

การสะสมของพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ *Perna viridis* จากการกรอง
กิน *Alexandrium minutum* ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACCUMULATION OF PARALYTIC SHELLFISH TOXINS IN GREEN MUSSEL *Perna viridis* FE
D ON *Alexandrium minutum* ISOLATED FROM CHAO PHRAYA RIVER MOUTH



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Marine Science
Department of Marine Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2018
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การสะสมของพิษอัมพาตใน หอยแมลงภู่ <i>Perna viridis</i> จากการกรอง กิน <i>Alexandrium minutum</i> ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำ เจ้าพระยา
โดย	นายปฏิภาณ พุ่มพวง
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์ทางทะเล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ (ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒน์นากร)
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก (รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์)
.....	กรรมการ (อาจารย์ ดร.สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์)
.....	กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตีธรรมยง)
.....	กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย (นางสุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม)

ปฏิภาณ พุ่มพวง : การสะสมของพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ *Perna viridis* จากการกรอง

กิน *Alexandrium minutum* ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา. (

ACCUMULATION OF PARALYTIC SHELLFISH TOXINS IN GREEN MUSSEL *Perna viridis* FED ON *Alexandrium minutum* ISOLATED FROM CHAO PHRAYA RIVER MOUTH) อ.ที่ปรึกษาหลัก : รศ. ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์

Alexandrium minutum เป็นไดโนแฟลกเจลเลตที่เป็นสาเหตุของพิษอัมพาตในหอย สามารถพบการกระจายในปริมาณน้อยเป็นบางครั้งบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย เนื่องจากบริเวณอ่าวไทยเป็นพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่ที่สำคัญของประเทศ ทำให้มีความเป็นไปได้ของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *A. minutum* อย่างไรก็ตามการศึกษาระบบพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ในประเทศไทยยังมีอยู่อย่างจำกัด เพื่อให้เกิดความเข้าใจมากขึ้น จึงทำการศึกษาระบบพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และแพลงก์ตอนพืชที่กรองแยกจากน้ำทะเลในพื้นที่เลี้ยงหอย บริเวณศรีราชา จังหวัดชลบุรี และคลองด่าน จังหวัดสมุทรปราการ ในฤดูลมมรสุมตะวันออกเฉียงใต้ และฤดูลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ และการสะสมพิษอัมพาตที่ส่งผ่านจาก *A. minutum* ไปสู่หอยแมลงภู่ในห้องปฏิบัติการ ด้วยการให้หอยกรองกิน *A. minutum* อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และในช่วงเวลากำจัดพิษ ให้หอยกรองกินแพลงก์ตอนชนิด *Isochrysis* sp. ซึ่งไม่สร้างสารชีวพิษเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ทำการตรวจวัดปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาตโดยเครื่อง HPLC ด้วยวิธีตรวจวัดแบบ pre-chromatographic oxidation ผลการศึกษาในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่ ไม่พบเซลล์ของ *A. minutum* แต่พบปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่อยู่ในระดับต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานสารชีวพิษกลุ่มพิษอัมพาตในหอยสองฝา การศึกษาในห้องปฏิบัติการ ใช้เซลล์ *A. minutum* ที่เติบโตในช่วงปลายของระยะ exponential ซึ่งมีปริมาณพิษอัมพาตอยู่ในช่วง 3.75-4.46 pgSTXeq./เซลล์ และมี GTX1,4 เป็นองค์ประกอบพิษหลักมากกว่า 90% เป็นอาหารแก่หอยแมลงภู่ ผลการทดลองพบว่าปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ต่อตัวเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณ *A. minutum* ที่ถูกกรองกิน ปริมาณพิษอัมพาตมีค่ามากกว่าค่าควบคุมภายใน 24 ชั่วโมง และมีค่าสูงสุดในวันสุดท้ายที่กรองกิน *A. minutum* คือ วันที่ 14 (11.20 µg STXeq.ต่อตัว) ซึ่งมีค่าสูงกว่าระดับควบคุม 14 เท่า โดยตลอดช่วงการศึกษาพบการสะสมพิษอัมพาตมีค่าอยู่ระหว่าง 23-47% ของปริมาณที่ได้รับจากการกรองกิน ในช่วงการกำจัดพิษพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตต่อตัวหอยลดลงอย่างรวดเร็วและต่ำกว่าค่าควบคุมภายใน 3 วัน โดยในวันสุดท้ายของการกำจัดพิษพบพิษอัมพาต 0.08% จากปริมาณที่ได้รับ นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างของการกำจัดพิษอัมพาตที่ได้รับจาก *A. minutum* คือ GTX1,4 (อนุพันธ์ที่มีความเป็นพิษสูง) สามารถถูกกำจัดจากเนื้อหอยอย่างรวดเร็ว และการที่องค์ประกอบของพิษอัมพาตแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงการทดลอง แสดงให้เห็นความสามารถของกระบวนการทางชีวเคมีของหอยในการกำจัดพิษอัมพาตออกจากร่างกาย การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นได้ว่าพิษอัมพาตจาก *A. minutum* สามารถสะสมและส่งผ่านไปในห่วงโซ่อาหารได้ และเมื่อหอยไม่ได้รับพิษเพิ่มเติมหอยจะสามารถกำจัดพิษได้ในเวลาไม่นาน จึงสามารถนำผลการศึกษามาประยุกต์ใช้เป็นเกณฑ์เบื้องต้นในการเฝ้าระวังและจัดการผลกระทบจากการปนเปื้อนพิษอัมพาตในหอยต่อสุขภาพของผู้บริโภค

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

597200023 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORD: accumulation, paralytic shellfish poisoning, *Perna viridis*, phytoplankton, *Alexandrium minutum*

Patiphan

Phumphoung

:

ACCUMULATION OF PARALYTIC SHELLFISH TOXINS IN GREEN MUSSEL *Perna viridis* FED ON *Alexandrium minutum* ISOLATED FROM CHAO PHRAYA RIVER MOUTH. Advisor: Assoc. Prof. Thaithaworn Lirdwitayaprasit, Ph.D.

The toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum*, one of the causative organisms for paralytic shellfish poison (PSP), has been seldom recorded in phytoplankton samples collected in coastal areas of the Gulf of Thailand. Since the inner Gulf of Thailand is the most important mussel farming area in Thailand, therefore mussel may have a possibility to be contaminated by PSP toxins. However, the study related to PSP toxins in mussel is very limited in Thai waters. To get more understanding, the accumulation of PSP toxins in green mussel *Perna viridis* was investigated in association with *A. minutum* in both field and laboratory studies. In the field studies, specimen of green mussel as well as phytoplankton samples were collected during southwest monsoon season and northeast monsoon season at Sriracha, Chonburi Province and Khong Dan, Samut Prakarn Province. For laboratory studies, mussels fed on *A. minutum* for 2 consecutive weeks followed by 2 weeks of depuration by fed on non-toxic algae *Isochrysis* sp. All field samples and the changes in toxin content and toxin composition of *A. minutum* were analyzed by HPLC with pre-chromatographic oxidation method. In the field samples, no *A. minutum* cells were observed and green mussels showed very low levels of PSP toxin contents, which were lower than the regulatory limit of the PSP toxins in mussel. As for the laboratory studies, the toxin content in *A. minutum* culture has been found the highest at the late-exponential phase of growth (3.75-4.46 pgSTXeq./cells) and GTX1,4 was found as the major toxin composition (>90%). Cells at this stage of growth were used for mussel feed. PSP toxin contents per one mussel increased during the feeding experiment period, exceeded regulatory limit on the first day and reached the maximal amount of toxin (11.20 µg STXeq./ind.) after 14 days of the experiment, which approximately 14-fold higher than regulatory limit. The toxin accumulation was in the range of 23-47%. During the depuration experiment period, toxin content was gradually declined and had fallen to safety concentrations within 3 day, and only 0.08% of toxin was detected at the end of experiment. The elimination of each toxin was observed in the mussels such as GTX1,4 toxin (the high toxin derivatives) was eliminated rapidly during the depuration period. The different proportion of PSP toxins in mussels over the time may arise from biochemical process in the capacity to eliminate PSP toxins. The results indicate that PSP toxins from *A. minutum* can be accumulated in mussel and able to be transferred through the food chain. When the toxic algae were replaced by non-toxic algae, mussels could rapidly eliminate PSP toxins within a short period of time. These results can be adapted for monitoring and prevention measure of PSP toxins for the consumer health.

Field of Study: Marine Science

Student's Signature

Academic Year: 2018

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากอาจารย์หลายท่าน ข้าพเจ้าขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒนานกร รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ รองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตธรรมยง อาจารย์ ดร.สุธาพร บุญญเจตน์พงษ์ และคุณสุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม สำหรับความกรุณาในการเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์ อาจารย์ที่ปรึกษาในโครงการของข้าพเจ้า ที่ให้คำปรึกษา ทั้งในเรื่องโครงการ วิธีการทดลอง และให้ความช่วยเหลือในทุกๆด้าน ที่เป็นประโยชน์ต่อการทดลองเป็นอย่างมาก ทำให้โครงการสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณ คุณสุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบคุณภาพทางเคมี คุณเอกพงศ์ ณ ไพรี และคุณศิริวรรณ หวังขาว เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทางเคมี กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการตรวจวัดพิษอัมพาต

ขอขอบคุณ คุณอลงกต อินทรชาติ หัวหน้าสถานีวิจัยประมงศรีราชามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และเจ้าหน้าที่อีกหลายท่าน ให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่

ขอขอบคุณ คุณไพรวลัย เรืองแจ่ม ให้ความกรุณาและความช่วยเหลือ ในการใช้เรือประมงสำหรับการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่ ในพื้นที่ตำบลคลองด่าน จังหวัดสมุทรปราการ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กมลรวี เอี่ยมสมบูรณ์ สำหรับการอำนวยความสะดวกในการใช้พื้นที่ และอุปกรณ์ทำการทดลอง สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่อนศิลา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดชลบุรี

ขอขอบคุณ คุณอิงอร ทองคำดี ผู้ที่คอยช่วยเหลือ เตรียมของ ให้คำแนะนำ และให้แนวทางในการทำงาน อีกทั้งพี่ๆ น้องๆ ในห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืชทะเล ให้ความช่วยเหลือที่ดีเสมอมา

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปฎิภาณ พุ่มพวง

สารบัญ

	หน้า
.....	ค
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 สํารวจเอกสาร	3
2.1 อนุกรมวิธาน ชื่อวิทยาศาสตร์ นิเวศวิทยา และความเป็นพิษของ <i>Alexandrium minutum</i>	3
2.2 พิษอัมพาต (Paralytic Shellfish Poisoning toxins; PSP).....	10
2.3 กลไกการออกฤทธิ์และอาการของพิษอัมพาตที่เกิดในมนุษย์	15
2.4 การเกิดผลกระทบของพิษอัมพาตในหอยในต่างประเทศ	15
2.5 การกระจายของ <i>Alexandrium</i> ในอ่าวไทย: ความเสี่ยงของการเกิดพิษอัมพาตในหอย	23
2.6 หอยแมลงภู่: การเพาะเลี้ยงในบริเวณชายฝั่ง	25
2.7 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่	26
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	29

3.1 การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตาม ฤดูกาล.....	29
3.2 การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> ใน ห้องปฏิบัติการ.....	31
3.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต	36
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	39
บทที่ 4 ผลการศึกษา.....	40
4.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล.....	40
4.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> ใน ห้องปฏิบัติการ.....	44
บทที่ 5 วิจัยรณผลการศึกษา.....	59
5.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล.....	59
5.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> ใน ห้องปฏิบัติการ.....	61
บทที่ 6 สรุปผลการศึกษา.....	71
6.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล	71
6.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> ใน ห้องปฏิบัติการ.....	71
ข้อเสนอแนะ.....	73
ภาคผนวก.....	74
ภาคผนวก ก	75
ภาคผนวก ข	77
บรรณานุกรม.....	93
ประวัติผู้เขียน.....	109

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน <i>Alexandrium minutum</i> แต่ละสายพันธุ์ (Oshima, 1990).....	8
ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิด.....	12
ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิด	14
ตารางที่ 4 ความเป็นพิษจำเพาะของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิด	14
ตารางที่ 5 รายงานผลกระทบของพิษอัมพาตในหอย.....	16
ตารางที่ 6 การกระจายของไดโนแฟลกเจลเลต สกุล <i>Alexandrium</i> ในอ่าวไทย	24
ตารางที่ 7 ปฏิกริยาเคมีที่ใช้แยกอนุพันธ์ของพิษอัมพาตแต่ละชนิด	37
ตารางที่ 8 ปัจจัยทางกายภาพในพื้นที่เลี้ยงหอย.....	43
ตารางที่ 9 ปริมาณเซลล์ <i>Alexandrium minutum</i> ที่ให้กรองกิน ปริมาณเซลล์ที่ถูกกรองกิน และ ร้อยละของเซลล์ที่ถูกกรองกินในหอยแมลงภู่.....	48
ตารางที่ 10 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสม และร้อยละการสะสมในหอยแมลงภู่.....	49
ตารางที่ 11 การเติบโตและการสร้างพิษอัมพาตจาก <i>Alexandrium minutum</i> แต่ละสายพันธุ์.....	63

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะเซลล์ของ <i>Alexandrium minutum</i> (สายพันธุ์ CU-MPL-AL.m1)	4
รูปที่ 2 ลักษณะแผ่นเปลือกของ <i>Alexandrium minutum</i>	5
รูปที่ 3 วงชีวิตของ <i>Alexandrium minutum</i>	6
รูปที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของพิษอัมพาต	11
รูปที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ saxitoxin	11
รูปที่ 6 การเกิดพิษอัมพาตในหอยภูมิภาคต่างๆ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1970 ถึง ค.ศ. 2015.....	15
รูปที่ 7 หอยแมลงภู่ (<i>Perna viridis</i>).....	25
รูปที่ 8 การเปลี่ยนองค์ประกอบของอนุพันธ์อัมพาตในหอยสองฝา.....	28
รูปที่ 9 ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่าน (ST.1) และศรีราชา (ST.2).....	29
รูปที่ 10 ถังเลี้ยง <i>Alexandrium minutum</i> ขนาด 20 ลิตร	32
รูปที่ 11 การเก็บเซลล์ <i>Alexandrium minutum</i> เพื่อตรวจวิเคราะห์พิษอัมพาต	32
รูปที่ 12 หอยแมลงภู่ที่ปรับสภาพในน้ำทะเลกรอง.....	33
รูปที่ 13 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่.....	34
รูปที่ 14 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่.....	36
รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 dcNEO และ NEO	38
รูปที่ 16 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด dcSTX GTX2,3 GTX5 และ STX.....	38
รูปที่ 17 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด dcGTX2,3 และ C1,C2	38
รูปที่ 18 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชตามฤดูกาลในแต่ละสถานี	40
รูปที่ 19 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่ ตามฤดูกาลในแต่ละสถานี.....	42
รูปที่ 20 องค์ประกอบระดับสกุลของแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่ ตามฤดูกาลในแต่ละสถานี.....	42

รูปที่ 21 การเติบโตของเซลล์ <i>Alexandrium minutum</i>	44
รูปที่ 22 ปริมาณพิษต่อเซลล์และองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน <i>Alexandrium minutum</i> ตลอดระยะ exponential ของการเติบโต	45
รูปที่ 23 ร้อยละองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน <i>Alexandrium minutum</i> ตลอดระยะ exponential ของการเติบโต.....	46
รูปที่ 24 อัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่มุ่แต่ละชุดการทดลอง	47
รูปที่ 25 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 100 เซลล์/มล.	49
รูปที่ 26 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์/มล.	50
รูปที่ 27 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 1000 เซลล์/มล.	50
รูปที่ 28 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 3000 เซลล์/มล.	51
รูปที่ 29 ปริมาณพิษอัมพาตต่อตัวหอยที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (กราฟเส้นสีดำ) และปริมาณพิษอัมพาตในหอยที่ระดับควบคุม (กราฟเส้นสีแดง).....	52
รูปที่ 30 ปริมาณพิษอัมพาตต่อน้ำหนักหอยที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (กราฟเส้นสีดำ) และปริมาณพิษอัมพาตในหอยที่ระดับควบคุม (กราฟเส้นสีแดง).....	53
รูปที่ 31 ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่.....	54
รูปที่ 32 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> เป็นระยะเวลา 14 วัน	55
รูปที่ 33 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มุ่จากการกรองกิน <i>Alexandrium minutum</i> 14 วัน และพิษที่สะสมในช่วงระยะเวลาคายพิษ ในแต่ละช่วงเวลา	56
รูปที่ 34 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่และจำนวนเซลล์ <i>Alexandrium minutum</i> ที่ถูกกรองกิน.....	57
รูปที่ 35 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มุ่ (\log_e scale) ในช่วงระยะเวลาคายพิษ	58

รูปที่ 36 การเปลี่ยนของอนุพันธ์พิชอัมพาดในหอยแมลงภูที่อาจเกิดขึ้นได้..... 70



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ไดโนแฟลกเจลเลตมีบทบาทสำคัญในฐานะผู้ผลิตเบื้องต้นของสายใยอาหาร และมีบางชนิดที่สามารถสร้างพิษอัมพาตในหอย (Paralytic shellfish poisoning toxins) เช่น *Alexandrium* spp., *Gymnodinium catenatum*, *Pyrodinium bahamense* และกลุ่มสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียวบางชนิด (Visciano et al., 2016; สุขนา วิเศษสังข์ และ เกรียงศักดิ์ สายธนู, 2533) เป็นต้น พิษอัมพาตสามารถสะสมในหอยสองฝาที่กรองกินแพลงก์ตอนเหล่านี้เป็นอาหาร และส่งผ่านไปในสายใยอาหาร การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยสองฝาพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมขึ้นอยู่กับชนิด และจำนวนเซลล์แพลงก์ตอนที่เป็นพิษ และชนิดของหอย ปริมาณพิษนี้อาจสะสมในหอยบางชนิดเป็นเวลานาน แต่อาจสลายตัวในเวลาสั้นในหอยชนิดอื่น (Doucette et al., 2006)

การสะสมพิษอัมพาตในหอยบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบว่า มีรายงานตั้งแต่ปี ค.ศ. 1977 โดยมีสาเหตุมาจาก *Pyrodinium bahamense* ในฟิลิปปินส์ซึ่งเป็นประเทศที่มีรายงานพิษอัมพาตในหอยมากที่สุดของโลก ช่วงปี ค.ศ. 1983 ถึง 2002 พบรายงานมากกว่า 2,124 ครั้ง มีผู้เสียชีวิต 120 ราย โดยมีหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) เป็นสาเหตุหลัก (Ching et al., 2015) สำหรับประเทศไทยพบรายงานการสะสมพิษอัมพาตในหอยที่มีสาเหตุมาจาก *Alexandrium* spp. ในปี พ.ศ. 2526 บริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ทำให้มีผู้เสียชีวิต 1 ราย และผู้ป่วย 63 ราย ซึ่งเป็นการรายงานครั้งแรกและครั้งเดียว (สุทธิชัย เตมียวณิชย์, 2527) หลังจากนั้นได้มีการศึกษาการกระจายของแพลงก์ตอนพิษในกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตในอ่าวไทย พบชนิดที่เป็นสาเหตุของพิษอัมพาต 3 ชนิด คือ *Alexandrium minutum*, *Alexandrium tamiyanavichii* และ *Gymnodinium catenatum* โดยพบกระจายในปริมาณน้อยได้เป็นบางครั้ง (Fukuyo et al., 1988; Kodama et al., 1987; Matsuoka, 1998; คาริน ผนึกทรัพย์สกุล, 2550)

Alexandrium minutum มีช่วงความเค็มที่เหมาะสมในการเติบโตกว้าง อาศัยบริเวณชายฝั่งและบริเวณปากแม่น้ำ ต้องการธาตุอาหารสูง และมีความเป็นพิษสูง (Lim and Ogata, 2005) พบการกระจายทั้งในเขตอบอุ่นและเขตร้อน และเป็นสาเหตุการสะสมพิษอัมพาตในหอยบริเวณชายฝั่งเอเชียแปซิฟิก อาทิ การสะสมพิษสูงในหอยตลับ (*Hiatula rostrata*) ที่ประเทศไต้หวัน ตลอดช่วงฤดูกาลที่มีการเพิ่มจำนวนของ *A. minutum* (Hwang et al., 1987) และในปี ค.ศ. 2001 *A. minutum* เป็นสาเหตุทำให้เกิดพิษอัมพาตในหอย บริเวณรัฐกลันตัน ประเทศมาเลเซีย

โดยมีรายงานผู้ป่วย 6 คน และเสียชีวิต 1 คน (Usup and Ahmad, 2011) และรายงานอีกครั้งในปี ค.ศ. 2015 พบการสะสมพิษอัมพาตในหอยสองฝา (*Polymesoda similis*) สูงถึง 4000 $\mu\text{gSTX}/100$ กรัม (Lau et al., 2017) ส่วนในอ่าวไทยมีรายงานพบ *A. minutum* ที่สร้างพิษอัมพาตได้บริเวณ ชายฝั่งทะเลปากแม่น้ำเพชรบุรี แม่น้ำแม่กลอง และแม่น้ำเจ้าพระยา นอกจากนี้ยังพบในบ่อเลี้ยงกุ้ง บริเวณจังหวัดสมุทรสาคร (Matsuoka, 1998; ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 2560; ชลธยา ทรงรูป, 2541)

เนื่องจากบริเวณอ่าวไทยตอนบนเป็นพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่สำคัญของประเทศ การพบ *A. minutum* กระจายทั่วไปทำให้มีความเป็นไปได้ของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการ กรองกิน *A. minutum* และผู้บริโภคหอยที่ปนเปื้อนพิษอาจได้รับอันตราย เจ็บป่วย และอาจเสียชีวิต หากบริโภคในปริมาณมาก ดังนั้นการวิจัยเกี่ยวกับพิษจาก *A. minutum* และการส่งผ่านพิษอัมพาตใน ห่วงโซ่อาหาร จึงมีความสำคัญในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นเกณฑ์เบื้องต้นในการเฝ้าระวังและจัดการ ผลกระทบจากการปนเปื้อนพิษอัมพาตในหอยสองฝาท่อสุขภาพของผู้บริโภค

การศึกษารั้ครั้งนี้ได้ศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่บริเวณพื้นที่เลี้ยงหอย เพื่อให้ ทราบการเปลี่ยนแปลงของพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากธรรมชาติ ตลอดจนการกระจายของแพลงก์ ตอนที่เป็นสาเหตุของพิษอัมพาตในพื้นที่เลี้ยงหอยในแต่ละฤดูกาล และศึกษาการสะสมพิษอัมพาตที่ ส่งผ่านจาก *A. minutum* ไปสู่อหอยแมลงภู่ในห้องปฏิบัติการ

1.2 วัตถุประสงค์

- เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และแพลงก์ตอน พิษในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่
- เพื่อศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ โดยให้หอยกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ แยกมาจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาในห้องปฏิบัติการ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวัง และจัดการผลกระทบของการเกิดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ที่ส่งผ่าน สู่ผู้บริโภค

บทที่ 2

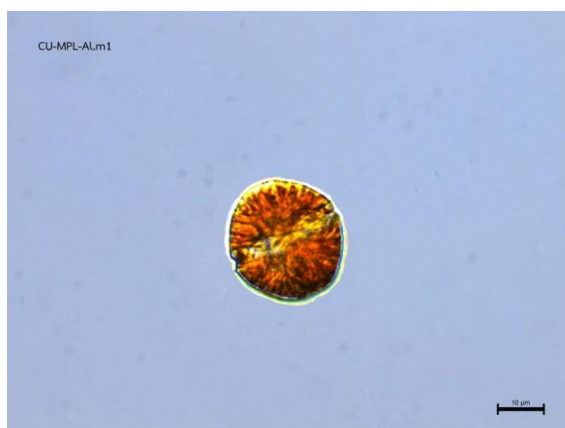
สำรวจเอกสาร

2.1 อนุกรมวิธาน ชีววิทยา นิเวศวิทยา และความเป็นพิษของ *Alexandrium minutum*

Alexandrium minutum เป็นไดโนแฟลกเจลเลตชนิดหนึ่งที่เป็นสาเหตุของพิษอัมพาต พบครั้งแรกที่ทะเลเมดิเตอร์เรเนียนบริเวณ Alexandria port ประเทศอียิปต์ Halim (1960) และหลายประเทศรอบทะเลเมดิเตอร์เรเนียนตลอดชายฝั่งทวีปยุโรปและแอฟริกา หลังจากนั้นมียางานในทั่วโลก ได้แก่ อเมริกาใต้ อเมริกากลาง แอฟริกาใต้ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ นิวซีแลนด์ และออสเตรเลีย เมื่อเกิดการเพิ่มจำนวนจะทำให้น้ำทะเลเปลี่ยนเป็นสีส้มน้ำตาล (Pitcher et al., 2007)

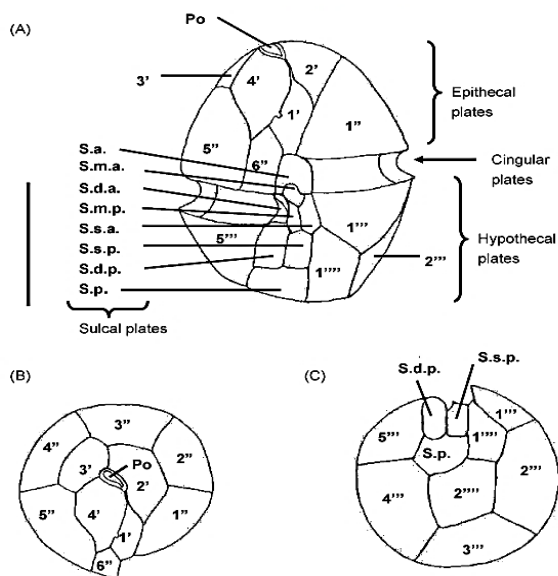
การจำแนกทางอนุกรมวิธานของ *Alexandrium minutum* พบว่าจัดอยู่ใน Kingdom: Protist, Division: Pyrrophyta, Class: Dinophyceae, Order: Peridinales, Family: Gonyaulacaceae, Genus: *Alexandrium*, *Alexandrium minutum* Halim, 1960

ลักษณะของ *Alexandrium minutum* คือ เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรี ลักษณะของ epitheca เป็นรูปครึ่งวงกลม บางครั้งพบว่ามีลักษณะแบนทางด้านท้ายของเซลล์ เซลล์มีความยาว 25-27 ไมโครเมตร และกว้าง 24-26 ไมโครเมตร มักอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออาจพบต่อเป็นสายไม่เกิน 4 เซลล์ (รูปที่ 1) สามารถสังเคราะห์แสงได้ โดยมีรงควัตถุช่วยในการสังเคราะห์แสง คือ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ ซี เบตาแคโรทีน และแซนโทฟิลล์ สีของเซลล์พบตั้งแต่สีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลเข้ม มีแฟลกเจลลาในการเคลื่อนที่ 2 เส้น คือ transverse flagellum ซึ่งอยู่ในร่องตามขวาง (girdle/cingulum groove) และ longitudinal flagellum ซึ่งอยู่ในร่องตามยาว (sulcal groove) โดยที่แฟลกเจลลาทั้ง 2 เส้นออกมาจากจุดเดียวกัน คือ บริเวณจุดตัดระหว่างร่องตามยาวและร่องตามขวาง ลักษณะพิเศษของ transverse flagellum คือ จะบิดเป็นเกลียว (helical construction) ในขณะที่ longitudinal flagellum จะเป็นเส้นตรง (Omura et al., 2013; ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)



รูปที่ 1 ลักษณะเซลล์ของ *Alexandrium minutum* (สายพันธุ์ CU-MPL-AL.m1)

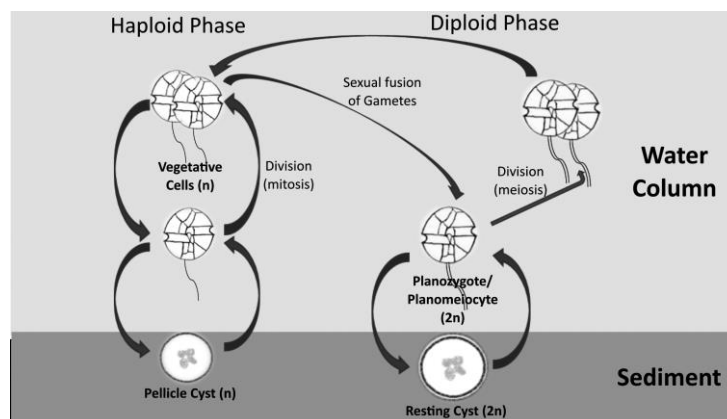
ลักษณะแผ่นเปลือกของ *Alexandrium minutum* คือ Po, 4', 6'', 6c, 10s, 5''', 2'''' มีการเหลื่อมล้ำ girdle แบบ descending ประมาณ 1-1.5 เท่า แผ่นเปลือกบนสุด (Po) เชื่อมต่อกับ apical plate แผ่นแรก (1'), ventral pore อยู่ด้านข้างของแผ่นเปลือกแรก (1') กับ apical plate แผ่นที่ 4 (4'), apical plate แผ่นแรก (1') เป็นรูปสี่เหลี่ยมด้านขนานและแคบ มีขอบด้านบนและด้านล่างตัดตรง ขอบด้านขวาจะเว้าตรงบริเวณที่พบ ventral pore, precingular plate แผ่นที่ 6 (6'') เป็นรูปห้าเหลี่ยม มีความสูงมากกว่าความกว้าง ($L/D=1/2$), anterior sulcal plate (S.a.) เป็นรูปสี่เหลี่ยม และ posterior sulcal plate (S.p.) มีรูปร่างเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีรอยหยักเว้าที่ขอบด้านบน ส่วนขอบด้านล่างโค้งมน (Balech, 1995; Ranston et al., 2007) ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะแผ่นเปลือกของ *Alexandrium minutum** (A) ด้าน Ventral: (B) ด้าน Epitheca, (C) ด้าน Hypotheca; Scale bar = 10 μm (Ranston et al., 2007)

* Po: apical pore plates, ('): apical plate, (''): precingular plates, (''''): postcingular plates, (''''): antapical plates, S.a.: anterior sulcal plate, S.p.: posterior sulcal plate, S.s.a.: left anterior sulcal plate, S.d.a.: right anterior sulcal plate, S.s.p.: left posterior sulcal plate, S.d.p.: right posterior sulcal plate, S.m.a.: median anterior sulcal plate, S.m.p.: median posterior sulcal plate

การสืบพันธุ์ของ *Alexandrium minutum* มีทั้งการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ ในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเกิดจากการแบ่งตัว (binary fission) ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดจากการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย ได้เป็น planozygote cell และพัฒนาต่อไปเป็น hapnozygote หรือ resting cyst (2n) ซึ่งจะไม่เคลื่อนที่แต่จะออกมาเป็นตัวปกติเมื่อถึงเวลาที่เหมาะสม โดยทั่วไปหากสภาวะแวดล้อมไม่เหมาะสมหรือไม่เอื้ออำนวยต่อการดำรงชีวิต เซลล์จะปล่อยแฟลกเจลลาและเปลือกที่ปกคลุมเซลล์ทิ้งทำให้หยุดการเคลื่อนที่ แล้วจมลงพื้นทะเล แต่เมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสมจะสามารถคืนสู่สภาวะปกติ เรียกเซลล์ลักษณะนี้ว่า temporary cyst (Lewis et al., 2018) ดังรูปที่ 3



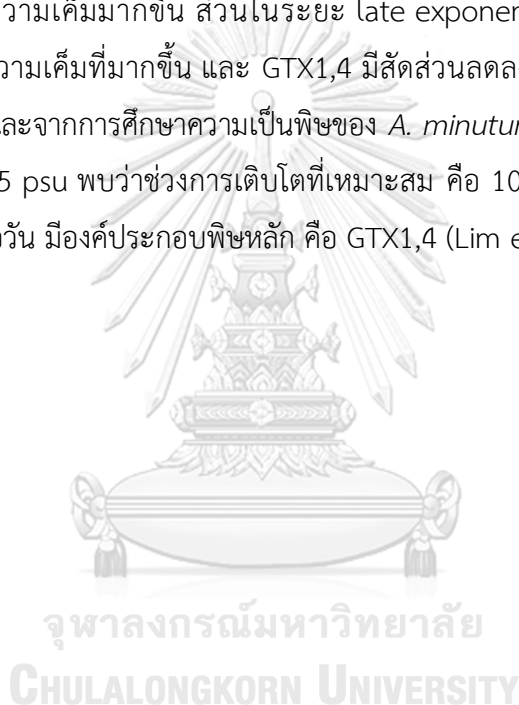
รูปที่ 3 วงชีวิตของ *Alexandrium minutum* (Lewis et al., 2018)

การศึกษาด้านนิเวศวิทยาของ *Alexandrium minutum* พบว่าเซลล์แพร่กระจายในพื้นที่เฉพาะ ได้แก่ เอสทูรี ทำเรือ ทะเลสาบ อ่าวปิด ชายฝั่ง และบริเวณปากแม่น้ำที่มีการรบกวนต่ำและการเคลื่อนตัวของมวลน้ำน้อย อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 12-30°C ความเค็มอยู่ในช่วง 4-46 psu (Lewis et al., 2018) จึงเป็นแพลงก์ตอนกลุ่มที่ทนความเค็มในช่วงกว้าง (euryhaline species) อย่างไรก็ตามปัจจัยความเค็มและอุณหภูมิต่อการเติบโตของ *A. minutum* ในแต่ละภูมิภาคมีความแตกต่างกันกับกลุ่มประชากร (Lim and Ogata, 2005) ลักษณะการเพิ่มจำนวนของ *A. minutum* ในธรรมชาติเกิดเป็นชนิดเด่นชนิดเดียว แต่บางครั้งจะเกิดร่วมกับแพลงก์ตอนชนิดอื่น ความหนาแน่นเซลล์ของการเพิ่มจำนวนมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยทั่วไปกำหนดให้ความหนาแน่นเซลล์ที่มากกว่า 10^4 เซลล์ต่อลิตร เป็นหลักเกณฑ์สำหรับการจำแนกการเพิ่มจำนวนของ *A. minutum* (Bravo et al., 2010; Ranston et al., 2007) หรือความหนาแน่นเซลล์ที่มากกว่า 10^3 เซลล์ต่อลิตร (Anglès et al., 2012) โดยพบว่า ในซีกโลกเหนือมีรายงานการเกิดเป็นประจำในช่วงฤดูใบไม้ผลิจนถึงฤดูร้อนระหว่างเดือนมีนาคมถึงสิงหาคม อาทิ บริเวณชายฝั่งคาตาลัน ประเทศสเปน พบการเพิ่มจำนวนที่อุณหภูมิ 15°C และความเค็ม 34-35 psu (Patrick. Lassus et al., 2004) แต่สำหรับเขตซีกโลกใต้พบว่า อยู่ระหว่างเดือนกันยายนถึงกุมภาพันธ์ (Chang et al., 1997)

การศึกษาความเป็นพิษและองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตจากเซลล์ *A. minutum* พบว่าองค์ประกอบพิษอัมพาตของ *Alexandrium* เป็นเครื่องหมายทางชีวเคมีในการจัดแบ่งกลุ่มในแต่ละภูมิภาค (Anderson et al., 2012) โดย *A. minutum* สายพันธุ์ในเขตอบอุ่นจากประเทศอังกฤษมีพิษอัมพาตชนิด GTX2,3 และ STX เป็นองค์ประกอบหลัก (Fabioux et al., 2015; Nascimento, 2005) แต่สายพันธุ์จากประเทศสเปนและโปรตุเกส พบพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 เป็นองค์ประกอบหลัก (Franco, 1994) เมื่อพิจารณา *A. minutum* สายพันธุ์จากเอเชียแปซิฟิก พบว่าสายพันธุ์จากออสเตรเลียมี GTX1,4 และ GTX2,3 เป็นองค์ประกอบพิษหลัก (Hallegraeff, 1991)

สำหรับประเทศในกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออก ได้แก่ ไทย มาเลเซีย เวียดนาม และไต้หวัน พบองค์ประกอบของอนุพันธุพิษอัมพาตชนิดเด่น ใน *A. minutum* คือ GTX1,4 มากกว่า 90% (Lim and Ogata, 2005) ดังตารางที่ 1

รายงานการศึกษาบางส่วนพบว่าความเค็มที่แตกต่างกันมีผลต่อการสร้างพิษของ *A. minutum* โดยการศึกษาความเค็มต่างกันตั้งแต่ 5-35 psu ในช่วงการเติบโต พบว่า GTX1,4 และ GTX2,3 เป็นองค์ประกอบพิษหลัก และสัดส่วนพิษในแต่ละช่วงเวลา คือ ระยะ early exponential phase ประกอบด้วยพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 และ GTX2,3 สัดส่วนคงที่ในทุกช่วงความเค็ม แต่ในระยะ mid exponential phase พบว่า GTX1,4 มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นสอดคล้องความเค็มมากขึ้น และ GTX2,3 มีสัดส่วนลดลงตามความเค็มมากขึ้น ส่วนในระยะ late exponential phase พบว่า GTX2,3 มีสัดส่วนเพิ่มขึ้นตามความเค็มที่มากขึ้น และ GTX1,4 มีสัดส่วนลดลงตามความเค็มที่มากขึ้น (Lim and Ogata, 2005) และจากการศึกษาความเป็นพิษของ *A. minutum* ที่แยกจากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ความเค็มต่างกันตั้งแต่ 5-35 psu พบว่าช่วงการเติบโตที่เหมาะสม คือ 10-15 psu มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะ 0.2 ต่อวัน มีองค์ประกอบพิษหลัก คือ GTX1,4 (Lim et al., 2011)



ตารางที่ 1 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *Alexandrium minutum* แต่ละสายพันธุ์ (Oshima, 1990)

<i>A. minutum</i> แต่ละสายพันธุ์	แหล่งที่มา	ปริมาณพิษ (fmole/cell)	องค์ประกอบพิษ (molar %)							ผู้รายงาน	
			STX	neoSTX	deSTX	GTX _{1,4}	GTX _{2,3}	C _{1,2}	GTX4 -12ol		
● แอฟริกา											
CTCC 22	แอฟริกาใต้	1.5	-	-	-	90.2	9.8	-	-	-	Pitcher et al. 2007
● ยุโรป											
AM89BM	ฝรั่งเศส	2.34	-	-	-	-	56.0	44.0	-	-	Ledoux et al., (1993)
AM89BM		-	-	-	-	-	62.9	38.0	-	-	Fabioux et al., 2015
AL3T	อิตาลี	1.11	MP	-	-	98.19	1.83	-	-	-	Yang et al. (2010)
AL9T		10.33	0.19	-	-	96.99	2.89	-	-	-	
AL.1V	สเปน	18.00	-	-	-	98.0	2.0	-	-	-	Franco et al., (1994)
AL.2V		2.00	-	-	-	98.0	2.0	-	-	-	
NEPCC253	โปรตุเกส	1.16	-	-	-	97.4	2.6	-	-	-	Cembella et al., (1993)
3.9h	อังกฤษ	5.6	36.1	-	-	-	63.9	-	-	-	Nascimento et al. (2005)
GHmin04	เดนมาร์ก	-	13	-	-	-	17	70	-	-	Hansen et al., (2003)

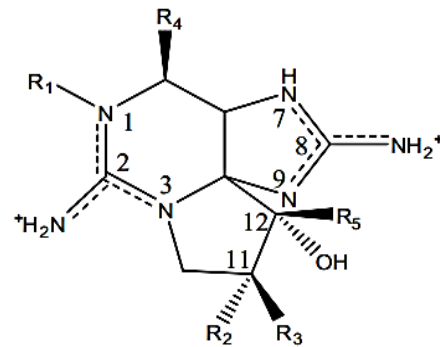
ตารางที่ 1 (ต่อ)

A. <i>minutum</i> แต่ละสายพันธุ์	แหล่งที่มา	ปริมาณพิษ (fmole/cell)	องค์ประกอบพิษ (molar %)						ผู้รายงาน	
			STX	neoSTX	deSTX	GTX _{1,4}	GTX _{2,3}	C _{1,2}		GTX4-12ol
● เอเชียแปซิฟิก และประเทศไทย										
AMTK-1	ไต้หวัน	184.40	-	-	-	98.4	1.6	-	-	Chou et al., (2004)
AMTK-4		179.40	-	-	-	95.4	4.6	-	-	
AMAD06	ออสเตรเลีย	2.54	-	-	-	73.5	26.5	-	-	Hallegraeff et al. (1991)
AMAD15		2.57	-	-	-	82.9	18.1	-	-	
NEPCC508	นิวซีแลนด์	2.76	0.7	-	-	96.4	2.9	-	-	Cembella et al., (1993)
AMABOP014	นิวซีแลนด์	11.61	21.3	65.3	-	5.9	7.6	-	-	Chang et al., (1997)
Anakoha A	นิวซีแลนด์	7.09	28.0	13.0	-	23.0	36.0	-	-	Mackenzie, (1994)
AmKB02	มาเลเซีย	40.0	MP	MP	-	95.0	MP	-	-	Lim, and Ogata, (2005)
AlexSp17	เวียดนาม	30.0	MP	MP	MP	50	MP	-	30	Lim, et al., (2011)
-	สมุทรสาคร	5.343	-	-	-	98.2	1.8	-	-	Kodama อ้างถึงใน ปิยนุช จุ รพันธ์ (2539)
SP980112A	ปากแม่น้ำ	-	-	-	-	100	-	-	-	ชลธิยา ทรงรูป, 2541
SP980112C	เจ้าพระยา	-	-	-	-	92.8	7.19	-	-	

2.2 พิษอัมพาต (Paralytic Shellfish Poisoning toxins; PSP)

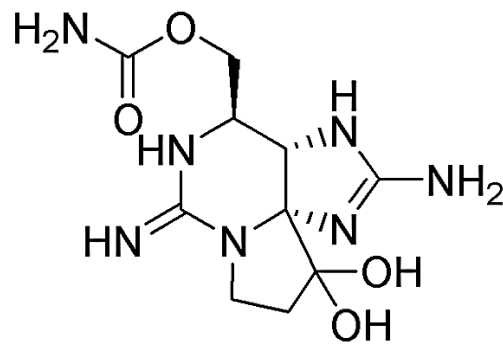
พิษอัมพาตเป็นสารชีวพิษชนิดหนึ่งที่ถูกสร้างจากไดโนแฟลกเจลเลตในสกุล *Alexandrium* ทั้งหมด 12 ชนิด คือ *A. affine*, *A. andersonii*, *A. angustitabulatum*, *A. catenella*, *A. cohorticula*, *A. fundyense*, *A. minutum*, *A. ostenfeldii*, *A. tamarense*, *A. tamiyavanichii*, *A. taylori* และ *A. peruvianum* ไดโนแฟลกเจลเลตชนิด *Pyrodinium bahamense* และ *Gymnodinium catenatum* (Anderson et al., 2012; Tomas et al., 2012) นอกจากนี้ยังสามารถสร้างจากสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินบางชนิดในสกุล *Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix* และ *Lyngbia* (Wiese et al., 2010)

พิษอัมพาตเป็นกลุ่มของอนุพันธ์สารมากกว่า 60 ชนิด มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น tetrahydropurine (Wiese et al., 2010) ดังรูปที่ 4 พิษอัมพาตมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี ทนความร้อน อยู่ในสภาพเป็นกรดได้ดี (pH<6) และสลายตัวได้รวดเร็วในสภาพที่เป็นด่าง (pH>12) (Kodama and Sato, 2008) อนุพันธ์ของพิษอัมพาตแต่ละชนิดมีความสามารถในการขัดขวางช่องโซเดียมแตกต่างกันและแสดงออกมาในรูปความเป็นพิษ (Genenah and Shimizu, 1981) โดยแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม ตามลักษณะของหมู่ฟังก์ชัน R₁ R₂ R₃ และ R₄ ที่แตกต่างกัน ประกอบไปด้วย carbamoyl, N-sulfo-carbamoyl, decarbamoyl และ deoxydecarbamoyl ดังตารางที่ 2, 3 และ 4 พิษในกลุ่มของ carbamoyl ประกอบไปด้วย saxitoxin (STX) neosaxitoxin (NeoSTX) และ gonyautoxins (GTX 1-4) การทดสอบความเป็นพิษในหนูพบว่า เป็นกลุ่มที่มีความเป็นพิษสูงที่สุด พิษกลุ่ม N- sulfocarbamoyl ประกอบไปด้วย C-toxins (C1-4) gonyautoxin-5 (GTX5 หรือ B1) และ gonyautoxin-6 (GTX-6) พิษกลุ่ม decarbamoyl ประกอบไปด้วย decarbamoyl-STX (dcSTX) decarbamoyl-GTXs (dcGTX1-4) และ decarbamoyl-Neo (dcNeo) และพิษกลุ่ม deoxydecarbamoyl ประกอบไปด้วย doSTX doGTX2 และ doGTX3 (Oshima, 1995a) นอกจากนี้มีการรายงานพิษอัมพาตกลุ่มใหม่ที่แยกจาก *Gymnodinium catenatum* บริเวณประเทศออสเตรเลีย ต่อมาถูกเรียกว่า GC1-GC3 และ GC1a-GC6a ตามชนิดของแฟลงก์ตอนที่เป็นสาเหตุ พิษในกลุ่มนี้มีหมู่ฟังก์ชัน R₄ คือ mono-hydroxy benzoate และ di-hydroxy benzoate สำหรับความเป็นพิษในอนุพันธ์กลุ่มนี้ยังไม่มีการศึกษาที่มากพอ แต่มีข้อสันนิษฐานว่าการมีฟินอลเป็นองค์ประกอบและคุณสมบัติในการไม่ละลายน้ำ ทำให้การสะสมและการส่งต่อพิษอัมพาตกลุ่มนี้เกิดขึ้นได้ง่าย (Costa et al., 2015) ต่อมาพิษอัมพาตกลุ่มนี้ถูกรายงานในอีกหลายประเทศ ได้แก่ จีน สเปน และโปรตุเกส (Vale, 2008)



รูปที่ 4 โครงสร้างพื้นฐานของพิษอัมพาต (Wiese et al., 2010)

แซซิท็อกซิน (saxitoxin) เป็นพิษที่มีการศึกษามากที่สุด มีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ $C_{10}H_{17}N_7O_4$ น้ำหนักโมเลกุล 299 g/mol มีค่า LD_{50} จากการให้ทางปากและเข้าทางช่องท้องของหนูขาว คือ 260-263 และ 9.0-11.6 $\mu\text{g}/\text{กก}$. ของน้ำหนักตัว ตามลำดับ (FAO/WHO, 2016) ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ saxitoxin (Faber, 2012)

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอ้อมพาดแต่ละชนิด

กลุ่ม	ชื่อเต็ม	ชื่อย่อ	R1	R2	R3	R4	
Carbamoyl	Saxitoxin	STX	H	H	H	OCONH ₂	
	Neo-Saxitoxin	NeoSTX	OH	H	H	OCONH ₂	
	Gonyautoxin-1	GTX1	OH	OSO ₃ ⁻	H	OCONH ₂	
	Gonyautoxin-2	GTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	OCONH ₂	
	Gonyautoxin-3	GTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	OCONH ₂	
	Gonyautoxin-4	GTX4	OH	H	OSO ₃ ⁻	OCONH ₂	
	N-sulfo-carbamoyl	Gonyautoxin-5	GTX5 (B1)	H	H	H	OCONHSO ₃ ⁻
		21-Sulfo-11a-hydroxysaxitoxin sulfate	C1	H	OSO ₃ ⁻	H	OCONHSO ₃ ⁻
21-Sulfo-11a-hydroxysaxitoxin sulfate		C2	H	H	OSO ₃ ⁻	OCONHSO ₃ ⁻	
21-Sulfo-11a-hydroxyneosaxitoxin sulfate		C3	OH	OSO ₃ ⁻	H	OCONHSO ₃ ⁻	
21-Sulfo-11a-hydroxyneosaxitoxin sulfate		C4	OH	H	OSO ₃ ⁻	OCONHSO ₃ ⁻	
Decarbamoyl	Decarbamoyl-saxitoxin	dcSTX	H	H	H	OH	
	Decarbamoyl-neosaxitoxin	dcNeoSTX	OH	H	H	OH	
	Decarbamoyl Gonyautoxin-1	dcGTX1	OH	OSO ₃ ⁻	H	OH	
	Decarbamoyl Gonyautoxin-2	dcGTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	OH	
	Decarbamoyl Gonyautoxin-3	dcGTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	OH	

ตารางที่ 2 (ต่อ)

กลุ่ม	ชื่อเต็ม	ชื่อย่อ	R1	R2	R3	R4
Deoxydecarbamo	Deoxydecarbamoyl-saxitoxin	doSTX	H	H	H	H
yl	Deoxydecarbamoyl Gonyautoxin-2	doGTX2	H	H	OSO ₃ ⁻	H
	Deoxydecarbamoyl Gonyautoxin-3	doGTX3	H	OSO ₃ ⁻	H	H
Mono-Hydroxy-	Gymnodinium catenatum toxin 1	GC1	H	H	OSO ₃ ⁻	C ₈ H ₈ O ₃
Benzoate	Gymnodinium catenatum toxin 2	GC2	H	OSO ₃ ⁻	H	C ₈ H ₈ O ₃
	Gymnodinium catenatum toxin 3	GC3	H	H	H	C ₈ H ₈ O ₃
	Gymnodinium catenatum toxin 4	GC4	OSO ₃ ⁻	H	OSO ₃ ⁻	C ₈ H ₈ O ₃
	Gymnodinium catenatum toxin 5	GC5	OSO ₃ ⁻	OSO ₃ ⁻	H	C ₈ H ₈ O ₃
	Gymnodinium catenatum toxin 6	GC6	OSO ₃ ⁻	H	H	C ₈ H ₈ O ₃
Di-Hydroxy	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 1	GC1a	H	H	OSO ₃ ⁻	Di-hydroxyl-benzoate
Benzoate	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 2	GC2a	H	OSO ₃ ⁻	H	Di-hydroxyl-benzoate
	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 3	GC3a	H	H	H	Di-hydroxyl-benzoate
	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 4	GC4a	OH	H	OSO ₃ ⁻	Di-hydroxyl-benzoate
	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 5	GC5a	OH	OSO ₃ ⁻	H	Di-hydroxyl-benzoate
	hydroxy- Gymnodinium catenatum toxin 6	GC6a	OH	H	H	Di-hydroxyl-benzoate

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิด (Ichimi et al., 2001)

R1	R2	R3	Carbamoyl	N-sulfo-carbamoyl	Decarbamoyl
			toxins	toxins	toxins
			R4: OCONH ₂	R4: OCONHSO ₃ ⁻	R4: OH
H	H	H	STX	GTX5	dcSTX
OH	H	H	NeoSTX	GTX6	dcNeoSTX
OH	H	OSO ₃ ⁻	GTX1	C3	dcGTX1
H	H	OSO ₃ ⁻	GTX2	C1	dcGTX2
H	OSO ₃ ⁻	H	GTX3	C2	dcGTX3
OH	OSO ₃ ⁻	H	GTX4	C4	dcGTX4

ตารางที่ 4 ความเป็นพิษจำเพาะของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิด [(1) (Oshima, 1995b) (2) (Munday et al., 2013)]

ชนิดของพิษ อัมพาต	ความเป็นพิษจำเพาะ (MU.μmol ⁻¹)*	ชนิดของพิษ อัมพาต	ความเป็นพิษจำเพาะ (MU.μmol ⁻¹)*
STX	2,483 (1) หรือ 2,090 (2)	GTX1,4	2,140 (2)
NeoSTX	2,295 (1) หรือ 2,420 (2)	dcGTX2	1,617 (1)
dcSTX	1,274 (1) 1,330	dcGTX3	1,872 (1)
GTX1	2,468 (1)	GTX5	160 (1)
GTX2	892 (1)	C1	15 (1)
GTX3	1,584 (1)	C2	239 (1)
GTX4	1,803 (1)	C3	33 (1)
GTX2,3	1,250 (2)	C4	143 (1)

* 1 MU (mouse unit) หมายถึงปริมาณสารพิษน้อยที่สุดที่สามารถฆ่าหนูขาว ตัวผู้หนัก 20 กรัม ภายในเวลา 15 นาที

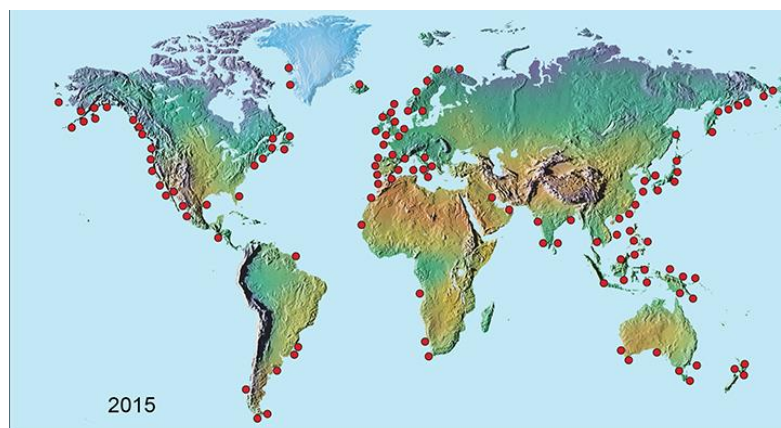
2.3 กลไกการออกฤทธิ์และอาการของพิษอัมพาตที่เกิดในมนุษย์

พิษอัมพาตสามารถถ่ายทอดไปตามสายใยอาหาร และส่งผลต่อผู้บริโภคลำดับสูงที่มีกระดูกสันหลัง ผ่านระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) เนื่องจากพิษอัมพาตมีกลไกการออกฤทธิ์จำเพาะในการกีดขวางการผ่านเข้าออกของโซเดียมไอออน (sodium channel blocking) บริเวณช่องโซเดียมในเยื่อหุ้มแอกซอนของเซลล์ประสาทที่ตำแหน่ง domain 1 มีผลทำให้ลดประสิทธิภาพการทำงานของเซลล์กล้ามเนื้อ (Faber, 2012)

ผลของพิษอัมพาตต่อมนุษย์ แบ่งออกได้เป็น 4 ระดับ คือ ระดับเล็กน้อย ระดับปานกลาง ระดับรุนแรง และระดับร้ายแรง ในกรณีระดับเล็กน้อยอาการสามารถแสดงหลังจากบริโภคประมาณ 30 นาที โดยมีอาการปวดแสบปวดร้อนและชาบริเวณริมฝีปาก ลิ้น ลามถึงใบหน้าและคอ มีอาการชาตามปลายนิ้วมือและนิ้วเท้า มีอาการปวดหัว วิงเวียนศีรษะและคลื่นไส้ ในระดับปานกลางมีอาการพูดติดขัด อาการชาตามปลายนิ้วมือและนิ้วเท้า ความสามารถในการมองเห็นลดลง มีอาการปวดหลังและเคลื่อนไหวลำบากกลายเป็นอัมพาต ในระดับรุนแรงมีอาการกล้ามเนื้อเป็นอัมพาตเคลื่อนที่ไม่ได้ การหายใจติดขัดและอาจเกิดภาวะช็อค ในระดับร้ายแรงทำให้เกิดการเสียชีวิต เนื่องจากกล้ามเนื้อหัวใจไม่ทำงานและระบบหายใจเป็นอัมพาต โดยมักเกิดขึ้น 2-12 ชั่วโมงหลังจากกินหอยที่ปนเปื้อนพิษอัมพาต (FAO/IOC/WHO, 2004; Visciano et al., 2016)

2.4 การเกิดผลกระทบของพิษอัมพาตในหอยในต่างประเทศ

ผลกระทบของอัมพาตจากหอยมีการบันทึกครั้งแรกในปี ค.ศ.1793 โดยกัปตันยอร์ช แวนคูเวอร์ผู้ค้นพบแคนาดาพบว่า ลูกเรือ 1 คน เสียชีวิตและ 3 คน ป่วยจากการกินหอยแมลงภู่ที่เก็บจากชายฝั่งบริติชโคลัมเบีย (Todd, 1997) หลังจากนั้นผลกระทบของอัมพาตมีการรายงานทั่วโลก โดยพบผู้เสียชีวิตและป่วยจากการกินหอยที่ปนเปื้อนพิษอัมพาต ดังรูปที่ 6 และตารางที่ 5



รูปที่ 6 การเกิดพิษอัมพาตในหอยภูมิภาคต่างๆ ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1970 ถึง ค.ศ. 2015 (WHOI, 2017)

ตารางที่ 5 รายงานผลกระทบของพิษอัมพาตในหอย

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษอัมพาต	ผู้รายงาน
1945	แคนาดา	มีผู้ป่วย 47 คน จากการบริโภคหอยตลับ (<i>Spisula solidissima</i>)	6200 MU/100 g	Bond and Medcoff (1958)
1948	ญี่ปุ่น	มีผู้ป่วย 12 คน จากการกินหอยลาย (<i>Tapes japonica</i>)	ไม่มีรายงาน	Hashimoto and Noguchi (1989)
1953	สหรัฐอเมริกา	มีผู้ป่วย 3 คน จากการบริโภคหอย	ไม่มีรายงาน	EFSA (2009)
1955	แคนาดา	มีผู้ป่วย 6 คน จากการบริโภคหอยตลับ (<i>Mya arenaria</i>)	3450-7650 MU/100 g	EFSA (2009)
1957	แคนาดา	มีผู้ป่วย 47 คน จากการบริโภคหอยตลับ (<i>Spisula solidissima</i>)	9850 MU/100 g	Bond and Medcoff (1958)
1958	สหรัฐอเมริกา	มีผู้ป่วย 2 คน จากการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน	2492 MU/100 g	EFSA (2009)
1968	อังกฤษ	มีผู้ป่วย 71 คน จากการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน	17500 MU/100 g	McCollum et al., (1968)
1971	แคนาดา	มีผู้ป่วย 49 คน จากการบริโภคหอย	ไม่มีรายงาน	EFSA (2009)
1972	สหรัฐอเมริกา	มีผู้ป่วย 33 คน จากการบริโภคหอยที่มีการสะสมพิษอัมพาตจาก <i>A. tamarensis</i>	ไม่มีรายงาน	FAO, (2004)
1976	สเปน	มีผู้ป่วย 120 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู (<i>Mytilus edulis</i>)	ไม่มีรายงาน	FAO, (2004)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษัมพาท	ผู้รายงาน
1977	เวเนซุเอลา	มีผู้ป่วย 1 คน และ 1 เสียชีวิต จากการบริโภคหอยทะเล	ไม่มีรายงาน	Band-Schmidt et al., (2019)
1976	มาเลเซีย	มีผู้ป่วย 202 คน และเสียชีวิต 70 คน จากการบริโภคหอยที่กรองกิน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1979	แอฟริกาใต้	มีผู้ป่วย 17 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่มะดอง (<i>Choromytilus meridionalis</i>)	7283 µg STX/100 g	Popkiss et al., (1979)
1982	แคนาดา	มีผู้ป่วย 5 คน จากการบริโภคหอยทะเล	21000 pg STX eq/kg	FAO, (2004)
1983	ไทย	มีผู้ป่วย 63 คน และเสียชีวิต 1 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่มะดอง (<i>Perna viridis</i>)	ไม่มีรายงาน	FAO, (2004)
1983	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 279 คน และเสียชีวิต 23 คน จากการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1984	นอร์เวย์	มีผู้ป่วย 8 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่มะดอง (<i>Mytilus edulis</i>)	7900 MU/100 g	EFSA (2009)
1986	ไต้หวัน	มีผู้ป่วย 30 คน และเสียชีวิต 2 คน จากการบริโภคหอยกาทอง (<i>Soletebella diphos</i>)	2,000 MU/g	Lin and Hwang, (2012)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษอัมพาต	ผู้รายงาน
1986	จีน	มีผู้ป่วย 136 คน และเสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภคหอยลาย (<i>Venerupis philippinarum</i>)	ไม่มีรายงาน	Li, et al., (2001)
1987	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 226 คน และเสียชีวิต 7 คน จากอาการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1983	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 307 คน และเสียชีวิต 16 คน จากอาการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1989	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 31 คน และเสียชีวิต 6 คน จากอาการบริโภคอาหารทะเลปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1989	จีน	มีผู้ป่วย 5 จากอาการบริโภคหอยจอบ (<i>Pinna pectinate</i>)	ไม่มีรายงาน	Yan et al. (2002).
1989	จีน	มีผู้ป่วย 4 และเสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภคหอยตลับ (<i>Nussarius succinstus</i>)	ไม่มีรายงาน	Yan et al. (2002).
1990	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 14 คน และเสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภคอาหารทะเล	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1990	กัวเตมาลา	มีผู้ป่วย 187 คน จากอาการบริโภคหอยตลับ (<i>Amphichaena kindermani</i>)	7500 µg eq./100 g	STX Rodrigue et al., (1990)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษัมพาท	ผู้รายงาน
1991	จีน	มีการบริโภคหอยกาบ (<i>Soletellina diphos</i>) 8 ผู้ป่วย	ไม่มีรายงาน	Yan et al., (2002).
1991	จีน	มีการบริโภคหอยแครง 2 คน และผู้เสียชีวิต 2 คน จากการใช้หอยแครง (<i>Perna viridis</i>)	ไม่มีรายงาน	Yan et al., (2002).
1991	ฟิลิปปินส์	มีการบริโภคหอย 9 คน และผู้เสียชีวิต 30 คน จากการใช้หอยทะเลที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1991	สหรัฐอเมริกา	มีการบริโภคหอยแครง 6 คน จากการใช้หอยแครง (<i>Mytilus edulis</i>)	4 2 8 0 µg STX eq./100 g	EFSA (2009)
1991	แคนาดา	มีการบริโภคหอยทะเล 90 คน จากการใช้หอยทะเล	ไม่มีรายงาน	Goodman and Todd, (1991)
1991	เวเนซุเอลา	มีการบริโภคหอยแครง 24 คน จากการใช้หอยแครง (<i>Perna perna</i>) ที่กรองกิน <i>Gymnodinium catenatum</i>	1422-2548 µg STX eq./100 g	Band-Schmidt et al., (2019)
1992-1993	ฟิลิปปินส์	มีการบริโภคหอย 25 คน และผู้เสียชีวิต 551 คน จากการใช้หอยทะเลที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1994	ไต้หวัน	มีการบริโภคหอยทะเล 26 คน จากการใช้หอยทะเล	345 MU/100 g	Lin and Hwang, (2012)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษัมพาท	ผู้รายงาน
1994	อินโดนีเซีย	มีผู้ป่วย 33 คน จากการบริโภคอาหารทะเล ที่ปนเปื้อน <i>P. bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1994	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 58 คน และผู้เสียชีวิต 6 คน จากการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1995	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 212 คน และผู้เสียชีวิต 8 คน จากการบริโภคหอย	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1995	สหรัฐอเมริกา	มีผู้ป่วย 117 คน จากการบริโภคหอย butter clam (<i>Saxidomus giganteus</i>) และหอยแมลงภู่ (<i>Mytilus edulis</i>)	39-7750 µg STX eq./100 g	EFSA (2009)
1996	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 157 คน และผู้เสียชีวิต 8 คน จากการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1997	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 47 คน และผู้เสียชีวิต 4 คน จากการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1997	สหรัฐอเมริกา	มีผู้ป่วย 11 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่ (<i>Mytilus edulis</i>) และ <i>Mytilus californianus</i>	1778-19418 µg STX eq./100 g	EFSA (2009)
1997	ญี่ปุ่น	มีผู้ป่วย 26 คน จากการบริโภคหอยนางรม (<i>Crassostrea gigas</i>)	7-135 MU/g	Akaeda et al., (1998)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษอัมพาต	ผู้รายงาน
1997	ชิลี	มีผู้เสียชีวิต 26 คน จากอาการบริโภคหอยแมลงภู่ (<i>Aulacomya ater</i>) และ <i>Mytilus chilensis</i>	1,555-96,000 MU/100 g	FAO, (2004)
1998	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 121 คน และผู้เสียชีวิต 3 คน จากอาการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
1999	ฟิลิปปินส์	มีผู้ป่วย 3 คน และผู้เสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภคหอยที่ปนเปื้อน <i>Pyrodinium bahamense</i>	ไม่มีรายงาน	Azanza and Taylor, (2001)
2001	มาเลเซีย	มีผู้ป่วย 6 คน และผู้เสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภค marsh clam (<i>Polymesoda similis</i>)	ไม่มีรายงาน	Lim et al., (2004)
2002	ติมอร์ตะวันออก	มีผู้เสียชีวิต 1 คน จากอาการบริโภคปู (<i>Zosimus aeneus</i>)	163 µg STX eq/100 g	Llewellyn et al., (2002)
2004	ชิลี	มีผู้ป่วย 2 คน จากอาการบริโภคหอย ribbed mussels (<i>Aulacomya ater</i>)	8575 µg STX eq./100 g	EFSA (2009)
2005	ชิลี	มีผู้ป่วย 4 คน จากอาการบริโภคหอย ribbed mussels (<i>Aulacomya ater</i>)	8066 µg STX eq./100 g	EFSA (2009)
2005	ไต้หวัน	มีผู้ป่วย 1 คน จากอาการบริโภคหอยฝาเดี่ยว (<i>Nassarius papillosus</i>)	296 ± 120 MU/specimen	Lin and Hwang, (2012)

ตารางที่ 5 (ต่อ)

ปี	สถานที่	เหตุการณ์	ปริมาณพิษอมฟาท	ผู้รายงาน
2005	นิการากัว	มีผู้ป่วย 45 คน และเสียชีวิต 1 คน จากการบริโภคหอยแครง	4,138	Callejas, et al. (2015)
		(<i>Anadara tuberculosa</i>)	µgSTXeq./100 g	
2007	ไต้หวัน	มีผู้ป่วย 2 คน จากการบริโภคหอยฝาเดียว (<i>Nassarius papillosus</i>)	ไม่มีรายงาน	Lin and Hwang, 2012
2011	ออสเตรเลีย	มีผู้ป่วย 1 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่ (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	35 mg/kg	Turnbull et al., (2013)
2012	นิวซีแลนด์	ผู้ป่วย 29 คน จากการบริโภคหอยลาย(<i>Paphies subtriangulata</i>)	1.6 mg/kg	Mackenzie et al., (2013)
2013	มาเลเซีย	มีผู้ป่วย 58 คน จากการบริโภคหอยแมลงภู่และหอยลาย (<i>Perna viridis</i> และ <i>Crassostrea belcheri</i>)	360 ± 140 µg STX /100 g	Chua et al., (2017)
2016	ชิลี	มีผู้ป่วย 12 คน จากการบริโภคหอย (<i>Mesodesma donacium</i>) ที่ได้รับพิษอมฟาทจาก <i>A. catenella</i>	9 × 10 ³ µg STX eq. /100 g	Hernández, et al. (2016)
2017	มาเลเซีย	มีผู้ป่วย 10 คน จากการบริโภคหอยทะเล	3 5 0 0 µg STX eq./100 g	Mohammad-Noor et al., (2018)

2.5 การกระจายของ *Alexandrium* ในอ่าวไทย: ความเสี่ยงของการเกิดพิษอัมพาตในหอย

ในอ่าวไทยพบการกระจายของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Alexandrium* 7 ชนิด ประกอบด้วย *A. affine* *A. cohorticula* *A. fraterculus* *A. leei* *A. minutum* *A. tamaranse* และ *A. tamiyavanichii* (ตารางที่ 6) แต่มีเพียง *A. minutum* และ *A. tamiyavanichii* ที่มีรายงานการสร้างสารชีวพิษกลุ่มพิษอัมพาต (Fukuyo et al., 2011)

การศึกษาของพรศิลป์ ผลพันธ์ (2530) พบ *Alexandrium* แพร่กระจาย 4 ชนิด คือ *A. cohorticula* *A. fraterculus* *A. leei* และ *A. tamaranse* บริเวณอ่าวไทยตอนบนพบ *Alexandrium* 3 ชนิด ยกเว้น *A. fraterculus* โดย *A. tamaranse* พบเป็นประจำ ส่วน *A. leei* พบน้อยและ *A. cohorticula* พบน้อยมาก บริเวณอ่าวไทยตอนล่างพบ 4 ชนิด โดย *A. cohorticula* พบน้อย ส่วน *A. fraterculus* *A. leei* และ *A. tamaranse* พบน้อยมาก และอ่าวไทยฝั่งตะวันออกพบ 1 ชนิด ในช่วงต้นของมรสุมตะวันตกเฉียงเหนือ คือ *A. cohorticula* และบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาในช่วงฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้พบ *A. cohorticula* นอกจากนี้ในปี ค.ศ.1994 พบว่า *A. cohorticula* สายพันธุ์ที่แยกได้จากบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี เป็น *Alexandrium* ชนิดใหม่เนื่องจากมีลักษณะที่แตกต่างจาก *A. cohorticula* 3 ตำแหน่ง คือ บริเวณขอบล่างของแผ่นเปลือก 1' รูปร่างของ S.a. และลักษณะของแผ่นเปลือก 1'' โดยใช้ชื่อว่า *A. tamiyavanichii* (Balech, 1995) นอกจากนี้มีรายงานพบ *A. minutum* ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจังหวัดสมุทรสาคร เมื่อปี พ.ศ. 2538 โดยสุชนา วิเศษสังข์ และต่อมาได้มีการศึกษาลักษณะของ *A. tamaranse* โดยใช้เทคนิคการศึกษาลำดับเบสด้วย RNA พบว่าเป็น *A. affine* (Kodama et al., 1988) ในปี 1997 มีรายงานการพบ *A. fraterculus* *A. tamaranse* และ *A. tamiyavanichii* ที่ความหนาแน่นต่ำ 1-17 เซลล์ต่อลิตร บริเวณอ่าวไทยตอนกลางและอ่าวไทยตอนล่าง (Boonyapiwat, 1997) ในเวลาต่อมาพบการกระจายของ *A. tamaranse* ที่บริเวณจังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม ระยอง จันทบุรี และเพชรบุรี เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพิษพบว่าไม่มีความเป็นพิษในทุกสายพันธุ์ นอกจากนี้มีรายงานพบ *A. minutum* บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ ที่ความหนาแน่นเซลล์ต่ำ (24 เซลล์/มล.) (ชลธยา ทรงรูป, 2541) และในเวลาต่อมามีรายงานการพบ *A. minutum* บริเวณปากแม่น้ำแม่กลอง ปากแม่น้ำเจ้าพระยา และบางตะบูน (ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ์, 2560)

ตารางที่ 6 การกระจายของไดโนแฟลกเจลเลต สกุล *Alexandrium* ในอ่าวไทย

ชนิด	บริเวณที่พบ	ผู้รายงาน
<i>A. affine</i>	อ่างศิลา จ.ชลบุรี	Kodama et al. (1988)
<i>A. cohorticula</i>	อ่างศิลา จ.ชลบุรี บริเวณอ่าวไทยตอนกลาง	Wisessang et al. (1991) พรศิลป์ ผลพันธ์ (2530)
<i>A. fraterculus</i>	บริเวณอ่าวไทยตอนกลาง	Boonyapiwat (1997); พรศิลป์ ผลพันธ์ (2530)
<i>A. leei</i>	อ่างศิลา จ.ชลบุรี อ่าวไทยตอนกลาง และอ่าวไทยตอนบน	Fukuyo et al. (1988) พรศิลป์ ผลพันธ์ (2530)
<i>A. minutum</i>	บ่อเลี้ยงปลาบริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตก ปากแม่น้ำเจ้าพระยา ปากแม่น้ำแม่กลอง ปากแม่น้ำเจ้าพระยา และบางตะบูน	Matsuoka (1998) ชลธยา ทรงรูป (2541) ไทยถาวร เลิศวิทยาประ สิทธิ์ (2560)
<i>A. tamaranse</i>	ปากแม่น้ำเพชรบุรี อ่าวไทยตอนบน อ่าวไทยฝั่งตะวันออก อ่างศิลา จ.ชลบุรี สมุทรสาคร, สมุทรสงคราม, ระยอง, จันทบุรี, เพชรบุรี	Fukuyo et al. (1988) พรศิลป์ ผลพันธ์ (2530) สุชนา วิเศษสังข์ และ เกรียงศักดิ์ สายธนู (2533) ชลธยา ทรงรูป (2541)
<i>A. tamiyavanichii</i>	อ่างศิลา จ.ชลบุรี และอ่าวไทยตอนกลาง อ่าวไทยตอนกลาง บริเวณระหว่างเกาะสีชังและศรีราชา	Kodama et al. (1987); สุชนา วิเศษสังข์ และ เกรียงศักดิ์ สายธนู (2533) Boonyapiwat (1997) ไทยถาวร เลิศวิทยาประ สิทธิ์ (2560)

2.6 หอยแมลงภู่: การเพาะเลี้ยงในบริเวณชายฝั่ง

หอยแมลงภู่ที่เลี้ยงในประเทศไทยมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Perna viridis* และมีชื่อสามัญว่า green mussel มีการจัดลำดับอนุกรมวิธานไว้ดังนี้ Phylum: Mollusca, Class: Bivalvia, Subclass: Pteriomorpha, Order: Mytiloidea, Superfamily: Mytilacea, Family: Mytilidae, Subfamily: Mytilinae, Genus: *Perna*, *Perna viridis* Linneaus, 1758

หอยแมลงภู่เป็นหอยสองฝาที่มีเปลือกยาวรี ทั้งสองข้างมีขนาดเท่ากัน ด้านหน้าแหลม ส่วนปลายด้านท้ายมีลักษณะป้านออก ส่วนของยอดเปลือกอยู่หน้าสุด เปลือกด้านนอกมีสีเขียว เปลือกด้านในมีสีขาวมุก สามารถสังเกตเห็นรอยยึดติดของกล้ามเนื้อที่ใช้เปิดปิดฝาได้ชัดเจน ขอบของแมนเทิลซ้ายขวาจะเชื่อมกันด้านท้ายของลำตัว มีตัวอ่อนนุ่มอยู่ด้านในเปลือก ลำตัวหอยประกอบไปด้วยเยื่อหุ้มลำตัวคลุมอวัยวะภายในทั้งสองด้าน ภายในตัวหอยแมลงภู่มีหัวใจอยู่เหนืออวัยวะภายใน และมีระบบเลือดแบบวงจรเปิด มีเหงือกเป็นอวัยวะที่ใช้สำหรับแลกเปลี่ยนแก๊ส เมื่อโตมีขนาดยาวประมาณ 80-100 มิลลิเมตร หอยแมลงภู่เป็นสัตว์ที่เกาะยึดหลักอยู่กับที่ โดยการสร้างเส้นใย (byssus) จากต่อมสร้างเส้นใย (byssus gland) สำหรับยึดเกาะติดกับวัสดุที่เหมาะสม (Soon and Ransangan, 2014) (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 หอยแมลงภู่ (*Perna viridis*)

หอยแมลงภู่กรองกินอาหารเข้าสู่ช่องว่างระหว่างลำตัว (mantle cavity) อาหารจะติดบนซี่เหงือก สำหรับวัตถุที่มีขนาดใหญ่หรือน้ำหนักมาก เช่น เม็ดทราย จะหลุดไปบริเวณขอบของเยื่อหุ้มลำตัว (mantle) และถูกขับออกทางท่อน้ำออก เซลล์สร้างเมือกจะสร้างเมือกเพื่อช่วยยึดอาหารบนเหงือกและขนบนเหงือกโบกพัด อาหารจะถูกส่งต่อไปยังริมฝีปาก (labial palp) ซึ่งจะทำหน้าที่แยกอาหาร ก่อนส่งต่อไปยังช่องปากผ่านหลอดอาหาร (esophagus) และถูกส่งไปยังกระเพาะอาหารเพื่อทำการย่อย (Soon and Ransangan, 2014)

หอยแมลงภู่เป็นหอยสองฝาที่นิยมเลี้ยงแพร่หลายบริเวณชายฝั่งของประเทศไทย ทั้งชายฝั่งทะเลด้านอ่าวไทยและอันดามัน ได้แก่ ชลบุรี ฉะเชิงเทรา สมุทรปราการ สมุทรสาคร สมุทรสงคราม เพชรบุรี ชุมพร ประจวบคีรีขันธ์ และปัตตานี (กรมประมง, 2550) โดยปริมาณหอยแมลงภู่จากการเลี้ยงในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2559 มีผลผลิต 86,673 ตัน คิดเป็นร้อยละ 59.39 ของผลผลิตหอยทะเล จังหวัดที่มีผลผลิตมากที่สุด 3 อันดับ คือ สมุทรปราการ 28,523 ตัน สมุทรสงคราม 22,889 ตัน และชลบุรี 13,294 ตัน คิดเป็นร้อยละ 74.65 ของผลผลิตหอยแมลงภู่ทั้งประเทศ (กรมประมง, 2561b)

หอยแมลงภู่นอกจากจะนำมาปรุงสุกเพื่อรับประทานแล้ว เนื้อหอยสดสามารถนำมาทำผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ ได้หลายรูปแบบ อาทิ ซอสหอยแมลงภู่ หอยแมลงภู่ซุบแป้งแซ่แซ็ง หอยแมลงภู่รมควัน (จันทน์ทิพย์ ลิ้มทองกุล, 2540) หอยแมลงภู่สดมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีโปรตีนร้อยละ 18.3 ไกลโคเจนร้อยละ 2 ไขมันร้อยละ 0.45 เกลือแร่และวิตามินต่างๆ หลายชนิด คือ แคลเซียม 48-1,400 มก./กก. ของน้ำหนักสด เหล็ก 48-188 มก./กก. ของน้ำหนักสด โปแทสเซียม 1,130 มก./กก. ของน้ำหนักสด ฟอสฟอรัส 550-2,500 มก./กก. ของน้ำหนักสด แมกนีเซียม 1,170 มก./กก. ของน้ำหนักสด ไอโอดีน 1.5 มก./กก. ของน้ำหนักสด วิตามินซี 17 มก./กก. ของน้ำหนักสด (คเชนทร เฉลิมวัฒน์, 2544; บรรจง เทียนสงรัสมิ, 2542) นอกจากนี้เนื้อหอยที่ใช้รับประทานแล้ว เปลือกใช้ทำเป็นสิ่งตกแต่งและใช้เป็นตัวยาเข้าเครื่องยาไทย (สุวรรณา วัฒนาคาม, 2542)

2.7 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่

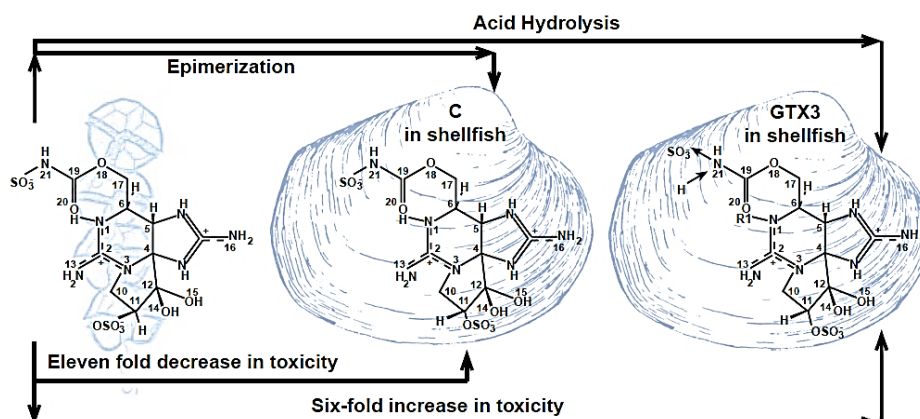
จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการและภาคสนามพบว่า หอยแมลงภู่เป็นหอยที่สามารถกรองกินและสะสมพิษอัมพาตได้ในปริมาณสูง อีกทั้งสามารถกำจัดพิษอัมพาตได้เร็วในระยะเวลาสั้น เมื่อใช้อัตราการกำจัดพิษเป็นหลักเกณฑ์ในการจำแนก หอยแมลงภู่เป็นหอยกลุ่มที่สะสมและกำจัดพิษอัมพาตได้เร็ว เช่นเดียวกับหอยสองฝาหลายชนิด เช่น Blue mussel (*Mytilus edulis*), Chilean mussel (*Mytilus chilensis*), Mussel (*Mytilus californianus*), Green-lipped mussel (*Perna canaliculus*), Shell clam (*Meretrix casta*), Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), Soft-shell clams (*Mya arenaria*) และ European flat oyster (*Ostrea edulis*) เป็นต้น [P. Lassus et al. (1993); Bricelj and Shumway (1998); Kwong et al. (2006); Marsden et al. (2015); Karunasagar (1984); Guéguen et al. (2008); Hurst (1977); Shumway (1990); Navarro et al. (2011)]

การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตของหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยสามารถสะสมพิษสูงถึง 219 $\mu\text{gSTXeq}/\text{กรัม}$ จากการกรองกิน *Pyrodinium bahamense*

จำนวน 1.79×10^8 เซลล์ ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 5 วัน (Ulysses et al., 2010) การศึกษาในภาคสนามพบว่าหอยแมลงภู่ (*P. viridis*) สะสมพิษอัมพาตได้สูง 226.16 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ ขณะที่เซลล์ของ *P. bahamense* มีความหนาแน่น 57 เซลล์/มล. ในอ่าว Sorsogon ประเทศฟิลิปปินส์ (Montejo et al., 2012) การศึกษาในประเทศจีนพบว่า หอยแมลงภู่สะสมพิษอัมพาตได้ 14 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ ในขณะที่เซลล์ *A. tamarensis* มีความหนาแน่น 603 เซลล์/มล. บริเวณอ่าว Daya (Wang et al., 2011) และการศึกษาบริเวณอ่าว Paria ประเทศตรินิแดดและโตเบโกพบว่า มีการสะสมพิษอัมพาต 2.03 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ ในขณะที่ไม่มีการตรวจพบเซลล์ของแพลงก์ตอนที่สามารถสร้างพิษอัมพาต (Yen et al., 2004) นอกจากนี้ในหอยแมลงภู่ชนิดอื่น เช่น หอยแมลงภู่ (*Mytilus edulis*) มีรายงานการสะสมพิษอัมพาต 200 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ (RaLonde, 1996) และหอยแมลงภู่ (*Mytilus chilensis*) มีรายงานการสะสมพิษอัมพาต 280 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ จากการกรองกิน *A. catenella* ความหนาแน่นเซลล์ 30 เซลล์/มล. ต่อเนื่อง 3 เดือน (Molinet et al., 2010)

พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ สามารถมีองค์ประกอบของอนุพันธ์แตกต่างจากแพลงก์ตอนที่หอยกรองกิน เนื่องจากความสามารถในการสะสมและดูดซึมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่แต่ละชนิดแตกต่างกัน โดยการศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ (*Mytilus galloprovincialis*) จากการให้กรองกิน *A. tamarensis* พบว่าองค์ประกอบพิษที่พบใน *A. tamarensis* หอยและในน้ำทะเล คือ C1,2 และ GTX1,4 ไม่แตกต่างกัน (Suzuki et al., 2003) การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ (*Mytilus galloprovincialis*) หลังจากให้กรองกิน *G. catenatum* พบว่าองค์ประกอบพิษในหอยไม่แตกต่างจากที่พบใน *G. catenatum* (Blanco et al., 1997)

อย่างไรก็ตามการศึกษาในหอยสองฝาบางชนิดพบว่า องค์ประกอบพิษอัมพาตสามารถเปลี่ยนแปลงผ่านกระบวนการอีพิเมอร์ไรเซชัน (epimerization) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (transformation) (Doucette et al., 2006) ตัวอย่าง การเกิดอีพิเมอร์ไรเซชัน เมื่อมีการสลับตำแหน่งระหว่าง H และ OSO₃⁻ ของพิษอัมพาตชนิด C3 ในตำแหน่งที่การจับคาร์บอนตำแหน่งที่ 11 ทำให้โครงสร้างของพิษอัมพาตเปลี่ยนแปลงเป็นชนิด C2 ที่มีความเป็นพิษลดลง 11 เท่า (Oshima et al., 1990) และการเปลี่ยนสภาพด้วยกรด (acid hydrolysis) จากความเป็นกรดในทางเดินอาหารของหอย ทำให้มีการเปลี่ยนโครงสร้างของพิษอัมพาตในตำแหน่งที่ 21 และพิษอัมพาตเปลี่ยนแปลงเป็นชนิด GTX3 ที่มีความเป็นพิษเพิ่มขึ้น 6 เท่า (Hall et al., 1990; RaLonde, 1996) (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 การเปลี่ยนองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษในหอยสองฝา (RaLonde, 1996)

นอกจากหอยแมลงภู่จะทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการสะสมพิษจากแพลงก์ตอนแล้ว หอยอาจได้รับผลกระทบจากการเพิ่มปริมาณอย่างมากของแพลงก์ตอน โดยแสดงพฤติกรรม อาทิ การปิดฝาเปลือก ลดอัตราการกรองกิน เพิ่มอัตราการใช้ออกซิเจน และเพิ่มการสร้างเมือก ทำให้ การศึกษาอัตราการกรองกินในหอย เป็นวิธีหนึ่งสำหรับใช้ในการศึกษาการตอบสนองของหอยแมลงภู่ ต่อแพลงก์ตอนที่สร้างพิษอันตราย การศึกษาการกรองกินในหอยแมลงภู่พบว่า เป็นกลุ่มหอยที่สามารถ กรองกินแพลงก์ตอนที่สร้างสารชีวพิษต่อเนื่อง (Leverone et al., 2006) โดยในหอยแมลงภู่ (*Mytilus edulis*) ที่กรองกิน *A. tamarensis* ควบคู่กับแพลงก์ตอนชนิดอื่นที่ไม่สร้างสารชีวพิษ พบว่าหอยแมลงภู่สามารถกรองกิน *A. tamarensis* แตกต่างกันขึ้นกับแหล่งที่มาของหอย กล่าวคือ หอยแมลงภู่จากอ่าวเมน (Maine) ไม่แสดงพฤติกรรมการเลือกกินอาหารและไม่มีการปิดฝา แต่ หอยแมลงภู่จาก Rhode Island แสดงพฤติกรรมการปิดฝาและไม่กรองกิน *A. tamarensis* นอกจากนี้ยังมีการสร้างเมือกสีขาวในการดักจับ *A. tamarensis* จึงสันนิษฐานว่าหอยแมลงภู่จากอ่าว เมน ซึ่งมีประสบการณ์กับน้ำเปลี่ยนสีจาก *A. tamarensis* มีการปรับตัว แต่หอยแมลงภู่จากแหล่งอื่น นั้นไม่มีประสบการณ์กับน้ำเปลี่ยนสี จึงเกิดพฤติกรรมการป้องกันตัวเอง (Shumway and Cucci, 1987) และในการศึกษาพฤติกรรมการกรองกินในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) โดยให้หอยกรองกิน *A. tamarensis* และมีการติดตามด้วยเทคนิคสารรังสีติดตาม พบว่าหอยสามารถกรองกิน *A. tamarensis* ได้และไม่มีการเลือกกินอาหาร (Li et al., 2002)

บทที่ 3

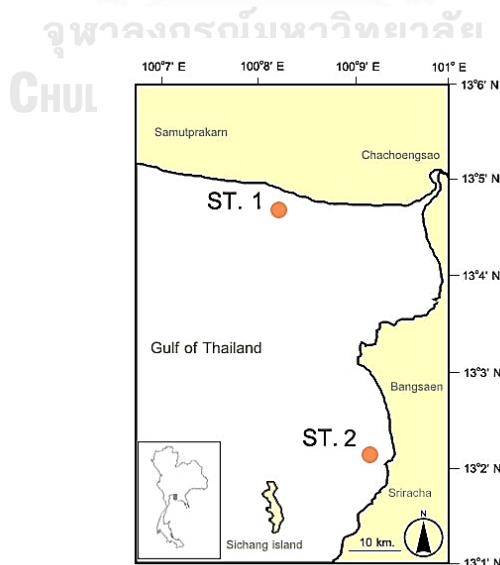
วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัยในวิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีประเด็นที่ต้องพิจารณาจริยธรรมการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสัตว์ทดลอง ซึ่งได้ผ่านการพิจารณาและอนุมัติการใช้สัตว์ทดลองจากคณะกรรมการควบคุมดูแลการเลี้ยง และการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ของคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (Protocol Review No. 1823005) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

3.1 การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล

3.1.1 พื้นที่และเวลาที่ศึกษา

ทำการศึกษาในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่ชายฝั่งที่มีความเสี่ยงของหอยในการสะสมพิษอัมพาตและความเสี่ยงของการพบเซลล์ *Alexandrium minutum* หรือไดโนแฟลกเจลเลตที่สามารถสร้างพิษอัมพาต 2 พื้นที่ คือ บริเวณตำบลคลองด่าน อำเภอบางบ่อ จังหวัดสมุทรปราการ ($13^{\circ}46'36''\text{N}$, $100^{\circ}8'22''\text{E}$) และสถานีวิจัยประมงศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ตำบลบางพระ อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ($13^{\circ}18'56''\text{N}$, $100^{\circ}9'25''\text{E}$) ดังรูปที่ 9 โดยเก็บตัวอย่างพื้นที่ละ 2 ครั้ง ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2561 (ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้) และเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562 (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ)



รูปที่ 9 ตำแหน่งการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่าน (ST.1) และศรีราชา (ST.2)

3.1.2 เก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่

ทำการเก็บหอยแมลงภู่จำนวน 5 กิโลกรัม ผ่าแยกเนื้อ และเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อนำไปสกัดและวิเคราะห์พิษอัมพาต

3.1.3 เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช

ทำการเก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจากน้ำทะเลในบริเวณเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่แต่ละสถานีที่ระดับความลึก 1.0 เมตร จากผิวน้ำ เพื่อตรวจหาเซลล์ *Alexandrium minutum* หรือไดโนแฟลกเจลเลตที่สามารถสร้างพิษอัมพาตได้ โดยมีการเก็บ 3 รูปแบบ คือ

(1) เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจวิเคราะห์ชนิดแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษ ทำโดยการกรองน้ำปริมาตร 10 ลิตร ด้วยถุงกรองขนาด 20 ไมโครเมตร ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจะถูกตรึงสภาพด้วยฟอร์มาลินที่ความเข้มข้นสุดท้ายประมาณร้อยละ 2 นำตัวอย่างแพลงก์ตอนมาทำการตรวจนับ โดยจำแนก *Alexandrium* spp. ในระดับชนิด และจำแนกแพลงก์ตอนพืช 5 ชนิดเด่นในระดับสกุลในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ Sedwick-Rafter counting slide ด้วยกล้องจุลทรรศน์

(2) เก็บตัวอย่างเพื่อทำการแยกเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนที่เป็นพิษ ทำโดยการลากถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร เก็บรักษาในสภาพมีชีวิตในถังขนาด 20 ลิตร เมื่อถึงห้องปฏิบัติการ ทำการคัดแยกเซลล์ *Alexandrium* เพื่อเพาะเลี้ยงแบบ monoclonal culture ด้วยเทคนิคหลอดแก้วปลายแหลม (pasture pipette single cell isolate) ด้วยวิธีของ Hoshaw and Rosowski (1973) ในอาหารสูตร T_1 เพื่อใช้เป็น stock culture และทำการจำแนกชนิด

(3) เก็บตัวอย่างเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์พิษอัมพาตในตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชจากธรรมชาติ ทำโดยการการลากถุงแพลงก์ตอนขนาดตา 20 ไมโครเมตร ปริมาณ 50 กรัม เก็บด้วยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อนำไปวิเคราะห์พิษอัมพาต ด้วยวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005.06

3.1.4 ข้อมูลปัจจัยแวดล้อมเบื้องต้น

ทำการตรวจวัดปัจจัยแวดล้อมบริเวณที่เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ และความเป็นกรด-เบส ด้วยเครื่องมือวัดคุณภาพน้ำหลายตัวแปร (YSI รุ่น 600XLM)

3.2 การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษาแบ่งเป็น 3 ขั้นตอน คือ

(1) ศึกษาการเติบโตและความเป็นพิษของ *A. minutum* เพื่อให้ทราบระยะเวลาการเติบโตของเซลล์ที่มีความเป็นพิษสูงสุด เพื่อนำเซลล์ในระยะเวลาการเติบโตนี้สำหรับการทดลองข้อที่ 2 และ 3

(2) ศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่ โดยจะนำเซลล์ในช่วงที่มีความเป็นพิษสูงสุดให้หอยกรองกินที่ความหนาแน่นเซลล์แตกต่างกัน เพื่อให้ทราบชุดความหนาแน่นเซลล์ที่เหมาะสมและไม่ส่งผลต่อการกรองกินในหอยสำหรับการทดลองข้อที่ 3

(3) ศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ โดยจะใช้ความหนาแน่นเซลล์ที่เหมาะสมให้หอยกรองกิน *A. minutum* เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในเนื้อหอยตลอดช่วงที่กรองกิน *A. minutum* ตลอดจนระยะเวลาที่หอยใช้กำจัดพิษที่สะสมหลังจากหยุดกิน *A. minutum* โดยให้กรองกินแพลงก์ตอนชนิด *Isochrysis* sp. ซึ่งไม่สร้างสารชีวพิษ กระทั่งความเป็นพิษในหอยถึงระดับปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งมีรายละเอียดในแต่ละขั้นตอนดังนี้

3.2.1 การศึกษาการเติบโตและความเป็นพิษของ *Alexandrium minutum*

3.2.1.1 การเตรียมน้ำสำหรับเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช

ใช้น้ำทะเลความเค็ม 28 psu กรองผ่านกระดาษกรอง GF/C เติมอาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนสูตร T₁ (ตารางที่ ก1) นำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 20 นาที

3.2.1.2 การศึกษาการเติบโตของ *Alexandrium minutum*

เซลล์ *Alexandrium minutum* สายพันธุ์ CU-MPL-AL.m1 ที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการแยกเลี้ยงของเซลล์จากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา นำมาศึกษาอัตราการเติบโตในถังขนาด 20 ลิตร (รูปที่ 10) ด้วยการถ่ายเซลล์ *A. minutum* ให้มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นที่ 500 เซลล์/มล. เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 °C ความเข้มแสง 54 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ และ ช่วงมีด:สว่าง เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง สุ่มนับเซลล์ทุกวัน โดยใช้ Sedgewick Rafter Counting Chambers และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะด้วยสมการ คือ

$$N = N_0 e^{Ket} \quad (\text{Guillard, 1973})$$

โดยที่ N คือ ความหนาแน่นเซลล์สุดท้าย (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N_0 คือ ความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

e คือ ค่าคงตัว

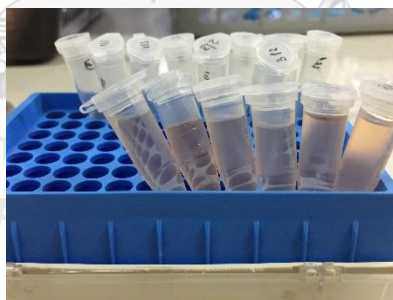
K_e คือ ค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตจำเพาะ (ต่อวัน)

t คือ เวลา (วัน)



รูปที่ 10 ถังเลี้ยง *Alexandrium minutum* ขนาด 20 ลิตร

ในระหว่างการเก็บเซลล์เพื่อศึกษาการเติบโต ทำการเก็บเซลล์เพื่อศึกษาความเป็นพิษด้วยการสุ่มตัวอย่างจากถังเลี้ยงแพลงก์ตอนปริมาตร 300-1,500 มิลลิลิตร แยกน้ำเลี้ยงและเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเก็บเซลล์ในหลอดเอพเพนดอร์ฟขนาด 2 มิลลิลิตร (รูปที่ 11) ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต



รูปที่ 11 การเก็บเซลล์ *Alexandrium minutum* เพื่อตรวจวิเคราะห์พิษอัมพาต

3.2.2 การเตรียมตัวอย่างหอยแมลงภู

หอยแมลงภูที่ใช้ในการทดลอง (3.2.3 และ 3.2.4) คือ หอยแมลงภูจากสถานีวิจัยประมงศรีราชา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอสรีราชา จังหวัดชลบุรี ทำความสะอาดเปลือกและปรับสภาพของหอย 1 วัน และนำหอยใส่ในถังเลี้ยงที่มีระบบน้ำทะเลแบบปิด ความเค็ม 28 psu กรองด้วยชุดกรองความละเอียด 5 และ 1 ไมโครเมตร ตามลำดับ ให้อากาศต่อเนื่องและไม่ให้อาหาร (รูปที่ 12)

โดยดำเนินการที่สถานีวิจัยสัตว์ทะเลอ่างศิลา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดชลบุรี



รูปที่ 12 หอยแมลงภู่ที่ปรับสภาพในน้ำทะเลกรอง

3.2.3 การศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่

ทำการทดลอง 4 ชุดๆ ละ 3 ซ้ำ ใช้หอยแมลงภู่จำนวน 10 ตัว ในแต่ละซ้ำและเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 20x20x10 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำ 1.5 ลิตร ดังรูปที่ 13 โดยให้หอยแมลงภู่กรองกิน *Alexandrium minutum* ที่เติบโตในช่วงปลายของระยะ exponential (15 วัน) (ผลการทดลองจากข้อ 3.2.1) ทุกๆ 6 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีรายละเอียดดังนี้

ชุดที่ 1 ให้หอยแมลงภู่กรองกิน *A. minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 100 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็น 1.5×10^5 เซลล์

ชุดที่ 2 ให้หอยแมลงภู่กรองกิน *A. minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็น 7.5×10^5 เซลล์

ชุดที่ 3 ให้หอยแมลงภู่กรองกิน *A. minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 1,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็น 1.5×10^6 เซลล์

ชุดที่ 4 ให้หอยแมลงภู่กรองกิน *A. minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 3,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร หรือคิดเป็น 4.5×10^6 เซลล์

ก่อนเริ่มการทดลองในช่วงเวลาถัดไป (ทุก 6 ชั่วโมง) ให้เปลี่ยนน้ำทั้งหมด และสุ่มตัวอย่างน้ำเพื่อนับจำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่เปลี่ยนแปลง คำนวณอัตราการกรองกิน (Clearance rate) ของหอยจากสมการ (Coughlan, 1969; Jørgensen, 1996) คือ

$$C = \frac{V}{N \times t} \times \ln \left[\frac{c_0}{c_t} \right]$$

เมื่อ C = อัตราการกรองกิน (มิลลิลิตร/ตัว/ชั่วโมง)

V = ปริมาณน้ำที่ใช้ในการทดลอง (มิลลิลิตร)

N = จำนวนหอยที่ทดลอง (ตัว)

t = เวลาที่ทำการทดลอง (ชั่วโมง)

I_n = ลอการิทึมธรรมชาติ

C_0 = ความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* เมื่อเริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

C_t = ความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* เมื่อเวลาผ่านไป t (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

นอกจากนี้ นำความหนาแน่นเซลล์ที่ได้คำนวณจำนวนเซลล์ที่ถูกกินในหอย จากสมการ Omori and Ikeda (1984) คือ

$$G = \frac{V \times (C_0 - C_t)}{N}$$

เมื่อ G = จำนวนเซลล์ที่ถูกกรองกิน (เซลล์/ตัว)

V = ปริมาณน้ำที่ใช้ในการทดลอง (มิลลิลิตร)

C_0 = ความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* เมื่อเริ่มต้น (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

C_t = ความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* เมื่อเวลาผ่านไป t (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)

N = จำนวนหอยที่ทดลอง (ตัว)

เมื่อสิ้นสุดเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเก็บหอย ผ่าแยกเนื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต



รูปที่ 13 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่

3.2.4 การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู

ทำการทดลอง 2 ชุด ใช้หอยแมลงภูจำนวน 200 ตัว ใส่ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 250 ลิตร ปริมาตรน้ำ 100 ลิตร ดังรูปที่ 14 โดยมีรายละเอียดดังนี้

ชุดที่ 1 (ชุดควบคุม) เลี้ยงหอยแมลงภูด้วยแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* sp. ซึ่งเป็นแพลงก์ตอนที่เป็นอาหารของหอยตามธรรมชาติ และไม่สร้างสารชีวพิษ เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร Conway (ตารางที่ ก2) โดยให้กรองกินทุกๆ 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่นเซลล์ 100,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (1.0×10^{10} เซลล์/ถัง) เป็นระยะเวลา 28 วัน ทำการสุ่มเก็บหอยจำนวน 10 ตัว ในวันที่ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 14, 14.5, 15, 16, 17, 18, 19, 24 และ 28 ทำการผ่าแยกเนื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต

ชุดที่ 2 (ชุดทดลอง) เลี้ยงหอยแมลงภูด้วย *Alexandrium minutum* ที่เติบโตในช่วงปลายของระยะ exponential (15 วัน) (ผลการทดลองจาก ข้อ 3.2.1) ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (5.0×10^7 เซลล์/ถัง) (ผลการทดลองจาก ข้อ 3.2.3) โดยให้กรองกินทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 14 วัน หลังจากนั้นให้แพลงก์ตอนพืชที่ไม่สร้างสารชีวพิษเป็นอาหาร คือ *Isochrysis* sp. ทุกๆ 12 ชั่วโมง ที่ความหนาแน่นเซลล์ 100,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (1.0×10^{10} เซลล์/ถัง) เป็นระยะเวลา 14 วัน จึงหยุดการให้อาหาร สุ่มเก็บหอยครั้งละ 10 ตัว ในช่วงเวลาเดียวกับชุดการทดลองที่ 1 ทำการผ่าแยกเนื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต

โดยทุกๆ 12 ชั่วโมง ทำการเปลี่ยนน้ำก่อนเริ่มการทดลองในช่วงเวลาต่อไป นับจำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่เปลี่ยนแปลง นำความหนาแน่นของ *A. minutum* ที่สุ่มนับในถังทดลองเมื่อเริ่มและสิ้นสุดการทดลอง คำนวณอัตราการกรองกินจากสมการ Coughlan (1969) และ Jørgensen (1990) และเซลล์ที่ถูกกรองกินจากสมการของ Omori และ Ikeda (1984) (รายละเอียดในข้อ 3.3.2) นอกจากนี้ปริมาณพิษอัมพาตที่ตรวจได้จากหอยคำนวณอัตราการกำจัดพิษอัมพาตจากสมการ Bricelj and Shumway (1998) ในรูปฟังก์ชันเอกซ์โพเนนเชียล คือ

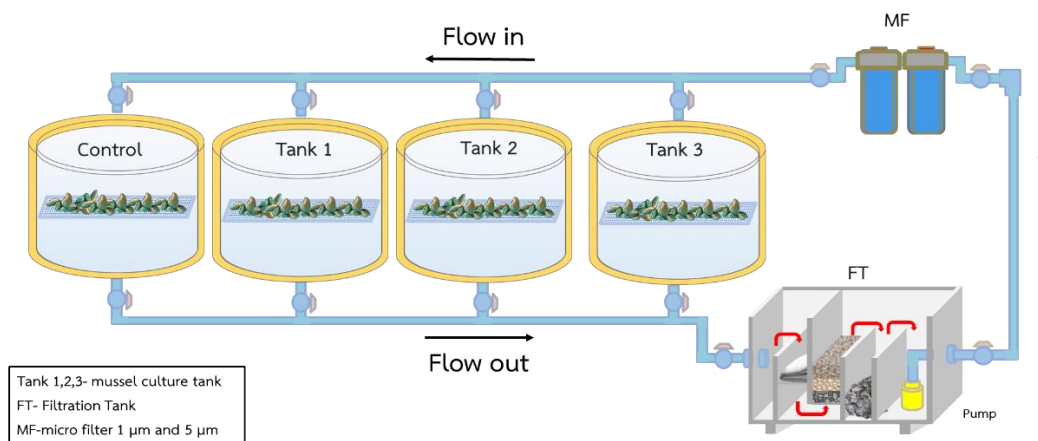
$$T_t = T_0 e^{-kt}$$

เมื่อ T_t คือ ระดับความเป็นพิษในเนื้อหอยสุดท้าย ($\mu\text{g STX equiv. / ตัว}$)

T_0 คือ ระดับความเป็นพิษในเนื้อหอยเริ่มต้น ($\mu\text{g STX equiv. / ตัว}$)

e คือ ค่าคงตัว

t คือ ระยะเวลาในการคายพิษ (วัน) และ k คือ ค่าสัมประสิทธิ์การคายพิษ



รูปที่ 14 ชุดการทดลองสำหรับศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่

3.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณและองค์ประกอบพิษอัมพาต

วิเคราะห์พิษอัมพาตด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยการตรวจวัดแบบ pre-chromatographic oxidation และจับสัญญาณด้วยฟลูออเรสเซนซ์ดีเทคเตอร์ ด้วยวิธีมาตรฐานของ AOAC 2005.06 (AOAC, 2006) ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพทางเคมี กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง

3.3.1 การสกัดตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วย HPLC

- (1) ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 2.5 ± 0.1 กรัม เติม 1% acetic acid ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ด้วยเครื่อง Vortex meter 90 วินาที หลังจากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ $95 \pm 5^\circ\text{C}$ นาน 5 นาที แล้วทิ้งให้เย็นที่ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4°C นาน 5 นาที
- (2) นำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยง ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที แยกส่วนใสที่อยู่ด้านบน
- (3) นำสารสกัดส่วนที่ใสไปกรองผ่าน C18 SPE column เก็บสารละลายส่วนที่ผ่าน สำหรับการวิเคราะห์พิษต่อไป

3.3.2 การวิเคราะห์พิษอัมพาตด้วย HPLC

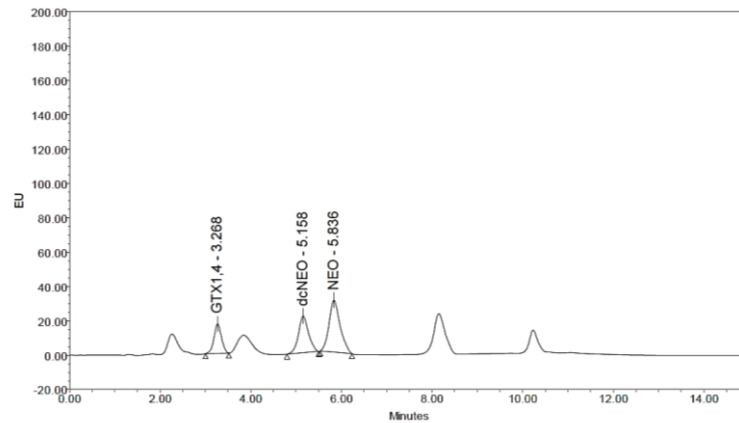
- (1) นำสารละลายที่ได้จากการกรองผ่านด้วย C18 SPE มาทำปฏิกิริยา Periodate Oxidation (PT) และ Peroxide Oxidation (PX) รวมทั้งสิ้น 3 ปฏิกิริยาเพื่อแยกองค์ประกอบพิษ ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปฏิบัติการเคมีที่ใช้แยกอนุพันธ์ของพิษอัมพาตแต่ละชนิด

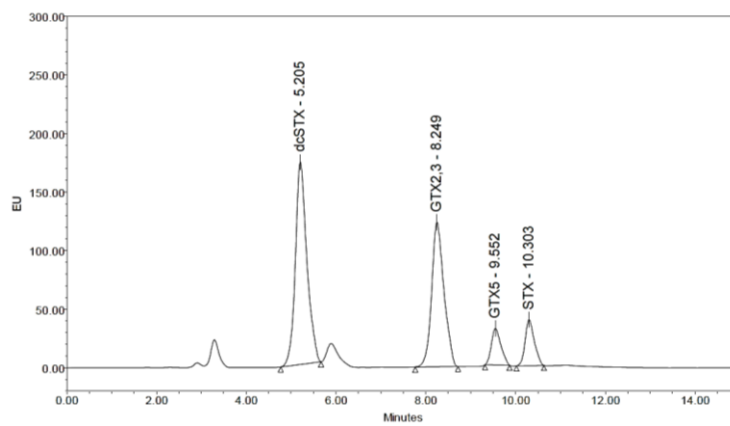
Mix	ปฏิบัติการ oxidation	อนุพันธ์ของพิษอัมพาต
1	Periodate Oxidation (PT) (Mix 1)	neosaxitoxin (NeoSTX)
		decarbamoyleneosaxitoxin (dcNeoSTX) gonyautoxins 1 และ 4 (GTX 1,4)
2	Peroxide Oxidation (PX) (Mix 2)	saxitoxin (STX)
		decarbamoyle saxitoxin (dcSTX) gonyautoxins 2 และ 3 (GTX 2,3)
		gonyautoxins 5 (GTX 5)
3	Peroxide Oxidation (PX) (Mix 3)	decarbamoylegonyautoxins 2 และ 3 (dcGTX 2,3) N-sulfocarbamoylegonyautoxins 1 และ 2 (C 1,2)

(2) วิเคราะห์พิษอัมพาตด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Alliance (Waters) รุ่น e2695 Separations การวิเคราะห์ใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็น (A): 0.1 M ammonium formate (pH 6) (B): 0.1 M ammonium formate ใน 5% acetonitrile (pH 6) อัตราการไหล 1.5 มิลลิลิตรต่อนาที ปริมาณสารใช้ฉีดตัวอย่าง periodate 50 μ L และ peroxide 20 μ L เวลาในการวิเคราะห์ 15 นาที ใช้คอลัมน์ Gemini C18 HPLC ขนาด 4.6 x 150 mm ซึ่งมีขนาดอนุภาคของ C18 5 μ m ที่อุณหภูมิ 30 \pm 5 $^{\circ}$ C เครื่องตรวจจับชนิด fluorescence detector Alliance (Waters) รุ่น 2475 FLR Detector ที่ EX: 340 nm และ EM: 395 nm และสารอ้างอิงมาตรฐานจาก National Research Council Canada ประกอบด้วย saxitoxin (STX), decarbamoyle saxitoxin (dcSTX), neosaxitoxin (NeoSTX), decarbamoyleneosaxitoxin (dcNeoSTX), gonyautoxins 1 และ 4 (GTX 1,4), gonyautoxins 2 และ 3 (GTX 2,3), gonyautoxins 5 (GTX 5), decarbamoylegonyautoxins 2 และ 3 (dcGTX 2,3) และ N-sulfocarbamoylegonyautoxins 1 และ 2 (C 1,2)

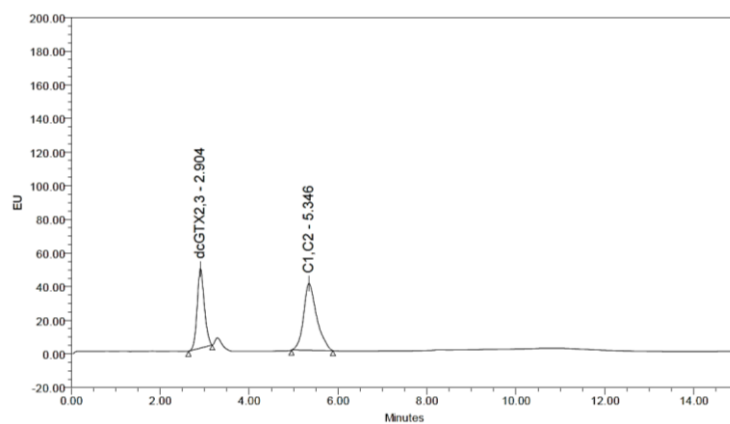
(3) โปรแกรมสำเร็จรูปของเครื่อง HPLC จะคำนวณความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับ calibration curve ของสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้น 0.00, 0.06, 0.12, 0.24 และ 0.48 μ M) กับพื้นที่ใต้กราฟ (รูปที่ 15 16 และ 17) โดยใช้สมการ linear regression แล้วจึงนำมาคำนวณความเข้มข้นของพิษอัมพาต มีหน่วยเป็น μ gSTX eq./กรัม



รูปที่ 15 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 dcNEO และ NEO ในปฏิกิริยา periodate oxidation (Mix 1)



รูปที่ 16 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด dcSTX GTX2,3 GTX5 และ STX ในปฏิกิริยา peroxide oxidation (Mix 2)



รูปที่ 17 กราฟมาตรฐานสำหรับพิษอัมพาตชนิด dcGTX2,3 และ C1,C2 ในปฏิกิริยา peroxide oxidation (Mix 3)

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวและแพลงก์ตอนพืชระหว่างฤดูกาลในแต่ละสถานี (การศึกษาในภาคสนาม) วิเคราะห์ความแตกต่างของปริมาณพิษอัมพาตและองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *A. minutum* (การศึกษาการเติบโตของ *A. minutum*) และวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราการกรอกกิน ปริมาณพิษอัมพาตและองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวจากการกรอกกิน *A. minutum* แต่ละช่วงเวลา (การศึกษาการสะสมพิษในหอยแมลงภู่มะพร้าว) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนข้อมูลทางเดียว (One-way Anova) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's Multiple Range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับความเป็นพิษในหอยแมลงภู่มะพร้าวและช่วงเวลาที่กรอกกินโดยใช้สมการถดถอย (regression analysis)



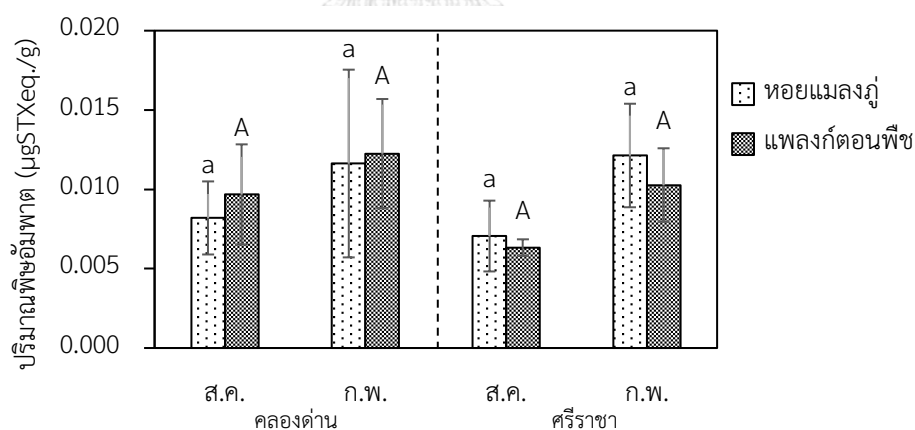
บทที่ 4

ผลการศึกษา

4.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล

4.1.1 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และแพลงก์ตอนพืชที่กรองแยกจากน้ำทะเลในพื้นที่เลี้ยงหอย

ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และแพลงก์ตอนพืชที่กรองแยกจากน้ำทะเลจากพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่านและศรีราชาแต่ละฤดูกาลพบว่า มีปริมาณที่ตรวจวัดได้อยู่ในระดับต่ำ โดยในบริเวณคลองด่านพบปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ทั้งสองฤดูมีค่าอยู่ระหว่าง 0.008 ถึง 0.011 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ ส่วนแพลงก์ตอนพืชทั้งสองฤดูมีค่าอยู่ระหว่าง 0.009 ถึง 0.012 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ เมื่อทดสอบไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และบริเวณศรีราชาพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ทั้งสองฤดูมีค่าอยู่ระหว่าง 0.007 ถึง 0.012 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ ส่วนแพลงก์ตอนพืชทั้งสองฤดูมีค่าอยู่ระหว่าง 0.006 ถึง 0.010 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ เมื่อทดสอบไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 18 และตารางที่ ข1



รูปที่ 18 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชตามฤดูกาลในแต่ละสถานี

(ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

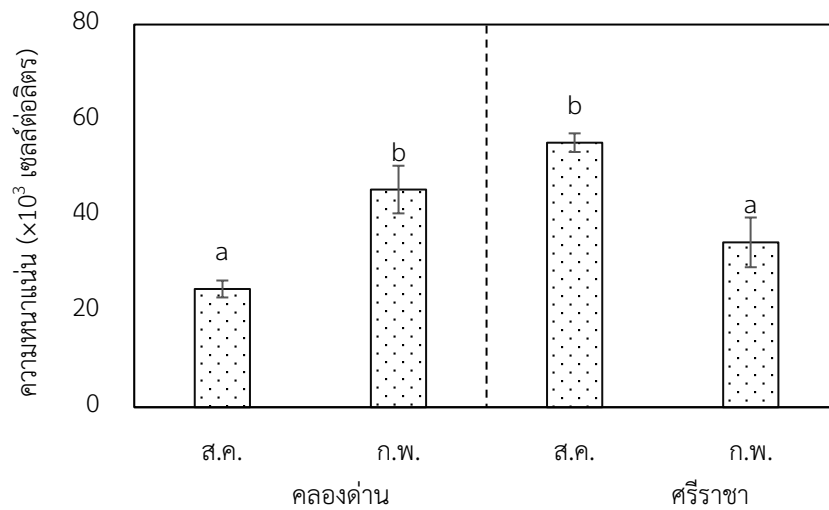
ส.ค. คือ เดือนสิงหาคม (ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้) และ ก.พ. คือ เดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b) และตัวอักษรยกใหญ่ (A,B) แสดงความแตกต่างระหว่างปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืช ตามฤดูกาลในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ตามลำดับ

4.1.2 แพลงก์ตอนพืชที่อาจเป็นสาเหตุของพิษอัมพาตในหอย

การตรวจวิเคราะห์ชนิดแพลงก์ตอนพืชตามฤดูกาลแต่ละสถานี จากตัวอย่างที่มีชีวิตและตัวอย่างที่ถูกตรึงสภาพด้วยฟอร์มาลิน ไม่พบเซลล์ *Alexandrium* spp. หรือแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นที่อาจเป็นสาเหตุให้ก่อพิษอัมพาตได้ (รูปที่ ก2 และตารางที่ ข2)

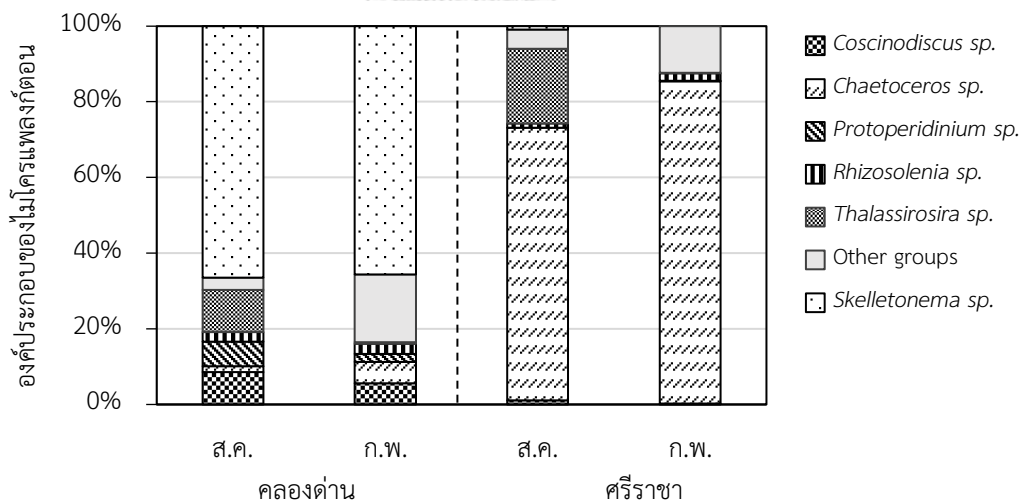
เมื่อพิจารณาความชุกชุมและองค์ประกอบแพลงก์ตอนพืชขนาดไมโครแพลงก์ตอนในบริเวณคลองด่าน พบแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด 18 สกุล จาก 3 กลุ่ม ได้แก่ ไฮยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 1 สกุล ไดอะตอม 13 สกุล และไดโนแฟลกเจลเลต 4 สกุล มีความหนาแน่นเซลล์อยู่ระหว่าง $24-3.64 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร ความชุกชุมของแพลงก์ตอนที่มีความหนาแน่น 4.55×10^4 เซลล์ต่อลิตร ในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าความหนาแน่น 2.47×10^4 เซลล์ต่อลิตร ในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 19 และตารางที่ ข2 โดยมีไดอะตอมชนิด *Skelletonema* spp. เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นร้อยละ 66.4 และ 65.5 *Coscinodiscus* spp. ร้อยละ 8.5 และ 5.5 และ *Protoperdinium* spp. ร้อยละ 6.4 และ 2.0 ในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้และมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือตามลำดับ ดังรูปที่ 20 และตารางที่ ข3

บริเวณศรีราชาพบแพลงก์ตอนพืชทั้งหมด 20 ชนิด จาก 3 กลุ่ม ได้แก่ ไฮยาโนแบคทีเรียหรือสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน 1 สกุล ไดอะตอม 15 สกุล และไดโนแฟลกเจลเลต 4 สกุล มีความหนาแน่นเซลล์อยู่ระหว่าง $30-3.28 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร ความชุกชุมของแพลงก์ตอนมีความหนาแน่นในช่วง 3.44×10^4 เซลล์ต่อลิตร ในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและน้อยกว่า 5.53×10^4 เซลล์ต่อลิตร ในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 19 และตารางที่ ข2 โดยพบ *Chaetoceros* spp. เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นร้อยละ 72.1 และ 85.1 และ *Thalassiosira* spp. ร้อยละ 19.6 และ 0.1 ในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้และฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือตามลำดับ ดังรูปที่ 20 และตารางที่ ข3



รูปที่ 19 ความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู๋ ตามฤดูกาลในแต่ละสถานี (ค่าเฉลี่ย±SD; n=3)

ส.ค. คือ เดือนสิงหาคม (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้) และ ก.พ. คือ เดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) และตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของความหนาแน่นเซลล์ ตามฤดูกาลในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 20 องค์ประกอบระดับสกุลของแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู๋ ตามฤดูกาลในแต่ละสถานี

ส.ค. คือเดือนสิงหาคม (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้) และ ก.พ. คือเดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ)

4.1.3 สภาพแวดล้อม ณ จุดเก็บตัวอย่าง

การศึกษาพบความผันแปรของความเค็มทั้งสองฤดูมรสุมอยู่ในช่วง 4.21-30.34 psu โดยความเค็มสูงสุดพบบริเวณศรีราชาช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ความเค็มต่ำสุดพบบริเวณคลองด่านช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเค็มระหว่างฤดูมรสุมในบริเวณคลองด่านและบริเวณศรีราชา ($p<0.05$) ดังตารางที่ 8

อุณหภูมิทั้งสองฤดูมรสุมมีค่าอยู่ในช่วง 27.84-30.39 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิสูงสุดพบในบริเวณคลองด่านช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ อุณหภูมิต่ำสุดพบในบริเวณคลองด่านช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ เมื่อทดสอบพบความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างฤดูมรสุม ($p<0.05$) ส่วนบริเวณศรีราชาไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 8

ความเป็นกรด-ด่างทั้งสองฤดูมรสุมพบความผันแปรต่ำ มีค่าอยู่ในช่วง 8.10-8.54 โดยความเป็นกรด-ด่างสูงสุดพบในบริเวณศรีราชาช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดพบในบริเวณคลองด่านช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความเป็นกรด-ด่างระหว่างฤดูมรสุม ในบริเวณศรีราชา ($p<0.05$) ดังตารางที่ 8

ปริมาณออกซิเจนละลายทั้งสองฤดูมรสุมมีค่าอยู่ในช่วง 4.41-8.47 มิลลิกรัม/ลิตร โดยปริมาณออกซิเจนละลายสูงสุดพบในบริเวณคลองด่าน ช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ปริมาณออกซิเจนละลายต่ำสุดพบในบริเวณคลองด่าน ช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณออกซิเจนละลายในบริเวณคลองด่าน และบริเวณศรีราชา ระหว่างฤดูมรสุม ($p<0.05$) ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปัจจัยทางกายภาพในพื้นที่เลี้ยงหอย (ค่าเฉลี่ย \pm SD; n=3)

สถานี	เดือน	ความเค็ม (psu)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความเป็นกรด-ด่าง	ออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	หมายเหตุ
คลองด่าน	ส.ค.	4.21 \pm 0.02 *	27.84 \pm 0.34*	8.10 \pm 0.09	4.41 \pm 0.25*	คลื่นแรง น้ำขุ่น
ศรีราชา	ก.พ.	25.05 \pm 0.12*	30.39 \pm 0.25*	8.17 \pm 0.05	8.47 \pm 0.33*	คลื่นสงบ น้ำขุ่น
ศรีราชา	ส.ค.	26.38 \pm 0.08*	28.48 \pm 0.91	8.32 \pm 0.01*	5.11 \pm 0.10*	คลื่นแรง น้ำใส
คลองด่าน	ก.พ.	30.34 \pm 0.39 *	28.60 \pm 0.50	8.54 \pm 0.04*	6.36 \pm 0.24 *	คลื่นสงบ น้ำใส

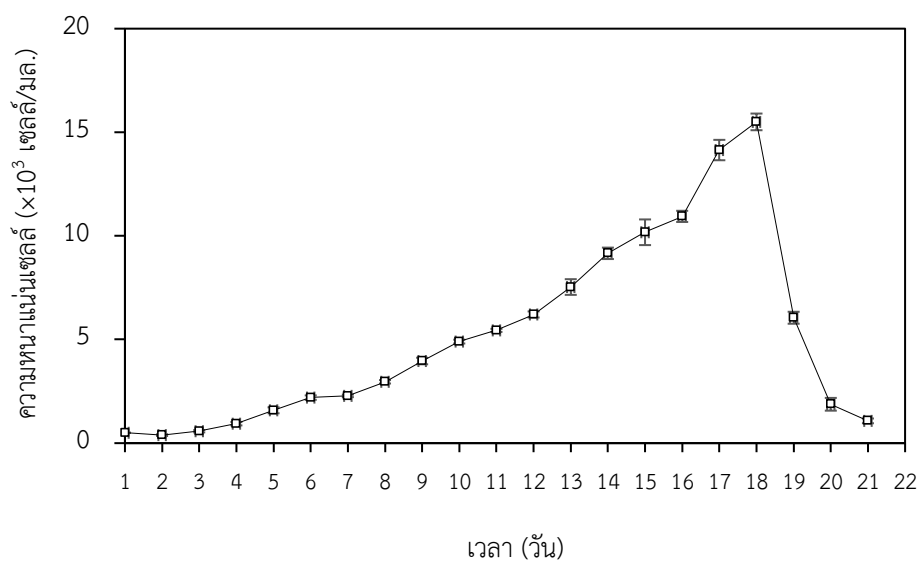
ส.ค. คือเดือนสิงหาคม (ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้) ก.พ. คือ เดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) และ * แสดงความแตกต่างของปัจจัยกายภาพตามฤดูกาลแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรอกกิน *Alexandrium minutum* ในห้องปฏิบัติการ

4.2.1 การเติบโตและการสร้างพิษอัมพาตของ *Alexandrium minutum*

4.2.1.1 การเติบโตของ *Alexandrium minutum*

ลักษณะการเติบโตของ *Alexandrium minutum* ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ความเค็ม 28 psu พบว่าช่วง lag phase ในวันที่ 1 และ 2 เซลล์ลดจำนวนลงเล็กน้อย หลังจากนั้นเซลล์จะเข้าสู่ exponential phase โดยมีความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้นต่อเนื่องในแต่ละวัน และมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุด ในวันที่ 18 คือ $15,500.0 \pm 402$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นเซลล์จะเข้าสู่ death phase โดยการลดจำนวนอย่างรวดเร็ว (รูปที่ 21) เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต พบว่ามีค่าอยู่ที่ 0.257 ต่อวัน

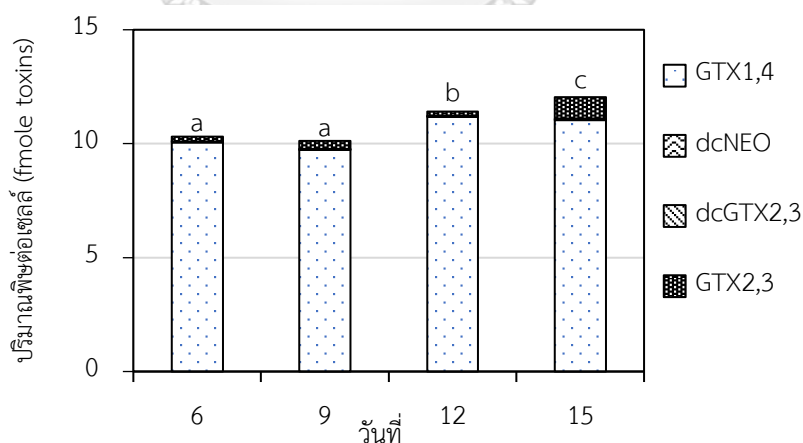


รูปที่ 21 การเติบโตของเซลล์ *Alexandrium minutum* (ค่าเฉลี่ย \pm SD)

4.2.1.2 ปริมาณและองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *Alexandrium minutum*

ปริมาณพิษอัมพาตของ *Alexandrium minutum* ช่วงต้น ช่วงกลาง และช่วงปลายในระยะเวลา exponential มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเติบโต อยู่ระหว่าง 10.12-12.03 fmole toxins/เซลล์ (ความเป็นพิษ 3.77- 4.48 pgSTXeq./เซลล์) โดยปริมาณพิษของเซลล์ช่วงต้น (วันที่ 6) ช่วงกลาง (วันที่ 9 และ 12) และช่วงปลาย (วันที่ 15) มีค่า 10.31 ± 0.07 (3.84 ± 0.03), 10.12 ± 0.36 (3.77 ± 0.13), 11.41 ± 0.12 (4.25 ± 0.05) และ 12.03 ± 0.15 (4.48 ± 0.05) fmole toxins/เซลล์ (pgSTXeq./เซลล์) ตามลำดับ โดยเซลล์มีปริมาณและความเป็นพิษสูงที่สุดช่วงปลายของระยะ exponential (วันที่ 15) เมื่อเปรียบเทียบกับในช่วงอื่นของการเติบโตพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 22 ตารางที่ ข4 และข5

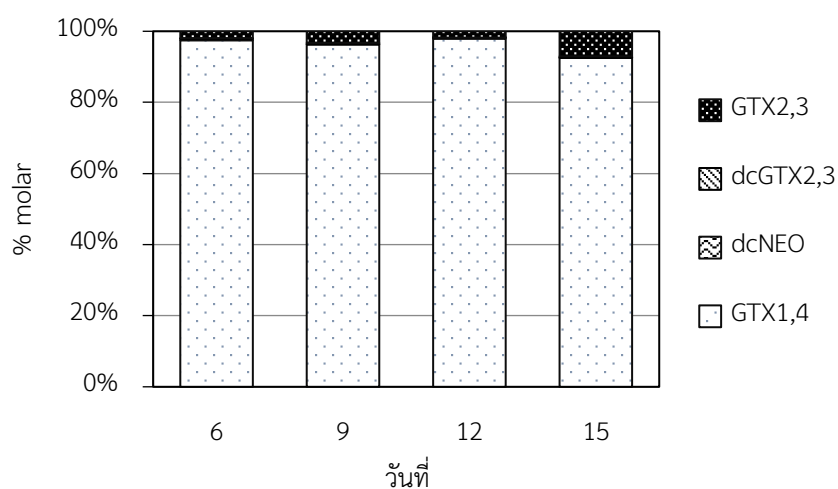
องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *A. minutum* ตลอดระยะเวลา exponential พบ 4 ชนิด แบ่งเป็น 2 กลุ่มตามลักษณะหมู่ฟังก์ชัน R_4 ที่ต่างกัน ได้แก่ กลุ่ม carbamoyl toxins (ความเป็นพิษสูง) คือ GTX1,4 และ GTX2,3 กลุ่ม decarbamoyl toxins (ความเป็นพิษปานกลาง) คือ dcNEO และ dcGTX2,3 โดยพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 เป็นองค์ประกอบพิษหลักที่พบตลอดช่วงการเติบโต มีค่าอยู่ระหว่าง 9.73-11.18 fmole toxins ต่อเซลล์ และพบว่าปริมาณพิษของ GTX1,4 ในวันที่ 12 และ 15 มีความแตกต่างจากในวันที่ 6 และ 9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนปริมาณพิษของ GTX2,3 ในวันที่ 15 มีความแตกต่างจากในวันที่ 6, 9 และ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 22 และตารางที่ ข4



รูปที่ 22 ปริมาณพิษต่อเซลล์และองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *Alexandrium minutum* ตลอดระยะเวลา exponential ของการเติบโต (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณพิษอัมพาตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ร้อยละองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตตลอดระยะ exponential ของการเติบโต พบว่ามีสัดส่วนคงที่ คือ GTX1,4 ($95.86 \pm 2.84\%$) และ GTX2,3 ($3.69 \pm 2.78\%$) ส่วน dcNEO และ dcGTX2,3 พบในระดับต่ำ คือ $0.21 \pm 0.12\%$ และ $0.25 \pm 0.17\%$ ตามลำดับ เมื่อพิจารณาองค์ประกอบพิษในแต่ละระยะพบว่า ร้อยละของพิษอัมพาตชนิด GTX1,4, dcGTX2,3 และ GTX2,3 ในวันที่ 15 มีความแตกต่างจากในวันที่ 6, 9 และ 12 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 23 และตารางที่ ข6



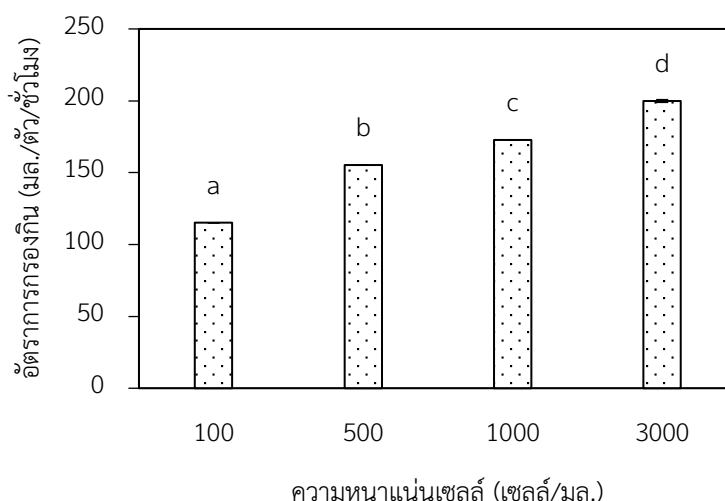
รูปที่ 23 ร้อยละองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตใน *Alexandrium minutum* ตลอดระยะ exponential ของการเติบโต (ค่าเฉลี่ย ± SE; n=2)

จากผลการทดลองการเติบโตและการสร้างพิษอัมพาตของ *Alexandrium minutum* (4.2.1) พบว่าในช่วงปลายของระยะ exponential (15 วัน) เซลล์ *Alexandrium minutum* มีปริมาณและความเป็นพิษต่อเซลล์สูงที่สุด นอกจากนี้อ่งค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่พบมีความแตกต่างจากช่วงเวลาอื่นอย่างมีนัยสำคัญ จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เซลล์ในช่วงวันดังกล่าวสำหรับการศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่และการศึกษาการสะสมพิษในหอยแมลงภู่ในขั้นต่อไป

4.2.2 การศึกษาอัตราการกรองกินในหอยแมลงภู

4.2.2.1 อัตราการกรองกินในหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลอง

อัตราการกรองกินของหอยแมลงภูจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ความหนาแน่นแตกต่างกัน คือ 100, 500, 1000 และ 3000 เซลล์/มล. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราการกรองกินเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* ที่เป็นอาหาร โดยอัตราการกรองกินที่ความหนาแน่น 100 เซลล์/มล. มีค่าเฉลี่ย 115.13 ± 0.00 มล./ตัว/ชั่วโมง ที่ความหนาแน่น 500 มีค่าเฉลี่ย 155.32 ± 0.07 มล./ตัว/ชั่วโมง และที่ความหนาแน่น 1,000 และ 3,000 เซลล์/มล. มีค่าเฉลี่ย 172.68 ± 1.00 และ 199.85 ± 0.16 มล./ตัว/ชั่วโมง ตามลำดับ โดยอัตราการกรองกินมีความแตกต่างในแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 24 และตารางที่ ๗



รูปที่ 24 อัตราการกรองกินในหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลอง (ค่าเฉลี่ย \pm SD; n=3)

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c,d) แสดงความแตกต่างของอัตราการกรองกินในหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาร้อยละของเซลล์ *Alexandrium minutum* ที่ถูกกรองกินในหอยแมลงภูแต่ละชุดความหนาแน่นเซลล์ พบว่ามีค่า 98.80-100.00% โดยหอยสามารถกรองกิน *A. minutum* สมบูรณ์ที่ความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* ต่ำ และกรองกินได้ลดลงสอดคล้องกับความหนาแน่นเซลล์เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาร้อยละของเซลล์ที่ถูกกรองกินโดยหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลองพบว่าในชุดการทดลองที่ 3,000 เซลล์/มล. มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณเซลล์ *Alexandrium minutum* ที่ให้กรองกิน ปริมาณเซลล์ที่ถูกกรองกิน และ ร้อยละของเซลล์ที่ถูกกรองกินในหอยแมลงภู (ค่าเฉลี่ย±SD; n=3)

ความหนาแน่น เซลล์ (เซลล์/มล.)	ปริมาณเซลล์ที่ให้ กรองกิน (เซลล์/ตัว)	ปริมาณเซลล์ที่ถูก กรองกิน (เซลล์/ตัว)	ร้อยละ
100	$6.0 \times 10^4 \pm 0.00$	$6.0 \times 10^4 \pm 0.00$	100.00 ± 0.00 ^b
500	$3.0 \times 10^5 \pm 0.00$	$2.9 \times 10^5 \pm 804.98$	99.80 ± 0.26 ^b
1000	$6.0 \times 10^5 \pm 0.00$	$5.9 \times 10^5 \pm 565.24$	99.94 ± 0.09 ^b
3000	$1.8 \times 10^6 \pm 0.00$	$1.7 \times 10^6 \pm 10,994.21$	98.80 ± 0.61 ^a

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของร้อยละของเซลล์ที่ถูกกรองกินแต่ละชุดการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.2.2 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลอง

ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภูจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณพิษสะสมสูงขึ้นสอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่ถูกกินมากขึ้นแต่ละชุดการทดลอง โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.10 - 2.93 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ (0.01 - 0.32 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$) ปริมาณพิษอัมพาตสูงที่สุดพบในชุดการทดลองที่ 3,000 เซลล์/มล. คือ 2.93 ± 0.30 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ (0.32 ± 0.293 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$) และปริมาณพิษอัมพาตต่ำที่สุดพบในชุดการทดลองที่ 100 เซลล์/มล. คือ 0.10 ± 0.01 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ (0.01 ± 0.01 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$) โดยปริมาณพิษอัมพาตมีความแตกต่างในแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังตารางที่ 10

ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู พิจารณาจากปริมาณพิษอัมพาตที่ได้รับจากการกรองกิน *A. minutum* และปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู พบว่ามีค่าลดลงสอดคล้องกับปริมาณเซลล์ที่ถูกกินมากขึ้นแต่ละชุดการทดลอง โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 37.14 - 42.14% การสะสมพิษมีค่าสูงสุดในชุดการทดลองที่ 100 เซลล์/มล. มีค่า $42.14 \pm 5.58\%$ และต่ำสุดในชุดการทดลองที่ 3,000 เซลล์/มล. มีค่า $37.14 \pm 3.53\%$ อย่างไรก็ตามพบว่าการสะสมพิษอัมพาตแต่ละชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 10

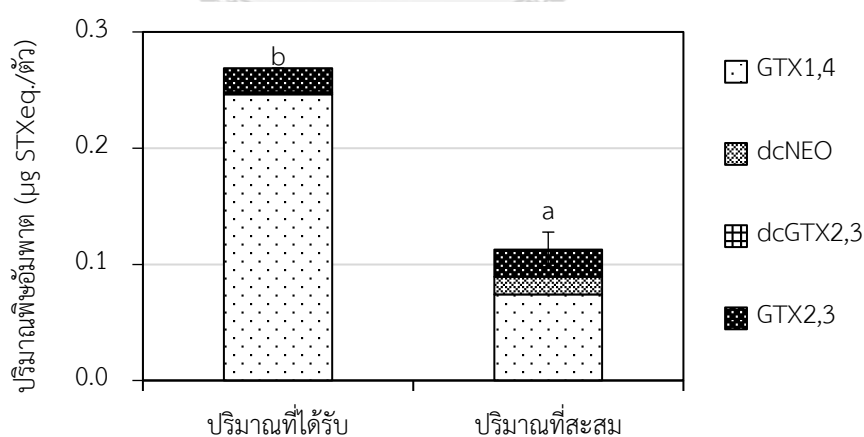
ตารางที่ 10 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสม และร้อยละการสะสมในหอยแมลงภู่ง (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

ความหนาแน่น เซลล์ (เซลล์/มล.)	ปริมาณพิษที่ได้รับ จาก <i>A. minutum</i> ($\mu\text{g STXeq/ตัว}$)	ปริมาณพิษที่สะสม ในหอยแมลงภู่ง ($\mu\text{g STXeq/ตัว}$)	ปริมาณพิษที่สะสม ในหอยแมลงภู่ง ($\mu\text{g STXeq/กรัม}$)	ร้อยละ (%)
100	0.26 \pm 0.00 ^a	0.10 \pm 0.01 ^a	0.01 \pm 0.01 ^a	42.14 \pm 5.58 ^a
500	1.33 \pm 0.00 ^b	0.52 \pm 0.11 ^b	0.06 \pm 0.05 ^b	40.16 \pm 8.17 ^a
1000	2.67 \pm 0.00 ^c	1.06 \pm 0.03 ^c	0.14 \pm 0.10 ^c	40.75 \pm 1.13 ^a
3000	7.93 \pm 0.04 ^d	2.93 \pm 0.30 ^d	0.32 \pm 0.29 ^d	37.14 \pm 3.53 ^a

ตัวอักษร (a,b,c,d) แสดงความแตกต่างของข้อมูลในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

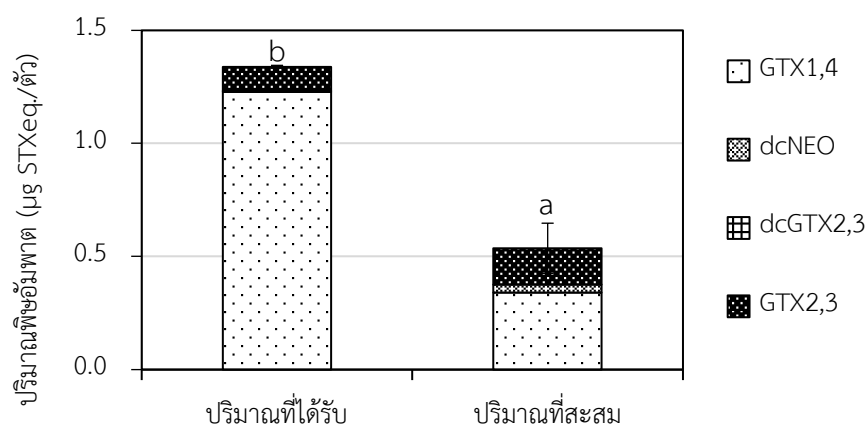
4.2.2.3 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่งแต่ละชุดการทดลอง

- องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่งชุดการทดลองที่ความหนาแน่น 100 เซลล์/มล. และ 500 เซลล์/มล. ประกอบด้วยพิษอัมพาต 3 ชนิด คือ GTX1,4 GTX2,3 และ dcNEO ซึ่งแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* ที่พบได้ 4 ชนิด คือ GTX1,4 GTX2,3 dcGTX2,3 และ dcNEO โดยพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 และ dcNEO ที่สะสมในหอยแมลงภู่งมีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปริมาณ GTX2,3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 25 26 และตารางที่ ข8



รูปที่ 25 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ง (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 100 เซลล์/มล. (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

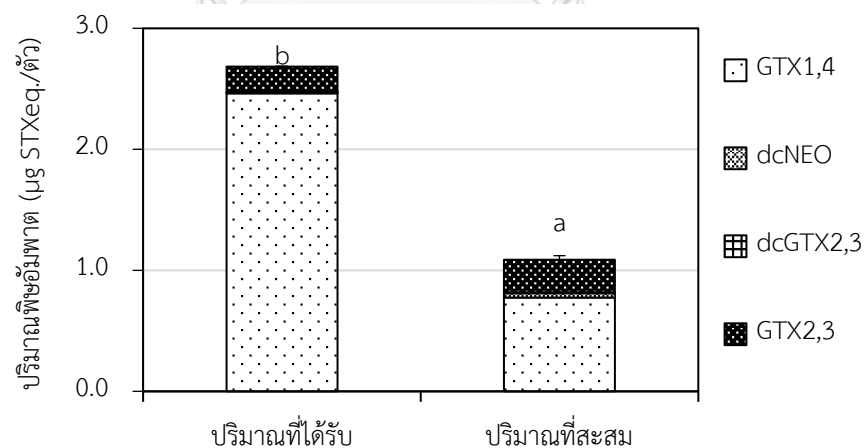
ตัวอักษร (a,b) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณพิษอัมพาตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)



รูปที่ 26 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรอกกิน *Alexandrium minutum* (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ง (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์/มล. (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

ตัวอักษร (a,b) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณพิษอัมพาตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

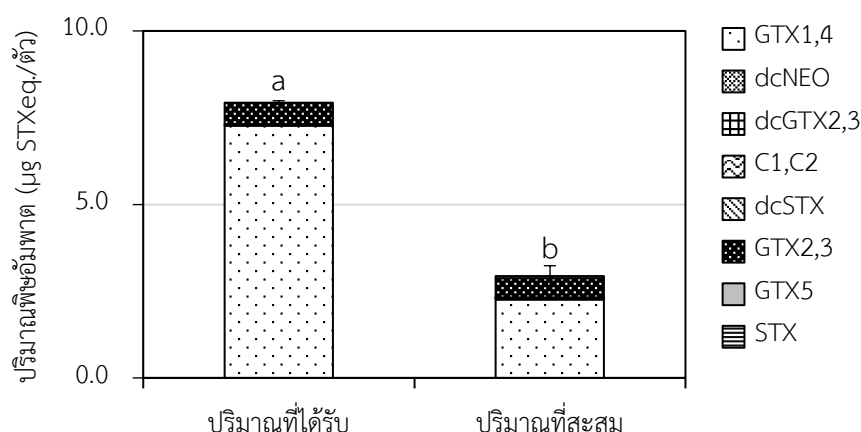
- องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่งชุดการทดลองที่ความหนาแน่น 1000 เซลล์/มล. พบองค์ประกอบพิษ 4 ชนิด โดยพิษอัมพาตชนิด GTX1,4, dcNEO และ dcGTX2,3 ที่สะสมในหอยแมลงภู่งมีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ปริมาณ GTX2,3 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังรูปที่ 27 และตารางที่ ข8



รูปที่ 27 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรอกกิน *Alexandrium minutum* (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ง (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 1000 เซลล์/มล. (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

ตัวอักษร (a,b) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณพิษอัมพาตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

- องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ชุดการทดลองความหนาแน่น 3000 เซลล์/มล. พบองค์ประกอบพิษ 8 ชนิด คือ GTX1,4 dcNEO dcGTX2,3 C1,C2 dcSTX GTX2,3 GTX5 และSTX โดยพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 dcNEO และdcGTX2,3 ที่สะสมในหอยแมลงภู่มีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบพิษอัมพาตชนิด NEO dcSTX C1,2 และ STX เป็นองค์ประกอบเพิ่มจากที่ได้รับใน *A. minutum* แต่อยู่ในระดับที่ต่ำ ดังรูปที่ 28 และตารางที่ ข8



รูปที่ 28 พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* (ซ้าย) และพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ (ขวา) ชุดความหนาแน่นเซลล์ 3000 เซลล์/มล. (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

ตัวอักษร (a,b) แสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณพิษอัมพาตอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

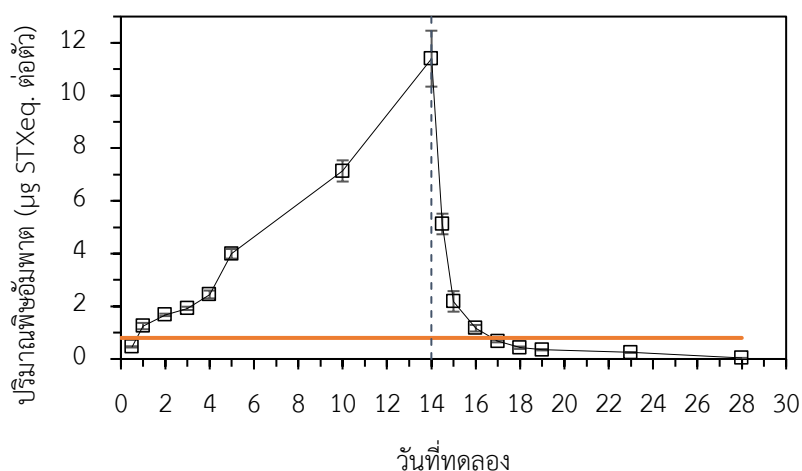
จากผลการทดลองในส่วนของอัตราการกรองกินที่ความหนาแน่นเซลล์แตกต่างกัน (4.2.2) พบว่าร้อยละของการกรองกินในหอยแมลงภู่ และร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่แต่ละชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์/มล. เป็นชุดการทดลองที่ทำให้ปริมาณพิษอัมพาตติดต่อตัวหอย มีค่ามากกว่า 0.8 µg STXeq. ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงเลือกใช้ความหนาแน่นเซลล์นี้ในการทดลองขั้นต่อไป

4.2.3 การศึกษาการสะสมและกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum*

4.2.3.1 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่

เมื่อพิจารณาปริมาณพิษอัมพาตติดต่อตัวหอยแมลงภู่ว่า พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์/มล. เป็นเวลา 14 วัน (วันที่ 0.5-14) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.45-11.20 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ โดยปริมาณพิษอัมพาตต่ำสุดพบในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (12 ชั่วโมง) คือ $0.45 \pm 0.02 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ปริมาณพิษอัมพาตในหอยต่อตัวมีค่า $1.24 \pm 0.12 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ ซึ่งมากกว่า 0.8 $\mu\text{g STXeq.}$ (ค่าควบคุม) ในเวลาต่อมามีแนวโน้มสูงขึ้นต่อเนื่อง โดยมีปริมาณพิษอัมพาตสูงสุดในวันที่ 14 คือ $11.40 \pm 1.06 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่วันที่ 0.5 4 5 10 และ 14 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 29 และตารางที่ ข9

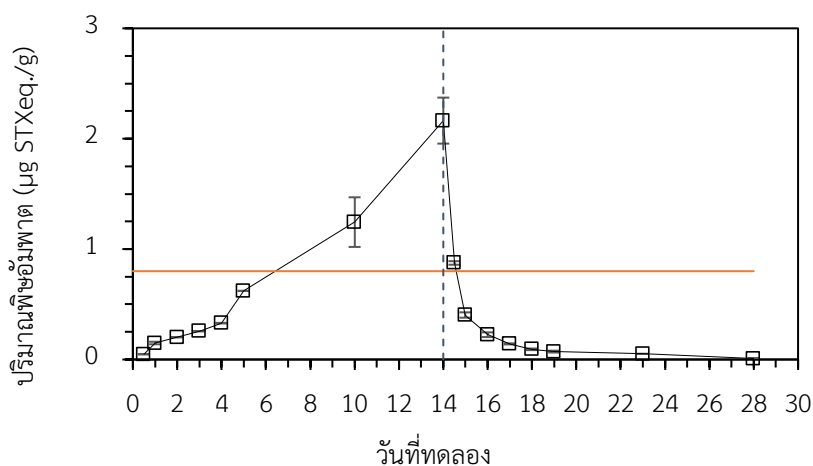
เมื่อเข้าสู่ระยะที่หอยกรองกิน *Isochrysis sp.* เป็นเวลา 14 วัน (วันที่ 14.5-28) พบว่าหลังจากกรองกินครบ 12 ชั่วโมงปริมาณพิษอัมพาตลดลง 55.01% อยู่ที่ $5.12 \pm 0.39 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ โดยใน 72 ชั่วโมง (วันที่ 17) มีค่า $0.67 \pm 0.04 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ ซึ่งน้อยกว่า 0.8 $\mu\text{g STXeq.}$ ในเวลาต่อมามีแนวโน้มลดลงต่อเนื่อง และมีปริมาณพิษอัมพาตต่ำที่สุดในวันที่ 28 คือ $0.03 \mu\text{g STXeq./ตัว}$ จากการทดสอบทางสถิติพบว่าปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยช่วงที่กรองกิน *Isochrysis sp.* มีความแตกต่างจากช่วงที่กรองกิน *A. minutum* (วันที่ 14) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 29 และตารางที่ ข9



รูปที่ 29 ปริมาณพิษอัมพาตต่อตัวหอยที่สะสมในหอยแมลงภู่ (กราฟเส้นสีดำ) และปริมาณพิษอัมพาตในหอยที่ระดับควบคุม (กราฟเส้นสีแดง) (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

เมื่อพิจารณาปริมาณพิษอัมพาตคิตต่อน้ำหนักหอยแมลงภู่มากกว่าตามหลักเกณฑ์ความเสี่ยงจากค่าควบคุมระดับพิษอัมพาตในหอยสองฝาที่ $0.8 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ พบว่าพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* เป็นเวลา 14 วัน (วันที่ 0.5-14) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.04 - $2.16 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ โดยปริมาณพิษอัมพาตต่ำที่สุดพบในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 (12 ชั่วโมง) คือ $0.04 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ และมีแนวโน้มสูงขึ้นต่อเนื่อง ในวันที่ 10 ของการทดลองพบว่าปริมาณพิษอัมพาตในหอย มีค่ามากกว่า $0.8 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ คือ $1.245 \pm 0.2 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ และมีปริมาณพิษอัมพาตสูงที่สุดในวันที่ 14 คือ $2.16 \pm 0.20 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่วันที่ 5 10 และ 14 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 30 และตารางที่ ข9

หลังจากนั้นให้หอยกรองกิน *Isochrysis sp.* เป็นเวลา 14 วัน (วันที่ 14.5-28) พบว่าหลังจากกรองกินครบ 1 วัน ปริมาณพิษอัมพาตลดลงต่ำกว่า $0.8 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ อยู่ที่ $0.40 \pm 0.02 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ ในเวลาต่อมาแนวโน้มลดลงต่อเนื่อง และมีปริมาณพิษอัมพาตต่ำที่สุดในวันที่ 28 คือ $0.009 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ จากการทดสอบทางสถิติพบว่าปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยช่วงที่กรองกิน *Isochrysis sp.* มีความแตกต่างจากช่วงที่กรองกิน *A. minutum* (วันที่ 14) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 30 และตารางที่ ข9

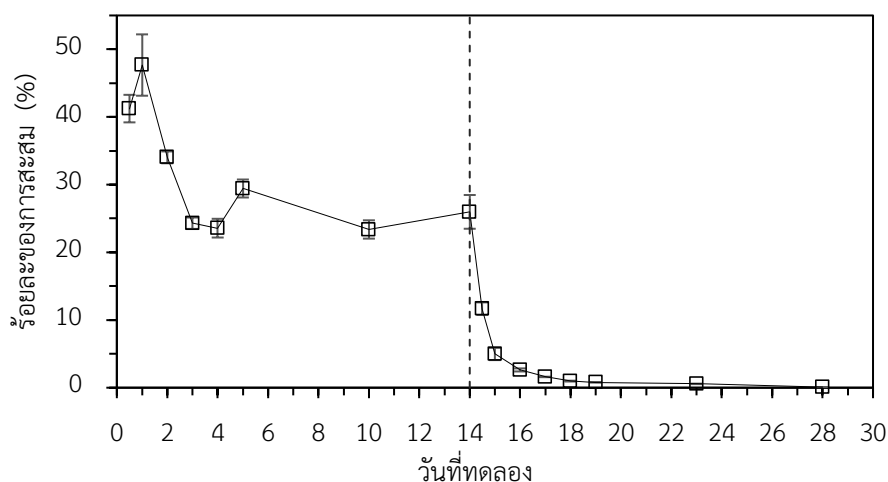


รูปที่ 30 ปริมาณพิษอัมพาตคิตต่อน้ำหนักหอยที่สะสมในหอยแมลงภู่มากกว่า (กราฟเส้นสีดำ) และปริมาณพิษอัมพาตในหอยที่ระดับควบคุม (กราฟเส้นสีแดง) (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

4.2.3.2 ร้อยละการสะสมพิษอัมพาต

ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ พิจารณาจากปริมาณพิษอัมพาตที่ได้รับจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* และปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอย โดยช่วงที่หอยแมลงภู่กรองกิน *A. minutum* เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 0.5-14) พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 23.38-47.67% การสะสมพิษอัมพาตมีค่าสูงสุดในเวลา 24 ชั่วโมง $47.67 \pm 4.53\%$ ต่อมา มีแนวโน้มลดลงต่อเนื่อง การสะสมพิษต่ำสุดในวันที่ 10 คือ $23.38 \pm 1.35\%$ และในวันสุดท้ายที่กรองกิน *A. minutum* (วันที่ 14) มีการสะสมพิษอยู่ที่ $25.97 \pm 2.49\%$ จากการทดสอบทางสถิติพบว่าร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยในวันที่ 0.5, 1, 2, 4, 5 และ 14 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 31 และตารางที่ ข9

เมื่อหอยกรองกิน *Isochrysis* sp. เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 14.5-28) พบว่าหลังจากกรองกิน *Isochrysis* sp. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หอยมีการสะสมพิษ $12.15 \pm 0.25\%$ (ลดลง 55.01%) หลังจาก 24 ชั่วโมง มีการสะสมพิษ $4.98 \pm 0.90\%$ (ลดลง 80.90%) ในเวลาต่อมามีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง และมีการสะสมพิษอัมพาตต่ำที่สุดในวันสุดท้ายของการศึกษา (วันที่ 28) คือ $0.34 \pm 0.01\%$ (ลดลง 99.66%) จากการทดสอบทางสถิติพบว่า ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยช่วงที่กรองกิน *Isochrysis* sp. มีความแตกต่างจากช่วงที่กรองกิน *A. minutum* (วันที่ 14) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังรูปที่ 31 และตารางที่ ข9

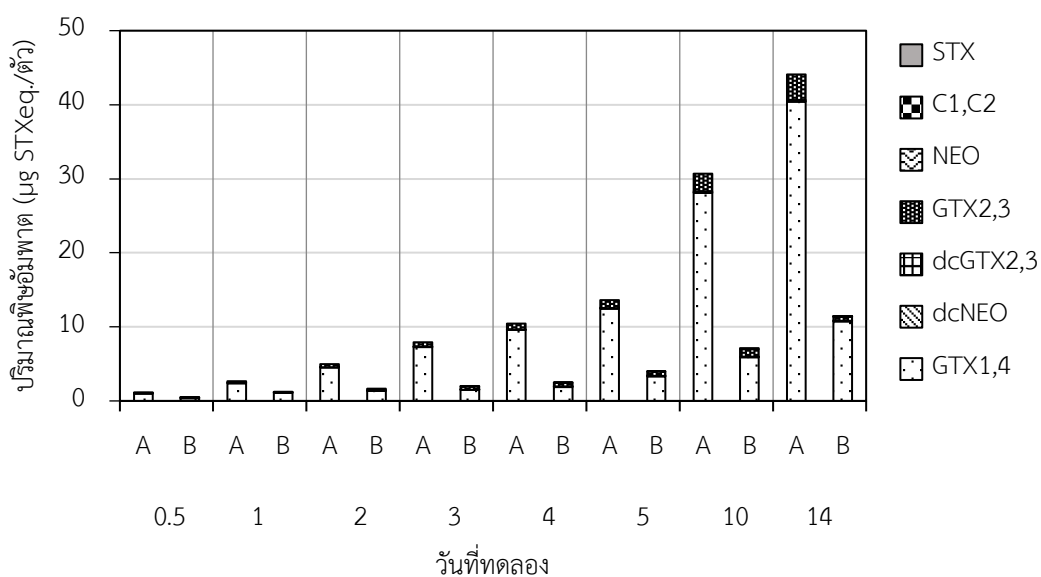


รูปที่ 31 ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

4.2.3.3 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู ช่วงที่หอยกรองกิน *Alexandrium minutum* เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 0.5-14) พบว่าพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 และ GTX2,3 ที่สะสมในหอยแมลงภูมีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ส่วนพิษอัมพาตชนิด dcGTX2,3 มีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* ในวันที่ 3 5 10 และ 14 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และพิษอัมพาตชนิด dcNEO มีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* ในวันที่ 2 3 4 5 และ 14 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบพิษอัมพาตชนิด NEO C1,2 และ STX ในวันที่ 3 4 5 10 และ 14 เป็นองค์ประกอบเพิ่มจากที่ได้รับใน *A. minutum* แต่อยู่ในระดับที่ต่ำ ดังรูปที่ 32 และตารางที่ ข10

เมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตชนิดเด่นพบว่า GTX1,4 มีค่าอยู่ระหว่าง 20.39-43.38% ส่วน GTX2,3 มีค่าอยู่ระหว่าง 16.83-70.43% ดังตารางที่ ข11

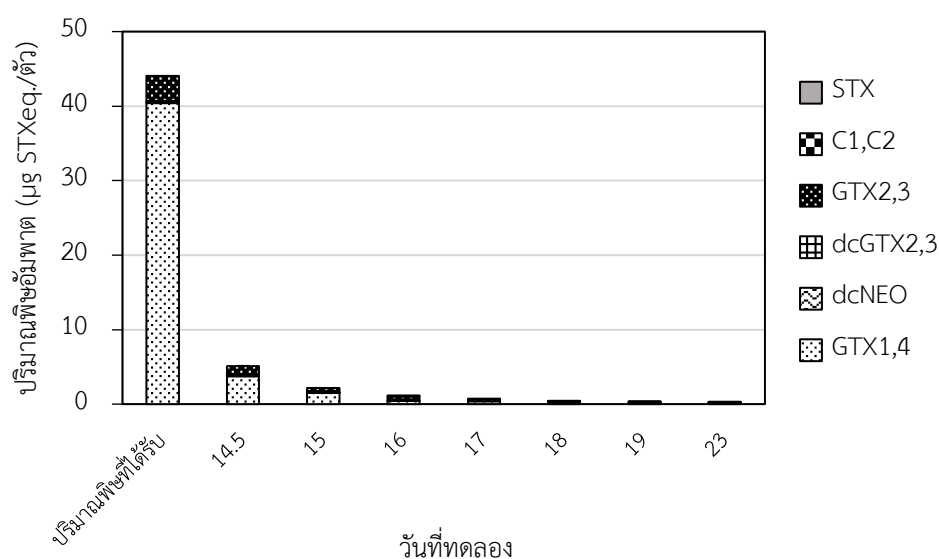


รูปที่ 32 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* เป็นระยะเวลา 14 วัน

A คือ ปริมาณพิษอัมพาตที่ได้รับจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* และ B คือ ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งอกจากการกรอกกิน *Alexandrium-minutum* เป็นเวลา 14 วัน เปรียบเทียบกับองค์ประกอบพิษอัมพาตที่สะสมหลังจากหยุดกรอกกิน *Alexandrium minutum* โดยแทนที่ด้วย *Isochrysis* sp. เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 14.5-28) พบว่าพิษอัมพาตชนิด GTX1,4, dcGTX2,3, dcNEO และ GTX2,3 ที่สะสมในหอยแมลงภู่มิมีปริมาณแตกต่างจากที่ได้รับจาก *A. minutum* อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้พบพิษอัมพาตชนิด C1,2 และ STX ในวันที่ 16 17 18 19 23 และ 28 เป็นองค์ประกอบเพิ่มจากที่ได้รับใน *A. minutum* แต่อยู่ในระดับที่ต่ำ ดังรูปที่ 33 และตารางที่ ข10

เมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตชนิดเด่นพบว่า GTX1,4 มีค่าสูงสุด คือ 9.27% ในวันที่ 14.5 ต่อมาเกิดการสะสมลดลงอย่างรวดเร็วและไม่สามารถตรวจพบในวันสุดท้ายของการศึกษา (วันที่ 28) ส่วน GTX2,3 มีค่าสูงสุด คือ 37.65% ในวันที่ 14.5 ต่อมาเกิดการสะสมลดลงอย่างรวดเร็วและไม่สามารถตรวจพบในวันสุดท้ายของการศึกษา (วันที่ 28) ดังตารางที่ ข11

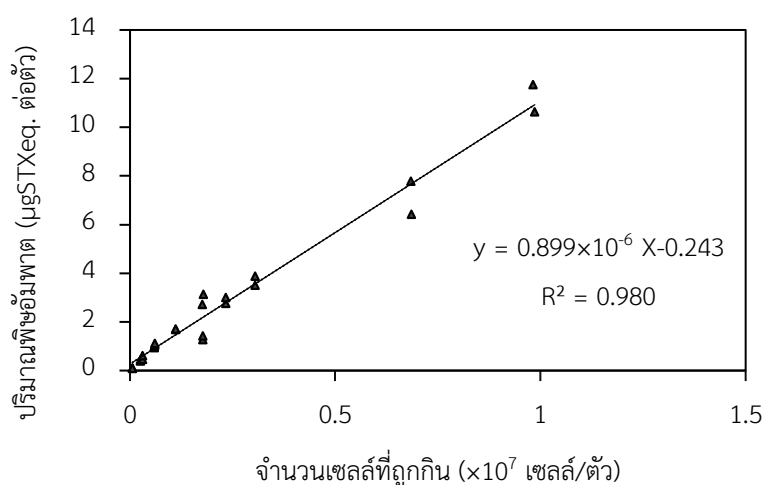


รูปที่ 33 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งอกจากการกรอกกิน *Alexandrium minutum* 14 วัน และพิษที่สะสมในช่วงระยะเวลาคายพิษ ในแต่ละช่วงเวลา

4.2.3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวและจำนวนเซลล์ *Alexandrium minutum* ที่ถูกกรองกิน

การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวและจำนวนเซลล์ *Alexandrium minutum* ที่ถูกกรองกิน ในช่วงที่หอยแมลงภู่มะพร้าวกรองกิน *A. minutum* เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 0.5-14) พบว่ามี $r = 0.990$ ดังตารางที่ ข12 จึงแสดงให้เห็นว่าปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวและปริมาณเซลล์ *A. minutum* ที่ถูกกรองกินมีความสัมพันธ์แบบบวก

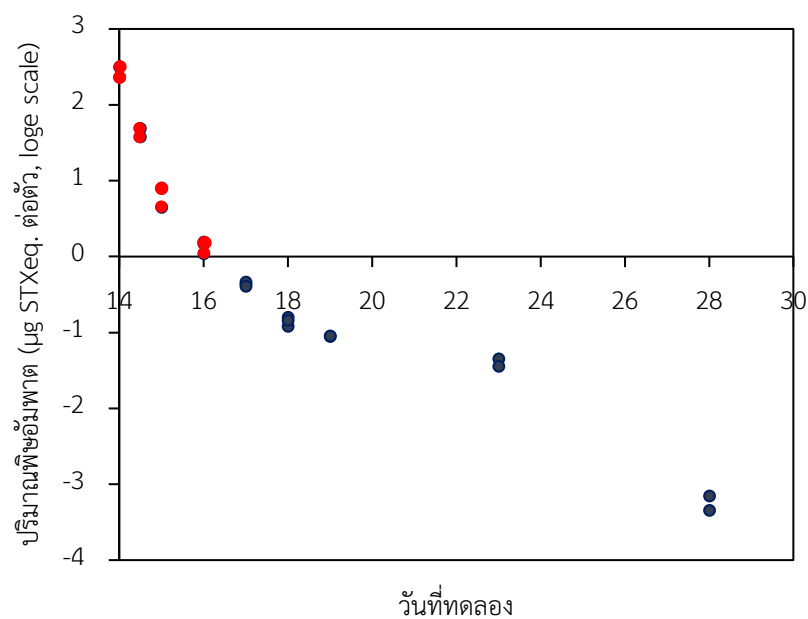
การวิเคราะห์สมการถดถอย พบว่าปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าวต่อตัวและจำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่ถูกกรองกินมีความสัมพันธ์ ได้ค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (Coefficient of Determination) คือ 0.980 และเขียนสมการความสัมพันธ์ได้ $Y = 0.899 \times 10^{-6} X - 0.243$ โดยที่ Y คือ ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่มะพร้าว ($\mu\text{gSTXeq./ตัว}$) และ X คือ จำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่ถูกกรองกิน (เซลล์/ตัว) ดังรูปที่ 34 และตารางที่ ข13



รูปที่ 34 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มะพร้าวและจำนวนเซลล์ *Alexandrium minutum* ที่ถูกกรองกิน

4.2.3.5 อัตราการกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภูในชวงเวลาคายพิษ

อัตราการกำจัดพิษในหอยแมลงภูในชวงที่หอยกรองกิน *Isochrysis* sp. เป็นระยะเวลา 14 วัน (วันที่ 14.5-28) โดยใช้สมการในรูปฟังก์ชันเอกซ์โพเนนเชียล มีค่า 0.327 ต่อวัน แต่เมื่อแยกอัตราการกำจัดพิษเป็น 2 ชวง พบว่าในชวงต้นของการคายพิษ (วันที่ 14.5-16) เป็นชวงที่มีการลดลงของพิษอัมพาตในหอยรวดเร็ว มีค่าอัตราการกำจัดพิษ 1.106 ต่อวัน และชวงปลายของการคายพิษ (วันที่ 17-28) เป็นชวงที่มีการลดลงของพิษอัมพาตช้า มีค่าอัตราการกำจัดพิษ 0.223 ต่อวัน ดังรูปที่ 35



รูปที่ 35 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู (log_e scale) ในช่วงระยะเวลาคายพิษ (จุดสีแดง แสดงชวงต้นของการกำจัดพิษ และจุดสีน้ำเงินแสดงชวงปลายของการกำจัดพิษ)

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการศึกษา

5.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล

5.1.1 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และแพลงก์ตอนที่อาจเป็นสาเหตุของพิษอัมพาต

ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และแพลงก์ตอนพืชที่กรองแยกจากน้ำทะเลในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่านและศรีราชา ในเดือนสิงหาคม (ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้) และเดือนกุมภาพันธ์ (ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ) พบว่ามีปริมาณพิษอัมพาตต่ำกว่า $0.01 \mu\text{gSTXeq./กรัม}$ ซึ่งต่ำกว่าระดับควบคุมตามประกาศกรมประมง พ.ศ.2561 เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานสารชีวพิษและแบคทีเรียในหอยสองฝากลุ่มพิษอัมพาต (กรมประมง, 2561a) กำหนดว่าต้องน้อยกว่า 800 ไมโครกรัม เมื่อเทียบกับซาซีทอกซิน/กิโลกรัม ($0.8 \mu\text{gSTXeq./กรัม}$) ดังนั้นปริมาณพิษอัมพาตจากการตรวจวัดจึงอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค จากผลการศึกษาไม่พบเซลล์ *Alexandrium minutum* หรือแพลงก์ตอนชนิดอื่นที่อาจเป็นสาเหตุของพิษอัมพาตในพื้นที่เลี้ยงหอย แต่มีการตรวจวัดพิษอัมพาตในระดับต่ำ ซึ่งอาจเนื่องจากมีแพลงก์ตอนดังกล่าวเพิ่มจำนวนอยู่ในปริมาณต่ำ ดังการศึกษาในประเทศไต้หวัน ที่พบเซลล์ *A. minutum* ในปริมาณต่ำ ($1-6 \text{ เซลล์/มล.}$) เป็นสาเหตุของการสะสมของพิษอัมพาตใน purple clam (Chen and Chou, 2002) และรายงานของ Pousse et al. (2018) ที่พบการสะสมพิษอัมพาตในหอยนางรม (*C. gigas*) สูงกว่า $0.8 \mu\text{gSTXeq./กรัม}$ ขณะที่ *A. minutum* มีความหนาแน่นเซลล์ต่ำ ($9-140 \text{ เซลล์/มล.}$) บริเวณอ่าวแบร์สต์ ประเทศฝรั่งเศส

เมื่อทำการประมาณค่าจำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่ทำให้หอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชที่ตรวจวัดได้มีปริมาณพิษอัมพาต โดยใช้ปริมาณพิษต่อเซลล์ที่ได้จากการทดลองในข้อที่ 4.2.1 พบว่าการที่หอยมีปริมาณพิษอัมพาต $0.008-0.012 \mu\text{gSTXeq./กรัม}$ อาจเกิดจากการที่หอยแมลงภู่กรองกินเซลล์ *A. minutum* จำนวน $2941-3069 \text{ เซลล์/กรัม}$ เนื้อหอย ส่วนแพลงก์ตอนพืชมีปริมาณพิษอัมพาต $0.006-0.012 \mu\text{gSTXeq./กรัม}$ อาจเกิดจากการมีเซลล์ *A. minutum* กระจายอยู่ในมวลน้ำจำนวน $1601-3100 \text{ เซลล์/กรัม}$ น้ำหนักแพลงก์ตอน

บริเวณชายฝั่งประเทศไทยมีรายงานการพบ *A. minutum* ในบางครั้ง โดยการศึกษาของ Matsuoka (1998) พบ *A. minutum* บริเวณอ่าวไทยฝั่งตะวันตกที่ความเค็มต่ำ (4 psu) และการศึกษาของชลธยา ทรงรูป (2541) พบ *A. minutum* บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาที่ความเค็ม 15 psu ความหนาแน่นเซลล์ 24 เซลล์ต่อลิตร อย่างไรก็ตามการศึกษารังนี้ไม่พบเซลล์ *A. minutum* อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่แตกต่างในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน และการที่เซลล์ *A. minutum* มี

รายงานพบเป็นบางครั้งที่มีความหนาแน่นเซลล์ต่ำ ทำให้โอกาสน้อยที่จะพบเซลล์ในธรรมชาติ เมื่อพิจารณาปัจจัยทางกายภาพพบว่า ในการศึกษาพบความเค็มช่วงกว้าง (4.21-30.34 psu) โดยบริเวณคลองด่านเดือนสิงหาคม พบความเค็มลดต่ำ 4.21 psu และมีสภาพคลื่นลมรุนแรง ซึ่งอาจเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการอาศัยของ *A. minutum* เนื่องจากการศึกษาด้านนิเวศวิทยาของ *A. minutum* พบว่าเซลล์มักแพร่กระจายอยู่ในบริเวณชายฝั่งหรือปากแม่น้ำที่มีการรบกวนต่ำ และการเคลื่อนตัวของมวลน้ำมีน้อย (Lewis et al., 2018)

5.1.2 แพลงก์ตอนพืชและคุณภาพน้ำ

ความหนาแน่นแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่าน ในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือมากกว่าฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ความหนาแน่น 5.53×10^4 และ 2.47×10^4 เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของสุขุม ไร่ใจ และ จันทร์พิมพ์ กังพานิช (2549) บริเวณคลองด่านพบความหนาแน่นแพลงก์ตอนพืชในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้และฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ 224 และ 10×10^4 เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ และการศึกษาของวิชาญ กันบัว (2551) ทำการศึกษาบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง พบความหนาแน่นแพลงก์ตอนพืชในฤดูฝนน้อยกว่าฤดูแล้งอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเนื่องจากในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ (ฤดูแล้ง) มีปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ ความเค็ม และอุณหภูมิที่สูงกว่าในช่วงฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ทำให้แพลงก์ตอนพืชเพิ่มจำนวนได้มาก

แพลงก์ตอนพืชบริเวณคลองด่าน พบว่ามีทั้งสิ้น 18 ชนิด โดยพบไดอะตอมชนิด *Skelletonema* spp. เป็นแพลงก์ตอนชนิดเด่นทั้งสองฤดูกาล (มากกว่า 60 %) สอดคล้องกับการศึกษาของสุขุม ไร่ใจ และ จันทร์พิมพ์ กังพานิช (2549) ที่รายงานว่าบริเวณคลองด่านมี *Skelletonema costatum* เติบโตเป็นกลุ่มเด่นตลอดทั้งปี และรายงานกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง (2561) พบว่าในช่วงปี 2558-2559 ชายฝั่งคลองด่านเกิดน้ำเปลี่ยนสีโดยมี *Skelletonema* spp. และ *Chaetoceros* spp. เป็นสาเหตุ 4 ครั้ง เมื่อพิจารณาความเค็มช่วงเวลาที่ทำการศึกษ พบว่ามีช่วงกว้าง คือ 4.21 และ 25.05 psu ในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้และมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ตามลำดับ สอดคล้องกับลักษณะของ *Skelletonema costatum* ที่พบในความเค็มช่วงกว้างระหว่าง 5-30 psu (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2542)

ความหนาแน่นแพลงก์ตอนพืชบริเวณศรีราชา พบว่าในฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือมีค่าน้อยกว่าฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงใต้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่ความหนาแน่น 3.44×10^4 และ 4.55×10^4 เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาของปิยะรัตน์ เข้าชี (2547) ที่ทำการศึกษบริเวณชายฝั่งศรีราชาในช่วงเดือนเดียวกัน พบความหนาแน่นแพลงก์ตอนพืชฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้เป็น 5.7×10^4 และ 2.4×10^5

เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการชะล้างธาตุอาหารจากแผ่นดินในช่วงฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ทำให้แพลงก์ตอนพืชได้รับธาตุอาหารที่จำเป็นและเพิ่มจำนวนได้มาก

แพลงก์ตอนพืชบริเวณคลองด่าน พบว่ามีทั้งสิ้น 20 ชนิด โดยพบ *Chaetoceros* spp. เป็นแพลงก์ตอนชนิดเด่น ร้อยละ 72.1 และ 85.1 ในฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้และฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาแพลงก์ตอนพืชบริเวณศรีราชาของปิยะรัตน์ เข้าสี (2547) และการศึกษาในแพหอยบริเวณศรีราชาของปัญชรัสมิ์ ก่อเจริญวัฒน์ (2550) ที่พบ *Chaetoceros* spp. เป็นแพลงก์ตอนกลุ่มเด่นที่พบในทุกครั้งที่ทำการศึกษา

5.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ในห้องปฏิบัติการ

5.2.1 การศึกษาการเติบโตและการสร้างพิษของ *Alexandrium minutum*

5.2.1.1 การเติบโตของ *Alexandrium minutum*

การเติบโตของ *Alexandrium minutum* จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ความเค็ม 28 psu พบว่ามีอัตราการเติบโตอยู่ที่ 0.25 ต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษา *A. minutum* ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาความเค็ม 15 psu ของชลธยา ทรงรูป (2541) พบว่ามีอัตราการเติบโต 0.47 ต่อวัน และการศึกษาของปิยนุช จรุงพันธุ์ (2539) ที่ความเค็ม 15 psu พบอัตราการเติบโต 0.24 ต่อวัน ซึ่งแสดงให้เห็นได้ว่าอัตราการเติบโตมีค่าแตกต่างออกไปตามสภาพแวดล้อมและความเค็มที่ใช้เลี้ยงเซลล์ อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการเติบโตของ *A. minutum* มีความสัมพันธ์กับความเค็มดั้งเดิมของเซลล์ที่ถูกแยกจากธรรมชาติ โดยในการศึกษานี้เซลล์ถูกแยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาที่ความเค็มแปรผันตลอดปีอยู่ระหว่าง 4.5-24.5 psu (Dalai et al., 2005) จึงอาจทำให้เซลล์สามารถเติบโตในช่วงความเค็มกว้างและมีอัตราการเติบโตน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับการเติบโตของ *A. minutum* ในต่างประเทศพบว่า มีความสัมพันธ์กับช่วงความเค็มที่ดั้งเดิมของเซลล์ที่ถูกแยกเลี้ยงเช่นกัน โดยการศึกษาของ Lim et al. (2005) พบว่า *A. minutum* สายพันธุ์จากประเทศมาเลเซีย เซลล์ถูกแยกเลี้ยงมาจากแหล่งน้ำที่มีความเค็ม 10-35 psu เมื่อเลี้ยงที่ความเค็ม 30 psu มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต 0.45 ต่อวัน หรือสายพันธุ์จากนิวซีแลนด์ พบว่าเมื่อนำมาเลี้ยงที่ความเค็ม 31 psu มีค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต 0.5 ต่อวัน (Chang et al., 1997) ในทางตรงข้ามเมื่อนำเซลล์จากแหล่งน้ำความเค็ม 10-15 psu เลี้ยงที่ความเค็ม 30 psu ทำให้มีอัตราการเติบโต 0.12 ต่อวัน (Lim et al., 2011) ดังตารางที่ 11 อย่างไรก็ตามลักษณะเซลล์ *A. minutum* ในธรรมชาติ อาศัยที่ความเค็มในช่วง 4-46 psu (Lewis et al., 2018) แสดงให้เห็นว่า *A. minutum* เป็นแพลงก์ตอนกลุ่มที่ทนการเปลี่ยนแปลงความเค็ม และมีการเติบโตในช่วงความเค็มกว้าง

5.2.1.2 ปริมาณและองค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตของ *Alexandrium minutum*

ปริมาณพิษอัมพาตต่อเซลล์ของ *Alexandrium minutum* จากการเติบโตในระยะ exponential มีค่าอยู่ระหว่าง 10.12-12.03 fmole toxins/เซลล์ (3.75- 4.46 pgSTX/เซลล์) มีค่ามากกว่า *A.minutum* ที่แยกได้จาก จ.สมุทรสาคร ของ Kodama อ้างถึงใน ปิยนุช จุฑพันธุ์ (2539) พบว่ามีพิษ 5.343 fmole toxins/เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณพิษอัมพาตต่อเซลล์กับสายพันธุ์จากประเทศไต้หวัน ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ มาเลเซีย และ เวียดนาม (Chang et al., 1997; Chou et al., 2004; Hallegraef, 1991; Lim et al., 2011; Lim and Ogata, 2005) พบว่ามีความต่างมากกว่า 10 เท่า ดังตารางที่ 11 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Anderson (1990) ที่พบว่าความแปรผันของปริมาณพิษใน *Alexandrium* แต่ละสายพันธุ์เป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปของเซลล์จากการเลี้ยง เนื่องจากความแตกต่างของสภาพแวดล้อมในการเลี้ยง และอาจพบความแตกต่างของปริมาณพิษได้มากถึง 100 เท่า นอกจากนี้พบว่าปริมาณพิษที่แตกต่างกันของ *A. minutum* อาจเนื่องมาจากระยะเวลาในการเติบโตของเซลล์ โดยเซลล์ที่มีระยะการเติบโตสั้นจะมีความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยกว่าเซลล์ที่ใช้ระยะในการเติบโตที่ยาวกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (Hwang และ Lu 2000)

ปริมาณพิษอัมพาตต่อเซลล์ของ *A. minutum* ตลอดช่วงการเติบโตในระยะ exponential จากการศึกษามีค่าเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเติบโต และมีค่าสูงสุดที่ช่วงปลายของระยะ exponential ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาของ Bricelj et al. (1990) ที่พบว่าปริมาณพิษอัมพาตของไดโนแฟลกเจลเลตจะมีค่าสูงสุดช่วงกลางของระยะ exponential และ White and Maranda (1978) รายงานว่าปริมาณพิษมีค่าสูงสุดที่ระยะ stationary เนื่องจากในช่วงปลายของการเติบโต ปริมาณธาตุอาหารที่ใช้เลี้ยงใกล้เข้าสู่ภาวะจำกัด เซลล์จะลดการเพิ่มจำนวนด้วยการแบ่งเซลล์ นอกจากนี้จากการศึกษาของ Lim and Ogata (2005) พบว่าในช่วงความเค็มเหมาะสมสำหรับการเติบโตของ *A. minutum* (10-30 psu) ปริมาณพิษอัมพาตต่อเซลล์จะเพิ่มตลอดระยะการเติบโต และสูงสุดช่วงปลายของระยะ exponential แต่ถ้าเป็นช่วงความเค็มไม่เหมาะสม ปริมาณพิษอัมพาตจะลดลงตลอดช่วงการเติบโต

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่พบในการศึกษาคั้งนี้ประกอบไปด้วย GTX1,4 dcNEO dcGTX2,3 และ GTX2,3 โดยมีองค์ประกอบพิษหลัก คือ GTX1,4 มีค่าอยู่ในช่วง 91.73 ถึง 97.94% สอดคล้องกับการศึกษา *A. minutum* ที่แยกมาจาก จ.สมุทรสาคร ของ Kodama อ้างถึงใน ปิยนุช จุฑพันธุ์ (2539) พบว่ามีองค์ประกอบเป็น GTX1,4 ร้อยละ 98.2 และ GTX2,3 ร้อยละ 1.8 และ *A. minutum* ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยาของ ชลธยา ทรงรูป (2541) พบองค์ประกอบพิษหลัก คือ GTX1, 4 มากถึงร้อยละ 92 ถึง 100 แสดงให้เห็นว่า *A. minutum* สายพันธุ์ที่แยกจากอ่าวไทยมีองค์ประกอบพิษหลักเป็น GTX1,4 มากกว่าร้อยละ 90 นอกจากนี้ยังพบว่า *A.minutum* สายพันธุ์จากประเทศเพื่อนบ้าน ได้แก่ มาเลเซียและเวียดนาม พบ GTX1,4 เป็น

องค์ประกอบพิษหลักมากถึงร้อยละ 95 เช่นกัน (Lim et al., 2011; Lim et al., 2005) เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์จากนิวซีแลนด์ พบว่าองค์ประกอบพิษหลักเป็น neoSTX (Chang et al., 1997) หรือสายพันธุ์ในเขตอบอุ่นจากประเทศสเปนและอังกฤษที่มี GTX2,3 เป็นองค์ประกอบพิษหลัก (Fabioux et al., 2015; Nascimento, 2005) จึงสอดคล้องกับการศึกษาของ Anderson et al. (2012) ที่พบว่าองค์ประกอบพิษอัมพาตของกลุ่ม *Alexandrium* เป็นเครื่องหมายทางชีวเคมีในการจัดแบ่งกลุ่มแพลงก์ตอนเหล่านี้ในแต่ละภูมิภาค เมื่อพิจารณาถึงความรุนแรงของพิษอัมพาตชนิด GTX1,4 พบว่ามีความเป็นพิษจำเพาะ $2140 \text{ MU} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ เมื่อเปรียบเทียบกับ STX ที่มีความเป็นพิษจำเพาะ $2090 \text{ MU} \cdot \mu\text{mol}^{-1}$ แสดงให้เห็นว่า GTX1,4 เป็นอนุพันธ์พิษอัมพาตที่มีความเป็นพิษสูง นอกจากนี้จากการทดสอบความเป็นพิษผ่านการให้ยาเข้าทางช่องท้องและการกินของหนู พบว่า GTX1,4 มีค่า LD_{50} เท่ากับ 14.6 และ 1,610 nmol/kg ตามลำดับ (Munday et al., 2013)

ตารางที่ 11 การเติบโตและการสร้างพิษอัมพาตจาก *Alexandrium minutum* แต่ละสายพันธุ์

สถานที่ ทำการศึกษา	สภาพแวดล้อม			สัมประสิทธิ์การ เติบโต (ต่อวัน)	ปริมาณพิษ (fmol/cell)
	ความเข้มแสง ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	อุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$)	ความเค็ม (psu)		
ประเทศไทย (การศึกษานี้)	54	25	28	0.257	10-12
เวียดนาม (ก)	140	25	30	0.125	20-32
มาเลเซีย (ข)	140	25	30	0.450	7-8
นิวซีแลนด์ (ค)	80	18	31	0.500	22.27
ฝรั่งเศส (ง)	100	18	12-37	0.500	10-50

[(ก) Lim et al. (2011), (ข) Lim and Ogata (2005) (ค) Chang et al. (1997) และ (ง) Grzebyk et al. (2003)]

5.2.2 การกรองกินของหอยแมลงภู่ว่าความหนาแน่นเซลล์ *Alexandrium minutum* แตกต่าง

5.2.2.1 อัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่ว่า

อัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่ว่าความหนาแน่นเซลล์ *Alexandrium minutum* แตกต่าง พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับชุดความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มขึ้น และมีความแตกต่างในแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ร้อยละปริมาณเซลล์ที่กรองกินในแต่ละชุดการทดลองมีค่าอยู่ระหว่าง 98-100% แสดงให้เห็นว่าหอยแมลงภู่ว่าสามารถกรองกิน *A. minutum* ได้สมบูรณ์ เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอัตราการกรองกินในหอยชนิดอื่นๆ อาทิ การศึกษาผลของความหนาแน่นเซลล์ *A. tamarense* ต่ออัตราการกรองกินในหอยเซลล์ (*Chlamys nobilis*) ที่ความหนาแน่น 50, 100, 500 และ 1,000 เซลล์/มล. พบว่าหอยมีอัตราการกรองกินสูงสุดที่ 100 เซลล์/มล. และลดลงที่ 500 และ 1,000 เซลล์/มล. (Li and Wang, 2001) และการศึกษาความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* ที่ 5×10^3 และ 10×10^3 เซลล์/มล. ต่อการกรองกินในหอยนางรม (*Crassostrea gigas*) พบว่าความหนาแน่นเซลล์ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้การกรองกินในหอยลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Haberkorn et al., 2011) เนื่องจากความหนาแน่นเซลล์ในมวลน้ำเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการกรองกินในหอยสองฝา และใช้ในการศึกษาการตอบสนองของแพลงก์ตอนที่สร้างสารชีวพิษต่อหอยสองฝา การที่หอยแต่ละชนิดมีอัตราการกรองกินแตกต่าง เกิดจากประสิทธิภาพของเหงือกในการกรองกินอาหารแตกต่างกัน (Contreras et al., 2012) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอัตราการกรองกินของหอยแมลงภู่ว่า (*Mytilus edulis*) ต่อแพลงก์ตอนพืชที่ไม่สร้างสารชีวพิษ (*Rhodomonas salina*) พบว่าหอยสามารถกรองกินได้ในความหนาแน่นเซลล์สูง และลดอัตราการกรองกินที่ความหนาแน่นเซลล์มากกว่า 12,000 เซลล์/มล. (Riisgård et al., 2011) ส่วนการศึกษาของ Rajesh (2001) พบว่า threshold level ของความหนาแน่นเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่ส่งผลต่ออัตราการกรองกินของหอยแมลงภู่ว่า (*Perna viridis*) คือ 10^5 เซลล์/มล.

เมื่อพิจารณาความหนาแน่นเซลล์ *A. minutum* ที่มีรายงานขณะเกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในธรรมชาติ คือ 10-1,000 เซลล์/มล. (Lau et al., 2017; Lewis et al., 2018) ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกับความหนาแน่นเซลล์ที่ใช้ในการทดลองกับหอยแมลงภู่ว่าครั้งนี้ (100-3,000 เซลล์/มล.) แสดงให้เห็นว่าหอยแมลงภู่ว่ามีโอกาสที่จะกรองกิน *A. minutum* หากมีการเพิ่มจำนวนเซลล์ในธรรมชาติ

5.2.2.2 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่

ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์แตกต่างกัน 100-3,000 เซลล์/มล. พบว่าปริมาณพิษอัมพาตอยู่ระหว่าง 0.10-2.93 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ (0.01-0.32 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$) แสดงให้เห็นว่าหอยแมลงภู่สามารถกรองกินเซลล์ *A. minutum* ที่ความหนาแน่นสูงและสะสมพิษอัมพาตในเนื้อหอย สอดคล้องกับการศึกษาปริมาณพิษอัมพาตที่แตกต่างกันเนื่องจากความหนาแน่นเซลล์ของ *A. tamarense* ต่ออัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) และหอยลาย (*Venerupis philippinarum*) พบว่าปริมาณพิษอัมพาต 3.58-9.38 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ ไม่ส่งผลต่ออัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่ แต่ส่งผลต่อหอยลายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Li et al., 2002) เนื่องจากหอยแต่ละชนิดมีความจำเพาะของ receptor บริเวณช่องไซโตเลียมต่อพิษอัมพาตที่ต่างกัน ทำให้ความทนทานต่อพิษอัมพาตที่เกิดขึ้นมีลักษณะจำเพาะแต่ละชนิดของหอย (Contreras, 2010; Shumway and Cucci, 1987)

เมื่อพิจารณาปริมาณพิษต่อเซลล์ของ *A. minutum* พบว่าอาจส่งผลต่ออัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่เช่นกัน โดยในการศึกษาของ Bricelj and Shumway (1998) พบว่าอัตราการกรองกินในหอยกาบ (*Mya arenaria*) จะลดลงเมื่อให้กรองกิน *A. excavatum* ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า 74.5 pg STX/เซลล์ และการศึกษาของ Contreras et al. (2012) พบว่าอัตราการกรองกินของหอยลาย (*Paphies donacina*) จะลดลงเมื่อให้หอยกรองกิน *A. tamarense* ที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มากกว่า 16 pg STX/เซลล์ แต่ในการศึกษาคั้งนี้ระดับความเป็นพิษของเซลล์ *A. minutum* มีค่าอยู่ระหว่าง 3.75-4.46 pg STX/เซลล์ ซึ่งอาจอยู่ในระดับที่ต่ำที่ส่งผลกระทบต่ออัตราการกรองกินในหอยแมลงภู่

เมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตในการศึกษาคั้งนี้พบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 37.14-42.14% ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการศึกษากการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ชนิดเดียวกันของ Wisessang et al. (1991) ที่มีการสะสมพิษอัมพาต 50% และในหอยแมลงภู่ชนิดอื่น ได้แก่ California mussel (*Mytilus californianus*) และ Blue mussel (*Mytilus edulis*) มีการสะสมพิษอัมพาตอยู่ที่ 96% และ 78% ตามลำดับ (Bricelj et al., 1990) เมื่อพิจารณาการสะสมพิษอัมพาตในหอยสองฝาชนิดอื่น เช่น หอยนางรม (*Crassostrea gigas*) มีการสะสมพิษ 35% หอยตลับ (*Mercenaria mercenaria*) มีการสะสมพิษ 35-40% หอยเชลล์ยักษ์ (*Pecten maximus*) มีการสะสมพิษ 30% (Pousse et al., 2018) ทั้งนี้ความแตกต่างของการสะสมพิษในหอยแต่ละชนิดเกิดขึ้นจากการที่หอยมีความสามารถในการกรองกินและดูดซึมพิษอัมพาตได้แตกต่างกัน (Setälä et al., 2014)

การที่ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่มิ่ปริมาณน้อยกว่าปริมาณพิษอัมพาตที่หอยได้รับจากการกรองกิน *A. minutum* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหอยอาจมีกระบวนการในการลดปริมาณพิษอัมพาตที่สะสม เมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่นพบว่าอาจมีสาเหตุจาก

(1) พิษอัมพาตถูกขับออกผ่านมูล (feces) เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจวิเคราะห์พิษอัมพาตจากมูลหอย ทำให้ไม่สามารถสรุปข้อมูลที่แน่ชัด แต่การศึกษากการกรองกิน *A. tamarense* ในหอยแมลงภู่ (*Perna canaliculus*) ของ Contreras (2010) พบว่าเซลล์ของ *A. tamarense* ที่ถูกกรองกินในหอยไม่ถูกย่อยโดยสมบูรณ์ เนื่องจากพบเซลล์ที่มีชีวิตในมูลของหอย และสอดคล้องกับการศึกษาของ Laabir et al. (2007) พบว่าในมูลของหอยนางรม (*Crassostrea gigas*) มีเซลล์ *A. minutum* มีชีวิตที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของหอย

(2) พิษอัมพาตถูกปล่อยสู่มวลน้ำ เนื่องจากพิษอัมพาตมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี ทำให้พิษอัมพาตที่สะสมอยู่ในหอยสามารถละลายออกมาสู่มวลน้ำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Sekiguchi et al. (2001) พบว่าเมื่อให้หอยเชลล์ (*Patinopecten yessoensis*) กรองกิน *A. tamarense* หอยสามารถสะสมพิษอัมพาต 68-81% และมีการพบพิษอัมพาตในน้ำที่ใช้เลี้ยงหอย 11-19 % และต่อมาการศึกษาของ Suzuki et al. (2003) พบว่าพิษอัมพาตที่อยู่ในน้ำเลี้ยงหอย เกิดจากการละลายของพิษอัมพาตที่ถูกย่อยของเซลล์ในทางเดินอาหาร

5.2.2.3 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่แต่ละชุดการทดลองพบว่า GTX1,4 มีปริมาณที่สะสมในหอยต่ำกว่าปริมาณที่ได้รับจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ส่วน GTX2,3 มีปริมาณที่สะสมในหอยไม่แตกต่างจากปริมาณที่ได้รับจากการกรองกิน *A. minutum* แสดงให้เห็นว่า GTX1,4 ลดลงหลังจากที่หอยกรองกิน *A. minutum* สอดคล้องกับการศึกษาของ Chou et al. (2004) ที่พบว่าพิษอัมพาตชนิด GTX2,3 มีครึ่งชีวิตมากกว่า GTX1,4 และการศึกษาของ Shimizu (1978) ที่พบว่า GTX2,3 เป็นอนุพันธ์พิษอัมพาตมีความเสถียรมากกว่า GTX1,4 จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้พิษอัมพาตชนิด GTX1,4 จากการตรวจวัดมีปริมาณลดลงเนื่องจากสามารถสลายตัวได้ในเนื้อหอย นอกจากนี้ยังพบพิษอัมพาตชนิด NEO, C1,C2, dcSTX, GTX5 และ STX สะสมในหอยแมลงภู่ แสดงให้เห็นว่าอาจมีการเปลี่ยนอนุพันธ์พิษอัมพาตเกิดขึ้นในการศึกษาครั้งนี้

5.2.3 การศึกษาการสะสมและการกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน

Alexandrium minutum

5.2.3.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ง

ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์/มล. เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าปริมาณพิษมีการเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณ *A. minutum* ที่ถูกกรองกินโดยมีค่าอยู่ระหว่าง 0.459-11.209 $\mu\text{g STXeq./ตัว}$ (0.048-2.164 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$) โดยมีค่าสูงสุดในวันสุดท้ายที่กรองกิน *A. minutum* คือ ปริมาณพิษต่อตัวมีค่าสูงกว่าระดับควบคุม 14.0 เท่าและปริมาณพิษต่อกรัมมีค่าสูงกว่าระดับควบคุม 2.7 เท่า แสดงให้เห็นว่าหอยแมลงภู่งสามารถกรองกิน *A. minutum* ต่อเนื่องและสะสมพิษอัมพาตในระดับสูงสอดคล้องกับการศึกษาการสะสมพิษอัมพาตของหอยแมลงภู่งชนิดเดียวกันในห้องปฏิบัติการ พบว่าหอยสามารถสะสมพิษสูงถึง 219 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ จากการกรองกิน *P. bahamense* (Ulysses et al., 2010) เมื่อพิจารณาการสะสมพิษอัมพาตในภาคสนามพบว่าหอยแมลงภู่ง (*P. viridis*) สะสมพิษอัมพาตสูง 226.16 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ ขณะที่เซลล์ของ *P. bahamense* มีความหนาแน่น 57 เซลล์/มล.(Montejo et al., 2012) หรือหอยแมลงภู่ง (*Mytilus edulis*) สะสมพิษอัมพาตสูงถึง 200 $\mu\text{g STXeq./กรัม}$ (RaLonde, 1996) และหอยแมลงภู่ง (*Mytilus chilensis*) สามารถสะสมพิษอัมพาตสูง 280 $\mu\text{gSTXeq./กรัม}$ จากการกรองกิน *A. catenella* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 30 เซลล์/มล. ต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 3 เดือน (Molinet et al., 2010) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากลุ่มหอยแมลงภู่งสามารถสะสมพิษอัมพาตในระดับสูง

การเมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมพิษอัมพาต พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 23.38-47.67% โดยมีค่าสูงสุดในเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาการสะสมพิษของหอยแมลงภู่งในเวลา 24 ชั่วโมง (ข้อ 5.2.2.2) พบว่าหอยมีการการสะสมพิษอัมพาตไม่แตกต่าง (37-42%) แสดงให้เห็นว่าหอยสะสมพิษอัมพาตสูงในระยะเวลาสั้น แล้วการสะสมพิษอัมพาตลดลงในเวลาต่อมา สอดคล้องกับการศึกษาในหอยแมลงภู่ง (*Mytilus galloprovincialis*) เป็นระยะเวลา 15 วัน ของ Ichimi et al. (2001) พบว่าการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งลดลงในแต่ละวัน โดยในวันแรกมีการสะสมพิษ 35% และวันสุดท้ายมีการสะสมพิษ 15% และการศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยลาย (*Tapes-japonica*) พบว่ามีการสะสมพิษอัมพาตสูงสุดในวันแรกของการศึกษา (32%) และลดลงต่อเนื่องในเวลาต่อมา (23%) (Samsur et al., 2006) ทั้งนี้ความแตกต่างในการสะสมพิษอัมพาต อาจเนื่องจากเมื่อหอยกรองกิน *Alexandrium* ในปริมาณมากหอยจะลดการสะสมพิษอัมพาต เนื่องจากประสิทธิภาพในการย่อยเซลล์ *Alexandrium* ที่ได้รับลดลง (Navarro and Contreras, 2010)

5.2.3.2 การกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู

การกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภูหลังจากหยุดกรองกิน *Alexandrium minutum* และให้กรองกินด้วย *Isocrysis* sp. เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภูลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 12 ชั่วโมง (55.01%) ลดลง 80.90% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง และในวันสุดท้ายของการศึกษา (วันที่ 14) พบว่าพิษอัมพาตลดลง 99.66% สอดคล้องกับการที่หอยแมลงภูถูกจำแนกอยู่ในหอยสองฝากลุ่มที่สามารถกำจัดพิษเร็ว (ภายใน 1-2 สัปดาห์) เช่นเดียวกับ blue mussel (*Mytilus edulis*), california mussel (*Mytilus californianus*), green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) และ chilean mussel (*Mytilus chilensis*) (Bricelj and Shumway, 1998) โดยผลการศึกษาที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาในหอยแมลงภู (*Perna viridis*) ที่กำจัดพิษอัมพาตเร็ว โดยปริมาณพิษอัมพาตลดลง 60% ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง (Kusnoputranto et al., 2014) นอกจากนี้ในการศึกษาของ Chen and Chou (2001) พบว่าในหอยตลับ (*H. rostrata*) มีการกำจัดพิษได้เร็วเช่นเดียวกัน โดยในชุดการทดลองที่ให้กรองกินแพลงก์ตอนที่ไม่มีสารชีวพิษมีการกำจัดพิษ 75% และกลุ่มที่ไม่ให้อาหารจะมีการกำจัดพิษ 50% ภายในเวลา 24 ชั่วโมง และหลังจากนั้นการกำจัดพิษจะเกิดขึ้นช้าๆ ซึ่งแตกต่างจากหอยกลุ่มที่มีการกำจัดพิษช้า เช่น การศึกษาการสะสมพิษอัมพาตในหอยเชลล์ (*Patinopecten yessoensis*) จากการกรองกิน *A. tamarense* พบว่าหอยกำจัดพิษอัมพาตที่สะสม 28% ในเวลา 2 วัน และมีพิษอัมพาตคงเหลือ 35% ในวันที่ 10 หลังจากหยุดกิน *A. tamarense* (Sekiguchi et al., 2001)

อัตราการกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภูตลอดระยะเวลา 14 วัน มีค่า 0.327 ต่อวัน เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในหอยแมลงภูชนิดเดียวกัน พบว่ามีอัตราการกำจัดพิษอยู่ระหว่าง 0.063-0.09 ต่อวัน (Choi et al., 2003) เมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชลล์ (*Placopecten magellanicus*) พบว่ามีอัตราการกำจัดพิษอยู่ที่ 0.002-0.006 ต่อวัน และในหอยเชลล์ (*Patinopecten yessoensis*) มีอัตราการกำจัดพิษอยู่ที่ 0.01-0.04 ต่อวัน (Bricelj and Shumway, 1998) นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งช่วงเวลากำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภูออกเป็นสองช่วง คือ ช่วงที่หอยกำจัดพิษอัมพาตอย่างรวดเร็ว (0-2 วัน) และช่วงที่หอยกำจัดพิษอัมพาตอย่างช้า (3-14 วัน) โดยมีค่าอัตราการกำจัดพิษอยู่ที่ 1.10 และ 0.22 ต่อวัน ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาการกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู (*Perna viridis*) และหอยเชลล์ (*Chlamys nobilis*) ของ Choi et al. (2003) พบว่าในหอยแมลงภูมีอัตราการกำจัดพิษในวันแรก 0.87 ต่อวัน และอัตราการกำจัดพิษในวันที่ 2-14 เป็น 0.063 ต่อวัน และในหอยเชลล์มีอัตราการกำจัดพิษในวันแรก 1.16 ต่อวัน และอัตราการกำจัดพิษใน

วันที่ 2-14 เป็น 0.04 ต่อวัน เนื่องจากเมื่อทำการเปลี่ยนอาหารในหอยแมลงภู่มักจากแพลงก์ตอนที่สร้างสารชีวพิษไปสู่แพลงก์ตอนที่ไม่มีสร้างสารชีวพิษ หอยจะกำจัดพิษอัมพาตส่วนที่ยังไม่ถูกย่อยและสะสมอยู่ในระบบทางเดินอาหารออกมาอย่างรวดเร็ว และหลังจากนั้นการกำจัดพิษจะเกิดขึ้นซ้ำเนื่องจากเป็นการกำจัดพิษที่ถูกสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อ (Contreras, 2010)

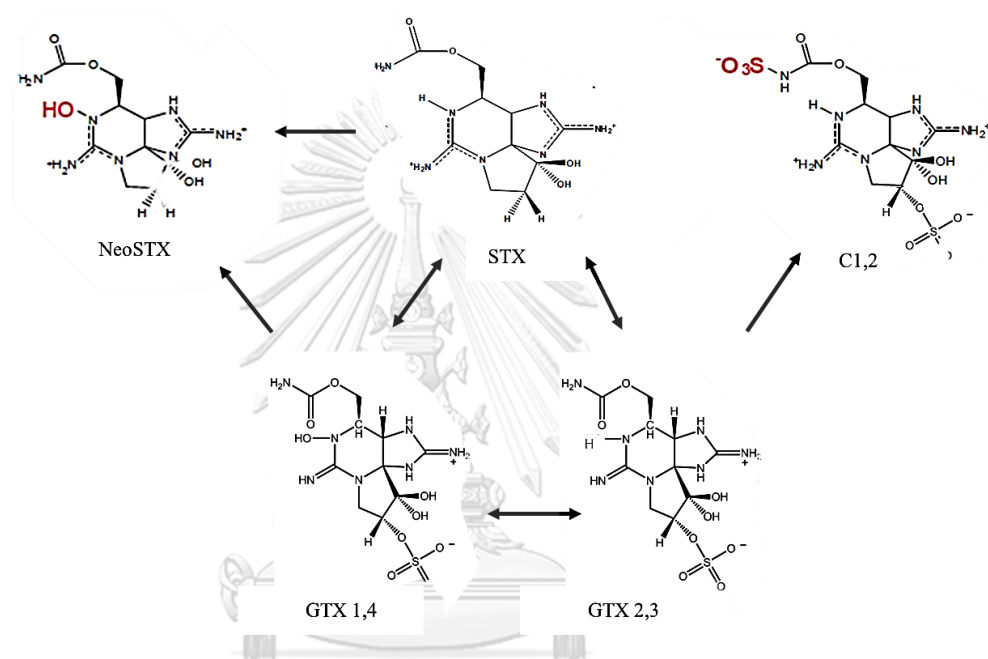
5.2.3.3 องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตช่วงที่หอยแมลงภู่งอกกิน *Alexandrium minutum* พบว่า มี GTX1,4 และ GTX2,3 เป็นองค์ประกอบพิษชนิดเด่นร้อยละ 64.51-90.37 และ 8.62-27.47 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมของอนุพันธ์ของพิษอัมพาตแต่ละชนิดพบว่า GTX1,4 และ GTX2,3 มีการสะสมในหอยแมลงภู 20.39-43.38% และ 16.82-70.43% ตามลำดับ ส่วนพิษอัมพาตชนิด dcNEO และ dcGTX2,3 มีปริมาณไม่แตกต่างจากการกรอกกิน *A. minutum* ทั้งนี้อาจเนื่องจากหอยแมลงภูไม่มีการเลือกสะสมพิษอัมพาต การลดลงของอนุพันธ์พิษอัมพาตแต่ละชนิดเกิดขึ้นจากการขับถ่าย (Suzuki et al., 2003) สอดคล้องกับการศึกษา Ichimi et al. (2001) ในหอยแมลงภู (*Mytilus galloprovincialis*) จากการกรอกกิน *A. tamarense* ที่มีองค์ประกอบพิษเป็น neoSTX GTX2,3 GTX1,4 และ C1,2 เป็นเวลา 14 วัน พบว่าร้อยละการสะสมของพิษอัมพาตแต่ละชนิดคงที่ตลอดช่วงการศึกษา

องค์ประกอบของอนุพันธ์พิษอัมพาตในช่วงที่หอยแมลงภู่งอกกิน *Isochrysis* sp. พบว่ามี GTX1,4 และ GTX2,3 เป็นองค์ประกอบพิษชนิดเด่นเช่นกัน เมื่อพิจารณาร้อยละของการสะสมของอนุพันธ์ของพิษอัมพาตแต่ละชนิดพบว่า GTX1,4 มีร้อยละการสะสมลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วน GTX2,3 มีร้อยละการสะสมการลดลงในสัดส่วนที่น้อยกว่า GTX1,4 แสดงให้เห็นว่า GTX1,4 ลดลงได้อย่างรวดเร็วหลังจากที่หอยหยุดกรอกกิน *A. minutum* สอดคล้องกับการศึกษาของ Chou et al. (2004) ที่ทำการศึกษาในหอยตลับ (*Hiatula rostrata*) จากการกรอกกิน *A. minutum* ที่มี GTX1,4 และ GTX2,3 เป็นพิษอัมพาตชนิดเด่น ระยะเวลา 18 วัน พบว่าหลังจากที่หอยหยุดการกรอกกิน *A. minutum* และเก็บตัวอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 42 วัน ปริมาณ GTX1,4 ลดลงอย่างรวดเร็วและไม่สามารถตรวจพบในช่วงท้ายของการศึกษา ส่วน GTX2,3 ลดลงในสัดส่วนน้อยและเป็นองค์ประกอบพิษชนิดเด่นในช่วงปลายของการศึกษา ทั้งนี้เนื่องจาก GTX2,3 มีครึ่งชีวิตมากกว่า GTX1,4 ทำให้พิษอัมพาตชนิดนี้มีความเสถียรมากกว่าและสลายตัวได้ช้า

นอกจากนี้ในบางช่วงของการศึกษา พบพิษอัมพาตชนิด STX, NEO และ C1,2 ในปริมาณน้อย ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้จากการเปลี่ยนสภาพของพิษอัมพาตชนิดอื่น โดยการศึกษาการเปลี่ยนสภาพของพิษอัมพาตในหอยชนิดอื่นพบว่า พิษอัมพาตชนิด STX สามารถถูกเปลี่ยนสภาพจาก GTX2,3 โดย

การเปลี่ยนหมู่ OSO_3^- ในตำแหน่ง R2 หรือ R3 ไปเป็นหมู่ H ส่วนพิษอัมพาตชนิด NEO สามารถถูกเปลี่ยนสภาพจาก GTX1,4 โดยการเปลี่ยนหมู่ OSO_3^- ในตำแหน่ง R2 หรือ R3 เป็นหมู่ H และถูกเปลี่ยนสภาพจาก STX โดยการเปลี่ยนหมู่ H ในตำแหน่ง R2 หรือ R1 เป็นหมู่ OH และพิษอัมพาตชนิด C1,2 สามารถถูกเปลี่ยนสภาพจาก GTX2,3 โดยการเปลี่ยนหมู่ OCONH_2 ในตำแหน่ง R4 เป็นหมู่ OCONHSO_3^- โดยอาศัยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากตัวรีดิวซ์ อาทิ cysteine และ glutathion (Hua et al., 2010; Smith et al., 2001; Wiese et al., 2010) ดังรูปที่ 36



รูปที่ 36 การเปลี่ยนของอนุพันธ์พิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ที่อาจเกิดขึ้นได้ (Wiese et al., 2010)

บทที่ 6

สรุปผลการศึกษา

6.1 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชในพื้นที่เลี้ยงหอยตามฤดูกาล

ปริมาณพิษอัมพาตแต่ละฤดูกาลในหอยแมลงภู่และแพลงก์ตอนพืชที่กรองแยกจากน้ำทะเลบริเวณพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู่คลองด่าน จ.สมุทรปราการ และศรีราชา จ.ชลบุรี มีปริมาณที่ตรวจวัดได้อยู่ในระดับต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานความปลอดภัยตามประกาศกรมประมง พ.ศ.2561 เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานสารชีวพิษและแบคทีเรียในหอยสองฝากลุ่มพิษอัมพาต

6.2 การสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ในห้องปฏิบัติการ

6.2.1 การเติบโตและการสร้างพิษของ *Alexandrium minutum*

Alexandrium minutum สายพันธุ์ CU-MPL-AL.m1 จากประเทศไทย ใช้เวลาในการเติบโต 18 วัน โดยมีความหนาแน่นเซลล์สูงสุดที่ 15,500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีอัตราการเติบโตอยู่ที่ 0.257 ต่อวัน มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในระยะ exponential อยู่ระหว่าง 10.12-12.03 fmole toxins ต่อเซลล์ (3.75- 4.46 pgSTX ต่อเซลล์) มีความเป็นพิษสูงสุดในช่วงระยะปลายของระยะ exponential และมีองค์ประกอบพิษหลักเป็น GTX1,4 คิดเป็นร้อยละ 95.86 ± 2.84 ทั้งนี้ช่วงเวลากการเติบโตและค่าปริมาณพิษต่อเซลล์ที่ได้จากการทดลอง อาจจะใช้เป็นเกณฑ์ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อนพิษที่อาจเกิดขึ้นในหอย

6.2.2 การกรองกินของหอยแมลงภู่ที่ความหนาแน่นเซลล์ *Alexandrium minutum* แตกต่าง

การกรองกินของหอยแมลงภู่ไม่ได้รับผลกระทบจากความหนาแน่นเซลล์ *Alexandrium minutum* นอกจากนี้ปริมาณพิษอัมพาตที่หอยแมลงภู่สะสมมีค่าเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับปริมาณพิษอัมพาตเมื่อคิดต่อตัวหอยจากการกรองกิน *A. minutum* แต่ละชุดการทดลอง มีค่าอยู่ที่ 0.10-2.93 $\mu\text{g STXeq.ต่อตัว}$ (0.1-0.32 $\mu\text{g STXeq.ต่อกรัม}$) โดยที่ความหนาแน่นเซลล์ 1,000 เซลล์/มล. ปริมาณพิษอัมพาตเมื่อคิดต่อตัวหอยสูงกว่า 0.8 $\mu\text{g STXeq.}$ ถึง 1.32 เท่า ทั้งนี้ความหนาแน่นเซลล์ที่หอยกรองกินที่ได้จากการทดลอง อาจจะใช้เป็นเกณฑ์ในการเฝ้าระวังการเกิดพิษอัมพาตในหอยได้ เช่น ถ้าตรวจพบ *A. minutum* ในน้ำทะเล มากกว่า 1,000 เซลล์/มล. อาจจะทำให้เกิดการปนเปื้อนพิษใน

หอย จึงเป็นการเตือนภัยล่วงหน้า ที่เป็นประโยชน์ต่อหน่วยงานของรัฐในการจัดการปัญหาพิษอัมพาต ในหอยที่อาจจะเกิดขึ้นอย่างเหมาะสม

6.2.3 การสะสมและการกำจัดพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งอกจากการกรองกิน *Alexandrium-minutum*

- หอยแมลงภู่งสามารถสะสมพิษอัมพาตได้จากการกรองกิน *Alexandrium minutum* ที่ความหนาแน่นเซลล์ 500 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ต่อเนื่อง 14 วัน ทำให้มีปริมาณพิษอัมพาตเมื่อฉีดต่อตัวหอยสูงกว่าระดับที่ควบคุมภายในเวลา 24 ชั่วโมง ($1.24 \mu\text{g STXeq./ตัว}$) และปริมาณพิษอัมพาตเมื่อฉีดต่อน้ำหนักหอยสูงกว่าระดับที่ควบคุมภายในเวลา 10 วัน ($1.24 \mu\text{g STXeq./กรัม}$) หลังจากนั้นเมื่อให้หอยกรองกินแพลงก์ตอนที่ไม่มีสร้างพิษอัมพาตพบว่า ปริมาณพิษอัมพาตเมื่อฉีดต่อตัวหอยสูงลดลงถึงระดับที่ควบคุมได้ภายใน 3 วัน ($0.67 \mu\text{g STXeq./ตัว}$) และปริมาณพิษอัมพาตเมื่อฉีดต่อน้ำหนักหอยลดลงถึงระดับที่ควบคุมภายในเวลา 24 ชั่วโมง ($0.40 \mu\text{g STXeq./กรัม}$) ทั้งนี้เวลาที่หอยใช้ในการสะสมพิษเกินกว่าระดับปลอดภัย และกำจัดพิษจนอยู่ในระดับที่ควบคุม ($0.8 \mu\text{g STXeq./กรัม}$) สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการกำหนดช่วงเวลาสำหรับมาตรการการปิดพื้นที่เลี้ยงหอย เช่น ถ้าตรวจพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ง มากกว่า $0.8 \mu\text{g STXeq./กรัม}$ หน่วยงานของรัฐที่เกี่ยวข้องสามารถปิดพื้นที่เลี้ยงหอยเพียง 1-2 วัน หลังจากนั้นจึงทำการเปิดพื้นที่เลี้ยงหอย สำหรับการเก็บผลผลิต ซึ่งเป็นการป้องกันอันตราย ที่อาจจะเกิดขึ้นได้อย่างเหมาะสม สำหรับผู้บริโภค

- หอยแมลงภู่งสามารถสะสมและกำจัดพิษอัมพาตแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน เนื่องจากองค์ประกอบพิษหลักที่พบในหอย คือ GTX1,4 และ GTX2,3 มีปริมาณลดลง ทั้งในช่วงที่กรองกิน และหลังจากที่กรองกิน *A. minutum* โดย GTX 1,4 (อนุพันธ์ที่มีความเป็นพิษสูง) มีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็ว และนอกจากนี้มีพิษอัมพาตชนิดอื่นที่ตรวจพบได้เฉพาะในหอยได้แก่ STX, NeoSTX, C1,2, GTX5 และ dcSTX การที่องค์ประกอบของพิษอัมพาตแต่ละชนิดมีการเปลี่ยนแปลงตลอดช่วงการทดลอง แสดงให้เห็นความสามารถของกระบวนการทางชีวเคมีของหอยในการกำจัดพิษอัมพาต ออกจากร่างกาย ทำให้สามารถเปลี่ยนองค์ประกอบพิษไปสู่พิษอัมพาตที่มีความเป็นพิษสูงกว่าได้ ได้แก่ STX และ NeoSTX

- ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งและปริมาณเซลล์ *A. minutum* ที่ถูกกรองกิน มีสมการความสัมพันธ์ คือ $Y = 0.899 \times 10^{-6} X - 0.243$ โดยที่ Y ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ง ($\mu\text{g STXeq./ตัว}$) และ X คือ จำนวนเซลล์ *A. minutum* ที่ถูกกรองกิน (เซลล์/ตัว) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการประเมินความเสี่ยงเบื้องต้นของการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ง ในกรณีที่พบเซลล์ *A. minutum* ในพื้นที่เลี้ยงหอย

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาครั้งนี้ทำการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภูในพื้นที่ย่อยเพียง 2 ครั้ง เพื่อเป็นตัวแทนการสะสมพิษอัมพาตใน 2 ฤดูกาล ทำให้อาจได้ข้อมูลไม่ครบถ้วนในแต่ละช่วงเวลาของปี ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาและเก็บข้อมูล โดยเพิ่มความถี่ของการเก็บตัวอย่างให้มากขึ้น
2. การศึกษาผลของ *A. minutum* ต่อการกรองกินและการสะสมพิษอัมพาตของหอยแมลงภูนั้น ควรมีการเลือกใช้เซลล์ที่ความหนาแน่นเพิ่มขึ้น และเพิ่มความถี่ในการเก็บตัวอย่าง เพื่อให้ทราบช่วงเวลาที่ย่อยสะสมและกำจัดพิษอัมพาตได้แน่ชัดมากขึ้น ทำให้มีข้อมูลที่มากพอสำหรับกำหนดมาตรการจัดการความเสี่ยงของการสะสมของพิษอัมพาตในหอยแมลงภู
3. ในการศึกษาควรมีการตรวจวัดพิษอัมพาตในมูลหอยและน้ำที่ใช้ในการเลี้ยงหอย เพื่อให้ทราบสาเหตุของการลดลงของพิษอัมพาตในหอยได้อย่างแน่ชัด ทำให้มีข้อมูลที่มากเพียงพอสำหรับการจัดการความเสี่ยงของการสะสมของพิษอัมพาตในหอยแมลงภู
4. ในอนาคตควรมีการตรวจหาปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู และหอยสองฝาชนิดอื่นตลอดจนแพลงก์ตอนพืชทุกเดือน เพื่อให้ทราบแนวโน้มการสะสมพิษอัมพาตในหอยที่ชัดเจน โดยเฉพาะพื้นที่ควรเฝ้าระวังที่พบการกระจายของ *A. minutum* หรือแพลงก์ตอนที่สร้างพิษอัมพาตชนิดอื่น ได้แก่ ชายฝั่งเพชรบุรี สมุทรสงคราม สมุทรสาคร สมุทรปราการ และชลบุรี สำหรับเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังและประเมินความเสี่ยงของการเกิดพิษอัมพาตในการบริโภคหอยสองฝา
5. ในอนาคตควรมีการศึกษากการสะสมพิษอัมพาตในหอยสองฝาที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจอื่นตลอดจนแพลงก์ตอนพืชที่สามารถสร้างพิษอัมพาตชนิดอื่น ในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ทราบแนวโน้มการสะสมพิษอัมพาต สำหรับเป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังและประเมินความเสี่ยงของการเกิดพิษอัมพาตในหอยสองฝาของประเทศไทย



ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ก1 อาหารเลี้ยงแบคทีเรียของพืชสูตร T₁ (Ogata, 1987)

ลำดับ	องค์ประกอบ	ความเข้มข้น	ปริมาณ
1.	NaNO₃ ซังสาร 8.499 กรัม/น้ำกลั่น 100 มล.	1.0 M	0.5 มล./ลิตร
2.	NaH₂PO₄ ซังสาร 1.5601 กรัม/น้ำกลั่น 100 มล.	0.1 M	0.5 มล./ลิตร
3.	Fe-EDTA ทำเป็น stock 50 mM โดยจะต้องซังสาร 1.8351 กรัม/น้ำกลั่น 100 มล. เวลาใช้ดูดจาก stock มา 10 มล. ปรับปริมาณให้ได้ 100 มล. ด้วย volumetric flask จะได้ความเข้มข้น Fe-EDTA 5 mM	5.0 mM	0.5 มล./ลิตร
4.	H₂SeO₃ ทำเป็น stock 100 mM โดยจะต้องซังสาร 1.2898 กรัม/น้ำกลั่น 100 มล. เวลาใช้ดูดจาก stock มา 0.01 มล. ปรับปริมาณให้ได้ 100 มล. ด้วย volumetric flask จะได้ความเข้มข้น 0.01 mM	0.01 mM	0.5 มล./ลิตร
5.	Na₂-EDTA ซังสาร 3.7224 กรัม/น้ำกลั่น 100 มล.	100 mM	1.0 มล./ลิตร
6.	Tris-HCl buffer ซังสาร 19.7 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น เติมกรด HCl con. ปรับปริมาณให้ได้ 100 มล. วัด pH ให้ได้ 8.0	2.5 M	4.0 มล./ลิตร
7.	Trace metal solution ประกอบไปด้วย CoCl ₂ 20.0 mM ปริมาตร 1.0 มล., CuSO ₄ 10.0 mM ปริมาตร 0.1 มล., ZnSO ₄ 1.0 mM ปริมาตร 1.0 มล., MnCl ₂ 10.0 mM ปริมาตร 1.0 มล., NaMoO ₄ 50.0 mM ปริมาตร 1.0 มล., Na ₂ EDTA 48.0 mM ปริมาตร 50 มล. นำมารวมกันและปรับปริมาณด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มล. วัด pH ให้ได้ 10 แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C	-	0.5 มล./ลิตร
8.	Vitamin mixed ประกอบไปด้วย Biotin 1 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 1.0 มล., Vitamin B12 1 มิลลิกรัม/ลิตร ปริมาตร 1.0 มล., Vitamin B1 200 ไมโครกรัม/ลิตร ปริมาตร 0.2 มล. ปรับปริมาณด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มล. วัด pH ให้ได้ 4 ด้วย HCl แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง GF/C	-	0.5 มล./ลิตร

ตารางที่ ก2 อาหารเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช สูตร Conway (Walne, 1966)

ลำดับ	องค์ประกอบ
1	สารละลายส่วนที่ 1 ประกอบไปด้วย $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 2.60 กรัม $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.72 กรัม H_3BO_3 จำนวน 62.20 กรัม EDTA (sodium salt) จำนวน 90.00 กรัม $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 40.00 กรัม NaNO_3 จำนวน 200.00 กรัม
2	สารละลายส่วนที่ 2 ประกอบไปด้วย ZnCl_2 จำนวน 2.10 กรัม $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 2.00 กรัม $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.90 กรัม $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 2.00 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร
3	สารละลายส่วนที่ 3 คือ $\text{NaSiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร
4	สารละลายส่วนที่ 4 ประกอบไปด้วย วิตามิน B12 10 มิลลิกรัม และ วิตามิน B1(Thiamin HCl) 200 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
5	นำสารในส่วนที่ 1 ละลายในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร เติมสารละลายส่วนที่ 2 และ 3 อย่างละ 2 มิลลิลิตร

วิธีใช้ เตรียมน้ำทะเลกรอง ปริมาตร 1 ลิตร อบอุ่นเชื้อ ที่งให้เย็น ใส่สารละลายในข้อที่ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และเติมสารละลายวิตามิน ในข้อที่ 4 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร

ภาคผนวก ข

ตารางที่ ข1 ปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภูและแพลงก์ตอนระหว่างฤดูในแต่ละสถานี (หน่วย; $\mu\text{gSTXeq./g}$) (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

เดือน	สถานีคลองด่าน		สถานีศรีราชา	
	แพลงก์ตอนพืช	หอยแมลงภู	แพลงก์ตอนพืช	หอยแมลงภู
สิงหาคม	0.0097 \pm 0.0032	0.0082 \pm 0.0023	0.0063 \pm 0.0005	0.0071 \pm 0.0022
กุมภาพันธ์	0.0123 \pm 0.0034	0.0116 \pm 0.0059	0.0103 \pm 0.0023	0.0121 \pm 0.0033

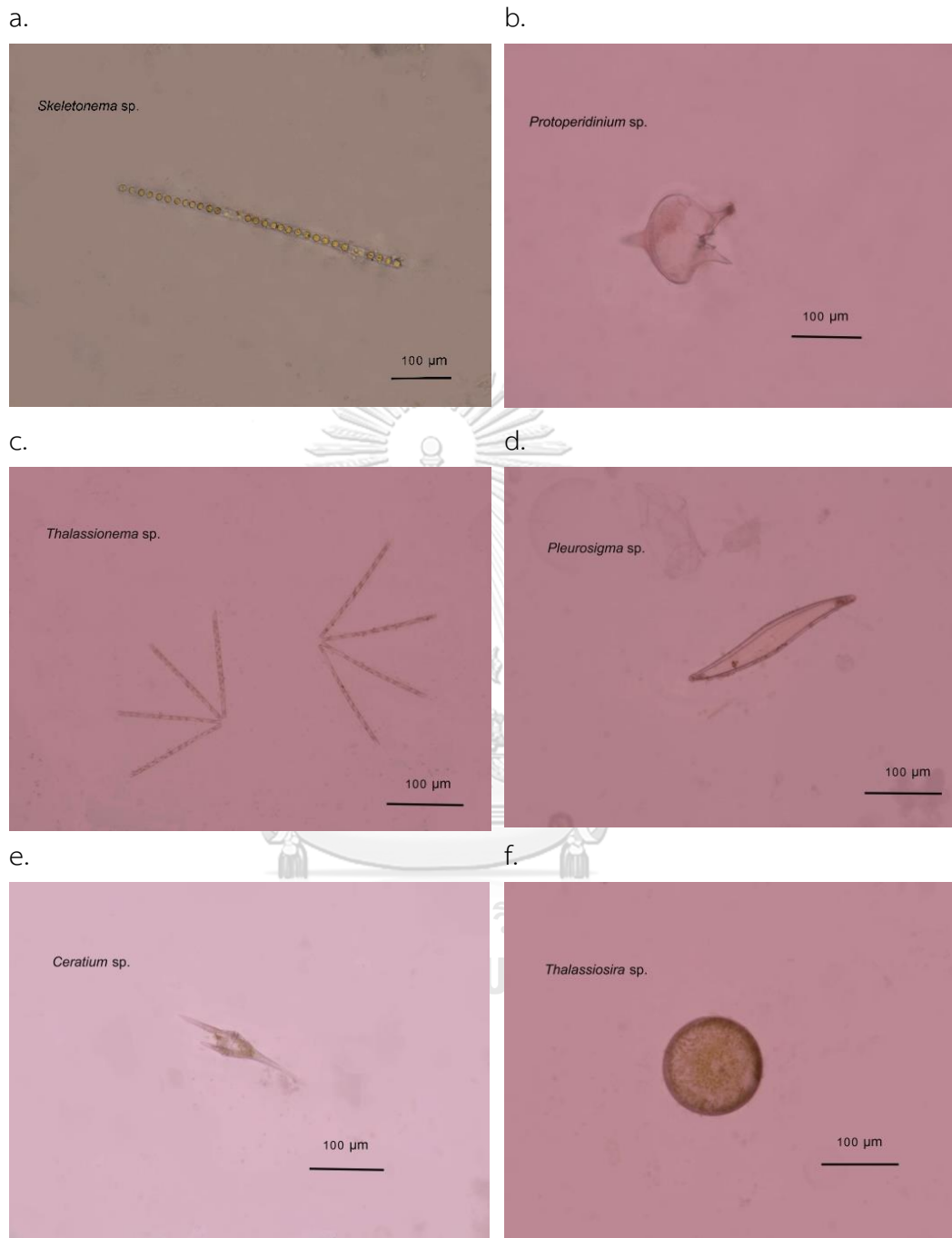
สิงหาคม คือ ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ กุมภาพันธ์ คือ ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ * แสดงความแตกต่างระหว่างปริมาณพิษอัมพาตของหอยแมลงภูและแพลงก์ตอนพืช ระหว่างฤดูในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ ข 2 แพลงก์ตอนพืชที่พบในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่าน จ.สมุทรปราการ และบริเวณ ศรีราชา จ.ชลบุรี (หน่วย; เซลล์/ลิตร) (ค่าเฉลี่ย±SD; n=3)

ชนิดของแพลงก์ตอน	คลองด่าน		ศรีราชา	
	สิงหาคม	กุมภาพันธ์	สิงหาคม	กุมภาพันธ์
<i>Bacteriastrium</i> sp.	42±42	48±37	0	102±45
<i>Bacillaria</i> sp.	108±94	126±82	366±133	192±27
<i>Ceratium</i> sp.	216±36	318±108	0	36±18
<i>Coscinodiscus</i> sp.	2,112±356	3,036±605	480±280	66±21
<i>Chaetoceros</i> sp.	396±171	3,156±607	32,850±1745	29,460±5,256
<i>Dinophysis</i> sp.	90±95	348±137	30±10	132±75
<i>Ditylum</i> sp.	0	3,522±147	0	366±99
<i>Guinadia</i> sp.	0	0	0	468±157
<i>Meuniera</i> sp.	0	0	6	0
<i>Navicula</i> sp.	24±10	24±27	318±99	66±55
<i>Nitzschia</i> sp.	84±27	162±78	0	354±92
<i>Noctiluca</i> sp.	48±27	90±48	468±126	0
<i>Odontella</i> sp.	0	498±277	0	60±21
<i>Oscillatoria</i> sp.	72±48	72±48	414±72	672±92
<i>Pleurosigma</i> sp.	72±36	426±99	684±100	1,212±63
<i>Protoperdinium</i> sp	1,578±128	1116±165	0	48±27
<i>Rhizosolenia</i> sp.	624±105	1446±126	504±118	660±45
<i>Skelletonema</i> sp.	16,416±1,254	36,420±6197	402±55	0
<i>Thalassionema</i> sp.	54±18	4,224±250	36±18	534±102
<i>Thalassiosira</i> sp.	2,784±539	270±65	8,946±921	36±18
รวม	24,720±1771*	55,302±1,949*	45,504±4,980*	34,464±5,195*

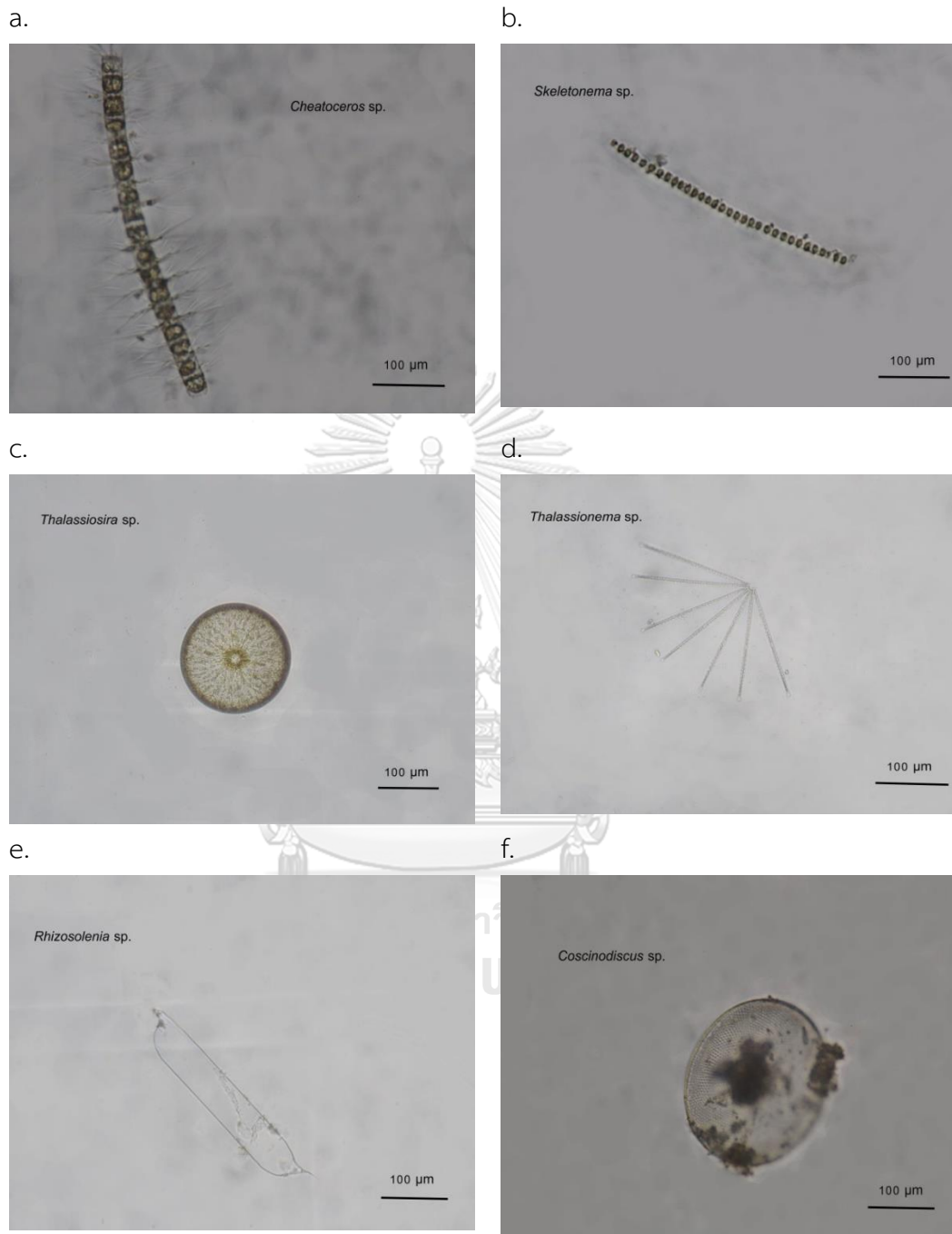
สิงหาคม คือ ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ กุมภาพันธ์ คือ ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ * แสดงความแตกต่างระหว่างความหนาแน่นเซลล์แพลงก์ตอน ระหว่างฤดูในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

รูปที่ ข1 แพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณคลองด่าน จังหวัดสมุทรปราการ



a. *Skelletonema* sp. b. *Protoperdinium* sp. c. *Thalassionema* sp. d. *Pleurosigma* sp.
e. *Ceratium* sp. และ f. *Thalassirosira* sp.

รูปที่ ข 2 แพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นในพื้นที่เลี้ยงหอยบริเวณศรีราชา จังหวัดชลบุรี



a. *Thalassiosira* sp. b. *Thalassionema* sp. c. *Rhizosolenia* sp. d. *Skeletonema* sp.
e. *Chaetoceros* sp. และ f. *Coscinodiscus* sp.

ตารางที่ ข 3 ร้อยละองค์ประกอบระดับสกุลของแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นในพื้นที่เลี้ยงหอยแมลงภู (หน่วย; %) (ค่าเฉลี่ย±SD; n=3)

ชนิด	สถานีคลองด่าน		สถานีศรีราชา	
	สิงหาคม	กุมภาพันธ์	สิงหาคม	กุมภาพันธ์
<i>Coscinodiscus</i> sp.	8.52±1.07 *	5.56±1.40 *	1.04±0.57	0.19±0.05
<i>Chaetoceros</i> sp.	1.64±0.78 *	5.76±1.31 *	72.18±1.38 *	85.18±2.62*
<i>Protoperdinium</i> sp.	6.43±0.93 *	2.04±0.47 *	0.00	0.15±0.10
<i>Rhizosolenia</i> sp.	2.52±0.35	2.62±0.20	1.12±0.30	1.96±0.45
<i>Skkeletonema</i> sp.	66.40±1.28	65.56±5.43	0.88±0.12 *	0.00 *
<i>Thalassirosira</i> sp.	11.20±1.34 *	0.49±0.13 *	19.67±2.01 *	0.11±0.07 *
Other groups	3.30±0.64 *	17.96±2.37 *	5.12±0.50 *	12.37±2.05 *

สิงหาคม คือ ฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ กุมภาพันธ์ คือ ฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ และ * แสดงความแตกต่างระหว่างร้อยละองค์ประกอบระดับสกุลของแพลงก์ตอนพืช ระหว่างฤดูในแต่ละสถานีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ ข 4 ปริมาณพิษยั้มพาต่อเซลล์ของ *Alexandrium minutum* ตลอดระยะ exponential ของการเติบโต

(หน่วย: fmole toxins ต่อเซลล์) (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

ชนิด	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
GTX1,4	10.06±0.05 ^a	9.73±0.38 ^a	11.18±0.05 ^b	11.04±0.1 ^b
dcNEO	0.04±0.00 ^a	0.02±0.02 ^a	0.03±0.01 ^a	0.01±0.00 ^a
dcGTX2,3	0.01±0.01 ^a	0.03±0.00 ^b	0.01±0.00 ^a	0.06±0.00 ^c
GTX2,3	0.20±0.01 ^a	0.34±0.04 ^b	0.20±0.05 ^a	0.93±0.03 ^c
รวม	10.31±0.07^a	10.12±0.36^a	11.41±0.12^b	12.03±0.15^c

ตารางที่ ข 5 ความเข้มข้นพิษต่อเซลล์ของ *Alexandrium minutum* ตลอดระยะ exponential ของการเติบโต

(หน่วย: pg STXeq. ต่อเซลล์) (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

ชนิด	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
GTX1,4	3.74±0.02 ^a	3.62±0.14 ^a	4.16±0.02 ^b	4.11±0.05 ^b
dcNEO	0.01±0.00 ^b	0.01±0.01 ^{a,b}	0.01±0.00 ^{a,b}	0.00±0.00 ^a
dcGTX2,3	0.00±0.00 ^a	0.01±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.02±0.00 ^b
GTX2,3	0.08±0.00 ^a	0.13±0.01 ^b	0.07±0.02 ^a	0.35±0.01 ^c
รวม	3.84±0.03^a	3.77±0.13^a	4.25±0.05^b	4.48±0.05^c

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c) แสดงความแตกต่างของปริมาณพิษยั้มพาในแต่ละชนิดของ *A. minutum* ตลอดระยะ exponential ของการเติบโตอย่างมี

ตารางที่ ข 6 ร้อยละองค์ประกอบของพีชอัมฟาต ใน *Alexandrium minutum* ตลอดระยะ exponential phase

(หน่วย; % molar) (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

องค์ประกอบพีชอัมฟาต	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 12	วันที่ 15
GTX1,4	97.55±0.26 ^c	96.21±0.28 ^b	97.94±0.63 ^c	91.73±0.04 ^a
dcNEO	0.37±0.04 ^a	0.18±0.25 ^a	0.22±0.06 ^a	0.06±0.02 ^a
dcGTX2,3	0.12±0.07 ^a	0.28±0.03 ^a	0.10±0.01 ^a	0.48±0.04 ^b
GTX2,3	1.96±0.07 ^a	3.33±0.50 ^b	1.74±0.38 ^a	7.73±0.34 ^c

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c,d) แสดงความแตกต่างของร้อยละองค์ประกอบของพีชอัมฟาต แต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ ข 7 อัตราการกรอกกินในแต่ละชุดการทดลอง

(หน่วย; มิลลิตร/ตัว/ชั่วโมง) (ค่าเฉลี่ย±SD; n=3)

ชุดการทดลอง	อัตราการกรอกกิน
100	115.13±0.00 ^a
500	155.32±0.07 ^b
1000	172.68±1.00 ^c
3000	199.85±0.160 ^d

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c,d) แสดงความแตกต่างของอัตราการกรอกกินในหอยแมลงภูแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ ๗ ปริมาณพิษอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิน *Alexandrium minutum* และปริมาณพิษอัมพาตที่สะสม ในแต่ละชุดการทดลอง

(หน่วย: μgSTXeq . ต่อตัว) (ค่าเฉลี่ย \pm SE; n=2)

องค์ประกอบพิษอัมพาต	ชุดการทดลอง (เซลล์/มล.)					
	100	500	1000	3000	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม
GTX1,4	0.246 \pm 0.000 ^b	1.228 \pm 0.006 ^b	2.462 \pm 0.003 ^b	7.276 \pm 0.051 ^b	0.074 \pm 0.004 ^a	2.252 \pm 0.167 ^a
dcNEO	0.000 ^a	0.001 \pm 0.000 ^a	0.002 \pm 0.000 ^a	0.038 \pm 0.000 ^a	0.341 \pm 0.074 ^a	0.044 \pm 0.002 ^b
dcGTX2,3	0.001 \pm 0.000 ^b	0.006 \pm 0.000 ^b	0.013 \pm 0.000 ^b	0.613 \pm 0.000 ^b	0.036 \pm 0.009 ^b	0.011 \pm 0.001 ^a
C1,C2	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.001 \pm 0.002 ^a
dcSTX	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.013 \pm 0.019 ^a
GTX2,3	0.021 \pm 0.000 ^a	0.104 \pm 0.000 ^a	0.208 \pm 0.000 ^a	0.613 \pm 0.004 ^a	0.159 \pm 0.046 ^a	0.554 \pm 0.155 ^a
GTX5	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.004 \pm 0.002 ^b
STX	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.000 ^a	0.057 \pm 0.040 ^b
รวม	0.269 \pm 0.000 ^b	1.339 \pm 0.006 ^b	2.684 \pm 0.004 ^b	7.932 \pm 0.055 ^b	0.113 \pm 0.015 ^a	2.936 \pm 0.301 ^a

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของปริมาณพิษอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิน *A. minutum* และปริมาณที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิน *A. minutum* ในแต่ละชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ ข 9 ปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่งจากการกรองกิน *Alexandrium minutum* และร้อยละของการสะสมพิษอัมพาต (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

วันที่ทดลอง	ปริมาณพิษอัมพาต		ร้อยละการสะสมพิษอัมพาต (%)
	(ug STXeq./ตัว)	(ug STXeq./กรัม)	
0.5 (12 ชั่วโมง)	0.459±0.023 ^a	0.048±0.002 ^{a, b}	41.236±2.034 ^g
1	1.248±0.121 ^{b, c}	0.149±0.011 ^{a, b, c, d}	47.671±4.532 ^h
2	1.674±0.046 ^{c, d}	0.202±0.001 ^{b, c, d}	34.035±0.877 ^f
3	1.921±0.063 ^{d, e}	0.256±0.019 ^{c, d, e}	24.303±0.841 ^d
4	2.448±0.148 ^e	0.329±0.003 ^{d, e}	23.572±1.381 ^d
5	3.992±0.182 ^f	0.622±0.025 ^f	29.432±1.328 ^e
10	7.138±0.402 ^h	1.245±0.225 ^h	23.380±1.352 ^d
14	11.400±1.061 ⁱ	2.164±0.208 ⁱ	25.978±2.493 ^d
14.5	5.124±0.391 ^g	0.875±0.016 ^g	11.677±0.925 ^c
15	2.186±0.390 ^{d, e}	0.403±0.024 ^e	4.981±0.903 ^b
16	1.167±0.123 ^{b, c}	0.225±0.021 ^{b, c, d}	2.626±0.227 ^{a, b}
17	0.675±0.043 ^{a, b}	0.142±0.005 ^{a, b, c}	1.590±0.032 ^a
18	0.426±0.046 ^a	0.092±0.007 ^{a, b, c}	0.975±0.060 ^a
19	0.351±0.025 ^a	0.072±0.000 ^{a, b}	0.799±0.008 ^a
23	0.247±0.002 ^a	0.051±0.001 ^{a, b}	0.564±0.036 ^a
28	0.038±0.002 ^a	0.009±0.001 ^a	0.088±0.012 ^a

ตัวอักษรยกเล็ก (a,b,c,d,e,f,g,h,i) แสดงความแตกต่างของปริมาณพิษอัมพาตที่สะสมในหอยแมลงภู่ง และร้อยละการสะสมพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่งในคอลัมน์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 10 ปริมาณพืชอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิ้ง *Alexandrium minutum* และปริมาณที่สะสมจากการรอกกิ้ง *Alexandrium minutum* ในช่วงการทดลอง

(หน่วย: µgSTXeq. ต่อตัว) (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

องค์ประกอบ	วันที่ทดลอง							
	0.5		1		2		3	
	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม
GTX1,4	1.0260±0.001 ^b	0.3876±0.0263 ^a	2.4119±0.005 ^b	1.0465±0.0922 ^a	4.5310±0.008 ^b	1.3561±0.0966 ^a	7.2811±0.013 ^b	1.4851±0.0136 ^a
dcNEO	0.0007±0.000 ^a	0.0172±0.0079 ^a	0.0015±0.000 ^a	0.0754±0.0649 ^a	0.0029±0.000 ^b	0.0345±0.0059 ^a	0.0046±0.000 ^b	0.0312±0.0050 ^a
NEO	-	-	-	-	-	-	-	0.0115±0.0163
dcGTX2,3	0.0054±0.000 ^a	0.0116±0.0164 ^a	0.0126±0.000 ^a	0.0149±0.0067 ^a	0.0237±0.000 ^a	0.0147±0.0065 ^a	0.0381±0.000 ^b	0.0268±0.0011 ^a
C1,C2	-	-	-	-	-	-	-	-
GTX2,3	0.0865±0.000 ^b	0.0430±0.0115 ^a	0.2033±0.000 ^b	0.1117±0.0294 ^a	0.3820±0.001 ^a	0.2690±0.1551 ^a	0.6139±0.001 ^a	0.3666±0.0891 ^a
STX	-	-	-	-	-	-	-	-
รวม	1.1185±0.002 ^b	0.4593±0.0233 ^a	2.6294±0.005 ^b	1.2484±0.1210 ^a	4.9396±0.009 ^b	1.6743±0.0461 ^a	7.9376±0.014 ^b	1.9211±0.0632 ^a

อักษรยกเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของปริมาณพืชอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิ้ง *A. minutum* และปริมาณที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการรอกกิ้ง *A. minutum* ในช่วงการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ ข 10 (ต่อ)

องค์ประกอบ พืชมัณฑา	วันที่ทดลอง					
	4	5	10	14	14	14
	ปริมาณที่ ได้รับ	ปริมาณที่สะสม ได้รับ	ปริมาณที่ ได้รับ	ปริมาณที่ ได้รับ	ปริมาณที่ สะสม	ปริมาณที่ สะสม
GTX1,4	9.5671±0.019 b	1.8717±0.1434 ^a	28.1234±0.040 b	5.8764±0.3087 a	40.4282±0.117 ^b	10.7691±0.7973 ^a
dcNEO	0.0061±0.000 a	12.4955±0.007 ^b	0.0179±0.000 ^a	0.0276±0.0034 a	0.0257±0.000 ^b	0.0031±0.0044 ^a
NEO	-	0.0079±0.000 ^a	-	0.0192±0.0017 a	-	0.0157±0.0001
dcGTX2,3	0.0500±0.000 a	0.0105±0.0149	0.1470±0.000 ^b	0.0402±0.0144 a	0.2113±0.001 ^b	0.0282±0.0043 ^a
C1,C2	-	-	-	-	-	0.0008±0.0011
GTX2,3	0.8066±0.002 b	0.4777±0.0139 ^a	2.3710±0.003 ^b	1.0430±0.1040 a	3.4084±0.010 ^b	0.5738±0.2644 ^a
STX	-	-	-	-	-	0.0079±0.0111
รวม	10.429±0.021 b	2.4485±0.1484 ^a	30.6593±0.043 b	7.1384±0.4028 a	44.0736±0.128 ^b	11.3986±1.0582 ^a

อักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของปริมาณพืชมัณฑาแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรองรับ *A. minutum* และปริมาณที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการรองรับ *A. minutum* ในช่วงการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ ข 10 (ต่อ)

องค์ประกอบ พืชอัมพาต	วันที่ทดลอง							
	14.5		15		16		17	
	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่สะสม	
GTX1,4	40.4282±0.117 ^b	3.7497±0.2566 ^a	40.4282±0.117 ^b	1.5154±0.1838 ^a	40.4282±0.117 ^b	0.4354±0.0968 ^a	40.4282±0.117 ^b	0.3487±0.0082 ^a
dcNEO	0.0257±0.000 ^a	0.0522±0.0000 ^b	0.0257±0.000 ^a	0.0169±0.0156 ^a	0.0257±0.000 ^b	-	0.0257±0.000	-
NEO	-	-	-	-	-	-	-	-
dcGTX2,3	0.2113±0.001 ^b	0.0398±0.0267 ^a	0.2113±0.001 ^b	0.0188±0.0068 ^a	0.2113±0.001 ^b	0.0032±0.0045 ^a	0.2113±0.001	-
C1,C2	-	-	-	-	-	-	-	-
GTX2,3	3.4084±0.010 ^b	1.2833±0.1613 ^a	3.4084±0.010 ^b	0.6350±0.1976 ^a	3.4084±0.010 ^b	0.5559±0.0687 ^a	3.4084±0.010 ^b	0.2837±0.0375 ^a
STX	-	-	-	-	-	0.1332±0.0372	-	0.0727±0.0017
รวม	44.0736±0.128 ^b	5.1249±0.3912 ^a	44.0736±0.128 ^b	2.1861±0.3902 ^a	44.0736±0.128 ^b	1.1277±0.1237 ^a	44.0736±0.128 ^b	0.7051±0.0474 ^a

อักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของปริมาณพืชอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการรองรับ *A. minutum* และปริมาณที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการรองรับ *A. minutum* ในช่วงการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ ข 10 (ต่อ)

องค์ประกอบ	วันที่ทดลอง							
	18		19		23		28	
พืชอัมพาต	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม	ปริมาณที่ได้รับ	ปริมาณที่สะสม
GTX1,4	40.4282±0.117 ^b	0.1622±0.0713 ^a	40.4282±0.117 ^b	0.1311±0.0017 ^a	40.4282±0.117 ^b	0.0433±0.0013 ^a	40.4282±0.117	-
dcNEO	0.0257±0.000 ^a	0.1155±0.0131 ^b	0.0257±0.000 ^a	0.1166±0.0180 ^b	0.0257±0.000 ^a	0.1066±0.0090 ^b	0.0257±0.000 ^a	0.0377±0.0053 ^a
NEO	-	-	-	-	-	-	-	-
dcGTX2,3	0.2113±0.001	-	0.2113±0.001	-	0.2113±0.001	-	0.2113±0.001	-
C1,C2	-	-	-	-	-	0.0007±0.0010	-	0.0013±0.0001
GTX2,3	3.4084±0.010 ^b	0.1054±0.0407 ^a	3.4084±0.010 ^b	0.0742±0.0176 ^a	3.4084±0.010 ^b	0.0608±0.0141 ^a	3.4084±0.010	-
STX	-	0.0422±0.0004	-	0.0291±0.0004	-	0.0362±0.0113	-	-
รวม	44.0736±0.128 ^b	0.4253±0.0441 ^a	44.0736±0.128 ^b	0.3510±0.0026 ^a	44.0736±0.128 ^b	0.2477±0.0167 ^a	44.0736±0.128 ^a	0.0390±0.0054 ^a

อักษรยกตัวเล็ก (a,b) แสดงความแตกต่างของปริมาณพืชอัมพาตแต่ละชนิดในหอยแมลงภู่มากจากการองกิน *A. minutum* และปริมาณที่สะสมในหอยแมลงภู่มากจากการองกิน *A. minutum* ในระหว่างการทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ ข 11 ร้อยละของการสะสมพิษอัมพาตแต่ละชนิด (ค่าเฉลี่ย±SE; n=2)

(หน่วย: ร้อยละ)

อสุจิปรกอบ พิษอัมพาต	วันที่ทดลอง																											
	0.5	1	2	3	4	5	10	14	14.5	15	16	17	18	19	23	28												
GTX1,4	37.78± 2.56 ^c	43.39 ±3.82 ^d	29.93 ±2.13 ^c	20.40 ±0.19 ^{bc}	19.56 ±1.50 ^{bc}	26.70 ±2.95 ^{bc}	20.89 ±1.10 ^{bc}	26.64 ±1.97 ^c	9.27 ±0.63 ^{ab}	3.75 ±0.45 ^a	1.08± 0.24 ^a	0.86± 0.02 ^a	0.40 ±0.18 ^a	0.32 ±0.00 ^a	0.11 ±0.00 ^a	0.00												
dcNEO	2630.87± 1204.05 ^{bc}	4915.01 ±4235.38 ^c	1196.58± 204.45 ^{ab}	673.15 ±108.8 ^a	728.26 ±49.72 ^a	385.8 ±33.29 ^a	154.59 ±19.30 ^a	12.18 ±17.23 ^a	202.94 ±0.08 ^a	65.79 ±60.59 ^a	0.00	0.00	449.39 ±50.98 ^a	453.83 ±70.09 ^a	414.95 ±35.05 ^a	146.72 ±20.68 ^a												
NEO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												
dcGTX2,3	216.41± 306.04 ^{ab}	117.92± 53.40 ^b	62.10 ±27.51 ^{ab}	70.46± 2.89 ^{ab}	88.56± 6.05 ^{ab}	46.93± 4.05 ^{ab}	27.37± 9.77 ^{ab}	13.36± 2.06	18.82± 12.65 ^{ab}	8.88± 3.22 ^{ab}	1.51 ±2.14 ^a	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00												
C1,C2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												
GTX2,3	49.66± 13.31 ^{abcd}	54.94± 14.44 ^{abcd}	70.43 ±40.61 ^d	59.72± 14.52 ^{cd}	59.22 ±1.72 ^{cd}	54.65± 18.34 ^{abcd}	43.99± 4.39 ^{abcd}	16.83 ±7.76 ^{abc}	37.65 ±4.73 ^{abcd}	18.63 ±5.80 ^{abc}	16.31 ±2.02 ^{abc}	8.32± 1.10 ^{ab}	3.09 ±1.20 ^{ab}	2.18 ±0.52 ^{ab}	1.78 ±0.41 ^{ab}	0.00 ^a												
STX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												

ตัวอักษรยกตัวเล็ก (a,b,c,d) แสดงความแตกต่างของร้อยละการสะสมพิษอัมพาตแต่ละชนิดในช่วงเวลาที่ทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ ข12 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlations analysis) ของปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และจำนวนเซลล์ที่ถูกกรองกิน จากการทดลองการสะสมพิษอัมพาต

Correlations			
		Cell	Toxicity
Cell	Pearson Correlation	1	.990**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	24	24
Toxicity	Pearson Correlation	.990**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

ตารางที่ ข13 การวิเคราะห์สมการถดถอย (regression analysis) ของปริมาณพิษอัมพาตในหอยแมลงภู่ และจำนวนเซลล์ที่ถูกกรองกิน จากการทดลองการสะสมพิษอัมพาต

Variables Entered/Removed ^a			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	Toxicity ^b		. Enter

a. Dependent Variable: Cell

b. All requested variables entered.

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.990 ^a	.980	.979	424552.34856

a. Predictors: (Constant), Toxicity

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	19415772891	1	19415772891	1077.190	.000 ^b
	Residual	1620.440	22	18024469667		
	Total	39653833267	23	1.367		
		70.077				
		19812311223				
		8390.500				

a. Dependent Variable: Cell

b. Predictors: (Constant), Toxicity

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients		t	Sig.
		B	Std. Error	Beta			
1	(Constant)	-243664.258	117796.262			-2.069	.051
	Toxicity	898901.715	27388.366	.990		32.821	.000

a. Dependent Variable: Cell

บรรณานุกรม

- Akaeda, H., Takatani, T., Anami, A., & Noguchi, T. (1998). Mass Outbreak of Paralytic Shellfish Poisoning Due to Ingestion of Oysters at Tamano-ura, Goto Islands, Nagasaki, Japan. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 39(4), 272-274_271.
- Anderson. (1990). *Toxin variability in Alexandrium species*. Paper presented at the Toxic Marine Phytoplankton.
- Anderson, Alpermann, T. J., Cembella, A. D., Collos, Y., Masseret, E., & Montresor, M. (2012). The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae*, 14, 10-35.
- Anglès, S., Garcés, E., Reñé, A., & Sampedro, N. (2012). Life-cycle alternations in *Alexandrium minutum* natural populations from the NW Mediterranean Sea. *Harmful Algae*, 16, 1-11.
- AOAC. (2006). Paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish. Prechromatographic oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection. In G. W. L. E. W. Horwitz (Ed.), *First action 2005, official method 2005.06* (pp. 83): Gaithersburg, MD.
- Azanza, R., & J. R. Max Taylor, F. (2001). *Are Pyrodinium Blooms in the Southeast Asian Region Recurring and Spreading? A View at the End of the Millennium* (Vol. 30). 356-364.
- Balech, E. (1995). *The genus Alexandrium Halim (Dinoflagellata)*. Sherkin Island, Co. Cork, Ireland: Sherkin Island Marine Station.
- Band-Schmidt, C. J., Durán-Riveroll, L. M., Bustillos-Guzmán, J. J., Leyva-Valencia, I., López-Cortés, D. J., Núñez-Vázquez, E. J., . . . Ramírez-Rodríguez, D. V. (2019). Paralytic Toxin Producing Dinoflagellates in Latin America: Ecology and Physiology. *Frontiers in Marine Science*, 6(42).
- Blanco, J., Moroño, A., Franco, J., & Reyero, M. (1997). PSP detoxification kinetics in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. One- and two-compartment models and the

- effect of some environmental variables. *Marine Ecology Progress Series*, 158, 165-175.
- Bond, R. M., & Medcof, J. C. (1958). Epidemic shellfish poisoning in New Brunswick, 1957. *Canadian Medical Association journal*, 79(1), 19-24.
- Boonyapiwat, S. (1997). *Distribution, Abundance and Species Composition of Phytoplankton in the South China Sea, Area I: Gulf of Thailand and East Coast of Peninsular Malaysia*. Paper presented at the Proceedings of the First Technical Seminar on Marine Fishery Resources Survey in the South China Sea, Area I: Gulf of Thailand and East Coast of Peninsular Malaysia., Bangkok, Thailand.
- Bravo, I., Isabel Figueroa, R., Garcés, E., Fraga, S., & Massanet, A. (2010). The intricacies of dinoflagellate pellicle cysts: The example of *Alexandrium minutum* cysts from a bloom-recurrent area (Bay of Baiona, NW Spain). *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(3), 166-174.
- Bricelj, Lee, J., Cembella, A., & Anderson, D. (1990). Uptake kinetics of paralytic shellfish toxins from the dinoflagellate *Alexandrium fundyense* in the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Ecology*, 63, 177-188.
- Bricelj, & Shumway. (1998). Paralytic Shellfish Toxins in Bivalve Molluscs: Occurrence, Transfer Kinetics, and Biotransformation. *Reviews in Fisheries Science*, 6(4), 315-383.
- Callejas, L., Cristian Melendez Darce, A., Amador, J., Conklin, L., Gaffga, N., Rogers, H., . . . Azziz-Baumgartner, E. (2015). Paralytic shellfish poisonings resulting from an algal bloom in Nicaragua. *BMC research notes*, 8, 1012.
- Cembella, A., Lewis, N., & Shumway, S. (1993). Anatomical distribution and spatio-temporal variation in paralytic shellfish toxin composition in two bivalve species from the Gulf of Maine. *Journal of Shellfish Research*, 12, 389-403.
- Chang, F. H., Anderson, D. M., Kulis, D. M., & Till, D. G. (1997). Toxin production of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from the Bay of Plenty, New Zealand. *Toxicon*, 35(3), 393-409.
- Chen, C. Y., & Chou, H. N. (2001). Accumulation and depuration of paralytic shellfish poisoning toxins by purple clam *Hiatula rostrata* Lightfoot. *Toxicon*, 39(7), 1029-1034.

- Chen, C. Y., & Chou, H. N. (2002). Fate of paralytic shellfish poisoning toxins in purple clam *Hiatula rostrata*, in outdoor culture and laboratory culture. *Marine Pollution Bulletin*, 44(8), 733-738.
- Ching, P. K., Ramos, R. A., de los Reyes, V. C., Sualdito, M. N., & Tayag, E. (2015). Lethal paralytic shellfish poisoning from consumption of green mussel broth, Western Samar, Philippines, August 2013. *Western Pacific surveillance and response journal : WPSAR*, 6(2), 22-26.
- Choi, N., Hsieh, D., Lam, P., & Wang, W.-X. (2003). Field depuration and biotransformation of paralytic shellfish toxins in scallop *Chlamys nobilis* and green-lipped mussel *Perna viridis*. *Marine Biology*, 143, 927-934.
- Chou, H. N., Chen, Y. M., & Chen, C. Y. (2004). Variety of PSP toxins in four culture strains of *Alexandrium minutum* collected from southern Taiwan. *Toxicon*, 43(3), 337-340.
- Chua, T., Suleiman, M., Jelip, J., & Rundi, C. (2017). Case Report: Paralytic Shellfish Poisoning in Sabah, Malaysia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97.
- Contreras, A. (2010). *Physiological Effects and Biotransformation of Paralytic Shellfish Toxins in New Zealand Marine Bivalves*. (Doctor of Philosophy), University of Canterbury,
- Contreras, A., Marsden, I., & Munro, M. (2012). *Effects of short-term exposure to paralytic shellfish toxins on clearance rates and toxin uptake in five species of New Zealand bivalve* (Vol. 63). 166-174.
- Costa, R. P., Robertson, A., & Quilliam, A. M. (2015). Toxin Profile of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from the Portuguese Coast, as Determined by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. *Marine Drugs*, 13(4).
- Coughlan, J. (1969). The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Marine Biology*, 2(4), 356-358.
- Dalai, T. K., Nishimura, K., & Nozaki, Y. (2005). Geochemistry of molybdenum in the Chao Phraya River estuary, Thailand: Role of suboxic diagenesis and porewater transport. *Chemical Geology*, 218(3), 189-202.

- Doucette, G., Maneiro, I., Riveiro, I., & Svensen, C. (2006). Phycotoxin Pathways in Aquatic Food Webs: Transfer, Accumulation and Degradation. In E. Granéli & J. T. Turner (Eds.), *Ecology of Harmful Algae* (pp. 283-295). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- EFSA. (2009). *EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain. Marine biotoxins in shellfish saxitoxin group* (Vol. 1019.): EFSA J. 76 pp.
- Faber, S. (2012). Saxitoxin and the induction of paralytic shellfish poisoning. *Journal of Young Investigators*, 23, 1-7.
- Fabioux, C., Sulistiyani, Y., Haberkorn, H., Hégaret, H., Amzil, Z., & Soudant, P. (2015). Exposure to toxic *Alexandrium minutum* activates the detoxifying and antioxidant systems in gills of the oyster *Crassostrea gigas*. *Harmful Algae*, 48, 55-62.
- FAO. (2004). *Marine biotoxins*. Rome, Italy: FAO Food and Nutrition Papers
- FAO/IOC/WHO. (2004). *Report of the Joint FAO/IOC/WHO ad hoc Expert Consultation on Biotoxins in Bivalve Molluscs*. Norway: FAO/IOC/WHO.
- FAO/WHO. (2016). *Toxicity equivalence factors for marine biotoxins associated with bivalve molluscs*. World Health Organization (Vol. 12 / 2561): World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Franco, J. M. F., P.; Reguera, B. . (1994). Toxin profiles of natural populations and cultures of *Alexandrium minutum* Halim from Galician (Spain) waters. *Journal of Applied Phycology*, 6, 275-279.
- Fukuyo, Kodama, M., Omura, M., Furuya, K., Elsa, F. F., Mirriam, C., . . . and Lirdwitayaprasit, L. (2011). Ecology and oceanography of harmful marine microalgae (Project 2). In M. D. F. a. N. M. ed. by S. Nishida (Ed.), *In Coastal Marine Science in Southeast Asia-Synthesis Report of the Core University Program of the Japan Society for the Promotion of Science: Coastal Marine Science (2001–2010)* (pp. pp. 23–48): Terrapub.
- Fukuyo, Pholpunthin, P., & Yoshida, K. (1988). *Protogonyaulax* (Dinophyceae) in Gulf of Thailand. *Bulletin of the Plankton Society of Japan*, 35, 9-20.
- Genenah, A., & Shimizu, Y. (1981). Specific toxicity of paralytic shellfish poisons. *Journal of agricultural and food chemistry*, 29, 1289-1291.

- Grzebyk, D., Béchemin, C., Ward, C., Vérité, C., A. Codd, G., & Y. Maestrini, S. (2003). Effects of salinity and two coastal waters on the growth and toxin content of the dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Journal of Plankton Research*, 25.
- Guéguen, M., Michele, B., Baron, R., Patrick, L., Philippe, T., Julie, M., & Amzil, Z. (2008). Detoxification of Pacific oyster *Crassostrea gigas* fed on diets of *Skeletonema costatum* with and without silt, following PSP contamination by *Alexandrium minutum*. *Aquatic Living Resources*, 21.
- Guillard, R. R. L. (1973). Division rates. In J. R. e. Stein (Ed.), *Handbook of phycological methods* (pp. 289-311). New York: Cambridge University Press.
- Haberkorn, H., Tran, D., Massabuau, J.-C., Ciret, P., Savar, V., & Soudant, P. (2011). Relationship between valve activity, microalgae concentration in the water and toxin accumulation in the digestive gland of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* exposed to *Alexandrium minutum*. *Marine Pollution Bulletin*, 62(6), 1191-1197.
- Hall, S., Strichartz, G., Moczydlowski, E., Ravindran, A., & Reichardt, P. (1990). The saxitoxins: Sources, chemistry, and pharmacology. In (pp. 29-65).
- Hallegraeff, G. M. B., S. I.; Blackburn, S. I. Oshima, Y. . (1991). Species of the toxigenic dinoflagellate genus *Alexandrium* in South-eastern Australian waters. *Botanica marina*, 34, 575-587.
- Hansen, G., Daugbjerg, N., & Franco, J. M. (2003). Morphology, toxin composition and LSU rDNA phylogeny of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) from Denmark, with some morphological observations on other European strains. *Harmful Algae*, 2(4), 317-335.
- Hernández, C., Díaz, P. A., Molinet, C., & Seguel, M. (2016). Exceptional climate anomalies and northwards expansion of Paralytic Shellfish Poisoning outbreaks in Southern Chile. *Harmful Algae News Harmful Algae News*, 54, 1–2.
- Hoshaw, R., & Rosowski, J. (1973). Methods for microscopic algae. In J. Stein (Ed.), *In Handbook of Phycological Methods. Culture Methods and Growth Measurements* (Vol. 53-07). New York: Cambridge University Press.
- Hua, T., Gao, C., Wang, Z., Sun, P., Fan, S., & Zhu, M. (2010). Comparative study on in vitro transformation of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in different shellfish tissues. *Acta Oceanologica Sinica*, 29(1), 120-126.

- Hurst, J. W. a. E. S. G. (1977). *Paralytic shellfish poisoning in Maine*. Paper presented at the In: Tenth Natl. Shellfish Sanitation Workshop, U.S. Dept. Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration.
- Hwang, D.-F., Noguchi, T., Nagashima, Y., Liao, I. C., & Hashimoto, K. (1987). Occurrence of paralytic shellfish poison in the purple clam *Soletellina diphos* (Bivalve). *NIPPON SUISAN GAKKAISHI*, 53, 623-626.
- Ichimi, K., Suzuki, T., & Yamasaki, M. (2001). Non-selective retention of PSP toxins by the mussel *Mytilus galloprovincialis* fed with the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Toxicon*, 39(12), 1917-1921.
- Jørgensen, B. C. (1996). *Bivalve filter feeding revisited* (Vol. 142). 287-302.
- Karunasagar, I., H. S. V. Gowda, M. Subburaj, M. N. Venugopal, and I. Karunasagar. (1984). Outbreak of paralytic shellfish poisoning in Mangalore, west coast of India. *Current Science*(53(5)), 247-249.
- Kodama, Ogata, T., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Wisessang, S., Saitanu, K., . . . Piyakarnchana, T. (1988). *Protogonyaulax cohorticula*, a toxic dinoflagellate found in the Gulf of Thailand. *Toxicon*, 26, 707-712
- Kodama, Ogata, T., Sakamoto, S. Sato, Honda, T., & and Miwatani, T. (1987). *Studies on Paralytic Shellfish Poisoning Occurred in The Coastal Water of Thailand and its Causative Dinoflagellate*. Japan: Sendi Kyodo Printing.
- Kodama, & Sato, S. (2008). Metabolism of paralytic shellfish toxins incorporated into bivalves. In i. L. M. B. (ed) (Ed.), *Seafood and Freshwater toxins: Pharmacology, Physiology and Detection* (Vol. 2nd ed, pp. pp. 165-175). FL, USA: CRC Press.
- Kusnoputranto, H., Moersidik, S., Wisnubroto, D., & Makmur, M. (2014). *Accumulation and Depuration of PSP Toxin (Paralytic Shellfish Poisoning) by Green Mussels* (Vol. 19). 27-34.
- Kwong, R. W. M., Wang, W.-X., Lam, P. K. S., & Yu, P. K. N. (2006). The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates. *Aquatic Toxicology*, 80(1), 82-91.
- Laabir, M., Amzil, Z., Patrick, L., Masseret, E., Tapilatu, Y., Vargas Romain, D., & Grzebyk, D. (2007). *Viability, growth and toxicity of Alexandrium catenella and Alexandrium*

minutum (Dinophyceae) following ingestion and gut passage in the oyster *Crassostrea gigas* (Vol. 20).

- Lassus, P., Baron, R., Garen, P., Truquet, P., Masselin, P., Bardouil, M., . . . Amzil, Z. (2004). Paralytic shellfish poison outbreaks in the Penzé estuary: Environmental factors affecting toxin uptake in the oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquat. Living Resour.*, 17(2), 207-214.
- Lassus, P., M. Ledoux, M. Bardouil, & Bohec, a. M. (1993). Influence of initial toxicity and extraction procedure on paralytic toxin changes in the mussel. *Toxicon*, 31: 237–242
- Lau, W. L. S., Law, I. K., Liow, G. R., Hii, K. S., Usup, G., Lim, P. T., & Leaw, C. P. (2017). Life-history stages of natural bloom populations and the bloom dynamics of a tropical Asian ribotype of *Alexandrium minutum*. *Harmful Algae*, 70, 52-63.
- Ledoux, M., ; Bardouil, M., Fremy, J. M., Lassus, P., I., M., & Bohec, M. (1993). Use of HPLC for toxin analysis of shellfish contaminated by an *Alexandrium minutum* strain. In T. J. S. Y. e. Smayda (Ed.), *Toxic phytoplankton blooms in the sea* (pp. Pp. 413-418). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- Leverone, J. R., Blake, N. J., Pierce, R. H., & Shumway, S. E. (2006). Effects of the dinoflagellate *Karenia brevis* on larval development in three species of bivalve mollusc from Florida. *Toxicon*, 48(1), 75-84.
- Lewis, A., Coates, L., Turner, A., Percy, L., & Lewis, J. (2018). A review of the global distribution of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) and comments on ecology and associated paralytic shellfish toxin profiles, with a focus on Northern Europe. *Journal of Phycology*, 54.
- Li, S.-C., & Wang, W.-X. (2001). Radiotracer studies on the feeding of two marine bivalves on the toxic and nontoxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 263(1), 65-75.
- Li, S.-C., Wang, W.-X., & Hsieh, D. (2001). Feeding and absorption of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* by two marine bivalves from the South China Sea. *Marine Biology*, 139, 617-624.

- Li, S.-C., Wang, W.-X., & Hsieh, D. (2002). *Effects of toxic dinoflagellate Alexandrium tamarensis on the energy budgets and growth of two marine bivalves* (Vol. 53). 145-160.
- Lim, Leaw, C. P., Sato, S., Thuoc, C., Kobiyama, A., & Ogata, T. (2011). Effect of salinity on growth and toxin production of *Alexandrium minutum* isolated from a shrimp culture pond in northern Vietnam. *Journal of Applied Phycology*, 23, 857-864.
- Lim, & Ogata. (2005). Salinity effect on growth and toxin production of four tropical *Alexandrium* species (Dinophyceae). *Toxicon*, 45(6), 699-710.
- Lim, Usup, G., Leaw, C. P., & Ogata, T. (2005). First report of *Alexandrium taylori* and *Alexandrium peruvianum* (Dinophyceae) in Malaysia waters. *Harmful Algae*, 4(2), 391-400.
- Lim, P. T. L., C. P. Usup, G. . (2004). *First incidence of paralytic shellfish poisoning on the east coast of Peninsular Malaysia*. Paper presented at the Marine Science into the New Millennium: New Perspective and Challenges, University of Malaya Maritime Research Centre, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Lin, W. F., & Hwang, D.-F. (2012). *Analysis of Poisoning Cases, Monitoring and Risk Warning for Marine Toxins (TTX, PSP and CTXs) in Taiwan* (Vol. 20). 764-771+981.
- Llewellyn, L. E., Dodd, M. J., Robertson, A., Ericson, G., de Koning, C., & Negri, A. P. (2002). Post-mortem analysis of samples from a human victim of a fatal poisoning caused by the xanthid crab, *Zosimus aeneus*. *Toxicon*, 40(10), 1463-1469.
- MacKenzie, L. (1994). Abloom of *Alexandrium minutum* in Anakoha Bay, Marlborough Sounds (Dec 1993-Jan 1994). *Seafood New Zealand*, 2(5), 50-52.
- Marsden, I., Contreras, A., Mackenzie, L., & Munro, M. (2015). A comparison of the physiological responses, behaviour and biotransformation of paralytic shellfish poisoning toxins in a surf-clam (*Paphies donacina*) and the green-lipped mussel (*Perna canaliculus*). *Marine and Freshwater Research*, 67.
- Matsuoka, K., Fukuyo, Y., Praseno, D.P. & Adnan, Q. . (1998). *Pyrodinium bahamense* cysts in surface sediments of Jakarta Bay and off Ujung Pandang, Indonesia. Paper presented at the Harmful Algae, Proceedings of the VIII International Conference on Harmful Algae, Vigo, Spain.

- McCollum, J. P. K., Pearson, R. C. M., Ingham, H. R., Wood, P. C., & Dewar, H. A. (1968). An Epidemic of Mussel Poisoning in North East England *The Lancet*, 292(7571), 767-770.
- Mohammad Noor, N., Adam, A., Lim, P. T., Leaw, C. P., Winnie Lik Sing, L., R. Liow, G., . . . Muniandi, D. (2017). First report of paralytic shellfish poisoning (PSP) caused by *Alexandrium tamiyavanichii* in Kuantan Port, Pahang, East Coast of Malaysia: Toxic *A. tamiyavanichii* in Kuantan Port. *Phycological Research*.
- Molinet, C., Niklitschek, E., Seguel, M., & Díaz, P. (2010). Trends of natural accumulation and detoxification of paralytic shellfish poison in two bivalves from the Northwest Patagonian inland sea. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 45, 195–204.
- Montejo, U., Romero, m. l., M. Borja, V., F. Cayme, M., Sato, S., Kodama, M., & Fukuyo, Y. (2012). *Vulnerability of tropical shellfishes against PSP contamination during bloom of Pyrodinium bahamense var. compressum* (Vol. 35). 64-66.
- Munday, R., Thomas, K., Gibbs, R., Murphy, C., & Quilliam, M. (2013). Acute Toxicities of Saxitoxin, Neosaxitoxin, Decarbamoyl Saxitoxin and Gonyautoxins 1&4 and 2&3 to Mice by various Routes of Administration. *Toxicon*, 76.
- Nascimento, S. M., A. Duncan, D.A. Purdie, E.L. Lilly, J. Larsen and S. Morris. (2005). Toxin profile, pigment composition and large subunit rDNA phylogenetic analysis of an *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) strain isolated from the Fleet lagoon, United Kingdom. *Journal of Applied Phycology*, 41, 343–353.
- Navarro, J., & Contreras, A. M. (2010). An integrative response by *Mytilus chilensis* to the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Marine Biology*, 157(9), 1967-1974.
- Navarro, J., L. Aguila, B., Machmar, F., Chaparro, O., & Contreras, A. (2011). Dynamic of intoxication and detoxification in juveniles of *Mytilus chilensis* (Bivalvia: Mytilidae) exposed to paralytic shellfish toxins. *Aquatic Living Resources*, 24, 93-98.
- Ogata, T., Ishimaru T., and Kodama M. . (1987). Toxin production in the dinoflagellate *Protogonyaulax tamariensis*. *Toxicon*, 25(9), 923-928.
- Omori, M., & Ikeda, T. (1984). *Methods in Marine Zooplankton Ecology* (2009/05/11 ed. Vol. 65). John Wiley: Cambridge University Press. 332 pp.
- Omura, T., Iwataki, M., Borja, V. M., Haruyoshi, T., & Fukuyo, Y. (2013). *Marine Phytoplankton of the Western Pacific* (Vol. 79). 486-488.

- Oshima. (1995a). Post-column derivatization HPLC methods for paralytic shellfish poisons. In D. M. A. G.M. Hallegraeff, A.D. Cembella (Eds.) (Ed.), *Manual on Harmful Marine Microalgae* (pp. 81-94): IOC-UNESCO (IOC Manuals and Guides, 33).
- Oshima. (1995b). Post-column derivatization liquid-chromatographic method for paralytic shellfish toxins. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 78, 795–799.
- Oshima, K. Sugino, H. Itakura, M. Hirota, & Yasumoto, a. T. (1990). Comparative studies on paralytic shellfish toxin profile of dinoflagellates and bivalves. In B. S. E. Graneli, L. Edler, and D.M. Anderson (Ed.), *Toxic Marine Phytoplankton* (pp. 479-485): Elsevier Science Publications.
- Pitcher, G. C., Cembella, A. D., Joyce, L. B., Larsen, J., Probyn, T. A., & Ruiz Sebastián, C. (2007). The dinoflagellate *Alexandrium minutum* in Cape Town harbour (South Africa): Bloom characteristics, phylogenetic analysis and toxin composition. *Harmful Algae*, 6(6), 823-836.
- Popkiss, E. E. M., Horstman, D. A., & Harpur, P. (1979). Paralytic shellfish poisoning. A report of 17 cases in Cape Town. *South African medical journal*, 55, 1017-1023.
- Pousse, É., Flye-Sainte-Marie, J., Alunno-Bruscia, M., Hégaret, H., & Jean, F. (2018). Sources of paralytic shellfish toxin accumulation variability in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Toxicon*, 144, 14-22.
- Rajesh. (2001). Influence of algal cell concentration, salinity and body size on the filtration and ingestion rates of cultivable india bivalves. *Indian journal of marine sciences*, 30, 87-92.
- RaLonde, R. (1996). Paralytic Shellfish Poisoning: The Alaska Problem. *Alaska Marine Resources*, 8(2).
- Ranston, E. R., Webber, D. F., & Larsen, J. (2007). The first description of the potentially toxic dinoflagellate, *Alexandrium minutum* in Hunts Bay, Kingston Harbour, Jamaica. *Harmful Algae*, 6(1), 29-47.
- Riisgård, H. U., Dahl, P., & Saavedra, I. (2011). *Feeding Behaviour of the Mussel, Mytilus edulis: New Observations, with a Minireview of Current Knowledge* (Vol. 2011).
- Rodrigue, C. D., A. Etzel, R., Hall, S., de Porras, E., H. Velasquez, O., V. Tauxe, R., . . . A. Blake, P. (1990). Lethal Paralytic Shellfish Poisoning in Guatemala. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 42, 267-271.

- Samsur, M., Yamaguchi, Y., Sagara, T., Takatani, T., Arakawa, O., & Noguchi, T. (2006). Accumulation and depuration profiles of PSP toxins in the short-necked clam *Tapes japonica* fed with the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Toxicon*, 48(3), 323-330.
- Sekiguchi, K., Takehiko, O., Kaga, S., Makoto, Y., Fukuyo, Y., & Kodama, M. (2001). Accumulation of paralytic shellfish toxins in the scallop *Patinopecten yessoensis* caused by the dinoflagellate *Alexandrium catenella* in Otsuchi Bay, Iwate Prefecture, northern Pacific coast of Japan (Vol. 67).
- Setälä, O., Lehtinen, S., Kremp, A., Hakanen, P., Kankaanpää, H., Erler, K., & Suikkanen, S. (2014). Bioaccumulation of PSTs produced by *Alexandrium ostenfeldii* in the northern Baltic Sea (Vol. 726). 143-154.
- Shimizu, Y. (1978). *Dinoflagellate toxins* (Vol. 1). 1-42.
- Shumway, S. E. (1990). A Review of the Effects of Algal Blooms on Shellfish and Aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, 21(2), 65-104.
- Shumway, S. E., & Cucci, T. L. (1987). The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on the feeding and behaviour of bivalve molluscs. *Aquatic Toxicology*, 10(1), 9-27.
- Smith, E. A., Grant, F., Ferguson, C. M., & Gallacher, S. (2001). Biotransformations of paralytic shellfish toxins by bacteria isolated from bivalve molluscs. *Applied and environmental microbiology*, 67(5), 2345-2353.
- Soon, K., & Ransangan, J. (2014). A Review of Feeding Behavior, Growth, Reproduction and Aquaculture Site Selection for Green-Lipped Mussel, *Perna viridis*. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 05, 462-469.
- Suzuki, T., Ichimi, K., Oshima, Y., & Kamiyama, T. (2003). Paralytic shellfish poisoning (PSP) toxin profiles and short-term detoxification kinetics in mussels *Mytilus galloprovincialis* fed with the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarensis*. *Harmful Algae*, 2, 201-206.
- Todd, E. C. D. (1997). *Seafood-associated diseases and control in Canada* (Vol. 16). 661-672.

- Tomas, C. R., van Wagoner, R., Tatters, A. O., White, K. D., Hall, S., & Wright, J. L. C. (2012). *Alexandrium peruvianum* (Balech and Mendiola) Balech and Tangen a new toxic species for coastal North Carolina. *Harmful Algae*, 17, 54-63.
- Turnbull, A. (2013). Paralytic shellfish poisoning in south eastern Tasmania. *Commun Dis Intell Q Rep.*, Mar 31;37(1):E52-4.
- Ulysses, M., Romero, m. l., Valeriano, B., & Shigeru, S. (2010). *Comparative PSP toxin accumulation in bivalves, Paphia undulata and Perna viridis in Sorsogon Bay, Philippines.*
- Usup, G., & Ahmad, A. (2011). *Current Status of PSP in Malaysia.* Paper presented at the Proceedings of the Second International Conference on Harmful Algae Management and Mitigation, Qingdao, China.
- Vale, P. (2008). Fate of benzoate paralytic shellfish poisoning toxins from *Gymnodinium catenatum* in shellfish and fish detected by pre-column oxidation and liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1190(1), 191-197.
- Visciano, P., Schirone, M., Berti, M., Milandri, A., Tofalo, R., & Suzzi, G. (2016). Marine Biotoxins: Occurrence, Toxicity, Regulatory Limits and Reference Methods. *Frontiers in microbiology*, 7, 1051-1051.
- Walne, P. R. (1966). Experiments in large scale culture of the larvae of *Ostrea edulis* *Fisheries Investigations*, 2(25(4)), 1-53.
- Wang, Z.-H., Nie, X.-P., Jiang, S.-J., Zhao, J.-G., Cao, Y., Zhang, Y.-J., & Wang, D.-Z. (2011). Source and profile of paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish in Daya Bay, South China Sea. *Marine Environmental Research*, 72(1), 53-59.
- White, A. W., & Maranda, L. (1978). Paralytic toxins in the dinoflagellate *Gonyaulax excavata* and in shellfish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 35, 397-402
- WHOI. (2017, November 27). Distribution of HABs throughout the World. Retrieved from <https://www.whoi.edu/website/redtide/regions/world-distribution/>
- Wiese, M., D'Agostino, P. M., Mihali, T. K., Moffitt, M. C., & Neilan, B. A. (2010). Neurotoxic alkaloids: saxitoxin and its analogs. *Marine Drugs*, 8(7), 2185-2211.

- Wisessang, S., Ogata, T., Kodama, M., Fukuyo, Y., Ishimaru, T., Saitanu, K., . . . Piyakarnchana, T. (1991). *Accumulation of Paralytic Shellfish Toxins by Green Mussel Perna viridis by Feeding on Cultured Cells of Alexandrium cohorticula Isolated from the Gulf of Thailand* (Vol. 57). 127-131.
- Yan, T., Zhou, M., & Zou, J. (2002). *A national report on harmful algal blooms in China* (Vol. 23).
- Yang, I., John, U., Beszteri, S., Glöckner, G., Krock, B., Goesmann, A., & Cembella, A. D. (2010). Comparative gene expression in toxic versus non-toxic strains of the marine dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *BMC Genomics*, 11(1), 248.
- Yen, I. C., de Astudillo, L. R., Soler, J. F., & Barbera-Sanchez, A. L. (2004). Paralytic shellfish poisoning toxins in green mussels (*Perna viridis*) from the Gulf of Paria, Trinidad. *Toxicon*, 44(7), 743-747.
- ไทยถาวร เลิศวิทยาประสิทธิ. (2560). ทะเลเปลี่ยนสีและแพลงก์ตอนมีพิษ (*Sci Chula Expo 2017*). ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. (2561). ข้อมูลทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง จังหวัดสมุทรปราการ.
- กรมประมง. (2550). การเลี้ยงหอยแมลงภู. กรุงเทพมหานคร: กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- กรมประมง. (2561a). เกณฑ์มาตรฐานสารชีวพิษและแบคทีเรียในหอยสองฝา. กรุงเทพฯ
- กรมประมง. (2561b). สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2559. กองนโยบายและยุทธศาสตร์พัฒนาการประมง, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์., 92.
- คเชนทร เฉลิมวัฒน์. (2544). การเพาะเลี้ยงหอย. กรุงเทพมหานคร: ไร่เขียว. 253.
- จันทน์ทิพย์ ลี้มทองกุล. (2540). การแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าหอยแมลงภู. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง. 8 หน้า.
- ชลธยา ทรงรูป. (2541). สันฐานวิทยาและการสร้างพิษของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Alexandrium* บริเวณอ่าวไทยตอนบน. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- ดาริน ผนึกทรัพย์สกุล. (2550). ผลของอุณหภูมิ ความเค็ม ไนเตรต และฟอสเฟต ต่อการเติบโต และสันฐานวิทยาของ *Gymnodinium catenatum*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,

- บรรจง เทียนสงฆ์ศรี. (2542). การเลี้ยงหอยเศรษฐกิจในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 82 หน้า.
- ปิยนุช จุฑพันธ์. (2539). ผลของ *Alexandrium minutum* และ *Alexandrium cohorticula* ต่อการตายของปลาชนิด *Oreochromis niloticus* และกุ้งกุลาดำ *Penaeus monodon*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- ปิยะรัตน์ เข้าชัย. (2547). ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกับชุมชนแพลงก์ตอนพืชที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีบริเวณชายฝั่งทะเลบางพระ ชลบุรี. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (สหสาขาวิชา) บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- บุญชูศรี ก่อเจริญวัฒน์. (2550). ผลผลิตขั้นต้นที่สัมพันธ์กับการเติบโตของหอยแมลงภู่มิวน้ำในอำเภอสรีราชา จังหวัดชลบุรี. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- พรศิลป์ ผลพันธิน. (2530). อนุกรมวิธานและการกระจายตัวของไดโนแฟลกเจลเลตในครอบครัว *Dinophysiaceae*, *Gonyaulacaceae* และ *Peridiniaceae*. (วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- ลัดดา วงศ์รัตน์. (2542). แพลงก์ตอนพืช. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 851 หน้า.
- วิชาญ กันบัว. (2551). สายใยอาหารของชุมชนแพลงก์ตอนในระบอบนิเวศน้ำกร่อยแม่น้ำบางปะกง (ปริญญาดุษฎีบัณฑิต), ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
- สุขุม ไร่ใจ และ จันทร์พิมพ์ กังพานิช. (2549). การสำรวจประชากรแพลงก์ตอนบริเวณทะเลชายฝั่งจังหวัดสมุทรปราการ. วารสารการประมง(ปีที่ 59 ฉบับที่ 3), 221-227.
- สุชนา วิเศษสังข์ และ เกรียงศักดิ์ สายธนู. (2533). การจำแนกชนิดและศึกษาความเป็นพิษของไดโนแฟลกเจลเลต สกุล *Alexandrium* ที่พบในอ่าวไทย. Retrieved from กรุงเทพมหานคร:
- สุทธิชัย เตมียวณิชย์. (2527). การเปลี่ยนแปลงแพลงก์ตอนพืช และสาเหตุที่ชักนำไปเกิดอัมพาตในหอยที่ปราณบุรี. Paper presented at the การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตรในน่านน้ำไทย, ศูนย์วิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- สุวรรณ วัฒนาคาม. (2542). หอยทะเล. กรุงเทพมหานคร: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสถาบันราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นายปฏิภาณ พุ่มพวง
วัน เดือน ปี เกิด	28 ตุลาคม 2536
สถานที่เกิด	จังหวัดฉะเชิงเทรา
วุฒิการศึกษา	จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล (ชีววิทยาทางทะเล) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ.2558 และจบการศึกษาระดับปริญญาตรีรัฐศาสตรบัณฑิต (การบริหารรัฐกิจ) คณะรัฐศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง เมื่อปี พ.ศ.2560
ผลงานตีพิมพ์	<p>การถ่ายทอดพิษอัมพาตจาก <i>Alexandrium minutum</i> ผ่านไร่น้ำเค็ม <i>Artemia salina</i> ไปยังปลากะพงขาว <i>Lates calcarifer</i> เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเลแห่งชาติ ครั้งที่ 5 ณ โรงแรมรามารการ์เด็น กรุงเทพฯ</p> <p>การทดลองเบื้องต้นในการส่งผ่านพิษอัมพาตจาก <i>Alexandrium minutum</i> ไปยังหอยแมลงภู <i>Perna viridis</i> เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ ในการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์ทางทะเลแห่งชาติ ครั้งที่ 6 ณ โรงแรมบางแสนเฮอริเทจ จังหวัดชลบุรี</p> <p>Short-term exposure to PSP toxins from <i>Alexandrium minutum</i> on clearance rates and toxin accumulate in green mussel (<i>Perna viridis</i>) เสนอผลงานแบบโปสเตอร์ ใน Third Joint Seminar on Coastal Ecosystems in Southeast Asia (JSPS-CCore-RENSEA) at Chulalongkorn University</p> <p>การเติบโตและการสร้างพิษของ <i>Alexandrium minutum</i> ที่แยกจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา เสนอผลงานแบบบทความวิจัย ในการประชุมวิชาการสาหร่ายและแพลงก์ตอนแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ณ โรงแรมรามารการ์เด็น กรุงเทพฯ</p>