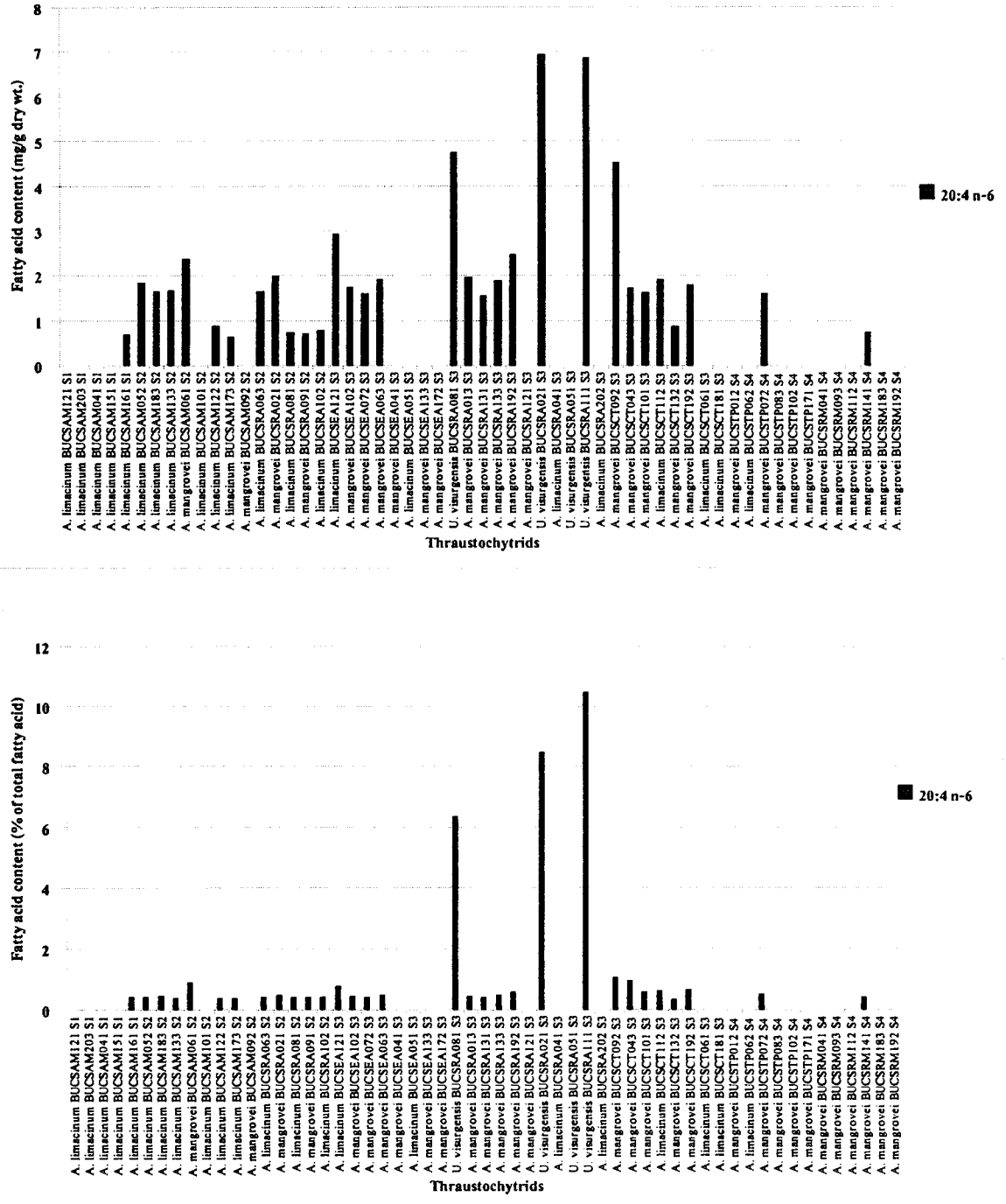
ชนิด ทรอสโทไคตริดส์	ปริมาณกรดไขมัน							
	เออาร์เอ		อีพีเอ		ดีพีเอ		ดีเอชเอ	
	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด
Aurantiochytrium	1.16±2.37	0.23±0.23	1.01±1.05	0.30±0.29	12.55±9.64	4.49±2.76	66.10±57.87	24.44±15.06
limacinum	(0.00-11.34)	(0.00-0.74)	(0.00-3.05)	(0.00-0.74)	(0.00-32.52)	(0.00-0.83)	(0.93-182.78)	(0.04-42.30)
Aurantiochytrium	1.00±1.11	0.30±0.30	1.02±1.09	0.30±0.28	14.27±11.29	4.75±2.89	75.37±62.71	24.30±13.97
mangrovei	(0.00-4.52)	(0.00-1.03)	(0.00-2.77)	(0.00-0.66)	(0.00-38.98)	(0.00-9.27)	(5.13-173.26)	(3.14-41.15)
Ulkenia visurgensis	4.64±3.25	6.32±4.54	1.00±1.16	1.43±1.68	7.46±4.91	9.38±7.51	8.94±8.30	8.65±4.64
	(0.00-6.93)	(0.00-10.47)	(0.00-2.12)	(0.00-3.24)	(1.98-12.08)	(2.65-16.91)	(2.94-21.11)	(3.59-14.49)

ตารางภาคผนวกที่ 5 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)

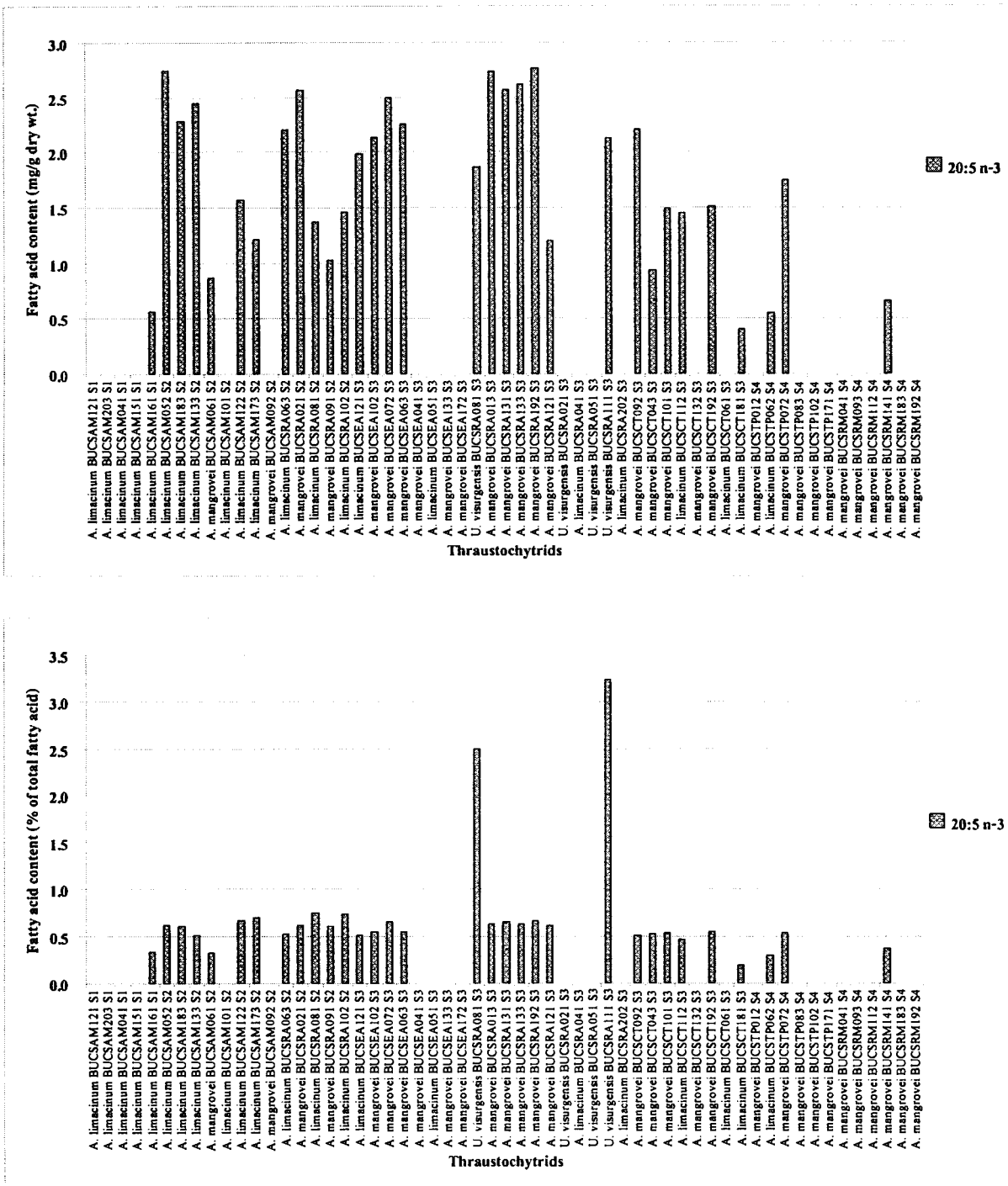
ชนิด ทรอสโทไคตริดส์	ปริมาณกรดไขมัน							
	เออาร์เอ		อีพีเอ		ดีพีเอ		ดีเอชเอ	
	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรดไขมันทั้งหมด
Aurantiochytrium	1.24±0.82	0.38±0.24	1.97±1.04	060±0.30	18.12±8.80	5.63±2.35	94.57±50.70	28.62±11.76
limacinum	(0.00-2.68)	(0.00-0.91)	(0.00-3.40)	(0.00-1.26)	(0.00-35.19)	(0.00-9.46)	(9.51-197.02)	(3.37-42.44)
Aurantiochytrium	1.28±1.14	0.48±0.46	1.55±1.03	0.55±0.34	17.07±8.94	5.98±2.40	79.90±42.07	27.43±9.76
mangrovei	(0.00-3.49)	(0.00-1.67)	(0.00-3.50)	(0.00-1.10)	(2.91-40.57)	(0.84-11.92)	(10.49-195.18)	(2.76-39.63)
Ulkenia visurgensis	1.10±1.56	0.33±0.46	1.32±1.86	0.39±0.56	19.81±11.65	6.15±3.13	63.57±20.28	19.99±4.59
	(0.00-2.20)	(0.00-0.66)	(0.00-2.64)	(0.00-0.79)	(11.57-28.05)	(3.93-8.37)	(49.23-77.92)	(16.75-23.24)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไดตริดส์ที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)

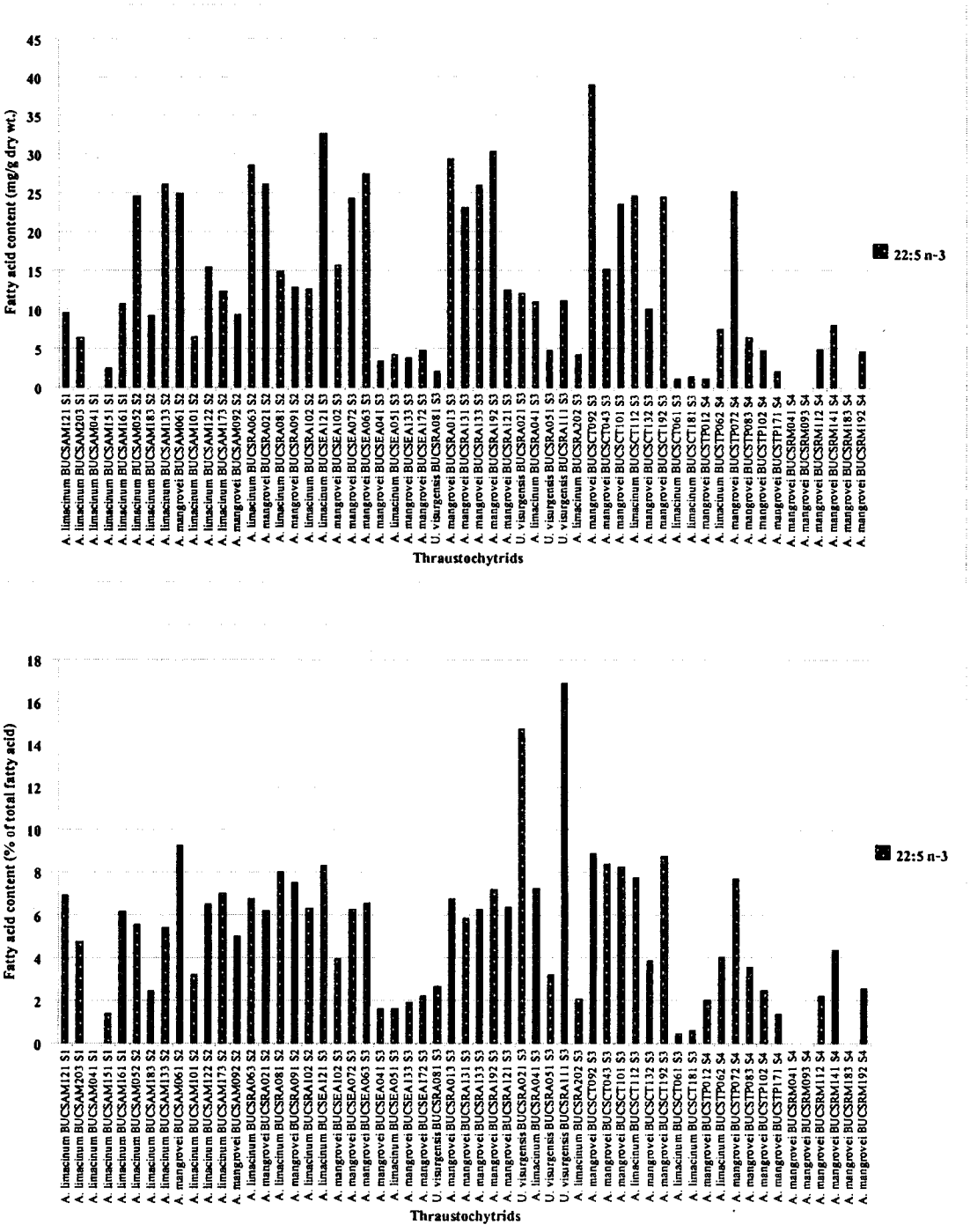
ชนิด ทรอสโทไดตริดส์	ปริมาณกรดไขมัน							
	เออาร์เอ		อีพีเอ		ดีพีเอ		ดีเอชเอ	
	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด	มก./ก. น้ำหนักแห้ง	% ของกรด ไขมันทั้งหมด
Aurantiochytrium	0.56±0.99	0.22±0.40	0.33±0.67	0.13±0.25	9.15±6.44	5.39±1.72	45.39±32.51	26.84±8.46
limacinum	(0.00-2.91)	(0.00-1.24)	(0.00-2.89)	(0.00-0.85)	(1.35-25.52)	(1.49-8.06)	(8.13-123.31)	(7.37-39.92)
Aurantiochytrium	0.59±0.96	0.21±0.32	0.30±0.61	0.13±0.27	7.39±5.80	4.68±2.25	39.20±30.44	25.67±10.15
mangrovei	(0.00-3.58)	(0.00-1.06)	(0.00-2.09)	(0.00-1.00)	(0.00-20.85)	(0.00-8..68)	(6.85-109.20)	(4.94-40.26)
Ulkenia visurgensis	0.33±0.58	0.10±0.17	1.41±1.23	0.46±0.40	12.12±3.08	4.331±0.21	63.52±11.61	22.90±0.65
	(0.00-100)	(0.00-0.30)	(0.00-2.19)	(0.00-0.73)	(9.19-15.34)	(4.20-4.57)	(51.40-74.54)	(22.20-23.50)



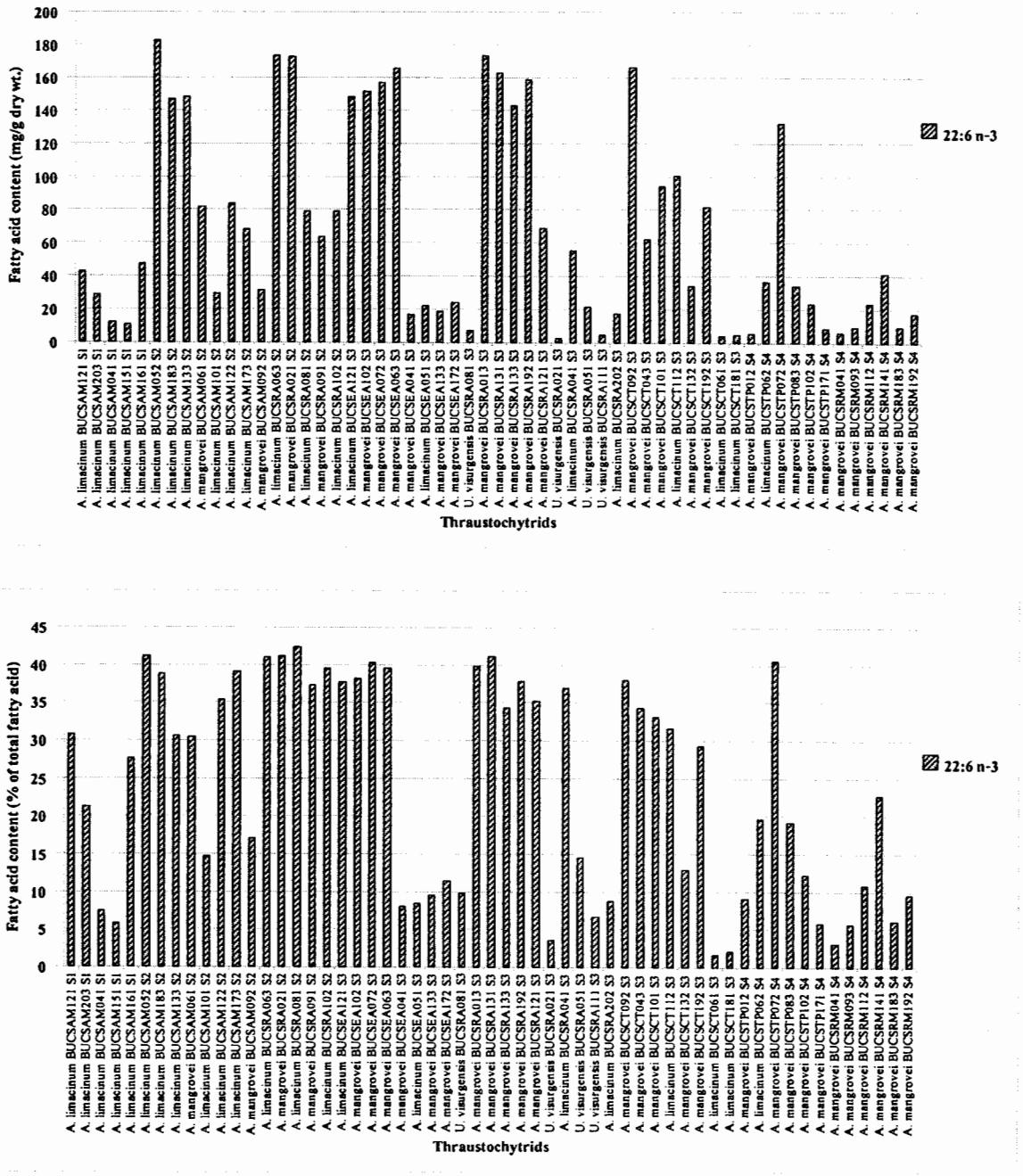
ภาพภาคผนวกที่ 1 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)



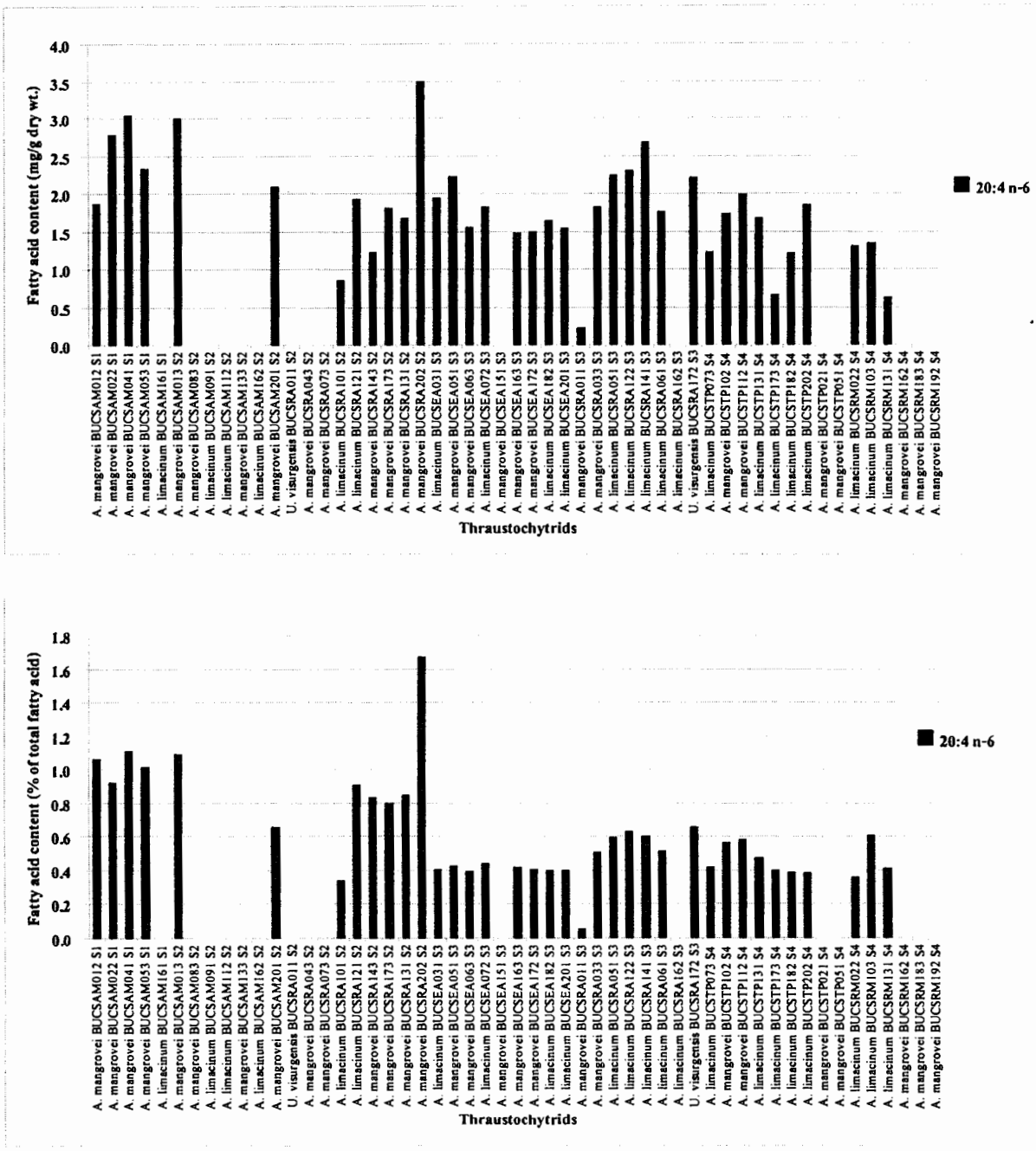
ภาพภาคผนวกที่ 2 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)



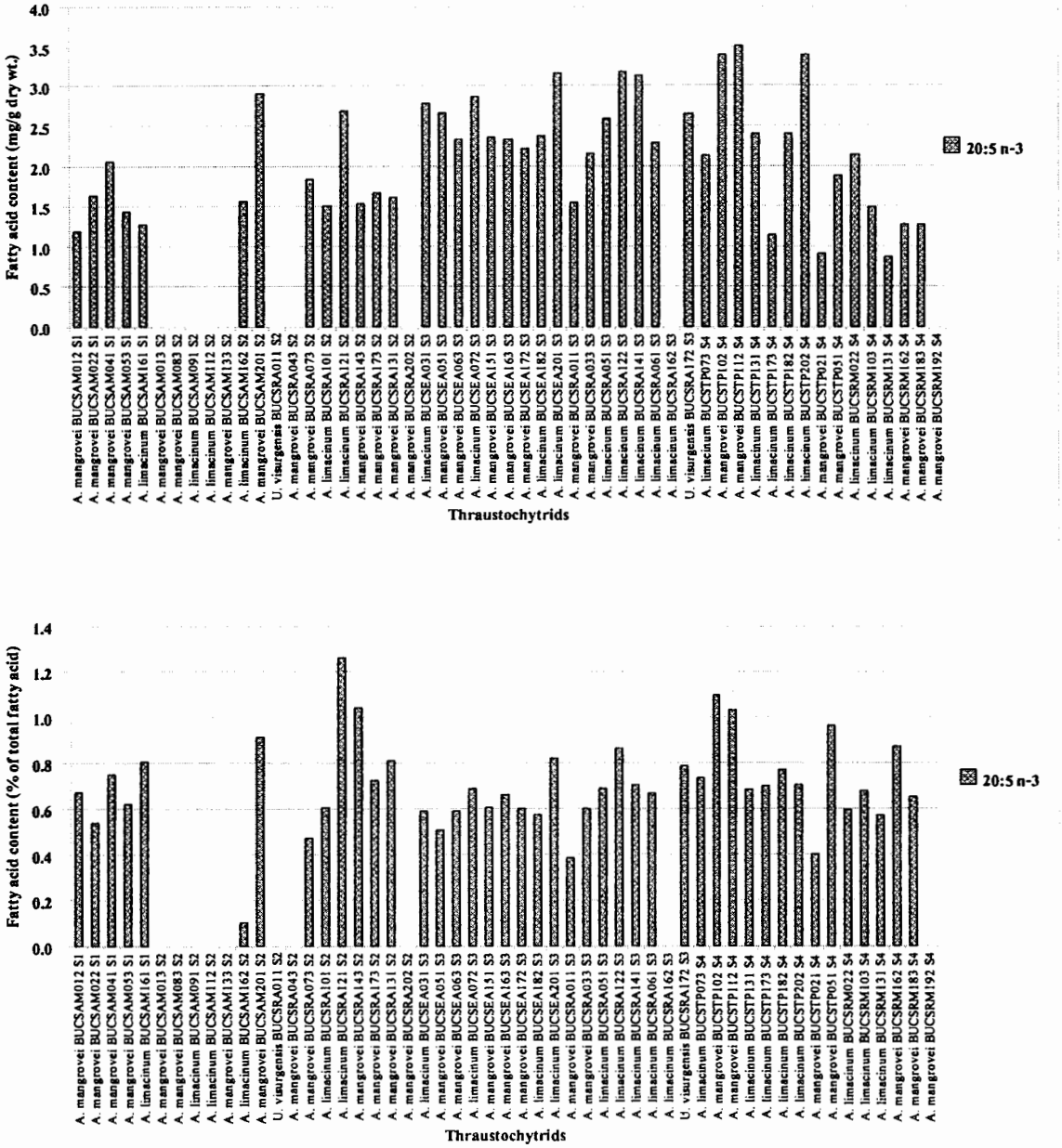
ภาพภาคผนวกที่ 3 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)



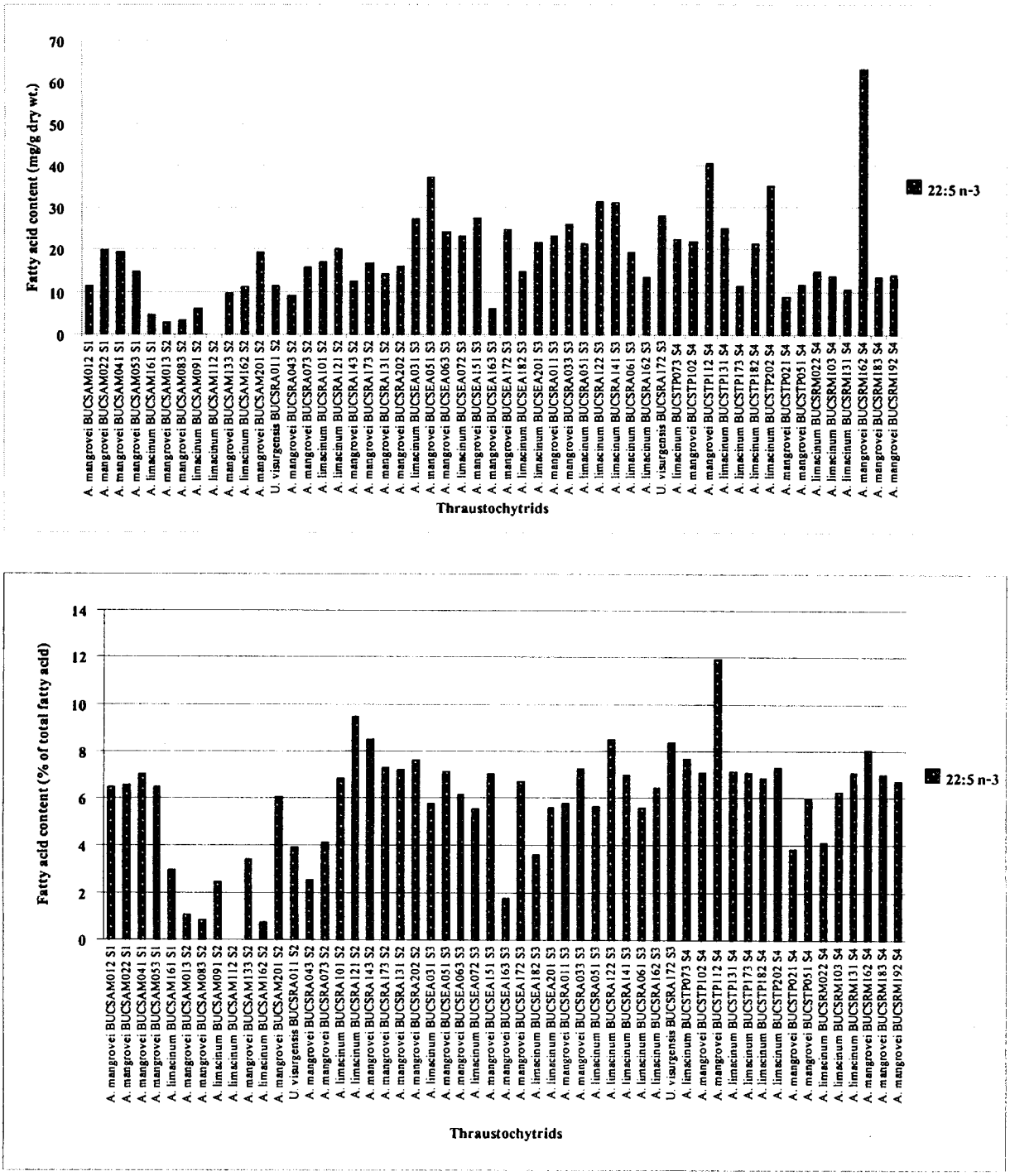
ภาพภาคผนวกที่ 4 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไดตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)



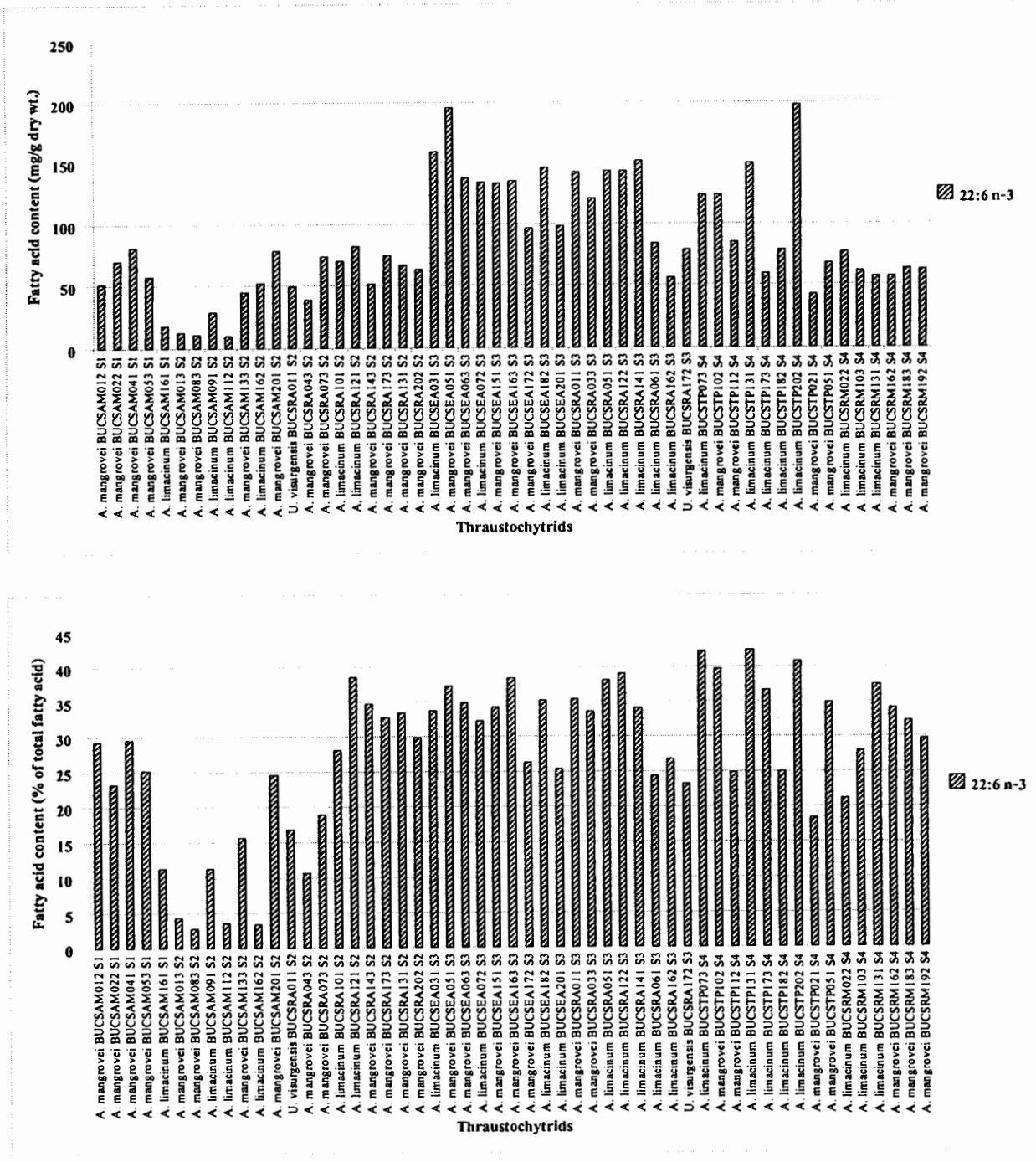
ภาพภาคผนวกที่ 5 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



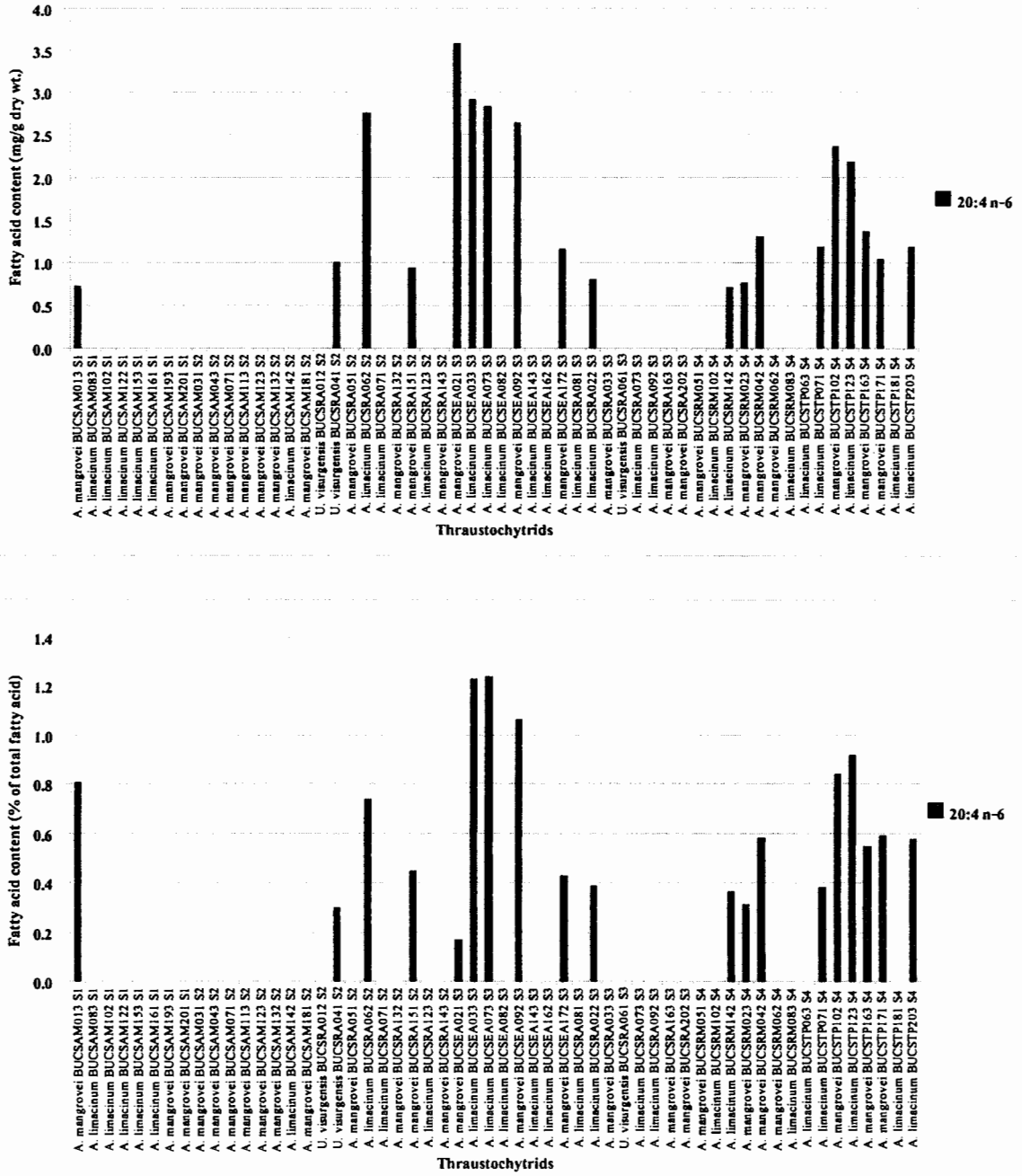
ภาพภาคผนวกที่ 6 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



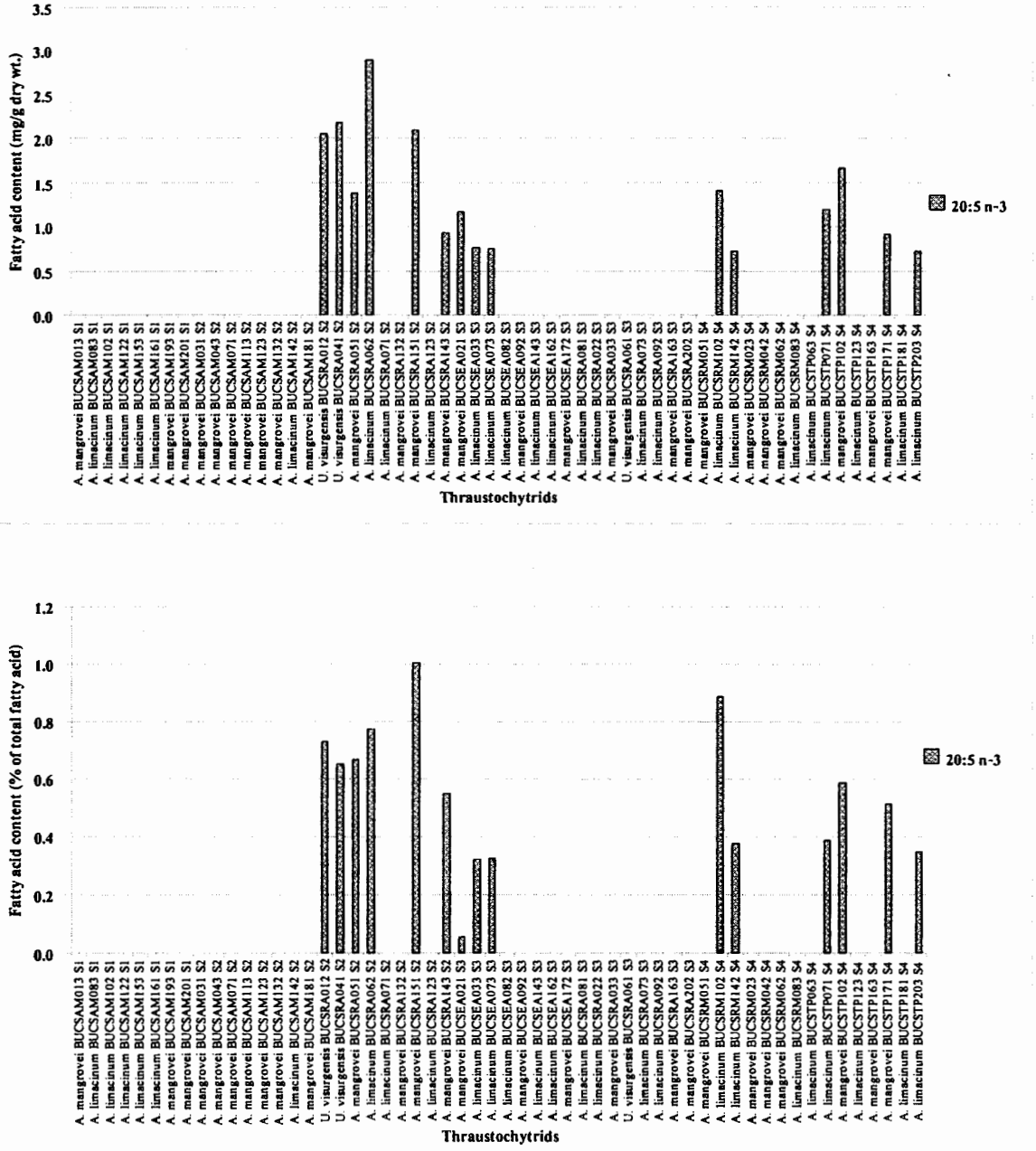
ภาพภาคผนวกที่ 7 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



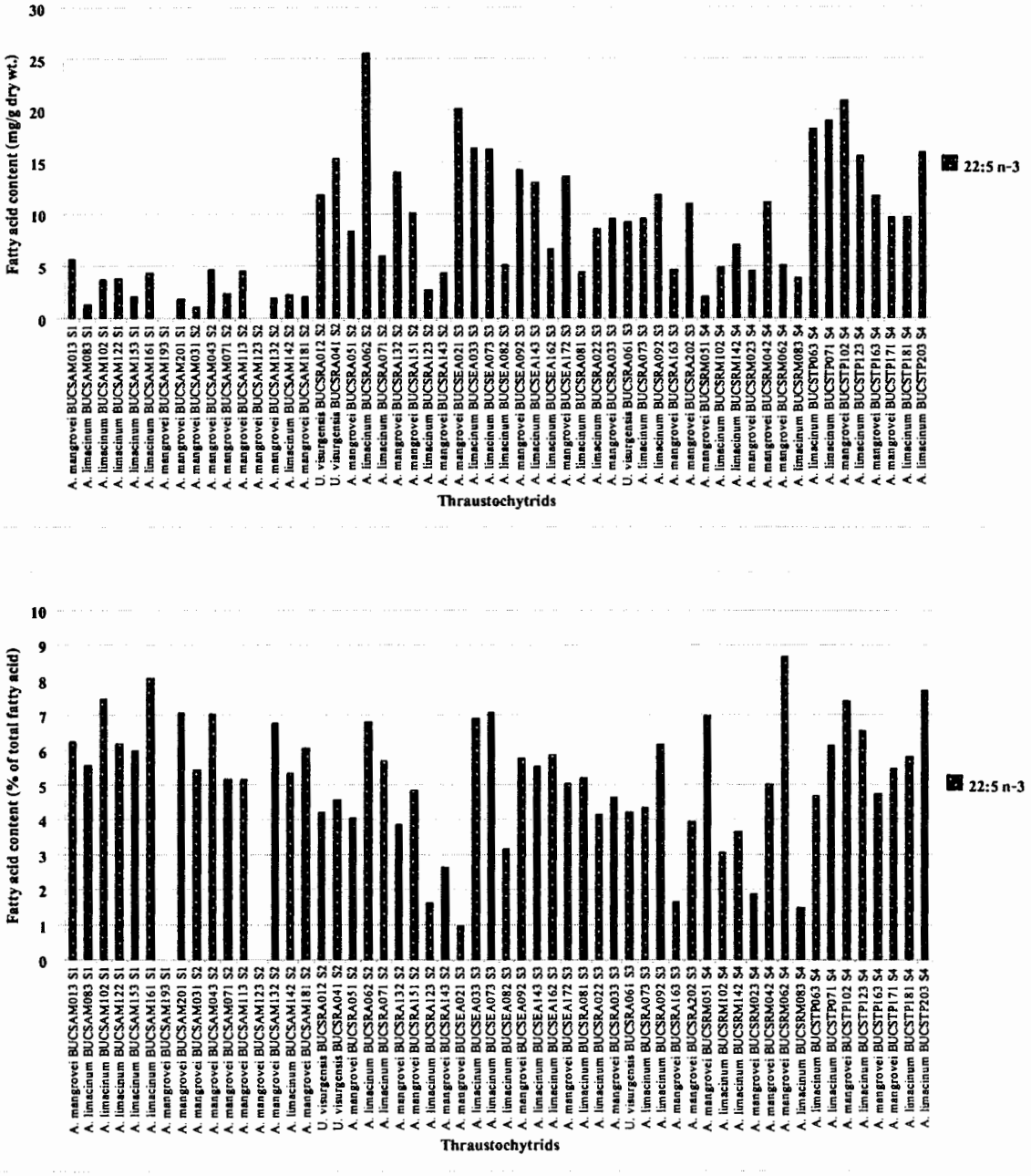
ภาพภาคผนวกที่ 8 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



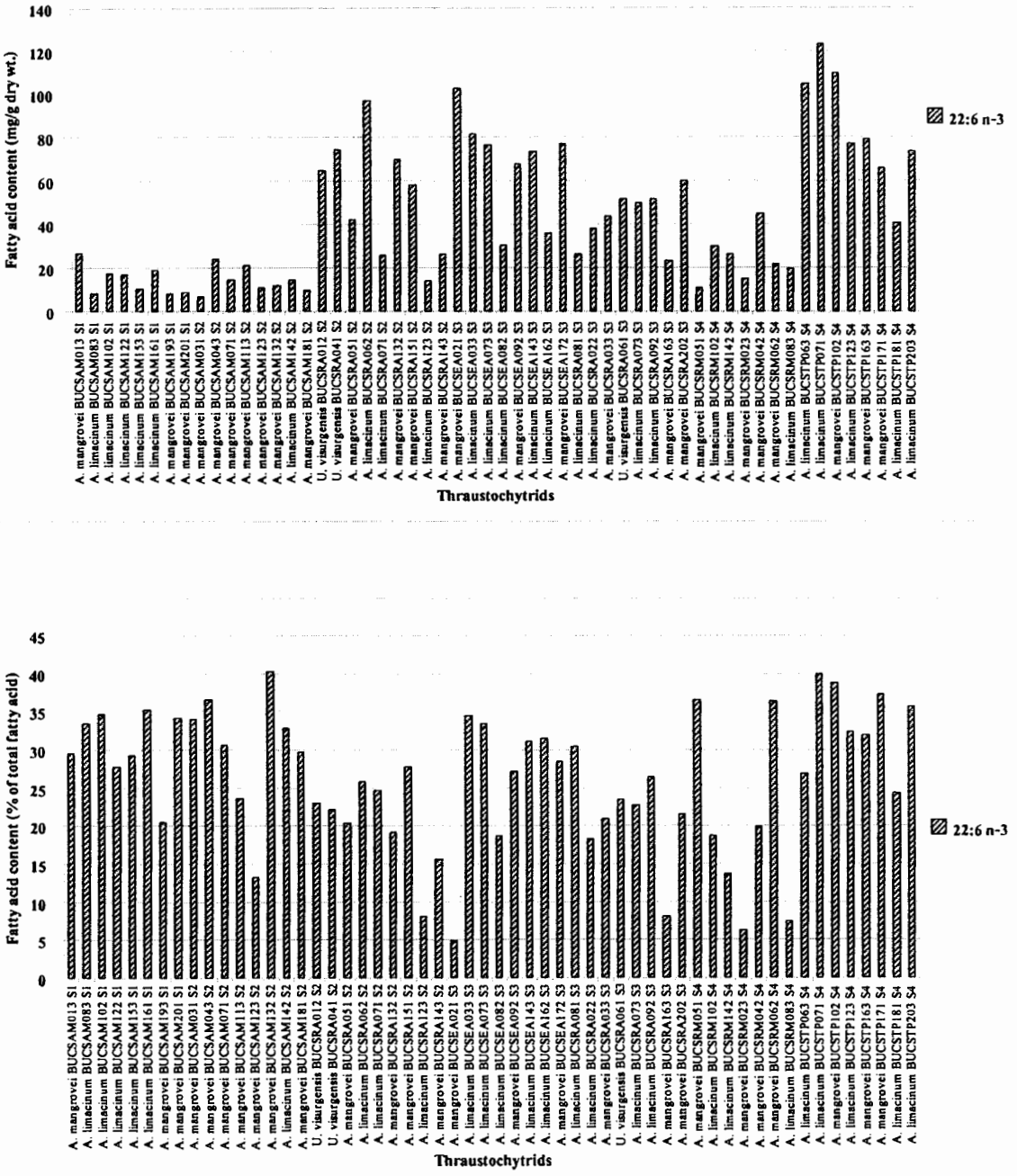
ภาพภาคผนวกที่ 9 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)



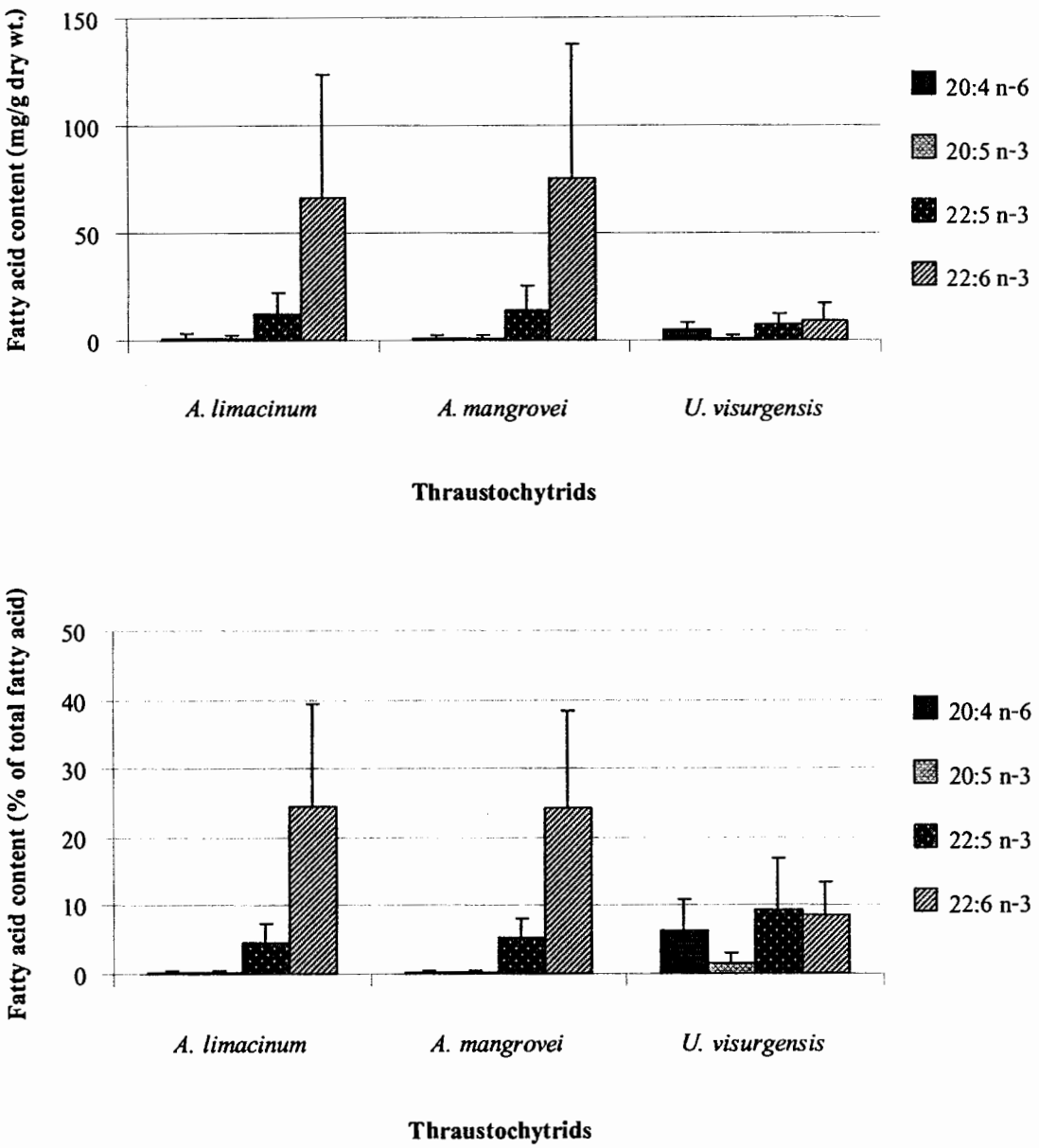
ภาพภาคผนวกที่ 10 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)



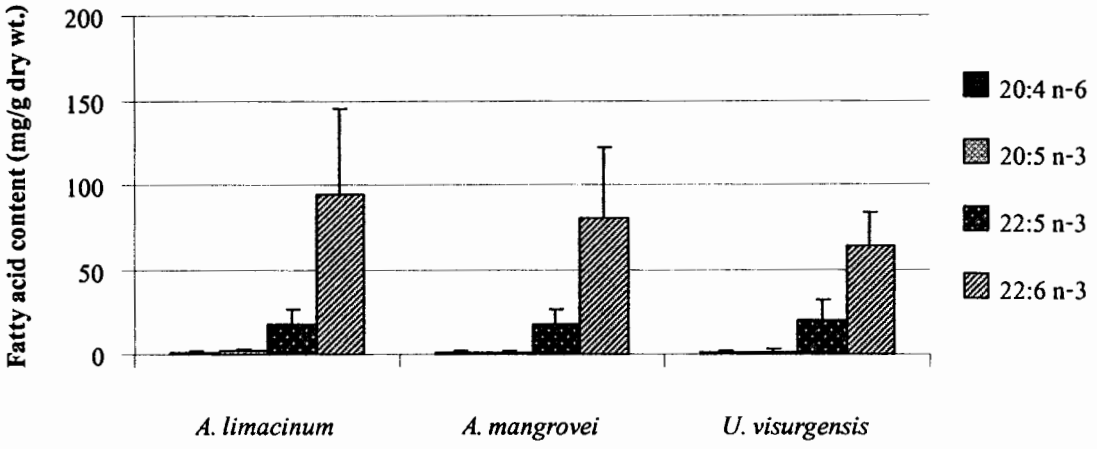
ภาพภาคผนวกที่ 11 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)

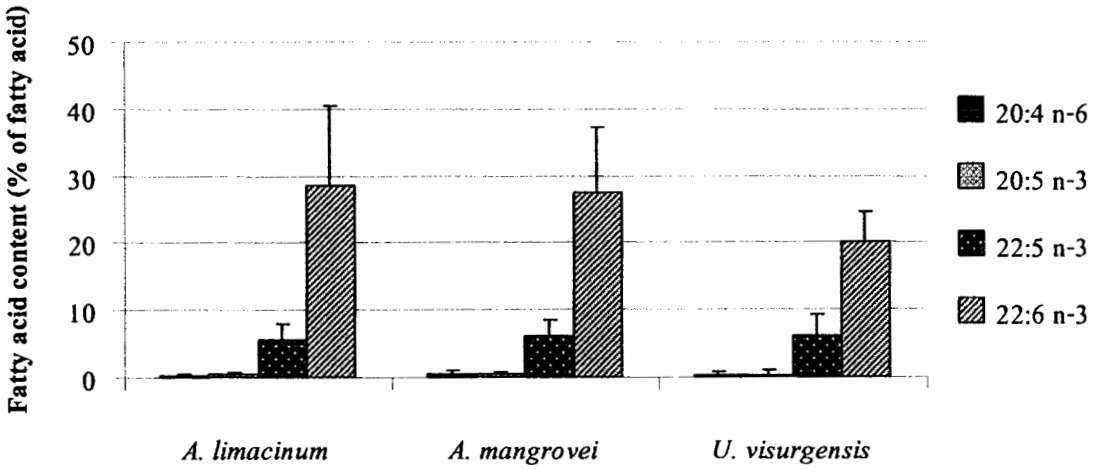


ภาพภาคผนวกที่ 12 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ (ก. มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง ข. เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ในทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจังหวัดฉะเชิงเทรา (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)



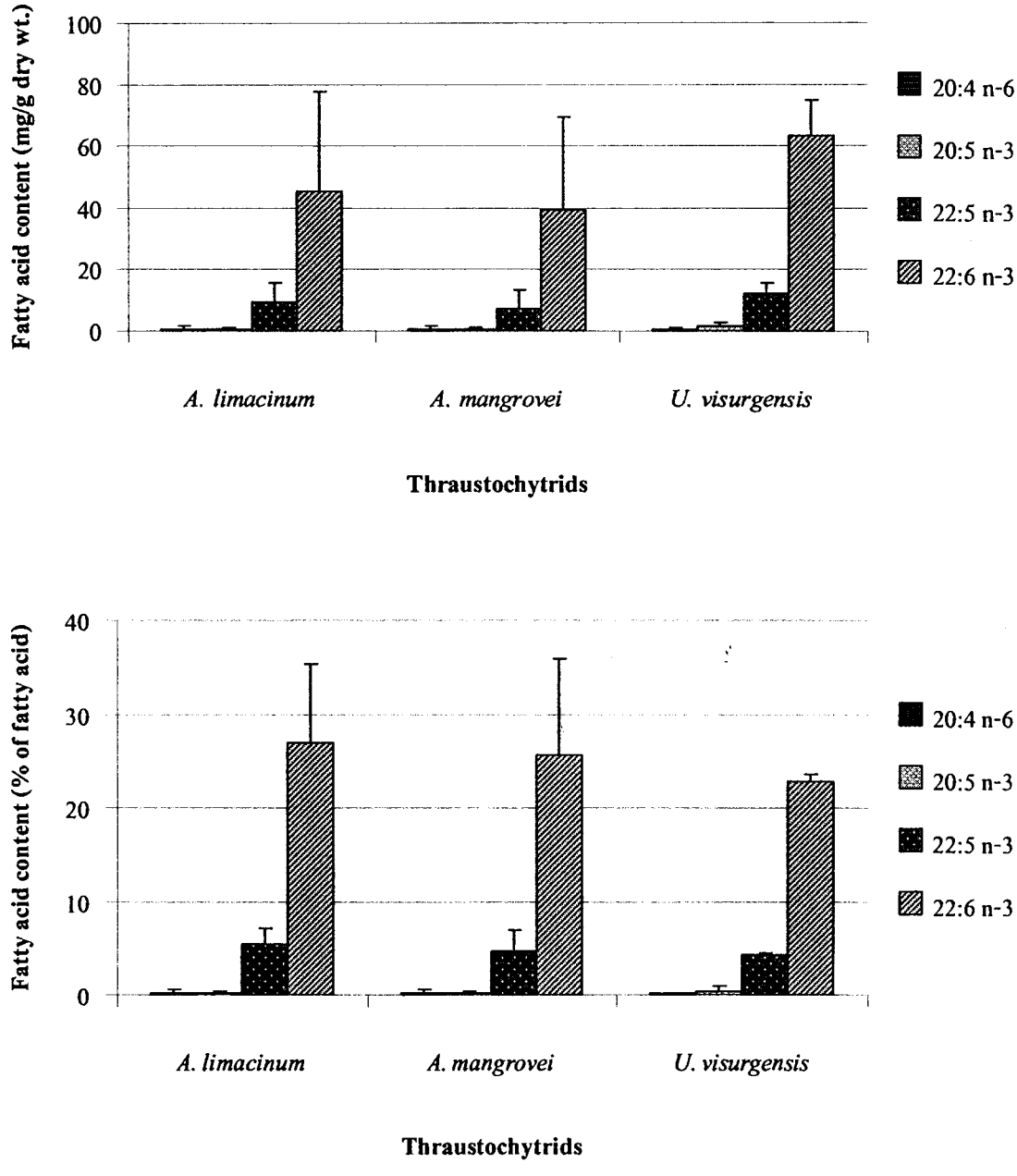
ภาพภาคผนวกที่ 13 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)





Arachidonic acid; Eicosapentaenoic acid; Docosapentaenoic acid, n-6; Docosahexaenoic acid

ภาพภาคผนวกที่ 14 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไดตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)



ภาพภาคผนวกที่ 15 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดที่คัดแยกได้จากป่าชายเลน จังหวัดฉะเชิงเทรา (จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 3)