

บทที่ 3

ผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาในพื้นที่ภาคสนาม

จุดเก็บตัวอย่างที่พบ *Alexandrium*

ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชที่เก็บในบริเวณชายฝั่ง ปากแม่น้ำ บ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ ในเขตจังหวัดที่มีพื้นที่ติดต่อกับชายฝั่งทะเลรอบอ่าวไทยตอนบน และตอนกลางของอ่าวไทย รวม 17 ครั้ง ตั้งแต่วันที่ 29 เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2539 ถึง วันที่ 15 มีนาคม พ.ศ. 2541 มีเพียง 7 ครั้งจากการเก็บตัวอย่าง 8 แห่งในบริเวณ 6 จังหวัดที่พบ *Alexandrium* (ตารางที่ 9) ซึ่งในจำนวนนี้มี 2 แห่งที่เป็นแหล่งน้ำตามธรรมชาติ ได้แก่ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ และปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง โดยมีความหนาแน่นเซลล์ 24 และ 10 เซลล์/ลิตรตามลำดับ ส่วนอีก 6 แห่งซึ่งเป็นบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่มีการดึงน้ำจากบริเวณชายฝั่งเข้ามาใช้ในการเลี้ยง ได้แก่บ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร บ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม บ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอแกลง จังหวัดระยอง 2 แห่ง บ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี และบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี โดยที่ไม่พบ *Alexandrium* ในน้ำตัวอย่างที่เก็บจากบริเวณบ้านบางตะบูน จังหวัดเพชรบุรี ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร ปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ปากแม่น้ำประแสร์ จังหวัดระยอง บริเวณชายฝั่งอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี และบริเวณกลางอ่าวไทยตอนบน (ภาคผนวก ก.) ในจำนวนบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำที่พบ *Alexandrium* ดังกล่าว มีอยู่ 2 แห่ง ที่พบว่ามี การเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วของ *Alexandrium* ในระยะเวลาดำเนิน (bloom) ได้แก่ บ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม และบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง โดยมีความหนาแน่นเซลล์ถึง 7,500 และ 15,000 เซลล์/ลิตรตามลำดับ และนอกจากนี้ยังมีอีก 2 จุดเก็บตัวอย่าง คือบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง และบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี ซึ่งแม้ว่าจะไม่พบการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วของ *Alexandrium* ในระยะเวลาดำเนิน แต่ก็พบว่ามี ความหนาแน่นเซลล์ของ *Alexandrium* ปรากฏเป็นชนิดเด่นของแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตในน้ำตัวอย่าง (ประมาณ 50 เซลล์/ลิตร)

สภาพแวดล้อม ณ จุดเก็บตัวอย่าง

ขณะที่เก็บตัวอย่างได้ตรวจวัดปัจจัยสภาพแวดล้อมบางประการ ได้แก่อุณหภูมิ และความเค็ม ณ จุดที่เก็บตัวอย่าง พบว่าอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 29.5 ถึง 33.0 องศาเซลเซียส และมีความเค็มอยู่ในช่วงตั้งแต่ 15 ถึง 40 ส่วนในพันส่วน (ppt.) โดยที่น้ำ ณ บริเวณศูนย์พัฒนาประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียง

เฉียงใต้ ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการมีความเค็มต่ำสุด และน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอ แกลง จังหวัดระยองมีความเค็มสูงสุดเมื่อเทียบกับจุดเก็บตัวอย่างอื่น ๆ (ตารางที่ 9)

2. ผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการ

จำนวน monoclonal culture ของ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยงได้

จากน้ำตัวอย่างที่พบ *Alexandrium* ทั้ง 8 แห่งในบริเวณ 6 จังหวัดดังกล่าว เมื่อคัดเลือกเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย *Alexandrium* มาเพาะเลี้ยงแบบ monoclonal culture ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร T1 ที่ระดับความเข้มข้น 3,000 ลักซ์ L:D เท่ากับ 12:12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 29 ± 1 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงได้ทั้งหมด 22 โคลนซึ่งประกอบด้วย monoclonal culture ที่ได้จากจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร 2 โคลน บ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอมะกอก จังหวัดสมุทรสงคราม 2 โคลน บ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง 1 โคลน บริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง 5 โคลน บ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง 3 โคลน บ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบ้านใหม่ จังหวัดฉะเชิงเทรา 4 โคลน บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ 4 โคลน และจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี 1 โคลน

เมื่อตรวจสอบยืนยันในระดับสกุลโดยอาศัยลักษณะการจัดเรียงตัวของแผ่นเปลือกแล้วพบว่าทุกโคลนเป็น *Alexandrium* จากนั้นได้กำหนดสัญลักษณ์ของ clonal culture ตามชื่อจังหวัดและเวลาที่เก็บตัวอย่าง (ตารางที่ 10) แล้วจึงคัดเลือกตัวแทน clonal culture จากแต่ละจุดเก็บตัวอย่างที่มีการเติบโตดีในสภาวะที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ ดังกล่าวแห่งละ 1 โคลน ได้แก่โคลน SS960529A จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร, โคลน SK970423B จากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอมะกอก จังหวัดสมุทรสงคราม, โคลน RY01970522 จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง, โคลน RY02970606B จากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง, โคลน RY03970606A จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง, โคลน CR970909B จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบ้านใหม่ จังหวัดฉะเชิงเทรา, โคลน SP980112D จากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ และโคลน PR980221 จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี รวมทั้งสิ้น 8 โคลน เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาซึ่งใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกชนิด และศึกษารูปแบบการเติบโต รวมทั้งการสร้างพิษต่อไป

รูปร่างและขนาดของเซลล์ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยง

จากการศึกษาลักษณะรูปร่างและวัดขนาดเซลล์ของ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยงในโคลนที่คัดเลือกเป็นตัวแทน โดยวัดความยาวของเซลล์ตั้งแต่ apex ถึง antapex (L) และวัดความกว้างของเซลล์ทั้ง 2 ระยะเวลาคือความกว้างที่ปลายขอบด้านนอกของ girdle ทั้ง 2 ข้าง (W) และความกว้างที่ขอบด้านในของ

ตารางที่ 9 คุณภาพน้ำ และปริมาณธาตุอาหารบางชนิด ในน้ำจากบริเวณที่เก็บตัวอย่างและ น้ำทะเลที่ใช้เพาะเลี้ยง *Alexandrium*

บริเวณที่เก็บตัวอย่าง	SS	SK	RY 1	RY 2	RY 3	CR	PR	SP	น้ำทะเลที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	29.5	N.D.	N.D.	31.0	33.0	N.D.	31.5	29.0	
ความเค็ม (ppt.)	20.0	30.0	40.0	20.0	35.0	22.0	19.0	15.0	
ปริมาณออกซิเจนละลาย (มิลลิกรัม/ลิตร)	N.D.	N.D.	N.D.	5.0	7.4	N.D.	N.D.	N.D.	
ปริมาณ ไนโตรเจน+ในเตรท (ไมโคร โมล/ลิตร)	N.D.	0.50	N.D.	0.58	0.32	N.D.	0.14	N.D.	0.63
ปริมาณฟอสเฟต (ไมโคร โมล/ลิตร)	N.D.	0.10	N.D.	0.25	0.14	N.D.	3.43	N.D.	3.05

หมายเหตุ N.D. แทน ไม่มีข้อมูล

SS แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง อ. มหาชัย จ.สมุทรสาคร SK แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง อ. แม่กลอง จ. สมุทรสงคราม

RY01 แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อ. แกลง จ. ระยอง RY02 แทน บริเวณปากแม่น้ำระยอง จ. ระยอง

RY03 แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อ. แกลง จ. ระยอง CR แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง อ. ท่าใหม่ จ. จันทบุรี

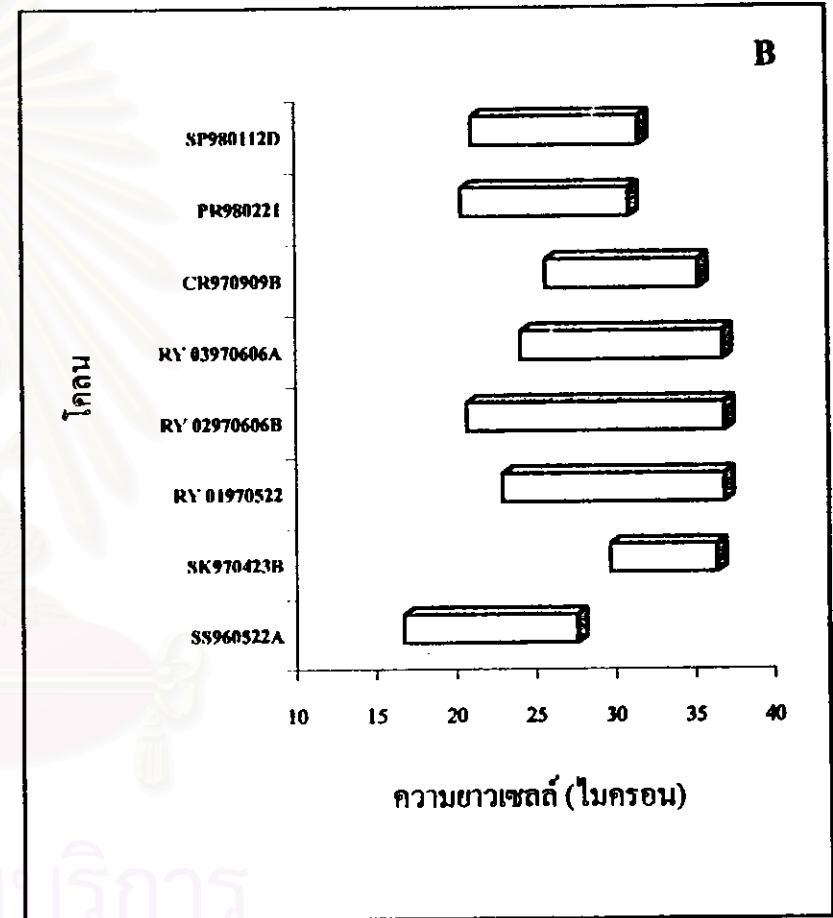
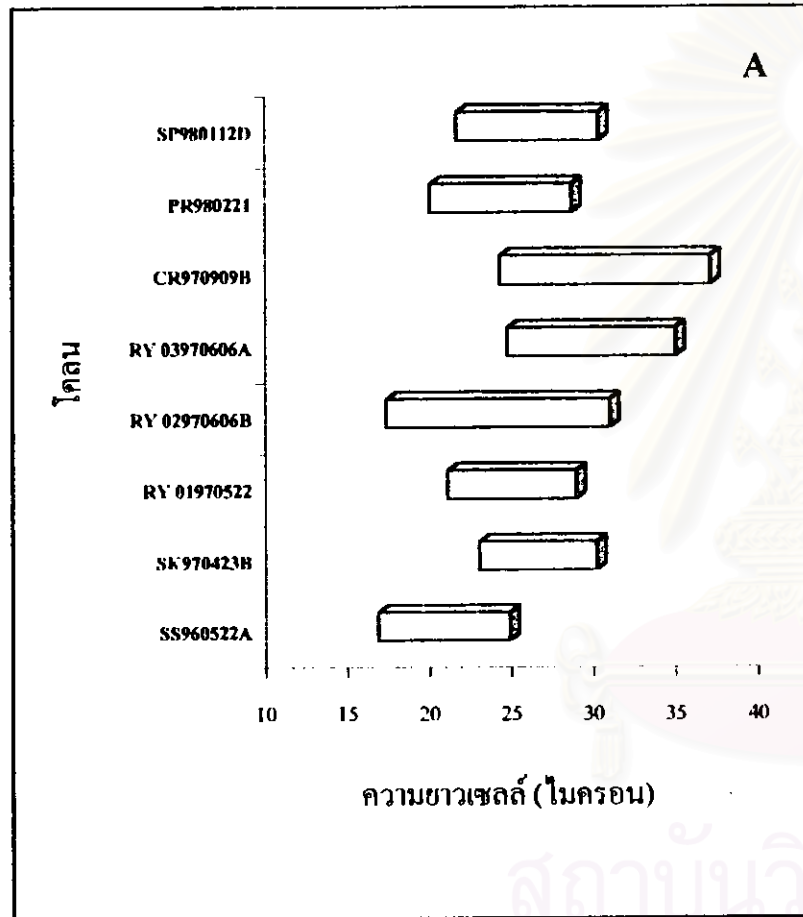
SP แทน บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จ. สมุทรปราการ

PR แทน บ่อเลี้ยงกุ้ง อ. เมือง จ. เพชรบุรี

ร่อง girdle ทั้ง 2 ข้าง (Trd) ทั้งในเซลล์ระยะ log phase และ stationary phase ซึ่งในแต่ละระยะจะทุ่ม เซลล์มาวัดขนาดเป็นจำนวน 50 เซลล์ พบว่าเซลล์ของ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยงมีรูปร่างค่อนข้างกลม หรือมีความยาวมากกว่าความกว้างเล็กน้อย แต่มีเซลล์จำนวนหนึ่งมีรูปร่างกลม มีความยาวน้อยกว่า ความกว้าง พบ girdle มองเห็นเป็นร่องได้ชัดเจนอยู่ที่กึ่งกลางเซลล์โดยมีความลึกของ girdle $[(W - Trd)/2]$ อยู่ในช่วง 1.02 ถึง 1.45 ไมครอน และເຫຼືອມຸ້ງໄປທາງດ້ານຂ້າງປະມານເຄິ່ງເທົ່າຂອງຄວາມ กว้าง girdle ในบางครั้งพบว่ามีการເຫຼືອມຸ້ງດ້ານຫຼາຍກວ່າເຄິ່ງເທົ່າຂອງຄວາມກວ້າງຂອງ girdle เล็กน้อย ยกเว้นในบางโคลนที่มีแผ่นเปลือกบางมากจนทำให้มองเห็นร่อง girdle ได้ไม่ชัดเจนและไม่สามารวัด ความกว้างของเซลล์ที่ปลายขอบ girdle (W) ได้ จึงต้องใช้ความกว้างที่ขอบด้านในของ girdle (Trd) แทน โดยความยาวเซลล์ในระยะ log phase อยู่ในพิสัย 16.41 ถึง 36.72 ไมครอน และความกว้างเซลล์ อยู่ในพิสัย 15.49 ถึง 32.22 ไมครอน ส่วนขนาดของเซลล์ในระยะ stationary phase พบว่ามีความยาว อยู่ในพิสัย 16.28 ถึง 36.42 ไมครอน (รูปที่ 15) และความกว้างเซลล์อยู่ในพิสัย 15.90 ถึง 36.30 ไมครอน (รูปที่ 16) จากลักษณะรูปร่างเซลล์ของ *Alexandrium* ที่ค่อนข้างกลม และมีขนาดปานกลาง (15 ถึง 36 ไมครอน) เมื่อเทียบกับขนาดของ *Alexandrium* spp. ที่พบในน่านน้ำไทย (ตารางที่ 5) ทำให้ สามารถพิจารณาเบื้องต้นได้ว่า *Alexandrium* ที่พบน่าจะจัดอยู่ในกลุ่มของ *minutum* และ *tamarense*

ชนิดของ *Alexandrium* จัดจำแนกตามลักษณะพื้นฐานวิทยาของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์

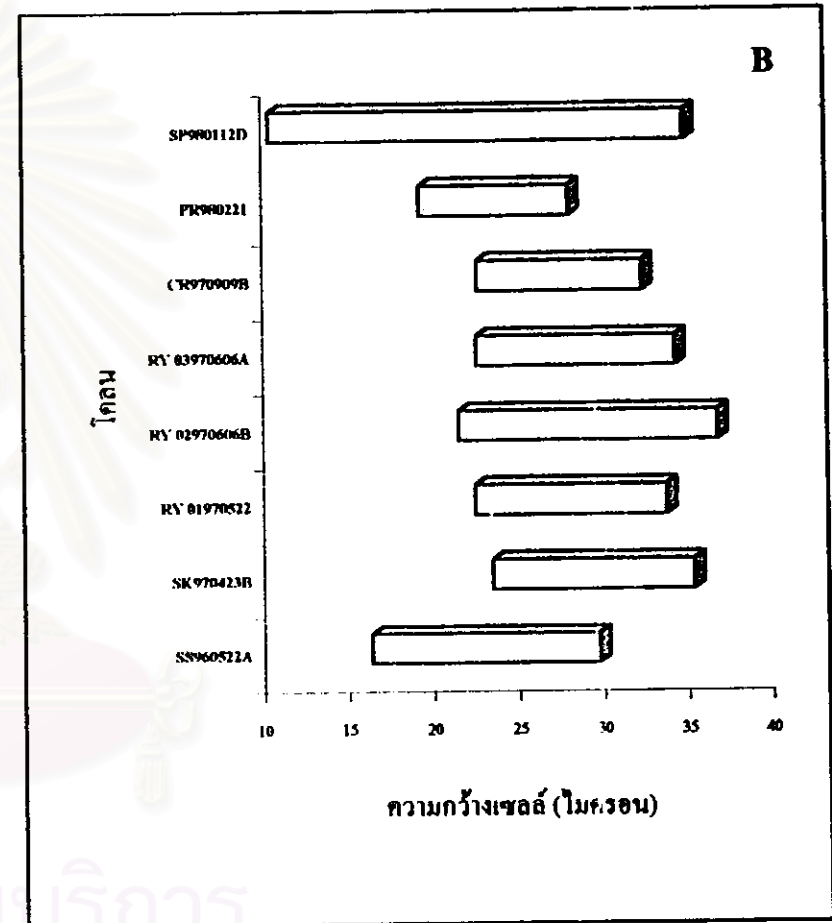
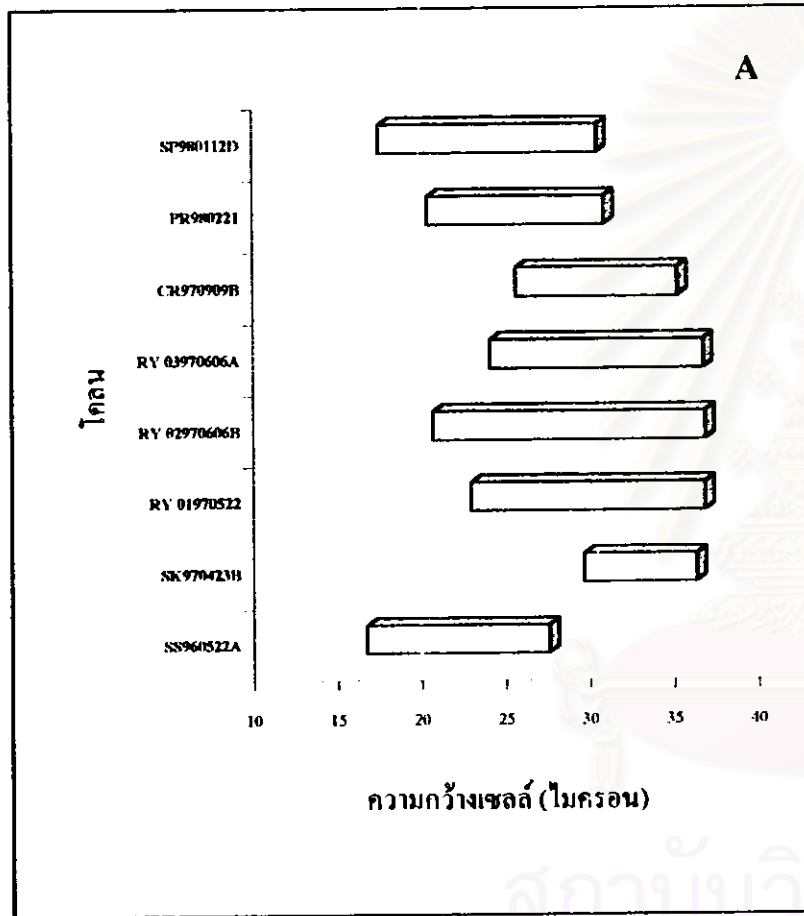
เมื่อได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์อย่างละเอียดโดยอาศัยลักษณะ รูปร่าง ขนาด การสร้างไซเซลล์ และการจัดเรียงตัวของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์เป็นเกณฑ์ในการจำแนกซึ่ง ในการศึกษาครั้งนี้เน้นที่ลักษณะแผ่นเปลือกสำคัญ 5 แผ่นได้แก่ APC, 1', 6'', S.a. และ S.p. โดยการ แยกองค์ประกอบของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ด้วยวิธี epifluorescence ซึ่งคัดแปลงจาก Fritz และ Triemer (1985) ประกอบกับการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนซึ่งคัดแปลงจากวิธีของ Moestrup และ Thomson (1980) พบว่า *Alexandrium* จากจุดเก็บตัวอย่างในบริเวณอ่าวไทยตอนบนในช่วงเวลาที่ทำ การศึกษา 2 ชนิด คือ *Alexandrium tamarense* และ *Alexandrium minutum* โดยโคลนที่เก็บจากบริเวณ หน้าศูนย์พัฒนาการประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ เป็น *A. minutum* และส่วนโคลนที่เก็บจากบริเวณอื่น ๆ อีก 7 โคลนนั้นเป็น *A. tamarense* นอกจากนี้แผ่น เปลือกที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกชนิดดังกล่าวบางแผ่นเช่นแผ่น S.p. มีความผันแปรไปจาก ลักษณะประจำชนิด (typical character) และยังพบความผันแปรของรูปร่างของแผ่นเปลือกโดยเฉพาะ แผ่น APC และ S.a. ซึ่งมีความผันแปรมากกว่าแผ่นอื่น ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงพิจารณาลักษณะ รูปร่างของแผ่นเปลือกทั้ง 5 แผ่นดังกล่าวประกอบกัน โดยเน้นพิจารณาที่แผ่นเปลือก 1', 6'' และ S.p. เป็นหลักในการจัดจำแนกชนิดควบคู่ไปกับรูปร่างและขนาดของเซลล์ รวมทั้งการสร้างไซเซลล์ ประกอบกันด้วย ดังมีรายละเอียดในแต่ละชนิดต่อไปนี้



รูปที่ 15 พิสัยความยาวของเซลล์ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยง

A. เซลล์ในระยะ log phase

B. เซลล์ในระยะ stationary phase



รูปที่ 16 พิสัยความกว้างของเซลล์ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยง

A. เซลล์ในระยะ log phase

B. เซลล์ในระยะ stationary phase

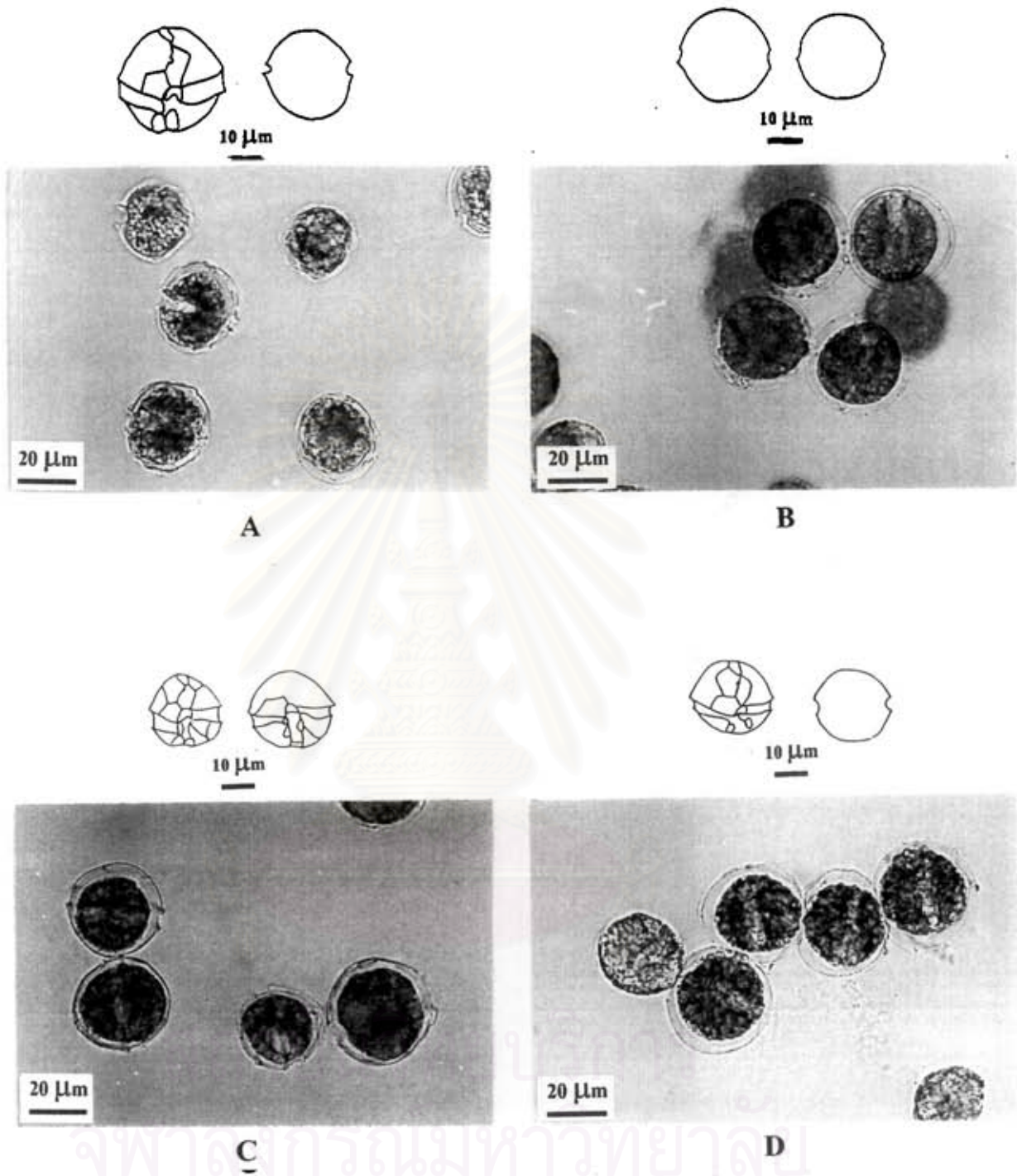
ตารางที่ 10 รายละเอียดทั่วไปเกี่ยวกับบริเวณจุดเก็บตัวอย่างที่พบ *Alexandrium*

จังหวัด	วัน เดือน ปี ที่เก็บตัวอย่าง	สถานที่	ตำแหน่ง GPS	ความหนาแน่นเซลล์ (เซลล์ / ลิตร)	โคลน
สมุทรสาคร	29/05/39	บ่อเลี้ยงกุ้ง อ.มหาชัย		< 5	SS960529A * SS960529B
สมุทรสงคราม	23/04/40	บ่อเลี้ยงปลากระบอก อ.แม่กลอง		7,500	SK970432A SK970432B *
ระยอง	22/05/40	บ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อ.แกลง		-	RY01970522 *
ระยอง	06/06/40	ปากแม่น้ำระยอง	12°36.136' N 101°25.881' E	10	RY02970606A RY02970606B * RY02970606C RY02970606D RY02970606E
ระยอง	06/06/40	บ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อ.แกลง	12°40.302' N 101°39.866' E	15,000	RY03970606A * RY03970606B RY03970606C
จันทบุรี	09/09/40	บ่อเลี้ยงกุ้ง อ.ท่าใหม่		50	CR970909A CR970909B * CR970909C CR970909D
จันทบุรี	12/01/41	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา หน้าศูนย์พัฒนาประมง แห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้	13°21.811' N 100°00.720' E	24	SP980112A SP980112B SP980112C SP980112D *
เพชรบุรี	21/02/41	บ่อเลี้ยงกุ้ง อ.เมือง	12°58.9167' N 100°02.868' E	< 5	PR980221 *

หมายเหตุ * แทน โคลนที่มีการเติบโตดี และคัดเลือกเป็นตัวแทนจากแต่ละจุดเก็บ
เพื่อใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

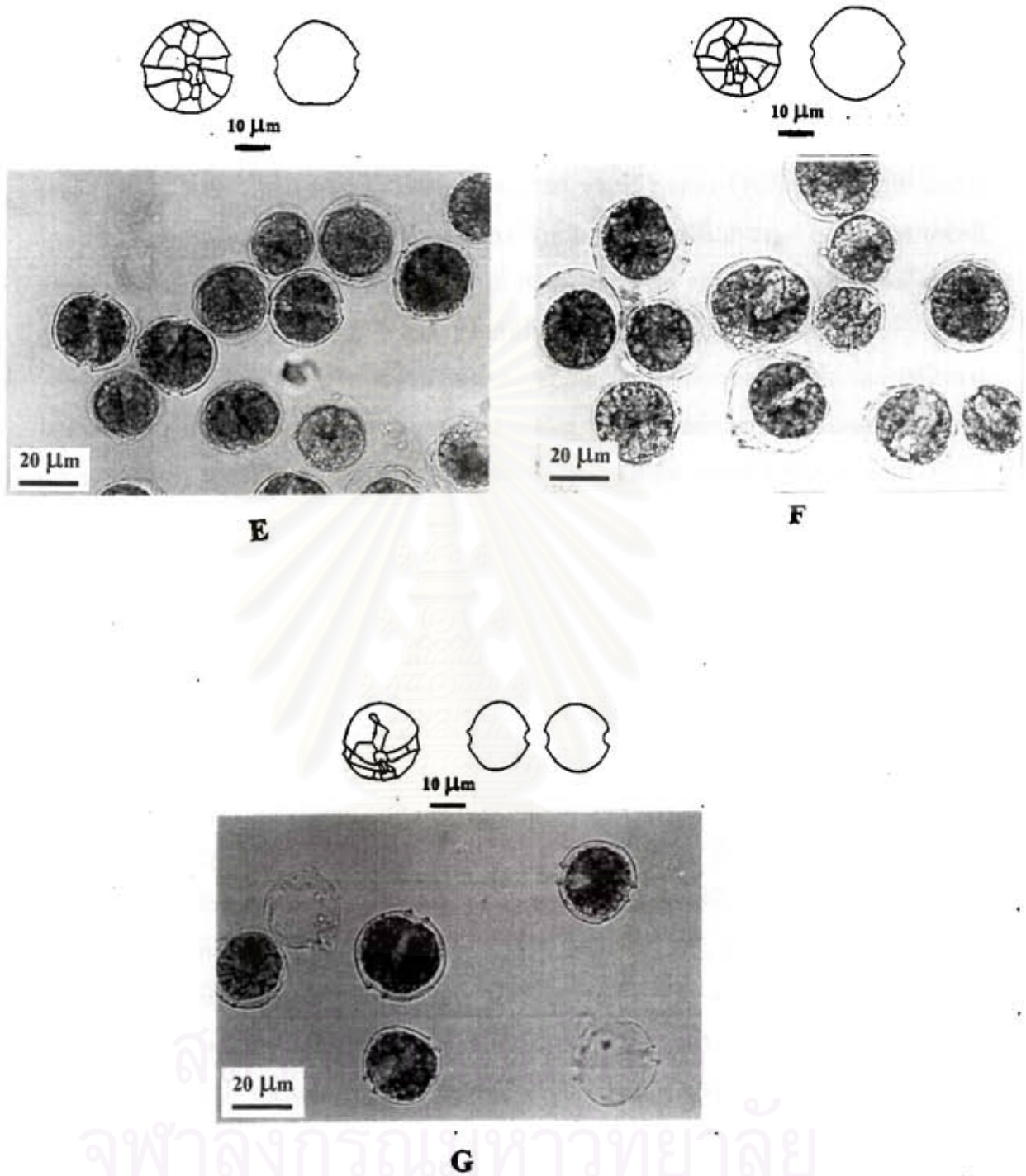
Alexandrium tamarense (Lebour) Balechชื่อพ้อง *Gonyaulax tamarensis**Gonyaulax tamarensis* var. *excavata**Protogonyaulax tamarensis**Alexandrium excavatum*

ลักษณะทั่วไป คือ เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม เมื่อมองทางด้าน ventral view ที่ด้านท้ายของเซลล์มักจะมีลักษณะค่อนข้างแบน เซลล์มีความยาวเท่า ๆ กับความกว้าง หรือมากกว่าความกว้างเล็กน้อย โดยมีความยาวเซลล์เฉลี่ยอยู่ในพิสัย 18.19 ถึง 33.04 ไมครอน และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 17.43 ถึง 30.57 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 0.89 ถึง 1.46 เท่า epitheca มีรูปร่างคล้ายรูประฆังคว่ำ หรือครึ่งวงกลม มีขนาดค่อนข้างเล็กกว่า hypotheca ส่วน hypotheca มีรูปร่างเป็นรูปครึ่งวงกลม พบ girdle อยู่ที่ประมาณกึ่งกลางเซลล์ซึ่งเว้าเป็นร่องเห็นได้ชัดเจนและเหลื่อมล้ำไปทางด้านซ้ายประมาณ 1 เท่าของความกว้าง girdle บริเวณ sulcus ไม่พบ sulcal list (รูปที่ 17) เมื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของแผ่นเปลือกหุ้มที่ใช้ในการจำแนกชนิด พบว่า APC มีรูปร่างคล้ายสามเหลี่ยมหรือสี่เหลี่ยมแคบ ๆ ที่มีความยาวเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 4.92 ถึง 7.18 ไมครอน และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 2.04 ถึง 3.71 ไมครอน ขอบด้านบนและด้านล่างของ APC ดัดตรง (หรือบางครั้งพบขอบด้านล่างเรียวแหลม) ขอบด้านขวาโค้งเว้าคล้ายรูปตัวเอส (S) หรือค่อนข้างตรง ส่วนขอบด้านซ้ายโค้งลาดลงจากขอบด้านบนจนถึงขอบด้านล่าง ภายใน APC มีรูคล้ายเครื่องหมายลูกน้ำอยู่ตรงกลาง callus มองเห็นได้ชัดเจนที่ขอบด้านท้องของเครื่องหมายลูกน้ำ แต่ไม่พบ anterior attachment pore APC เชื่อมต่อกับแผ่น 1' โดยตรง แผ่นเปลือกที่ 1' ค่อนข้างกว้าง และมีความกว้างเป็นครึ่งหนึ่งของความยาวแผ่นซึ่งมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 4.16 ถึง 7.25 ไมครอน ขอบด้านบนและขอบด้านล่างดัดตรง พบ ventral pore อยู่ตรงบริเวณครึ่งหนึ่งหรือก่อนไปทางด้านบน (0.29 ถึง 0.65 เท่า) ของความยาวรอยต่อระหว่างแผ่นเปลือกที่ 1' กับ 4' หรือในบางครั้งพบว่า V.p. ลูกน้ำเข้ามาในแผ่นที่ 1' แผ่นเปลือกที่ 6" มีรูปร่างเป็นรูปห้าเหลี่ยม มีความกว้างเท่า ๆ กันกับความยาวแผ่นหรือมากกว่าเล็กน้อย โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวกับความกว้างของแผ่นประมาณหนึ่งเท่า (0.98 ถึง 1.23 เท่า) ปลายขอบด้านล่างซ้ายเบนเฉียงเข้าหา anterior sulcal plate anterior sulcal plate มีรูปร่างเป็นรูปเกือบม้าที่มีขอบด้านบนดัดตรง และมีความยาวใกล้เคียงกับความกว้าง หรือมากกว่าเล็กน้อย โดยส่วนมากพบว่ามีความกว้างที่ส่วนล่างมากกว่าความกว้างที่ส่วนบน ซึ่งที่ขอบด้านล่างจะเว้าเข้าด้านในของแผ่นเล็กน้อยประมาณหนึ่งในสามของความยาวแผ่น posterior sulcal plate มีรูปร่างคล้ายสี่เหลี่ยมผืนผ้า ขอบด้านบนเว้าเข้าเล็กน้อยตรงรอยต่อกับแผ่นเปลือก S.d.p. และ S.s.p. ส่วนขอบด้านล่างดัดตรงหรือโค้งเล็กน้อยซึ่งบางครั้งพบว่าเบนลาดเฉียงไปทางด้านขวา โดยมีความกว้างมากกว่าความยาวแผ่นประมาณ 1.10 ถึง 1.57 เท่า ที่ S.p. นี้อาจพบหรือไม่พบ posterior attachment pore แต่ถ้าปรากฏจะอยู่ที่มุมบนด้านขวาของแผ่น โดยปกติพบอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว และพบเป็นเซลล์คู่ได้บ้างเมื่อ



รูปที่ 17 รูปร่างลักษณะของ *Alexandrium tamarense* โคลนต่าง ๆ

- A. โคลน SS960522A ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรสาคร
- B. โคลน SK970423B ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอมะกลอง จังหวัดสมุทรสงคราม
- C. โคลน RY01970522 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง
- D. โคลน RY02970606B ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง



รูปที่ 17 (ต่อ) รูปร่างลักษณะของ *Alexandrium tamarense* โคลนต่างๆ

E. โคลน RY03970606B ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

F. โคลน CR970909B ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

G. โคลน PR980221 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี

culture อยู่ในระยะ log phase ในจำนวนโคตอนของ *Alexandrium* ที่เป็นตัวแทนจากแต่ละจุดเก็บทั้งหมด 8 แห่ง มีอยู่ 7 แห่งที่จัดจำแนกชนิดเป็น *A. tamarense* ได้แก่โคตอน SS960529A จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร (รูปที่ 18-19) โคตอน SK970423B จากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม (รูปที่ 20-21) โคตอน RY01970522 จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง (รูปที่ 22-23) โคตอน RY02970606B จากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง (รูปที่ 24-25) โคตอน RY03970606B จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง (รูปที่ 26-27) โคตอน CR970909B จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี (รูปที่ 28-29) และโคตอน PR980221 จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี (รูปที่ 30-31) โดยแต่ละโคตอนมีลักษณะดังนี้

เมื่อได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และแผ่นเปลือกสำคัญที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกชนิดแล้วทำให้พบว่าขนาดของเซลล์ และแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ของ *A. tamarense* ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ มีความผันแปรของรูปร่างและขนาดอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งจัดเป็นความผันแปรที่เกิดขึ้นภายในชนิดเดียวกันที่อยู่ต่างบริเวณกัน (Interspecific variation of plate morphology) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าแม้แต่ในแต่ละเซลล์ซึ่งอยู่ในโคตอนเดียวกันก็พบความผันแปรได้เช่นกัน (Intraspecific variation of plate morphology) ทั้งนี้ขนาดของเซลล์และแผ่นเปลือกมีขนาดแตกต่างกัน โดย APC มีความยาวเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 4.51 ถึง 7.18 ไมครอน มีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 2.04 ถึง 3.71 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 1.70 ถึง 2.51 เท่า (รูปที่ 19A, 21A, 23A, 25A, 27A, 29A และ 31A) แผ่นที่ 1' มีความยาวอยู่ในพิสัย 9.12 ถึง 14.66 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 4.16 ถึง 7.25 ไมครอนและมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 1.61 ถึง 2.68 เท่า (รูปที่ 19B, 21B, 23B, 25B, 27B, 29B และ 31B) แผ่นที่ 6" มีความยาวอยู่ในพิสัย 7.16 ถึง 10.94 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 7.07 ถึง 13.44 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 0.81 ถึง 1.20 เท่า (รูปที่ 19C, 21C, 23C, 25C, 27C, 29C และ 31C) แผ่น S.a. มีความยาวอยู่ในพิสัย 4.63 ถึง 6.70 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 4.16 ถึง 5.67 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 0.73 ถึง 1.42 เท่า (รูปที่ 19D, 21D, 23D, 25D, 27D, 29D และ 31D) และแผ่น S.p. มีความยาวอยู่ในพิสัย 6.11 ถึง 9.32 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 7.72 ถึง 11.97 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 0.46 ถึง 0.91 เท่า (รูปที่ 19E, 21E, 23E, 25E, 27E, 29E และ 31E) และพบ V.p. อยู่ที่ระยะ 0.29 ถึง 0.65 เท่าของความยาวรอยต่อระหว่างแผ่นที่ 1' และ 4' โดยในแต่ละโคตอนมีลักษณะที่แตกต่างไปจากลักษณะทั่วไปดังนี้

โคตอน SS960529A ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรสาคร มีขนาดเซลล์ค่อนข้างเล็กกว่าในโคตอนอื่น ๆ โดยเซลล์มีความยาวและความกว้างเฉลี่ย 19.88 ± 1.69 และ 19.06 ± 1.63 ไมครอน ตามลำดับ (รูปที่ 17A)

โคตอน SK970423B ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม มี

เปลือกหุ้มเซลล์บางมากจนไม่สามารถวัดความลึกของ girdle ได้ (รูปที่ 17B) รวมทั้ง APC และแผ่น 1' ก็มีขนาดใหญ่กว่าโคลนอื่นด้วย (รูปที่ 18A, 19A-B)

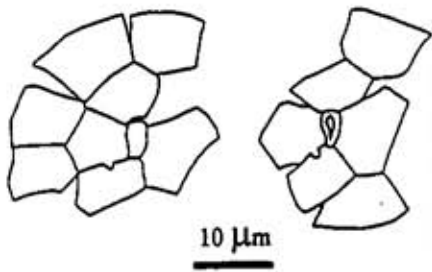
โคลน RY01970522 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง พบ V.p อยู่ในตำแหน่งที่ไม่ถึงครึ่งหนึ่งของความยาวรอยต่อระหว่างแผ่น 1' กับ 4' มีแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ค่อนข้างหนากว่าในโคลนอื่น ๆ และมักพบความผิดปกติของแผ่นเปลือก epitheca โดยมีแผ่นเปลือกในชุด apical plates เกินมาจากปกติรวมเป็น 5 แผ่นในบริเวณที่ติดกับขอบด้านบนของ APC และอยู่ระหว่างแผ่นเปลือกที่ 3' กับ 4' (รูปที่ 32) ซึ่งการที่มีแผ่นเปลือกหนาทำให้สามารถเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกนได้ดีกว่าโคลนอื่น ๆ อีกด้วย (รูปที่ 22C)

โคลน RY02970606B จากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง มีแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์บางเช่นเดียวกับโคลน SK970423B แต่ยังสามารถวัดความลึกของ girdle ได้ (รูปที่ 17D)

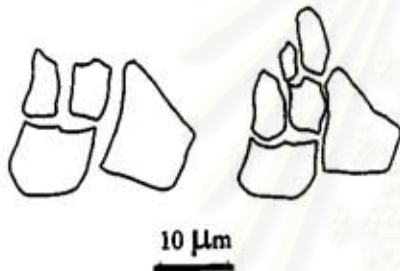
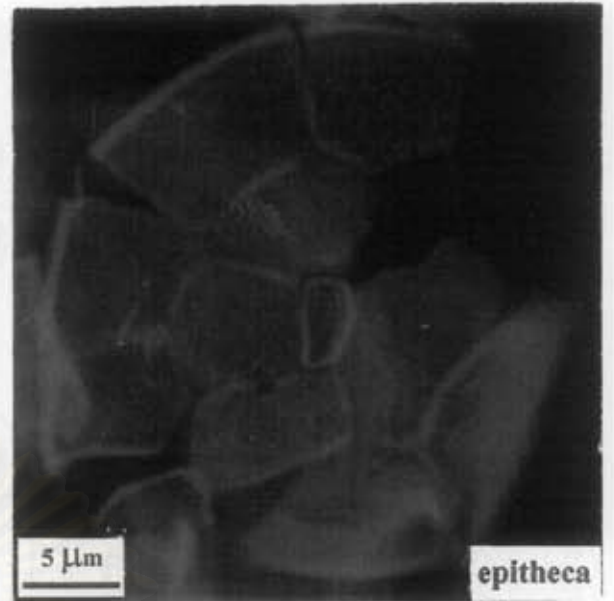
โคลน RY03970606A ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง มีแผ่น 1' แคบกว่าโคลนอื่น ๆ (รูปที่ 27B)

โคลน CR970909B ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี มีขนาดเซลล์ค่อนข้างใหญ่กว่าในโคลนอื่น (รูปที่ 17F) โดยมีความยาวและความกว้างเฉลี่ย 30.08 ± 2.96 และ 28.64 ± 2.22 ไมครอน ตามลำดับ

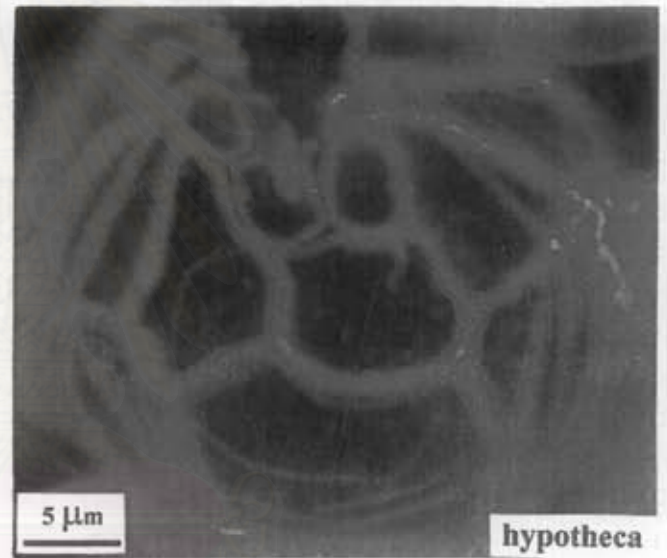
โคลน PR980221 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี มีแผ่น S.p. ที่มีขนาดเล็กกว่าโคลนอื่น ๆ (รูปที่ 31E)



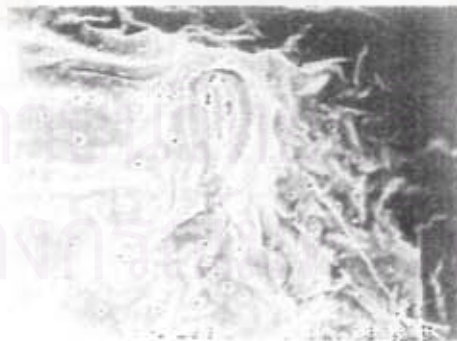
A



B



C



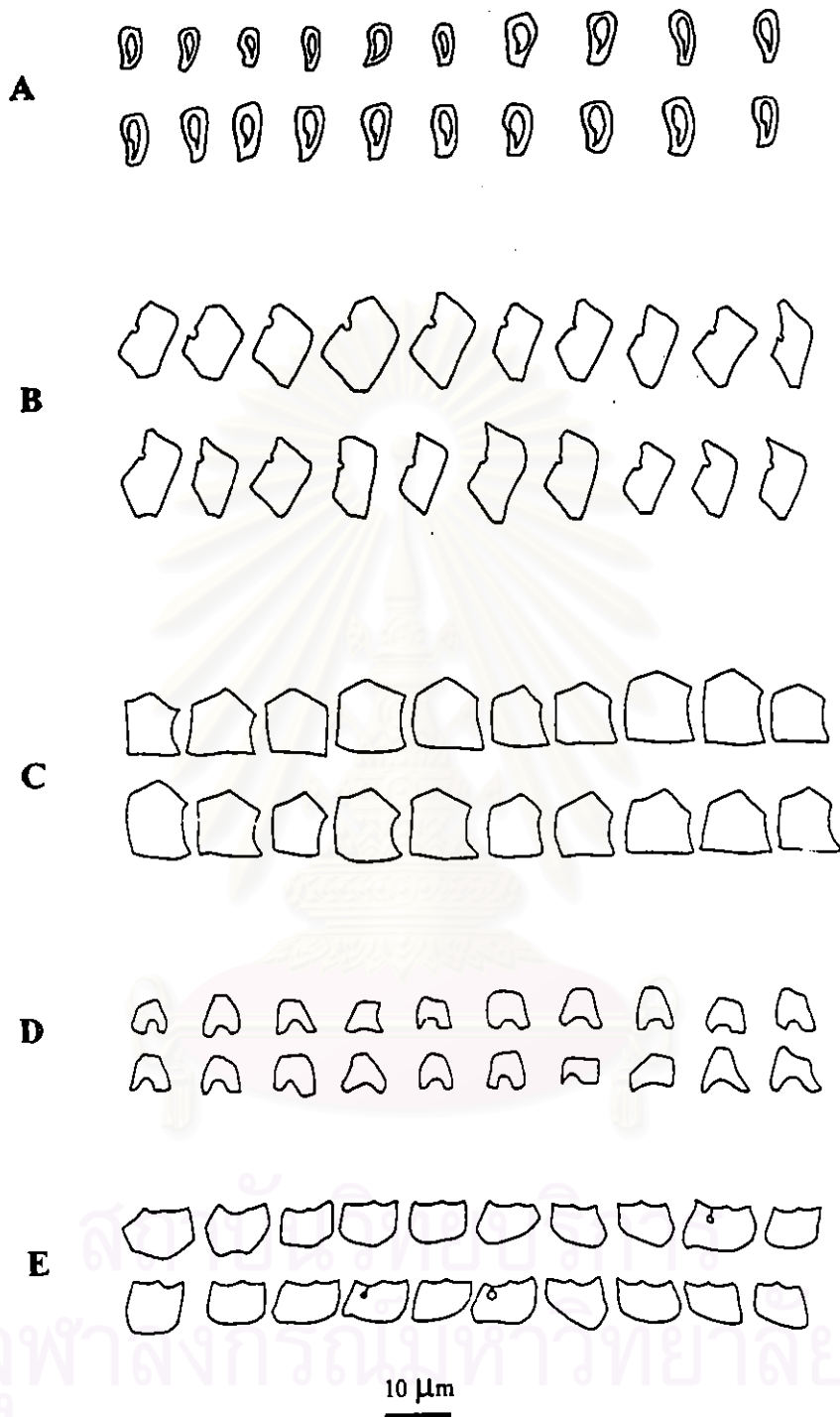
รูปที่ 18 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคลน SS960529A

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรสาคร

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6"

B. hypotheca แสดง S.p.

C. APC ; ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



รูปที่ 19 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคทอน SS960529A

ที่เก็บจากจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอบางพลี จังหวัดสมุทรสาคร

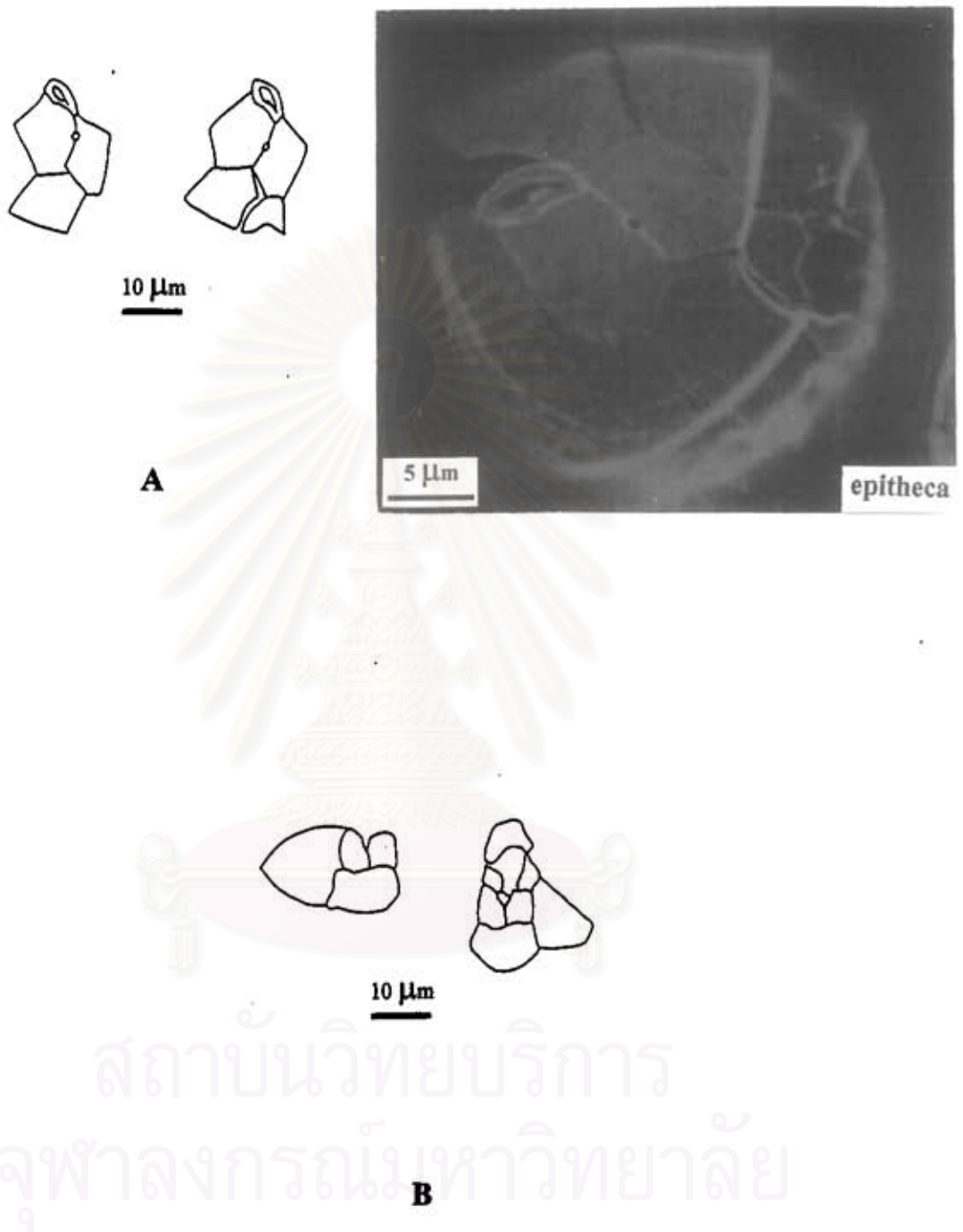
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

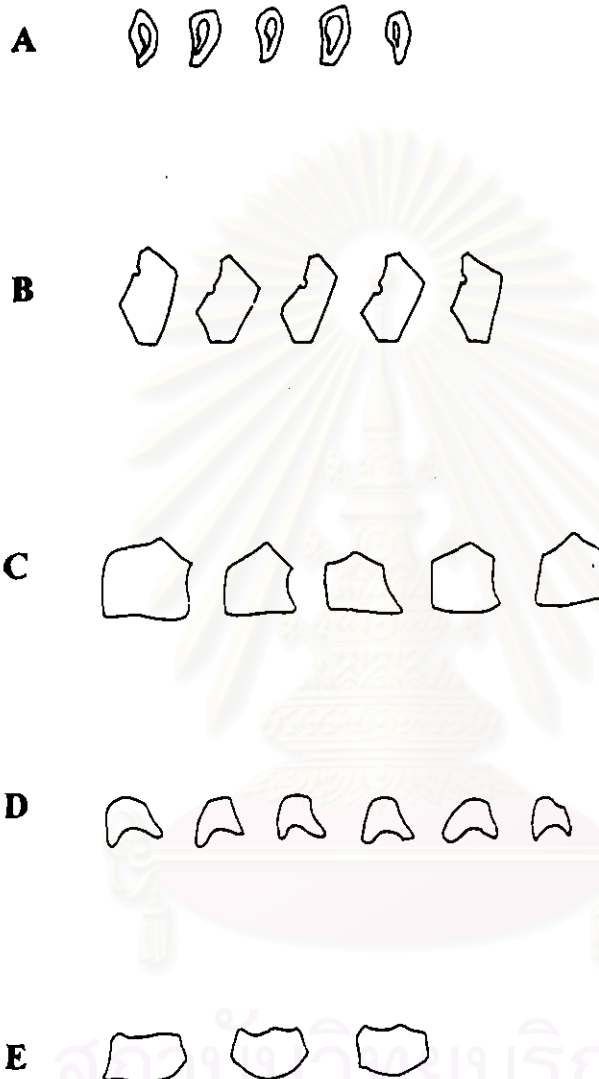
B. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.



รูปที่ 20 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคน SK970423B
 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลกระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม
 A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6" B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 21 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญใน โคน SK970423B

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม

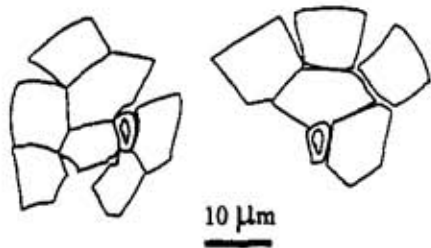
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

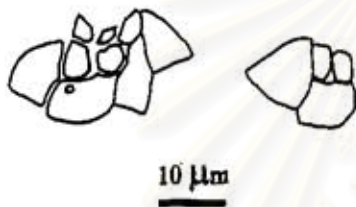
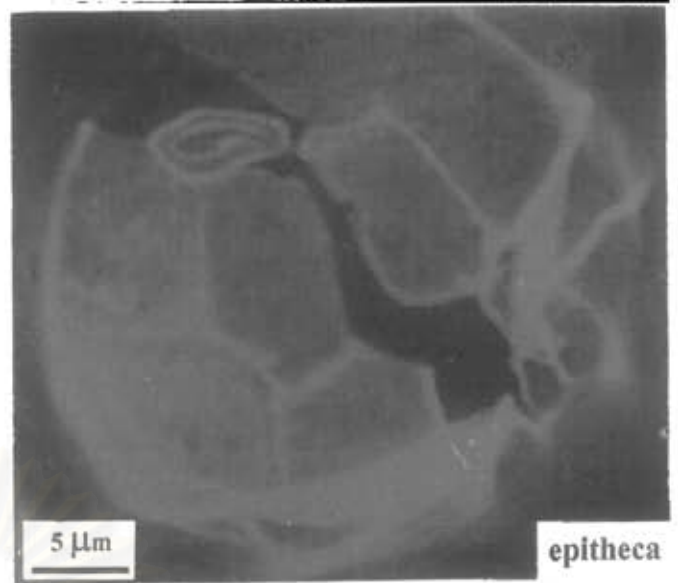
C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

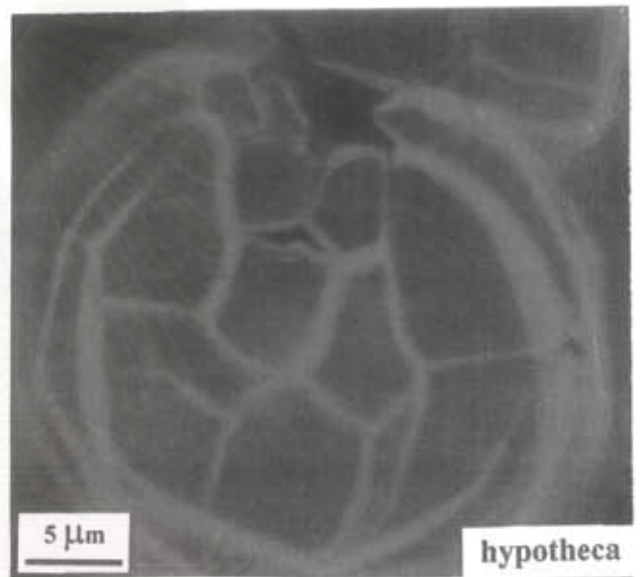
E. Posterior sulcal plate : S.p.



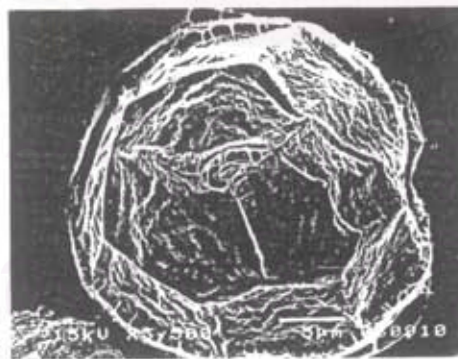
A



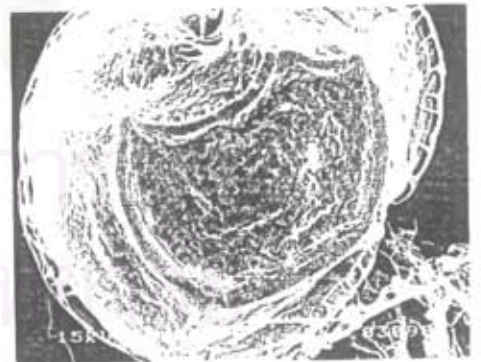
B



C



epitheca



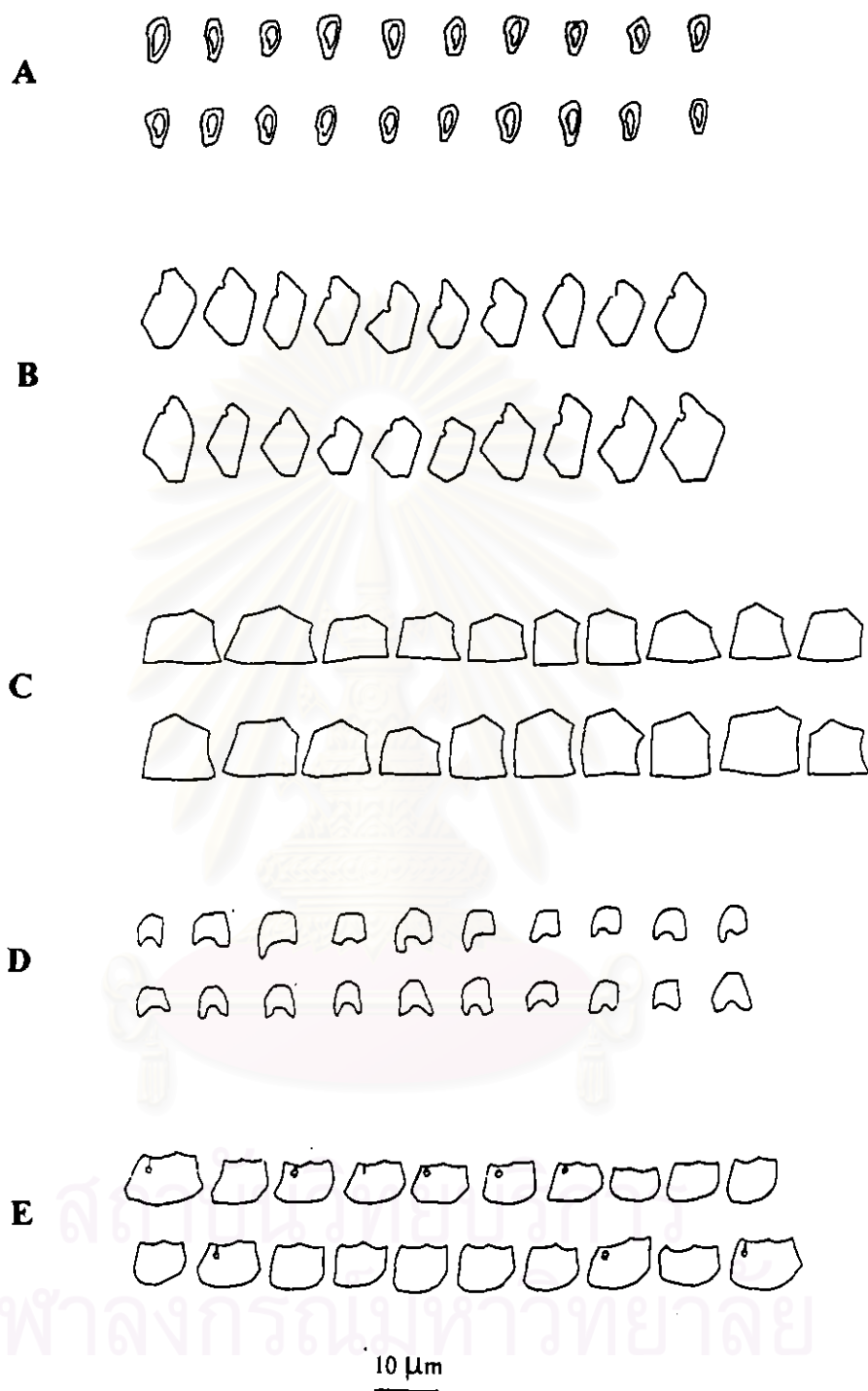
hypotheca

รูปที่ 22 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โดทน RY01970522

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 ชำเภอแกตง จังหวัดระยอง

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6'' B. hypotheca แสดง S.p.

C. epitheca และ hypotheca ; ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



รูปที่ 23 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน: RY01970522

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

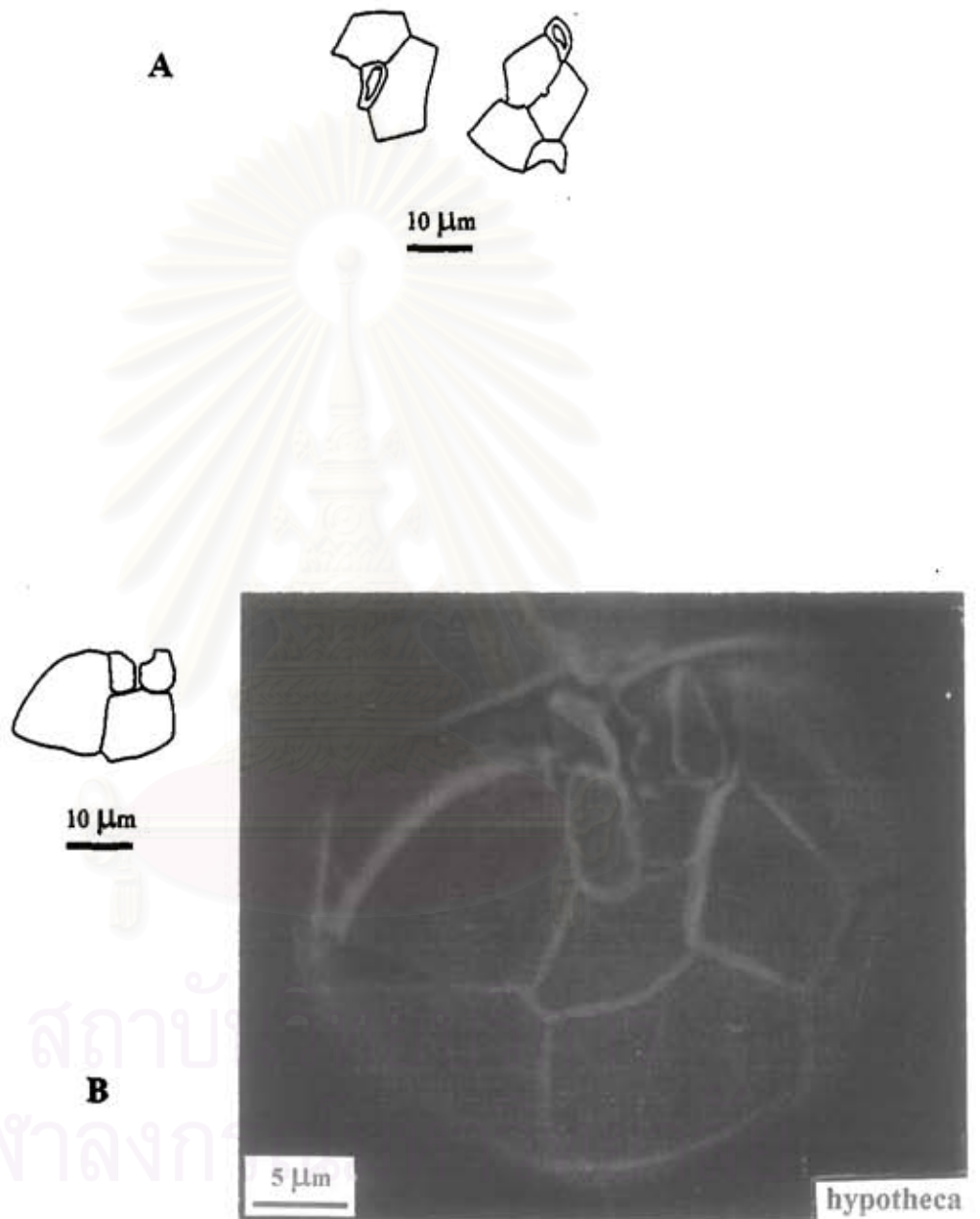
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.

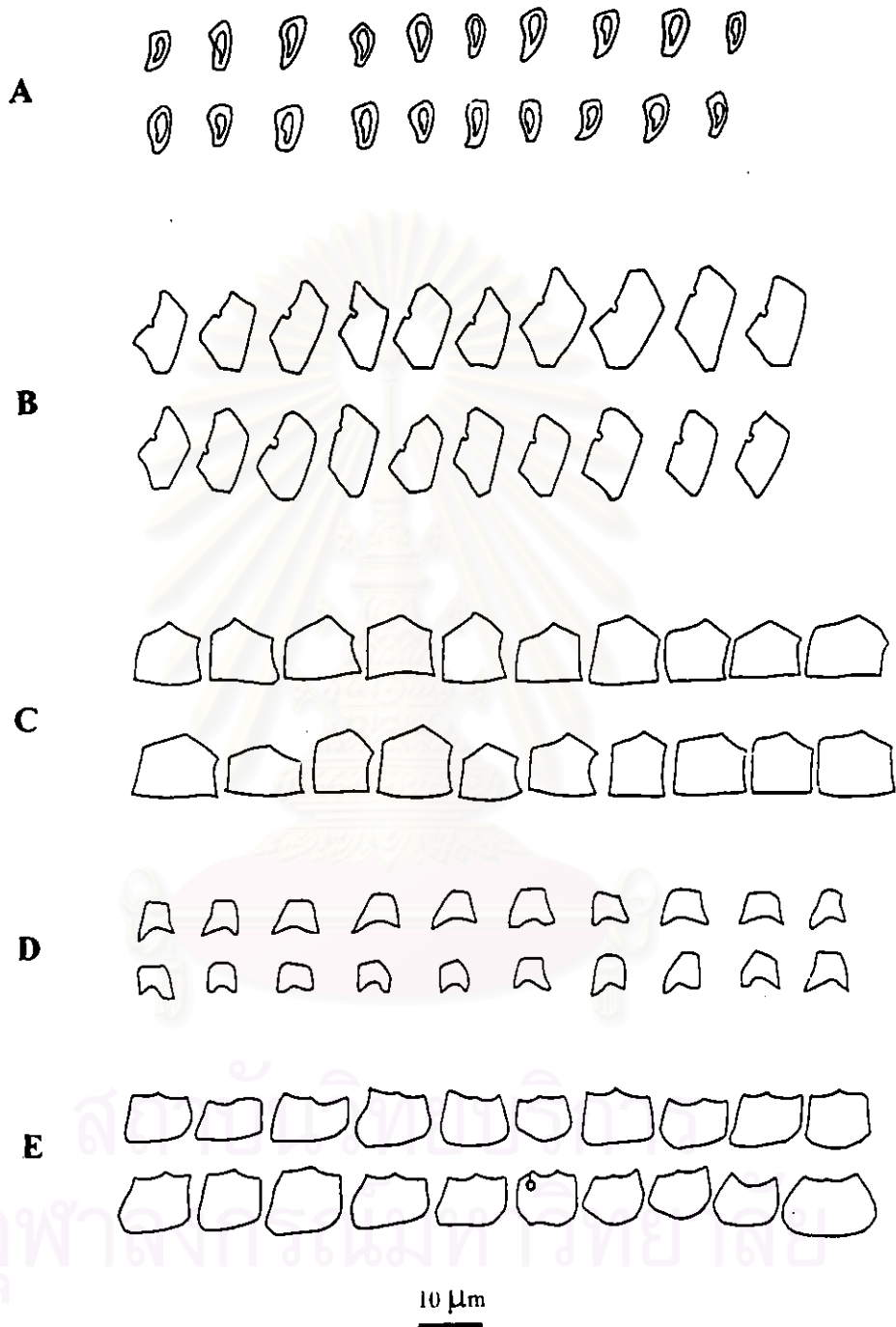


รูปที่ 24 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคน RY02970606B

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6''

B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 25 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน RY02970606B

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง

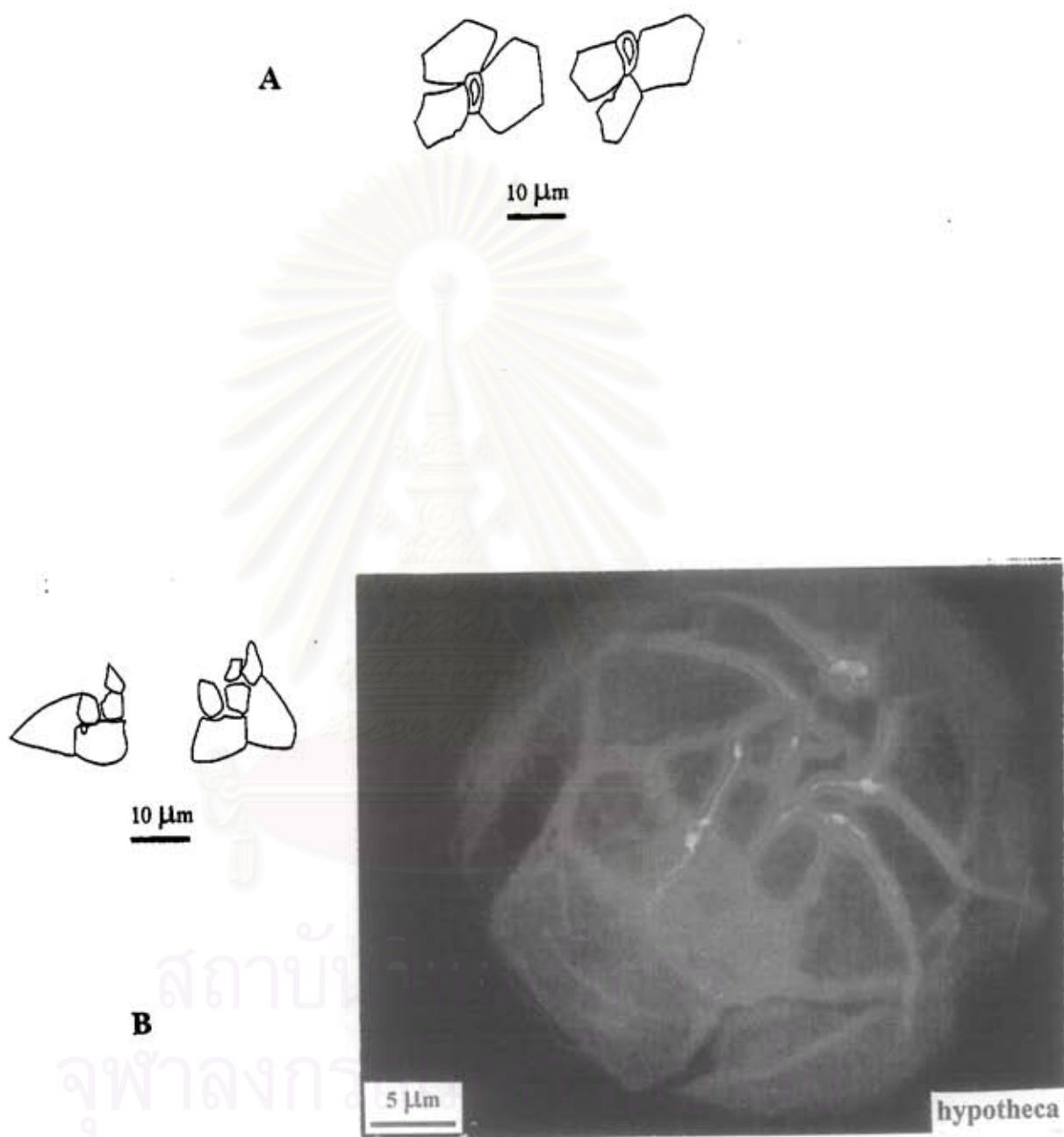
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

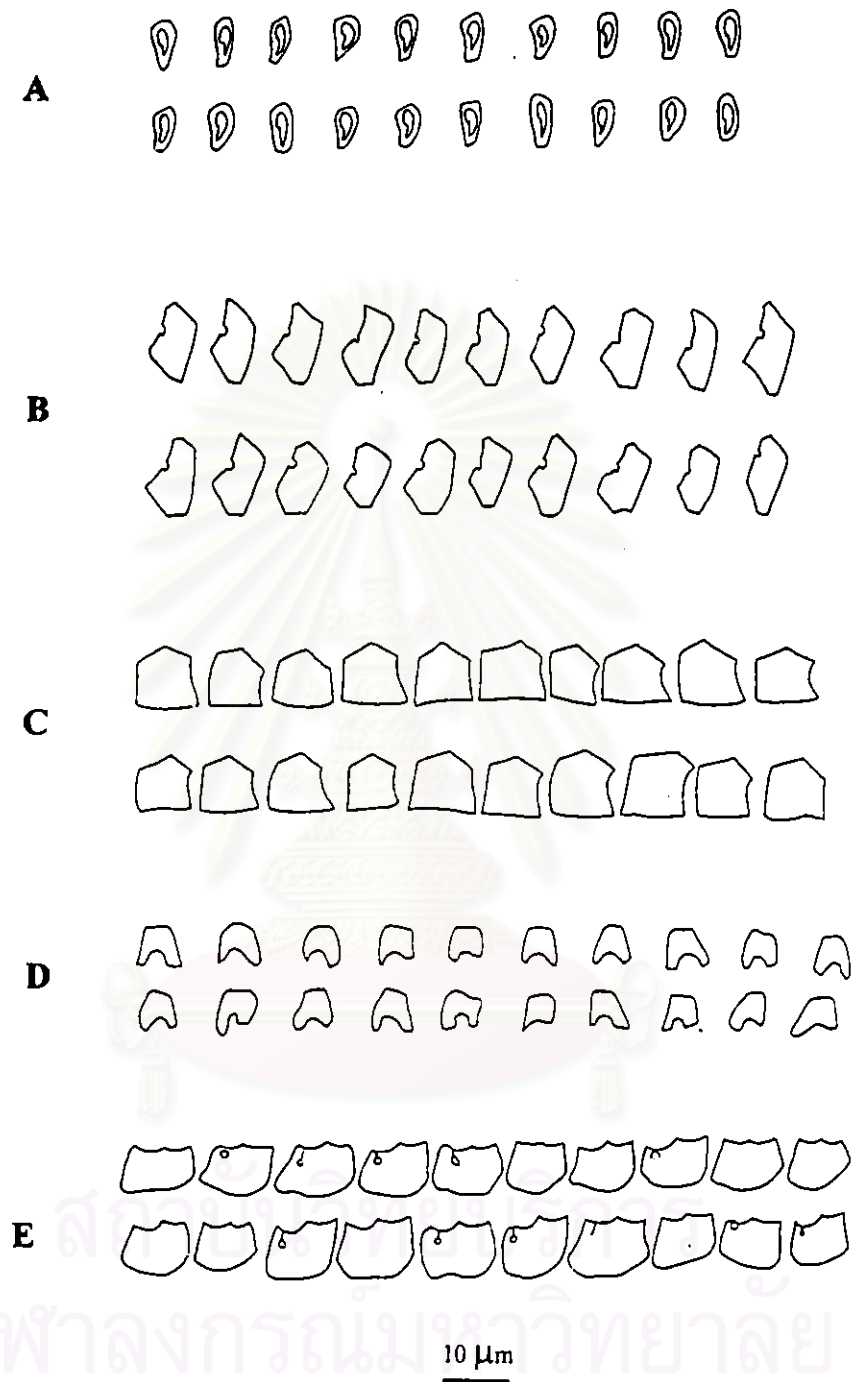
C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.



รูปที่ 25 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคลน RY03970606A
 ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง
 A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6" B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 27 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน RY03970606A

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแก่ง จังหวัดระยอง

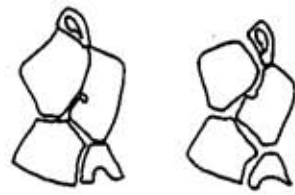
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

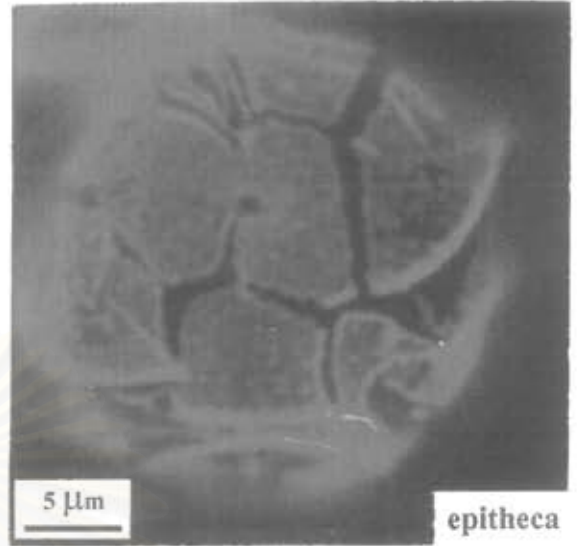
C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.

10 μm

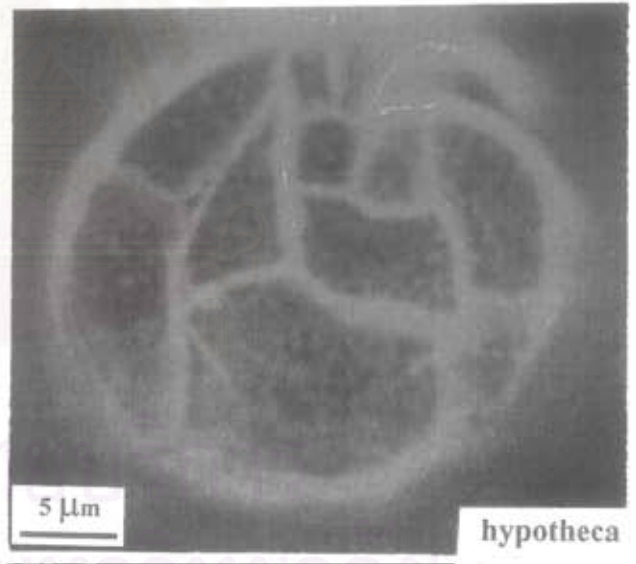
A



epitheca

10 μm

B



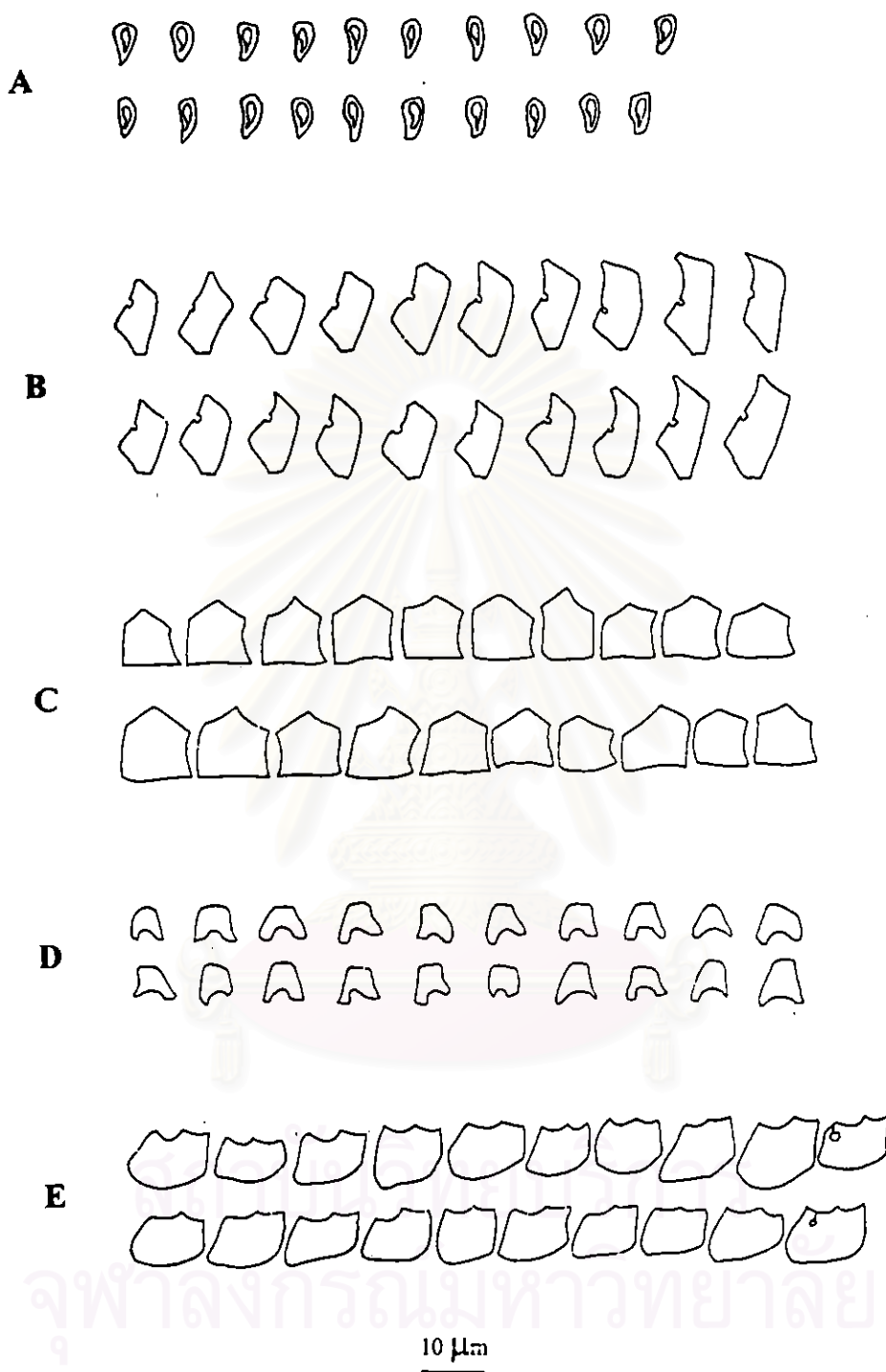
hypotheca

รูปที่ 28 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคลน CR970909B

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6''

B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 29 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน CR970909B

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี

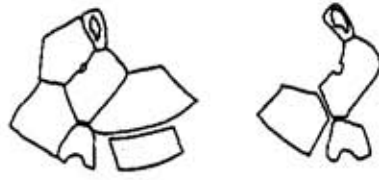
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

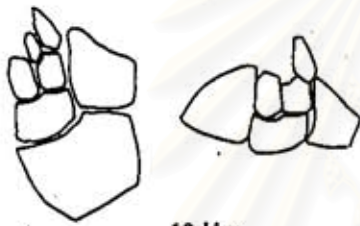
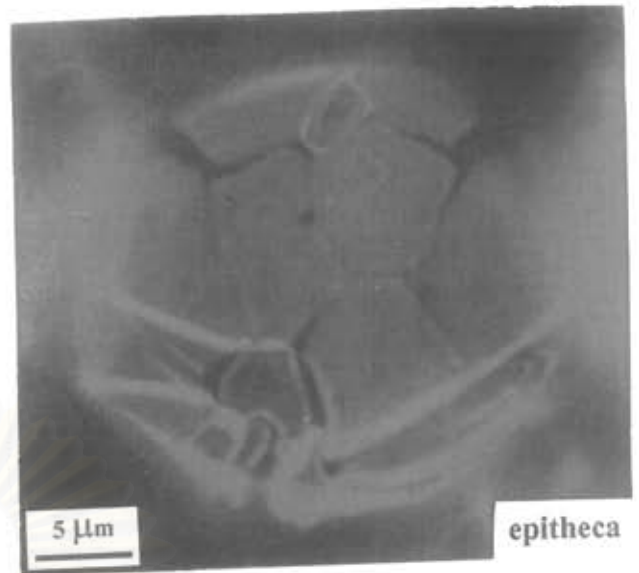
C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

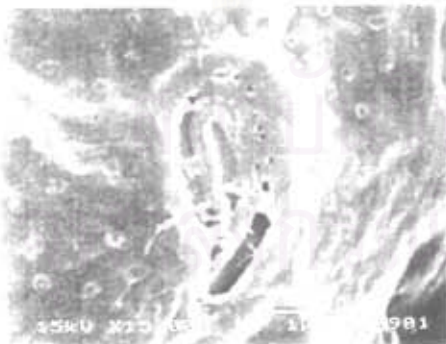
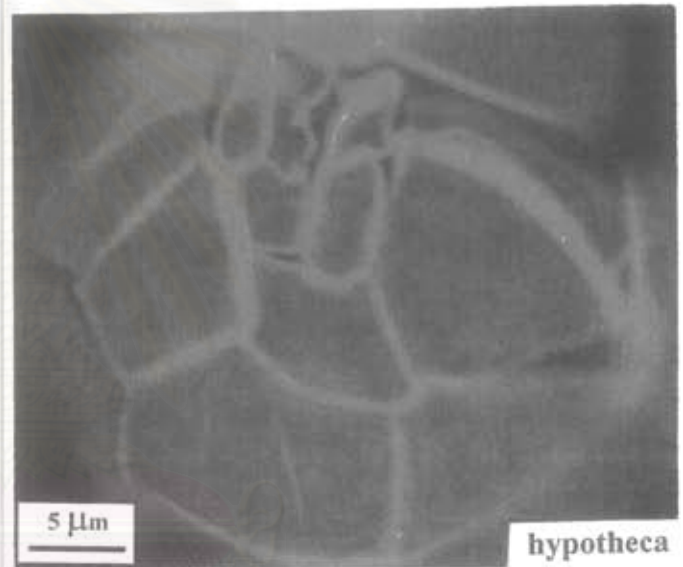
E. Posterior sulcal plate : S.p.

10 μm

A

10 μm

B



C

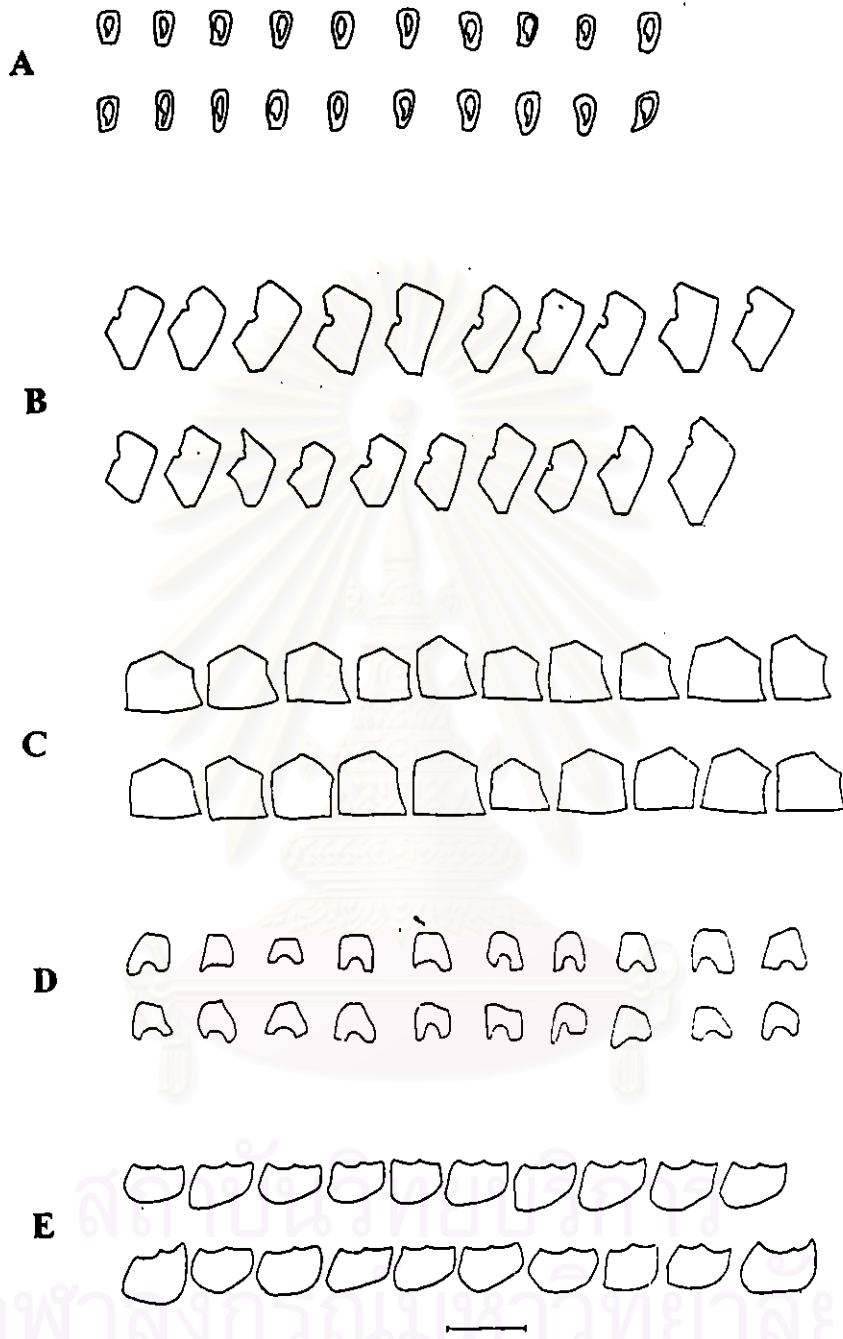
รูปที่ 30 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium tamarense* โคนน PR980221

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6''

B. hypotheca แสดง S.p.

C. APC ; ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



รูปที่ 31 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคถน PR980221

ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี

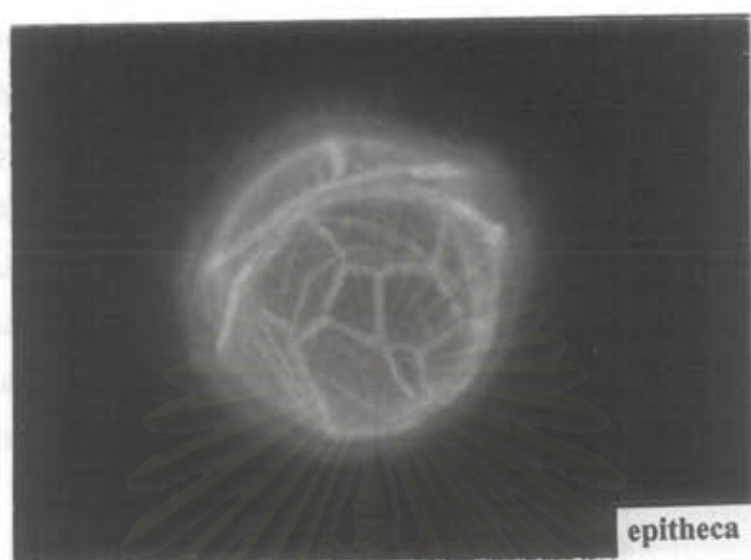
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.

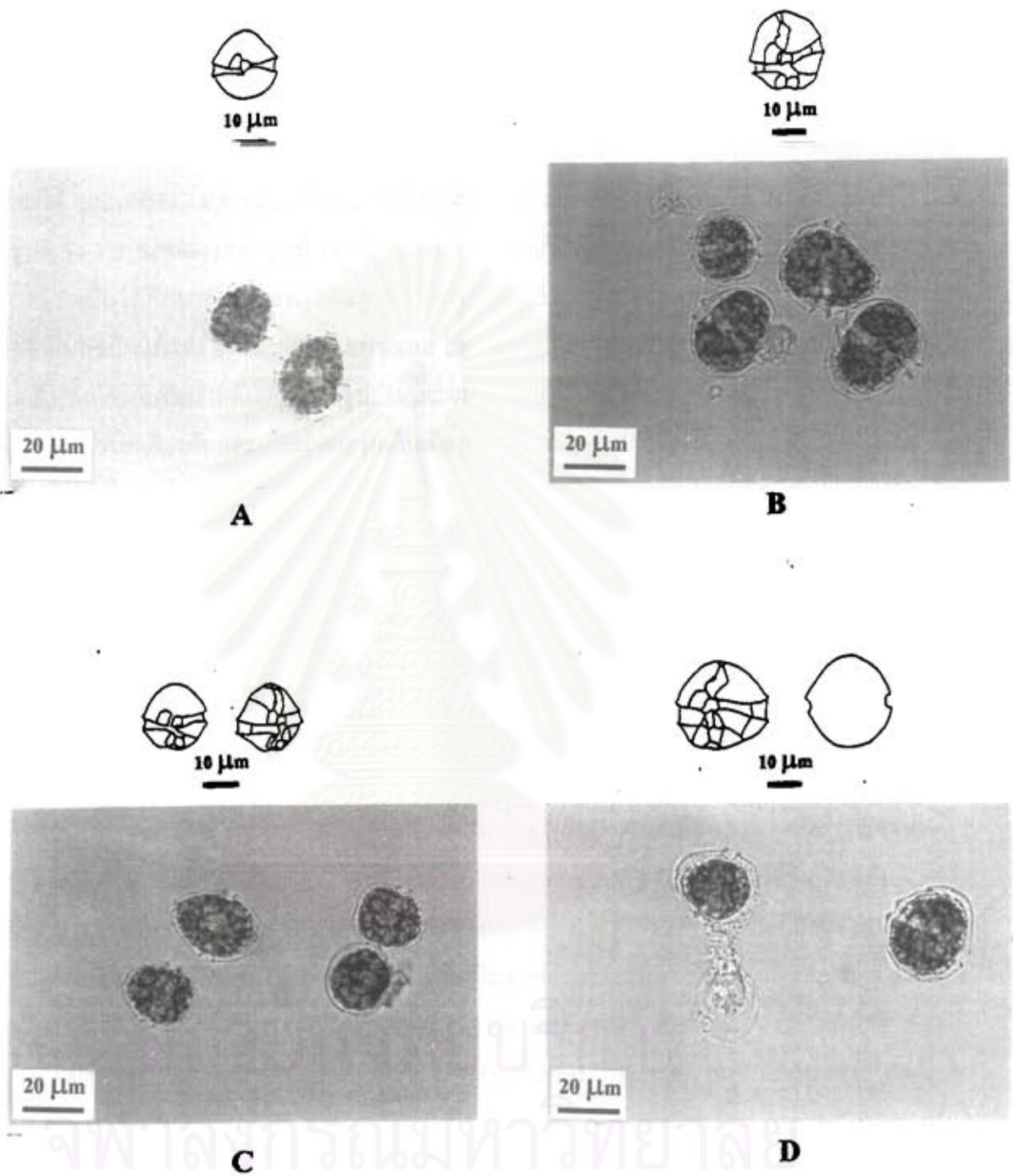


รูปที่ 32 ความผันแปรของจำนวนแผ่นเปลือกใน epitheca ของ *A. tamarensis* โคลน RY01970522
ที่เก็บจากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Alexandrium minutum Hallm 1960 , Balech 1989ชื่อพ้อง *Alexandrium ibericum* Balech*Alexandrium lusitanicum* Balech

ลักษณะทั่วไป คือ เซลล์มีรูปร่างค่อนข้างกลม เมื่อมองทางด้าน ventral view มีความยาวเท่า ๆ กันกับความกว้าง หรือมากกว่าเล็กน้อย ในบางครั้งพบว่ามีความกว้างมากกว่าความยาว โดยมีความยาวเซลล์เฉลี่ยอยู่ในพิสัย 18.24 ถึง 27.39 ไมครอน และมีความกว้างเซลล์เฉลี่ยอยู่ในพิสัย 16.76 ถึง 26.85 ไมครอน ซึ่งมีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้างเซลล์เฉลี่ยอยู่ในพิสัย 0.97 ถึง 1.15 เท่า (รูปที่ 33) epitheca มีรูปร่างคล้ายรูปประฆังคว่ำ และมีความสูงจากบริเวณขอบ girdle จนถึง apex มากกว่าความสูงจากขอบ girdle ถึง antapex ของ hypotheca ส่วน hypotheca มีรูปร่างเป็นรูปครึ่งวงกลม พบ girdle อยู่ที่ประมาณกึ่งกลางเซลล์ซึ่งหยักเว้าเป็นร่องเห็นได้ชัดเจน และเชื่อมต่อเข้าไปทางด้านซ้ายประมาณ 1 เท่า ของความกว้างของ girdle โดยมีความลึกเฉลี่ยประมาณ 1.32 ไมครอน ที่บริเวณ sulcus ไม่พบ sulcus list เมื่อศึกษาลักษณะรูปร่างของแผ่นเปลือกหุ้มที่ใช้ในการจำแนกชนิด พบว่า APC มีรูปร่างคล้ายสามเหลี่ยม หรือสี่เหลี่ยมแคบ ๆ มีความยาวเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 4.74 ถึง 6.49 ไมครอน และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 2.48 ถึง 3.33 ไมครอน ขอบด้านบน และด้านล่างตัดตรง ขอบด้านขวาโค้งเว้าคล้ายรูปตัวเอส (S) หรือค่อนข้างตรง ส่วนขอบด้านซ้ายโค้งลาดลงจากขอบด้านบนจนถึงขอบด้านล่าง ภายใน APC มีรูคล้ายเครื่องหมายลูกน้ำอยู่ตรงกลาง callus มองเห็นได้ชัดเจนที่ขอบด้านท้องของเครื่องหมายลูกน้ำ แต่ไม่พบ anterior attachment pore APC เชื่อมต่อกับแผ่น 1' โดยตรงหรือบางครั้งพบว่ามีส่วนเชื่อมระหว่างกัน แผ่นเปลือกที่ 1' ค่อนข้างแคบเมื่อเทียบกับใน *A. tamarense* โดยมีความกว้างเป็นหนึ่งในสามของความยาวแผ่น และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ในพิสัย 3.44 ถึง 5.53 ไมครอน ซึ่งมีขอบด้านบนและขอบด้านล่างตัดตรง ที่ขอบด้านขวาจะเว้าในบริเวณที่พบ ventral pore โดยตำแหน่งที่พบ ventral pore ไม่แน่นอน แต่มักจะพบอยู่ตรงบริเวณครึ่งหนึ่งหรือมากกว่าครึ่งหนึ่งของความยาวของรอยต่อระหว่างแผ่นเปลือกที่ 1' กับ 4' (0.21 ถึง 0.66 เท่าของความยาวของรอยต่อ) สำหรับแผ่นเปลือกที่ 6'' มีรูปร่างเป็นรูปห้าเหลี่ยมที่มีความกว้างน้อยกว่าความยาว ซึ่งเป็นลักษณะที่แตกต่างไปจาก *A. tamarense* อย่างเห็นได้ชัดเจน โดยมีอัตราส่วนระหว่างความยาวกับความกว้างของแผ่นประมาณ 1.4 เท่า บางครั้งพบว่าขอบด้านบนไม่เป็นมุม แต่จะตัดตรงลาดเอียงลงจากทางมุมด้านขวามายังมุมด้านซ้ายที่ติดต่อกับ S.a. และที่ปลายขอบแผ่น 6'' ด้านล่างซ้ายเบนเอียงเข้าหา anterior sulcal plate anterior sulcal plate มีรูปร่างเป็นรูปเกือบสามเหลี่ยมที่มีขอบด้านบนตัดตรง และมีความกว้างน้อยกว่าความยาว โดยมีความกว้างที่ส่วนล่างเท่า ๆ กัน หรือมากกว่าความกว้างที่ส่วนบนเล็กน้อย ขอบด้านล่างเว้าประมาณหนึ่งในสามจนถึงกึ่งหนึ่งของความยาวแผ่น posterior sulcal plate มีรูปร่างคล้ายสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้างมากกว่าความยาวประมาณ 1.04 ถึง 1.88 โดยมีขอบด้านบนเว้าเข้าเล็กน้อยตรงรอยต่อกับแผ่นเปลือก S.d.p. และ S.s.p. ส่วนขอบด้านล่างโค้งมน หรือในบางครั้งตัดตรง และเบนเอียงไปทางด้านขวา อาจพบหรือไม่พบ posterior attachment pore ถ้าพบจะพบอยู่เป็นทาง



รูปที่ 33 รูปร่างลักษณะของ *Alexandrium minutum* โคลนต่าง ๆ
 ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ
 A. โคลน SP980112A B. โคลน SP980112B
 C. โคลน SP980112C D. โคลน SP980112D

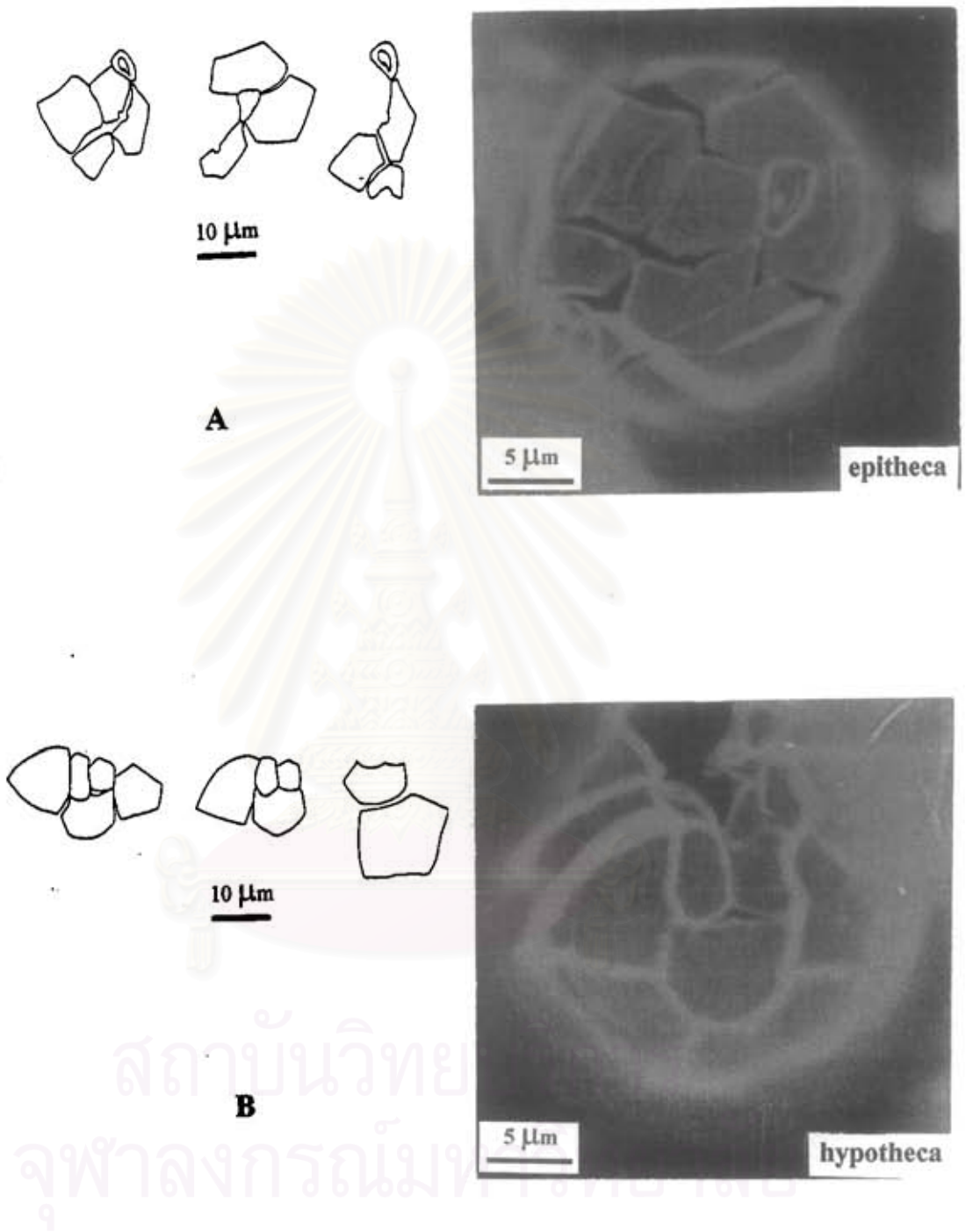
มุมบนด้านขวาของแผ่น แต่จะพบเป็นเหมือนลักษณะรอยแผลเป็นเส้นสั้น ๆ จากมุมบนด้านขวาของแผ่น โดยปกติพบอยู่เป็นเชลล์เดี่ยวและพบเป็นเชลล์คู่ได้เล็กน้อยเมื่อ culture อยู่ในระยะ log phase ซึ่งโอกาสพบเชลล์คู่จะพบได้น้อยกว่าใน *A. tamarense* ในจำนวนโคลนของ *Alexandrium* ที่เป็นตัวแทนจากแต่ละจุดเก็บทั้งหมด 8 แห่ง มีเพียงตัวอย่างจาก 1 จุดเก็บตัวอย่างที่จัดจำแนกชนิดเป็น *Alexandrium minutum* คือโคลนที่เก็บได้จากบริเวณหน้าศูนย์พัฒนาการประมงแห่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (SEAFDEC) ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการรวม 4 โคลน ได้แก่โคลน SP980112A, (รูปที่ 34-35), SP980112B (รูปที่ 36-37), SP980112C (รูปที่ 38-39) และ SP980112D (รูปที่ 40-41)

เมื่อได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชลล์และแผ่นเปลือกสำคัญที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกชนิดแล้วทำให้พบว่าขนาดของเชลล์ และแผ่นเปลือกหุ้มเชลล์ของ *A. minutum* ที่แยกได้จากจุดเก็บที่เดียวกันมีความผันแปรของรูปร่างและขนาดอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งจัดเป็นความผันแปรที่เกิดขึ้นภายในชนิดเดียวกันและเก็บมาจากจุดเก็บเดียวกัน (Intraspecific variation of plate morphology) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าแม้แต่ในแต่ละเชลล์ซึ่งอยู่ในโคลนเดียวกันก็พบความผันแปรได้เช่นกัน โดย APC มีความยาวอยู่ในพิสัย 4.74 ถึง 6.49 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 2.48 ถึง 3.33 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 1.71 ถึง 2.31 เท่า (รูปที่ 35A, 37A, 39A และ 41A) แผ่นที่ 1' มีความยาวอยู่ในพิสัย 9.57 ถึง 13.61 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 3.44 ถึง 5.53 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 1.72 ถึง 3.29 เท่า (รูปที่ 35B, 37B, 39B และ 41B) แผ่นที่ 6'' มีความยาวอยู่ในพิสัย 4.39 ถึง 9.50 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 4.22 ถึง 6.89 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 1.31 ถึง 1.78 เท่า (รูปที่ 35C, 37C, 39C และ 41C) แผ่น S.a. มีความยาวอยู่ในพิสัย 4.56 ถึง 6.21 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 3.80 ถึง 5.17 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 0.71 ถึง 1.39 เท่า (รูปที่ 35D, 37D, 39D และ 41D) และแผ่น S.p. มีความยาวอยู่ในพิสัย 4.40 ถึง 8.30 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในพิสัย 7.04 ถึง 9.95 ไมครอน และมีอัตราส่วนระหว่างความยาวต่อความกว้างอยู่ในพิสัย 0.54 ถึง 0.97 เท่า (รูปที่ 35E, 37E, 39E และ 41E) และพบ V.p. อยู่ที่ระยะ 0.19 ถึง 0.76 เท่าของความยาวรอยต่อระหว่างแผ่นที่ 1' และ 4'' โดยพบว่าในแต่ละโคลนมีลักษณะที่แตกต่างไปจากลักษณะทั่วไปดังนี้

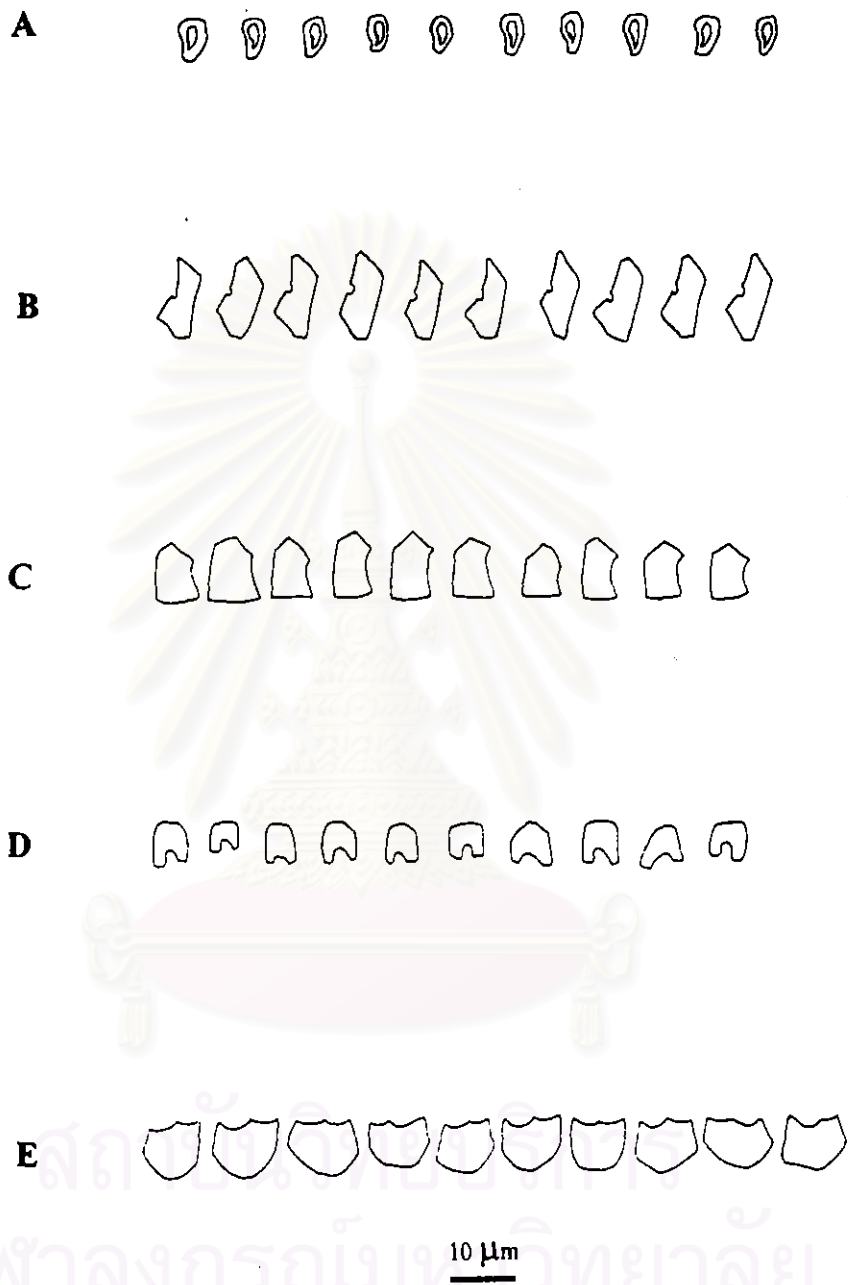
โคลน SP980112A พบว่าแผ่น 1' มีขนาดเล็กกว่าในโคลนอื่น ๆ (รูปที่ 35B)

โคลน SP980112B มีตำแหน่งที่ตั้งของ V.p. ต่างไปจากในโคลนอื่น ๆ อย่างเห็นได้ชัดเจนคืออยู่ที่ประมาณ 1 ใน 5 ของความยาวรอยต่อระหว่างแผ่นที่ 1' กับแผ่นที่ 4' และยังพบอีกว่า APC มีขนาดใหญ่กว่าที่พบในโคลนอื่นด้วย (รูปที่ 37A)

โคลน SP980112C มีขนาดเชลล์ค่อนข้างเล็กกว่าโคลนอื่น ๆ โดยมีความยาวเชลล์และความกว้างเชลล์เฉลี่ย 19.67 ± 1.43 และ 18.03 ± 1.27 ตามลำดับ และแผ่น S.p. มีขนาดค่อนข้างเล็ก (รูปที่ 39E)



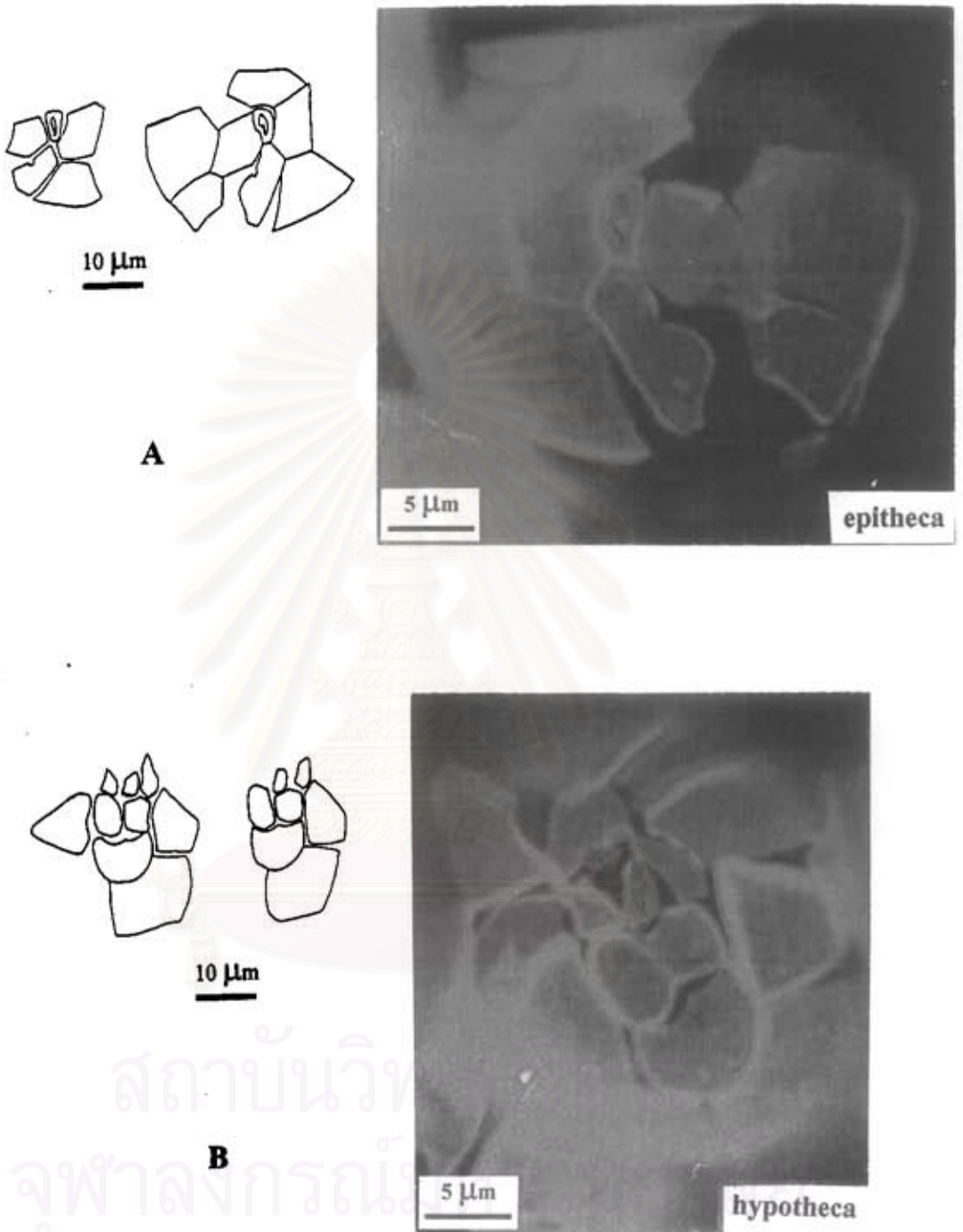
รูปที่ 34 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium minutum* โทถน SP980112A
 ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ
 A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6" B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 35 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน SP980112A

ที่เก็บจาก บริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

- | | |
|----------------------------------|---------------------------------|
| A. Apical pore complex : APC | B. First precingular plate : 1' |
| C. Sixth precingular plate : 6'' | D. Anterior sulcal plate : S.a. |
| E. Posterior sulcal plate : S.p. | |

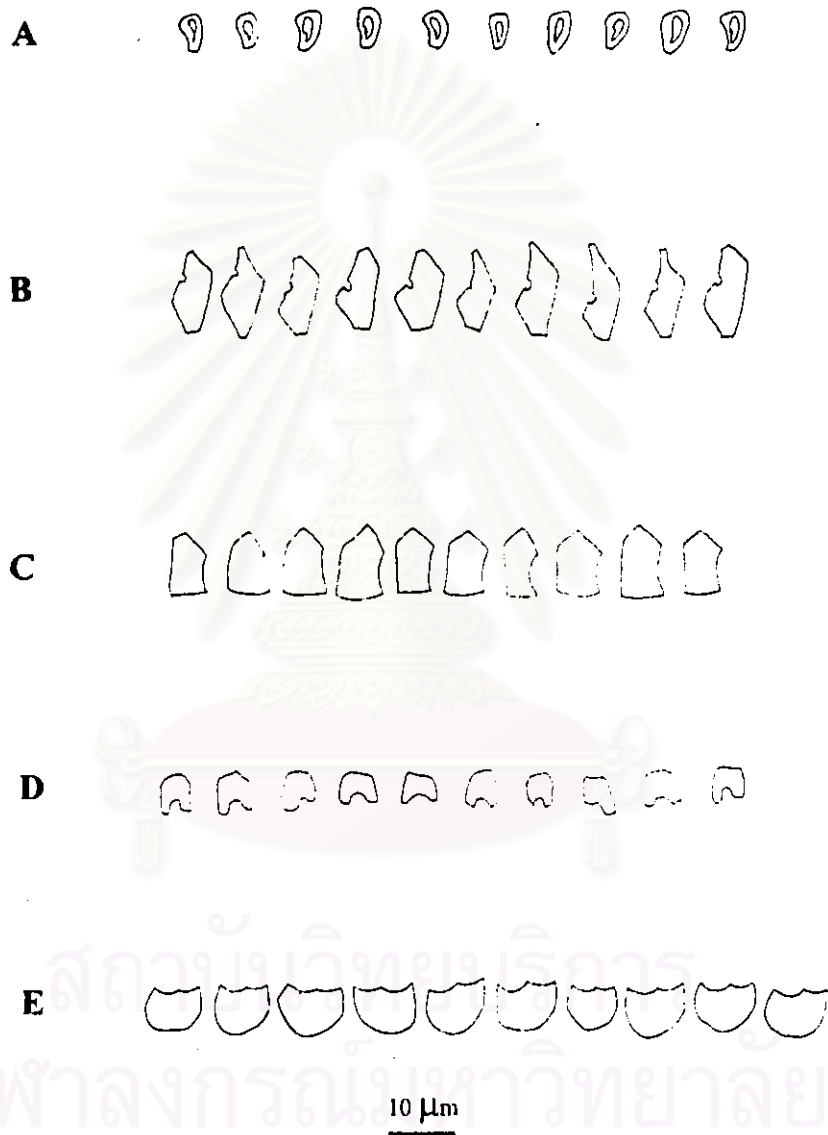


รูปที่ 36 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium minutum* โคลน SP980112B

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6"

B. hypotheca แสดง S.p.



รูปที่ 37 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน SP980112B

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

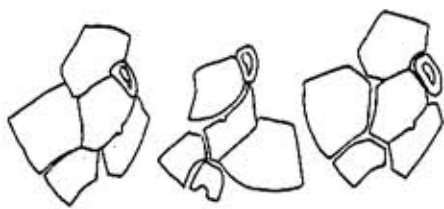
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

C. Sixth precingular plate : 6''

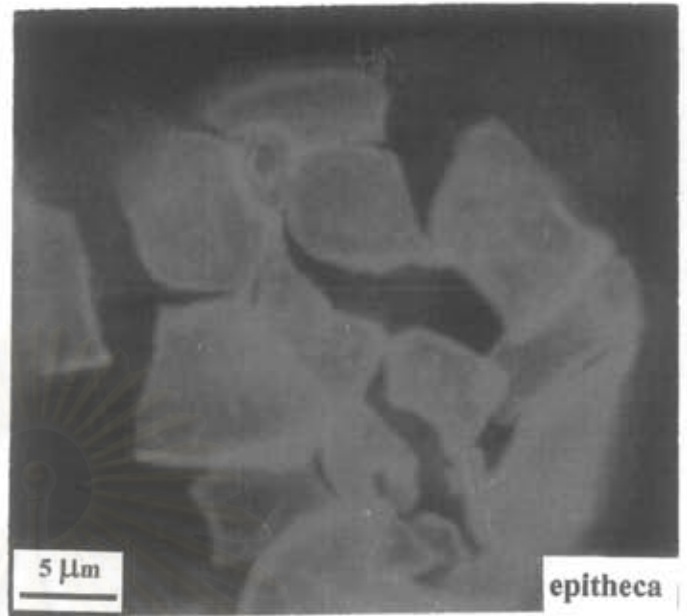
D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.



10 µm

A



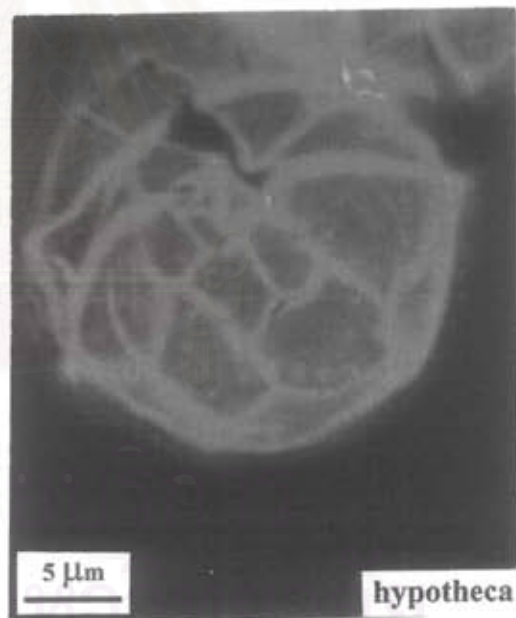
5 µm

epitheca



10 µm

B



5 µm

hypotheca

รูปที่ 38 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium minutum* โดทน SP980112C

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6"

B. hypotheca แสดง S.p.



10 μ m

รูปที่ 39 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน SP980112C

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

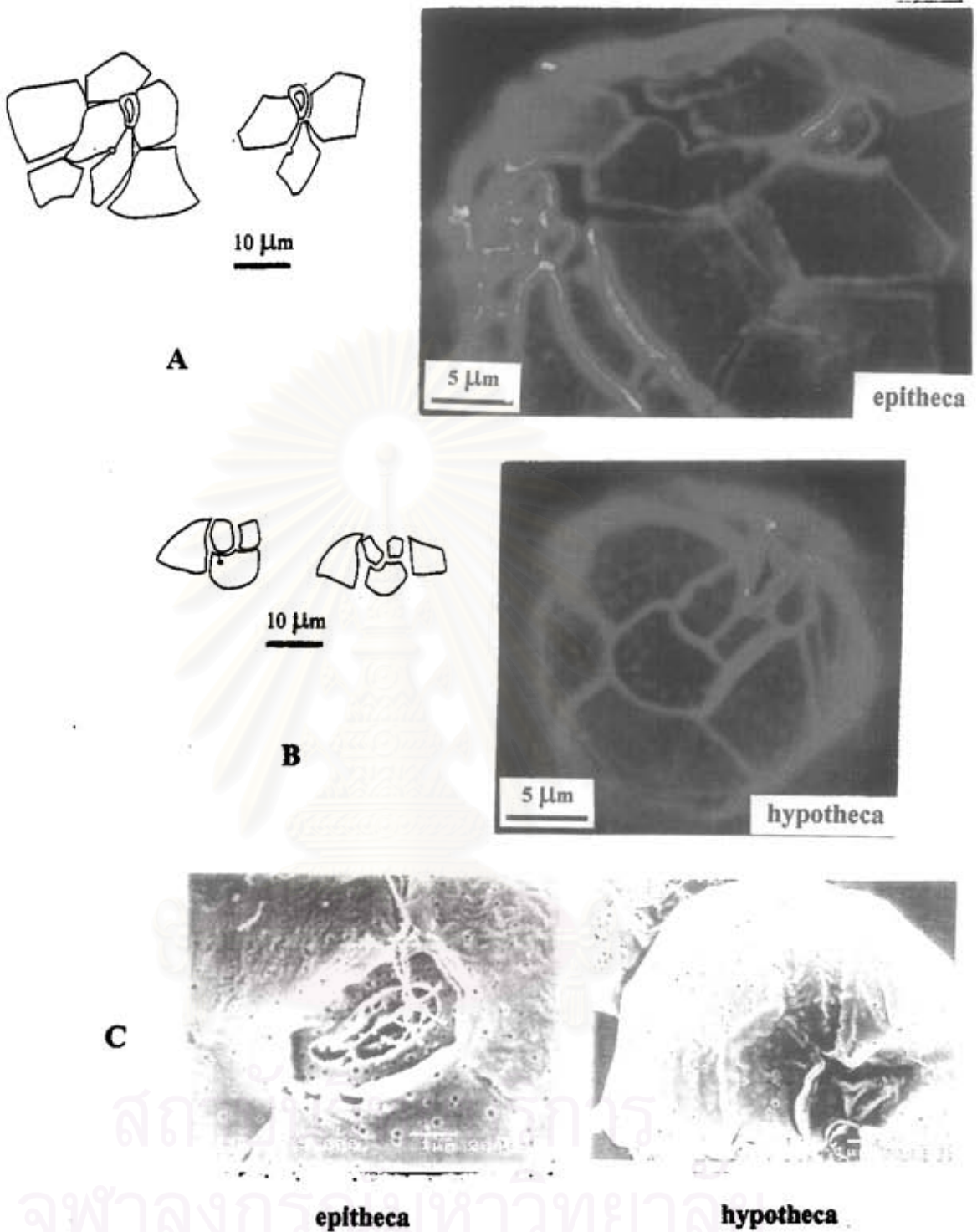
A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.

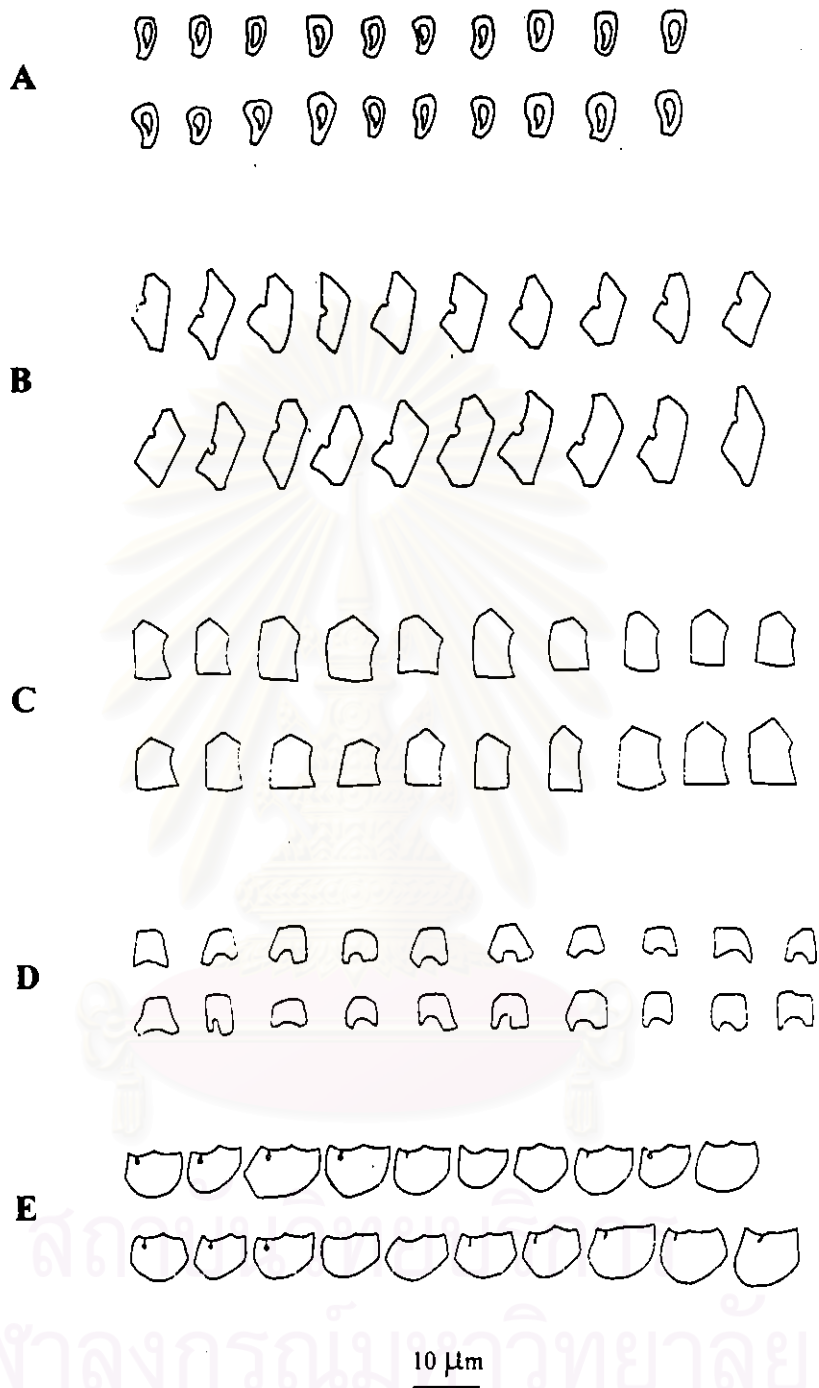


รูปที่ 40 ลักษณะของแผ่นเปลือกหุ้มเซลล์ *Alexandrium minutum* โคลน SP980112D

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

A. epitheca แสดง APC, 1' และ 6" B. hypotheca แสดง S.p.

C. epitheca และ hypotheca ; ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน



รูปที่ 41 ลักษณะของแผ่นเปลือกสำคัญในโคลน SP980112D

ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ

A. Apical pore complex : APC

B. First precingular plate : 1'

C. Sixth precingular plate : 6''

D. Anterior sulcal plate : S.a.

E. Posterior sulcal plate : S.p.

โคลน SP980112D ขนาดเซลล์ใหญ่กว่าที่พบในโคลนอื่น โดยมีความยาวเซลล์และความกว้างเซลล์เฉลี่ย 24.32 ± 3.07 และ 23.49 ± 3.36 ไมครอนความถาดับ และแผ่น 6" มีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับโคลนอื่น (รูปที่ 41C)

อัตราการเติบโต และรูปแบบการเติบโตของ *Alexandrium* ที่ศึกษา

เมื่อได้นำ stock culture ที่คัดเลือกเป็นตัวแทนจากแต่ละจุดเก็บทั้ง 8 โคลนมาศึกษาอัตราการเติบโตและรูปแบบการเติบโต เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดระยะเวลาที่จะเก็บเซลล์ไปศึกษาการสร้างพิษต่อไป ซึ่งพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การเติบโต (μ) มีค่าอยู่ในช่วง 0.40 ถึง 0.65 division ต่อวัน (ตารางที่ 11) และ มีรูปแบบการเติบโตที่คล้ายกัน คือ culture จะเข้าสู่ระยะ early log phase ภายใน 2 ถึง 3 วัน และอยู่ในระยะ middle log phase ในช่วงวันที่ 5 ถึง 6 จากนั้นจะเข้าสู่ระยะ late log phase ในวันที่ 8 ถึง 9 จากนั้นในเวลา 11 ถึง 12 วันนับจากวันเริ่มต้นเลี้ยง จะเป็นระยะ stationary phase และมีจำนวนเซลล์สูงสุดอยู่ที่ประมาณ 12,000 ถึง 15,000 เซลล์/มิลลิลิตร (ภาคผนวก ค. ถึง ฉ.)

ความสามารถในการสร้างพิษของ *Alexandrium*

ผลการวิเคราะห์ความเป็นพิษเบื้องต้นด้วยวิธี mouse bioassay ในสารสกัดเซลล์ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยงในระยะ late log phase ทั้งหมด 16 โคลน ซึ่งแบ่งเป็น *A. tamarense* 12 โคลน ได้แก่ โคลน SS960529A และ B จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอนมหาชัย จังหวัดสมุทรสาคร โคลน SK970423A และ B จากบ่อเลี้ยงปลากระบอกอำเภอแม่กลอง จังหวัดสมุทรสงคราม โคลน RY01970522 จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 1 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง โคลน RY02970606A และ B จากบริเวณปากแม่น้ำระยอง จังหวัดระยอง โคลน RY03970606A และ B จากบ่อเลี้ยงกุ้ง 2 อำเภอแกลง จังหวัดระยอง โคลน CR970909A และ B จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอท่าใหม่ จังหวัดจันทบุรี และ โคลน PK980221 จากบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี และ *A. minutum* ที่เก็บจากบริเวณปากแม่น้ำเจ้าพระยา จำนวน 4 โคลน ได้แก่ โคลน SP980112A SP980112B, SP980112C และ SP980112D พบว่าสารสกัดจากเซลล์ *A. tamarense* ทุกโคลนไม่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ส่วนสารสกัดจากเซลล์ของ *A. minutum* มีพิษทำให้หนูตาย และมีค่าความเป็นพิษอยู่ในพิสัย 1.22×10^3 ถึง 1.37×10^3 MU/เซลล์ ทั้งนี้ยังได้ทดสอบความเป็นพิษจากเซลล์ระยะ early log phase ของ *A. minutum* โคลน SP980112D พบว่ามีความเป็นพิษน้อยกว่าสารสกัดจากเซลล์ในระยะ late log phase โดยมีความเป็นพิษเพียง 7.31×10^4 MU/เซลล์ (ตารางที่ 12) นอกจากนี้ยังได้ทดสอบความเป็นพิษในน้ำเลี้ยงเชื้อที่เหลือจากการเก็บเซลล์ในระยะ late log phase ของ *A. minutum* ด้วยซึ่งไม่พบว่ามีความเป็นพิษ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบพิษ PSP ของสารสกัดจากเซลล์ *Alexandrium* ด้วย reversed phase HPLC พบว่าสารสกัดจากเซลล์ *A. tamarense* จำนวน 7 โคลนที่ได้จากสถานที่ต่างกันไม่มีสารพิษทั้งในกลุ่ม saxitoxin (STXs) และ กลุ่ม gonyautoxin (GTXs) อยู่เลย ส่วนสารสกัดจากเซลล์ของ

ตารางที่ 11 สัมประสิทธิ์การเติบโตของ *Alexandrium* ที่เพาะเลี้ยง

ชนิด / โคลน	จุดเก็บ	ความเค็มที่เพาะเลี้ยง (ppt.)	สัมประสิทธิ์การเติบโต (division/day)
<i>Alexandrium tamarense</i>			
SS960529A	บ่อกึ่ง สมุทรสาคร	20	0.44
SK970423B	บ่อปลากระบอก สมุทรสงคราม	30	0.53
RY01970522	บ่อกึ่ง 1 ระยอง	40	0.45
RY02970606B	ปากแม่น้ำระยอง	20	0.65
RY03970606A	บ่อกึ่ง 2 ระยอง	35	0.41
CR970909B	บ่อกึ่ง จันทบุรี	22	0.58
PR980221	บ่อกึ่ง เพชรบุรี	19	0.40
<i>Alexandrium minutum</i>			
SP980112D	ปากแม่น้ำเจ้าพระยา	15	0.47

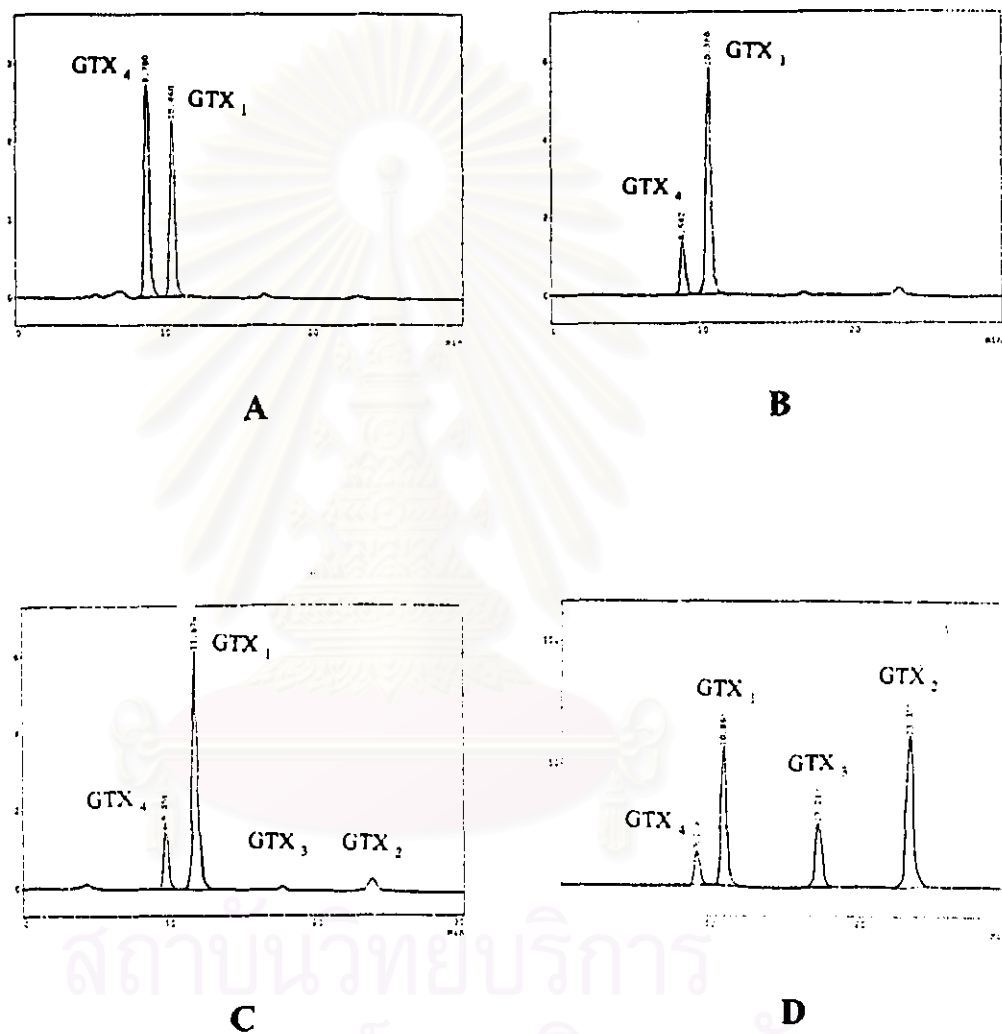
ตารางที่ 12 ความเป็นพิษ และองค์ประกอบพิษของ *Alexandrium* ที่ศึกษา (ระยะ stationary phase)

ชนิด / โคลน	จำนวนเซลล์ที่ใช้ ในการสกัดพิษ (10 มิลลิลิตร)	ความเป็นพิษ (MU / เซลล์)	องค์ประกอบพิษ (%)				
			STX	GTX			
				GTX ₁	GTX ₂	GTX ₃	GTX ₄
A. tamarense							
บ่อกุ้งสมุทรสาคร							
SS960529A	2,905,000	N.D.	-	-	-	-	-
SS960529B	318,600	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	431,250	N.D.	-	-	-	-	-
บ่อปลาสมุทรสงคราม							
SK970432A	218,750	N.D.	-	-	-	-	-
SK970432B	289,670	N.D.	-	-	-	-	-
	144,000	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
บ่อกุ้ง 1 ไร่ของ							
RY01970522	2,838,600	N.D.	-	-	-	-	-
	246,400	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ปากแม่น้ำระยอง							
RY02970606A	1,909,000	N.D.	-	-	-	-	-
	190,340	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
RY02970606B	188,950	N.D.	-	-	-	-	-
บ่อกุ้ง 2 ไร่ของ							
RY03970606A	2,672,600	N.D.	-	-	-	-	-
	229,980	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
RY03970606B	631,250	N.D.	-	-	-	-	-
บ่อกุ้งจันทบุรี							
CR970909A	331,250	N.D.	-	-	-	-	-
CR970909B	1,311,400	N.D.	-	-	-	-	-
	169,800	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
บ่อกุ้งเพชรบุรี							
PR980221	2,174,600	N.D.	-	-	-	-	-
	121,584	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A. minutum							
ปากแม่น้ำเจ้าพระยา							
SP980112A	156,156	-	N.D.	45.55	+	+	54.44
SP980112B	1,212,500	1.12×10^{-4}	-	-	-	-	-
	170,624	-	N.D.	80.88	+	+	19.11
SP980112C	258,292	-	N.D.	78.72	+	+	21.27
SP980112D	2,672,600	$1.29 \times 10^{-3} \pm 0.08 \times 10^{-3}$	-	-	-	-	-
	2,750,000	1.22×10^{-3}	-	-	-	-	-
	3,075,00	1.25×10^{-3}	-	-	-	-	-
	1,912,500	1.53×10^{-3}	-	-	-	-	-
	407,1375	7.31×10^{-4}	-	-	-	-	-
	7,260,000	-	N.D.	74.65	4.61	2.58	18.14
	121,584	-	N.D.	38.95	+	+	61.05
หมายเหตุ	เครื่องหมาย	+	แทน ตรวจพบในปริมาณน้อยมาก	N.D.	แทน ตรวจไม่พบ		
		-	แทน ไม่ได้ทดสอบ	*	แทน เซลล์ระยะ early log phase		

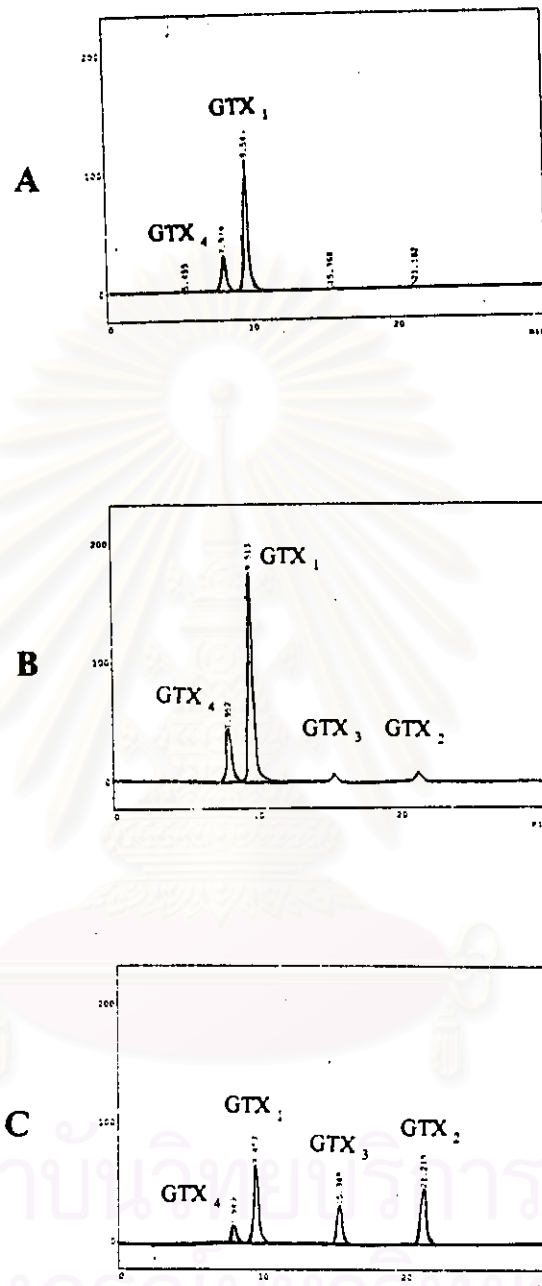
A. minutum มีองค์ประกอบหลักเป็นสารพิษในกลุ่ม GTXs ประกอบด้วย GTX₁ ถึง GTX₄ โดยมี GTX₁ เป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 70 - 80 ขององค์ประกอบพิษทั้งหมด ยกเว้นในโคลน SP980112A ซึ่งมี GTX₄ เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ประมาณร้อยละ 50 ขององค์ประกอบพิษทั้งหมด และพบ GTX₁ รองลงมา ส่วน GTX₂ และ GTX₃ พบได้ในปริมาณน้อยมาก (รูปที่ 42 ถึง 44 และตารางที่ 12) แต่ไม่พบว่ามี STXs เป็นองค์ประกอบอยู่เลย เมื่อคำนวณปริมาณความเป็นพิษ (MU/เซลล์) ของแต่ละองค์ประกอบพิษในแต่ละโคลนพบว่าในแต่ละโคลนจะมีความเป็นพิษขององค์ประกอบพิษแต่ละชนิดแตกต่างกันซึ่ง GTX₁ มีความเป็นพิษมากที่สุด (ดังตารางที่ 13)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 42 โครมาโตแกรมผลการวิเคราะห์องค์ประกอบพิษประเภท gonyautoxin ในสารสกัดเซลล์ *Alexandrium minutum* โคลนต่าง ๆ เทียบกับสารพิษมาตรฐาน gonyautoxin
 A. โคลน SP980112A B. โคลน SP980112B C. โคลน SP980112C
 D. Std.GTX₁₋₄ = สารพิษมาตรฐาน gonyautoxin 1, 2, 3, 4

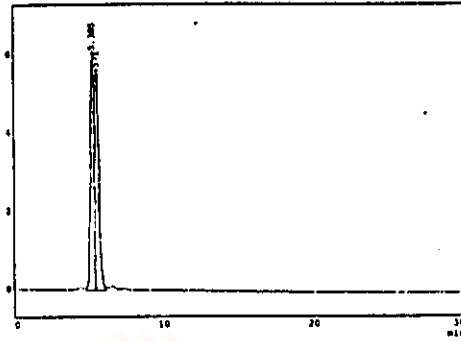


รูปที่ 43 โครมาโตแกรมผลการวิเคราะห์ห้องค์ประกอบพิษประเภท gonyautoxin ในสารสกัดเซลล์

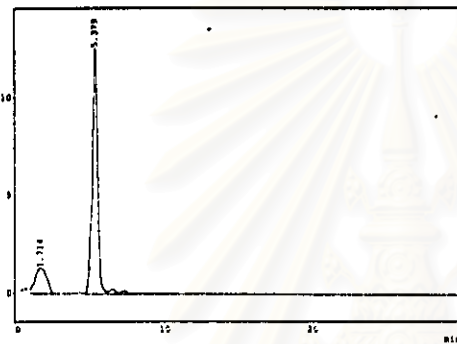
Alexandrium minutum โคลน SP980112D เทียบกับสารพิษมาตรฐาน gonyautoxin

A. โคลน SP980112D ครั้งที่ 1 B. โคลน SP980112D ครั้งที่ 2

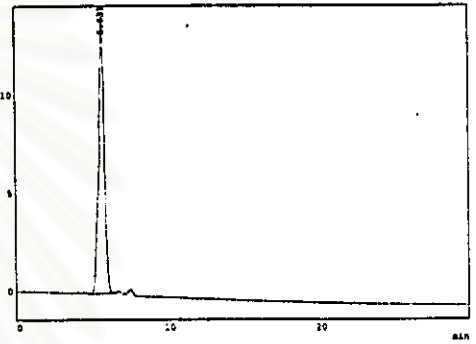
C. Std.GTX₁₋₄ = สารพิษมาตรฐาน gonyautoxin 1, 2, 3, 4



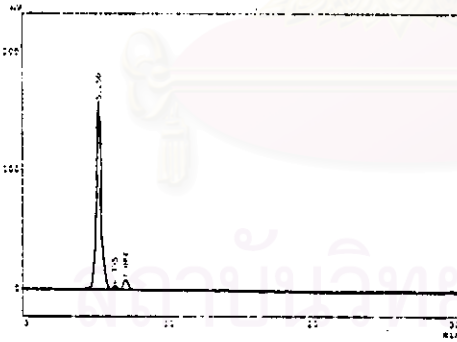
A



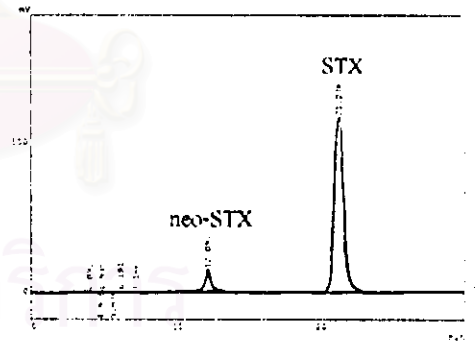
B



C



D



E

รูปที่ 44 โครมาโตแกรมผลการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการพบประเภท saxitoxin ในสารสกัดเซลล์

Alexandrium minutum โคลนต่าง ๆ เทียบกับสารพิษมาตรฐาน saxitoxin

A. โคลน SP980112A

B. โคลน SP980112B

C. โคลน SP980112C

D. โคลน SP980112D

E. Std.STX = สารพิษมาตรฐาน saxitoxin

STX = saxitoxin

neo-STX = neo-saxitoxin

ตารางที่ 13 ความเป็นพิษในแต่ละองค์ประกอบพิษของ *Alexandrium minutum* โคลนต่างๆ

สัญลักษณ์ culture	จำนวนเซลล์ที่ใช้ในการสกัดพิษ ต่อปริมาตร 10 มิลลิิตร	ระดับความเป็นพิษ (MU / เซลล์)			
		GTX ₁	GTX ₂	GTX ₃	GTX ₄
SP980112A	156,156	2.04×10^{-7}	+	+	2.40×10^{-7}
SP980112B	170,624	4.56×10^{-7}	+	+	1.10×10^{-11}
SP980112C	258,292	3.26×10^{-7}	+	+	8.70×10^{-12}
SP980112D	7,260,000	5.76×10^{-8}	2.20×10^{-9}	9.50×10^{-10}	1.50×10^{-12}
	121,584	1.23×10^{-6}	+	+	1.90×10^{-11}

หมายเหตุ เครื่องหมาย + แทน ตรวจพบในปริมาณน้อยมาก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย