


ความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณ  
ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

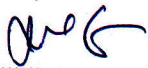
ทิวพร ทองประสม

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม  
คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา  
สิงหาคม 2561  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยบูรพา

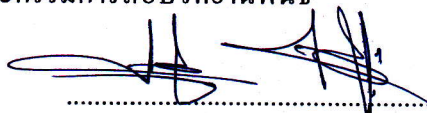
คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์และคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณา  
วิทยานิพนธ์ของ ทิวพร ทองประสม ฉบับนี้แล้ว เห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพาได้


คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตควร)


  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุदारนต์ สวนจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


  
..... ประธาน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมชาย ไกรรักษ์)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จิตควร)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุदारนต์ สวนจิตร)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อภิรดี ปิณฑนภาคย์)

คณะวิทยาศาสตร์อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม  
หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม ของมหาวิทยาลัยบูรพา

  
..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกรัฐ ศรีสุข)

วันที่ 14 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2561

## กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมถวิล จริตควร อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุดารัตน์ สวณจิตร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคุณพ่อนิพนธ์และคุณแม่วรรณี ทองประสม ที่คอยให้การสนับสนุนและให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้า ขอขอบคุณคุณอรอุมา ภูมินา คุณกนกสิณี ศิริรักษ์ คุณนฤมล ฐปบุชา คุณประณต วัฒนานุกิจ คุณวัลลิกา หวานเสนาะ คุณอุทุมพร อู่ยง ที่คอยให้การช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่บัณฑิตศึกษา เจ้าหน้าที่ภาควิชาวาริชศาสตร์ที่มหาวิทยาลัยบูรพาทุกท่าน ที่ให้การช่วยเหลือในการยื่นอุปกรณ์ในการวิจัยครั้งนี้

เนื่องจากงานวิจัยในครั้งนี้ส่วนหนึ่งได้รับทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ของคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จึงขอขอบพระคุณ ณ ที่นี้ด้วย

คุณค่าและประโยชน์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบเป็นกตัญญูคุณเวทิตาแค้นบุพการี บูรพาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่านทั้งในอดีตและปัจจุบัน ที่ทำให้ข้าพเจ้าเป็นผู้มีการศึกษาและประสบความสำเร็จมาจนตราบเท่าทุกวันนี้

ทิวาพร ทองประสม

56910057: สาขาวิชา: วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม; วท.ม. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

คำสำคัญ: ความหลากหลาย/ ทรอสโทไคตริคส์/ ดีเอชเอ/ กรดไขมัน/ ป่าชายเลน

ทิวพร ทองประสม: ความหลากหลายของทรอสโทไคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้บริเวณ  
ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง (DIVERSITY OF THRAUSTOCHYTRIDS ISOLATED  
FROM MANGROVE LEAVES AT THUNG PRONG TONG, RAYONG PROVINCE)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: สมถวิล จิตตวร, Ph.D., สุภารัตน์ สวนจิตร, Ph.D. 105 หน้า. ปี  
พ.ศ. 2561.

ศึกษาความหลากหลาย ความถี่ของการพบและปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไคตริคส์ที่คัดแยก  
จากใบไม้จำนวน 12 ชนิด ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในฤดูแล้งและ  
ฤดูฝน พบทรอสโทไคตริคส์ที่จำแนกได้ 3 จีนัส (7 สปีชีส์) ได้แก่จีนัส *Aurantiochytrium* จำนวน 5  
สปีชีส์ (*Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4  
และ *Aurantiochytrium* sp.5) จีนัส *Parietichytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ (*Parietichytrium* sp.) จีนัส  
*Schizochytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ (*Schizochytrium* sp.2) และทรอสโทไคตริคส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2  
กลุ่มคือ Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริคส์ช่วงฤดู  
ฝน และฤดูแล้งมีค่า 2.5-52.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยฤดูฝนมีความถี่ของการพบมากกว่าฤดูแล้ง เมื่อ  
พิจารณาจาก ชีวมวลของทรอสโทไคตริคส์มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง  $15.63 \pm 3.03$ - $22.87 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร  
โดย *Aurantiochytrium* sp.1 มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุด สำหรับปริมาณกรดไขมันพบว่า *Aurantiochytrium*  
sp.1 มีปริมาณเออาร์เอ (Arachidonic acid, 20:4 n-6, ARA) และอีพีเอ (Eicosapentaenoic acid, 20:5 n-3,  
EPA) เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $0.43 \pm 0.20$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ( $0.1 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน  
ทั้งหมด) และ  $1.67 \pm 1.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ( $0.35 \pm 0.20$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)  
ตามลำดับ ส่วน *Aurantiochytrium* sp.3 มีกรดไขมันดีพีเอ (Docosapentaenoic acid, 22 :5 n-6, DPA)  
และดีเอชเอ (Docosahexaenoic acid, 22:6 n-3, DHA) สูงสุดเท่ากับ  $39.40 \pm 6.17$  มิลลิกรัมต่อกรัม  
น้ำหนักแห้ง ( $8.06 \pm 0.53$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ  $137.23 \pm 25.61$  มิลลิกรัมต่อกรัม  
น้ำหนักแห้ง ( $31.68 \pm 2.72$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ สายพันธุ์ *Aurantiochytrium*  
sp.1 เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมต่อไป

56910057: MAJOR: ENVIRONMENTAL SCIENCE; M.Sc. (ENVIRONMENTAL SCIENCE)

KEYWORDS: DIVERSITY/ THRAUSTOCHYTRIDS/ DOCOSAHEXAENOIC ACID (DHA)/  
FATTY ACIDS/ MANGROVE FOREST

TIWAPORN THONGPRASOM: DIVERSITY OF THRAUSTOCHYTRIDS ISOLATED FROM  
MANGROVE LEAVES AT THUNG PRONG TONG, RAYONG PROVINCE. ADVISORY  
COMMITTEE: SOMTAWIN JARITKHUAN, Ph.D., SUDARAT SUANJIT, Ph.D. 105 P. 2018.

Diversity, frequency of occurrence and fatty acid content of thraustochytrids isolated from 12 fallen leaves of mangrove trees at Thung Prong Tong, Rayong Province were studied in the dry and rainy seasons. Three genera (7 species) were identified as genus *Aurantiochytrium* (5 species, such as *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 and *Aurantiochytrium* sp.5), genus *Parietichytrium* (1 species, *Parietichytrium* sp.), genus *Schizochytrium* (1 species, *Schizochytrium* sp.2). Two groups of unidentified thraustochytrids were Thraustochytriidae 8 and Thraustochytriidae 9. The average frequency of occurrence of thraustochytrids in dry season and rainy season were 2.5% and 52.5%, respectively. The average biomass of thraustochytrids were in a range of 15.63±3.03-22.87±0.80 g/L, which the highest found in *Aurantiochytrium* sp.1. For fatty acid content, *Aurantiochytrium* sp.1 had the highest content of Arachidonic acid (20:4 n-6, ARA) and Eicosapentaenoic acid (20:5 n-3, EPA) of 0.43±0.20 mg/g dry wt. (0.1±0.04 % of total fatty acid) and 1.67±1.17 mg/g dry wt. (0.35±0.20% of total fatty acid), respectively. While the highest amount of Docosapentaenoic acid (22:5 n-6, DPA) and Docosahexaenoic acid (22:6 n-3, DHA) were found in *Aurantiochytrium* sp.3 at 39.40±6.17 mg/g dry wt. (8.06±0.53% of total fatty acid) and 137.23±25.61 mg/g dry wt. (31.68±2.72% of total fatty acid), respectively. *Aurantiochytrium* sp.1 is the appropriate strain for further industrial uses.

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่	
1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
สมมติฐานของการศึกษา.....	2
ขอบเขตของการศึกษา.....	3
สถานที่ทำการทดลอง.....	3
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
ทรอสโทไคตริคส์ (thraustochytrids) .....	4
กรดไขมัน (fatty acid) .....	14
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	19
3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	23
อุปกรณ์เก็บตัวอย่างภาคสนาม.....	23
สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ.....	23
วัสดุ อุปกรณ์.....	24
วิธีดำเนินการวิจัย.....	25
ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทไคตริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัย ลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	25

## สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ตอนที่ 2 ซิวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	30
4 ผลการทดลอง.....	32
ชนิดพันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่าง.....	32
ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคไตรดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	33
ตอนที่ 2 ซิวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	67
5 อภิปรายและสรุปผล.....	78
ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคไตรดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	78
ตอนที่ 2 ซิวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	83
สรุปผลการทดลอง.....	84
ข้อเสนอแนะ.....	85
บรรณานุกรม.....	86
ภาคผนวก.....	92
ภาคผนวก ก.....	93
ภาคผนวก ข.....	96
ภาคผนวก ค.....	98
ภาคผนวก ง.....	100
ภาคผนวก จ.....	102
ประวัติย่อของผู้วิจัย.....	105

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวในน้ำมันและอาหารประเภทต่างๆ.....	15
3-1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและอุปกรณ์ที่ใช้.....	28
4-1 ชื่อพันธุ์ไม้สามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ ที่นำมาใช้ในการทดลอง.....	32
4-2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เก็บตัวอย่าง.....	33
4-3 ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสในใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจาก ทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง (จำนวนใบไม้ชนิดละ 20 ใบ).....	34
4-4 ลักษณะโคโลนีและเซลล์ของทรอสโทโคตริคัสเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง และอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน.....	53
4-5 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากโกงกางใบเล็ก.....	55
4-6 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากโกงกางใบใหญ่.....	56
4-7 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากตะบูนขาว.....	57
4-8 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากตาดุ่มทะเล.....	58
4-9 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากปอทะเล.....	59
4-10 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากโปรงขาว.....	60
4-11 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากโปรงแดง.....	61
4-12 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากฝาดดอกขาว.....	62
4-13 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากฟังกาหัวสุ่มดอกแดง.....	62
4-14 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากลำพูทะเล.....	63
4-15 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากลำแพน.....	64
4-16 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากแสมทะเล.....	65
4-17 ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.	68
4-18 ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน ทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในช่วงฤดูแล้ง.....	75



## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4-19 ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่สกัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน ทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในช่วงฤดูฝน.....	76
จ-1 ชนิดและรหัสที่เลือกมาใช้ในการศึกษาปริมาณชีวมวลและกรดไขมัน.....	103

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2-1 โครงสร้างทรอสโทโคตริคัส.....	5
2-2 ซูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้นของ <i>Schizochytrium aggregatum</i> .....	6
2-3 วัฏจักรชีวิตของทรอสโทโคตริคัสชนิดต่างๆ.....	10
2-4 ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	14
2-5 โครงสร้างของกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว.....	15
2-6 การสังเคราะห์กรดไขมันเชิงซ้อนกลุ่มโอเมก้า-3 และ โอเมก้า-6.....	18
3-1 พื้นที่ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	26
3-2 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง.....	27
4-1 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.1 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	35
4-2 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.1 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	36
4-3 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	37
4-4 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.2 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	38
4-5 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.3 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	39
4-6 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.3 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	40

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-7 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.4 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	41
4-8 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.4 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.4 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	42
4-9 ลักษณะโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.5 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	43
4-10 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.5 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Aurantiochytrium</i> sp.5 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	44
4-11 ลักษณะโคโลนีของ <i>Parietichytrium</i> sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	45
4-12 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Parietichytrium</i> sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Parietichytrium</i> sp. ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	46
4-13 ลักษณะโคโลนีของ <i>Schizochytrium</i> sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	47
4-14 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ <i>Schizochytrium</i> sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ <i>Schizochytrium</i> sp. ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	48
4-15 ลักษณะโคโลนีของ Thraustochytriidae 8 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	49

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4-16 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ Thraustochytriidae 8 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytriidar 6 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	50
4-17 ลักษณะโคโลนีของ Thraustochytriidae 9 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน.....	51
4-18 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ Thraustochytriidae 9 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytriidae 7 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน และนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์.....	52
4-19 ความถี่ของการพบทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์จากใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในฤดูแล้งและฤดูฝน.....	66
4-20 ปริมาณชีวมวลของทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์จากใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในฤดูแล้งและฤดูฝน.....	69
4-21 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอจากทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน.....	70
4-22 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอจากทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน.....	71
4-23 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอจากทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน.....	72
4-24 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอจากทอสปอโรไฟต์แต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน.....	73
4-25 กรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอและดีเอชเอของทอสปอโรไฟต์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทองในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน.....	74

# บทที่ 1

## บทนำ

### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ทรอสโทไคตริคส์เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก สามารถพบได้ทั้งในบริเวณป่าชายเลน ปากแม่น้ำ ดินตะกอนชายฝั่ง (Raghukumar, 2002) ทรอสโทไคตริคส์มีบทบาทในระบบนิเวศคือเป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ รวมทั้งเป็นแหล่งอาหารของโปรโตซัว แพลงก์ตอน สัตว์น้ำวัยอ่อน และสัตว์หน้าดิน เป็นต้น (Santangelo, Bongiorni, & Pignataro, 2000) ทรอสโทไคตริคส์จัดอยู่ใน kingdom straminipila (Raghukumar, 2002) พบทั้งสิ้น 11 สกุล ได้แก่ *Thraustochytrium*, *Japonochytrium*, *Schizochytrium*, *Oblongichytrium*, *Aurantiochytrium*, *Ulkenia*, *Sicyoidochytrium*, *Botryochytrium*, *Parietichytrium*, *Monorhizochytrium* และ *Althornia* (Marchan et al., 2017) ทรอสโทไคตริคส์ผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ในปริมาณสูง โดยเฉพาะกลุ่มโอเมก้า-3 ที่สำคัญ ได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ และดีเอชเอ (Ward & Singh, 2005; Naganuma, Kimura, Karimoto, & Pimenov, 2006; Raghukumar, 2008) โดยกรดไขมันชนิดนี้พบมากในวัชพืชน้ำ สาหร่ายน้ำจืด สาหร่ายทะเล แพลงก์ตอน และน้ำมันพืชบางชนิด (อัจฉรา นิยมเดชา, สุรเสน ศรีริگانนท์ และมงคล คงเสน, 2556) ซึ่งดีเอชเอนี้ช่วยพัฒนาด้านการมองเห็นของทารกเป็นอย่างดี (Uauy, Hoffman, Peirano, Birch, & Birc, 2001) โดยแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดนี้พบมากในปลาทะเล (Simopoulos, 2001) แต่เนื่องจากความแตกต่างของชนิดปลา ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัยของปลา มีผลต่อปริมาณและชนิดของกรดไขมันในตัวปลา และพบว่าผลิตภัณฑ์มีกลิ่นคาวจากตัวปลาทำให้ยากต่อการบริโภค (Li & Ward, 1994) สำหรับการผลิตกรดไขมันจากทรอสโทไคตริคส์สามารถผลิตได้ตลอดปี และสามารถควบคุมสภาวะการเลี้ยงและโภชนาการได้ดีกว่า (เกวลี พงศาอัสวไพบูลย์, 2551) ทำให้ทรอสโทไคตริคส์ได้รับความสนใจจากภาคอุตสาหกรรม โดยเฉพาะประโยชน์ด้านสุขภาพและได้รับการพิสูจน์ถึงความสามารถในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Ranasinghe, 2013)

การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายของทรอสโทไคตริคส์ในประเทศไทยพบการศึกษาในป่าชายเลนเป็นส่วนใหญ่ เช่น ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร (จุฬาลักษณ์ จันทบาล, สมถวิล จิตตวร และสุภารัตน์ สวนจิตร, 2550) ป่าชายเลนจังหวัดสมุทรปราการ (มยุรา ประยูรพันธ์, 2549) ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี (กนกสิณี ยิ้มยวน, 2550) ป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาคร (คณิกฐา เอี่ยมละออ, สมถวิล จิตตวร และสุภารัตน์ สวนจิตร, 2553) ส่วนในภาค

ตะวันออกคือป่าชายเลนบ้านเปรี๊ตใน จังหวัดตราด (ศุภพิชญ์ บุญแดง, 2548) และป่าชายเลนจังหวัด ชลบุรี (Jaritkhaun & Suanjit, 2018) สำหรับป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองมีเนื้อที่ 8,725.04 ไร่ มีพันธุ์ไม้หลากหลายชนิด เป็นอีกหนึ่งพื้นที่ที่สำคัญในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติที่อุดม สมบูรณ์ ที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิต แหล่งทำการประมง เป็นต้น (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2555) และเนื่องจากป่าชายเลนแห่งนี้ยังไม่มีการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์ ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง เพื่อศึกษาความ หลากหลาย ความถี่ของการพบปริมาณมวลชีวภาพและกรดไขมันของทรอสโทโคตริดส์ เพื่อเป็น ข้อมูลพื้นฐานสำหรับการใช้ในการศึกษาต่อไป

### วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อคัดแยกทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่น บริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง
2. เพื่อเปรียบเทียบความถี่ของการพบทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ต่างชนิดกันในฤดูแล้ง และฤดูฝน
3. เพื่อศึกษาชีวมวลและกรดไขมันจากทรอสโทโคตริดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้เชื้อบริสุทธิ์ของทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน ทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง
2. ได้ข้อมูลความหลากหลายของทรอสโทโคตริดส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณ ป่าชายเลน
3. ได้ข้อมูลปริมาณกรดไขมันที่สามารถนำไปเป็นทางเลือกในการใช้ประโยชน์ ในเชิงพาณิชย์

### สมมติฐานของการศึกษา

1. ชนิดของใบไม้ป่าชายเลนที่แตกต่างกันจะพบทรอสโทโคตริดส์ต่างชนิดกัน
2. ฤดูกาลมีผลต่อความถี่การพบทรอสโทโคตริดส์
3. ทรอสโทโคตริดส์แต่ละสายพันธุ์จากใบไม้ที่ร่วงหล่น บริเวณป่าชายเลนมีปริมาณ กรดไขมันที่แตกต่างกัน

### **ขอบเขตของการศึกษา**

เก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลน และศึกษาความหลากหลายของ  
ทรอสโทโคตริคส์ที่ได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนเสมณูหรือทุ่งโปรงทอง บ้านเสมณู  
หมู่ 7 ตำบลปากน้ำประแส อำเภอกะลา จังหวัดระยอง โดยเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง (ฤดูแล้งและฤดูฝน)  
จากนั้นนำไปคัดแยกเชื้อพร้อมทั้งจัดจำแนกทรอสโทโคตริคส์ตามลักษณะสัณฐานวิทยา ชีวมวล  
และ ปริมาณกรดไขมัน

### **สถานที่ทำการทดลอง**

ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ทรอสโทไคทริคส์ (thraustochytrids)

การจัดจำแนกทรอสโทไคทริคส์ในปี 1973 Sparrow ได้จัดอยู่ในกลุ่ม oomycetes อาณาจักร stramenopila เนื่องจากมีชูโอสปอร์มีลักษณะคล้ายเมล็ดถั่ว มีขนาดตั้งแต่ 20-200  $\mu\text{m}$  และมีแฟลกเจลลา 2 เส้น ท่อลึกลับบางส่วนเมื่อเจริญพันธุ์พัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ มีเส้นใย เอกโตพลาสติกเป็นร่างแหภายนอกเซลล์ สร้างโดยส่วนที่เรียกว่าซาจิโนเจน สปอร์แรงเจียมผลิตชูโอสปอร์ ไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการพืักตัว (Alderman, Harrison, Bremer & Jones, 1974) ต่อมาได้มีการจัดวางตำแหน่งทางอนุกรมวิธานของทรอสโทไคทริคส์ตามสายวิวัฒนาการ โดยอาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 18S ribosomal RNA gene จัดให้อยู่ใน kingdom chromista ในประเภท heterokont หรือ stramenopiles เช่นเดียวกับสาหร่ายสีน้ำตาล ราน้ำ และ ไดอะตอม เป็นต้น (Cavalier-Smith, Allsopp, & Chao, 1994 อ้างถึงใน รุจิราลัย พูลทวี, 2550) มีสมาชิก 11 จีนัส ได้แก่ *Botryochytrium*, *Schizochytrium*, *Oblongichytrium*, *Ulkenia*, *Parietichytrium*, *Sicyoidochytrium*, *Aplanochytrium*, *Althonia*, *Japonochytrium*, *Thraustochytrium* และ *Aurantiochytrium* (Marchan et al., 2017)

อนุกรมวิธานของทรอสโทไคทริคส์ (Honda, 2001)

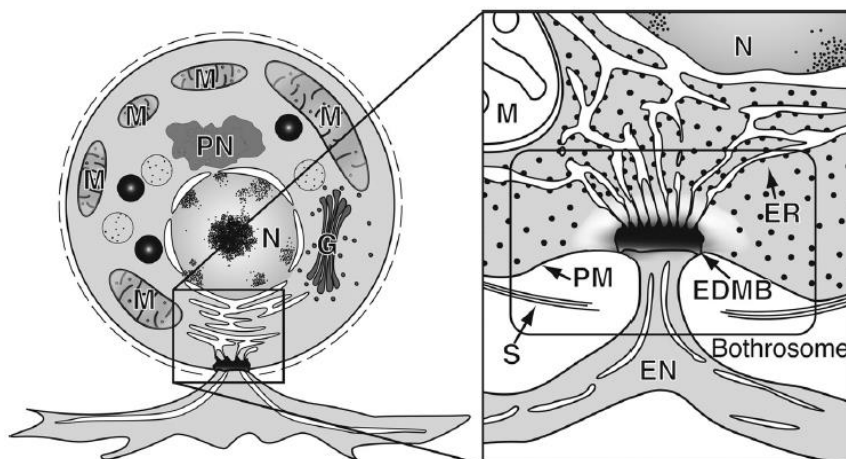
Kingdom	Chromista
Phylum	Sagenista
Class	Labyrinthula
Order	Labyrinthulales
Family	Thraustochytriaceae



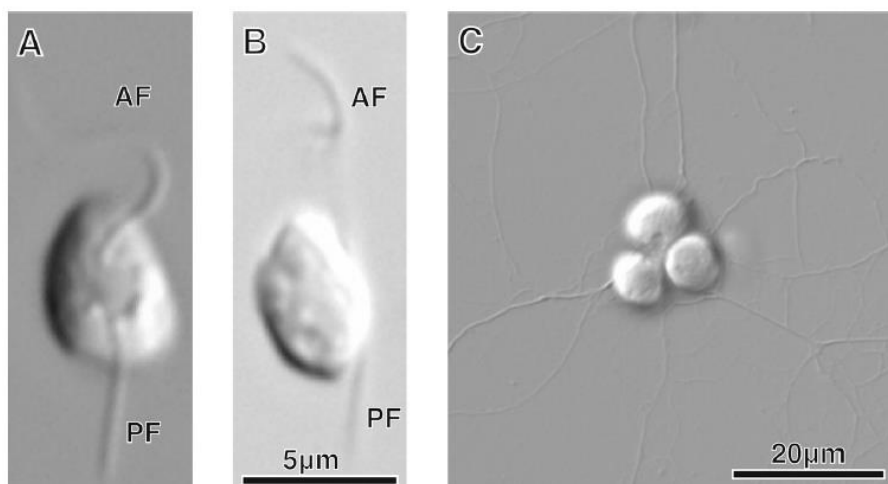
## ลักษณะทั่วไปของทรอสโทโคตริคส์

ทรอสโทโคตริคส์มีลักษณะเด่น คือ เซลล์มีลักษณะกลมเดี่ยว ๆ และมีตาข่ายที่แตกแขนง ออกภายนอกเซลล์เพื่อไปยึดติดกับพื้นผิว เรียกว่าเส้นใยเอกโตพลาสมิก (ectoplasmic net) ใช้ สำหรับย่อยและดูดซึมสารอาหารโดยปล่อยเอนไซม์ เช่น ไลเปส เซลลูเลสและโคติเนส ออกมาย่อย สลายสารอินทรีย์ (Nagano et al., 2011) เส้นใยเอกโตพลาสมิกสร้างโดยส่วนที่เรียกว่า bothrosome หรือ Sagenogen (Iwata et al., 2017) (ภาพที่ 2-1)

ทรอสโทโคตริคส์มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (anexual reproduction) คือชูโอสปอร์ แรงเจียมที่เจริญมาจากทาลัส ขนาดของชูโอสปอร์แรงเจียมอาจมีขนาดเล็กเพียง 5 ไมโครเมตรถึง ขนาดใหญ่ 120 ไมโครเมตร จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีผนังเซลล์บางหรือบางชนิดสามารถพัฒนาเป็นเกิลล์ที่ ได้จากกอลจิบอดี ทรอสโทโคตริคส์จะสร้างชูโอสปอร์ ซึ่งชูโอสปอร์มีรูปร่างคล้ายรูปถั่ว มีแฟลกเจลลาสองเส้น เส้นที่มีลักษณะแบนเรียบทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่ย้อนกลับ และเส้นแบบ ทินเซล มีความยาวกว่าแบบเรียบทำหน้าที่ในการว่ายน้ำไปข้างหน้า (Porter, 1989 อ้างถึงใน สมถวิล จริตควร, สุภารัตน์ สวนจิตร และวิญญิต มั่นทะจร, 2549) (ภาพที่ 2-2)



ภาพที่ 2-1 โครงสร้างทรอสโทโคตริคส์; EN, ectoplasmic net; ER, endoplasmic reticulum; G, golgi body; M, mitochondria; N, nucleus; PM, plasma membrane; PN, paranuclear body; S, Scales; EDMB, electron-dense material of the bothrosome (Iwata et al., 2017)



ภาพที่ 2-2 ชูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลา 2 เส้นของ *Schizochtrium aggregatum* ; A, ด้านหน้าชูโอสปอร์; B, ด้านข้างชูโอสปอร์; C, เซลล์ปกติที่มีเส้นใยเอกโตพลาสติก; AF, anterior flagellum; PF, posterior flagellum (Iwata et al., 2017)

#### ความสำคัญของทรอสโทโคตริคส์ในระบบนิเวศ

ทรอสโทโคตริคส์มีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศป่าชายเลน โดยทำหน้าที่เป็นผู้ย่อยสลายขั้นต้นในการย่อยสลายสารอินทรีย์ต่าง ๆ ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มสารอาหารให้แก่ระบบนิเวศป่าชายเลน จึงมักพบทรอสโทโคตริคส์อยู่บนสาหร่ายที่กำลังย่อยสลาย ซากใบไม้ ซากพืช หรือดินตะกอนชายเลน แต่ในบางครั้งอาจเปลี่ยนไปเป็นปรสิตในสาหร่ายขนาดใหญ่ พืชน้ำ และสัตว์น้ำได้ เช่น หมึก และหอย (รุจิราลัย พูลทวิ, 2550)

## สกุลของทรอสโทโคตริคัส

Marchan et al. (2017) รายงานว่าในปัจจุบันพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 11 จินัส ดังนี้

### 1. *Thraustochytrium*

จินัส *Thraustochytrium* ปัจจุบันมี 15 สปีชีส์ ลักษณะเด่นคือ มีผนังกันภายใน

ซูโอสปอร์แรงเจียม เรียกว่าพอลิพอร์สบอดี (proliferous body) บางชนิดมีหนึ่งพอลิพอร์ส บางชนิดมีหลายพอลิพอร์ส บางชนิดอาจไม่มีเลย ส่วนที่สัณฐานมีรูปร่างกลมขนาดเล็ก ผนังเซลล์หลายชั้น การปล่อยซูโอสปอร์พบว่าผนังเซลล์สลาย หรือเกิดจากการขยายตัวภายในเซลล์แม่ ทำให้ผนังเซลล์แตกออก หลังจากปล่อยแล้วส่วนที่เหลือยังคงอยู่ และขยายตัวกลายเป็นสปอร์แรงเจียมขึ้นมาใหม่

### 2. *Japonochytrium*

จินัส *Japonochytrium* เป็นจินัสที่คล้ายกับ *Thraustochytrium* ชนิดที่ไม่มีพอลิพอร์ส พวกนี้มีที่ลัทธิรูปร่างกลม ส่วนล่างยึดติดกับซับสเตรท โดยส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสมีมีลักษณะบวมพอง ส่วนลักษณะเด่นของสกุลนี้คือการปล่อยซูโอสปอร์เกิดจากรูหรือช่องว่างของซูโอสปอร์แรงเจียมอีกขาด

### 3. *Schizochytrium*

จินัส *Schizochytrium* มีที่ลัทธิรูปร่างกลม อาจอยู่เป็นเดี่ยวๆ หรือหลายๆ เซลล์รวมกันเป็นกลุ่ม ผนังเซลล์บาง มีส่วนของเส้นใยเอกโตพลาสมีที่พัฒนาโดยใช้ยึดเกาะกับซับสเตรท มีการแบ่งตัวของสปอร์แรงเจียมจาก 2 ส่วนเป็น 4 ส่วน (binary division) และเซลล์ปกติพัฒนาเป็นซูโอสปอร์ สามารถผลิตซูโอสปอร์ได้ถึง 64 ซูโอสปอร์ ที่มีรูปร่างรี และรูปร่างคล้ายไต ซึ่งซูโอสปอร์มีขนาดได้ถึง 140 ไมโครเมตร โคลนินของ *Schizochytrium* มีสีเหลืองอ่อน เนื่องจากมีการผลิตเบตาแคโรทีน ( $\beta$ -carotene)

### 4. *Oblongichytrium*

จินัสนี้แยกมาจาก *Schizochytrium* เนื่องจากมีรูปแบบและรูปร่างที่คล้ายกัน ลักษณะที่ลัทธิมีรูปร่างกลม ผนังเซลล์บาง เซลล์ขนาดใหญ่ และมีการแบ่งเซลล์แบบ binary division เส้นใยเอกโตพลาสมีพัฒนาดี ซูโอสปอร์มีลักษณะคล้ายรูปไข่ มีแฟลกเจลลา 2 เส้น ซูโอสปอร์จะปล่อยเฉพาะเมื่อมีการถ่ายโอนสปอร์แรงเจียมไปสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ มีการผลิตเบตาแคโรทีน และ

แคนตาแซนทิน (canthaxanthin)

#### 5. *Aurantiochytrium*

จิ้นส์นี้เป็นสกุลที่แยกมาจาก *Schizochytrium* เช่นกัน สกุลนี้มีรูปร่างกลม ผนังเซลล์บาง เซลล์มีการแบ่งแบบ binary division ชูโอสปอร์มีรูปร่างคล้ายกับสกุล *Schizochytrium* เซลล์ปกติกระจายตัวเป็นเซลล์เดี่ยว ส่วนเส้นใยเอกโตพลาสติกนั้นไม่พัฒนา โคลโลนิมีลักษณะเล็กและมีการผลิตแอสตาแซนทิน (astaxanthin) ฟีนีโคแซนธิน (phoenicoxanthin) แคนตาแซนทิน (canthaxanthin) และเบตาแคโรทีน

#### 6. *Ulkenia*

ลักษณะเด่นของจิ้นส์นี้คือมีระยะของอะมิบอยด์เซลล์ซึ่งจะปรากฏขึ้นหลังจากมีการแบ่งตัวแบบ binary division อะมิบอยด์เซลล์จะแบ่งตัว และพัฒนาเป็นชูโอสปอร์แรงเจียมหรือเป็นอะพลาโนสปอร์ บางชนิดสามารถพัฒนาเป็นชูโอสปอร์ในขณะที่อยู่ในระยะอะมิบอยด์เซลล์ ชูโอสปอร์หรืออะพลาโนสปอร์มีการแบ่งตัวแบบ binary division ลักษณะเด่นของจิ้นส์นี้คือเส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนา โคลโลนิมีขนาดเล็ก ทลัสต์มีรูปร่างกลม หรือค่อนข้างกลม และคล้ายรูปแพร์ มีการผลิตแอสตาแซนทิน ฟีนีโคแซนธิน เอกไคโนโอน (echinenone) และเบตาแคโรทีน

#### 7. *Sicyodochytrium*

จิ้นส์นี้มีลักษณะคล้าย *Ulkenia* มีโคลโลนิขนาดเล็ก หลังจากปล่อยชูโอสปอร์ผนังเซลล์จะหายไป protoplast จะฟอร์มตัวเป็นชูโอสปอร์และพัฒนาเป็นสปอร์แรงเจียม ลักษณะเด่นของจิ้นส์นี้คือขั้นตอนสุดท้ายของการแบ่งตัวของชูโอสปอร์และไม่นานหลังจากปล่อยชูโอสปอร์แล้ว มีเซลล์บางอันติดอยู่กับเซลล์อื่นทำให้มีรูปร่างคล้ายคัมเบล การแบ่งตัวของจิ้นส์นี้จะเป็นการแบ่งตัวแบบบิตและคิงตัว ในจิ้นส์นี้มีการผลิตแคนตาแซนทิน เอกไคโนโอน และเบตาแคโรทีน

#### 8. *Botryochytrium*

จิ้นส์ *Botryochytrium* เป็นจิ้นส์ที่แยกมาจาก *Ulkenia* มีโคลโลนิขนาดกลาง เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี ในระยะเจริญพันธุ์ ผนังเซลล์จะหายไปหลังจากปล่อยชูโอสปอร์ และ protoplast จะกลายเป็นชูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างคล้ายของุ่นก่อนจะแบ่งตัว ชูโอสปอร์แรงเจียมมีรูปร่างคล้ายดาวก่อนการก่อตัวเป็นชูโอสปอร์ มีการแบ่งตัวแบบบิตและคิงตัว พบการผลิตแคนตาแซนทิน ฟีนีโคแซนธิน เอกไคโนโอน และเบตาแคโรทีน

### 9. *Parietichytrium*

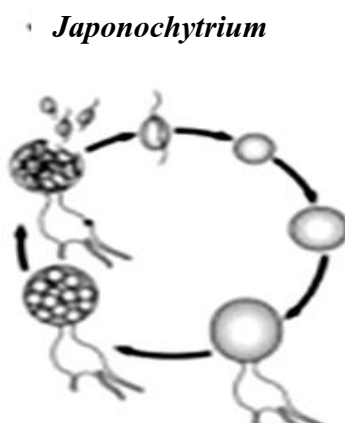
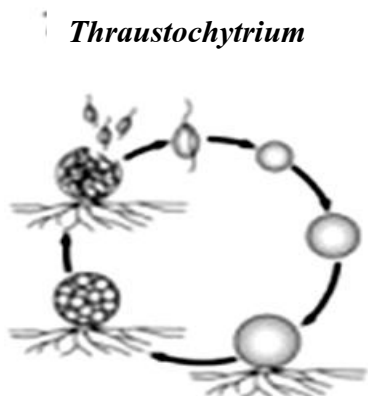
จีโนม *Parietichytrium* มีลักษณะคล้ายจีโนม *Botryochytrium* และ *Ulkenia* เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี protoplast มีรูปร่างคล้ายดาวก่อนที่จะปล่อยชูโอสปอร์ ผนังเซลล์ยังคงอยู่ หลังจากปล่อยชูโอสปอร์ พบการผลิตของเบตาแคโรทีน

### 10. *Monorhizochytrium*

จีโนม *Monorhizochytrium* เป็นจีโนมล่าสุด ซึ่งก่อนหน้านี้ถูกจัดอนุกรมวิธานเป็น *Thraustochytrium globosum* ชนิดไม่มีพลอร์ฟอรัส เนื่องจากมีวงชีวิตคล้ายกัน การเจริญของเซลล์ปกติที่อายุน้อยพัฒนาเป็นชูโอสปอร์แรงเจียม อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาวิวัฒนาการและวงจรชีวิตไม่มากนัก และยังไม่มีการศึกษากรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนและแคโรทีนอยด์

### 11. *Althornia*

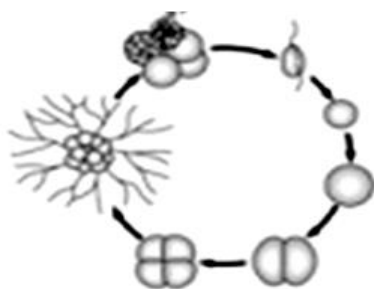
จีโนม *Althornia* มีการสร้างชูโอสปอร์คล้ายกับ *Thraustochytrium* มีความแตกต่างจากจีโนมอื่นคือไม่มีเส้นใยเอกโตพลาสติก เซลล์รูปร่างกลมไม่ลงเกาะซับซ้อน จะล่องลอยเป็นอิสระ ผนังเซลล์เป็นเกล็ด จีโนมนี้ถูกจัดจำแนกโดยวิธีการทางพันธุศาสตร์โมเลกุล โดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 18S rDNA อย่างเดียว ต่อมาเมื่อมีการจัดจำแนกใหม่ สกุลนี้จึงจัดอยู่ในจีโนม *Thraustochytriidae sensu stricto* เพื่อรอการพิจารณาจัดจำแนกตำแหน่งทางอนุกรมวิธานที่เหมาะสมต่อไป



*Schizochytrium*

*Oblongichytrium*

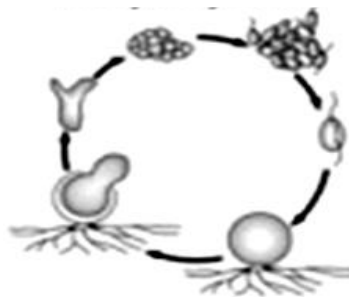
*Aurantiochytrium*



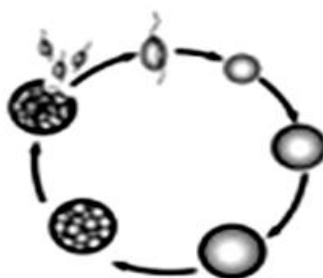
*Ulkenia, Parietichytrium*

*Sicyoidochytrium*

*Botryochytrium*



*Althonia*



ภาพที่ 2-3 วัฏจักรชีวิตของทรอสโทโคตริคส์จิ้นัสต่างๆ ([http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life\\_history.html](http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life_history.html) สืบค้นเมื่อ 22 กรกฎาคม 2561)

## วัฏจักรชีวิต (life cycle)

ทรอสโทโคคิซิสแต่ละจีโนส มีวัฏจักรชีวิตดังนี้ ([http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life\\_history.html](http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life_history.html) สืบค้นเมื่อ 22 กรกฎาคม 2561)

### 1. จีโนส *Thraustochytrium*

ชูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้น จากนั้นจะสลัดแฟลกเจลลาทิ้งและลงเกาะกับ  
ชั้นเสตรท พัฒนาเป็นเซลล์ปกคิมิรูปร่างกลม มีขนาดใหญ่ขึ้น สร้างเส้นใยเอกโตพลาสติก และเข้าสู่  
ระยะชูโอสปอร์แรงเจียมที่มีชูโอสปอร์อยู่ภายใน และปล่อยชูโอสปอร์ (ภาพที่ 2-3)

### 2. จีโนส *Japonochytrium*

ชูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้น จากนั้นจะสลัดแฟลกเจลลาทิ้งและลงเกาะกับ  
ชั้นเสตรท พัฒนาเป็นเซลล์ปกคิมิรูปร่างกลม มีขนาดใหญ่ขึ้น สร้างเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มี  
ลักษณะบวมพอง และเข้าสู่ระยะชูโอสปอร์แรงเจียมที่มีชูโอสปอร์อยู่ภายใน และปล่อยชูโอสปอร์  
(ภาพที่ 2-3)

### 3. จีโนส *Schizochytrium*, *Oblongichytrium* และ *Aurantiochytrium*

ชูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้น จากนั้นจะสลัดแฟลกเจลลาทิ้งและลงเกาะกับ  
ชั้นเสตรท พัฒนาเป็นเซลล์ปกคิมิรูปร่างกลม มีขนาดใหญ่ขึ้น เริ่มการแบ่งตัวแบบ binary division  
จากนั้นเข้าสู่ระยะชูโอสปอร์แรงเจียมที่มีชูโอสปอร์อยู่ภายใน และปล่อยชูโอสปอร์ (ภาพที่ 2-3)

### 4. จีโนส *Ulkenia*, *Parietichytrium*, *Sicyoidochytrium* และ *Botryochytrium*

โอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้น จากนั้นจะสลัดแฟลกเจลลาทิ้ง สร้างเส้นใย  
เอกโตพลาสติก เข้าสู่ระยะอะมิบอยด์เซลล์ พัฒนาเป็นระยะชูโอสปอร์แรงเจียมที่มีชูโอสปอร์อยู่  
ภายใน และปล่อยชูโอสปอร์ (ภาพที่ 2-3)

### 5. จีโนส *Althonia*

ชูโอสปอร์ที่มีแฟลกเจลลาสองเส้น จากนั้นจะสลัดแฟลกเจลลาทิ้ง และจะลอยไปเรื่อย ๆ  
ไม่มีระยะลงเกาะจากนั้นเข้าสู่ระยะชูโอสปอร์แรงเจียมที่มีชูโอสปอร์อยู่ภายใน และปล่อย  
ชูโอสปอร์ (ภาพที่ 2-3)

## 6. จินัส *Monorhizochytrium*

เป็นจินัสล่าสุด มีวัฏจักรชีวิตคล้าย *Thraustochytrium* เนื่องจากก่อนหน้านี้อาจจัดอนุกรมวิธานเป็น *Thraustochytrium globosum* มีการเจริญของเซลล์ปกติภายในชูโอสปอร์แรงเจียม แต่ไม่มีผนังภายในชูโอสปอร์แรงเจียม อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาวิวัฒนาการ และวงจรชีวิตไม่มากนัก

## ป่าชายเลน

ป่าชายเลน (mangrove forest หรือ intertidal forest) เป็นระบบนิเวศที่อยู่ในแนวเชื่อมต่อระหว่างแผ่นดินกับน้ำทะเลพบในเขตร้อน (tropical) และกึ่งร้อน (subtropical) ประกอบด้วยพืชและสัตว์หลากหลายชนิด ดำรงชีวิตร่วมกันภายใต้สภาพแวดล้อมที่เป็นดินเลนน้ำกร่อย มีน้ำทะเลท่วมถึงอย่างสม่ำเสมอ ป่าชายเลนพบได้ในบริเวณที่เป็นชายฝั่งทะเล ปากแม่น้ำ อ่าว ทะเลสาบ และรอบเกาะต่าง ๆ ในพื้นที่ชายฝั่งทะเล สภาพแวดล้อมโดยทั่วไปของป่าชายเลนมีความแตกต่างอย่างมากจากป่าชนิดอื่น ๆ โดยเฉพาะดินในป่าชายเลนมีความอุดมสมบูรณ์สูงจากธาตุอาหารที่มาจากกากัดเซาะตามชายฝั่ง แหล่งน้ำลำธาร สารอินทรีย์จากซากพืชซากสัตว์ในบริเวณป่าชายเลน โดยเฉพาะใบไม้ที่ร่วงหล่นทับถมกันเป็นจำนวนมาก น้ำมีระดับความเค็มเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาตามระดับน้ำที่ขึ้นลงและปริมาณน้ำจืดไหลมาจากแม่น้ำลำคลอง

ในระบบนิเวศป่าชายเลนพบทั้งสิ่งไม่มีชีวิตและสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีความสัมพันธ์ที่ซับซ้อนระหว่างกัน ทั้งในแง่การหมุนเวียนของธาตุอาหาร และการถ่ายทอดพลังงาน แต่สามารถอธิบายง่าย ๆ ได้ว่าเมื่อผู้ผลิต คือพืช เจริญเติบโตด้วยการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่วนของต้นไม้ โดยเฉพาะใบไม้ กิ่งไม้และเศษไม้ จะร่วงหล่นทับถมในน้ำและดิน ซึ่งต่อมาถูกย่อยสลายโดยผู้ย่อยสลาย กลายเป็นอินทรีย์วัตถุ ซึ่งเป็นอาหารของผู้บริโภคกลุ่มที่กินอินทรีย์สาร เมื่อกลุ่มนี้เจริญเติบโต จึงกลายเป็นแหล่งอาหารของสัตว์น้ำเล็ก ๆ และสัตว์เหล่านี้เจริญเติบโตขึ้นกลายเป็นอาหารของพวก กุ้ง ปู และปลาขนาดใหญ่ขึ้นไปเรื่อย ๆ ตามลำดับ พันธุ์ไม้รู้จักกันทั่วไปในป่าชายเลนได้แก่ โกงกางใบใหญ่ โกงกางใบเล็ก แสม พังกาหัวสุม ลำพูทะเลลำแพน และตะบูน โดยพืชในป่าชายเลนสามารถปรับตัวให้เข้ากับปัจจัยสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดีเช่น ดินที่เป็นดินเลน ความเค็มของน้ำทะเล การระบายน้ำและการท่วมถึงของน้ำทะเล ฯลฯ จึงทำให้พืชในป่าชายเลนมีการแบ่งเขตกันอย่างชัดเจนโดยพิจารณาจากการขึ้นของกลุ่มไม้เด่นซึ่งชอบขึ้นเฉพาะตามปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้นพบว่าเขตนอกสุดที่ติดริมฝั่งแม่น้ำจะมีทั้ง โกงกางใบใหญ่และ โกงกางใบเล็ก ถัดเข้าไปเป็นเขตของต้นแสมและถั่ว ถัดจากกลุ่มนี้เป็นตะบูนและตามด้วย โปรงและฝาด และเขตสุดท้ายเป็นแนวต่อ



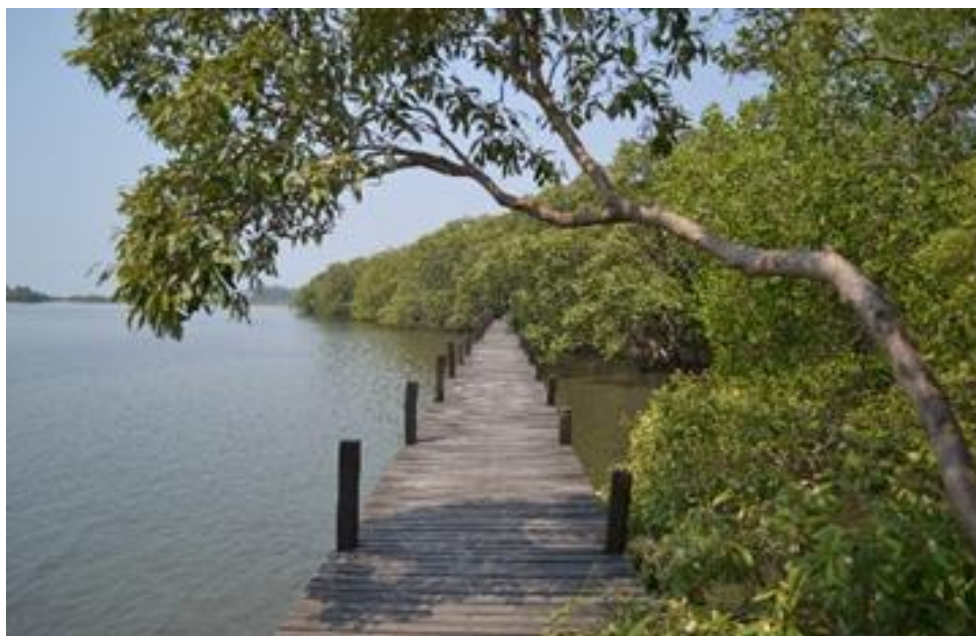
ระหว่างป่าชายเลนกับป่าบกจะมีกลุ่มเสม็ดขึ้นอยู่ (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2556)

### พื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทย

ป่าชายเลนในประเทศไทยกระจายอยู่ตามชายฝั่งทะเลภาคตะวันออก ภาคกลาง และภาคใต้ จากข้อมูลป่าชายเลนปี พ.ศ. 2559 พบว่า พื้นที่ป่าชายเลนตามมติคณะรัฐมนตรี และป่าชายเลนตามสภาพมีเนื้อที่ประมาณ 2.84 ล้านไร่ แยกเป็นพื้นที่คงสภาพป่าชายเลน 1.53 ล้านไร่ เป็นพื้นที่เปลี่ยนแปลงสภาพ 1.31 ล้านไร่ ซึ่งพื้นที่ป่าชายเลนในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเนื่องจากข้อมูลสถิติพื้นที่ป่าชายเลนของประเทศไทยในช่วง พ.ศ. 2553-2557 เนื่องจากแต่ก่อนพื้นที่ป่าชายเลนถูกบุกรุกและเปลี่ยนแปลงไปใช้ประโยชน์ต่างๆแต่ต่อมามีการรณรงค์ของหน่วยงานภาครัฐ ภาคเอกชน และภาคประชาชนที่ตระหนักถึงคุณค่าและประโยชน์ของป่าชายเลน การอนุรักษ์ป่าชายเลน รวมทั้งการขยายตัวทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะการพัฒนาพื้นที่ชายฝั่งทะเล และการพัฒนาแหล่งท่องเที่ยว ทำให้พื้นที่ป่าชายเลนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ([http://www.onep.go.th/env\\_data/2016/01\\_32/](http://www.onep.go.th/env_data/2016/01_32/) สืบค้นเมื่อ 29 มิถุนายน 2561)

### ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

ตั้งอยู่หมู่ที่ 7 ตำบลปากน้ำประแส อำเภอแกลง จังหวัดระยอง พิกัดจีพีเอส 12.699392, 101.705392 ป่าชายเลนทุ่งโปรงทองมีเนื้อที่กว่า 6,000 ไร่ มีพื้นที่ติดกับชุมชน เป็นแหล่งอนุบาลสัตว์น้ำ และมีพันธุ์ไม้หลากหลาย อาทิ โกงกาง โปรงแดง โปรงทอง ลำพู ตะบูนดำ แสม เป็นต้น เป็นแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติที่สามารถศึกษาความหลากหลายของสัตว์ และพรรณไม้ อีกทั้งยังเป็นแหล่งอนุบาลของสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง หอย ปู แสม ปูก้ามดาบ ปลาตีน เป็นต้น (<http://www.gi-cbt.buu.ac.th/about.php> สืบค้นเมื่อ 5 กรกฎาคม 2561)



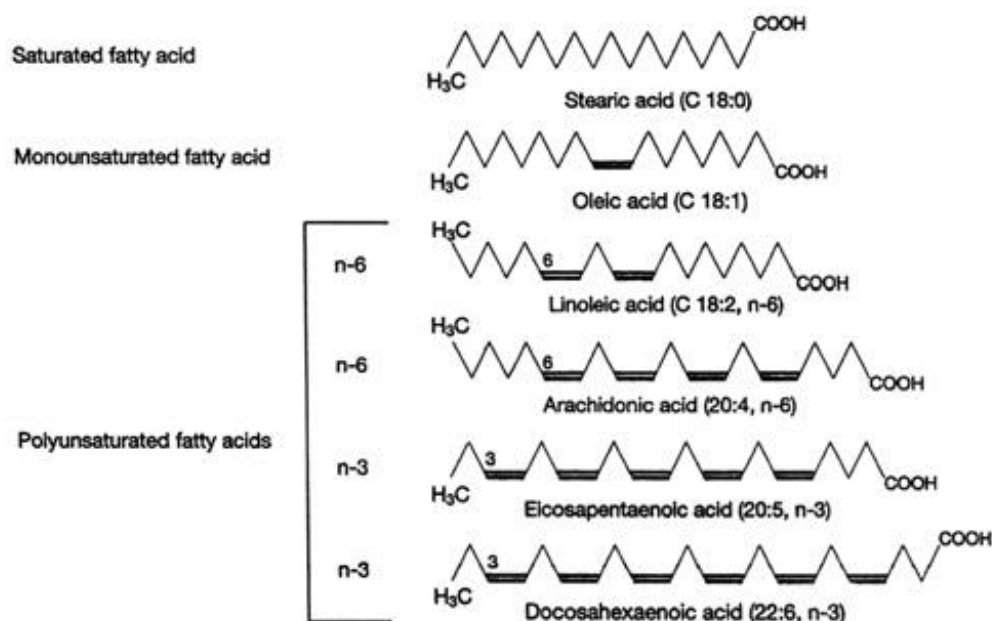
ภาพที่ 2-4 ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

## กรดไขมัน (fatty acid)

กรดไขมันเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (carboxylic acid) เป็นกรดอินทรีย์ ซึ่งโมเลกุลของกรดไขมันประกอบไปด้วยหมู่คาร์บอกซิล ( $\text{COOH}$ ) ต่อกับไฮโดรคาร์บอนสายยาว กรดไขมันในอาหาร มีจำนวนคาร์บอนเป็นเลขคู่ ประมาณ 4-24 อะตอม กรดไขมันในธรรมชาติส่วนใหญ่ไม่พบกรดไขมันในรูปของกรดไขมันอิสระ (free fatty acid) แต่พบกรดไขมันเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ น้ำมัน ไขมันทั้งจากพืชและสัตว์ (พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์, 2547) การจำแนกกรดไขมันตามโครงสร้างทางเคมี แบ่งได้ 2 ประเภทคือ

### 1. กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid)

กรดไขมันอิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ในห่วงโซ่คาร์บอน มีโมเลกุลสายโซ่คาร์บอนสั้น มีจุดหลอมเหลวสูง พบมากในอาหารจำพวกไขมันสัตว์ น้ำมันมะพร้าว น้ำมันปาล์ม และเนย ตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดลอริก (lauric acid,  $\text{C}_{12:0}$ ) กรดปาล์มิติก (palmitic acid) และกรดสเตียริก (stearic acid) เป็นต้น (ภาพที่ 2-5)



ภาพที่ 2-5 โครงสร้างของกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว (Harper & Jacobson, 2003)

ตารางที่ 2-1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวในน้ำมันและอาหารประเภทต่าง ๆ (<http://tpadoctor.blogspot.com/2016/06/> สืบค้นเมื่อ 22 มิถุนายน 2561)

กรดไขมันไม่อิ่มตัว	สูตรโครงสร้าง	จำนวนพันธะคู่	แหล่งอาหาร
กรดปาล์มมิโทเลอิก	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	1	เนย
กรดโอเลอิก	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	1	น้ำมันมะกอก
กรดไลโนเลอิก	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	2	น้ำมันลินซีด
กรดไลโนเลนิก	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	3	น้ำมันลินซีด
กรดอะราชิโดนิก	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=(\text{CHCH}_2\text{CH})_3=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	4	เลซิทิน

## 2. กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นกรดไขมันที่มีสายคาร์บอนยาว 18-22 อะตอม มีพันธะคู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 1-6 คู่ มีโมเลกุลสายโซ่คาร์บอนยาว ไขมันกลุ่มนี้มีจุดหลอมเหลวต่ำซึ่งจุดหลอมเหลวของกรดไขมันแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับจำนวนพันธะคู่ ตำแหน่งของพันธะคู่ และจำนวนคาร์บอนของอะตอม (เวียง เชื้อโพธิ์หัก, 2543) กรดไขมันไม่อิ่มตัวส่วนใหญ่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีกรดไขมันบางชนิดที่ร่างกายสัตว์ไม่สามารถสังเคราะห์เองได้ ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น กรดไขมันไม่อิ่มตัวแบ่งตามจำนวนพันธะคู่มี 2 ประเภท คือ

2.1 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (monounsaturated fatty acid, MUFA) เป็นกรดไขมันที่มีธาตุของคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่เพียง 1 ตำแหน่ง เช่น กรดปาล์มมิโทเลอิก (palmitoleic acid) กรดโอเลอิก (oleic acid) พบได้ในน้ำมันมะกอก (ตารางที่ 2-1) น้ำมันรำข้าว น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันดอกคำฝอย เป็นต้น

### 2.1.1 ประโยชน์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว

กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวช่วยลดระดับโคเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ปกติโคเลสเตอรอลไม่สามารถละลายได้ในเลือด และจับตัวเป็นก้อนตกตะกอนอยู่ในเส้นเลือด เลซิตินเป็นไขมันที่มีกรดไขมันมีประโยชน์ ช่วยทำหน้าที่เป็นตัวประสานให้ไขมันหรือโคเลสเตอรอล และน้ำรวมตัวกันได้ ทำให้ไขมันหรือโคเลสเตอรอลไม่เกาะติดกับผนังเส้นเลือด และเกิดการอุดตันซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหัวใจ นอกจากนี้เลซิตินยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านอื่น ๆ เช่น ช่วยสลายนิ่วที่เกิดจากโคเลสเตอรอลในถุงน้ำดี และป้องกันไม่ให้เกิดนิ่ว ทำให้เส้นเลือดไม่อุดตัน ไม่เป็นโรคสมองเสื่อม โรคพาร์กินสันส์ ช่วยบำบัดโรคตับ และป้องกันไม่ให้ตับทำงานผิดปกติ ลดการเสื่อมของหลอดเลือดแดง

2.2 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid, PUFA) เป็นกรดไขมันที่มีธาตุของคาร์บอนต่อกันด้วยพันธะคู่มากกว่า 2 ตำแหน่งขึ้นไป เช่นกรดไลโนเลอิก (linoleic acid) กรดไลโนเลนิก (linolenic acid) ซึ่งพบในน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันข้าวโพด น้ำมันงา นอกจากนี้ยังพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในไขมันปลา ได้แก่ กรดไขมันอีพีเอ และดีเอชเอ

### 2.2.1 ประโยชน์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน

ปัจจุบันกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนได้เข้ามามีบทบาทสำคัญทางการแพทย์ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมากขึ้น เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ช่วยควบคุมอาการของโรค เช่น ลดอาการอักเสบ (inflammation) ที่เกิดจากโรคต่าง ๆ เช่น โรคไขข้ออักเสบ (arthritis) โรคเบาหวาน (diabetes) โรคมะเร็ง (cancer) ช่วยป้องกันและบรรเทาโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (cardiovascular disease) ได้แก่ กรดไดโฮโม-แกมมา-ไลโนเลนิก (dihomo- $\gamma$ -linolenic acid, DHGLA), arachidonic acid และ eicosapentaenoic acid จัดเป็นสารตั้งต้น (precursors) ของ

eicosanoids (prostaglandins, leukotrienes, thromboxanes) ในร่างกายซึ่งมีผลต่อระบบการทำงานต่างๆ ภายในร่างกาย เช่น ระบบหลอดเลือดและหัวใจ (cardiovascular system) ระบบการขนส่งสารผ่านเส้นเลือด (vascular permeability) กลไกการแข็งตัวของเลือด (blood clotting) การส่งผ่านของสารสื่อประสาท (neurotransmission) กระบวนการเมแทบอลิซึมของไขมัน (cholesterol metabolism) กลไกการอักเสบ (inflammation) และระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) ดังนั้นจึงมีผลช่วยควบคุมอาการของโรคเรื้อรังต่าง ๆ ได้ (Gunstone, Harwood, & Padley, 1994; Chow, 1992; Simopoulos, 1991; Bracco & Deckelbaum, 1992; Holman, 1986)

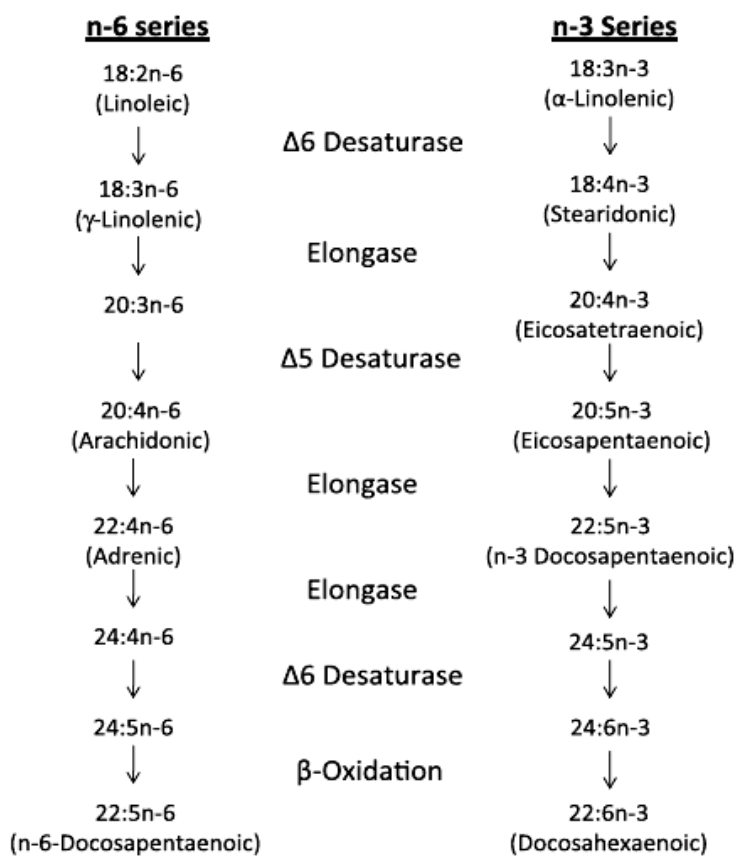
สำหรับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนสามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

2.2.1 กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า-9 กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดโอลินิก (18:1n-9) พบใน น้ำมันหมู น้ำมันวัว น้ำมันมะกอก น้ำมันคาโนลา อะโวคาโด เนยถั่ว อัลมอนต์ วอลนัท เมล็ดงา และเมล็ดมะม่วงหิมพานต์ เป็นต้น

2.2.2 กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า-6 เป็นกรดไขมันจำเป็นที่ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ แต่ได้รับจากการรับประทานอาหาร กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลินิก (18:2n-6) บทบาทของกรดไขมันโอเมก้า-6 คือ รักษาโครงสร้างของเซลล์ผิวหนังและเยื่อต่างๆ ไม่ให้ผ่านเข้าออกมากเกินไป ทำให้เลือดแข็งตัว (thromboxane) ช่วยละลายลิ่มเลือด (prostacyclin) และช่วยเพิ่มน้ำหนักร่างกายในทารกแรกเกิด พบในเนื้อสัตว์ ปลา น้ำมันถั่วเหลือง เมล็ดธัญพืช ดอกทานตะวัน ข้าวโพด เป็นต้น (ภาพที่ 2-6)

2.2.3 กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า-3 จัดเป็นกรดไขมันจำเป็น ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้ กรดไขมันกลุ่มนี้มีสารตั้งต้นเป็นกรดไลโนลินิก (18:3n-3) บทบาทของกรดไขมันโอเมก้า-3 ช่วยลดการอักเสบที่เกิดขึ้นที่ผิวหนังข้อต่อ ช่วยลดไขมันไตรกลีเซอไรด์ ลดการเกาะตัวของเกล็ดเลือดทำให้เลือดไหลเวียนดีขึ้น ลดความเสี่ยงโรคหัวใจ ป้องกันความเสื่อมของสมอง กรดไขมันโอเมก้า-3 พบมากในเนื้อปลา ส่วนที่พบในพืชเรียกว่า กรดแอลฟาไลโนลินิก (alpha-linolenic acid; ALA) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของกรดไขมันอีพีเอ และดีเอชเอ ซึ่งพบในเมล็ดเชีย ถั่ววอลนัท (ภาพที่ 2-6) (อัจฉรา นิยมเดชา และคณะ, 2556)

นอกจากนี้ กรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 20 อะตอมขึ้นไป และที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 3 คู่หรือมากกว่านั้น เรียกว่า (highly unsaturated fatty acid, HUFA) Nettleton (1985) เช่นกรดไขมันอีพีเอ กรดไขมันดีเอสเอ เป็นต้น (อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ, 2547)



ภาพที่ 2-6 การสังเคราะห์กรดไขมันเชิงซ้อนกลุ่มโอเมก้า-3 และโอเมก้า-6 (Galvani & Garcia, 2014)

## งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ได้ทำการศึกษาความหลากหลาย และการจัดจำแนก ทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนบ้านปากเปร็ดใน จังหวัดตราด ซึ่งสามารถคัดแยกทรอสโทโคตริคส์ได้ทั้งหมด 416 ไอโซเลท จัดจำแนกได้เป็น 2 จีนัส คือ *Schizochytrium* และ *Ulkenia* ดังนี้ จีนัส *Schizochytrium* พบ 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium* sp.1, *Schizochytrium* sp.2, *Schizochytrium* sp.6 และ *Schizochytrium* sp.8 ส่วนจีนัส *Ulkenia* พบ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Ulkenia* sp.1, *Ulkenia* sp.2 และ *Ulkenia* sp.3 นอกจากนี้ยังพบทรอสโทโคตริคส์อีกชนิดที่ยังไม่สามารถจำแนกได้ (unknown 2) และพบจุลินทรีย์ในวงศ์ Labyrinthulaceae อีก 9 ไอโซเลท ซึ่งจัดอยู่ในอันดับเดียวกันกับ ทรอสโทโคตริคส์โดยพบ 1 ชนิด คือ *Labyrinthula* sp. จากการศึกษาพบว่าทรอสโทโคตริคส์แต่ละ ชนิดที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนมีการแพร่กระจายขึ้นอยู่กับชนิดของใบไม้ ส่วนมยุรา ประยูรพันธ์ (2549) ได้คัดแยกทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัด สมุทรปราการจากพรรณไม้ 9 ชนิด พบทรอสโทโคตริคส์ 184 ไอโซเลท และจากการศึกษาพบ ทรอสโทโคตริคส์ 3 ชนิด คือ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium limacinum* และ *Schizochytrium* sp.8 โดย *Schizochytrium mangrovei* เป็นสปีชีส์ที่พบสูงสุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ กรดไขมันพบว่าปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสสูง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 15.41-180.74 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง (8.79-48.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) มีกรดไขมันอีพีเอและเออาร์เอใน ปริมาณต่ำคือ 0.25-7.42 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.15-6.17 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน ทั้งหมด) และ 0.16-3.85 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.09-3.94 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน ทั้งหมด) ตามลำดับ

ต่อมาในปี 2550 จุฬาลักษณ์ จันทบาล และคณะ ได้ศึกษาความหลากหลายของ ทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จากพันธุ์ไม้ 5 ชนิด พบทรอสโทโคตริคส์ 2 จีนัส 893 ไอโซเลท ใบไม้สีน้ำตาลมีความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์ 79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าใบไม้สีเหลือง 49.28 เปอร์เซ็นต์ เดือนพฤศจิกายน มีความถี่ของการพบ ทรอสโทโคตริคส์สูงสุด 69.54 เปอร์เซ็นต์ (334 ไอโซเลท) เดือนกรกฎาคม 64.50 เปอร์เซ็นต์

(318 ไอโซเลท) และเดือนมีนาคม 60 เปอร์เซ็นต์ (241 ไอโซเลท) นอกจากนั้น กนกสิณี ยิ้มยวน (2550) ทำการศึกษาความหลากหลายและกรดไขมันของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จาก ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี จากพรรณไม้ 3 ชนิด ในเดือนพฤษภาคม และเดือน กันยายนพบว่า ทรอสโทโคไตรดส์เดือนกันยายนสูงกว่า (96.11 เปอร์เซ็นต์, 286 ไอโซเลท) เดือน พฤษภาคม (77.22 เปอร์เซ็นต์, 155 ไอโซเลท) โดยในเดือนพฤษภาคมพบ *Schizochytrium limacinum* สูงสุด รองลงมาคือ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium* sp.1, *Thraustochytrid* 1 และ *Schizochytrium* sp.2 ตามลำดับ ในเดือนกันยายนพบ *Schizochytrium limacinum* สูงสุด รองลงมาคือ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium* sp.2, *Ulkenia visurgensis* และ *Schizochytrium* sp.1 ตามลำดับ ในส่วนของปริมาณกรดไขมันพบว่า กรดไขมันดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.98-243.19 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.55-49.47 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) อีกรดไขมันพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.18-6.47 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.08-5.65 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และกรดไขมันเออาร์เอมีค่าอยู่ในช่วง 0.20-9.88 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.10-14.23 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับ คณิษฐา เอี่ยมลออ และคณะ (2553) คัดแยก ทรอสโทโคไตรดส์จากป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาคร พบทรอสโทโคไตรดส์ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium mangrovei* และ *Ulkenia visurgensis* จากการเก็บ ตัวอย่างใบไม้ในเดือนธันวาคม 2550 เมษายน 2551 และสิงหาคม 2551 พบว่าเดือนธันวาคมมีความถี่ของการพบทรอสโทโคไตรดส์สูงสุด รองลงมาคือเดือนสิงหาคมและเดือนเมษายน ตามลำดับ ส่วนทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้ในช่วงเดือนธันวาคม มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงสุด อยู่ใน ช่วง 1.85-77.53 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดไขมันดีพีเอเออาร์เอ และอีพีเอ สำหรับทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้ในเดือนเมษายน มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงสุด อยู่ใน ช่วง 2.28-121.04 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือกรดไขมันดีพีเอเออาร์เอ และอีพีเอ

Bajpai, Bajpai and Ward (1991) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นแหล่งคาร์บอนเมื่อใช้ กลูโคสต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันใน *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304 พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสจาก 5 เปอร์เซ็นต์ เป็น 20 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเพิ่มขึ้น จาก 26 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 270 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นกลูโคสขึ้นอีก ปริมาณ



ดีเอชเอค้อย ๆ ลดลง ต่อมาในปี 1996 Singh, Wilson and Ward รายงานผลของอุณหภูมิต่อการผลิตกรดไขมันดีเอชเอ ใน *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892 โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิระหว่าง 15-35 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราส่วนของกรดไขมันดีเอชเอลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น โดยมีปริมาณดีเอชเอสูงสุดที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส กรดไขมันดีเอชเอมีปริมาณต่ำสุด การลดลงของกรดไขมันดีเอชเอที่อุณหภูมิสูงทำให้กรดไขมัน palmitic acid (16:0), stearic acid (18:0) และ oleic acid (18:1) เพิ่มขึ้น การศึกษาโดยใช้ทรอสโทโคไตรดส์ซึ่งแยกได้จากภูมิภาคต่าง ๆ ของโลก ได้แก่ เขตแอนตาร์กติก เขตอบอุ่น และเขตร้อน พบว่าสามารถเจริญได้ดีที่ความเข้มข้นของน้ำทะเลตั้งแต่ 5-35 เเปอร์เซ็นต์ แต่จะเจริญดีที่สุดที่ความเข้มข้นของน้ำทะเลเท่ากับ 15-35 เเปอร์เซ็นต์ และพบว่า *Schizochytrium limacinum* สายพันธุ์ที่แยกได้จากประเทศญี่ปุ่นไม่สามารถเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีเกลือ หรือมีการเจริญได้เพียงเล็กน้อยจากเกลือที่หลงเหลืออยู่ในต้นเชื้อ (inoculum) เนื่องจากเกิดภาวะขาดแคลนไอออน (ion deficiencies) (Fan, Vrijmoed, & Jones, 2002) สำหรับสมถวิล จริตควร, รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และวิญญิต มั่นทะจิตร (2545) ได้ทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการังจากเกาะมันใน จังหวัดระยอง เกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี ตัวอย่างจากใบหญ้าทะเล อ่าวคุ้งกระเบน จังหวัดจันทบุรี อ่าวมะขามป้อม จังหวัดระยอง อ่าวสัตหีบ และเกาะแสมสาร จังหวัดชลบุรี พบยีสต์จากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณแนวปะการัง 7 ชนิด ส่วนจุลินทรีย์ทะเลในกลุ่มทรอสโทโคไตรดส์ พบ 30 ไอโซเลทจากตัวอย่างน้ำทะเลบริเวณเกาะเต่า ส่วนใบหญ้าทะเลไม่พบจุลินทรีย์ทะเลกลุ่มทรอสโทโคไตรดส์

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อทรอสโทโคไตรดส์สำหรับการผลิตชีวมวลและกรดไขมัน โดยใช้ปัจจัยควบคุมคือ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของน้ำทะเล ความเข้มข้นของกลูโคส และค่าความเป็นกรด-เบส โดยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงคือ ค่าความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากับ 3-5% ความเข้มข้นของน้ำทะเลเท่ากับ 50-60% ค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 6 และอุณหภูมิเท่ากับ 20-30 องศาเซลเซียส (Arafles et al., 2011)

ส่วน Nakazawa et al. (2012) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดไขมันและชีวมวลของ *Aurantichytrium* สายพันธุ์ 4W-1b โดยมีปัจจัยความแตกต่างของอุณหภูมิ และความเข้มข้นของกลูโคส พบว่า ปริมาณการผลิตชีวมวล ไขมันและกรดไขมันจะมีมากที่สุดคือ

อุณหภูมิเท่ากับ 15-25 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากับ 6% กรดไขมันที่พบใน ปริมาณมากคือดีเอชเอ 1.5 กรัมต่อลิตร และ palmitic acid (16:0) 4.8 กรัมต่อลิตร

สมถวิล จิตควร และศุภารัตน์ สวนจิตร (2560) คัดแยกทออสโทโคตริคส์จากหญ้าทะเล ชนิดกุยข่ายเข็ม บริเวณหาดเตยงาม จังหวัดชลบุรี พบทออสโทโคตริคส์สองชนิดคือ

*Oblongichytrium* sp.3 และ *Botryochytrium* sp., ความถี่ของการพบ 25 เปอร์เซ็นต์ และ 1.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีปริมาณชีวมวลเท่ากับ 3.97 กรัมต่อลิตร และ 2.76 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ *Oblongichytrium* sp.3 มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 1.22 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (2.43 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

Unagul et al. (2017) ได้ทำการคัดแยกทออสโทโคตริคส์จากใบไม้ป่าชายเลน หญ้าทะเล และน้ำทะเล บริเวณป่าชายเลนในประเทศไทย 22 แห่ง 12 จังหวัด พบทออสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 7 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium* sp., *Thraustochytrium* sp., *Thraustochytrium* sp., *Parietichytrium sarkarianum*, *Schizochytrium* sp. และ unidentified thraustochytrids วิเคราะห์ปริมาณชีวมวลมีค่าอยู่ในช่วง 0.3-8.9 กรัมต่อลิตร ปริมาณกรดไขมัน ทั้งหมด 2.4-35.6 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด พบกรดไขมันเออาร์เอ เท่ากับ 0.3-8.2 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด กรดไขมันดีพีเอ เท่ากับ 9.7-27.3 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมัน ทั้งหมด และกรดไขมันดีเอชเอ เท่ากับ 14.4-51.7 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

Jaritkhuan and Suanjit (2018) คัดแยกทออสโทโคตริคส์จากใบไม้ป่าชายเลนจังหวัด ชลบุรี พบทออสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 715 ไอโซเลท จำแนกได้ 10 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium limacinum*, *Aurantiochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3 *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7, Unknown 1 และ Unknown 2 มีความถี่ของการพบทออสโทโคตริคส์ 2.50-57.50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับปริมาณชีวมวลพบว่า *Aurantiochytrium limacinum* และ *Aurantiochytrium mangrovei* มี ปริมาณชีวมวลเท่ากับ 9.39-20.71 กรัมต่อลิตร และ 6.88-22.49 กรัมต่อลิตร ในส่วนของกรดไขมัน พบว่า *Aurantiochytrium mangrovei* มีกรดไขมันดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 0.84-31.09 เปอร์เซ็นต์ของ กรดไขมันทั้งหมด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

#### อุปกรณ์เก็บตัวอย่างภาคสนาม

1. เครื่องมือวัดความเค็ม (refractometer) ATAGO S/ MILL-E, ประเทศจีน
2. เครื่องมือวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter) YSI 60, ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. เครื่องมือวัดปริมาณออกซิเจน (DO meter) YSI 85, ประเทศสหรัฐอเมริกา
4. เทอร์โมมิเตอร์
5. ถังพลาสติก
6. สมุดจดบันทึก ปากกา
7. เหล็กเสียบใบไม้

#### สารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1. internal standard ( กรดไขมัน 19:0, nonadecanoic aci) SIGMA , ประเทศเยอรมนี
2. กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) J.T. BAKER, ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. กลูโคส (glucose) AJEX FINECHEM, ประเทศออสเตรเลีย
4. โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate) AJEX FINECHEM, ประเทศออสเตรเลีย
5. บีเอชที (2,6-Di-tert-butyl-p-cresol; BHT) FLUKA, ประเทศสหรัฐอเมริกา
6. เปปโตน (peptone) HIMEDIA, ประเทศอินเดีย
7. เมทานอล (methanol) RCI LABSCAN, ประเทศไทย
8. ยาปฏิชีวนะ (antibiotic)
  - 8.1 เพนนิซิลิน จี (penicillin G) GENERAL DRUGS HOUSE CO., LTD, ประเทศไทย
  - 8.2 สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต (streptomycin sulfite) GENERAL DRUGS HOUSE CO., LTD, ประเทศไทย
9. ยีสต์สกัด (yeast extract) HIMEDIA, ประเทศอินเดีย
10. ู้น (agar)
11. สารละลายฟอสเฟต (phosphate buffered saline)

- 11.1 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) AJEX FINECHEM, ประเทศออสเตรเลีย
- 11.2 ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (dipotassium hydrogen phosphate)  
AJEX FINECHEM, ประเทศออสเตรเลีย
- 11.3 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate)  
AJEX FINECHEM, ประเทศออสเตรเลีย
12. เฮกเซน (hexane) J.T.BAKER, ประเทศสหรัฐอเมริกา
13. standard fatty acid (กรดไขมันมาตรฐาน)

### วัสดุ อุปกรณ์

1. กระดาษกรองชนิด qualitative เบอร์ 1 (filter paper) เส้นผ่านศูนย์กลาง 150 มิลลิเมตร WHATMAN, ประเทศอังกฤษ
2. กระจกฉีดยา (disposable syringe) NIPRO, ประเทศไทย
3. กระจกตวง (graduated cylinder) ขนาด 25, 50, 100 และ 1000 มิลลิลิตร WITEG, ประเทศเยอรมนี
4. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope) ZEISS, ประเทศเยอรมนี
5. กล้องจุลทรรศน์หัวกลับ (inverted microscope) ZEISS, ประเทศเยอรมนี
6. ขวดที่มีฝาปิด ขนาด 15x45 และ 25x95 มิลลิเมตร KIMBLE, ประเทศจีน
7. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 125, 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร PYPEX, ประเทศเยอรมนี
8. เครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer) รุ่น 1000 JENWAY, ประเทศสหรัฐอเมริกา
9. เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี (gas chromatography) HEWLETT PACKARD/ HP 6890 SERIES, ประเทศสหรัฐอเมริกา
10. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง METTELER TOLEDO AG-285,  
ประเทศ สวิตเซอร์แลนด์
11. เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dryer) LYOLAB 3000, ประเทศอินเดีย
12. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) KUBOTA 6930,  
ประเทศญี่ปุ่น
13. จานเลี้ยงเชื้อ (petri dish) ขนาด 90x14.2 มิลลิเมตร PYREX, ประเทศเยอรมนี
14. ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (deep freezer) PUFFER HUBBARD,  
ประเทศสหรัฐอเมริกา

15. ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (incubator shaker) GALLENKAMP, ประเทศอังกฤษ
16. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) LABCONCO CORPORATION, ประเทศสหรัฐอเมริกา
17. ตู้อบ (oven) EYELA NDO-450ND, ประเทศญี่ปุ่น
18. แท่งแม่เหล็กสำหรับกวนสาร (magnetic bar)
19. บีกเกอร์ ขนาด 50, 600, 1,000, 2,000 มิลลิลิตร
20. ที่กรองสารสำหรับไซริงค์ (syringe filter) ขนาดคัดกรอง 0.2 ไมโครเมตร  
SARTORIUS, ประเทศเยอรมนี
21. ไมโครปิเปต (micropipette) ขนาด 1,000 ไมโครลิตร FINPIPETTE, ประเทศ  
ฟินแลนด์
22. หม้อนึ่งความดันสูง (autoclave) TOMY SS-325, ประเทศญี่ปุ่น
23. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) MEMMERT, ประเทศเยอรมนี

### วิธีดำเนินการวิจัย

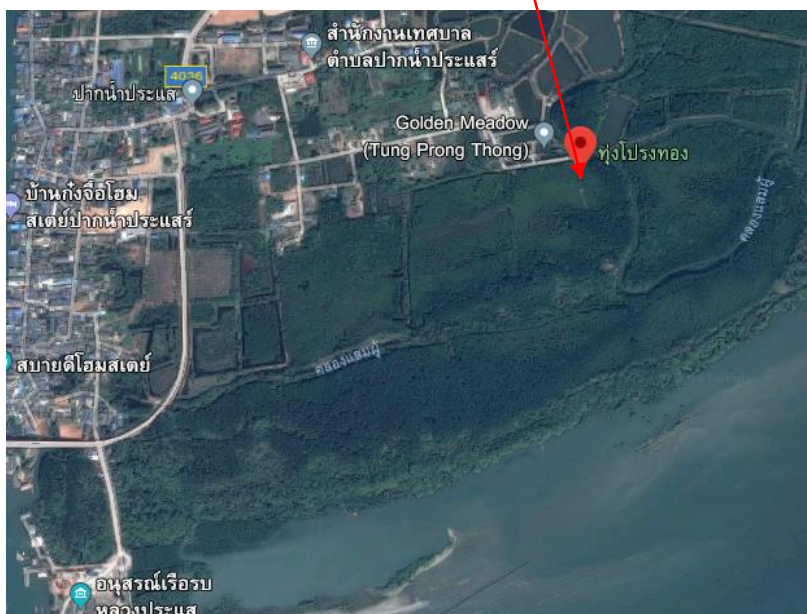
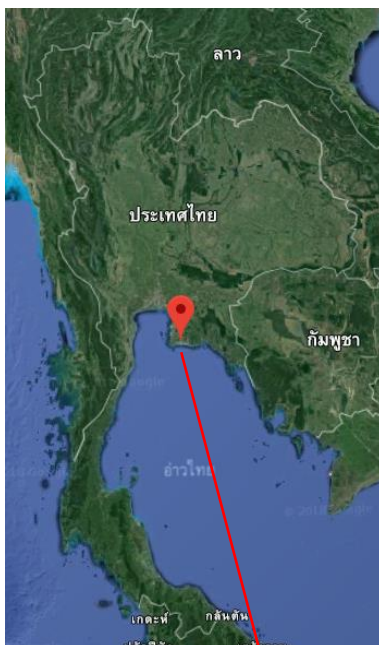
ขั้นตอนการดำเนินงานแบ่งเป็น 2 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ตอนที่ 2 ชีวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

### ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ทำการเก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง (ภาพที่ 3-1) ทั้งสิ้น 12 ชนิด ได้แก่ โกงกางใบใหญ่ โกงกางใบเล็ก ลำแพน ปอทะเล ตะบูนขาว แสมทะเล โปรงขาว โปรงแดง พังกาหัวสุมดอกแดง ดาดู่มทะเล ลำพูทะเลและฝาดดอกขาว ชนิดละ 20 ใบ โดยเลือกเก็บใบไม้ที่มีลักษณะสีเหลืองอมน้ำตาลที่อยู่บนดินที่ชื้นแฉะ เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง) และเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน) พร้อมทั้งวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการดังภาพที่ 3-2 และ ตารางที่ 3-1



ภาพที่ 3-1 พื้นที่ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

(<https://www.google.co.th/maps/@12.7071426,101.7164599,18.82z> สืบค้นเมื่อ 12 มิถุนายน 2561)



ภาพที่ 3-2 พื้นที่ที่เก็บตัวอย่างใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

ตารางที่ 3-1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและอุปกรณ์ที่ใช้

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	อุปกรณ์
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัม/ลิตร)	เครื่องวัดปริมาณออกซิเจน (DO meter)
ความเป็นกรด – เบส	เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter)
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เทอร์โมมิเตอร์
ความเค็ม (practical salinity unit, psu)	เครื่องวัดความเค็ม (refractometer)

### วิธีการทดลอง

1. เตรียมอาหารแข็ง GYP (กลูโคส 0.1% ยีสต์สกัด 0.1% เปปโตน 0.1% รูน 1% น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อความเค็ม 15 psu 1,000 มิลลิลิตร) ดังภาคผนวก ก

2. การคัดแยกเชื้อทรอสโทโคทริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่น

2.1 นำตัวอย่างใบไม้แต่ละชนิดล้างด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 psu) ประมาณ 2-3 ครั้ง

2.2 ตัดใบไม้แต่ละชนิดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดความกว้างและยาวด้านละ 0.5 เซนติเมตร นำตัวอย่างใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีน้ำทะเลปราศจากเชื้อที่เติมยาปฏิชีวนะ (เพนนิซิลินจี 3 กรัม และ สเตรปโตมัยซิลซัลเฟต 3 กรัม น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ต่อน้ำทะเล 1,000 มิลลิลิตร) ดังภาคผนวก ข ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง

2.3 นำตัวอย่างใบไม้จากข้อ 2.2 ทำการสุ่มเลือกมาจำนวน 9 ชิ้น นำมาปักเฉียง ๆ ลงในอาหารแข็ง GYP โดยให้ 1 จานเพาะเชื้อมีใบไม้ 3 ชิ้น (3 ซ้ำ) ปักระยะห่างกัน จากนั้นเติมน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 27-32 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะพบการเจริญของเชื้อ

2.4 ตรวจสอบทรอสโทโคทริคส์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบการปนเปื้อนจากสิ่งมีชีวิตอื่น ทำการแยกทรอสโทโคทริคส์ออกจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยวิธีการขีดเชื้อแบบตัดกัน (cross streak) เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว จนได้เชื้อที่บริสุทธิ์ (pure culture)

2.5 จัดจำแนกทรอสโทโคทริคส์โดยใช้ลักษณะพื้นฐานวิทยา โดยจัดจำแนกตาม สมถวิล จิตควร และสุภารัตน์ สวนจิตร (2559); Jaritkhuan and Suanjit (2018) ; Marchan et al. (2017); Yokoyama, Salleh, and Honda (2007); Yokoyama and Honda (2007)



ตัวอย่างคีย์ที่ใช้ในการจัดจำแนกระดับจันีส (Yokoyama et al., 2007 อ้างถึงใน สมถวิล จริตควร และสุคาร์ตัน สวนจิตร, 2559) ดังนี้

- |   |  |
|---|--|
| 1. เซลล์ปกติ (vegetative cells) รูปร่างยาวรีคล้ายกระสวยและคืบคลาน<br>ภายในเส้นใยเอกโตพลาสติก..... | Family Labyrinthaceae<br>Single genus: <i>Labyrinthula</i> |
| 1. เซลล์ปกติรูปร่างกลมหรือค่อนข้างกลมและไม่อยู่ภายในเส้นใย<br>เอกโตพลาสติก.....                   | Family Thraustochytriaceae                                 |
| 2. เซลล์ปกติใช้เวลานานจึงจะเคลื่อนที่และสร้างสปอร์ที่ไม่มี<br>แฟลกเจลลา.....                      | <i>Aplanochytrium</i>                                      |
| 2. เซลล์ปกติถ้ามีการเคลื่อนที่เคลื่อนที่ตั้งแต่แรก.....   | ข้อ 3  |
| 3. เซลล์ปกติไม่มีเส้นใยเอกโตพลาสติก.....  | <i>Althonia</i>  |
| 3. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติก.....   | ข้อ 4  |
| 4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มีลักษณะบวมพอง.....  | <i>Japonochytrium</i>                                      |
| 4. เซลล์ปกติมีเส้นใยเอกโตพลาสติกที่มีลักษณะไม่บวมพอง  | ข้อ 5  |
| 5. เซลล์มีการแบ่งแบบ Binary Division.....   | ข้อ 6  |
| 5. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยว ๆ หรือ<br>อะมิบอยด์เซลล์.....                       | ข้อ 8  |
| 6. โคลนีนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอกโตพลาสติกไม่ค่อยพัฒนา   | <i>Aurantiochytrium</i>                                    |
| 6. โคลนีนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอกโตพลาสติกพัฒนาดี.....   | ข้อ 7  |
| 7. ซูโอสปอร์รูปร่างรีและสร้างแคนด้าแซนธินและ<br>เบต้าแคโรทีน.....                                 | <i>Oblongichytrium</i>                                     |
| 7. ซูโอสปอร์รูปร่างกลมและสร้างเพียงเบต้าแคโรทีน   | <i>Schizochytrium</i>                                      |
| 8. เซลล์พัฒนาเป็นซูโอสปอร์แรงเจียมเซลล์เดี่ยว ๆ   | <i>Thraustochytrium</i>                                    |
| 8. เซลล์พัฒนาเป็นอะมิบอยด์เซลล์.....  | ข้อ 9  |
| 9. โคลนีนีมีขนาดเล็ก เส้นใยเอกโตพลาสติก<br>ไม่ค่อยพัฒนา.....                                      | ข้อ 10   |
| 9. โคลนีนีมีขนาดใหญ่ เส้นใยเอกโตพลาสติก<br>พัฒนาดี.....   | ข้อ 11   |

10. ซูโอสปอร์ถูกสร้างด้วยวิธีการบิดตัวและ

คิงตัว..... *Sicyoidochytrium*

10. ซูโอสปอร์ไม่ได้ถูกสร้างด้วยวิธีการบิดตัว

และคิงตัว..... *Ulkenia*

11. ยังคงเหลือผนังเซลล์หลังจากปล่อย

อะมิบอยด์เซลล์..... *Parietichytrium*

11. ผนังเซลล์สลายหมดหลังจากที่ปล่อย

อะมิบอยด์เซลล์แล้ว..... *Botryochytrium*

3. เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารแข็ง GY (ภาคผนวก ก) ผิวเย็บที่เติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ (ความเค็ม 15 psu) ประมาณ 3 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 27-32 องศาเซลเซียส) ทำการถ่ายเชื้อทุก ๆ 2 เดือน

4. คำนวณหาความถี่ของการพบของทรอสโทโคตริคัสจากใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษาดังสมการที่ 1

$$\text{ความถี่ของการพบ} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}} \quad (1)$$

**ตอนที่ 2** ชีวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่

**ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง**

**การวิเคราะห์ชีวมวล**

เลือกทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้เพื่อนำไปวิเคราะห์ผลผลิตชีวมวล และปริมาณกรดไขมัน จากถุคูล์เงินัสละ 5 ไอโซเลท ถุคูล์เงินัสละ 5 ไอโซเลท เช่นเดียวกัน โดยแต่ละเงินัสเลือกจากใบต่างชนิดกัน และเลือกไอโซเลทที่เจริญดีที่ผ่านการทดสอบการเจริญในเบื้องต้นแล้วสำหรับวิธีการวิเคราะห์ชีวมวลมีดังนี้

1. นำทรอสโทโคตริคัสไอโซเลทที่คัดเลือกแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว GY (ภาคผนวก ก) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน
2. เก็บเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เซลล์จะตกตะกอน จากนั้นเทส่วนใสที่อยู่ด้านบนออก
3. ล้างด้วยสารละลาย PBS (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ลงในหลอดพลาสติก ตัวอย่าง ปั่นเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา

10 นาที เทส่วนใสด้านบนออก

4. นำตัวอย่างที่ได้ไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส แล้วทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง เพื่อนำไปวิเคราะห์กรดไขมันต่อไป

### การวิเคราะห์กรดไขมัน

1. ชั่งตัวอย่างเซลล์แห้งของทรอสโทโคตริคัสประมาณ 0.1 - 0.2 กรัม น้ำหนักแห้ง ใสในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิดขนาด 25 x 95 มิลลิเมตร นำมาสกัดไขมันตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Shimizu et al. (1988)

2. เติม 2% v/v ซัลฟิวริก (sulfuric acid;  $H_2SO_4$ ) ในเมทานอล (methanol) (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 6 มิลลิตร จากนั้นเติม internal standard (ภาคผนวก ก) 200 ไมโครลิตร ผ่านด้วยแก๊สไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศ นำไปต้มอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3. นำตัวอย่างมาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้เย็น เติมเฮกเซน (ที่มี 10 ppm BHT) 3 มิลลิตร และน้ำกลั่น 3 มิลลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วทิ้งให้แยกชั้น ดูดของเหลวที่อยู่ชั้นบนใส่ในหลอดทดลอง กรองผ่านโซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate;  $Na_2SO_4$ ) เพื่อดูดความชื้นออก

4. เติมเฮกเซน (ที่มี 10 ppm BHT) 3 มิลลิตร ทำซ้ำ (ข้อ 3) 4 ครั้ง

5. นำตัวอย่างใส่ในขวดปากเกลียวที่มีฝาปิด และผ่านด้วยแก๊สไนโตรเจนจนแห้ง เก็บใส่ตู้เย็น เพื่อรอการวิเคราะห์ด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี

6. นำตัวอย่างกรดไขมัน (ข้อ 5) เติมเฮกเซน 200 ไมโครลิตร แล้วฉีดเข้าเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟี โดยให้สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตกราฟีใช้ flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ และคอลัมน์ใช้ Capillary Column Agilent J&W DB-23 (60 m x 250  $\mu m$  x 0.25  $\mu m$ ) โดยใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สพา ส่วนอุณหภูมิของ Injector และ Detector คือ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้น 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 14 นาที

7. เปรียบเทียบชนิดของกรดไขมันกับกรดไขมันมาตรฐาน (standard fatty acid) ดังภาคผนวก ง

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### ชนิดพันธุ์ไม้ป่าชายเลนที่เก็บตัวอย่าง

นำตัวอย่างใบไม้ (ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนบริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง) จำนวน 12 ชนิด (ได้แก่ โกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ตะบูนขาว ตาคุ่มทะเล ปอทะเล โปรงขาว โปรงแดง ฝาดดอกขาว พังกาหัวสุมดอกแดง ลำพูทะเล ลำแพนและแสมทะเล) ชนิดละ 20 ใบ ซึ่งใบไม้ที่นำมาศึกษาต้องมีลักษณะสีเหลืองอมน้ำตาลที่อยู่บนดินชื้นแฉะ การเก็บตัวอย่างใบไม้ดำเนินการในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง) และเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน) ตามลำดับ ดังตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 ชื่อพันธุ์ไม้สามัญและชื่อวิทยาศาสตร์ ที่นำมาใช้ในการทดลอง

พันธุ์ไม้	ชื่อวิทยาศาสตร์
โกงกางใบเล็ก	<i>Rhizophora apiculata</i>
โกงกางใบใหญ่	<i>Rhizophora mucronata</i>
ตะบูนขาว	<i>Xylocarpus granatum</i>
ตาคุ่มทะเล	<i>Excoecaria agallocha</i>
ปอทะเล	<i>Hibiscus tiliaceus</i>
โปรงขาว	<i>Ceriops decandra</i>
โปรงแดง	<i>Ceriops tagal</i>
ฝาดดอกขาว	<i>Lumnitzera racemosa</i>
พังกาหัวสุมดอกแดง	<i>Bruguiera gymnorrhiza</i>
ลำพูทะเล	<i>Sonneratia alba</i>
ลำแพน	<i>Sonneratia ovata</i>
แสมทะเล	<i>Avicennia marina</i>

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมในบริเวณที่เก็บตัวอย่าง พบว่ามีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ โดยฤดูแล้งมีค่าอุณหภูมิ น้ำ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำกว่าฤดูฝน ค่าความเป็นกรด-เบสทั้งสองฤดูใกล้เคียงกัน ส่วนความเค็มมีค่าแตกต่างกันมากระหว่างฤดูแล้งกับฤดูฝน ดังตารางที่ 4-2

ตารางที่ 4-2 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบริเวณที่เก็บตัวอย่าง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	ฤดูแล้ง	ฤดูฝน
ความเค็ม (psu)	33	10
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	26	31
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	4.2	6.7
ค่าความเป็นกรด-เบส	6.4	6.55

### ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

#### 1. การคัดแยกทรอสโทโคตริคส์

ในการศึกษานี้คัดแยกทรอสโทโคตริคส์ จากตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ได้ทั้งหมด 486 ไอโซเลต

#### ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์

การศึกษาความถี่การพบทรอสโทโคตริคส์ในใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิด จากการเก็บตัวอย่างใบไม้ 20 ใบ พบว่าในฤดูแล้ง โกงกางใบใหญ่พบทรอสโทโคตริคส์มากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ปอทะเล ตะบูนขาว และแสมทะเลพบเท่ากันคือ 85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนตาคุ่มทะเล พบทรอสโทโคตริคส์น้อยที่สุด 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับฤดูฝน โกงกางใบใหญ่พบทรอสโทโคตริคส์ 100 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับฤดูแล้ง รองลงมาคือ โกงกางใบเล็ก 85 เปอร์เซ็นต์ ถัดมาคือ โปรงแดง และลำแพน 75 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ส่วนปอทะเลพบน้อยที่สุดคือ 25 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบทรอสโทโคตริคส์ จากพังกาหัวส้มดอกแดง จะเห็นได้ว่า โกงกางใบใหญ่ และลำแพน จากทั้งสองฤดูพบทรอสโทโคตริคส์เท่ากันคือ 100 และ 75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในฤดูแล้งมีใบไม้ 6 ชนิดที่พบทรอสโทโคตริคส์มากกว่าฤดูฝน และมีความถี่การพบทรอสโทโคตริคส์โดยรวมมากกว่าฤดูฝน (ตารางที่ 4-3)

ตารางที่ 4-3 ความถี่ของการพบทอรอสโทโคตริคัสในใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจาก  
ทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง (จำนวนใบไม้ชนิดละ 20 ใบ)

พันธุ์ไม้	ฤดูแล้ง			ฤดูฝน		
	จำนวนใบที่พบ	ความถี่การพบ	จำนวน	จำนวนใบที่พบ	ความถี่การพบ	จำนวน
	ทอรอสโทโคตริคัส	(เปอร์เซ็นต์)	ไอโซเลท	ทอรอสโทโคตริคัส	(เปอร์เซ็นต์)	ไอโซเลท
โกกงใบเล็ก	12	60	23	17	85	40
โกกงใบใหญ่	20	100	37	20	100	20
ตะบูนขาว	17	85	29	8	40	17
ตาคุ่มทะเล	2	10	1	14	70	35
ปอทะเล	17	85	30	5	25	6
โปรงขาว	11	55	15	10	50	17
โปรงแดง	16	80	29	15	75	28
ฝาดดอกขาว	6	30	7	11	55	18
พังกาหัวส้ม	6	30	8	0	0	0
ดอกแดง						
ลำพูทะเล	8	40	12	14	70	24
ลำแพน	15	75	21	15	75	25
แสมทะเล	17	85	34	8	40	10
รวมจำนวนไอโซเลทฤดูแล้ง 246			รวมจำนวนไอโซเลทฤดูฝน 240			

## 2. การจัดจำแนก

เมื่อนำมาจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม จำนวนทั้งหมด 9 สปีชีส์ ได้แก่

กลุ่มที่ 1. จินัส *Aurantiochytrium* ประกอบไปด้วยสปีชีส์ที่ต่างกัน 5 กลุ่มสปีชีส์ (เรียกเป็นกลุ่ม สปีชีส์ เนื่องจากยังไม่ได้มีการศึกษาตำแหน่งทางอนุกรมวิธานระดับสปีชีส์อย่างละเอียด) ซึ่งทั้งหมด มีลักษณะแตกต่างไปจากสปีชีส์ที่รู้จักกันคืออยู่แล้วของจินัสนี้ ดังนั้นในการศึกษานี้จึงกำหนดรหัสสปีชีส์ทั้ง 5 กลุ่มสปีชีส์เป็น *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5 (ในลำดับต่อไปของการศึกษา จะใช้คำว่าสปีชีส์แทนคำว่ากลุ่มสปีชีส์ เพื่อให้การเขียนอธิบายเป็นไปในรูปแบบเดียวกันตลอดทั้งเนื้อหา)

กลุ่มที่ 2. จีแนส *Parietichytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ *Parietichytrium* sp.

กลุ่มที่ 3. จีแนส *Schizochytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ *Schizochytrium* sp.2 อ้างถึงใน สมถวิล จิตตวร, สุदारัตน์ สวานจิตร และวิภูษิต มั่นทะจิตร (2549)

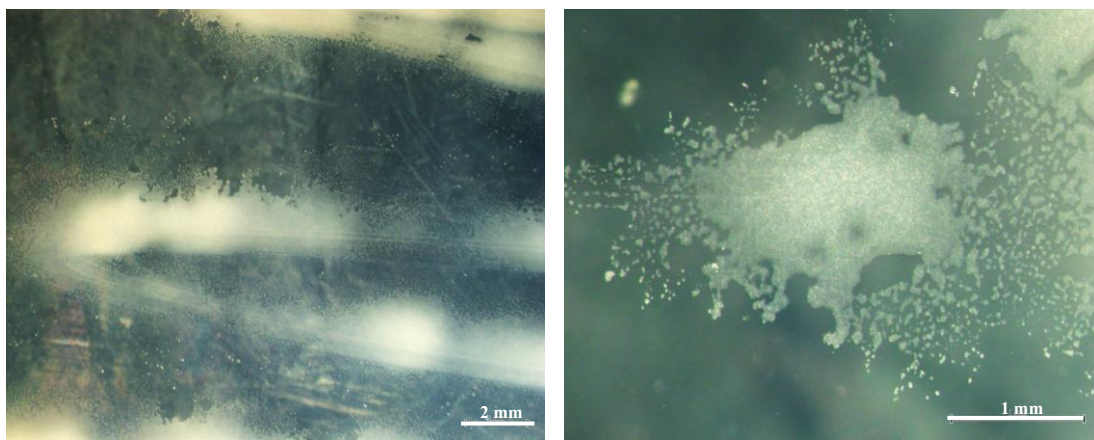
กลุ่มที่ 4. ทรอสโทโคตริคส์ที่ไม่สามารถระบุจีแนสได้ (*Thraustochytriidae sensu lato*) ประกอบไปด้วย *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 อ้างถึงในสมถวิล จิตตวร และ สุदारัตน์ สวานจิตร(2559)

ลักษณะพื้นฐานของทรอสโทโคตริคส์แต่ละสปีชีส์ มีรายละเอียดดังนี้

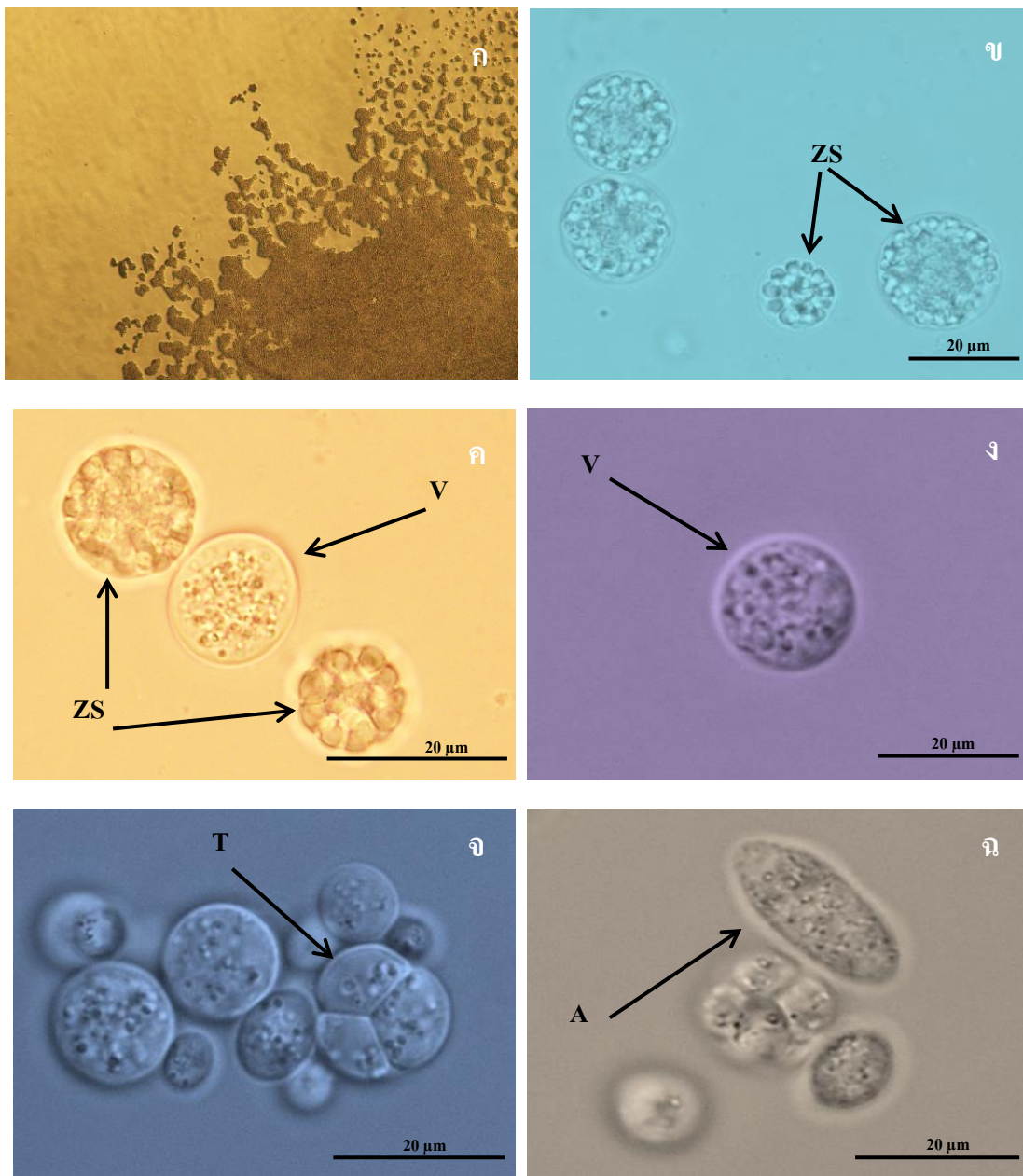
#### 1. *Aurantiochytrium* sp.1

ลักษณะโคโลนิบนอาหารแข็ง GY มีสีครีมทึบแสง เนื้อโคโลนีสลายนหนืดเหนียว โคโลนิแบนราบติดกับอาหาร เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่า โคโลนิมีรูปร่างไม่แน่นอน ขนาด 2-3 มิลลิเมตร บริเวณขอบโคโลนียมองเห็นอะมิบอยด์เซลล์กระจายอยู่โดยรอบ (ภาพที่ 4-1 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่า เซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ มีลักษณะขุ่นสีครีมและเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีการกระจายตัวไม่เกาะเป็นกลุ่ม เซลล์ปกติรูปร่างกลมขนาด 10-12.50 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์ การพัฒนาภายในเซลล์พบว่าจะเริ่มมีจุดเล็ก ๆ และมีการแบ่งตัวแบบ binary division จากนั้นเริ่มมีขนาดใหญ่ขึ้น การปล่อยซุโอสปอร์โดยผนังเซลล์ที่ขนาดซุโอสปอร์จะหลุดออกจากเซลล์แม่ ขนาดซุโอสปอร์ 2.5-5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-2 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-1 ลักษณะโคโลนิของ *Aurantiochytrium* sp.1 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



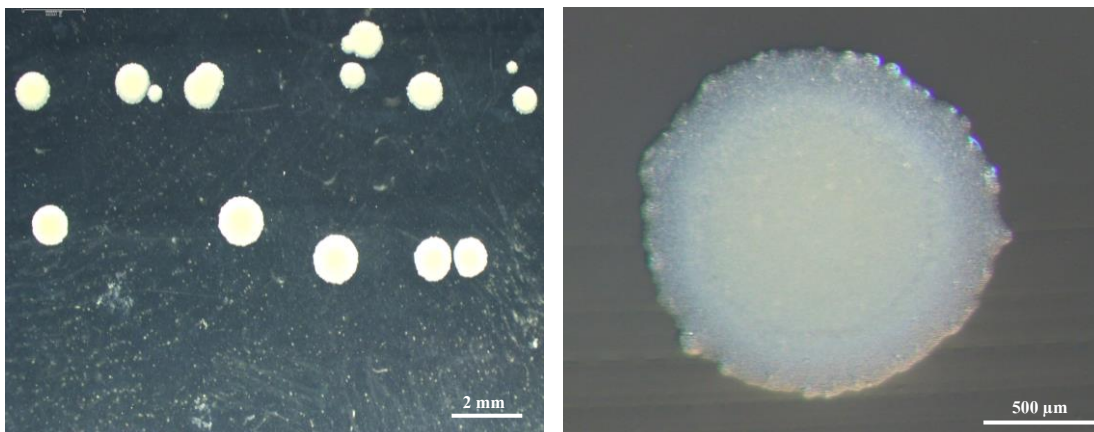
ภาพที่ 4-2 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.1 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน  
 ข-จ) ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp.1 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน  
 (A) Amoeboid cell (T) Tetrad (V) Vegetative cell (ZS) Zoosporangium



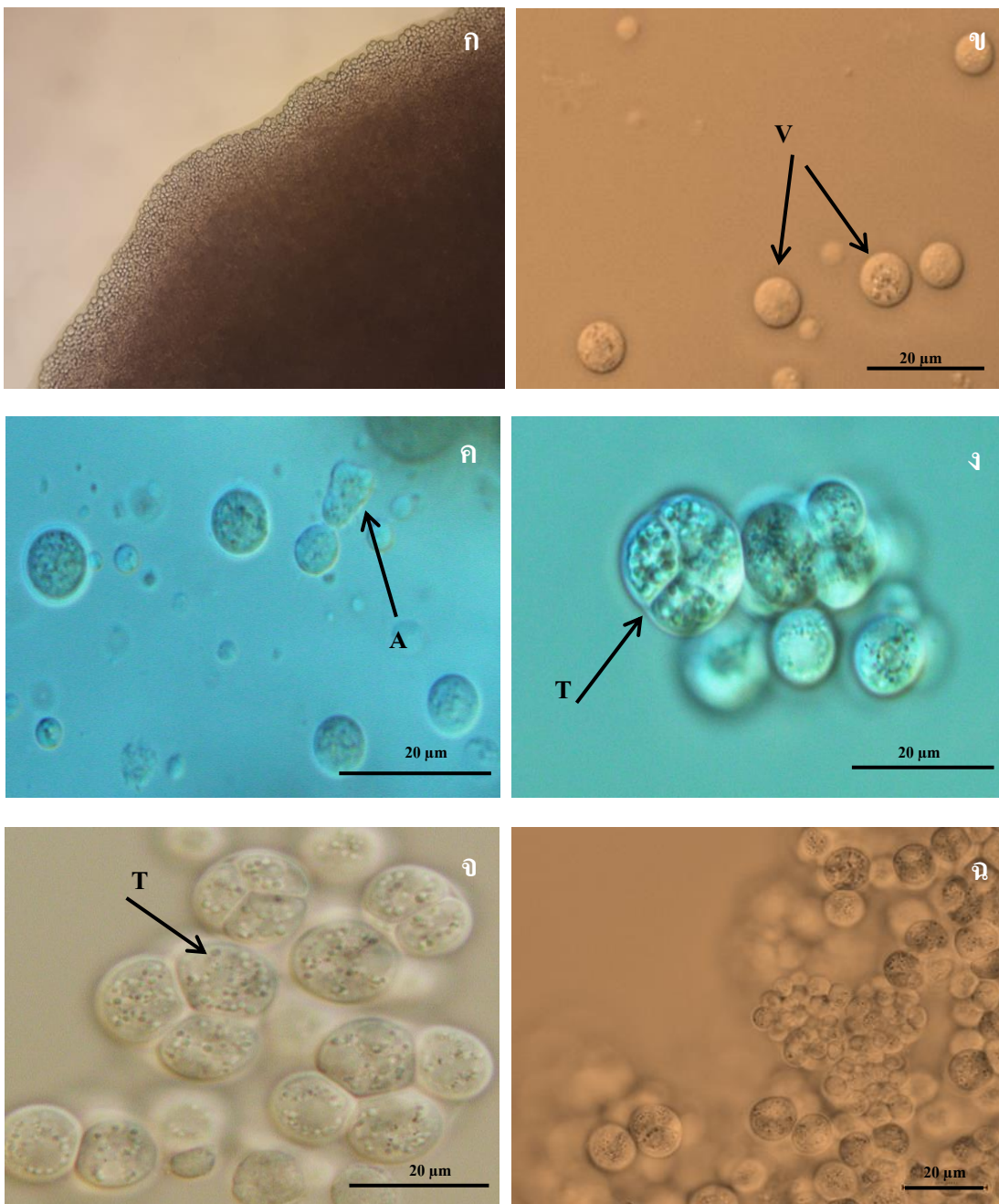
## 2. *Aurantiochytrium* sp.2

ลักษณะ โคลนบนอาหารแข็ง GY มีสีส้มอ่อนทึบแสง เนื้อโคลนคล้ายเนยเหลว โคลนแบนราบติดกับอาหาร เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่า โคลนรูปร่างกลมขนาด 0.5-1 มิลลิเมตร ขอบหยัก ขอบโคลนมีเซลล์หนาแน่นน้อยกว่าบริเวณตรงกลาง โคลน เซลล์บริเวณขอบ โคลนนี้มีลักษณะกลมมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4-3 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY เซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ มีลักษณะขุ่นสีส้มอ่อน และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า เซลล์เกาะรวมกันเป็นกลุ่ม เซลล์ปกติมีลักษณะกลมขนาด 5-15 ไมโครเมตร พบการแบ่งตัวแบบ binary division พบอะมิบอย์เซลล์รูปร่างไม่แน่นอน ขนาดซูโอสปอร์ 3-8 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-4 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-3 ลักษณะ โคลนของ *Aurantiochytrium* sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-4 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY  
ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

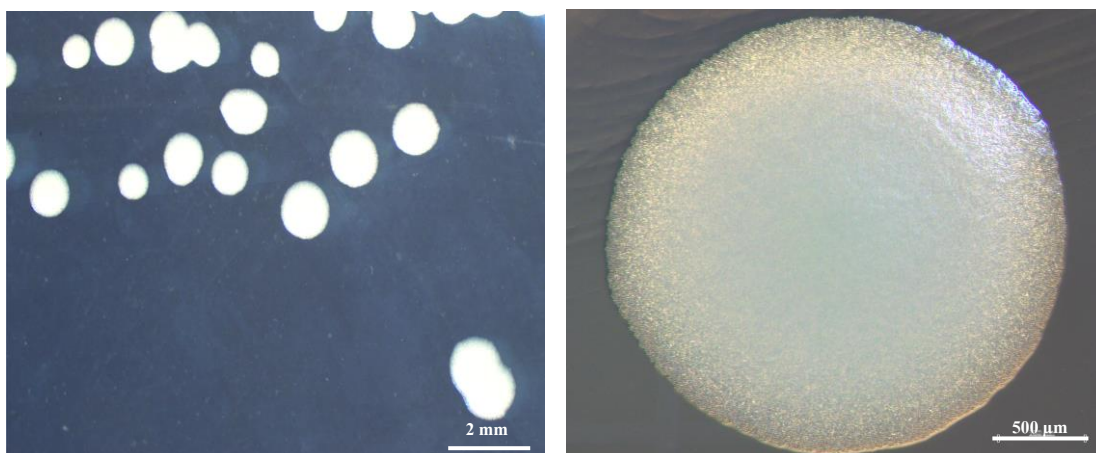
ข-ค) ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp.2 ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน

(A) Amoeboid cell (T) Tetrad (V) Vegetative cell

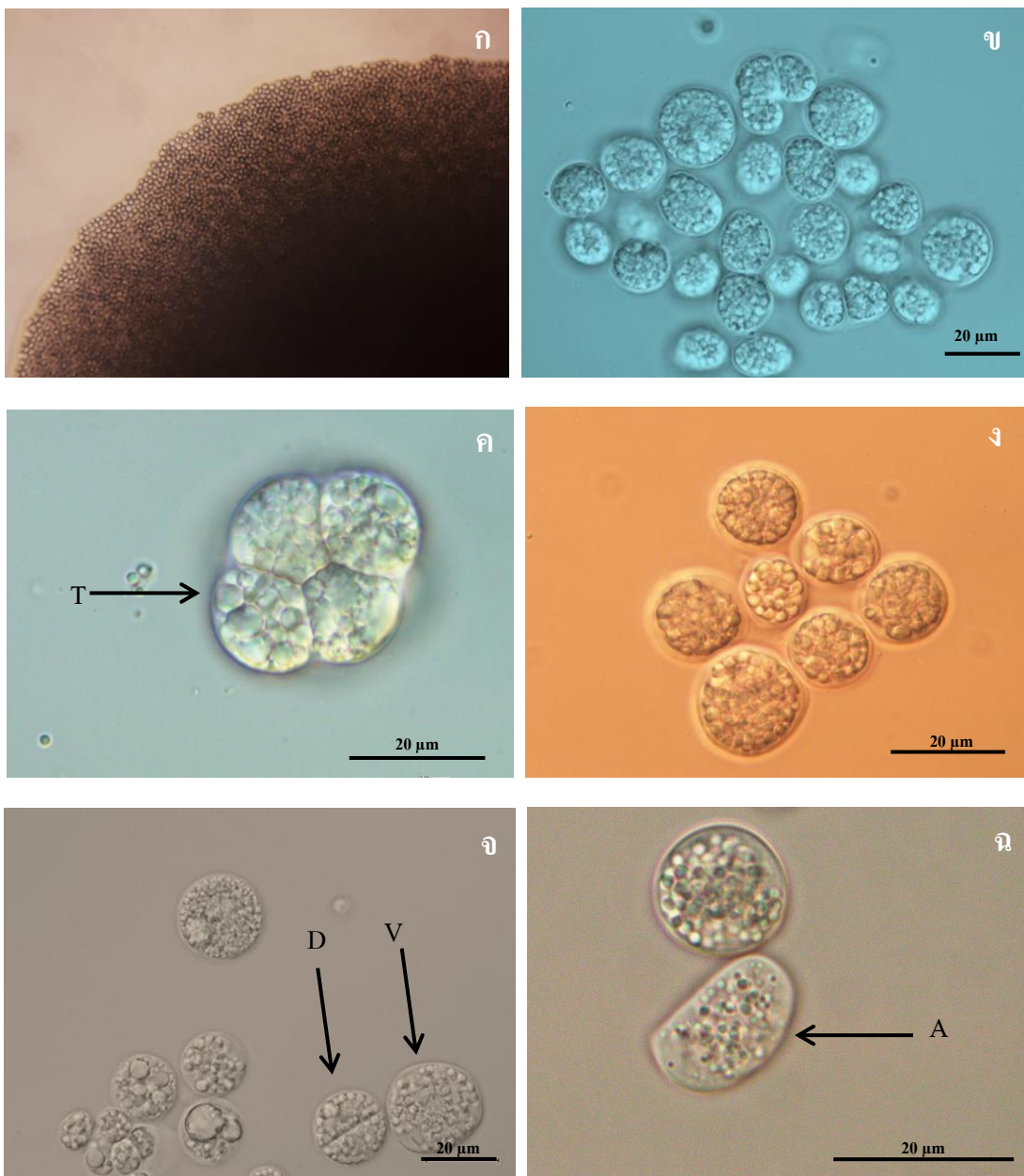
### 3. *Aurantiochytrium* sp.3

ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง GY มีครีมทึบแสง เนื้อโคโลนีคล้ายเนยเหลว โคโลนีแบนราบติดกับอาหาร เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่าโคโลนีมีรูปร่างกลม ขนาด 2-3 มิลลิเมตร ขอบเรียบ บริเวณกลางโคโลนีมีเซลล์หนาแน่น เซลล์มีลักษณะกลมสามารถมองเห็นได้ชัด (ภาพที่ 4-5 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ มีลักษณะขุ่นสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีการเกาะกลุ่มกันขนาดเล็กและมีบางส่วนกระจายเป็นเซลล์เดี่ยว เซลล์ปกติมีลักษณะกลมขนาด 10-20 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง อะมิบอยเซลล์พบมากใน 24 ชั่วโมงแรก มีการแบ่งตัวแบบ binary division ขนาดซุโอสปอร์ 2-5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-6 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-5 ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.3 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน

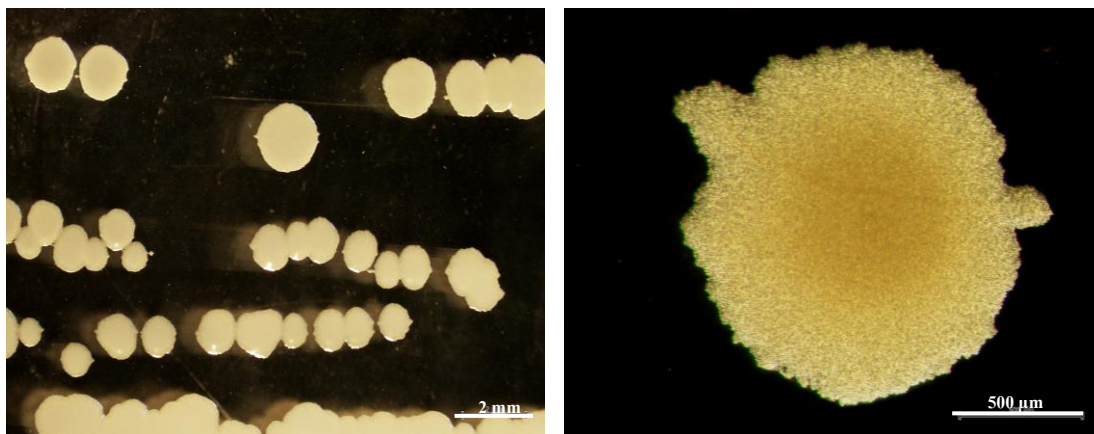


ภาพที่ 4-6 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.3 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน  
 ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp.3 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน  
 (A) Amoeboid cell (D) Diad (T) Tetrad (V) Vegetative cell

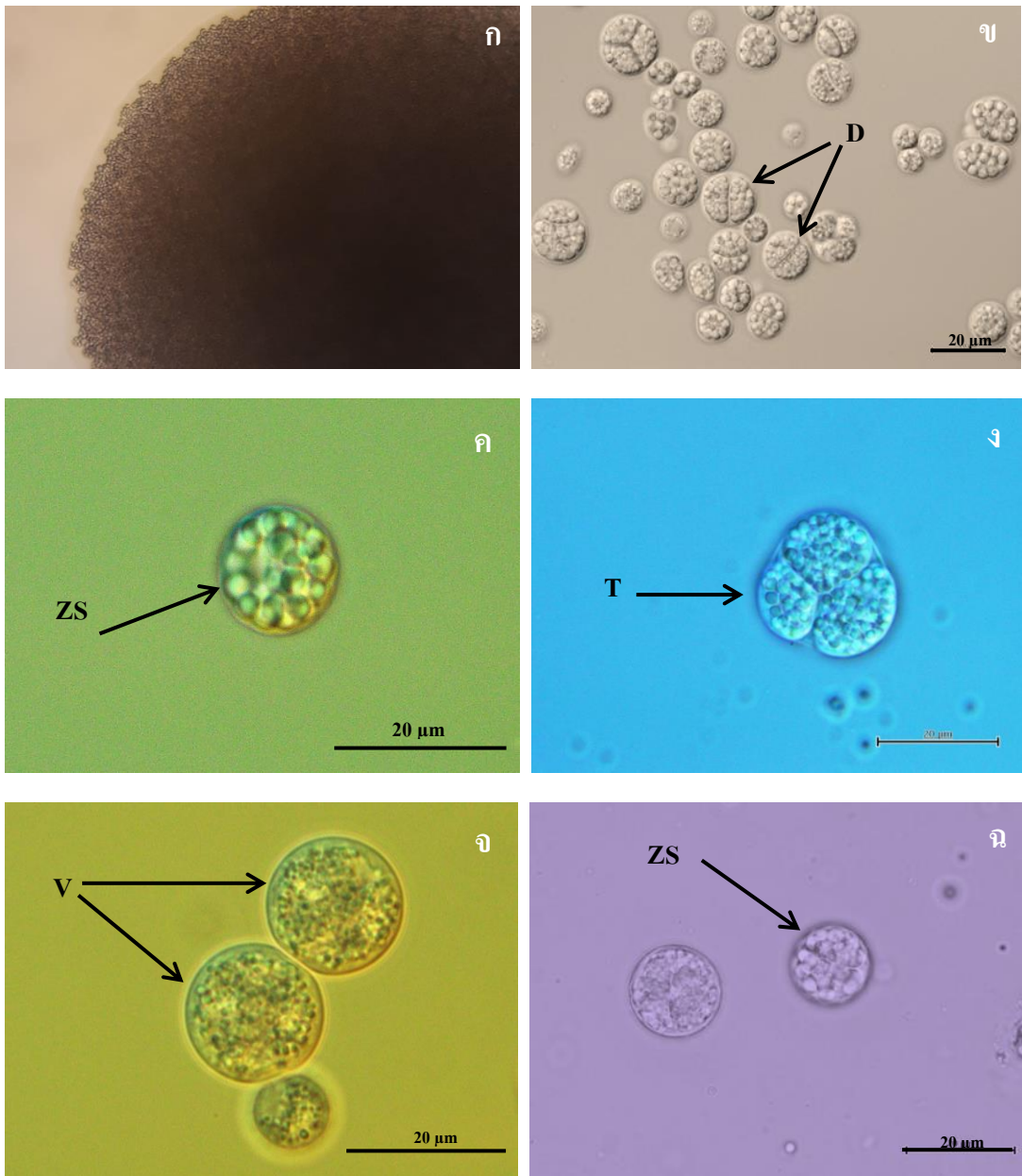
#### 4. *Aurantiochytrium* sp.4

ลักษณะ โคลนบนอาหารแข็ง GY สีครีมทึบแสง เนื้อโคลนคล้ายเนยเหลว โคลนนี้แบนราบติดกับอาหาร เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่า โคลนนี้มีรูปร่างกลม ขนาด โคลนนี้ประมาณ 2 มิลลิเมตร ขอบหยัก เซลล์มีความหนาแน่นน้อยกว่า *Aurantiochytrium* sp.2 และ *Aurantiochytrium* sp.3 ลักษณะเซลล์บริเวณขอบกลมมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4-7 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ จำนวนมาก มีลักษณะขุ่นสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีการกระจายตัวเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ มีรูปร่างกลมขนาด 10-25 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง ภายในเซลล์พบคล้ายช่องว่าง และภายในเซลล์มีจุดเล็ก และพัฒนาใหญ่ขึ้น พบอะมิบอยด์เซลล์และมีการแบ่งตัวแบบ binary division จากนั้นจะหลุดออกจากกันเป็นเซลล์ปกติ ขนาดซูโอสปอร์ 3 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-8 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-7 ลักษณะ โคลนของ *Aurantiochytrium* sp.4 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-8 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.4 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

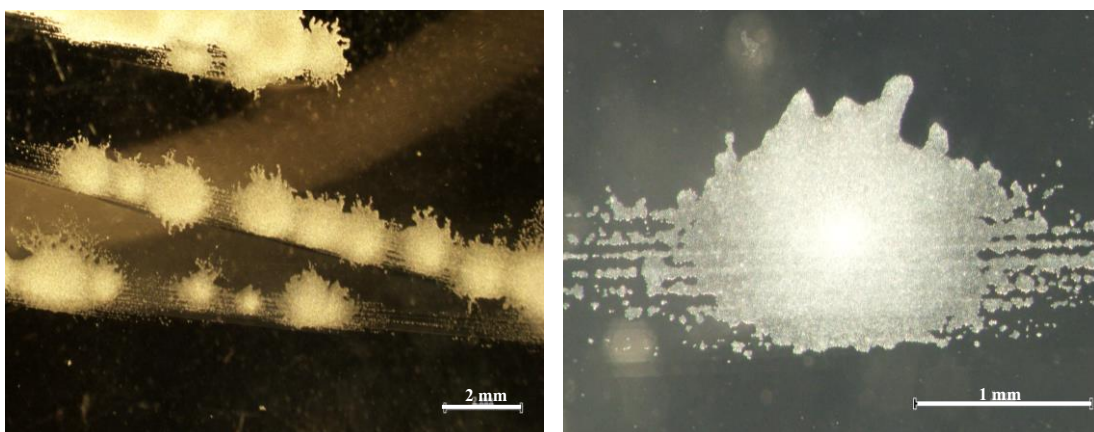
ข-จ) ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp.4 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน

(D) Diad (T) Tetrad (V) Vegetative cell (ZS) Zoosporangium

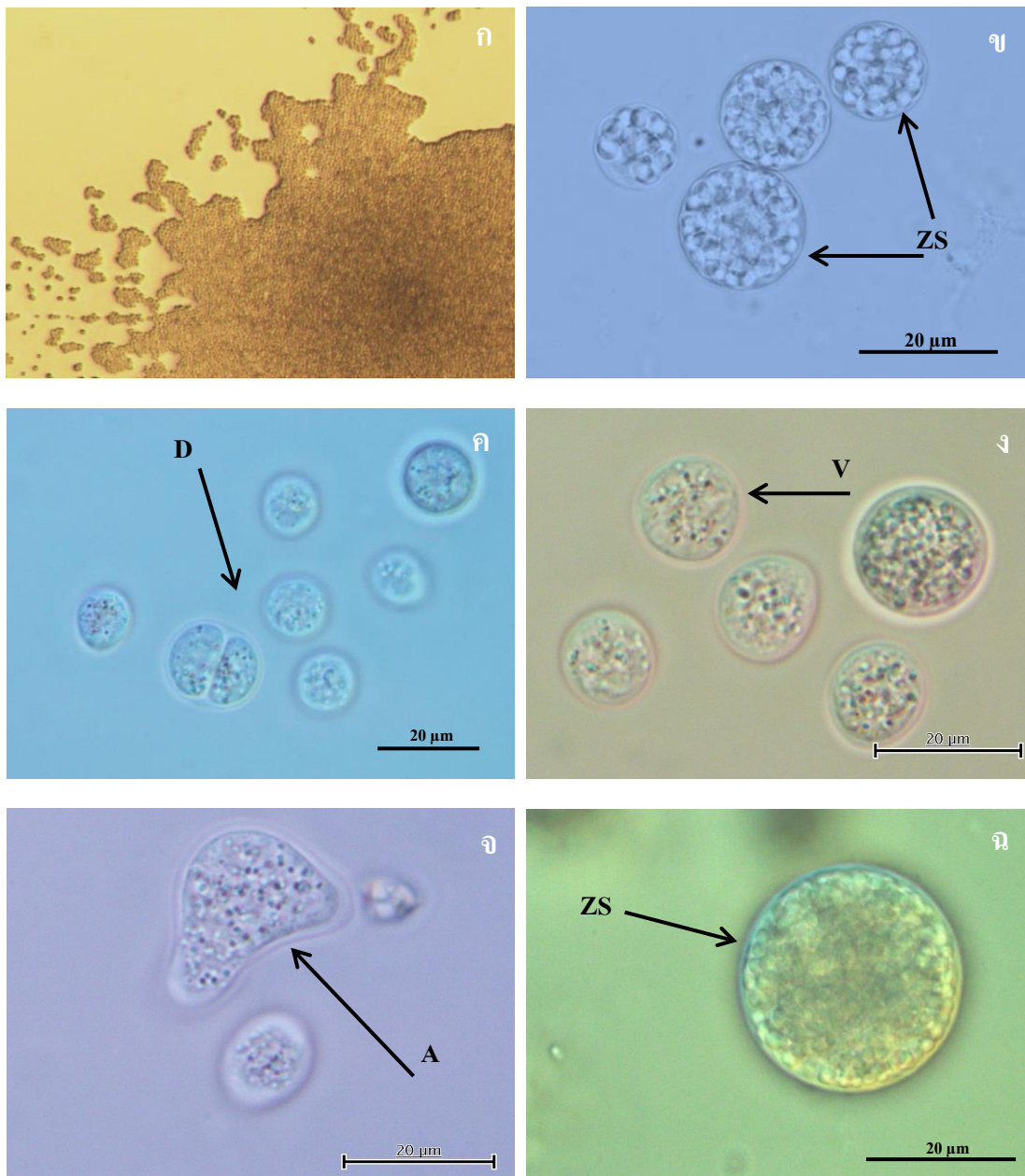
### 5. *Aurantiochytrium* sp.5

ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง GY มีสีครีมโปร่งแสง เนื้อโคโลนีคล้ายเนยเหลว โคโลนีแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร เมื่อสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่าโคโลนีมีรูปร่างไม่แน่นอน ขนาดโคโลนี 3-4 มิลลิเมตร มองเห็นอะมิบอยด์เซลล์บริเวณรอบโคโลนี แต่มีความกว้างน้อยกว่า *Aurantiochytrium* sp.1 เล็กน้อย เซลล์มีลักษณะกลมสามารถมองเห็นได้ชัดเจน ตรงกลางโคโลนีมีเซลล์หนาแน่น (ภาพที่ 4-9 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ มีลักษณะชุ่มสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีการกระจายตัวเดี่ยว ๆ สามารถมองเห็นอะมิบอยด์เซลล์ได้ตั้งแต่กำลังขยาย 10 เท่า เซลล์ปกติรูปร่างกลมขนาด 12.5-50 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์จำนวนมาก อะมิบอยด์เซลล์จะค่อย ๆ เว้าตรงกลางแล้วแยกออกจากกันเป็นเซลล์ปกติ มีการแบ่งตัวแบบ binary division ขนาดซุโอสปอร์ 5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-10 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-9 ลักษณะโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.5 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



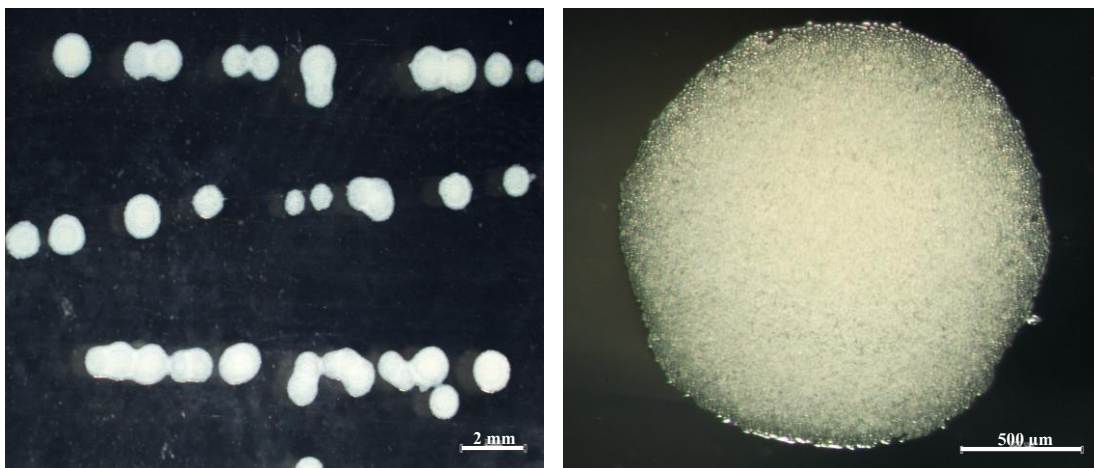
ภาพที่ 4-10 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.5 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน  
 ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ *Aurantiochytrium* sp.5 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน  
 (A) Amoeboid cell (D) Diad (ZS) Zoosporangium (V) Vegetative cell



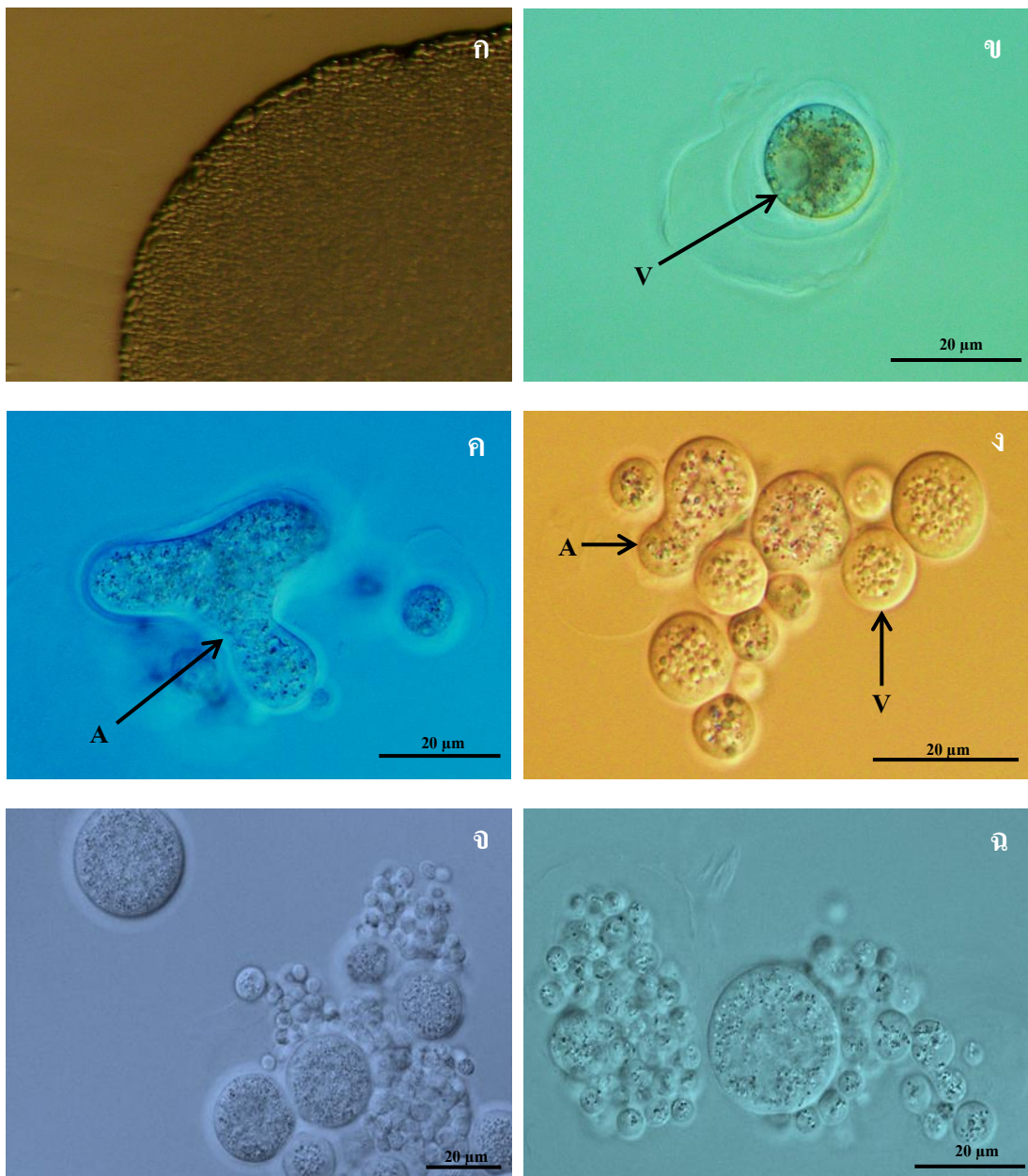
### 6. *Parietichytrium* sp.

ลักษณะโคโลนิบนอาหารแข็ง GY มีสีครีมทึบแสง โคโลนีแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร เนื้อโคโลนีมีลักษณะคล้ายเนยเหลวเหมือนสกุล *Aurantiochytrium* spp. และ *Thraustochytriidae* 8 เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่าโคโลนีรูปร่างกลม ขนาดโคโลนี 1-2 มิลลิเมตร ขอบเรียบ บริเวณขอบโคโลนีสามารถมองเห็นอะมิบอยด์เซลล์ได้อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4-11 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนเกาะบริเวณขอบของของเหลวภายในขวดรูปชมพู่ มีลักษณะขุ่นสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์ปกติมีลักษณะกลมขนาด 12.5-30 ไมโครเมตร ผนังเซลล์หนา มีอะมิบอยด์เซลล์ที่มีขนาดใหญ่และพบเป็นจำนวนมาก เป็นเพียงสกุลเดียวในการศึกษาครั้งนี้ที่ไม่พบการแบ่งตัวแบบ binary division การปล่อยชูโอสปอร์พบว่าผนังเซลล์ยังอยู่หลังจากปล่อยชูโอสปอร์แล้ว ขนาดชูโอสปอร์ 7.5 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-12 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-11 ลักษณะโคโลนีของ *Parietichytrium* sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-12 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Parietichytrium* sp. ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

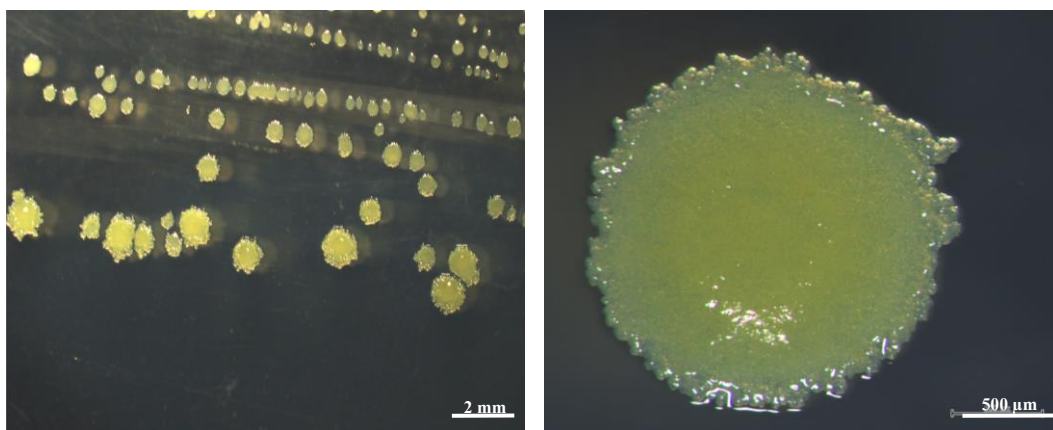
ข-ง) ลักษณะเซลล์ของ *Parietichytrium* sp. ที่เลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 4 วัน

(A) Amoeboid cell (V) Vegetative cell

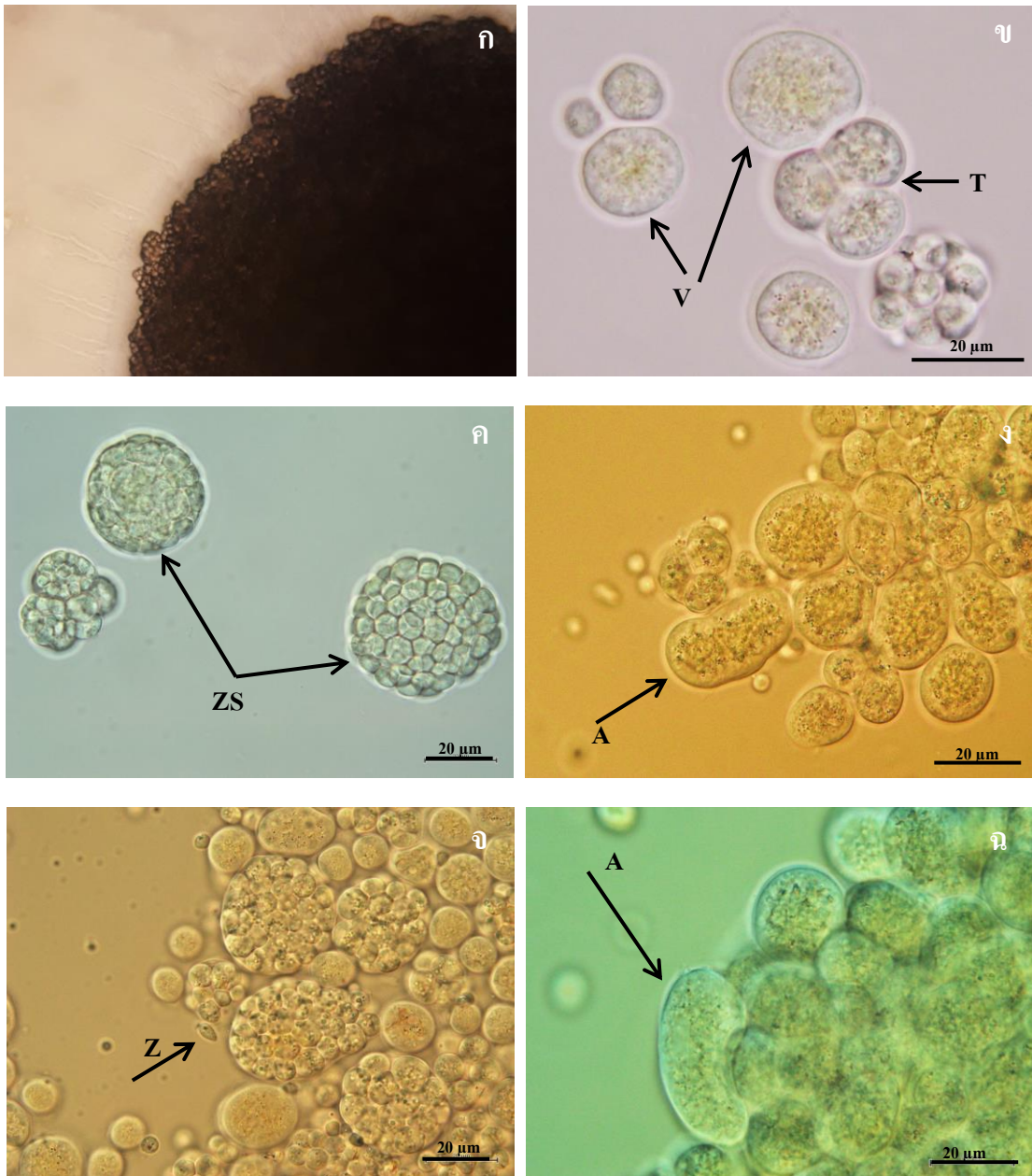
### 7. *Schizochytrium* sp.2

ลักษณะ โคลินบนอาหารแข็ง GY มีสีเหลืองทึบแสง โคลินนี้เบนราบไปกับหน้าอาหาร เนื้อโคลินมีลักษณะเป็นแผ่นแข็ง เมื่อสังเกตได้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่าโคลินมีรูปร่างกลม ขนาดโคลิน 1-2 มิลลิเมตร ขอบหยัก เซลล์มีปริมาณหนาแน่น บริเวณขอบมีเซลล์หนาแน่นน้อย ถัดเข้าไปมีเซลล์หนาแน่นมากสลับกันไปจนถึงกลางโคลิน (ภาพที่ 4-13 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์แบ่งตัวในอาหารเหลวน้อยมาก มีการตกตะกอนที่ก้นขวดรูปชมพู่เล็กน้อย ไม่มีการเจริญที่มีลักษณะขุ่น เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม เซลล์ปกติมีรูปร่างกลมขนาด 25-50 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์จำนวนมาก พบการแบ่งตัวแบบ binary division การปล่อยซูโอสปอร์พบว่าหลุดจากเซลล์แม่บริเวณเดี่ยว ซูโอสปอร์ขนาด 3-8 ไมโครเมตร (ภาพที่ 4-14 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-13 ลักษณะ โคลินของ *Schizochytrium* sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-14 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ *Schizochytrium* sp.2 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

ข-จ) ลักษณะเซลล์ของ *Schizochytrium* sp.2 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน

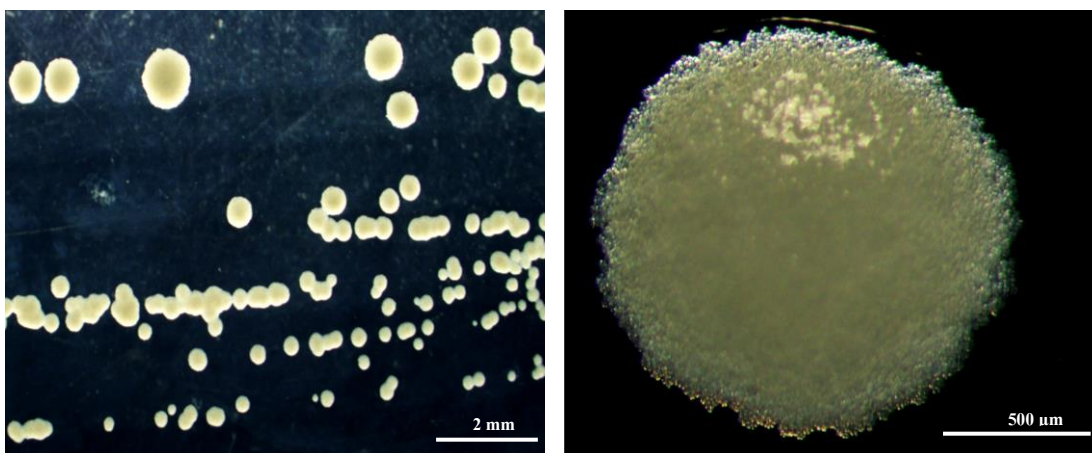
(A) Amoeboid cell (T) Tetard (V) Vegetative cell (Z) Zoospore

(ZS) Zoosporangium

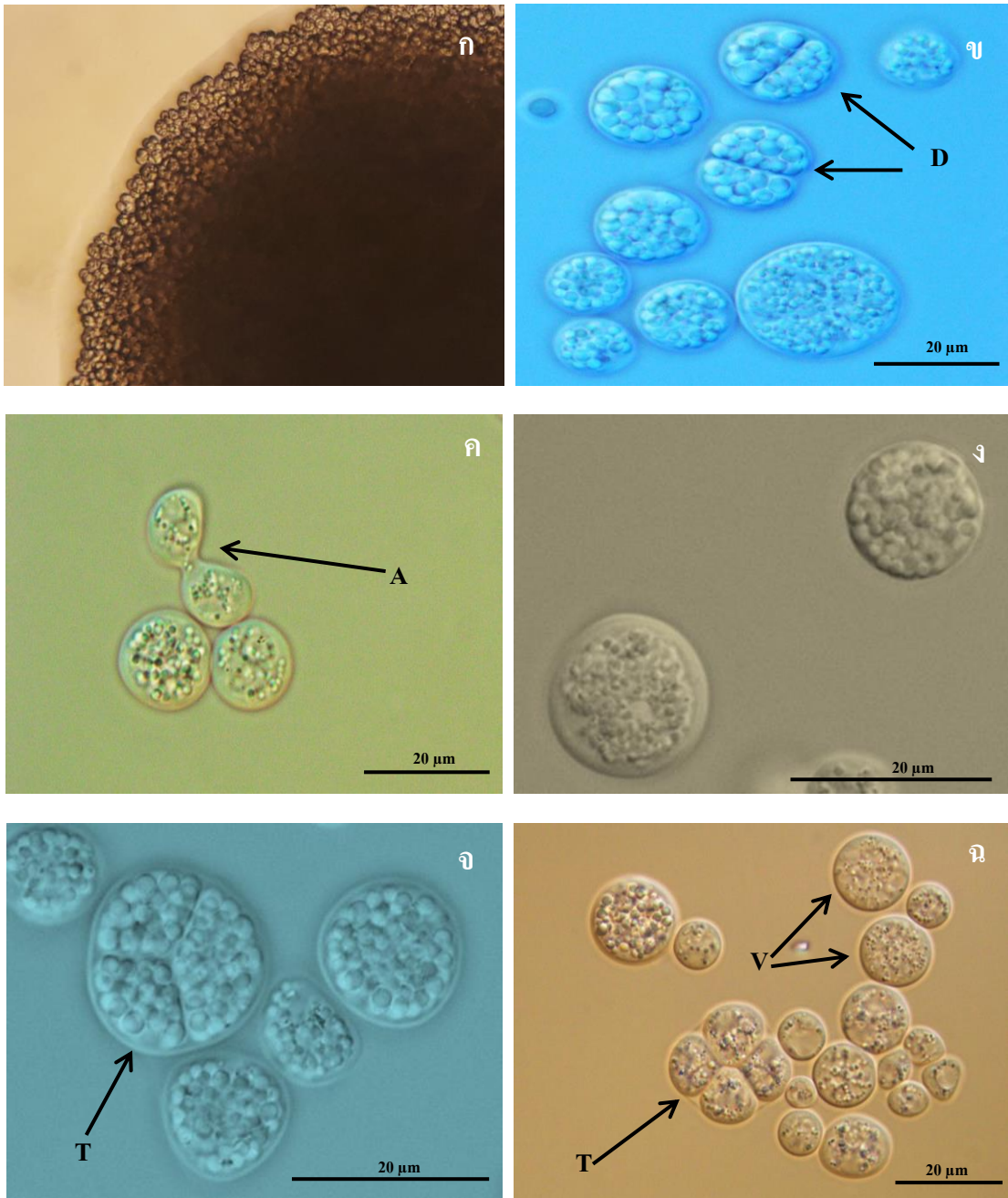
### 8. Thraustochytriidae 8

ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็ง GY พบว่าโคโลนีสีครีมทึบแสง โคโลนีมีความสูงจากผิวอาหารเล็กน้อย เนื้อโคโลนีคล้ายเนยเหลว เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์ห้วกลับพบว่าโคโลนีมีรูปร่างกลม ขนาดโคโลนี 2-3 มิลลิเมตร ขอบหยัก บริเวณตรงกลางโคโลนีมีความหนาแน่นของเซลล์มากที่สุด เนื่องจากมีความหนาแน่นมากทำให้มองไม่เห็นชัดเจน (ภาพที่ 4-15 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนมีการเจริญเป็นวงติดอยู่ด้านในขวดรูปชมพู่ ลักษณะขุ่นสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีลักษณะเกาะกลุ่ม เซลล์ปกติมีรูปร่างกลมขนาด 5-10 ไมโครเมตร ผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์ และพบการแบ่งตัวแบบ binary division ขนาดซุโอสปอร์ 2.5-5 ไมโครเมตร จากลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่ามีความใกล้เคียงกับจีนัส *Aurantiochytrium* (ภาพที่ 4-16 และตารางที่ 4-4)



ภาพที่ 4-15 ลักษณะโคโลนีของ Thraustochytriidae 8 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-16 ก) ลักษณะขอบ โคล โคลนีของ Thraustochytriidae 8 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

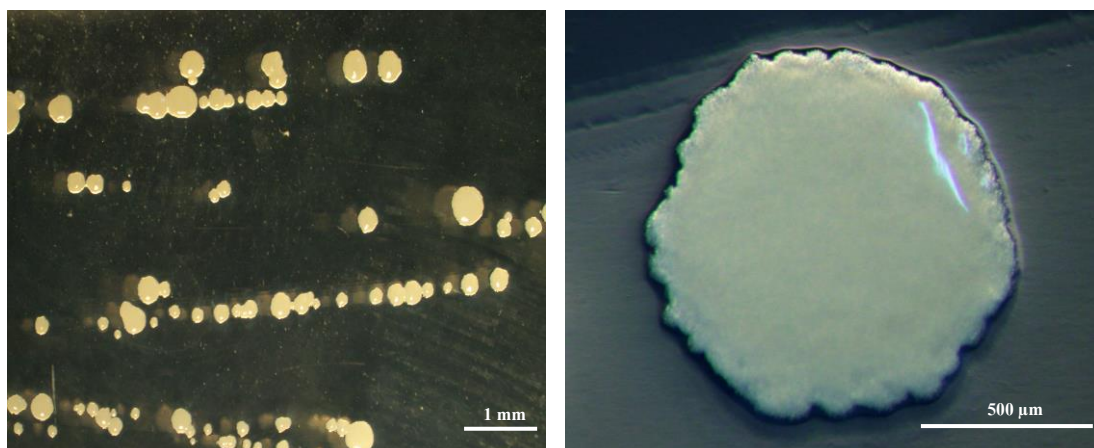
ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytriidae 8 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน

(A) Amoeboid cell (D) Diad (T) Tetard (V) Vegetative cell

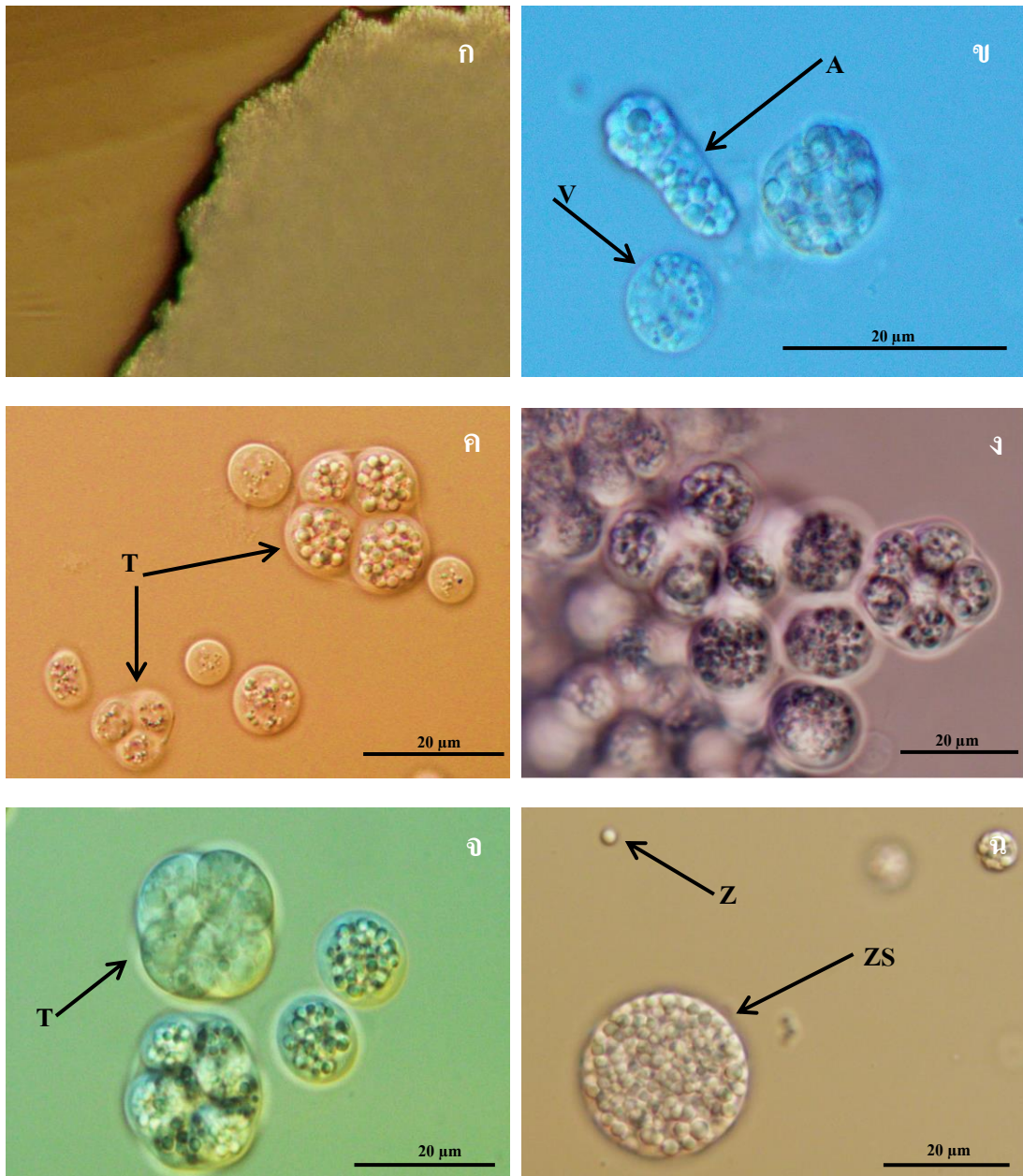
### 9. Thraustochytriidae 9

ลักษณะ โคลนินบนอาหารแข็ง GY มีสีครีมทึบแสง โคลนินสูงชันขึ้นมาเล็กน้อยจากผิวหน้าอาหาร เนื้อ โคลนินมีลักษณะนุ่มคล้ายเนยแข็ง เมื่อสังเกตใต้กล้องจุลทรรศน์หัวกลับพบว่า โคลนินมีรูปร่างกลม ขนาดโคลนิน 0.5-1 มิลลิเมตร ขอบหยักเล็กน้อย บริเวณขอบโคลนินไม่สามารถมองเห็นเซลล์ได้อย่างชัดเจนเนื่องจากเซลล์มีความหนาแน่นมาก (ภาพที่ 4-17 และตารางที่ 4-4)

เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว GY พบว่าเซลล์บางส่วนมีการเจริญเป็นวงติดอยู่ด้านในขวงรูปชมพู ลักษณะขุ่นสีครีม และเป็นตะกอนที่ก้นขวด เมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์มีลักษณะเกาะกลุ่ม เซลล์ปกติรูปร่างกลมขนาด 10-12.5 ไมโครเมตร มีผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์ และพบการแบ่งตัวแบบ binary division ขนาดซุโอสปอร์ 5 ไมโครเมตร จากลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่ามีความใกล้เคียงกับจีส *Aurantiochytrium* (ภาพที่ 4-18 และตารางที่ 4.4)



ภาพที่ 4-17 ลักษณะ โคลนินของ Thraustochytriidae 9 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 4-18 ก) ลักษณะขอบโคโลนีของ Thraustochytriidae 9 ที่เจริญบนอาหารแข็ง GY ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน  
 ข-ฉ) ลักษณะเซลล์ของ Thraustochytriidae 9 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เป็นเวลา 4 วัน  
 (A) Amoeboid cell (T) Tetard (V) Vegetative cell  
 (Z) Zoospore (ZS) Zoosporangium



ตารางที่ 4-4 ลักษณะโคโลนีและเซลล์ของทราสโตไคตริคัสเมื่อเลี้ยงในอาหารแข็ง และอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน

ลักษณะสัญญาณ	ทราสโตไคตริคัส								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. สีโคโลนี									
1.1 สีครีมทึบแสง	✓		✓	✓		✓		✓	✓
1.2 สีครีมโปร่งแสง					✓				
1.3 สีส้มอ่อน		✓							
1.4 สีเหลือง							✓		
2. ขอบโคโลนี									
2.1 ขอบหยัก		✓		✓			✓	✓	✓
2.2 ขอบเรียบ			✓			✓			
2.3 ขอบมีอะมิบอยด์เซลล์กระจายรอบ ๆ	✓				✓				
3. รูปร่างโคโลนี									
3.1 รูปร่างกลม		✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓
3.2 รูปร่างไม่แน่นอน	✓				✓				
4. เซลล์บริเวณขอบโคโลนี									
4.1 เซลล์มีรูปร่างกลมขนาดเล็ก	✓	✓	✓	✓	✓		✓		
4.2 เซลล์เป็นอะมิบอยด์เซลล์						✓			
4.3 ไม่สามารถระบุได้เนื่องจากโคโลนีหนาเกินไป								✓	✓
5. ความนุ่มของโคโลนี									
5.1 แบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
5.2 หนาสูงจากผิวหน้าอาหาร								✓	✓
6. เนื้อโคโลนี									
6.1 คล้ายเนยเหลว	✓	✓	✓		✓	✓			✓
6.2 เป็นแผ่นแข็ง				✓			✓		
6.3 นิ่มคล้ายหยดเนย								✓	
7. การเจริญของเซลล์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ชนิดเหลว									
7.1 เป็นตะกอนขุ่น	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓
7.2 เป็นตะกอนเซลล์อยู่ก้นขวดอาหารเลี้ยงเชื้อใส							✓		

หมายเหตุ 1 (*Aurantiochytrium* sp.1), 2 (*Aurantiochytrium* sp.2), 3 (*Aurantiochytrium* sp.3),

4 (*Aurantiochytrium* sp.4), 5 (*Aurantiochytrium* sp.5), 6 (*Parietichytrium* sp.),

7 (*Schizochytrium* sp.2), 8 (*Thraustochytriidae* 8), 9 (*Thraustochytriidae* 9)

ตารางที่ 4-4 (ต่อ)

ลักษณะพื้นฐาน	ทรอสโทโคตริคัส								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
8. เซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์									
กำลังขยาย 40 เท่า									
8.1 เซลล์กระจายตัวแบบเดี่ยว ๆ	✓			✓	✓				
8.2 เซลล์เกาะกลุ่ม		✓					✓	✓	✓
8.3 เซลล์เกาะกลุ่มแต่มีบางส่วนกระจายตัวเดี่ยว ๆ			✓			✓			
9. ผนังเซลล์									
9.1 ผนังเซลล์บาง	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
9.2 ผนังเซลล์หนา						✓			
10. การแบ่งตัว									
10.1 พบการแบ่งตัวแบบ binary division	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓
10.2 ไม่พบการแบ่งตัวแบบ binary division						✓			
11. อะมิบอยด์เซลล์									
11.1 พบระยะอะมิบอยด์เซลล์	✓	✓		✓	✓			✓	✓
11.2 พบอะมิบอยด์เซลล์มากใน 24 ชั่วโมงแรก			✓						
11.3 พบอะมิบอยด์เซลล์ขนาดใหญ่						✓			
11.4 พบอะมิบอยด์เซลล์จำนวนมาก							✓		
12. ขนาดโคโลนี (มม.)									
12.1 ขนาดน้อยกว่า 0.9 มม.		✓							✓
12.2 ขนาด 1-1.9 มม.						✓	✓		
12.3 ขนาด 2-2.9 มม.	✓		✓	✓				✓	
12.4 ขนาด 3 มม. ขึ้นไป					✓				

หมายเหตุ 1 (*Aurantiochytrium* sp.1), 2 (*Aurantiochytrium* sp.2), 3 (*Aurantiochytrium* sp.3),

4 (*Aurantiochytrium* sp.4), 5 (*Aurantiochytrium* sp.5), 6 (*Parietichytrium* sp.),

7 (*Schizochytrium* sp.2), 8 (*Thraustochytriidae* 8), 9 (*Thraustochytriidae* 9)

### 3. ความถี่ของการพบทอสปโตไคตริดส์แต่ละชนิดในแต่ละพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

#### 1. โกงกางใบเล็ก

เมื่อพิจารณาโกงกางใบเล็กพบทอสปโตไคตริดส์ทั้งสิ้น 7 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 63 ไอโซเลท จะเห็นได้ว่าฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 23 ไอโซเลท และฤดูฝน 40 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทอสปโตไคตริดส์ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่การพบ 50, 25 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทอสปโตไคตริดส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนพบทอสปโตไคตริดส์ 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ Thraustochytriidae 9 มีค่าความถี่การพบ 25, 20, 15, 10 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทอสปโตไคตริดส์มีความถี่การพบมากที่สุดคือ Thraustochytriidae 9 (ตารางที่ 4-5)

ตารางที่ 4-5 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทอสปโตไคตริดส์จากโกงกางใบเล็ก

พันธุ์ไม้	ทอสปโตไคตริดส์	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
โกงกางใบเล็ก	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	15	50	10	25
<i>(Rhizophora apiculata)</i>	<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	-	-	6	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	-	7	15
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	-	4	10
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	6	25	-	-
	Thraustochytriidae 8	-	-	13	50
	Thraustochytriidae 9	2	10	-	-

#### หมายเหตุ

- หมายถึงไม่พบทอสปโตไคตริดส์

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทอสปโตไคตริดส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 2. โกงกางใบใหญ่

เมื่อพิจารณา โกงกางใบใหญ่พบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 57 ไอโซเลท ฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทมากกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 37 ไอโซเลทและฤดูฝน 20 ไอโซเลท ในฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 8 โดยมีความถี่ของการพบ 70, 50 และ 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนพบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.3, Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 โดยมีความถี่การพบ 30, 20, 20 และ 20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 เช่นเดียวกับฤดูแล้ง (ตารางที่ 4-6)

ตารางที่ 4-6 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์จาก โกงกางใบใหญ่

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคส์	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
โกงกางใบใหญ่	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	19	70	7	30
<i>(Rhizophora mucronata)</i>	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	-	5	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	13	50	-	-
	Thraustochytriidae 8	5	20	4	20
	Thraustochytriidae 9	-	-	4	20

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคส์  

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 3. ตะบูนขาว

เมื่อพิจารณา ตะบูนขาวพบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 46 ไอโซเลท จะเห็นได้ว่าฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทมากกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 28 ไอโซเลท และฤดูฝน 18 ไอโซเลท ในฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคส์ 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5, Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 มีค่าความถี่การพบ 75, 20, 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุดคือ

*Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนพบทอัสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.4 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 30, 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทอัสโทโคตริคัสที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 เช่นเดียวกับฤดูแล้ง (ตารางที่ 4-7)

ตารางที่ 4-7 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทอัสโทโคตริคัสจากตะบูนขาว

พันธุ์ไม้	ทอัสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ตะบูนขาว	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	18	75	10	30
<i>(Xylocarpus granatum)</i>	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	-	3	10
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	6	20	-	-
	Thraustochytriidae 8	2	10	-	-
	Thraustochytriidae 9	2	5	5	15

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทอัสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทอัสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

#### 4. ดาตุ่มทะเล

เมื่อพิจารณาดาตุ่มทะเลพบทอัสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 37 ไอโซเลท จะเห็นได้ว่าฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน โดยฤดูแล้งมีเพียง 1 ไอโซเลท ส่วนฤดูฝนพบ 36 ไอโซเลท ในฤดูแล้งพบทอัสโทโคตริคัส 1 สปีชีส์คือ *Schizochytrium* sp.2 มีความถี่ของการพบ 5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฤดูฝนพบทอัสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 15, 30, 45 และ 35 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ทอัสโทโคตริคัส มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.5 (ตารางที่ 4-8)

ตารางที่ 4-8 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์จากตาคุ่มทะเล

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคส์	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ตาคุ่มทะเล	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	-	5	15
(Excoecaria agallocha)	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	-	6	30
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	-	-	15	45
	<i>Schizochytrium</i> sp.2	1	5	-	-
	Thraustochytriidae 9	-	-	10	35

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคส์

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

### 5. ปอทะเล

เมื่อพิจารณาปอทะเลพบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 34 ไอโซเลท ฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทมากกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 28 ไอโซเลทและฤดูฝน 6 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคส์ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 40, 20 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนพบทรอสโทโคตริคส์เพียง 2 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1 และ *Parietichytrium* sp. ซึ่งมีความถี่ของการพบ 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 (ตารางที่ 4-9)

ตารางที่ 4-9 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทროสโทโคตริคัสจากปอทะเล

พันธุ์ไม้	ทროสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ปอทะเล	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	13	40	4	15
( <i>Hibiscus tiliaceus</i> )	<i>Parietichytrium</i> sp.	-	-	2	10
	Thraustochytriidae 8	5	20	-	-
	Thraustochytriidae 9	10	35	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทროสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทროสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 6. โปรงขาว

เมื่อพิจารณาโปรงขาวพบทროสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 31 ไอโซเลท จะเห็นว่าฤดูแล้งพบจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 12 ไอโซเลทและฤดูฝน 19 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทროสโทโคตริคัส 2 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1 และ *Aurantiochytrium* sp.5 มีความถี่ของการพบ 40 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ทროสโทโคตริคัสที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนพบทროสโทโคตริคัส 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 9 ซึ่งมีความถี่ของการพบ 30, 20, 25 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทროสโทโคตริคัสที่มีความถี่การพบมากที่สุดในฤดูฝน คือ *Aurantiochytrium* sp.1 (ตารางที่ 4-10)

ตารางที่ 4-10 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์จากโปรงขาว

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคส์	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
โปรงขาว	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	8	40	6	30
( <i>Cerriops decandra</i> )	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	-	4	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	4	20	7	25
	Thraustochytriidae 9	-	-	2	10

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคส์

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 7. โปรงแดง

เมื่อพิจารณาโปรงแดงพบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 6 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 58 ไอโซเลท พบว่าทั้ง 2 ฤดูมีจำนวนไอโซเลทเท่ากัน โดยแบ่งเป็นฤดูแล้ง 29 ไอโซเลท และฤดูฝน 29 ไอโซเลท ซึ่งฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคส์ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 8 มีความถี่ของการพบ 55, 35 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ *Aurantiochytrium* sp.1 สำหรับฤดูฝน พบ ทรอสโทโคตริคส์ 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp. และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 30, 5, 20, 5 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคส์ที่มีความถี่การพบมากที่สุด คือ Thraustochytriidae 9 (ตารางที่ 4-11)



ตารางที่ 4-11 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทไคตริคส์จากโปรงแดง

พันธุ์ไม้	ทรอสโทไคตริคส์	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
โปรงแดง	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	18	55	8	30
( <i>Ceriops tagal</i> )	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	-	2	5
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	7	35	5	20
	<i>Parietichytrium</i> sp.	-	-	1	5
	Thraustochytriidae 8	4	20	-	-
	Thraustochytriidae 9	-	-	13	50

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทไคตริคส์

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริคส์ (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

#### 8. ฝาดดอกขาว

เมื่อพิจารณาฝาดดอกขาวพบทรอสโทไคตริคส์ทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 25 ไอโซเลท พบว่าฤดูแล้งมีจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 7 ไอโซเลท และฤดูฝน 18 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทรอสโทไคตริคส์เพียง 1 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1 มีความถี่การพบ 25 เปอร์เซ็นต์ ส่วนฤดูฝนพบทรอสโทไคตริคส์ 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp. และ Thraustochytriidae 8 มีความถี่ของการพบ 15, 25, 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทไคตริคส์ในฤดูฝนมีความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.5 (ตารางที่ 4-12)

ตารางที่ 4-12 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากฝาดดอกขาว

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ฝาดดอกขาว	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	7	25	-	-
(Lumnitzera racemosa)	<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	-	3	15
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	-	-	9	25
	<i>Parietichytrium</i> sp.	-	-	4	15
	Thraustochytriidae 8	-	-	2	10

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

#### 9. พังกาหัวสุ่มดอกแดง

เมื่อพิจารณาพังกาหัวสุ่มดอกแดงพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 2 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 8 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคัส 2 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1 และ *Aurantiochytrium* sp.5 มีความถี่ของการพบ 25 และ 5 เปอร์เซ็นต์ และทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดในฤดูแล้งคือ *Aurantiochytrium* sp.1 ส่วนฤดูฝนไม่พบทรอสโทโคตริคัส (ตารางที่ 4-13)

ตารางที่ 4-13 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากพังกาหัวสุ่มดอกแดง

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
พังกาหัวสุ่มดอกแดง	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	7	25	-	-
( <i>Bruguiera gymnorhiza</i> )	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	1	5	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 10. ลำพูทะเล

เมื่อพิจารณาลำพูทะเลพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 6 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 36 ไอโซเลท พบว่าฤดูแล้งมีจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน ซึ่งแบ่งเป็นฤดูแล้ง 12 ไอโซเลท และฤดูฝน 24 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5, *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 มีความถี่ของการพบ 20, 25, 5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.5 สำหรับฤดูฝนพบทรอสโทโคตริคัส 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp. และ *Thraustochytriidae* 8 มีความถี่ของการพบ 15, 25, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Thraustochytriidae* 8 (ตารางที่ 4-14)

ตารางที่ 4-14 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากลำพูทะเล

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ลำพูทะเล	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	5	20	3	15
(Sonneratia alba)	<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	-	-	6	25
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	5	25	3	15
	<i>Parietichytrium</i> sp.	-	-	5	20
	<i>Thraustochytriidae</i> 8	1	5	7	30
	<i>Thraustochytriidae</i> 9	1	5	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 11. ลำแพน

เมื่อพิจารณาลำแพนพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 6 สปีชีส์ คัดแยกได้ทั้งหมด 47

ไอโซเลท พบว่าฤดูแล้งมีจำนวนไอโซเลทน้อยกว่าฤดูฝน โดยแบ่งเป็นฤดูแล้ง 21 ไอโซเลท และ ฤดูฝน 26 ไอโซเลท ซึ่งฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 60, 25 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 สำหรับ ฤดูฝนพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.5 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 30, 20, 20, 30 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 และ *Aurantiochytrium* sp.5 (ตารางที่ 4-15)

ตารางที่ 4-15 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากลำแพน

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
ลำแพน ( <i>Sonneratia ovata</i> )	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	14	60	6	30
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	-	-	5	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	-	5	20
	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	5	25	7	30
	Thraustochytriidae 8	-	-	3	15
	Thraustochytriidae 9	2	5	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

## 12. แสมทะเล

เมื่อพิจารณาแสมทะเลพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 5 สปีชีส์ มีไอโซเลททั้งหมด 44 ไอโซเลท พบว่าฤดูแล้งมีจำนวนไอโซเลทมากกว่าฤดูฝน แบ่งเป็นฤดูแล้ง 34 ไอโซเลท และฤดูฝน 10 ไอโซเลท โดยฤดูแล้งพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 4 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5, Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 มีความถี่ของการพบ 75, 35, 5 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 สำหรับฤดูฝนพบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 3 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5 และ *Parietichytrium* sp. มีความถี่ของการพบ 25, 10 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทรอสโทโคตริคัสที่มีค่าความถี่การพบมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.1 เช่นเดียวกับฤดูแล้ง (ตารางที่ 4-16)

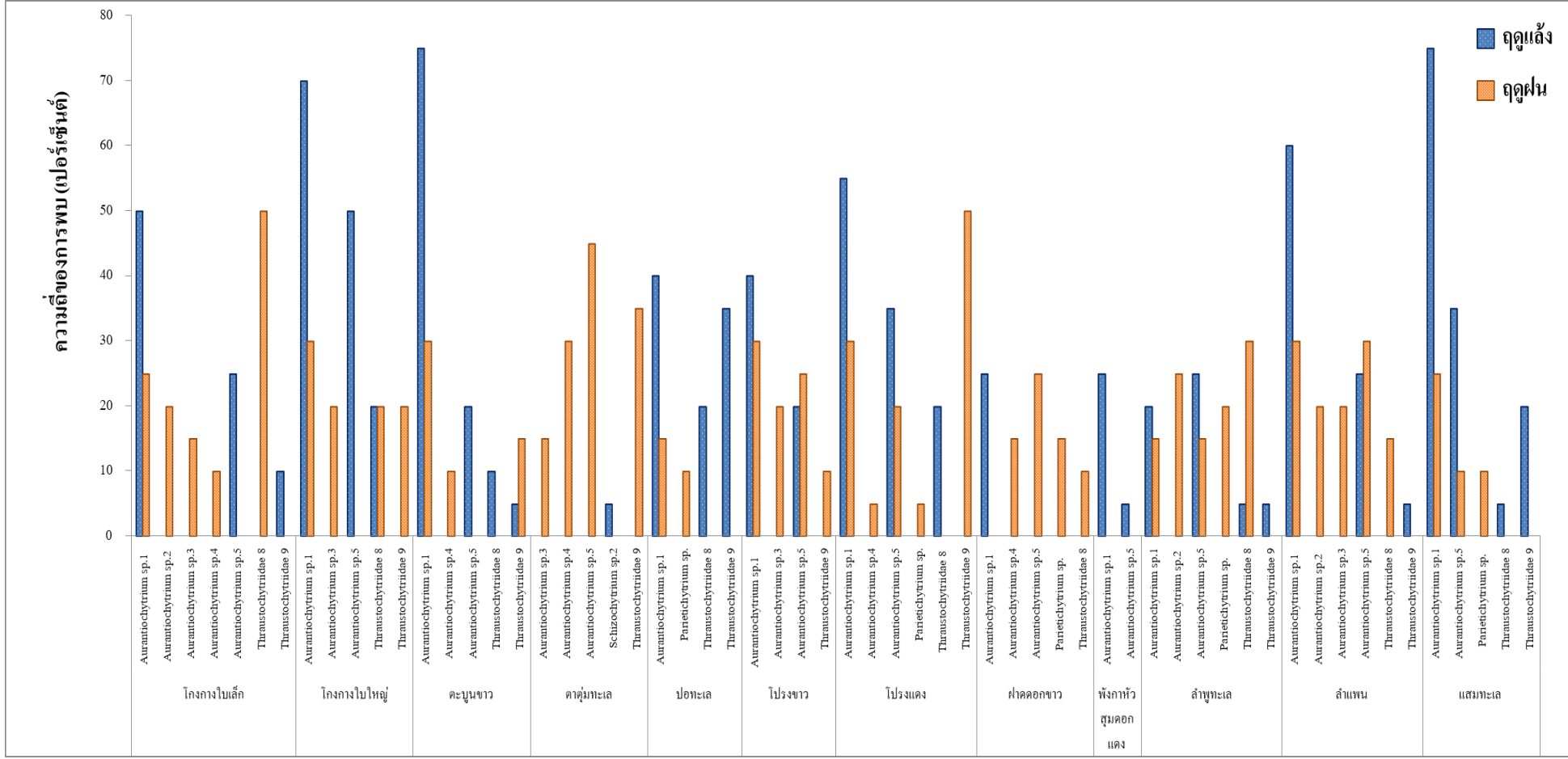
ตารางที่ 4-16 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสจากแสมทะเล

พันธุ์ไม้	ทรอสโทโคตริคัส	ฤดูแล้ง		ฤดูฝน	
		จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)	จำนวนไอโซเลท	ความถี่ของการพบ (เปอร์เซ็นต์)
แสมทะเล	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	21	75	6	25
(Avicennia marina)	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	8	35	2	10
	<i>Parietichytrium</i> sp.	-	-	2	10
	Thraustochytriidae 8	1	5	-	-
	Thraustochytriidae 9	4	20	-	-

หมายเหตุ - หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัส

$$\text{ความถี่การพบ (\%)} = \frac{\text{จำนวนใบที่พบทรอสโทโคตริคัส (แต่ละชนิด)} \times 100}{\text{จำนวนใบทั้งหมดของตัวอย่าง (แต่ละชนิด)}}$$

จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์จากใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในช่วงทั้ง 2 ฤดูกาล พบว่า *Aurantiochytrium* sp.1 มีความถี่ของการพบสูงกว่าสปีชีส์อื่น โดยเฉพาะตะบูนขาวและแสมทะเลในฤดูแล้ง (ภาพที่ 4-19)



ภาพที่ 4-19 ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์จากใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในฤดูแล้งและฤดูฝน

## ตอนที่ 2 ชีวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ จากใบไม้ที่ร่วงหล่นในป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

### 1. ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัส

จากการเลี้ยงทรอสโทโคตริคัสด้วยอาหารเหลว GY เป็นเวลา 4 วัน ที่คัดเลือกมาสปีชีส์ละ 5 ไอโซเลท เพื่อศึกษาผลผลิตชีวมวล พบว่าทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งทั้ง 5 สปีชีส์ คือ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5, *Schizochytrium* sp.2, *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 มีผลผลิตชีวมวลจากไอโซเลทที่คัดแยกได้เท่ากับ 21.28, 19.15, 2.05, 15.63 และ 19.27 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่า *Aurantiochytrium* sp.1 มีผลผลิตชีวมวลมากที่สุด ส่วนทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูฝนพบทั้งสิ้น 8 สปีชีส์ คือ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp., *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 ผลผลิตชีวมวลจากไอโซเลทที่คัดแยกได้เท่ากับ 22.58, 22.11, 22.87, 21.84, 22.83, 22.47, 21.41 และ 21.56 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งสปีชีส์ที่มีผลผลิตชีวมวลมากที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp.5

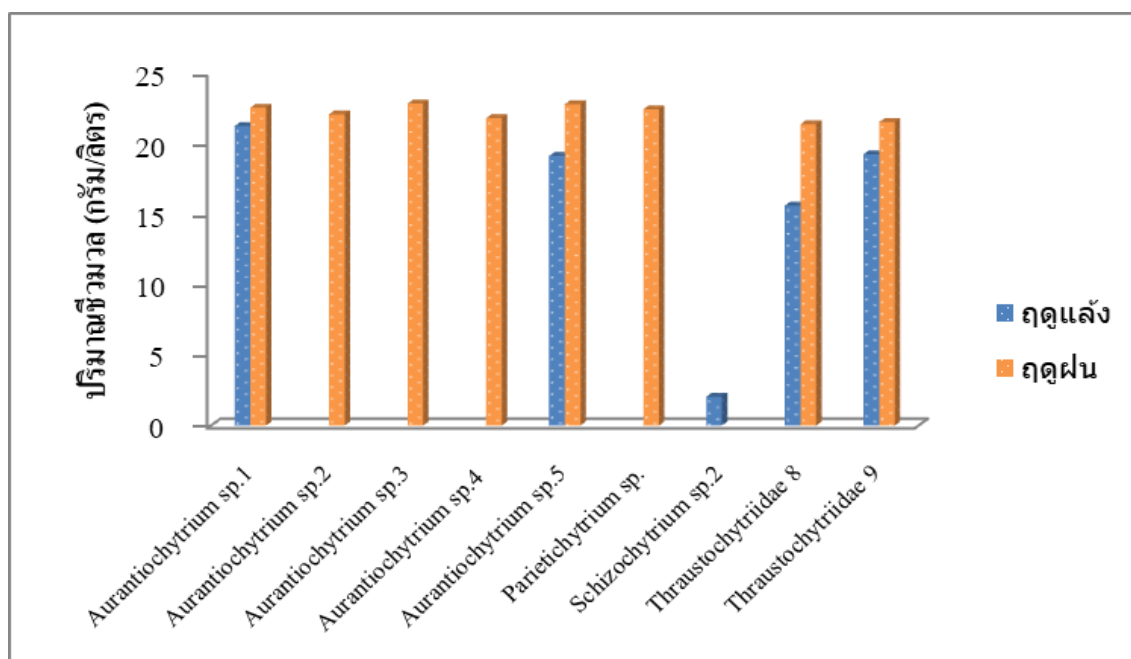
สำหรับค่าเฉลี่ยผลผลิตชีวมวลโดยรวมทั้งสองฤดูของทรอสโทโคตริคัสทั้ง 9 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp., *Schizochytrium* sp.2, *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตชีวมวลเท่ากับ 21.93, 22.11, 22.87, 21.84, 20.99, 22.47, 2.05, 18.52 และ 20.42 กรัมต่อลิตร ซึ่ง *Aurantiochytrium* sp.3 มีค่าเฉลี่ยผลผลิตชีวมวลมากที่สุด และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยผลผลิตชีวมวลน้อยที่สุดคือ *Schizochytrium* sp.2 ดังตารางที่ 4-17 และภาพที่ 4-20

ตารางที่ 4-17 ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

ทรอสโทโคตริคัส	ผลผลิตชีวมวลจากไอโซเลทที่คัดแยกได้		ค่าเฉลี่ยผลผลิตชีวมวล (กรัมต่อลิตร)
	ฤดูแล้ง (กรัมต่อลิตร)	ฤดูฝน (กรัมต่อลิตร)	
<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	21.28±0.80	22.58±0.96	21.93±0.92
<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	-	22.11±1.47	22.11±1.47
<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	-	22.87±0.80	22.87±0.80
<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	-	21.84±0.94	21.84±0.94
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	19.15±2.35	22.83±0.21	20.99±2.60
<i>Parietichytrium</i> sp.	-	22.47±0.33	22.47±0.33
<i>Schizochytrium</i> sp.2	2.05±0.07	-	2.05±0.07
Thraustochytriidae 8	15.63±3.03	21.41±2.86	18.52±4.08
Thraustochytriidae 9	19.27±3.66	21.56±1.37	20.42±1.62

หมายเหตุ ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± Standard deviation จากสปีชีส์ละ 5 ไอโซเลท (n=5)

- หมายถึงไม่พบทรอสโทโคตริคัสในช่วงฤดูที่ศึกษา



ภาพที่ 4-20 ปริมาณชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์จากใบไม้ป่าชายเลนแต่ละชนิดที่เก็บจากทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในฤดูแล้งและฤดูฝน



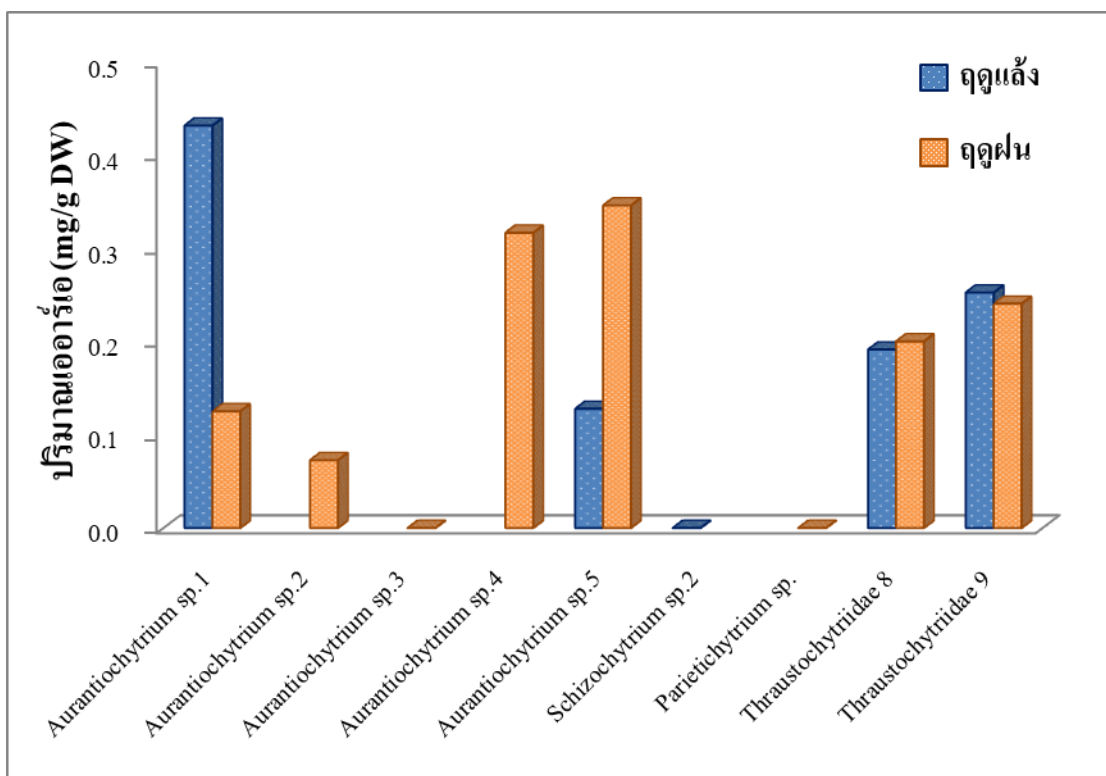
## 2. กรดไขมันในทรอสโทโคตริคัส

ทรอสโทโคตริคัสสามารถผลิตกรดไขมันได้หลากหลายชนิดทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว จากผลการศึกษาระดับปริมาณกรดไขมันในทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในฤดูแล้งจำนวน 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.5, *Schizochytrium* sp.2, *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 ส่วนฤดูฝนมีจำนวน 8 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Parietichytrium* sp., *Thraustochytriidae* 8 และ *Thraustochytriidae* 9 นำมาวิเคราะห์กรดไขมัน ตัวอย่างสปีชีส์ละ 5 ไอโซเลท พบว่า มีชนิดและปริมาณกรดไขมันที่หลากหลาย ทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว เช่น Palmitic acid (C16:0), Stearic acid (C18:0) และ Oleic acid (C18:1n-9) เป็นต้น (ตารางที่ 4-18 และตารางที่ 4-19) แต่กรดไขมันชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอและดีเอชเอ

### กรดไขมันเออาร์เอ

ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนทุกสปีชีส์ ตัวอย่างสปีชีส์ละ 5 ไอโซเลท พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันเออาร์เอจาก *Aurantiochytrium* sp. 1 ที่คัดแยกในฤดูแล้ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.43 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Thraustochytriidae* 9 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.25 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.06 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) สปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 5 เท่ากับ 0.13 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.04 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับ *Schizochytrium* sp.2 ในฤดูแล้ง *Aurantiochytrium* sp. 3 และ *Parietichytrium* sp. ในฤดูฝน ไม่พบกรดไขมันเออาร์เอ

สำหรับทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในฤดูฝนทั้ง 8 สปีชีส์ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันเออาร์เอมากที่สุด ใน *Aurantiochytrium* sp. 5 มีเท่ากับ 0.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.08 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp. 4 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.32 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.07 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 2 เท่ากับ 0.07 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.04 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) (ภาพที่ 4-21, ตารางที่ 4-19)



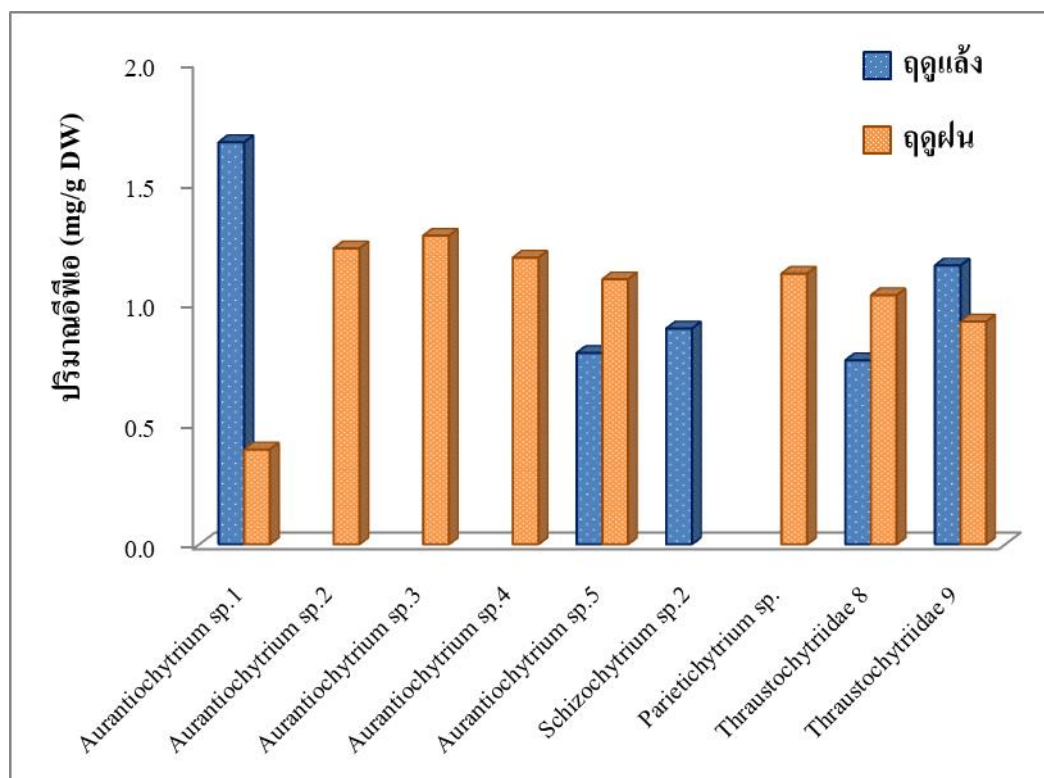
ภาพที่ 4-21 ปริมาณกรดไขมันเออาร์เอจากทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

#### กรดไขมันอีพีเอ

ผลการศึกษาของปริมาณกรดไขมันอีพีเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนทุกสปีชีส์ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งทั้ง 5 สปีชีส์ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอมากที่สุดจาก *Aurantiochytrium* sp. 1 เท่ากับ 1.67 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Thraustochytriidae* 9 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอเท่ากับ 1.16 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.03 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอน้อยที่สุดคือ *Thraustochytriidae* 8 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.76 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.21 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

สำหรับค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูฝนทั้ง 8 สปีชีส์ โดย *Aurantiochytrium* sp. 3 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอมากที่สุดเท่ากับ 1.28 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.29 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp. 2 ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอเท่ากับ 1.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนัก

แห้ง (0.32 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) สปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันอีพีเอน้อยที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 เท่ากับ 0.39 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.12 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) (ภาพที่ 4-22, ตารางที่ 4-19 และตารางที่ 4-20)

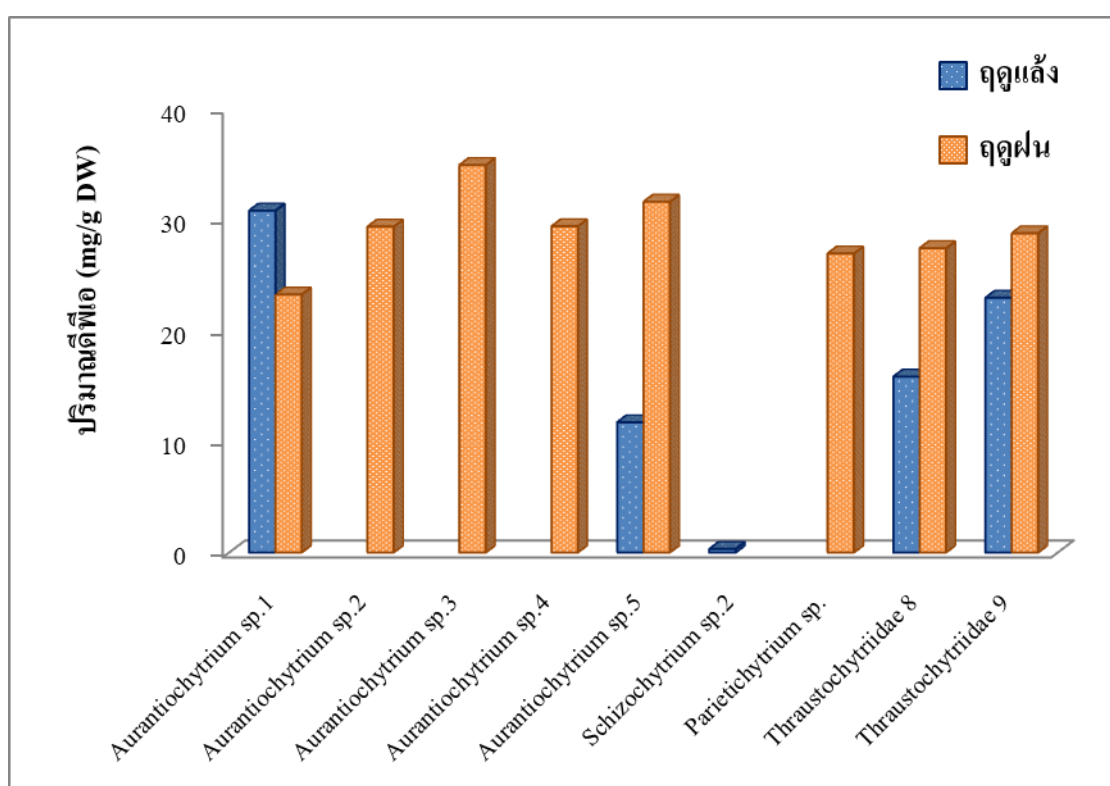


ภาพที่ 4-22 ปริมาณกรดไขมันอีพีเอนอกจากทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

#### กรดไขมันดีพีเอ

ผลการศึกษาของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนอกจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนทุกสปีชีส์ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนอกจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งทั้ง 5 สปีชีส์ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนมากที่สุดจาก *Aurantiochytrium* sp. 1 เท่ากับ 30.79 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (6.41 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ Thraustochytriidae 9 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนเท่ากับ 22.94 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (5.97 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอน้อยที่สุดคือ *Schizochytrium* sp.2 เท่ากับ 0.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.72 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

สำหรับค่าเฉลี่ยของดีพีเอกจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูฝนทั้ง 8 สปีชีส์ โดย *Aurantiochytrium* sp. 3 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนมากที่สุดเท่ากับ 34.90 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.06 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp. 5 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอนเท่ากับ 31.59 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (7.82 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ กรดไขมันดีพีเอนน้อยที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 เท่ากับ 23.24 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (6.33 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) (ภาพที่ 4-23, ตารางที่ 4-19)



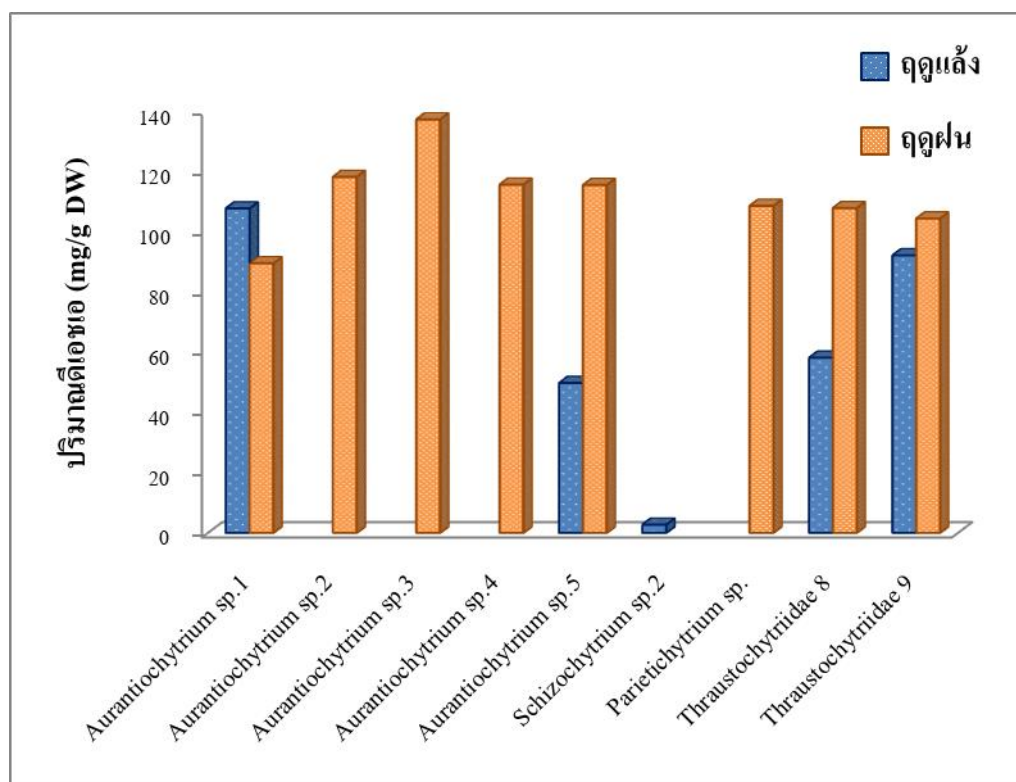
ภาพที่ 4-23 ปริมาณกรดไขมันดีพีเอนจากทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

#### กรดไขมันดีเอชเอ

ผลการศึกษาของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝนทุกสปีชีส์ พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งทั้ง 5 สปีชีส์ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอมากที่สุดจาก *Aurantiochytrium* sp. 1 เท่ากับ 107.72 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (23.04 เปอร์เซ็นต์ของ

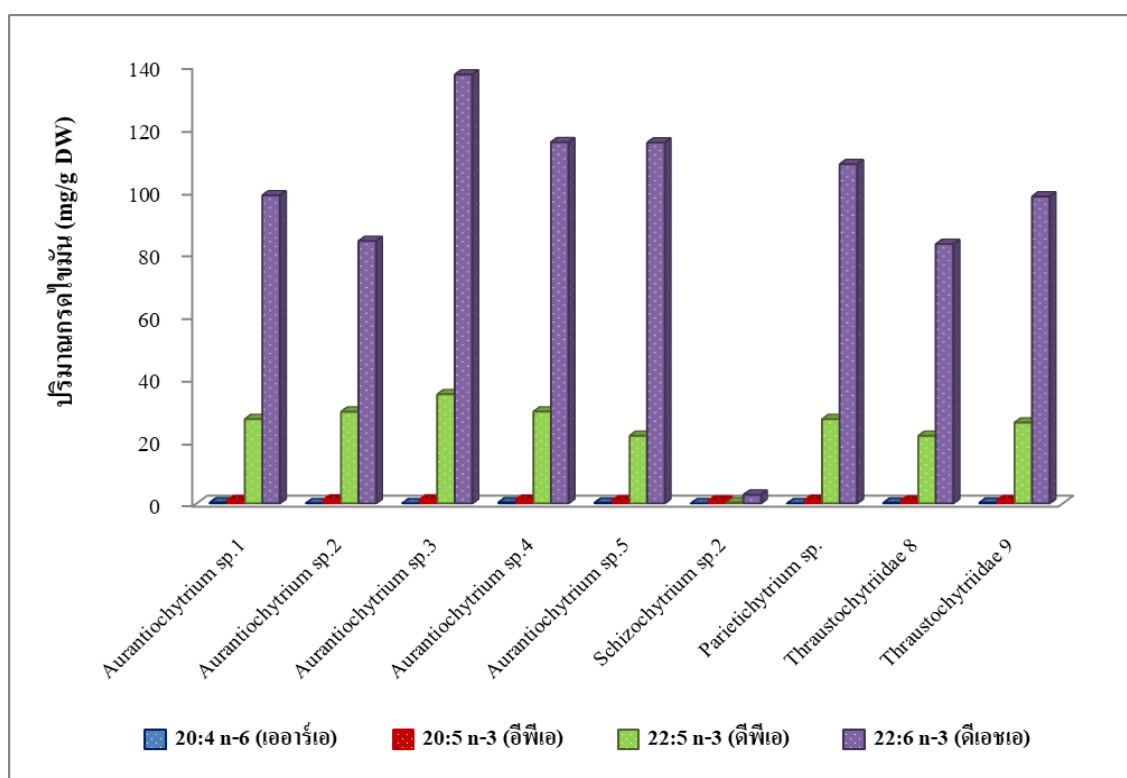
กรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ Thraustochytriidae 9 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 92.10 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (23.79 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอน้อยที่สุดคือ *Schizochytrium* sp.2 เท่ากับ 2.76 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (6.43 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด)

สำหรับค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอจากทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกในช่วงฤดูฝนทั้ง 8 สปีชีส์ โดย *Aurantiochytrium* sp. 3 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีพีเอมากที่สุดเท่ากับ 137.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (31.68 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp. 2 มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 118.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (30.18 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ส่วนสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันดีเอชเอน้อยที่สุดคือ *Aurantiochytrium* sp. 1 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 89.46 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (24.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) (ภาพที่ 4-24, ตารางที่ 4-19)



ภาพที่ 4-24 ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอจากทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์ที่คัดแยกในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

ผลการศึกษาของปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอจาก ทรอสโทไลดรีดส์ที่คัดแยกได้ในช่วงฤดูแล้ง และฤดูฝนทุกสปีชีส์ พบว่าปริมาณกรดไขมันดีเอชเอ สูงกว่ากรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอและดีพีเอ โดย *Aurantiochytrium* sp. 3 เป็นสปีชีส์ที่มีค่าเฉลี่ยของ ปริมาณกรดไขมันดีเอชเอเท่ากับ 137.23 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (31.68 เปอร์เซ็นต์ของ กรดไขมันทั้งหมด) ซึ่งเป็นปริมาณที่มากที่สุดจากการศึกษาในครั้งนี้ ส่วนกรดไขมันดีพีเอมี ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดไขมันมากที่สุดเท่ากับ 34.90 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.06 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) โดย *Aurantiochytrium* sp. 3 เป็นสปีชีส์ที่มีปริมาณกรดไขมันดี พีเอมากที่สุดเช่นเดียวกับกรดไขมันดีเอชเอ สำหรับกรดไขมันอีพีเอมีค่าเฉลี่ยของปริมาณ กรดไขมันเท่ากับ 1.67 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.35 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ซึ่ง *Aurantiochytrium* sp. 1 เป็นสปีชีส์ที่มีปริมาณกรดไขมันอีพีเอมากที่สุดและกรดไขมันเออาร์เอ เป็นกรดไขมันที่มีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกรดไขมันอีพีเอ ดีพีเอและดีเอชเอ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.43 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.1 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) โดย *Aurantiochytrium* sp. 1 เป็นสปีชีส์ที่มีปริมาณกรดไขมันดีพีเอมากที่สุดเช่นเดียวกับกรดไขมันอีพีเอ (ภาพที่ 4-25)



ภาพที่ 4-25 กรดไขมันเออาร์เอ, อีพีเอ, ดีพีเอและดีเอชเอ ของทรอสโทไลดรีดส์ที่คัดแยกจาก ใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทองในช่วงฤดูแล้งและฤดูฝน

ตารางที่ 4-18 ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในช่วงฤดูแล้ง

กรดไขมัน	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1		<i>Aurantiochytrium</i> sp.5		<i>Schizochytrium</i> sp.2		Thraustochytriidae 8		Thraustochytriidae 9	
	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA
12:0	0.39±0.05	0.10±0.02	0.21±0.16	0.06±0.05	0.07±0.01	0.15±0.02	0.34±0.10	0.11±0.02	0.32±0.17	0.09±0.04
13:0	8.84±11.46	1.73±2.19	0.74±0.23	0.24±0.07	0.94±0.06	2.20±0.10	4.79±8.77	1.16±1.86	4.67±9.02	1.01±1.79
14:0	12.20±1.31	3.01±0.79	12.03±2.22	3.93±1.00	0.85±0.08	1.97±0.15	10.49±2.17	3.50±0.49	11.97±3.02	3.34±0.62
14:1	0.68±0.37	0.15±0.07	0.44±0.47	0.13±0.13	0.00±0.00	0.00±0.00	0.38±0.30	0.11±0.07	0.63±0.30	0.16±0.05
15:0	23.09±2.85	5.79±2.10	21.67±1.69	7.00±0.69	7.36±0.28	17.13±0.41	23.15±2.82	7.93±1.90	21.79±2.78	6.17±0.92
16:0	193.77±19.67	48.30±15.21	190.09±39.46	62.33±17.43	10.66±0.54	24.78±0.90	169.50±31.72	57.64±12.88	183.75±31.21	52.37±11.72
16:1	0.85±0.34	0.19±0.04	0.46±0.40	0.14±0.12	0.15±0.00	0.36±0.00	0.54±0.38	0.16±0.08	0.72±0.35	0.19±0.07
17:0	5.94±0.59	1.49±0.52	5.27±0.63	1.71±0.28	5.95±0.06	13.84±0.06	6.49±0.54	2.26±0.71	5.89±0.95	1.68±0.39
17:1	0.52±0.62	0.10±0.12	0.07±0.03	0.02±0.01	1.07±1.44	2.45±3.32	0.25±0.39	0.06±0.08	0.26±0.33	0.06±0.06
18:0	6.87±0.95	1.70±0.49	6.57±1.23	2.15±0.54	1.80±0.02	4.18±0.01	6.06±1.05	2.08±0.51	6.41±1.02	1.83±0.45
18:1	0.42±0.16	0.10±0.03	0.22±0.31	0.07±0.09	3.44±0.04	7.99±0.03	1.65±2.93	0.53±0.97	0.55±0.25	0.15±0.05
18:3 n-6	0.30±0.22	0.06±0.04	0.09±0.10	0.03±0.03	1.27±0.01	2.96±0.08	0.15±0.13	0.05±0.02	0.19±0.09	0.05±0.02
18:3 n-3	0.40±0.24	0.09±0.04	0.19±0.16	0.06±0.05	0.09±0.00	0.20±0.01	0.24±0.14	0.08±0.02	0.34±0.16	0.09±0.03
20:0	1.59±0.51	0.38±0.08	1.01±0.30	0.33±0.11	0.48±0.00	1.11±0.02	1.11±0.23	0.38±0.10	1.23±0.18	0.36±0.12
20:2	0.19±0.11	0.05±0.03	0.12±0.11	0.04±0.04	0.40±0.02	0.94±0.06	0.11±0.15	0.04±0.06	0.09±0.12	0.02±0.03
20:3 n-6	0.67±0.79	0.17±0.18	1.09±1.12	0.33±0.33	0.35±0.01	0.83±0.04	0.53±0.48	0.19±0.17	1.04±0.80	0.30±0.20
20:4 n-6 (เออาร์เอ)	0.43±0.20	0.10±0.04	0.13±0.18	0.04±0.05	0.00±0.00	0.00±0.00	0.19±0.17	0.06±0.03	0.25±0.18	0.06±0.04
20:5 n-3 (อีพีเอ)	1.67±1.17	0.35±0.20	0.79±0.86	0.24±0.25	0.90±0.06	2.08±0.17	0.76±0.81	0.21±0.15	1.16±0.71	0.30±0.13
22:1	0.72±0.83	0.15±0.15	0.09±0.12	0.03±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.32±0.68	0.07±0.15	0.28±0.63	0.06±0.13
22:5 n-3 (ดีพีเอ)	30.79±25.16	6.41±4.72	11.73±11.48	3.54±3.26	0.31±0.02	0.72±0.05	15.84±14.47	4.59±2.78	22.94±12.59	5.97±2.35
22:6 n-3 (ดีเอชเอ)	107.72±71.96	23.04±12.20	49.75±53.59	14.92±15.38	2.76±0.28	6.43±0.75	58.14±54.94	16.72±10.60	92.10±53.16	23.79±10.35
Other	24.61±26.06	5.89±5.85	8.22±1.89	2.65±0.62	4.15±1.48	9.68±3.58	6.36±4.18	2.07±1.12	7.24±2.49	1.96±0.44
Total	424.97±100.55	100.00±0.00	310.99±28.21	100.00±0.00	42.99±0.63	100.00±0.00	307.39±93.66	100.00±0.00	363.83±93.34	100.00±0.00

ตารางที่ 4-19 ปริมาณกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในช่วงฤดูฝน

กรดไขมัน	<i>Aurantiochytrium</i> sp.1		<i>Aurantiochytrium</i> sp.2		<i>Aurantiochytrium</i> sp.3		<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	
	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA
12:0	0.22±0.14	0.06±0.03	0.25±0.14	0.07±0.04	0.18±0.14	0.04±0.03	0.22±0.15	0.05±0.03
13:0	1.07±0.18	0.30±0.08	1.01±0.12	0.31±0.15	1.02±0.11	0.24±0.04	1.00±0.25	0.25±0.07
14:0	11.76±0.65	3.27±0.32	10.53±3.64	2.84±0.33	12.51±1.59	2.92±0.33	12.31±1.74	3.06±0.30
14:1	0.23±0.15	0.06±0.04	0.46±0.26	0.11±0.06	0.40±0.06	0.10±0.03	0.38±0.18	0.09±0.04
15:0	15.00±1.56	4.18±0.62	16.07±5.97	4.34±0.53	16.74±4.58	3.83±0.47	13.65±8.59	3.67±2.28
16:0	191.25±10.46	53.30±6.81	160.69±60.11	42.72±4.03	195.38±20.50	45.49±2.79	185.27±31.22	46.12±7.29
16:1	1.32±1.90	0.34±0.46	0.60±0.29	0.15±0.05	0.64±0.21	0.15±0.04	1.91±2.93	0.39±0.52
17:0	3.44±1.84	0.99±0.54	4.63±1.73	1.25±0.12	12.47±16.14	3.26±4.71	3.48±1.82	0.94±0.53
17:1	0.25±0.20	0.07±0.05	0.16±0.10	0.06±0.05	0.15±0.09	0.04±0.02	0.30±0.35	0.07±0.06
18:0	6.44±0.12	1.79±0.21	5.41±2.13	1.42±0.25	6.63±0.54	1.55±0.18	6.10±1.05	1.52±0.26
18:1	0.33±0.04	0.09±0.01	0.38±0.19	0.10±0.03	0.42±0.09	0.10±0.02	0.36±0.12	0.09±0.02
18:3 n-6	0.22±0.04	0.06±0.01	0.26±0.13	0.06±0.02	0.29±0.07	0.07±0.01	0.36±0.23	0.08±0.04
18:3 n-3	0.41±0.06	0.11±0.01	0.51±0.27	0.13±0.04	0.59±0.17	0.14±0.02	0.86±0.44	0.21±0.10
20:0	1.24±0.36	0.35±0.10	1.06±0.51	0.28±0.11	1.41±0.27	0.34±0.10	0.92±0.43	0.23±0.12
20:2	0.29±0.28	0.08±0.07	0.03±0.07	0.02±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.24±0.34	0.05±0.07
20:3 n-6	0.85±0.15	0.23±0.02	1.14±0.60	0.29±0.14	1.20±0.13	0.28±0.04	0.75±0.43	0.19±0.11
20:4 n-6 (เออาร์เอ)	0.13±0.12	0.03±0.03	0.07±0.16	0.04±0.09	0.00±0.00	0.00±0.00	0.32±0.46	0.07±0.10
20:5 n-3 (อีพีเอ)	0.39±0.27	0.12±0.09	1.23±0.57	0.32±0.07	1.28±0.41	0.29±0.05	1.19±0.43	0.29±0.06
22:1	0.12±0.16	0.03±0.04	0.10±0.23	0.06±0.14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:5 n-3 (ดีพีเอ)	23.24±7.17	6.33±1.53	29.35±13.99	7.42±1.98	34.90±6.17	8.06±0.53	29.38±8.88	7.12±1.16
22:6 n-3 (ดีเอชเอ)	89.46±27.82	24.35±5.91	118.17±54.31	30.18±7.24	137.23±25.61	31.68±2.72	115.60±37.43	27.92±5.04
Other	14.62±13.26	3.86±3.09	19.01±16.69	7.82±11.32	9.28±27.79	1.45±6.24	32.47±23.37	7.58±4.47
Total	362.27±37.73	100.00±0.00	371.13±127.18	100.00±0.00	432.72±70.00	100.00±0.00	407.06±83.30	100.00±0.00



ตารางที่ 4-19 (ต่อ)

กรดไขมัน	<i>Aurantiochytrium</i> sp.5		<i>Parietichytrium sarkarianum</i>		Thraustochytriidae 8		Thraustochytriidae 9	
	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA	mg/g dry wt.	% of total FA
12:0	0.27±0.13	0.07±0.03	0.17±0.16	0.04±0.04	0.17±0.13	0.05±0.03	0.13±0.12	0.03±0.03
13:0	0.81±0.17	0.20±0.05	0.94±0.18	0.25±0.07	0.91±0.09	0.28±0.10	0.86±0.12	0.20±0.05
14:0	11.37±1.21	2.82±0.36	11.60±0.34	3.04±0.26	9.99±3.13	2.81±0.38	11.86±1.08	2.82±0.63
14:1	0.21±0.22	0.05±0.06	0.48±0.15	0.12±0.04	0.34±0.16	0.09±0.04	0.37±0.25	0.09±0.06
15:0	17.44±4.29	4.32±1.11	18.11±5.09	4.72±1.22	14.81±3.79	4.28±0.64	14.38±2.11	3.34±0.48
16:0	173.84±17.24	43.11±5.10	181.32±10.26	47.69±7.21	164.52±37.70	47.56±5.03	175.44±15.32	41.75±9.48
16:1	1.92±1.95	0.46±0.46	0.50±0.14	0.13±0.03	0.43±0.23	0.11±0.05	1.32±1.53	0.26±0.21
17:0	2.59±2.13	0.66±0.55	4.21±0.20	1.10±0.13	4.41±0.97	1.29±0.20	2.67±2.35	0.67±0.59
17:1	0.35±0.32	0.08±0.08	0.13±0.07	0.03±0.02	0.14±0.09	0.05±0.04	0.39±0.22	0.09±0.05
18:0	5.82±0.76	1.44±0.21	5.93±0.51	1.56±0.26	5.63±1.10	1.65±0.29	6.08±0.85	1.46±0.41
18:1	0.42±0.09	0.11±0.02	0.38±0.07	0.10±0.02	0.89±1.30	0.23±0.34	0.42±0.15	0.11±0.05
18:3 n-6	0.26±0.01	0.06±0.00	0.24±0.04	0.06±0.01	0.29±0.10	0.08±0.02	0.31±0.10	0.07±0.04
18:3 n-3	0.77±0.46	0.19±0.11	0.43±0.07	0.11±0.01	0.67±0.28	0.20±0.09	0.74±0.39	0.18±0.12
20:0	0.94±0.39	0.24±0.10	1.21±0.18	0.32±0.05	0.94±0.62	0.25±0.16	1.13±0.58	0.28±0.15
20:2	0.22±0.25	0.05±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	0.14±0.24	0.04±0.06	0.12±0.23	0.03±0.06
20:3 n-6	0.87±0.51	0.22±0.13	1.04±0.25	0.27±0.05	0.84±0.52	0.23±0.11	0.98±0.58	0.24±0.15
20:4 n-6 (เออาร์เอ)	0.35±0.40	0.08±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.20±0.30	0.07±0.10	0.24±0.44	0.04±0.07
20:5 n-3 (อีพีเอ)	1.10±0.74	0.28±0.19	1.12±0.33	0.29±0.07	1.03±0.44	0.28±0.05	0.92±0.44	0.23±0.12
22:1	0.46±0.91	0.11±0.21	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.34±0.68	0.06±0.11
22:5 n-3 (ดีพีเอ)	31.59±1.85	7.82±0.49	26.94±6.64	6.94±1.28	27.41±11.81	7.38±1.57	28.76±6.19	7.01±2.34
22:6 n-3 (ดีเอชเอ)	115.45±39.25	28.61±9.74	108.54±30.07	27.91±6.14	107.82±45.02	29.28±5.06	104.34±33.97	25.51±10.24
Other	37.34±42.42	9.00±10.23	20.81±15.88	5.32±3.93	12.85±10.16	3.79±2.63	88.54±156.51	15.53±23.81
Total	404.44±22.33	100.00±0.00	384.11±32.98	100.00±0.00	354.43±104.79	100.00±0.00	440.34±115.32	100.00±0.00

## บทที่ 5

### อภิปรายและสรุปผล

#### ตอนที่ 1 การคัดแยกและจำแนกทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ที่ร่วงหล่นโดยอาศัยลักษณะทาง สัณฐานวิทยา

##### 1. การคัดแยกทรอสโทโคตริคส์

###### ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์

เมื่อพิจารณาความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์ในแต่ละชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน จากการเก็บตัวอย่างพันธุ์ไม้ละ 20 ใบ พบว่า มีความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์ในพันธุ์ไม้ทุกชนิดทั้งในฤดูแล้ง และฤดูฝน มีเพียงพังกาหัวสุ้มดอกแดงในฤดูฝนเท่านั้นที่ไม่พบทรอสโทโคตริคส์ จะเห็นว่า โกงกางใบใหญ่มีความถี่ของการพบสูงที่สุดโดยพบทรอสโทโคตริคส์ทั้ง 100 เปอร์เซ็นต์ ในทั้งสองฤดู สำหรับฤดูแล้ง ใบตะบูนขาว ปอทะเล โปรงแดง และแสมทะเล มีความถี่ของการพบใกล้เคียงกัน สอดคล้องกับการรายงานของ Leano (2001) ที่กล่าวว่า ทรอสโทโคตริคส์สามารถพบได้ในใบไม้ป่าชายเลนหลากหลายชนิด จากผลการศึกษามพบทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ป่าชายเลน 85-100 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาใบไม้ป่าชายเลน 11 ชนิด

จากผลการศึกษาพบว่าลักษณะทางกายภาพของพื้นที่ป่าชายเลน บริเวณที่พันธุ์ไม้ชนิดนั้นๆ ขึ้นอยู่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทโคตริคส์ เช่นเดียวกับ ศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) พบว่าในฤดูร้อนสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศป่าชายเลนมีกระบวนการเมตาบอลิซึมและการหมุนเวียนของแร่ธาตุดีกว่าฤดูหนาวทำให้ทรอสโทโคตริคส์เจริญได้ดี จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าต้นพังกาหัวสุ้มดอกแดงพบในบริเวณที่น้ำท่วมไม่ถึง พื้นดินมีความชุ่มชื้นน้อย ส่วนบริเวณที่พบโกงกางใบเล็กอยู่บริเวณชายน้ำหรือดิริมคลองทำให้พื้นที่มีความชื้นแฉะ สอดคล้องกับ กนกสิณี ยิ้มยวน (2550) ที่พบว่าบริเวณที่เก็บตัวอย่างมีผลต่อความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์ ซึ่งบริเวณที่พบน้อยสุดเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากพื้นที่มีความชุ่มชื้นน้อย อีกทั้งใบไม้ที่ร่วงหล่นมีลักษณะแห้งจึงไม่เหมาะในการนำมาคัดแยก สำหรับลักษณะใบไม้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคส์ต่างกัน เช่น ใบที่มีลักษณะอวบน้ำ บางนุ่ม หรือลักษณะของการเนาเปื่อยของใบ ดังการศึกษาของ จุฬาลักษณ์ จันทบาล และคณะ (2550) ที่รายงานว่าใบไม้ป่าชายเลนที่มีสีน้ำตาลมีความถี่ของการพบสูงกว่าใบที่มีสีเหลือง และใบไม้ที่มีการย่อยสลาย มีความชื้น และมีน้ำท่วมถึงอยู่ตลอดเวลามีโอกาสพบทรอสโทโคตริคส์สูง

## 2. การจัดจำแนก

จากการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่  
 ร่วงหล่น บริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง พบทรอสโทโคตริคส์ทั้งสิ้น 486 ไอโซเลท ใช้ลักษณะทาง  
 สัณฐานวิทยาจำแนกได้ทั้งสิ้น 9 สปีชีส์ ซึ่งทรอสโทโคตริคส์ที่สามารถจำแนกได้พบ 3 จินัส (7 สปีชีส์)  
 ได้แก่ จินัส *Aurantiochytrium* จำนวน 5 สปีชีส์ (*Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2,  
*Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5) จินัส *Parietichytrium*  
 จำนวน 1 สปีชีส์ (*Parietichytrium* sp.) จินัส *Schizochytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ (*Schizochytrium* sp.2)  
 และทรอสโทโคตริคส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 สปีชีส์ คือ Thraustochytriidae 8 และ  
 Thraustochytriidae 9 โดยแบ่งเป็นสกุลแล่งพบทรอสโทโคตริคส์ 5 สปีชีส์ คือ *Aurantiochytrium* sp.1  
 จำนวน 145 ไอโซเลท *Aurantiochytrium* sp.5 จำนวน 49 ไอโซเลท *Schizochytrium* sp.2 จำนวน 1  
 ไอโซเลท Thraustochytriidae 8 จำนวน 18 ไอโซเลท และ Thraustochytriidae 9 จำนวน 21 ไอโซเลท  
 สำหรับสกุลพบทรอสโทโคตริคส์ 8 สปีชีส์ คือ *Aurantiochytrium* sp.1 จำนวน 60 ไอโซเลท  
*Aurantiochytrium* sp.2 จำนวน 17 ไอโซเลท *Aurantiochytrium* sp.3 จำนวน 26 ไอโซเลท  
*Aurantiochytrium* sp.4 จำนวน 19 ไอโซเลท *Aurantiochytrium* sp.1 จำนวน 48 ไอโซเลท  
*Parietichytrium* sp. 14 ไอโซเลท Thraustochytriidae 8 จำนวน 29 ไอโซเลท และ Thraustochytriidae 9  
 จำนวน 34 ไอโซเลท ในขณะที่ ศุภพิชญ์ บุญแต่ง (2548) ที่ศึกษาทรอสโทโคตริคส์จากใบไม้ป่าชายเลน  
 บ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด พบ 3 จินัส 10 สปีชีส์ ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei* (syn.  
*Aurantiochytrium mangrovei*) จำนวน 102 ไอโซเลท, *Schizochytrium limacinum* (syn. *Aurantiochytrium*  
*limacinum*) จำนวน 90 ไอโซเลท, *Schizochytrium* sp.1 จำนวน 58 ไอโซเลท *Schizochytrium* sp.2  
 จำนวน 8 ไอโซเลท *Schizochytrium* sp.6 จำนวน 1 ไอโซเลท *Schizochytrium* sp.8 จำนวน 58  
 ไอโซเลท *Ulkenia* sp.1 จำนวน 52 ไอโซเลท *Ulkenia* sp.2 จำนวน 38 ไอโซเลท *Ulkenia* sp.3 จำนวน  
 11 ไอโซเลท และ Unknown 2 จำนวน 29 ไอโซเลท สำหรับการจัดจำแนกจินัสตามลักษณะสัณฐาน  
 วิทยามีรายละเอียดดังต่อไปนี้

### 1. จินัส *Aurantiochytrium*

จินัส *Aurantiochytrium* ทั้ง 5 สปีชีส์ ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2,  
*Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5 ซึ่งมีลักษณะที่เหมือนกัน  
 คือ มีผนังเซลล์บาง พบการแบ่งแบบ binary division ทัดลัสมีรูปร่างกลม โคลนินบนอาหารแข็งมีขนาด

เล็ก เนื้อโคโลนีมีลักษณะคล้ายเนยเหลวสีครีม แต่มีบางสปีชีส์โคโลนีสีส้มอ่อน จากลักษณะทั้งหมดนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Marchan et al. (2017)

สำหรับการจำแนกสปีชีส์ทั้ง 5 สปีชีส์ที่มีวงจรชีวิตที่คล้ายกัน แต่มีขนาดของเซลล์ปกติและขนาดของซุโอสปอร์ไม่ต่างกัน จึงไม่สามารถใช้ขนาดของเซลล์ปกติและขนาดของซุโอสปอร์ในการจัดจำแนกได้ แต่สามารถแยกเชื้อในเบื้องต้นโดยพิจารณาจากลักษณะของโคโลนี เช่น สีโคโลนี ขอบรูปร่าง และขนาดของโคโลนี โดย *Aurantiochytrium* sp.2 มีโคโลนีสีส้มอ่อนทึบแสง ส่วนชนิดอื่นมีโคโลนีสีครีม *Aurantiochytrium* sp.5 เป็นเพียงชนิดเดียวที่มีโคโลนีโปร่งแสง ส่วน *Aurantiochytrium* sp.1 บริเวณขอบโคโลนีมีอะมิบอยด์เซลล์กระจายรอบ ๆ เป็นบริเวณกว้าง *Aurantiochytrium* sp.3 มีขอบโคโลนีที่เรียบ และ *Aurantiochytrium* sp.4 มีขอบโคโลนีที่หยักเล็กน้อย อีกทั้งใช้ลักษณะของเซลล์ในอาหารเหลวเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วันพบว่า *Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5 ลักษณะเซลล์จะกระจายเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ เป็นบริเวณกว้าง *Aurantiochytrium* sp.3 เซลล์จะเกาะกลุ่มขนาดเล็กและมีเซลล์กระจายเดี่ยว ๆ อยู่บ้าง *Aurantiochytrium* sp.2 พบว่าเซลล์เกาะกันเป็นกลุ่ม เซลล์ทั้งหมดของจีสไนส์มีผนังเซลล์บาง ทั้งยังพบอะมิบอยด์เซลล์และการแบ่งแบบ binary division เช่นเดียวกัน สอดคล้องกับ Jaritkhuan and Suanjit (2018) ที่พบ *Aurantiochytrium* จากป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี มีลักษณะเซลล์ที่มีผนังบาง โคโลนีมีสีครีม มีอะมิบอยด์เซลล์และพบการแบ่งแบบ binary division

### 2. จีสไนส์ *Parietichytrium*

สำหรับ *Parietichytrium* พบว่า เซลล์มีผนังหนา พบอะมิบอยด์เซลล์จำนวนมาก ไม่พบการแบ่งตัวแบบ binary division และหลังจากปล่อยซุโอสปอร์แล้วผนังเซลล์ยังคงอยู่ เช่นเดียวกับ Yokoyama et al. (2007) ที่รายงานว่าจีสไนส์ *Parietichytrium* ผนังเซลล์หนา และผนังเซลล์ยังคงอยู่หลังจากปล่อยซุโอสปอร์แล้ว

### 3. จีสไนส์ *Schizochytrium*

ในจีสไนส์นี้พบเพียง *Schizochytrium* sp.2 อ้างอิงการจำแนกจาก สมถวิล จริตควร และคณะ (2549) มีโคโลนีสีเหลืองทึบแสง ขอบหยัก มีอะมิบอยด์เซลล์ พบการแบ่งตัวแบบ binary division สอดคล้องกับ Unagul et al. (2017) ที่คัดแยกทรอสโทโคไตรดส์จากป่าชายเลนในประเทศไทย พบว่า *Schizochytrium* sp. มีโคโลนีสีเหลืองทึบแสง ขอบหยัก มีผนังเซลล์บาง พบอะมิบอยด์เซลล์และพบการแบ่งตัวแบบ binary division นอกจากนี้ จากลักษณะตรงกับรายงานของ Marchan et al. (2007) ที่บอกว่า

*Schizochytrium* มีโคโลนีสีเหลือง ผันงเซลล์บาง มีการแบ่งตัวจาก binary เป็น tetrads เซลล์ปกติจะพัฒนาไปเป็นซุโอสปอร์แรงเจียม การปล่อยซุโอสปอร์พบว่าหลุดจากเซลล์แม่บริเวณเดียว

#### 4. Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9

จากการศึกษายังไม่สามารถจัดจำแนกอยู่ในจิ้นส์ใดได้ แต่วงจรชีวิตมีความใกล้เคียงกับจิ้นส์ *Aurantiochytrium* พบอะมิบอยด์เซลล์และพบการแบ่งตัวแบบ binary division แต่ลักษณะที่แตกต่างออกไปคือโคโลนีที่มีความหนูนสูงขึ้นมาจากผิวหน้าอาหารมาก อีกทั้ง Thraustochytriidae 9 เนื้อของโคโลนีมีลักษณะนี้คล้ายหยดเนย เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว 4 วันพบว่าทั้ง Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 มีลักษณะเซลล์ที่เกาะกลุ่มกัน ซึ่งใกล้เคียงกับ *Aurantiochytrium* sp.2 ที่มีเซลล์ในอาหารเหลวเกาะกลุ่มกัน แต่มีความสูงของโคโลนีที่น้อยกว่ามาก ซึ่งในปัจจุบันใช้วิธีศึกษาเพิ่มเติมทางด้านการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 18S rRNA เพื่อที่จะสามารถระบุสปีชีส์ต่อไป ดังเช่นรายงานของ Yokayama et al. (2007) ที่ใช้วิธีนี้ในการระบุสปีชีส์ของทรอสโทโคตริคส์

สำหรับความหลากหลายของทรอสโทโคตริคส์ในแต่ละฤดูกาล พบทรอสโทโคตริคส์ในฤดูแล้งและฤดูฝนทั้งหมด 5 สปีชีส์ และ 8 สปีชีส์ ตามลำดับ โดยสปีชีส์ที่พบเฉพาะในฤดูแล้งคือ *Schizochytrium* sp.2 ส่วนสปีชีส์ที่พบเฉพาะในฤดูฝน ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Parietichytrium* sp. อาจเนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละฤดู เช่นความเค็ม จากการศึกษานี้พบว่าฤดูแล้งมีความเค็มเท่ากับ 30 psu และฤดูฝนมีความเค็มเท่ากับ 10 psu เนื่องจากทรอสโทโคตริคส์เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการโซเดียมไอออนในการเจริญ เพราะน้ำทะเลมีแร่ธาตุหรือไอออนต่าง ๆ โดย Siegenthaler, Belsky, and Goldstein (1967) และ Siegenthaler, Belsky, Goldstein, and Menna (1967) อ้างถึงใน รุจิราลัย พลุทวี (2550) กล่าวว่าโซเดียมไอออนมีความจำเป็นต่อกระบวนการนำฟอสเฟตเข้าสู่เซลล์จึงทำให้มีผลต่อการเจริญของทรอสโทโคตริคส์โดยตรง อีกทั้งอุณหภูมิที่พบว่าฤดูแล้งมีอุณหภูมิในน้ำเท่ากับ 26 องศาเซลเซียส ส่วนฤดูฝนมีอุณหภูมิในน้ำเท่ากับ 31 องศาเซลเซียส ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำฤดูฝนมีค่าสูงกว่าฤดูแล้ง และปริมาณสารอาหารจากแผ่นดินในฤดูฝนที่อาจถูกพาโดยน้ำฝนไหลมาบริเวณป่าชายเลนทำให้มีความสมบูรณ์ของธาตุอาหารมากกว่า สอดคล้องกับ อนุกุล นูรณะประทีปรัตน์ และคณะ (2556) ที่รายงานว่า สารอาหารอินทรีย์ละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแส จังหวัดระยอง ในฤดูฝนมีค่าสูงกว่าในฤดูแล้ง จึงอาจทำให้ทรอสโทโคตริคส์มีความหลากหลายในฤดูฝนมากกว่าในฤดูแล้ง

### 3. ความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสแต่ละชนิดในแต่ละพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจากทุ่งโปรงทอง

สำหรับผลของความถี่ของการพบทรอสโทโคตริคัสแต่ละสปีชีส์พบว่า *Aurantiochytrium* sp.1 พบในพันธุ์ไม้เกือบทุกชนิด มีเพียงฝาดดอกขาว พังกาหัวสุมดอกแดงในฤดูฝน และตาคุ่มทะเลที่ไม่พบ *Aurantiochytrium* sp.1 ในฤดูแล้งมีความถี่ของการพบ *Aurantiochytrium* sp.1 สูงกว่าในฤดูฝนทุกพันธุ์ไม้ โดยพบ *Aurantiochytrium* sp.1 สูงที่สุดจากตะบูนขาว และเสมทะเล ทางด้าน *Aurantiochytrium* sp.2 ในฤดูแล้งไม่พบทรอสโทโคตริคัส ส่วนฤดูฝนพบในโกงกางใบใหญ่ ลำพูทะเล และลำแพน ส่วน *Aurantiochytrium* sp.3 ไม่พบในฤดูแล้งเช่นกัน ในฤดูฝนพบในโกงกางใบเล็ก โกงกางใบใหญ่ ตาคุ่มทะเล โปรงขาวและลำแพน ในทางเดียวกัน *Aurantiochytrium* sp.4 ไม่พบในฤดูแล้ง ในฤดูฝนพบในโกงกางใบเล็ก ตะบูนขาว ตาคุ่มทะเล และฝาดดอกขาว ผลการศึกษาของ *Aurantiochytrium* sp.5 ในฤดูแล้งมีค่าความถี่อยู่ในช่วง 5-50 เปอร์เซ็นต์ และฤดูฝนมีค่าอยู่ในช่วง 10-45 เปอร์เซ็นต์ จะเห็นว่าในจันต *Aurantiochytrium* มี *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3 และ *Aurantiochytrium* sp.4 ที่ในฤดูแล้งไม่พบทรอสโทโคตริคัสเลย สอดคล้องกับรายงานของ กนกกลินิ ยิ้มยวน (2550) ที่พบ *Schizochytrium mangrovei*, *Schizochytrium limacinum*, *Schizochytrium* sp.2 ในช่วงเดือนกันยายน (ฤดูฝน) สูงกว่าเดือนพฤษภาคม (ฤดูแล้ง) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาครั้งนี้และนักวิจัยท่านอื่น ๆ พบทรอสโทโคตริคัสส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม *Aurantiochytrium* spp. ซึ่งชื่อวิทยาศาสตร์ของทรอสโทโคตริคัสได้ถูกปรับเปลี่ยนใหม่ตาม Yokoyama and Honda (2007) และ Yokoyama et al. (2007) สำหรับความถี่ของการพบ *Parietichytrium* sp. พบว่าในฤดูแล้งไม่พบ *Parietichytrium* sp. เลย ส่วนฤดูฝนพบในปอทะเล ฝาดดอกขาว ลำพูทะเล และเสมทะเล นอกจากนี้ *Schizochytrium* sp.2 พบเพียงตาคุ่มทะเลในฤดูแล้งเท่านั้น ส่วน Thraustochytriidae 8 ในฤดูแล้งมีความถี่ของการพบอยู่ในช่วง 5-20 เปอร์เซ็นต์ ในฤดูฝนมีความถี่ของการพบ 10-50 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับ Thraustochytriidae 9 ที่มีความถี่ของการพบในฤดูแล้ง 5-35 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในฤดูฝนมีความถี่ของการพบ 10-50 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้เห็น จันต *Aurantiochytrium* มีความถี่ของการพบสูงสุด สอดคล้องกับ Jaritkhuan and Suanjit (2018) ที่พบ จันต *Aurantiochytrium* สูงที่สุดจากไม้ป่าชายเลน จังหวัดชลบุรี สำหรับทรอสโทโคตริคัสนั้นอาจมีความจำเพาะต่อการเจริญของใบไม้แต่ละชนิด แต่ยังไม่มียารายงานยืนยันในลักษณะดังกล่าว และอาจเป็นไปได้ว่า ฤดูกาล ปัจจัยแวดล้อม ขณะเก็บ ช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่าง อาจมีผลต่อการเจริญ จึงควรเก็บในช่วงเวลาอื่นด้วย เช่น ช่วงเวลาน้ำขึ้น-ลง ปัจจัยสิ่งแวดล้อมจะเปลี่ยนไปทั้งความเค็ม และอุณหภูมิเป็นต้น

## ตอนที่ 2 ชีวมวลและการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสที่คัดแยกได้ จากใบไม้ที่ร่วง หล่นในป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

### 1. ชีวมวลของทรอสโทโคตริคัส

ผลของชีวมวลจากการเลี้ยงทรอสโทโคตริคัสในอาหารเหลว GYP ที่มีกลูโคส 6 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำทะเล ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน 1,000 มิลลิลิตร เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 4 วัน พบว่าในฤดูฝนมีชีวมวลของทรอสโทโคตริคัสทุกชนิดสูงกว่าในฤดูแล้ง โดย *Aurantiochytrium* sp.1 มีชีวมวลสูงสุดในฤดูแล้ง มีปริมาณเท่ากับ  $21.28 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร ในขณะที่ ในฤดูฝนมีปริมาณชีวมวลไม่ต่างกันมากนักโดยมีค่าอยู่ในช่วง  $21.41 \pm 2.86 - 22.87 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร จากรายงานของ Arafiles et al. (2011) ที่พบว่าชีวมวลของ *Thraustochytrium* sp. SB04 และ *Schizochytrium* sp. SB11 จากป่าชายเลนประเทศฟิลิปปินส์ เลี้ยงด้วยอาหารเหลว GYP (กลูโคส 3 กรัม ยีสต์สกัด 1.25 กรัม เปปโตน 1.25 กรัม น้ำทะเลธรรมชาติ 50%) บ่มที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน มีชีวมวลเท่ากับ 0.28 กรัมต่อลิตร และ 18.1 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ Byreddy et al. (2015) เลี้ยง *Schizochytrium* sp. S31 จาก American Type Culture Collection ในอาหารที่มีกลูโคส 5 กรัม เปปโตน 2 กรัม ยีสต์สกัด 2 กรัม และน้ำทะเล 50 เปอร์เซ็นต์ เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่ามีชีวมวลเท่ากับ 4.06 กรัมต่อลิตร

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตชีวมวลคือปัจจัยด้านสารอาหาร คือแหล่งคาร์บอนซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สะสมในเซลล์ ในการศึกษาที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เนื่องจากมีรายงานว่า Ward and Singh (2005) พบว่าการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนทำให้ *Schizochytrium* sp. มีระดับชีวมวลสูงสุดสำหรับแหล่งไนโตรเจน เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการสะสมไขมัน การศึกษาครั้งนี้ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน อาหารสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยงครั้งนี้ดัดแปลงจาก Jaritkhuan and Suanjit (2018) ที่ใช้ กลูโคส 60 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน พบว่า *Aurantiochytrium mangrovei* และ *Aurantiochytrium limacinum* ผลิตชีวมวลได้ 6.88-22.49 กรัมต่อลิตร

### 2. กรดไขมันในทรอสโทโคตริคัส

กรดไขมันที่สำคัญทั้ง 4 ชนิดได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอ ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า กรดไขมันเออาร์เอในฤดูแล้งและฤดูฝนไม่ต่างกันมากนัก โดยกรดไขมันเออาร์เอสูงที่สุดจาก *Aurantiochytrium* sp. 1 ในฤดูแล้ง มีปริมาณเท่ากับ  $0.43 \pm 0.20$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

( $0.1 \pm 0.04$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) สำหรับกรดไขมันอีพีเอพบ *Aurantiochytrium* sp. 1 ในฤดูแล้งที่มีปริมาณของกรดไขมันอีพีเอสูงที่สุดเท่ากับ  $1.67 \pm 1.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ( $0.35 \pm 0.20$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ผลของกรดไขมันดีพีเอนั้นพบว่า *Aurantiochytrium* sp. 3 ในฤดูฝน มีปริมาณกรดไขมันดีพีเอสูงที่สุดเท่ากับ  $39.40 \pm 6.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ( $8.06 \pm 0.53$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และกรดไขมันดีเอชเอพบ *Aurantiochytrium* sp. 1 ในฤดูฝน มีปริมาณกรดไขมันดีเอชเอสูงที่สุดเท่ากับ  $137.23 \pm 25.61$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ( $31.68 \pm 2.72$  เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) อย่างไรก็ตาม คณิศฐา เอี่ยมละออ และคณะ (2553) รายงานว่าปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอของทรอสโทโคตริคัสมีค่าอยู่ในช่วง 0.18-1.25, 0.43-1.50, 3.15-11.82 และ 8.18-47.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ และ กนกสิทธิ์ ยิ้มยวน (2550) พบว่าปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ และดีเอชเอของทรอสโทโคตริคัสมีค่าอยู่ในช่วง 0.17-5.63, 0.21-3.72 และ 2.30-163.61 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

สำหรับปัจจัยของการผลิตกรดไขมันของทรอสโทโคตริคัสพบว่าอาหารและสถานะในการเลี้ยงมีผลต่อการผลิตกรดไขมันเช่น แหล่งคาร์บอนพบว่า กลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอนที่มีประสิทธิภาพสำหรับ *Schizochytrium* sp. ที่จะผลิตดีเอชเอได้มากกว่า 4 กรัมต่อลิตร Ward and Singh (2005) และ Wu, Yu, and Lin (2005) พบว่าการใช้สัตส์สก็ดสามารถให้การผลิตกรดไขมันดีเอชเอมากที่สุด จากการรายงานของ Arafles et al. (2011) ที่เลี้ยง *Thraustochytrium* sp. และ *Schizochytrium* sp. SB11 ด้วยความเข้มข้นของกลูโคส 3-5 เปอร์เซ็นต์ ความเค็มของน้ำทะเลที่ 50-60 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 20-30 องศาเซลเซียส พบว่า *Thraustochytrium* sp. และ *Schizochytrium* sp. SB11 สามารถผลิตกรดไขมันดีเอชเอได้เท่ากับ 22.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้พบว่า *Aurantiochytrium* sp. 1 เป็นชนิดที่โดดเด่นเนื่องจากมีการผลิตชีวมวล และกรดไขมันสูงที่สุด โดยสามารถนำมาพัฒนาต่อยอดในทางอุตสาหกรรมต่อไป

## สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษาพันธุ์ไม้บริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองทั้งสิ้น 12 ชนิด จำนวนชนิดละ 20 ใบ พบทรอสโทโคตริคัสทั้งสิ้น 486 ไอโซเลท ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้ทั้งสิ้น 9 สปีชีส์ ซึ่งทรอสโทโคตริคัสที่สามารถจำแนกได้พบ 3 จีนัส (7 สปีชีส์) และทรอสโทโคตริคัสที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 สปีชีส์ ได้แก่จีนัส *Aurantiochytrium* จำนวน 5 สปีชีส์ (*Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5)



จีโนม *Parietichytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ (*Parietichytrium* sp.) จีโนม *Schizochytrium* จำนวน 1 สปีชีส์ (*Schizochytrium* sp.2) และทรอสโทโคตริคัสที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 สปีชีส์ คือ Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9

2. ฤดูกาลมีผลต่อการพบทรอสโทโคตริคัส โดยพบว่าฤดูแล้งมีความหลากหลายของทรอสโทโคตริคสน้อยกว่าฤดูฝน
3. โกงกางใบใหญ่มีความถี่ของการพบสูงที่สุดโดยพบทรอสโทโคตริคัส 100 เปอร์เซ็นต์ทั้งสองฤดู
4. ฤดูแล้งมีความถี่ของการพบ *Aurantiochytrium* sp.1 สูงกว่าในฤดูฝนทุกพันธุ์ไม้ โดยพบ *Aurantiochytrium* sp.1 สูงที่สุดจากตะบูนขาวและเสมทะเล
5. *Aurantiochytrium* sp.1 มีชีวมวลสูงสุดเท่ากับ  $22.87 \pm 0.80$  กรัมต่อลิตร
6. ปริมาณกรดไขมันชนิดเออาร์เอและอีพีเอในฤดูแล้งพบว่า *Aurantiochytrium* sp.1 มีค่าเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $0.43 \pm 0.20$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ  $1.67 \pm 1.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วนกรดไขมันดีพีเอและดีเอชเอในฤดูฝนพบว่า *Aurantiochytrium* sp.3 เฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ  $39.40 \pm 6.17$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ  $137.23 \pm 25.61$  มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ

### ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตชีวมวลและกรดไขมันในการเลี้ยงทรอสโทโคตริคัสแต่ละชนิด
2. ศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการผลิตตรงควัตถุแคโรทีนอยด์และการผลิตเอ็นไซม์ในทรอสโทโคตริคัสแต่ละชนิด
3. ควรวิเคราะห์ข้อมูลระดับโมเลกุล เช่น ลำดับนิวคลีโอไทด์ของดีเอ็นเอเครื่องหมาย เช่น 18S rRNA gene และ internal transcribed spacer (ITS) สำหรับการจัดจำแนกทรอสโทโคตริคัสในระดับจีโนม และสปีชีส์

## บรรณานุกรม

- กนกกสิณี ยิ้มยวน. (2550). ความหลากหลายและกรดไขมันในทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาสิ่งแวดล้อม, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- เกวลี พงศาอัสวไพบูลย์. (2551). การคัดแยกจุลินทรีย์ *Schizochytrium* และการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อโครงสร้างของกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- กณิกฐา เอี่ยมละออ, สมถวิล จริตควร และสุภารัตน์ สวนจิตร. (2553). ความหลากหลายของทรอสโทโคไตรดส์ในป่าชายเลน จังหวัดสมุทรสาคร. ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 16 (หน้า 259-265). เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- จุฬาลักษณ์ จันทบาล, สมถวิล จริตควร และสุภารัตน์ สวนจิตร. (2550). ความหลากหลายของทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร. ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 8 (หน้า 1-10). นครปฐม: มหาวิทยาลัยมหิดล วิทยาเขตศาลายา.
- ณรงค์ พลธิ์รักษ์, สุเมธ สายสมุทร และโสภาวดี โชติกลาง. (2557). ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง. เข้าถึงได้จาก <http://www.gi-cbt.buu.ac.th/about.php>
- ธวัชชัย ภาสุรกุล. (2559). เรื่องของไขมัน ข้อเท็จจริง ตอนที่ 2. เข้าถึงได้จาก <http://tpadoctor.blogspot.com/2016/06/>
- พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์. (2547). หลักการอาหารสัตว์: หลักโภชนศาสตร์และการประยุกต์ เล่ม 2 (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- พื้นที่ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง. (ม.ป.ป). เข้าถึงได้จาก <https://www.google.co.th/maps/@12.7071426,101.7164599,18.82z>
- มยุรา ประยูรพันธ์. (2549). กรดไขมันในทรอสโทโคไตรดส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ป่าชายเลน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวชิรศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.

- รุจิราลัย พูลทวี. (2550). *สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตดีเอชเอและแอสตาแซนทิน โดย Thraustochytrids จากป่าชายเลน*. กรุงเทพฯ: สาขาวิชาจุลชีววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- เวียง เชื้อโพธิ์หัก. (2543). *โภชนศาสตร์สัตว์น้ำและการให้อาหารสัตว์น้ำ* (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ศุกพิชญ์ บุญแต่ง. (2548). *ความหลากหลายและการจัดจำแนกทรอสโทไคตริคส์ที่คัดแยกได้จากใบไม้ที่ร่วงหล่นบริเวณป่าชายเลนบ้านเป็ดใน จังหวัดตราด*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมถวิล จิตตวร, รัตนาภรณ์ ศรีวิบูลย์ และวิภูษิต มั่นทะจร. (2545). *จุลินทรีย์ทะเล : แหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง*. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมถวิล จิตตวร, สุภารัตน์ สวนจิตร และวิภูษิต มั่นทะจร. (2549). *จุลินทรีย์ทะเลจากป่าชายเลน : แหล่งทางเลือกใหม่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงที่ยั่งยืน*. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมถวิล จิตตวร และสุภารัตน์ สวนจิตร. (2559). *ทรอสโทไคตริคส์จากระบบนิเวศชายฝั่งทะเลจังหวัดชลบุรี (สาหร่ายทะเล): ความหลากหลายทางชีวภาพและการคัดแยกเพื่อจัดทำฐานข้อมูลและการนำไปใช้ประโยชน์*. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สมถวิล จิตตวร และสุภารัตน์ สวนจิตร. (2560). *ความหลากหลายของทรอสโทไคตริคส์ที่คัดแยกจากหญ้าทะเลชนิดหญ้ากุยข่ายเข็ม (Halodule pinifolia (Miki) Hartog) บริเวณหาดเตยงาม อเภอสัตหีบ จังหวัดชลบุรี*. ใน *การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สช. ครั้งที่ 8 “ทรัพยากรไทย : ศักยภาพมากขึ้นมีให้เห็น”* (หน้า 247-255). สระบุรี: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดสระบุรี.
- สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. (2561). *ข้อมูลตัวชี้วัด “พื้นที่ป่าชายเลน”*. เข้าถึงได้จาก [http://www.onep.go.th/env\\_data/2016/01\\_32/](http://www.onep.go.th/env_data/2016/01_32/)
- สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน. (2555). *พื้นที่ป่าชายเลนจังหวัดระยอง*. กรุงเทพฯ: สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน.
- สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2556). *คู่มือความรู้เรื่องป่าชายเลน*. กรุงเทพฯ: พลอยมีเดีย.

- อนุกุล บุรณะประทีปรัตน์, ชชนา เชิดชูจันทร์, นฤมล คงเมือง, ประสาน อินทเจริญ, สุธิดา กาญจน์ดี-เรกลาภ และวิชญา ก้นบัว. (2556). พลั๊กซ์ของสารอาหารอนินทรีย์ละลายน้ำบริเวณปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง ในฤดูแล้งและฤดูน้ำมากในปี พ.ศ. 2553. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 18(2), 222-231.
- อัจฉรา นิยมเดชา, สุรเสน ศรีริگانนท์ และมงคล คงเสน. (2556). การใช้กรดไขมันโอเมก้าในการเพิ่มสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพซากของสุกร. *วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์*, 5(4), 122-131.
- อุยณีย์ วินิจเขตคำนวณ. (2547). *ชีวเคมีของลิปิดและไลโปโปรตีน*. เชียงใหม่: ดาเวคอมพิวกราฟิก.
- 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.
- Arafiles, K. H. V., Alcantara, J. C. O., Cordero, P. R. F., Batoom, J. A. L., Galura, F. S., Leano, E. M., & Dedeles, G. R. (2011). Cultural Optimization of Thraustochytrids for Biomass and Fatty Acid Production. *Mycosphere*, 2(5), 521-531.
- Bajpai, P., Bajpai, P. K., & Ward, O. P. (1991). Production of Docosahexaenoic Acid by *Thraustochytrium aureum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 35, 706-710.
- Bracco, U., & Deckelbaum, R. J. (1992). *Polyunsaturated Fatty Acid in Human Nutrition*. London: Raven Press.
- Byreddy, A. R., Gupta, A., Barrow, C. J., & Puri, M. (2015). Comparison of Cell Disruption Methods for Improving Lipid Extraction from Thraustochytrid Strains. *Marine Drugs*, 13(8), 5111-5127.
- Cavalier-Smith, T., Allsopp, M. T. E. P., & Chao, E. E. (1994). Thraustochytrids are Chromists, not Fungi: 18S rRNA Signatures of Heterokonta. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, 346(1318), 387-397.
- Chow, C.K. (1992). *Fatty Acids in Food and their Health Implications*. Florida: Marcel Dekker.
- Fan, K. W., Vrijmoed, L. L. P., & Jones, E. B. G. (2002). Physiological Studies of Subtropical Mangrove Thraustochytrids. *Botanica Marina*, 45, 50-57.
- Galgani, J. E., & Garcia, D. (2014). Role of Saturated and Polyunsaturated Fat in Obesity-Related Inflammation. *Inflammation, Advancing Age and Nutrition*, 297-308.

- Gunstone, F. D., Harwood, J. H., & Padley, F. B. (1994). *The Lipid Handbook*. London: Chapman and Hall.
- Harper, C. R., & Jacobson, T. A. (2003). Beyond the Mediterranean Diet: The Role of Omega-3 Fatty Acids in the Prevention of Coronary Heart Disease. *Preventive Cardiology*, 6(3), 136-146.
- Holman, R.T. (1986). *Essential fatty acids, prostaglandins and leukotrienes*. London: Pergamon Press.
- Honda, D. (2001). Phylogeny and Taxonomy of Labyrinthulids. *Aquabiology*, 46(6), 637-647.
- Honda, D., & Porter, D. (2009). *Life History of each Genera*. Retrieved from [http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life\\_history.html](http://syst.bio.konan-u.ac.jp/labybase/life_history.html)
- Iwata, I., Kimurac, K., Tomarud, Y., Motomurae, T., Koikef, K., Koikeg, K., & Hondah., D. (2017). Bothrosome Formation in *Schizochytrium aggregatum* (Labyrinthulomycetes, Stramenopiles) during Zoospore Settlement. *Protist*, 168(2), 206-219.
- Jaritkhuan, S., & Suanjit, S. (2018). Species Diversity and Polyunsaturated Fatty Acid Content of Thraustochytrids from Fallen Mangrove Leaves in Chon Buri Province, Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 52, 24-32.
- Leano, M. (2001). Straminipilous Organism from Fallen Mamgrove Leaves from Panay Island, Philippines. *Fungal Density*, 6,75-80.
- Li, Z. Y., & Ward, O. P. (1994). Production of Docosahexaenoic Acid by *Thraustochytrium roseum*. *Journal industrial Microbiology*, 13(4), 238-241.
- Marchan, L. F., Chang, K. J. L., Nichols, P. D., Mitchell, W. J., Polglase, J. L., & Gutierrez, T. (2017). Taxonomy, Ecology and Biotechnological Applications of Thraustochytrids: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 26-46.
- Nagano, N., Matsui, S., Kuramura, T., Taoka, Y., Honda, D., & Hayashi, M. (2011). The Distribution of Extracellular Cellulase Activity in Marine Eukaryotes, Thraustochytrids . *Marine Biotechnology*, 13(2), 133-136.

- Naganuma, T., Kimura, H., Karimoto, R., & Pimenov, N.V. (2006). Abundance of Planktonic Thraustochytrids and Bacteria and the Concentration of Particulate ATP in the Greenland and Norwegian Seas. *National Institute of Polar Research*, 20, 37-45.
- Nakazawa, A., Matsuura, H., Kose, R., Ito, K., Ueda, M., Honda, D., Inouye, I., Kaya, K., & Watanabe, M. M. (2012). Optimization of Biomass and Fatty Acid Production by *Aurantiochytrium* sp. Stain 4W-1b. *Procedia Environmental Sciences*, 15, 27-33.
- Nettleton, J.A. (1985). *Seafood Nutrition: Fat Issues and Marketing of Nutrition in Fish and Shellfish*. New York: Osprey Book.
- Porter, D. (1989). *Handbook of protoctista: Phylum labyrinthulomycota net slime mold*.n.p.
- Raghukumar, S. (2002). Ecology of the Marine Protist, the Labyrinthulomycetes (Thraustochytrids and Labyrinthulids). *European Journal of Protistology*, 38(2), 127-145.
- Raghukumar, S. (2008). Thraustochytrid Marine Protists: Production of PUFAs and Other Emerging Technologies. *Marine Biotechnology*, 10(6), 631-640.
- Ranasinghe, C. (2013). *Straminipilan Protists: A Study of their Taxonomic Position, Morphology and Abiotic Stress-Mediated Gene Expression*. Faculty of Health: Queensland University of Technology. Australia: Kelvin Grove.
- Santangelo, G., Bongiorno, L., & Pignataro, L. (2000). Abundance of Thraustochytrids and Ciliated Protozoans in a Mediterranean Sandy Shore Determined by an Improved, Direct Method. *Aquatic Microbial Ecology*, 23(1), 55-61.
- Shimizu, S., Kawashima, H., Shinmen, Y., Akitomo, K., & Yamada, H. (1988). Production of Eicosapentaenoic Acid by *Mortierella* Fungi. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 65, 1455-1459.
- Siegenthaler, P. A., Belsky, M. M., & Goldstein, S. (1967). Phosphate Uptake in an Obligately Marine Fungus: a Specific Requirement for Sodium. *Science*, 155, 93-94.
- Siegenthaler, P. A., Belsky, M.M., Goldstein, S., & Menna, M. (1967). Phosphate Uptake in an Obligately Marine Fungus. II. Role of Culture Conditions, Energy Sources and Inhibitors. *Journal of Bacteriology*, 93, 1281-1288.

- Simopoulos, A. P. (1991). Omega-3 Fatty Acids in Health and Disease and in Growth and Development. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54, 438-463.
- Simopoulos, A. P. (2001). The Importance of the Ratio of Omega-6/-3 Essential Fatty Acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56(8), 365-375.
- Singh, A., Wilson, S., & Ward, O.P. (1996). Docosahexaenoic Acid (DHA) Production by *Thraustochytrium* sp. ATCC 20892. *World Journal Microbiology Biotechnology*, 12(1), 76-81.
- Uauy, R., Hoffman, D. R., Peirano, P., Birch, D. G., & Birc, E. E. (2001). Essential Fatty Acids in Visuak and Brain Development. *Lipids*, 36(9), 885-895.
- Unagul, P., Suetrong, S., Preedanon, S., Klaysuban, A., Gundool, W., Suriyachadkun, C., & Sakayaroj, J. (2017). Isolation, Fatty Acid Profiles and Cryopreservation of Marine Thraustochytrids from Mangrove Habitats in Thailand. *Botanica Marina*, 60(4), 363-379.
- Ward, O. P., & Singh, A. (2005). Omega-3/6 Fatty Acids: Alternative Sources of Production. *Process Biochemistry*, 40(12), 3627-3652.
- Wu, S. T., Yu, S. T., & Lin, L. (2005). Effect of Culture Conditions on Docosahexaenoic acid Production by *Schizochytrium* sp. S31. *Process Biochemistry*, 40, 3103-3108.
- Yokoyama, R., & Honda, D. (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(4), 199-211.
- Yokayama, R., Salleh, B., & Honda, D. (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.

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก  
อาหารเลี้ยงเชื้อ

### อาหารแข็งกลูโคส ยีสต์สกัด เปปโตน (GYP)

กลูโคส	0.1	เปอร์เซ็นต์
ยีสต์สกัด	0.1	เปอร์เซ็นต์
เปปโตน	0.1	เปอร์เซ็นต์
วุ้น	1	เปอร์เซ็นต์
น้ำทะเล ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติมนยาปฏิชีวนะในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 ลิตร

### อาหารแข็งกลูโคส ยีสต์สกัด (GY)

กลูโคส	0.1	เปอร์เซ็นต์
ยีสต์สกัด	0.1	เปอร์เซ็นต์
วุ้น	1	เปอร์เซ็นต์
น้ำทะเล ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารมีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส เติมนยาปฏิชีวนะในอัตรา 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 1 ลิตร

### อาหารเหลวกลูโคส ยีสต์สกัด (GY)

กลูโคส	6	เปอร์เซ็นต์
ยีสต์สกัด	1	เปอร์เซ็นต์
น้ำทะเล ความเค็ม 15 ส่วนในพันส่วน	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันสูง ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข  
ยาปฏิชีวนะ

**ยาปฏิชีวนะ(ความเข้มข้นของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดเท่ากับ 300 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**

เพนนิซิลินจี	3	กรัม
สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต	3	กรัม
น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	10	มิลลิลิตร
ผสมทั้งหมดให้เข้ากัน จากนั้นนำไปกรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.25 ไมโครเมตร		

**ภาคผนวก ค**  
**บัพเฟอร์และสารเคมี**

### บัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer Saline, PBS)

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	8	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $K_2HPO_4$ )	1.21	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ( $KH_2PO_4$ )	0.34	กรัม
น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ	1,000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมทั้งหมดจากนั้นเก็บสารละลายในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

### 2 % กรดซัลฟิวริกในเมทานอล

เมทานอล	100	มิลลิลิตร
กรดซัลฟิวริก	2	มิลลิลิตร

เทเมทานอลลงใน Volumetric flask ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วเทใส่ขวดสีชาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

### Internal Standard

Standard fatty acid 19:0 (Nonadecanoic acid)	0.025	กรัม
เฮกเซน	5	มิลลิลิตร

ชั่ง Standard fatty acid 19:0 ปริมาณ 0.025 กรัมในขวด Volumetric flask ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมเฮกเซนลงไป จนได้ปริมาตร ปิดฝาเขย่าให้เข้ากันจน Standard fatty acid 19:0 ละลายหมด

**ภาคผนวก ง**  
**การคำนวณปริมาณกรดไขมัน**



การคำนวณหาปริมาณกรดไขมันโดยใช้โครมาโตแกรมคำนวณจากพื้นที่ใต้พีค (Peak Area) ของกรดไขมันที่ต้องการทราบปริมาณกรดไขมัน นำมาเปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้พีคของกรดไขมันมาตรฐาน

### ปริมาณกรดไขมันรวมทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

$$= \frac{(\% \text{ Area ไขมันนั้นๆ} \times \text{น้ำหนัก Internal Standard (mg)})}{(\% \text{ Area Internal Standard} \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)})}$$

ยกตัวอย่าง กรดไขมันดีเอสเอ หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

$$= \frac{(\% \text{ Area กรดไขมันดีเอสเอ} \times \text{น้ำหนัก Internal Standard (มิลลิกรัม)})}{(\% \text{ Area Internal Standard} \times \text{น้ำหนักตัวอย่าง})}$$

### การคำนวณร้อยละกรดไขมันดีเอสเอต่อกรดไขมันทั้งหมด (% of Total Fatty Acid)

$$= \frac{\text{ปริมาณกรดไขมันดีเอสเอ (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)} \times 100}{\text{ปริมาณกรดไขมันทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)}}$$

**ภาคผนวก จ**  
**รหัสตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา**

ตารางภาคผนวก จ-1 ชนิดใบและรหัสที่เลือกมาใช้ในการศึกษาปริมาณชีวมวลและกรดไขมัน

ทรอสโทโคไตรดส์	รหัสฤดูแล้ง	รหัสฤดูฝน
<i>Aurantiochytrium</i> sp.1	โก่งกางใบเล็ก 10-3 ล	โปรงแดง 14-2 ฝ
	พังกาหัวส้มดอกแดง 11-2 ล	โปรงแดง 17-1 ฝ
	ลำพูทะเล 1-3 ล	แสมทะเล 14-2 ฝ
	โปรงขาว 7-3 ล	ปอทะเล 3-2 ฝ
	แสมทะเล 18-2 ล	โก่งกางใบใหญ่ 3-3 ฝ
<i>Aurantiochytrium</i> sp.2	ไม่พบทรอสโทโคไตรดส์	โก่งกางใบเล็ก 20-3 ฝ
		ลำแพน 17-3 ฝ
		ลำพูทะเล 3-1 ฝ
		โก่งกางใบเล็ก 19-1 ฝ
		ลำแพน 8-3 ฝ
<i>Aurantiochytrium</i> sp.3	ไม่พบทรอสโทโคไตรดส์	โปรงขาว 2-3 ฝ
		โก่งกางใบใหญ่ 15-1 ฝ
		คาตุมทะเล 9-1 ฝ
		ลำแพน 10-3 ฝ
		โก่งกางใบเล็ก 13-3 ฝ
<i>Aurantiochytrium</i> sp.4	ไม่พบทรอสโทโคไตรดส์	ฝาดดอกขาว 14-1 ฝ
		ตะนูนขาว 2-1 ฝ
		โก่งกางใบเล็ก 5-3 ฝ
		คาตุมทะเล 6-2 ฝ
		โปรงแดง 9-3 ฝ

หมายเหตุ ตัวอย่าง โกงกางใบเล็ก 10-3 ล หมายถึง ใบโก่งกางใบเล็ก ใบลำดับที่ 10 ซ้ำที่ 3 ฤดูแล้ง

## ตารางภาคผนวก จ-1 (ต่อ)

ทรอสโทโคตริคส์	รหัสฤดูแล้ง	รหัสฤดูฝน
<i>Aurantiochytrium</i> sp.5	แสมทะเล 11-2 ล โปรงขาว 18-3 ล โก่งกางใบเล็ก 2-3 ล ลำพูทะเล 11-3 ล โก่งกางใบเล็ก 17-3 ล	โปรงแดง 18-2 ฝ ตาคุ่มทะเล 1-1 ฝ ลำแพน 18-1 ฝ ตะบูนขาว 6-3 ฝ ฝาดดอกขาว 16-1 ฝ
<i>Parietichytrium</i> sp.	ไม่พบทรอสโทโคตริคส์	ฝาดดอกขาว 7-2 ฝ ปอทะเล 14-1 ฝ แสมทะเล 2-1 ฝ โปรงแดง 5-3 ฝ ลำพูทะเล 12-3 ฝ
<i>Schizochytrium</i> sp.2	ตะบูนขาว 12-3 ล	ไม่พบทรอสโทโคตริคส์
<i>Thraustochytriidae</i> 8	ลำพูทะเล 12-2 ล ตาคุ่มทะเล 3-1 ล แสมทะเล 20-1 ล พังกาหัวสุ่มดอกแดง 10-3 ล โปรงขาว 7-2 ล	โก่งกางใบเล็ก 17-3 ฝ ลำแพน 2-3 ฝ ลำพูทะเล 8-1 ฝ โก่งกางใบใหญ่ 19-1 ฝ ฝาดดอกขาว 1-3 ฝ
<i>Thraustochytriidae</i> 9	โก่งกางใบเล็ก 10-1 ล ตาคุ่มทะเล 18-3 ล ลำพูทะเล 10-1 ล โปรงขาว 13-1 ล แสมทะเล 3-3 ล	ตะบูนขาว 19-1 ฝ โปรงแดง 12-1 ฝ โปรงแดง 3-2 ฝ โปรงขาว 5-1 ฝ ตาคุ่มทะเล 20-1 ฝ

หมายเหตุ ตัวอย่าง โกงกางใบเล็ก 10-3 ล หมายถึง ใบโกงกางใบเล็ก ใบลำดับที่ 10 ซ้ำที่ 3 ฤดูแล้ง