ความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่แยกจากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

Diversity of Thraustochytrids Isolated from Mangrove Leaves at Thung Prong Tong, Rayong Province

ทิวาพร ทองประสม[1], สุดารัตน์ สวนจิตร[2] และ สมถวิล จริตควร[3*]

Tiwaporn Thongprasom[1], Sudarat Suanjit[2] and Somtawin Jaritkhuan[3*]

[1] *สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[2] *ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[3] *ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา*

[1] *Environmental Science program, Faculty of Science, Burapha University*

[2] *Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University*

[3] *Department of Aquatic Science, Faculty of Science, Burapha University*

Received : 27 April 2018

Accepted : 8 June 2018

Published online : 13 June 2018

บทคัดย่อ

ศึกษาความหลากหลาย ความถี่ของการพบ และปริมาณกรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นจำนวน 12 ชนิดบริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองในฤดูแล้ง และฤดูฝน พบทรอสโทไคตริดส์ที่จำแนกได้ 3 สกุล (7 ชนิด) ได้แก่ สกุล *Aurantiochytrium* จำนวน 5 ชนิด (*Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5) สกุล *Parietichytrium* จำนวน 1 ชนิด (*Parietichytrium* sp.) สกุล *Schizochytrium* จำนวน 1 ชนิด (*Schizochytrium* sp.2) และทรอสโทไคตริดส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 ชนิดคือ Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์โดยเฉลี่ยตลอดการศึกษาพบร้อยละ 2.5-52.5 โดยฤดูฝนมีความถี่ของการพบมากกว่าฤดูแล้ง เมื่อพิจารณาจากชีวมวลของทรอสโทไคตริดส์มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 15.63±3.03-22.87±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±0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.1±0.04 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ1.67±1.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.35±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±6.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (8.06±0.53 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 137.23±25.61 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (31.68±2.72 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ สายพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับใช้ประโยชน์ทางอุตสาหกรรมต่อไปคือ *Aurantiochytrium* sp.1

คำสำคัญ : ความหลากหลาย, ทรอสโทไคตริดส์, ดีเอชเอ, กรดไขมัน, ป่าชายเลน

***Corresponding author. E-mail** : somtawin@buu.ac.th

Abstract

Diversity, frequency of occurrence and fatty acid content of thraustochytrids isolated from fallen leaves of 12 mangrove trees at Thung Prong Tong, Rayong Province were studied in the dry and rainy season. Three genera (7 species) were identified as genus *Aurantiochytrium* (5 species, *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 species of unidentified thraustochytrids were Thraustochytriidae 8 and Thraustochytriidae 9. The average frequency of occurrence of thraustochytrids was 2.5-52.5%, which showed higher in the rainy season than that of dry season. 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 stain for further industrial uses.

Keywords : diversity, thraustochytrids, docosahexaenoic acid (DHA), fatty acids, mangrove forest

บทนำ

ทรอสโทไคตริดส์เป็นจุลินทรีย์ทะเลที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก สามารถพบได้ทั้งในบริเวณป่าชายเลน ปากแม่น้ำ ดินตะกอนชายฝั่ง (Raghukumar, 2002) ทรอสโทไคตริดส์เป็นผู้ย่อยสลายสารอินทรีย์ รวมทั้งเป็นแหล่งอาหารของโปรโตซัว แพลงก์ตอน สัตว์น้ำวัยอ่อน และสัตว์หน้าดิน เป็นต้น (Santangelo *et al*., 2000) ทรอสโทไคตริดส์ถูกจัดอยู่ใน Kingdom Straminipila (Raghukumar, 2002) พบทั้งสิ้น 11 สกุล ได้แก่ *Thraustochytrium, Japonochytrium, Schizochytrium, Oblongichytrium, Aurantiochytrium, Ulkenia, Sicyoidochytrium, Botryochytrium, Parietichytrium, Monorhizochytrium* และ *Althornia* (Marchan *et al*., 2017) ทรอสโทไคตริดส์สามารถผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้ในปริมาณสูง โดยเฉพาะกรดไขมันไม่อิ่มตัวกลุ่มโอเมก้า-3 ที่สำคัญได้แก่ อีพีเอ และดีเอชเอ (Ward & Singh, 2005; Naganuma *et al*., 2006; Raghukumar, 2008) โดยกรดไขมันชนิดนี้พบมากในวัชพืชน้ำ สาหร่ายน้ำจืด สาหร่ายทะเล แพลงก์ตอน และน้ำมันพืชบางชนิด (Niyomdecha *et al*., 2013) ซึ่งดีเอชเอนี้ช่วยพัฒนาด้านการมองเห็นของทารกเป็นอย่างดี (Uauy *et al*., 2001) โดยแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดนี้พบมากในปลาทะเล (Simopoulos, 2001) แต่เนื่องจากความแตกต่างของชนิดปลา ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัยของปลามีผลต่อปริมาณ และชนิดของกรดไขมันในตัวปลา และพบว่าผลิตภัณฑ์มีกลิ่นคาวจากตัวปลา ทำให้ยากต่อการบริโภค (Li & Ward, 1994) อีกทั้งยังการผลิตกรดไขมันจากทรอสโทไคตริดส์สามารถผลิตได้ตลอดปี และสามารถควบคุมปัจจัยแวดล้อมและโภชนาการได้ดีกว่า (Pongsaussvapaiboon, 2008) ทำให้ทรอสโทไคตริดส์ได้รับความ

สนใจจากภาคอุตสาหกรรม โดยเฉพาะประโยชน์ด้านสุขภาพและได้รับการพิสูจน์ถึงความสารมารถในการผลิตกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Ranasinghe, 2013)

ในประเทศไทย มีการศึกษาเกี่ยวกับทรอสโทไคตริดส์ในป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร (Jantaban *et al.,* 2007) ป่าชายเลนจังหวัดสมุทรปราการ (Prayoonpan, 2006) ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี (Yimyuan, 2007) ป่าชายเลนจังหวัดสมุทรสาคร (Iamla-Or *et al*., 2012) ในภาคตะวันออกคือป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด (Boontang, 2005) นอกจากนี้ มีการศึกษาทรอสโทไคตริดส์จากแหล่งอื่นๆ เช่น หญ้าทะเลชนิดหญ้ากุยช่ายเข็มบริเวณหาดเตยงาม จังหวัดชลบุรี พบทรอสโทไคตริดส์ 2 ชนิดคือ *Botryochytrium* sp. และ *Oblongichytrium* sp.3 มีความถี่ของการพบเท่ากับ 1.67-60 เปอร์เซ็นต์ (Jaritkhun & Suanjit, 2017)

สำหรับป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองมีเนื้อที่ 8,725.04 ไร่ มีพันธุ์ไม้หลากชนิด เป็นอีกหนึ่งพื้นที่ที่สำคัญในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ ที่อยู่อาศัยของสิ่งมีชีวิต แหล่งทำการประมง เป็นต้น (Department of marine and coastal resources, 2012) อีกทั้งยังไม่เคยมีการศึกษาเกี่ยวกับทรอสโทไคตริดส์ในบริเวณนี้มาก่อน ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาความหลากหลายและความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์ในฤดูแล้งและฤดูฝนและปริมาณกรดไขมันของทรอสโทไคตริดส์เพื่อหาสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะพัฒนาต่อยอดต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง (พิกัด GPS: N12.706773 E101.716326) ทั้งสิ้น 12 ชนิดได้แก่ โกงกางใบใหญ่ โกงกางใบเล็ก ลำแพน ปอทะเล ตะบูนขาว แสมทะเล โปรงขาว โปรงแดง พังกาหัวสุมดอกแดง ตาตุ่มทะเล ลำพูทะเล และฝาดดอกขาว ชนิดละ 20 ใบ โดยเลือกเก็บใบไม้ที่มีลักษณะสีเหลืองอมน้ำตาลที่อยู่บนดินที่ชื้นแฉะ เก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง คือเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง) และเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน)

การทดลองในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างใบไม้ป่าชายเลนล้างด้วยน้ำทะเลที่ปราศจากเชื้อประมาณ 2-3 ครั้ง ตัดใบไม้แต่ละชนิด ขนาดประมาณด้านละ 0.5 เซนติเมตร ใบละ 9 ชิ้น นำไปใส่ในจานเพาะเชื้อ (เพลท) ที่มีน้ำทะเลปราศจากเชื้อ และเติมยาปฏิชีวนะ 80 ไมโครลิตรต่อเพลท (ยาปฏิชีวนะ: เพนนิซิลิน จี 3 กรัม สเตรปโตมัยซิน ซัลเฟต 3 กรัม ต่อน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 10 มิลลิลิตร) แช่ทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปักในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารแข็ง GYP (กลูโคส 0.1% ยีสต์สกัด 0.1% เปปโตน 0.1% วุ้น 1% น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อความเค็ม 15 พีเอสยู (psu)) จำนวน 3 ชิ้นต่อเพลท แล้วเติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ 10 มิลลิลิตร ที่ได้เติมยาปฏิชีวนะแล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ตรวจหาทรอสโทไคตริดส์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน และทำการคัดแยกทรอสโท-ไคตริดส์จนได้เชื้อบริสุทธิ์ (Jaritkhun *et al*., 2006) จัดจำแนกทรอสโทไคตริดส์โดยใช้ลักษณะสัณฐานวิทยา (Yokoyama *et al*., 2007: Yokoyama & Honda, 2007: Marchan, 2017: Jaritkhuan *et al*., 2006) ได้แก่ การสร้างซูโอสปอร์ การแบ่งเซลล์ ลักษณะของซูโอสปอร์แรงเจียม และลักษณะโคโลนี เก็บเชื้อบริสุทธิ์ในอาหารแข็ง GY ผิวเอียง (กลูโคส 0.1% ยีสต์สกัด 0.1% วุ้น 1% น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อความเค็ม 15 พีเอสยู) ที่เติมน้ำทะเลปราศจากเชื้อ 3 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิห้อง

ทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 2 เดือน คำนวณหาความถี่ของการพบ (Frequency of Occurrence) ของตัวอย่างใบไม้ทุกชนิดที่ทำการศึกษาดังสมการ (1)

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

การเลี้ยงเชื้อเพื่อวิเคราะห์กรดไขมัน

นำทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหารเหลว GY (กลูโคส 6% ยีสต์สกัด 1% น้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อความเค็ม 15 พีเอสยู ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 4 วัน เก็บเซลล์โดยปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นล้างด้วยสารละลาย PBS และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส และทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) (Jaritkhuan & Suanjit, 2018) และนำไปวิเคราะห์กรดไขมัน ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Shimizu *et al.* (1988) โดยใช้กรดไขมันมาตรฐาน (Nonadecanoic Acid; C19:0) ในการคำนวณปริมาณกรดไขมัน

การวิเคราะห์กรดไขมันด้วยเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟี

สภาวะเครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟฟีใช้ Flame ionization detector เป็นเครื่องตรวจวัดสัญญาณ และคอลัมน์ใช้ Capillary Column Agilent J&W DB-23 (60 m x 250 μm x 0.25 μm) โดยใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สพา ส่วนอุณหภูมิของ Injector และ Detector คือ 250 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้นที่ 50 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 50 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 1 นาที แล้วค่อยๆ เพิ่มขึ้น 2 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึงอุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส คงไว้เป็นเวลา 14 นาที (Jaritkhuan & Suanjit, 2018)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการในบริเวณที่เก็บตัวอย่าง พบว่าฤดูแล้งมีค่าต่ำกว่าฤดูฝน โดยความเค็ม อุณหภูมิน้ำทะเล และปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำมีค่าแตกต่างกันมากระหว่างฤดูแล้งกับฤดูฝน แต่ค่าดังกล่าวอยู่ในเกณฑ์ปกติ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการในแต่ละฤดู บริเวณป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

ปัจจัยสิ่งแวดล้อม	เดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง)	เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน)
ความเค็มน้ำทะเล (พีเอสยู)	33	10
อุณหภูมิน้ำ (องศาเซลเซียส)	26	31
ค่าความเป็นกรด-เบส	6.4	6.5
ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	4.2	6.7

ความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์

จากการศึกษาความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่น บริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยองพบทรอสโทไคตริดส์ทั้งสิ้น 486 ไอโซเลท ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาจำแนกได้ทั้งสิ้น 9 ชนิด ซึ่งทรอสโท-ไคตริดส์ที่สามารถจำแนกได้พบ 3 สกุล (7 ชนิด) ได้แก่ สกุล *Aurantiochytrium* จำนวน 5 ชนิด (*Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4 และ *Aurantiochytrium* sp.5) สกุล *Parietichytrium* จำนวน 1 ชนิด (*Parietichytrium* sp.) สกุล *Schizochytrium* จำนวน 1 ชนิด (*Schizochytrium* sp.2) (Jaritkhun *et al*., 2006) และทรอสโทไคตริดส์ที่ไม่สามารถจำแนกได้ 2 ชนิดคือ Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 ซึ่งสกุลที่พบใกล้เคียงกับ Boontang (2005) ที่ศึกษาทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนบ้านเปร็ดใน จังหวัดตราด พบจำนวน 3 สกุล 10 ชนิด ได้แก่ *Schizochytrium mangrovei* (syn. *Aurantiochytrium mangrovei*), *Schizochytrium limacinum* (syn. *Aurantiochytrium limacinum*) , *Schizochytrium* sp.1, *Schizochytrium* sp.2, *Schizochytrium* sp.6, *Schizochytrium* sp.8, *Ulkenia* sp.2, *Ulkenia* sp.3 และ Unknown 3 สำหรับ Prayoonpan (2006) พบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนอำเภอเมือง จังหวัดสมุทรปราการ เพียง 1 สกุล 3 ชนิดคือ *S. mangrovei, S. limacinum* และ *Schizochytrium* sp.8 ในขณะที่ Jantaban *et al*. (2007) พบทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลนบางขุนเทียน กรุงเทพมหานคร จำนวน 2 สกุล 4 ชนิดคือ *S. mangrovei, S. limacinum, Schizochytrium* sp.2 และ *Ulkenia visurgensis* นอกจากนั้น Yimyuan (2007) พบทรอสโทไคตริดส์ 3 สกุล 5 ชนิดคือ *S. mangrovei, S. limacinum, Schizochytrium* sp.1, *Schizochytrium* sp.2, *Ulkenia visurgensis* และ Thraustochytrid 1 จากใบไม้ป่าชายเลนแหลมผักเบี้ย จังหวัดเพชรบุรี เช่นเดียวกับ Iamla-Or *et al*. (2012) พบทรอสโทไคตริดส์ 2 สกุล 3 ชนิดคือ *A. mangrovei, A. limacinum* และ *Ulkenia visurgensis* จาก ใบไม้ป่าชายเลนบริเวณสถานีวิจัยและพัฒนาทรัพยากรป่าชายเลนที่ 5 จังหวัดสมุทรสาคร และ Jaritkhuan and suanjit (2018) ได้คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลนจังหวัดชลบุรี พบทรอสโทไคตริดส์ทั้งสิ้น 10 ชนิด ได้แก่ *Aurantiochytrium mangrovei, Aurantiochytrium limacinum, Aurantiochytrium* sp.1, *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Aurantiochytrium* sp.5, *Aurantiochytrium* sp.7, Unknown 1 และ Unknown 2 อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาครั้งนี้และนักวิจัยท่านอื่นๆ พบทรอสโทไคตริดส์ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม *Aurantiochytrium* spp. ซึ่งชื่อวิทยาศาสตร์ของทรอสโทไคตริดส์ได้ถูกปรับเปลี่ยนใหม่ตาม Yokoyama & Honda (2007) และ Yokoyama *et al*. (2007)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทรอสโทไคตริดส์ทั้ง 9 ชนิดจากการศึกษาครั้งนี้แสดงในตารางที่ 2 และ ภาพที่ 1 จะเห็นว่า *Parietichytrium* sp. (ภาพที่ 1 U-X) มีลักษณะที่แตกต่างจากทรอสโทไคตริดส์ชนิดอื่นอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือเซลล์มีผนังหนา อะมิบอยด์เซลล์มีขนาดค่อนข้างใหญ่และไม่พบการแบ่งตัวแบบ binary division ในขณะที่ ลักษณะเซลล์ในอาหารเหลวของทรอสโทไคตริดส์ชนิดอื่นๆ พบว่าผนังเซลล์บาง มีอะมิบอยด์เซลล์ และมีการแบ่งตัวแบบ binary division เช่นเดียวกัน แต่มีลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกัน ได้แก่ สี รูปร่าง ความนูน ขอบและเนื้อโคโลนี (ตารางที่ 2) เช่น *Aurantiochytrium* sp.2 (ภาพที่ 1 E-H) พบโคโลนีสีส้มอ่อน ทึบแสง เป็นมันวาว ขอบโลนีหยักเล็กน้อย ส่วน *Schizochytrium* sp.2 (ภาพที่ 1 Y-AB) มีโคโลนีสีเหลือง ทึบแสง ขอบหยัก เมื่อนำเข็มเขี่ยที่โคโลนีพบว่าโคโลนีแข็งหลุดออกมาเป็นแผ่น และบริเวณขอบโคโลนีพบเซลล์ซ้อนทับกัน เช่นเดียวกับ Unagul *et al.* (2017) ที่คัดแยกทรอสโทไคตริดส์จากป่าชายเลน 22 แห่งในประเทศไทยพบ *Schizochytrium* sp. มีโคโลนีสีเหลือง สำหรับ Thraustochytriidae 9 (ภาพที่ 1 AG-AJ) เป็นเพียงสกุลเดียวที่เมื่อนำเข็มเขี่ย

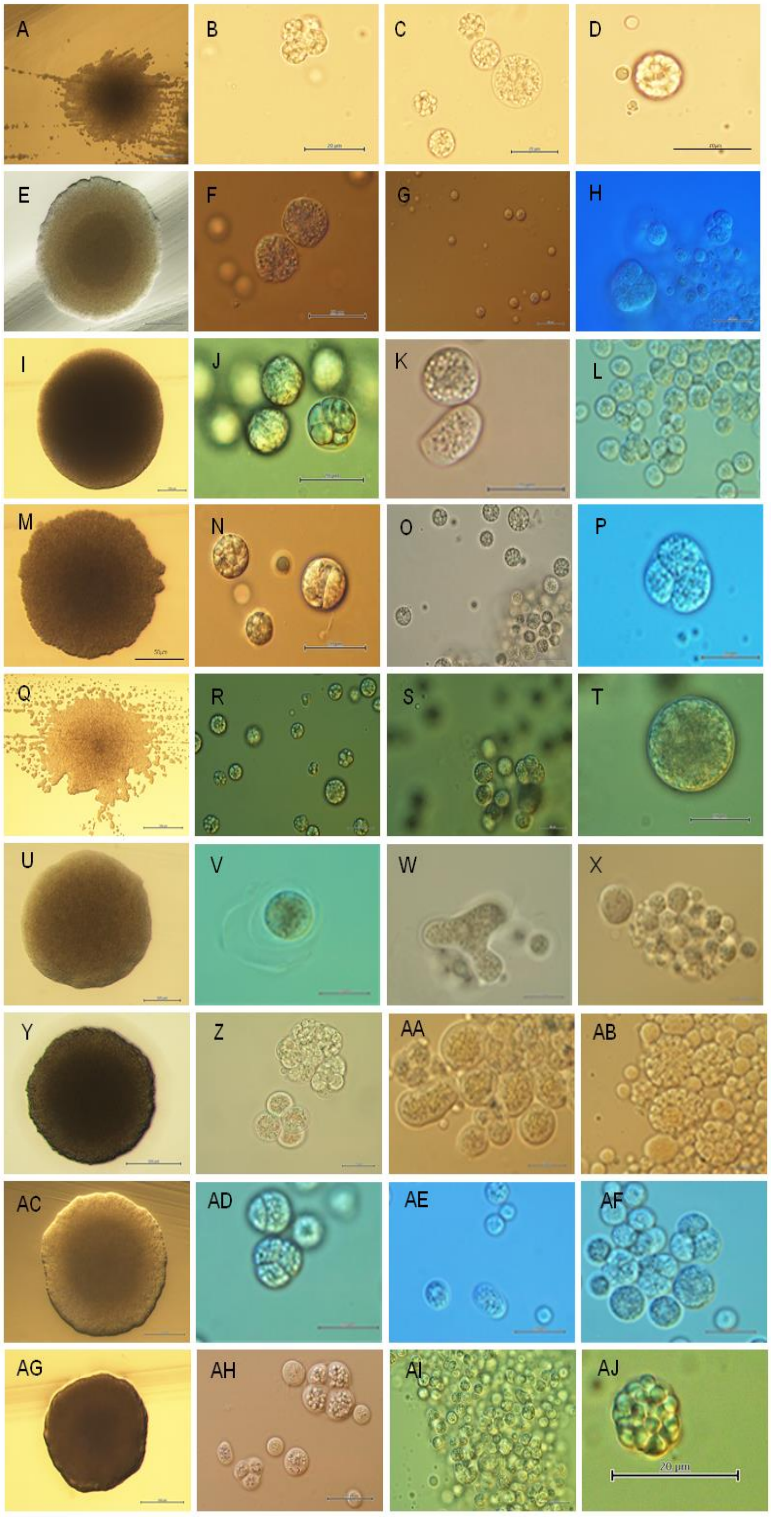
พบว่าโคโลนีแตกเป็นชิ้นเล็กๆ แตกต่างกับ *Aurantiochytrium* sp.1 (ภาพที่ 1 A-D), *Aurantiochytrium* sp.2 (ภาพที่ 1 E-H), *Aurantiochytrium* sp.3 (ภาพที่ 1 I-L), *Aurantiochytrium* sp.4 (ภาพที่ 1 M-P), *Aurantiochytrium* sp.5 (ภาพที่ 1 Q-T), Thraustochytriidae 8 (ภาพที่ 1 AC-AF) และ *Parietichytrium* sp. ที่มีเนื้อโคโลนีคล้ายเนยเหลว ส่วน *Aurantiochytrium* sp.1 และ *Aurantiochytrium* sp.5 สามารถมองเห็นอะมิบอยด์เซลล์กระจายรอบๆ โคโลนีอย่างชัดเจน ส่วนโคโลนีของ *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.4, Thraustochytriidae 8 และ Thraustochytriidae 9 พบที่ขอบโคโลนีมีขอบหยักเล็กน้อย (ภาพที่ 1 และ ตารางที่ 2)

สำหรับความหลากหลายของทรอสโทไคตริดส์ในแต่ละฤดูกาล พบทรอสโทไคตริดส์ในฤดูแล้งและฤดูฝนทั้งหมด 5 ชนิด และ 8 ชนิด ตามลำดับ โดยชนิดที่พบเฉพาะในฤดูแล้ง คือ *Schizochytrium* sp.2 ส่วนชนิดที่พบเฉพาะในฤดูฝน ได้แก่ *Aurantiochytrium* sp.2, *Aurantiochytrium* sp.3, *Aurantiochytrium* sp.4, *Parietichytrium* sp. (ตารางที่ 3) ในขณะที่ Yimyuan (2007) พบ *S. mangrovei, S. limacinum, Schizochytrium* sp.1 และ *Schizochytrium* sp.2 ทั้งในเดือนพฤษภาคม พ.ศ.2549 (ฤดูแล้ง) และเดือนกันยายน พ.ศ. 2549 (ฤดูฝน) แต่ Thraustochytrid 1 พบในฤดูแล้ง และ *Ulkenia visurgensis* พบในฤดูฝนเท่านั้น เมื่อพิจารณาการพบทรอสโทไคตริดส์ในแต่ละชนิดของพันธุ์ไม้ป่าชายเลน (ตารางที่ 3) จะเห็นว่าใบไม้ป่าชายเลนพบทรอสโทไคตริดส์ตั้งแต่ 2-7 ชนิด โดยโกงกางใบเล็กพบจำนวนชนิดของทรอสโทไคตริดส์มากที่สุด 7 ชนิด ใบไม้ป่าชายเลนส่วนใหญ่พบ 4-6 ชนิด และใบพังกาหัวสุมดอกแดงพบเพียง 2 ชนิด ในขณะที่ Boontang (2005) พบจำนวนชนิดทรอสโทไคตริดส์มากที่สุด 8 ชนิดที่ใบพังกาหัวสุมดอกแดง ส่วนใบไม้ป่าชายเลนส่วนใหญ่พบ 4-7 ชนิด

ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์

ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์โดยเฉลี่ยตลอดการศึกษาพบร้อยละ 2.5-52.5 โดยฤดูฝนมีความถี่ของการพบมากกว่าฤดูแล้ง โกงกางใบเล็กมีความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์สูงสุด เมื่อพิจารณาจากพันธุ์ไม้พบว่าโกงกางใบใหญ่มีจำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์เฉลี่ยสูงสุดร้อยละ 100 รองลงมาคือโปรงแดงมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 77.5 ถัดมาคือลำแพนมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 75 และพังกาหัวสุมดอกแดงมีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุดร้อยละ 15 ซึ่งพบน้อยกว่ารายงานของ Jantaban *et al.* (2007) ที่พบทรอสโทไคตริดส์จากใบพังกาหัวสุมดอกแดงมีความถี่ของการพบสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อพิจารณาความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิดทั้งฤดูแล้งและฤดูฝน พบว่า *Aurantiochytrium* sp.1 มีความถี่ของการพบเฉลี่ยสูงสุดร้อยละ 12.5-52.5 รองลงมาคือ *Aurantiochytrium* sp.5 มีความถี่ของการพบเฉลี่ยร้อยละ 2.5-27.5 ส่วน *Schizochytrium* sp.2 พบน้อยสุดมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 2.5 และ Jaritkhuan and suanjit (2018) มีความถี่ของการพบอยู่ในช่วง 2.50- 57.50% พบว่าความถี่ของฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝน

อย่างไรก็ตาม ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ฤดูมีผลต่อการพบชนิดทรอสโทไคตริดส์และความถี่ของการพบที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) จะเห็นว่าฤดูแล้งมีความเค็มสูงกว่าฤดูฝนอย่างเห็นได้ชัด ส่วนอุณหภูมิน้ำและปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำในฤดูแล้งมีค่าต่ำกว่าฤดูฝน จึงอาจเป็นไปได้ว่าทรอสโทไคตริดส์บางชนิดไม่พบในฤดูฝน เนื่องจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการไม่เหมาะสมต่อการเจริญ นอกจากนั้นลักษณะทางกายภาพของพื้นที่ป่าชายเลน บริเวณที่พันธุ์ไม้ชนิดนั้น ๆ ขึ้นอยู่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทไคตริดส์เช่นกัน เช่นเดียวกับ Boontang (2005) พบว่าในฤดูร้อนสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศป่าชายเลนมีกระบวนการเมตาบอลิซึมและการหมุนเวียนของแร่ธาตุดีกว่าฤดูหนาวทำให้ทรอสโทไคตริดส์เจริญได้ดี



ภาพที่ 1 โคโลนีและเซลล์ของทรอสโทไคตริดส์ *Aurantiochytrium* sp.1 (A-D), *Aurantiochytrium* sp.2 (E-H), *Aurantiochytrium* sp.3 (I-L), *Aurantiochytrium* sp.4 (M-P), *Aurantiochytrium* sp.5 (Q-T), *Parietichytrium* sp. (U-X), *Schizochytrium* sp.2 (Y-AB), Thraustochytriidae 8 (AC-AF), Thraustochytriidae 9 (AG-AJ)

ตารางที่ 2 ลักษณะสัณฐานวิทยาของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกได้ใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

โคโลนี (อายุ 5 วัน)/ เซลล์ใน broth	ทรอสโทไคตริดส์								
	Aurantiochytrium sp.1	*Aurantiochytrium* sp. 2	*Aurantiochytrium* sp.3	*Aurantiochytrium* sp.4	*Aurantiochytrium* sp.5	Thraustochytriidae 8	Thraustochytriidae 9	*Schizochytrium* sp.2	*Parietichytrium* sp.
สีโคโลนี	ครีม ทึบแสง	ส้มอ่อน ทึบแสง	ครีม ทึบแสง	ครีม ทึบแสง	ครีม โปร่งแสง	ครีม ทึบแสง	ครีม ทึบแสง	เหลือง ทึบแสง	ครีม ทึบแสง
รูปร่างโคโลนี	ไม่แน่นอน	กลม	กลม	กลม	ไม่แน่นอน	กลม	กลม	กลม	กลม
ความนูนโคโลนี	แบนราบ	แบนราบ	แบนราบ	แบนราบ	แบนราบ	ค่อนข้างหนา	ค่อนข้างหนา	แบนราบ	แบนราบ
ขอบโคโลนี	มีอะมิบอยด์เซลล์กระจายรอบๆ	หยักเล็กน้อย	เรียบ	หยักเล็กน้อย	มีอะมิบอยด์เซลล์กระจายรอบๆ	หยักเล็กน้อย	หยักเล็กน้อย	หยัก	เรียบ
เนื้อโคโลนี	คล้ายเนยเหลว	คล้ายเนยเหลว	คล้ายเนยเหลว	คล้ายเนยเหลว	คล้ายเนยเหลว	คล้ายเนยเหลว	หลุดเป็นชิ้นเล็กๆ	เป็นแผ่นแข็ง	คล้ายเนยเหลว
ขนาดโคโลนี (มม.)	3-4	3-4	3-4	3-4	1-2	2-3	2-3	2-3	2-3
เส้นใยเอกโต-พลาสมิก	พบ	พบ	N/O	N/O	N/O	N/O	N/O	พบ	พบ
ขนาดเซลล์ปกติ (ไมโครเมตร)	10-12.5	5-15	10-20	10-25	12.5 -50	5-10	10-12.5	25-50	12.5-30
ซูโอสปอร์ (ไมโครเมตร)	2.5-5	3-8	2-5	3	5	2.5-5	5	3-8	7.5
ผนังเซลล์	บาง	บาง	บาง	บาง	บาง	บาง	บาง	บาง	หนา
อะมิบอยด์เซลล์	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ
การแบ่งตัวแบบ Binary division	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	พบ	ไม่พบ

N/O = not observe

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าต้นพังกาหัวสุมดอกแดงพบในบริเวณที่น้ำท่วมไม่ถึง พื้นดินมีความชุ่มชื้นน้อย ส่วนบริเวณที่พบโกงกางใบเล็กอยู่บริเวณชายน้ำหรือติดริมคลองทำให้พื้นที่มีความชื้นแฉะ สอดคล้องกับ Yimyuan (2007) ที่พบว่าบริเวณที่เก็บตัวอย่างมีผลต่อความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์ ซึ่งบริเวณที่พบน้อยสุดเท่ากับ 35 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากพื้นที่มีความชุ่มชื้นน้อย อีกทั้งใบไม้ที่ร่วงหล่นมีลักษณะแห้งจึงไม่เหมาะในการนำมาคัดแยก สำหรับลักษณะใบไม้เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์ต่างกัน เช่น ใบที่มีลักษณะอวบน้ำ หรือบางนิ่ม หรือลักษณะของการเน่าเปื่อยของใบ เช่นเดียวกับ Jensen *et al.* (1998) ที่กล่าวว่าทรอสโทไคตริดส์จากหญ้าทะเล *Thalassia testudinum* ใบสีเขียวพบน้อยกว่าใบหญ้าทะเลที่มีสีเหลือง เนื่องจากหญ้าทะเลใบสีเขียวจะสร้างสารปฏิชีวนะที่ยับยั้งการเจริญของทรอสโทไคตริดส์

ตารางที่ 3 จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

พันธุ์ไม้	ทรอสโทไคตริดส์	เดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง)		เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน)		ค่าเฉลี่ยความถี่ของการพบ
		ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	
โกงกางใบเล็ก	*Aurantiochytrium* sp.1	15	50	10	25	37.5
(*Rhizophora apiculata)*	*Aurantiochytrium* sp.2	0	0	6	20	10
	Aurantiochytrium sp.3	0	0	7	15	7.5
	Aurantiochytrium sp.4	0	0	4	10	5
	Aurantiochytrium sp.5	6	25	0	0	12.5
	Thraustochytriidae 8	0	0	13	50	25
	Thraustochytriidae 9	2	10	0	0	5
โกงกางใบใหญ่	*Aurantiochytrium* sp.1	19	70	7	30	50
(*Rhizophora mucronata)*	*Aurantiochytrium* sp.3	0	0	5	20	10
	Aurantiochytrium sp.5	13	50	0	0	25
	Thraustochytriidae 8	5	20	4	20	20
	Thraustochytriidae 9	0	0	4	20	10
ตะบูนขาว	*Aurantiochytrium* sp.1	18	75	10	30	52.5
(*Xylocarpus granatum*)	*Aurantiochytrium* sp.4	0	0	3	10	5
	Aurantiochytrium sp.5	6	20	0	0	10
	Thraustochytriidae 8	2	10	0	0	5
	Thraustochytriidae 9	2	5	5	15	10
ตาตุ่มทะเล	*Aurantiochytrium* sp.3	0	0	5	15	7.5
(*Excoecaria agallocha*)	*Aurantiochytrium* sp.4	0	0	6	30	15
	Aurantiochytrium sp.5	0	0	15	45	22.5
	Schizochytrium sp.2	1	5	0	0	2.5
	Thraustochytriidae 8	0	0	10	35	17.5

ตารางที่ 3 (ต่อ) จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

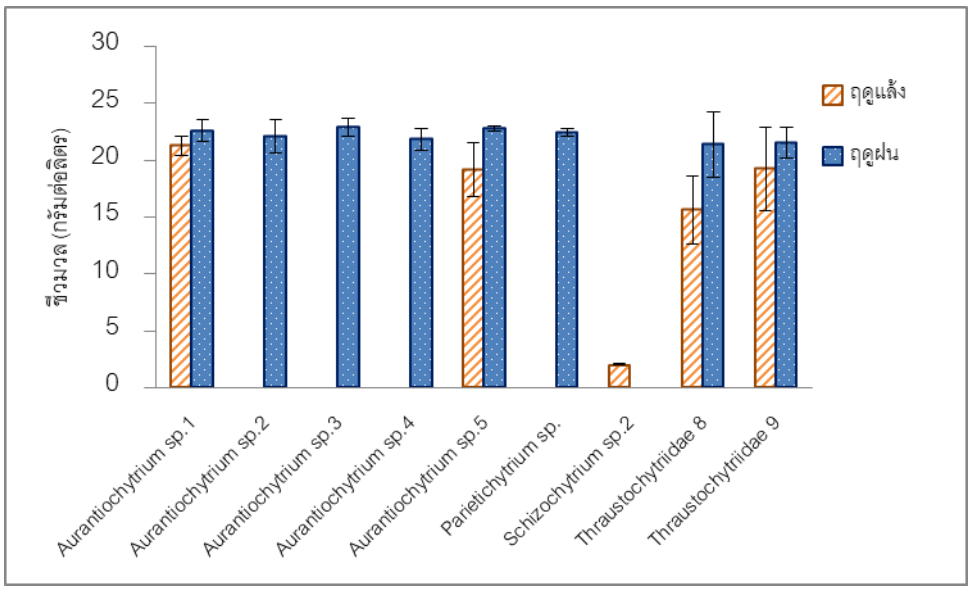
พันธุ์ไม้	ทรอสโทไคตริดส์	เดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง)		เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน)		ค่าเฉลี่ยความถี่ของการพบ
		ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	
ปอทะเล (*Hibiscus tiliaceus*)	*Aurantiochytrium* sp.1	13	40	4	15	27.5
	Parietichytrium sp.	0	0	2	10	5
	Thraustochytriidae 8	5	20	0	0	10
	Thraustochytriidae 9	10	35	0	0	17.5
โปรงขาว (*Ceriops decandra*)	*Aurantiochytrium* sp.1	8	40	6	30	35
	Aurantiochytrium sp.3	0	0	4	20	10
	Aurantiochytrium sp.5	4	20	7	25	22.5
	Thraustochytriidae 9	0	0	2	10	5
โปรงแดง (*Ceriops tagal*)	*Aurantiochytrium* sp.1	18	55	8	30	42.5
	Aurantiochytrium sp.4	0	0	2	5	2.5
	Aurantiochytrium sp.5	7	35	5	20	27.5
	Parietichytrium sp.	0	0	1	5	2.5
	Thraustochytriidae 8	4	20	0	0	10
	Thraustochytriidae 9	0	0	13	50	25
ฝาดดอกขาว (*Lumnitzera racemosa*)	*Aurantiochytrium* sp.1	7	25	0	0	12.5
	Aurantiochytrium sp.4	0	0	3	15	7.5
	Aurantiochytrium sp.5	0	0	9	25	12.5
	Parietichytrium sp.	0	0	4	15	7.5
	Thraustochytriidae 8	0	0	2	10	5
พังกาหัวสุมดอกแดง (*Bruguiera gymnorrhiza*)	*Aurantiochytrium* sp.1	7	25	0	0	12.5
	Aurantiochytrium sp.5	1	5	0	0	2.5
ลำพูทะเล (*Sonneratia alba*)	*Aurantiochytrium* sp.1	5	20	3	15	17.5
	Aurantiochytrium sp.2	0	0	6	25	12.5
	Aurantiochytrium sp.5	5	25	3	15	20
	Parietichytrium sp.	0	0	5	20	10
	Thraustochytriidae 8	1	5	7	30	17.5
	Thraustochytriidae 9	1	5	0	0	2.5
ลำแพน (*Sonneratia ovata*)	*Aurantiochytrium* sp.1	14	60	6	30	45
	Aurantiochytrium sp.2	0	0	5	20	10
	Aurantiochytrium sp.3	0	0	5	20	10
	Aurantiochytrium sp.5	5	25	7	30	27.5
	Thraustochytriidae 8	0	0	3	15	7.5
	Thraustochytriidae 9	2	5	0	0	2.5

ตารางที่ 3 (ต่อ) จำนวนไอโซเลทและความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์จากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง

พันธุ์ไม้	ทรอสโทไคตริดส์	เดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูแล้ง)		เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 (ฤดูฝน)		ค่าเฉลี่ยความถี่ของการพบ
		ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	ไอโซเลท	ความถี่ของการพบ	
แสมทะเล	*Aurantiochytrium* sp.1	21	75	6	25	50
(*Avicennia marina*)	*Aurantiochytrium* sp.5	8	35	2	10	22.5
	Parietichytrium sp.	0	0	2	10	5
	Thraustochytriidae 8	1	5	0	0	2.5
	Thraustochytriidae 9	4	20	0	0	10

ชีวมวลของทรอสโทไคตริดส์

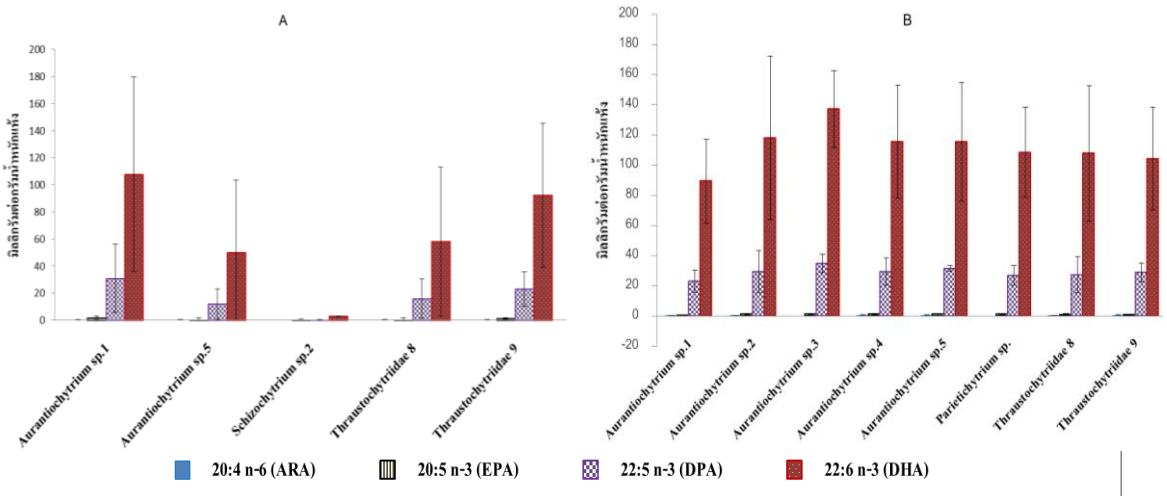
ชีวมวลของทรอสโทไคตริดส์ทุกชนิดในฤดูแล้งมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 15.63±3.03-21.28±0.80 กรัมต่อลิตร ส่วนฤดูฝนมีปริมาณอยู่ในช่วง 21.41±2.86-22.87±0.80 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 2) และ *Aurantiochytrium* sp.1 มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุดในฤดูแล้งเท่ากับ 21.28±0.80 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ Thraustochytriidae 9 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.27±3.66 กรัมต่อลิตร และ Thraustochytriidae 8 มีค่าชีวมวลเฉลี่ยน้อยสุดเท่ากับ 15.63±3.03 กรัมต่อลิตร สำหรับฤดูฝน *Aurantiochytrium* sp.3 และ *Aurantiochytrium* sp.5 มีชีวมวลใกล้เคียงกันเท่ากับ 22.87±0.80 กรัมต่อลิตร และ 22.83±0.21 กรัมต่อลิตร ส่วน *Schizochytrium* sp.2 มีชีวมวลน้อยที่สุดเท่ากับ 2.05±0.07 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ 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% เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่ามีชีวมวลเท่ากับ 4.06 กรัมต่อลิตร และ Jaritkhuan and suanjit (2018) เลี้ยงทรอสโทไคตริดส์ด้วยอาหารเหลว GYP ความเค็ม 15 psu 25 องศาเซลเซียส พบว่ามีชีวมวลอยู่ในช่วง 6.88-22.49 กรัมต่อลิตร สำหรับการเลี้ยงทรอสโทไคตริดส์ในการศึกษาครั้งนี้ใช้อุณหภูมิและความเค็มเท่ากับ 25 องศาเซลเซียสและ 15 psu เนื่องจากการศึกษาของ Jaritkhun *et al.* (2006) ได้เลี้ยงทรอสโทไคตริดส์อุณหภูมิ 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส ความเค็ม 5 psu, 15 psu และ 25 psu พบว่าการเลี้ยงทรอสโทไคตริดส์อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเค็มที่ 15 psu สามารถผลิตกรดไขมันดีเอชเอได้สูงสุด และมีปริมาณชีวมวลมากที่สุดเมื่อเทียบกับการเลี้ยงอุณหภูมิและความเค็มอื่น อีกทั้งอุณหภูมิและความเค็มบริเวณป่าชายเลนอยู่ในช่วงกว้างจึงไม่มีผลต่อการเจริญของทรอสโทไคตริดส์ (Vashniac, 1960)



ภาพที่ 2 ชีวมวลเฉลี่ย (กรัมต่อลิตร) ของทรอสโทไคตริดส์ที่คัดแยกจากใบไม้ป่าชายเลนทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง ในฤดูแล้งและฤดูฝน

กรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์

กรดไขมันในทรอสโทไคตริดส์แต่ละชนิด พบว่ามีกรดไขมันทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว เช่น Palmitic acid (C16:0) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 167.34 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง Stearic acid (C18:0) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.83 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ Oleic acid (C18:1n-9) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.76 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เป็นต้น แต่กรดไขมันชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ เออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอและดีเอชเอ โดย *Aurantiochytrium* sp. 1 มีปริมาณกรดไขมันเออาร์เอและอีพีเอเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.43±0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.1±0.04 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ1.67±1.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (0.35±0.20 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ ส่วน *Aurantiochytrium* sp.3 มีกรดไขมันดีพีเอและดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 39.40±6.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (8.06±0.53 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) และ 137.23±25.61มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (31.68±2.72 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด) ตามลำดับ (ภาพที่ 3) อย่างไรก็ตาม Iamla-Or *et al.* (2012) รายงานว่าปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ ดีพีเอ และดีเอชเอของทรอสไคตริดส์มีค่าอยู่ในช่วง 0.18-1.25, 0.43-1.50, 3.15-11.82 และ 8.18-47.03 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งตามลำดับ สำหรับ Yimyuan (2007) พบว่าปริมาณกรดไขมันเออาร์เอ อีพีเอ และดีเอชเอของทรอสไคตริดส์มีค่าอยู่ในช่วง 0.17-5.63, 0.21-3.72 และ 2.30-163.61 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วน Jaritkhuan and suanjit (2018) พบกรดไขมันเออาร์เอและอีพีเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.03-0.10 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และ 0.13-0.60 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด ตามลำดับ ส่วนดีพีเอและดีเอชเอมีค่าอยู่ในช่วง 0.23-7.51เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมด และ 0.84-31.09 เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันทั้งหมดตามลำดับ



ภาพที่ 3 ปริมาณกรดไขมัน 20:4 n-6 (ARA), 20:5 n-3 (EPA), 22:5 n-3 (DPA) และ 22:6 n-3 (DHA) ของทรอสโทไคตริดส์ (A) มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของฤดูแล้ง, (B) มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้งของฤดูฝน

สรุปผลการวิจัย

คัดแยกทรอสโทไคตริดจากใบไม้ป่าชายเลนที่ร่วงหล่นบริเวณทุ่งโปรงทอง จังหวัดระยอง จากใบไม้ทั้งหมด 12 ชนิด พบทรอสโทไคตริดส์ทั้งสิ้น 9 ชนิด 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 ความถี่ของการพบทรอสโทไคตริดส์โดยเฉลี่ยตลอดการศึกษาพบร้อยละ 2.5-52.5 โดยฤดูฝนมีความถี่ของการพบมากกว่าฤดูแล้ง โกงกางใบใหญ่มีจำนวนใบที่พบทรอสโทไคตริดส์เฉลี่ยสูงสุดร้อยละ 100 และ *Aurantiochytrium* sp.1 มีชีวมวลเฉลี่ยสูงสุดในฤดูแล้งเท่ากับ 21.28±0.80 กรัมต่อลิตร สำหรับฤดูฝน *Aurantiochytrium* sp.3 และ *Aurantiochytrium* sp.5 มีชีวมวลใกล้เคียงกันเท่ากับ 22.87±0.80 กรัมต่อลิตร และ 22.83±0.21 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สำหรับปริมาณกรดไขมันพบว่า *Aurantiochytrium* sp. 1 มีเออาร์เอและอีพีเอเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.43±0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ1.67±1.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ส่วน *Aurantiochytrium* sp.3 มีกรดไขมันดีพีเอและดีเอชเอสูงสุดเท่ากับ 39.40±6.17 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และ 137.23±25.61 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่า *Aurantiochytrium* sp. 1 เหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาในด้านอุตสาหกรรมต่อไป เนื่องจากเจริญได้ดี มีชีวมวลสูง และมีกรดไขมันสูง

เอกสารอ้างอิง

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.

Boontang, S. (2005). *Diversity and Classification of Thraustochytrids Isolated from Fallen Mangrove Leaves Collected from Ban Pred Nai, Trad Province*. Department of Biological Science, Burapha University. (in Thai).

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.

Department of Marine and Coastal Resources. (2012). Mangrove Area, Rayong Province. Retrieved April 11, 2018, from http://www.dmce.go.th.

Iamla-Or, K., Jaritkhuan, S., & Suanjit, S. (2012*). Diversity of Thraustochytrids in Mangrove Forest at Samutsakhon Province.* Department of Aquatic Science, Burapha University. (in Thai).

Jantaban, J., Jaritkhuan, S., & Suanjit, S. (2007). Diversity of Thraustochytrids Isolated from Mangrove Leaves at Bangkhunthean, Bangkok. In *8th National Grad Research Conference 7-8 September, 2007*. Mahidol University Salaya. (in Thai).

Jaritkhuan, S., Suanjit, S., & Manthachitra, V. (2006). *Marine Microbes from Mangrove Forests: Alternative Source of Highly Unsaturated Fatty Acids for Sustainable Production*. Faculty of Science, Burapha University. (in Thai).

Jaritkhuan, S.,& Suanjit, S. (2017). Diversity of Thraustochytrids Isolated from Seagrass (*Halodule pinifolia* (Miki) Hartog) at Toey-Ngam Beach, Amphur Sattahip, Chon Buri Province. In *8th Annual Conference Under the Plant Genetic Conservation Project Under the Royal Initiative of Her Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn.* Chulalongkorn University, Saraburi Province. (pp. 247-255). (in Thai).

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,* https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.05.002.

Jensen, P.R., Jenkins, K.M., Porter, D., & Fenical, W. (1998). Evidence that a New Antibiotic Flavone Glycoside Chemically Defends the Sea Grass *Thalassia testudinum* against Zoosporic Fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(4),1490-1496.

Pongsaussvapaiboon, K. (2008). *Isolation and Optimization of Docosahexaenoic Acid (DHA) Production by Schizochytrium.* Department of Biotechnology, Thammasat University. (In Thai).

Li, Z.Y., & Ward. (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.

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.

Niyomdecha, A., Sririkanont, S., & Khongsen, M. (2013). Using of Omega Fatty Acid on Productive Performances and Carcass Quality of Swine. *Princess of Naradhiwas University Journal, 5*, 122-131.

Prayoonpan, M. (2006). *Fatty acid Composition in Thraustochytrids Isolated from Fallen Mangrove Leaves at Mueang Dictricts Samut Prakan Province*. Department of Aquatic Science, Burapha University. (in Thai).

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.

Santangello, G., Bongiorni, 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., Akitamo, K., & Yamada, H. (1988). Production of Eicosapentaenoic Acid by *Mortierella* Fungi. *Journal on the American Oil Chemists Society, 65*(9), 1455-1459.

Simopoulos, A.P. (2001). The Importance of the Ratio of Omega-6/-3 Essential Fatty Acids. *Biomedicine and Pharmacotherapy, 56*(8), 365-379.

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.

Vishniac, H.S. (1960). Salt Requiremaents of Marine Phycomycetes. *Limnology and Oceanology, 5,* 362-365.

Ward, O.P., & Singh, A. (2005). Omega-3/6 Fatty Acids: Alternative Sources of Production. *Process Biochemistry. 40*(12), 3627-3652.

Yimyuan, K. (2007). *Diversity and Fatty Acid Composition in Thraustochytrids Isolated from Mangrove Leaves at Leam Pak Bia, Phetchaburi Province.* Environmental Science Program, Burapha University. (in Thai).

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.