

นิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) บริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร



นางสาว เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์

ศูนย์วิทยทรัพยากร

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2552

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ECOLOGY OF *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) IN THE COASTAL AREA
OF SAMUT SAKHON PROVINCE



Miss Penpailin Udomratana

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Marine Science
Department of Marine Science

Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2009

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

นิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* (Dinophyceae)

บริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร

โดย

นางสาวเพ็ญไพลิน อุดมรัตน์

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์ทางทะเล


อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศานิต ปิยพัฒนาการ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



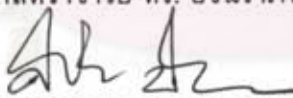
..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร. เจริญ นิตยธรรมยง)



..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์)

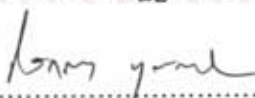


..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศานิต ปิยพัฒนาการ)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ณิชฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์)



..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(นางสาวโสภณา บุญญาภิวัฒน์)

เพ็ญไพสิน อุดมรัตน์ : นิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) บริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร. ECOLOGY OF *Dinophysis caudata* (DINOPHYCEAE) IN THE COASTAL AREA OF SAMUT SAKHON PROVINCE อ.ที่ปรึกษา
 วิทยานิพนธ์หลัก : รศ. ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม :
 ผศ. ดร.ศานิต ปิยพัฒน์นากร, 92 หน้า.

ศึกษานิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งทะเลบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครโดยเก็บตัวอย่างจากบริเวณศึกษา 2 สถานี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 *D. caudata* มีความหนาแน่นเฉลี่ย 2.59×10^3 เซลล์ต่อลิตร และพบ *D. caudata* มีความหนาแน่นสูงสุดในเดือนตุลาคม (1.33×10^4 เซลล์ต่อลิตร) แต่ไม่พบ *D. caudata* เลยในเดือนกรกฎาคม ความหนาแน่นของ *D. caudata* มีการผันแปรไปในทางเดียวกันกับความหนาแน่นของ *Ceratium furca* และมีการเพิ่มจำนวนสูงขึ้นภายหลังจากการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอมและไซยาโนแบคทีเรีย เซลล์ *D. caudata* ที่พบในธรรมชาติมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันถึง 56 แบบ โดยสามารถแบ่งตามขนาดออกเป็น 2 กลุ่ม คือ เซลล์ขนาดใหญ่ (เซลล์ปกติ) และขนาดเล็ก ลักษณะทางพันธุกรรมและการย้อมสีอ็อกแซนเจนในเซลล์แสดงว่าเซลล์ที่รูปร่างต่างกันเป็นชนิดเดียวกันและมีการดำรงชีพแบบ autotroph แสดงว่าการผันแปรทางสัณฐานวิทยาน่าจะเป็นผลมาจากระยะในวงจรชีวิตและปัจจัยสิ่งแวดล้อม

องค์ประกอบขนาดเซลล์ของประชากร *D. caudata* ในรอบปีประกอบด้วยเซลล์ 4 กลุ่มคือ เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ เซลล์คู่ขนาดใหญ่ เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และเซลล์คู่ขนาดเล็ก เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่เป็นกลุ่มที่สามารถพบได้ในทุกเดือนที่ทำการศึกษาระหว่างปีประกอบด้วยเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียส 1 อันและเซลล์ที่มีนิวเคลียสแยกเป็น 2 อันซึ่งอาจเป็นเซลล์ในระยะ planozygote หรือช่วงการแบ่งเซลล์ของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศในวงจรชีวิต การปรากฏของเซลล์ขนาดเล็ก 2 ช่วงคือ ช่วงแรกเป็นช่วงก่อนการเพิ่มจำนวนของเซลล์ขนาดใหญ่ทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ และช่วงที่สองเป็นช่วงภายหลังที่มีการลดจำนวนของเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ โดยเซลล์ขนาดเล็กพบว่ามีค่าความหนาแน่นสูงในช่วงฤดูแล้งซึ่งมีความเค็มสูงและอุณหภูมิต่ำ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ *D. caudata* ในการเลี้ยงด้วยอาหารที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสสูงกว่าในธรรมชาติ (12:1) ที่พบเซลล์ขนาดเล็กในช่วงหลังจากเลี้ยงไปได้ 7 วันซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าการผันแปรของประชากร *D. caudata* ในธรรมชาติที่พบว่ามีค่าความหนาแน่นสูงนั้นเป็นผลมาจากเซลล์ขนาดเล็กทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวนประชากร แบบจำลองวงจรชีวิตที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจเฝ้าระวังและคาดการณ์การเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* ในธรรมชาติโดยเฉพาะช่วงที่มีความขุ่นสูงซึ่งเสี่ยงต่อการสะสมพิษในหอยสองฝาบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร

ภาควิชา..... วิทยาศาสตร์ทางทะเล..... ลายมือชื่อนิสิต..... เพ็ญไพสิน อุดมรัตน์.....
 สาขาวิชา..... วิทยาศาสตร์ทางทะเล..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
 ปีการศึกษา..... 2552..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

5072400623 : MAJOR MARINE SCIENCE

KEYWORDS : Ecology / *Dinophysis caudata* / Samut Sakhon / Tha Chin estuary

PENPAILIN UDOMRATANA : ECOLOGY OF *Dinophysis caudata* IN THE COASTAL AREA OF SAMUT SAKHON PROVINCE. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. AJCHARAPORN PIUMSOMBOON, Ph.D, THESIS CO-ADVISOR: ASST. PROF. SANIT PIYAPATANAKORN, Ph.D., 92 pp.

The study on ecology of *Dinophysis caudata* in the coastal area of Baan Khasa -Khao, Samut Sakhon province was conducted from 2 stations. Phytoplankton samples were collected from June 2007 to May 2008. An annual average density of *D. caudata* was 2.59×10^3 cells/l with the maximum density of 1.33×10^4 cells/l in October (inter-monsoon period). No *D. caudata* was observed in phytoplankton community in July. The abundance of *D. caudata* tended to follow the density of *Ceratium furca* and usually increased after diatom and cyanobacteria bloom. Morphological variations of *D. caudata* indicated the presence of 56 morphotypes of *D. caudata* cells that can be divided into 2 groups depending on cell shape and size: large-sized cells and small-sized cells. Genetic and fluorescent characteristics of natural *D. caudata* cells indicated that mode of living. This also confirmed that cells of different size and shape were all *D. caudata* species with autotrophic mode of living. Thus, morphological variations found in *D. caudata* were resulted from different life-cycle stages and environmental influence.

D. caudata's population composed of 4 different size groups: single large-sized cells, pair large-sized cells, single small-sized cells and pair small-sized cells. Natural population of *D. caudata* consisted mainly of single large-sized cells but small-sized cells showed high density in dry season. The appearance of small-sized cells both single and pair cells were noticed in 2 periods: before density of large-sized cells increased and after the density of large-sized cells decreased. Cultured population of *D. caudata* in L1 media with the DIN:DIP molar ratio of 12:1 also showed the same pattern of morphological variation. The size of cells changed from large-sized cells at the beginning to small-size cells after the 7 days of incubation. It can be concluded that high density of *D. caudata* in natural samples were supported by small size-cells. Morphological variations of *D. caudata* in natural samples and in culture indicated the life cycle's model of *D. caudata* that can be applied to the monitoring of *D. caudata* populations as well as the prediction the high density period that may resulted in the accumulation of biotoxin in bivalve and shellfish in Tha Chin estuary.

Department : Marine Science
Field of Study : Marine Science
Academic Year : 2009

Student's Signature *Penpailin Udomratana*
Advisor's Signature *Assoc. Prof. Ajcharaporn Piumsomboon*
Co-Advisor's Signature *Sanit Piyapatanakorn*

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษา สำหรับคำแนะนำและจัดหาแหล่งทุนสนับสนุนการทำวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงตรวจแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศานิต ปิยพัฒน์นากร อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สำหรับคำแนะนำในการวิจัยและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้ครบถ้วนสมบูรณ์

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.เจริญ นิตินธรรมยง และคุณโสภณา บุญญาภิวัฒน์ กรรมการสภามหาวิทยาลัย สำหรับคำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ธิญจรัตน์ ปภาวสิทธิ สำหรับคำแนะนำและกำลังใจตลอดระยะเวลาที่ทำการวิจัยและเขียนรูปเล่ม ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณ ดร. Goh Nishitani มหาวิทยาลัยเกียวโต ประเทศญี่ปุ่น สำหรับคำแนะนำและเอกสารที่สำคัญในการเลี้ยงเซลล์ให้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณคุณรุจิพร ประทีปเสน ศูนย์เครื่องมือวิจัยและเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

ขอขอบคุณอาจารย์วิชา ก้านบัว คุณชลรथा ทรงรูป ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อิชฌิกา ศิวายพราหมณ์ คุณพรเทพ พรรณรักษ์ คุณนิรุชา มงคลแสงสุรีย์ คุณทักษพร รัตนมุขย์ และคุณจิรวรรณ ใจเพิ่ม สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการออกเก็บตัวอย่างภาคสนาม

ขอขอบคุณคุณอนุสร พันสุข คุณธีระรักษ์ ศรีนวลกราย และคุณจิรวรรณ ช่วยพัฒนา สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนที่สนับสนุนเงินทุนในการออกเก็บตัวอย่างในการออกเก็บตัวอย่างในการวิจัยตามโครงการ “ตรวจเฝ้าระวังแพลงก์ตอนพืชที่ก่อให้เกิดอันตรายบริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร – สมุทรสงคราม” โดยผ่านทางรองศาสตราจารย์ ดร.อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และบัณฑิตวิทยาลัยสำหรับเงินทุนสนับสนุนวิทยานิพนธ์ในการวิจัยให้ดำเนินการสำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณพี่ๆเพื่อนๆ ในห้องปฏิบัติการนิเวศวิทยาทางทะเล และพี่ๆเพื่อนๆ ป.โท สำหรับความช่วยเหลือและกำลังใจตลอดการทำวิจัย

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณบิดา มารดา และญาติพี่น้อง สำหรับที่ปรึกษาให้คำแนะนำและเป็นกำลังใจที่ตลอดการทำวิจัยเสมอมา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
แนวเหตุผลและทฤษฎีสำคัญ.....	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
ขอบเขตของการวิจัย.....	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
ลักษณะทั่วไปของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	3
ลักษณะทั่วไปของไดโนแฟลกเจลเลตชนิด <i>Dinophysis caudata</i> Saville – Kent 1881.....	8
สัณฐานวิทยาของสกุล <i>Dinophysis</i>	9
การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล <i>Dinophysis</i> และไดโนแฟลกเจลเลตสกุล อื่น.....	10
ปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล <i>Dinophysis</i> และไดโน- แฟลกเจลเลตสกุลอื่น.....	11
ลักษณะทางพันธุกรรมของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	17
ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการผันแปรประชากรของ <i>Dinophysis caudata</i>	18
การศึกษาเกี่ยวกับ <i>Dinophysis caudata</i> ในประเทศไทย.....	20
บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร.....	21
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย.....	22
บริเวณศึกษา.....	22
การผันแปรประชากรของ <i>Dinophysis caudata</i> บริเวณชายฝั่งจังหวัด สมุทรสาคร และความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น.....	23

การผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> ใน ธรรมชาติ.....	24
การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ <i>Dinophysis caudata</i> จากธรรมชาติ.....	27
องค์ประกอบขนาดของประชากร <i>Dinophysis caudata</i>	29
บทที่ 3 ผลการศึกษา.....	32
ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำ ขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	32
ความหนาแน่นของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำ ขาวจังหวัดสมุทรสาคร.....	38
การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> ในธรรมชาติ บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	39
ลักษณะการดำรงชีพของ <i>Dinophysis caudata</i>	47
ลักษณะทางพันธุกรรมของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> ในธรรมชาติ.....	48
องค์ประกอบประชากรของ <i>Dinophysis caudata</i>	51
บทที่ 4 วิจัยผลการศึกษา.....	59
การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> ใน ธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	59
ความหนาแน่นและองค์ประกอบขนาดของประชากร <i>Dinophysis caudata</i> ใน รอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาวจังหวัดสมุทรสาคร.....	63
นิเวศวิทยาของ <i>Dinophysis caudata</i> บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัด สมุทรสาคร.....	68
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษาและข้อเสนอแนะ.....	73
รายการอ้างอิง.....	75
ภาคผนวก.....	85
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	92

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะการดำรงชีพของสกุล <i>Dinophysis</i>	15
2	สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	23
3	primer สำหรับศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม.....	28
4	ความแตกต่างระหว่าง <i>Dinophysis caudata</i> ขนาดเล็กและขนาดใหญ่.....	51
5	อัตราส่วนสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสและอัตราการเติบโตของ <i>Dinophysis caudata</i>	55
6	ขนาดเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i>	59
7	อัตราการเติบโตของ <i>Dinophysis caudata</i> จากการเลี้ยงในสภาวะการดำรง ชีพที่แตกต่างกัน.....	62
8	ความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> จากบริเวณบ้านกระช้ำขาว จังหวัด สมุทรสาครเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น.....	64

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	<i>Dinophysis</i> ชนิดที่มีก้านค้ำจุนยื่นยาวออกมา.....	4
2	<i>Dinophysis</i> ชนิดที่มีส่วนยื่นออกมาคล้ายนิ้วมือ.....	4
3	แผ่นเปลือกของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	5
4	ลักษณะผิวบนแผ่นเปลือกของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	6
5	ความสัมพันธ์ตามลำดับวิวัฒนาการของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i> และสกุลอื่นที่เกี่ยวข้อง.....	7
6	ลักษณะผิวบนผนังเซลล์ของ <i>Dinophysis acuminata</i>	7
7	ลักษณะผิวบนผนังเซลล์ของ <i>Dinophysis sacculus</i>	8
8	ลักษณะทั่วไปของ <i>Dinophysis caudata</i>	9
9	สัณฐานวิทยาของส่วนต่างๆของ <i>Dinophysis caudata</i>	10
10	ปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล <i>Dinophysis</i> และไดโนแฟลกเจลเลตสกุลอื่น.....	11
11	การผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>Ceratium egyptiacum</i>	12
12	วงชีวิตของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	13
13	ลักษณะนิวเคลียสของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล <i>Dinophysis</i>	14
14	<i>Dinophysis acuminata</i> ที่มีการดำรงชีพแบบ mixotroph.....	17
15	ตำแหน่งของหน่วยต่างๆใน nuclear rDNA.....	18
16	Fecal pellet ของโคพีพอดที่ยังคงมีเซลล์ของ <i>Dinophysis novogica</i> ที่ย่อยไม่หมด.....	19
17	สถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	22
18	การวัดความกว้างและความยาวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i>	24
19	นิวเคลียสและถุงอาหารในแพลงก์ตอนสัตว์ ciliated protozoa กลุ่ม Tintinnid.....	26
20	นิวเคลียสและคลอโรพลาสต์ในสาหร่ายสีเขียวสกุล <i>Scenedesmus</i>	26
21	ขั้นตอนการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ <i>Dinophysis caudata</i>	27
22	ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสภาวะบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	33
23	ปริมาณสารอินทรีย์ละลายน้ำบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	35

ภาพที่	หน้า
24 ความหนาแน่นเฉลี่ยในรอบปีของแพลงก์ตอนพืชกลุ่มเด่นบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	36
25 ความหนาแน่นเฉลี่ยในรอบปีของ <i>Dinophysis caudata</i> บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	38
26 การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> ตามสถานีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	39
27 ลักษณะรูปร่างของ <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาวจังหวัดสมุทรสาคร.....	40
28 กราฟแจกแจงความถี่ (histogram) ความกว้างและความยาวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i>	41
29 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างและความยาวของเซลล์ <i>Dinophysis caudata</i>	42
30 การเปลี่ยนแปลงของความกว้างเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	43
31 การเปลี่ยนแปลงของความยาวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	44
32 ลักษณะผิวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ในธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	46
33 <i>Dinophysis caudata</i> รูปร่างและขนาดต่างๆที่ย้อมด้วยสีย้อม Sybr Green I..	47
34 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ primer ทั้ง 3 คู่.....	48
35 <i>Dinophysis caudata</i> รูปร่างและขนาดต่างๆที่ใช้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม....	49
36 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่.....	49
37 ลำดับเบสของ <i>Dinophysis caudata</i> รูปร่างและขนาดต่างๆ และ <i>Dinophysis</i> ชนิดอื่นที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank.....	50
38 <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	51
39 ความหนาแน่นเฉลี่ยและสัดส่วนความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> ขนาดต่างๆในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	52
40 สัดส่วนความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	53
41 การเปลี่ยนแปลงขนาดเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร.....	54

ภาพที่		หน้า
42	การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> ในอาหารเลี้ยงที่มีอัตราส่วนสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (DIN:DIP) ที่แตกต่างกัน.....	56
43	การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นและสัดส่วนขนาดเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i>	57
44	ลักษณะผิวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ที่ได้จากการเลี้ยง.....	57
45	การผันแปรรูปร่างและผิวเซลล์ของ <i>Dinophysis caudata</i> ในระยะต่างๆ.....	58
46	การผันแปรความหนาแน่นของ <i>Dinophysis caudata</i> และความหนาแน่นของ <i>Ceratium furca</i>	65
47	การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นกับ <i>Dinophysis caudata</i>	66
48	ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กกับปัจจัยสิ่งแวดล้อม.....	67
49	แบบจำลองวงชีวิตของ <i>Dinophysis caudata</i> ในธรรมชาติและจากการเลี้ยง...	69
50	แบบจำลองวงชีวิตของ <i>Dinophysis caudata</i> บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนใน...	71

บทที่ 1

บทนำ

แนวเหตุผลและทฤษฎีสำคัญ

ไดโนแฟลกเจลเลตเป็นแพลงก์ตอนพืชที่พบมากเป็นอันดับสองรองจากไดอะตอม ไดโนแฟลกเจลเลตสกุลหนึ่งที่พบได้ในน่านน้ำไทยคือสกุล *Dinophysis* ซึ่งมีการดำรงชีวิตได้หลายแบบทั้งเป็นผู้ผลิตและบางชนิดยังเป็นผู้ล่าในระบบนิเวศเช่น *Dinophysis hastata* และ *D. schuetii* ที่มีการดำรงชีพแบบ heterotroph ในขณะที่ *Dinophysis* บางชนิดเช่น *D. acuminata* หรือ *D. caudata* ที่พบในเขตอบอุ่นมีการดำรงชีพแบบ mixotroph คือสามารถสร้างอาหารเองได้ในสภาวะที่มีแสงเพียงพอ แต่เมื่อมีแสงจำกัดจะมีการล่าแพลงก์ตอนชนิดอื่นเป็นอาหาร *Dinophysis* มีการกระจายทั้งในบริเวณชายฝั่งและทะเลเปิดทั่วโลก ปัจจุบันพบทั้งสิ้น 104 ชนิดจากน่านน้ำทั่วโลก สมาชิกส่วนใหญ่ของ *Dinophysis* สามารถสร้างสารพิษที่เรียกว่า พิษท้องร่วงในหอยสองฝา (Diarrhetic Shellfish Poisoning: DSP) พิษที่ถูกสร้างขึ้นสามารถถ่ายทอดเข้าสู่สายใยอาหารทางทะเลและสู่มนุษย์ได้ การตรวจเฝ้าระวังไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ในน่านน้ำไทยจึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อให้อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำในบริเวณชายฝั่งทะเลของไทยสามารถผลิตอาหารทะเลที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค การตรวจเฝ้าระวังดังกล่าวจำเป็นต้องมีความรู้เรื่องลักษณะสัณฐานวิทยา การกระจายและนิเวศวิทยาของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ซึ่งยังมีการศึกษากันน้อยมาก

การศึกษาความหลากหลายและความชุกชุมของแพลงก์ตอนพืชในบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนในช่วง 4-5 ปีที่ผ่านมาพบ *D. caudata* ในความหนาแน่นค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับในอดีต ซึ่งสาเหตุของการเพิ่มจำนวนของ *Dinophysis* ชนิดนี้มีความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะความเค็มและปริมาณสารอาหารละลายน้ำที่แปรผันตามการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาล การเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* บางครั้งพบว่าเกิดขึ้นภายหลังจากการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น ขณะเดียวกันในธรรมชาติพบ *D. caudata* ที่เป็นเซลล์ปกติร่วมกับเซลล์ที่คล้าย *D. caudata* แต่มีขนาดเล็กกว่าซึ่งในต่างประเทศเคยมีการจำแนกเซลล์ขนาดเล็กเป็นชนิดใหม่หรือจำแนกเป็นอีกชนิดหนึ่ง ต่อมาภายหลังได้มีการพิสูจน์ว่าทั้งเซลล์ปกติและเซลล์ขนาดเล็กเป็นชนิดเดียวกันและสรุปได้ว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันเป็นระยะต่างๆ ในวงจรชีวิตของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ แต่การเพาะเลี้ยง *D. caudata* มีขั้นตอนยุ่งยากและซับซ้อนทำให้ไม่สามารถศึกษาการดำรงชีวิตของ *Dinophysis* ชนิดนี้ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีการศึกษาด้านนิเวศวิทยาของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ในธรรมชาติและนำเอาเทคนิคทางพันธุกรรมมาช่วยในการติดตามเพื่อการจำแนกชนิด *Dinophysis* ในน่านน้ำไทยได้

อย่างมีประสิทธิภาพและแม่นยำมากขึ้น ขณะเดียวกันการศึกษาด้านวงชีวิตสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความเป็นพิษของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ได้ในอนาคต

การศึกษานิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* ในครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกในเขตร้อน ทั้งที่ไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้เป็นชนิดที่พบได้บ่อยและมีการกระจายทั่วไปในประเทศไทย แต่ยังไม่เคยมีผู้ศึกษามาก่อน ในขณะที่การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในเขตอบอุ่นที่มีสภาพอากาศที่แตกต่างจากเขตร้อน การศึกษานี้จึงได้มุ่งเน้นศึกษาด้าน autecology ซึ่งประกอบด้วย การผันแปรของประชากร *D. caudata* สันฐานวิทยา วงชีวิตของ *D. caudata* และนำเอาเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาประยุกต์ร่วมกับข้อมูลทางสันฐานวิทยาของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ ในบริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร เพื่อให้ทราบถึงนิเวศวิทยาของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้และช่วยให้สามารถจำแนกชนิดได้อย่างถูกต้อง รวมถึงสามารถนำไปเป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อใช้ในการเฝ้าระวังและการป้องกันแพลงก์ตอนพืชที่เป็นพิษในน่านน้ำไทยต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. การศึกษานิเวศวิทยาคือการผันแปรประชากรของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร พร้อมทั้งความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น
2. ศึกษา autecology ของ *Dinophysis caudata* คือการผันแปรทางสันฐานวิทยาพันธุกรรมของประชากร *D. caudata* ในธรรมชาติและผันแปรทางสันฐานวิทยาระยะต่างๆของ *D. caudata* ในวงชีวิต

ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* ทำการเก็บตัวอย่างในบริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร และทำการเก็บข้อมูลปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสภาวะ เคมี และชีวภาพ โดยทำการวาดรูปและวัดส่วนต่างๆของเซลล์ รวมถึงการศึกษาลักษณะผิวเซลล์เพื่อศึกษาการผันแปรลักษณะทางสันฐานวิทยาในรอบปี ขณะเดียวกันนำเอาเทคนิคทางพันธุกรรมมาใช้ในการตรวจสอบเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกัน และหาความชุกชุมไปใช้ในการประเมินการผันแปรของ *D. caudata* ในรอบปีที่มีความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและช่วงการสืบพันธุ์ และนำเซลล์จากธรรมชาติมาเลี้ยงเพื่อศึกษาวงชีวิตและนำไปใช้ในการอธิบายการเพิ่มจำนวนและการพบเซลล์ระยะต่างๆในธรรมชาติ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ข้อมูลพื้นฐานในการเฝ้าระวัง *Dinophysis caudata* ในช่วงที่มีความชุกชุมสูงซึ่งเสี่ยงต่อการสะสมพิษในหอยสองฝาบริเวณปากแม่น้ำท่าจีนจังหวัดสมุทรสาคร และสามารถจำแนกชนิด *D. caudata* เมื่อมีการปรากฏของเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันได้

สำรวจเอกสาร

1. ลักษณะทั่วไปของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis*

ไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* เป็นแฟลจก่ตอนพืชในกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตซึ่งพบทั่วโลกทั้งสิ้น 104 ชนิด (Gómez, 2005) โดยสมาชิกส่วนใหญ่ของ *Dinophysis* สามารถสร้างสารชีวพิษได้เรียกว่า พิษท้องร่วงในหอยสองฝา (Diarrhetic Shellfish Poisoning: DSP) ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ 4 อนุพันธ์คือ okadaic acid และอนุพันธ์ของ okadaic, dinophysis toxin (DTX1, DTX3), pectinotoxin (PTXs) และ yessotoxin (YTXs) (Okaichi *et al.*, 1976; Larsen and Moestrup, 1992) ไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* นี้ประกอบด้วยสมาชิกที่มีการดำรงชีวิตแตกต่างกัน คือ กลุ่มที่มีคลอโรพลาสต์และกลุ่มที่ไม่มีคลอโรพลาสต์ ทำให้สมาชิกของสกุล *Dinophysis* มีการดำรงชีพที่หลากหลาย เช่น autotroph heterotroph หรือ mixotroph (Hallegraeff and Lucas, 1988; Berland *et al.*, 1995; Rao, 1995; Koike *et al.*, 2000; Grason and Maranda, 2002; Park *et al.*, 2006; Stoecker *et al.*, 2006; Carvalho *et al.*, 2008; Nishitani *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008) ไดโนแฟลกเจลเลตสกุลนี้ถูกจำแนกตามหลักอนุกรมวิธานไว้ใน

Division Chromophyta

Class Dinophyceae

Order Dinophysiales

Family Dinophysiaceae

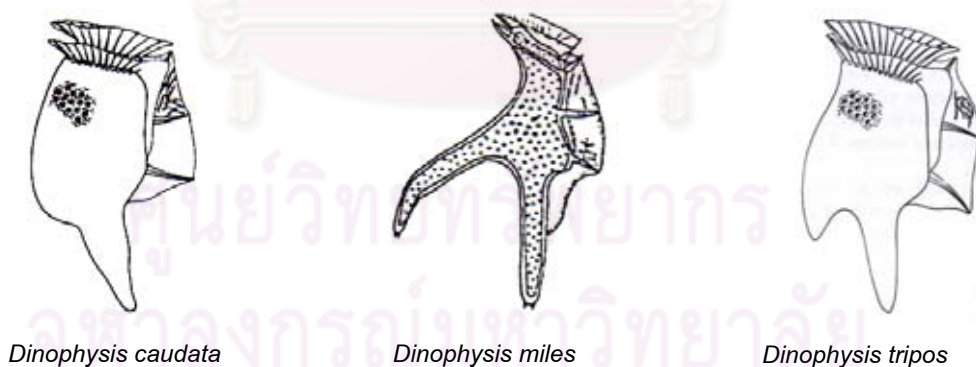
Genus *Dinophysis* Ehrenberg 1839

ลักษณะของไดโนแฟลกเจลเลตสกุลนี้คือ เซลล์แบนข้าง มีรูปร่างหลายแบบตั้งแต่กลม รี หรือรูปไข่ ลักษณะเด่นของไดโนแฟลกเจลเลตสกุลนี้คือ มีร่องตามขวาง (cingulum groove) และร่องตามยาว (sulcus groove) ตั้งฉากซึ่งกันและกัน โดยร่องตามขวางเลื่อนขึ้นมาอยู่ที่ส่วนบนของเซลล์ (epitheca) ทำให้ส่วนล่างของเซลล์ (hypotheca) มีขนาดใหญ่กว่าส่วนบน ต่อมาได้มีการจำแนก *Dinophysis* บางชนิดที่มี epitheca ขนาดใหญ่ออกเป็นสกุล *Phalacrocoma* (Steidinger and Tangen, 1997) ร่องตามขวางและร่องตามยาวของสกุล *Dinophysis* มีขนาด 2 เส้นวางตัวอยู่และที่บริเวณขอบของร่องทั้ง 2 ด้านมีแผ่นปีกซึ่งมีก้านค้ำจุนจำนวนมากค้ำอยู่

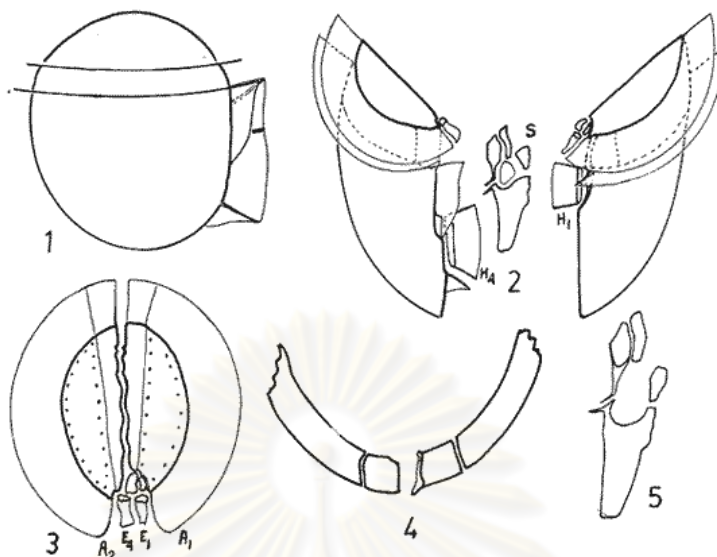
โดยส่วนของร่องตามขวางมีการเรียงตัวของแผ่นปีกเป็นรูปกรวย (anterior cingular list) แต่ที่ร่องตามยาวพบว่าแผ่นปีกที่อยู่บนขอบทางด้านขวา (right sulcus list: RSL) ลดรูปลง ในขณะที่แผ่นปีกทางด้านซ้าย (left sulcus list: LSL) มีการพัฒนามากกว่าทำให้มีขนาดใหญ่ ส่วนของ hypotheca จะมีส่วนยื่นต่างๆที่แตกต่างกันในแต่ละชนิด บางชนิดมีก้านค้ำจุน (spine) ยึดยาวออกมาเช่น *Dinophysis hastata* หรือ *D. schuetii* (รูปที่ 1) ในขณะที่บางชนิดมีส่วนยื่นออกมาคล้ายนิ้วมือ 1 หรือ 2 ส่วนก็ได้เช่น *D. caudata*, *D. miles*, *D. tripos* (รูปที่ 2) เป็นต้น (Steidinger and Tangen, 1997) เซลล์ของ *Dinophysis* ประกอบด้วยแผ่นเปลือกทั้งสิ้น 18 แผ่น ยกเว้น *Dinophysis acuta* ที่มีเพียง 17 แผ่นเท่านั้น (Norris and Berner, 1970; Balech, 1998; รูปที่ 3)



รูปที่ 1 *Dinophysis* ชนิดที่มีก้านค้ำจุนยื่นยาวออกมา (Steidinger and Tangen, 1997)



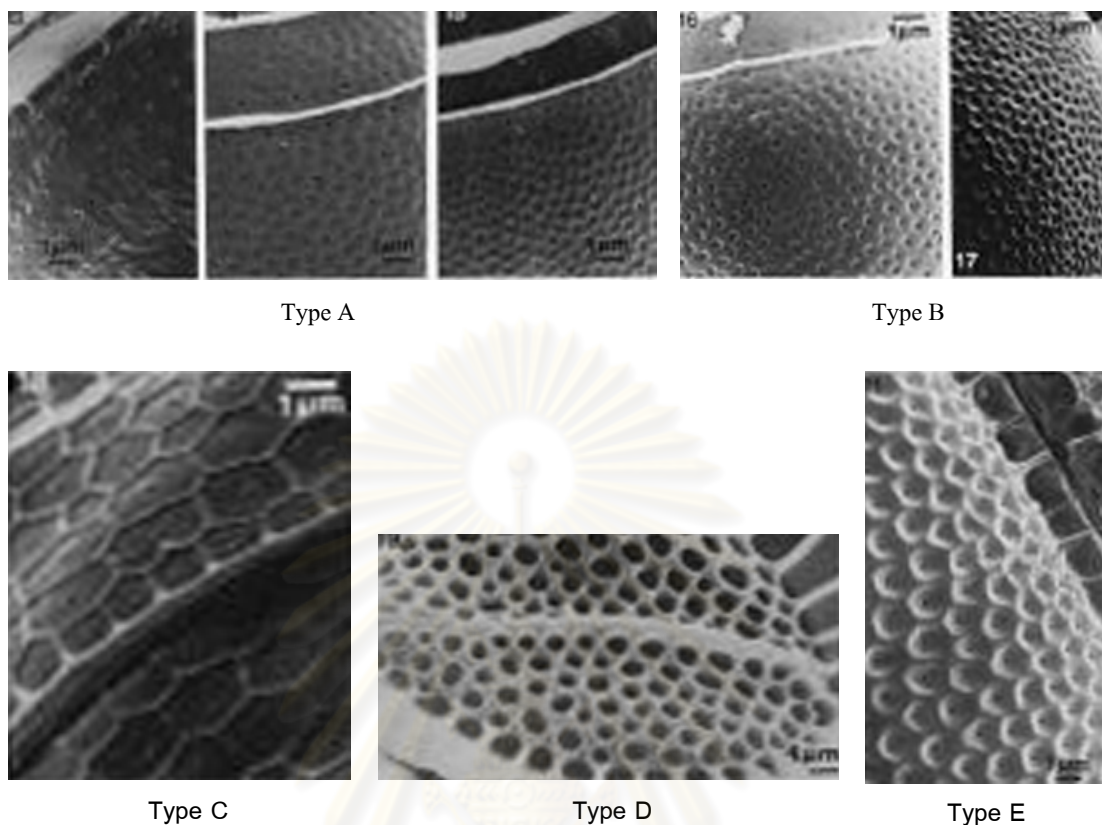
รูปที่ 2 *Dinophysis* ชนิดที่มีส่วนยื่นออกมคล้ายนิ้วมือ (Taylor, 1976 และ Steidinger and Tangen, 1997)



รูปที่ 3 แผ่นเปลือกของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis*: 1, right lateral view; 2, the two moieties and plates; 3, apical view of the epitheca with plates; 4, cingular plates; 5, sulcal plates (Balech, 1998)

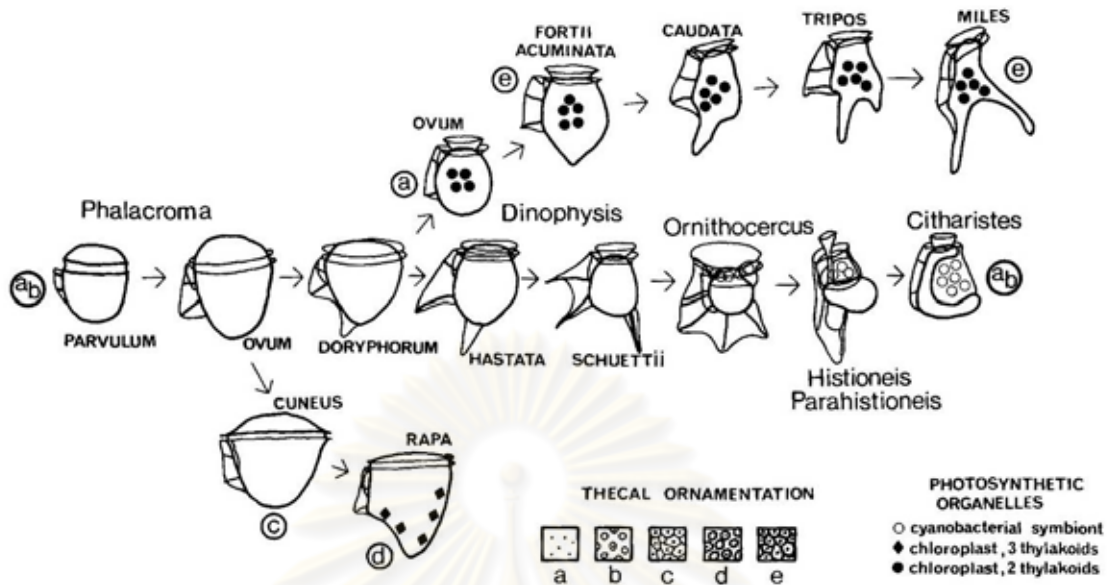
แผ่นเปลือกของ *Dinophysis* ในบริเวณ epitheca และ hypotheca มีการเรียงตัวของรู (trichocyst pore) และลักษณะผิวเซลล์ (thecal ornamentation) ที่แตกต่างกันในแต่ละชนิด โดย Hallegraeff and Lucas (1988) ได้อธิบายถึงลักษณะของผิวเซลล์ที่พบในสกุล *Dinophysis* ซึ่งพบทั้งหมด 5 แบบ (รูปที่ 4) ดังนี้

- Type A : ผิวเซลล์มีลักษณะเรียบหรือมีลักษณะเป็นหลุมตื้นๆกระจายอยู่ทั่วไป ในหลุม 5 – 10 หลุม มีเพียง 1 หลุมเท่านั้นที่มีรูอยู่กลางหลุม โดยรูเหล่านี้มีการเรียงตัวเป็นแนวยาวขนานกับร่องตามขวาง
- Type B : ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นหลุมลึก ซึ่งในหลุม 5 – 10 หลุม มีเพียง 1 หลุมเท่านั้นที่มีรูอยู่กลางหลุม
- Type C : ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นพื้นเรียบที่มีสันยกตัวขึ้นจากพื้นผิว (areola) โดยสันมีการเชื่อมต่อกันเป็นรูปร่างหกเหลี่ยมคล้ายรังผึ้ง แต่ละช่องมีรูอยู่ตรงกลาง
- Type D : ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นสันยกตัวขึ้นสูงอย่างเห็นได้ชัดโดยสันมีการเชื่อมต่อกันเป็นรูปร่างกลม รูมีขนาดเล็กพบอยู่บริเวณรอยต่อของสัน
- Type E : ผิวเซลล์มีลักษณะเป็นสันยกตัวขึ้น รูปร่างกลมหรือหกเหลี่ยม การเชื่อมต่อกันนี้เองทำให้เกิดหลุมลึกที่มีรูอยู่ 1 รูซึ่งอยู่ชิดติดกับสันขอบ



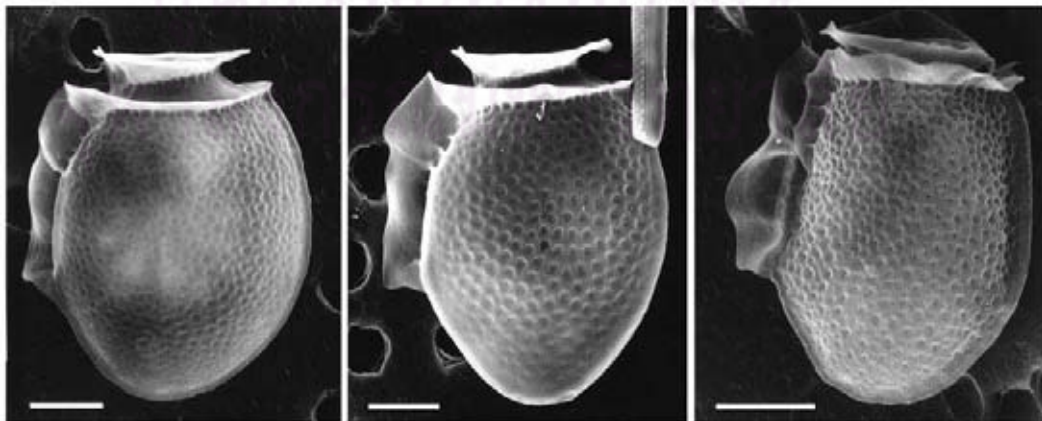
รูปที่ 4 ลักษณะผิวบนแผ่นเปลือกของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* (Hallegraeff and Lucas, 1988)

ลักษณะผิวบนแผ่นเปลือกที่ปรากฏในสกุล *Dinophysis* ทั้ง 5 แบบนั้นเป็นผลมาจากลำดับวิวัฒนาการโดยมีการเรียงตามลำดับวิวัฒนาการคือ Type A ซึ่งเป็นลักษณะผิวที่พบในชนิดที่มีวิวัฒนาการต่ำที่สุดหรือน้อยที่สุด ถัดมาคือ Type B, Type C, Type D และ Type E สามารถพบในชนิดที่มีลำดับวิวัฒนาการสูงที่สุด นอกจากลักษณะผิวบนแผ่นเปลือกแล้วลักษณะการดำรงชีพและการพัฒนาของแผ่นปีก (list) ยังบอกถึงลำดับวิวัฒนาการด้วย โดยใน *Dinophysis* ชนิดที่มีวิวัฒนาการต่ำที่สุดจะเป็นชนิดที่ไม่สามารถสร้างอาหารเองได้ (heterotroph) มีการดำรงชีพแบบผู้ล่า และมีแผ่นปีกขนาดเล็กเช่น *Dinophysis ovum* (= *Phalacroma ovum*) หรือ *D. doryphorum* (= *Phalacroma doryphorum*) จากนั้นเมื่อเวลาผ่านไปชนิดที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองก็เริ่มมีอแกเนล (organelles) ที่ทำหน้าที่สังเคราะห์ด้วยแสงเพื่อสร้างอาหารให้แก่เซลล์ รวมถึงมีการพัฒนาของแผ่นปีกได้ดีสังเกตได้จากการมีแผ่นปีกขนาดใหญ่และมีจำนวนมากเช่น *D. fortii*, *D. caudata*, *D. hastata* และ *D. schuetii* เป็นต้น (Hallegraeff and Lucas, 1988; รูปที่ 5)

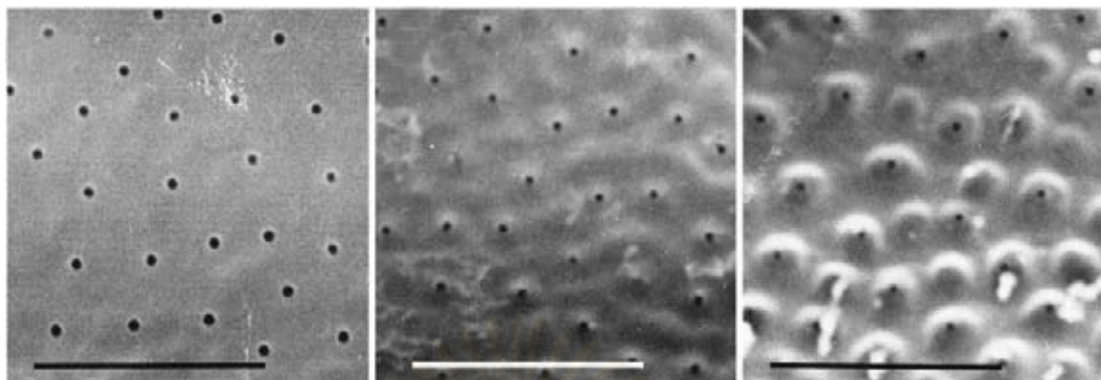


รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ตามลำดับวิวัฒนาการของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* และสกุลอื่นที่เกี่ยวข้อง (แถวบน: กลุ่มที่สามารถสร้างอาหารเองได้ ได้แก่สกุล *Dinophysis*, แถวกลาง: กลุ่มที่ไม่สามารถสร้างอาหารได้เองแต่มีสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินเซลล์เดี่ยวอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiont) ได้แก่ สกุล *Dinophysis* บางชนิด สกุล *Ornithocercus* สกุล *Histioneis* สกุล *Parahistioneis* และสกุล *Citharistes* และแถวล่างเป็นกลุ่มที่สามารถสร้างอาหารได้เองและไม่มีสาหร่ายเซลล์เดี่ยวได้แก่สกุล *Phalacroma* (Hallegraeff and Lucas, 1988)

นอกจากลักษณะผิวบนแผ่นเปลือกจะมีการพัฒนาตามลำดับวิวัฒนาการแล้วยังพบว่า *Dinophysis* บางชนิดเองก็สามารถมีลักษณะผิวที่แตกต่างกันได้หลายแบบซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากวงชีวิตหรือการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม ดังการศึกษาของ Zingone และคณะ (1998) ที่พบการผันแปรลักษณะผิวบนผนังเซลล์ของ *Dinophysis acuminata* และ *D. sacculus* (รูปที่ 6 และ 7)



รูปที่ 6 ลักษณะผิวบนผนังเซลล์ของ *Dinophysis acuminata*, เส้นบอกระยะ 10 ไมโครเมตร (Zingone et al., 1998)



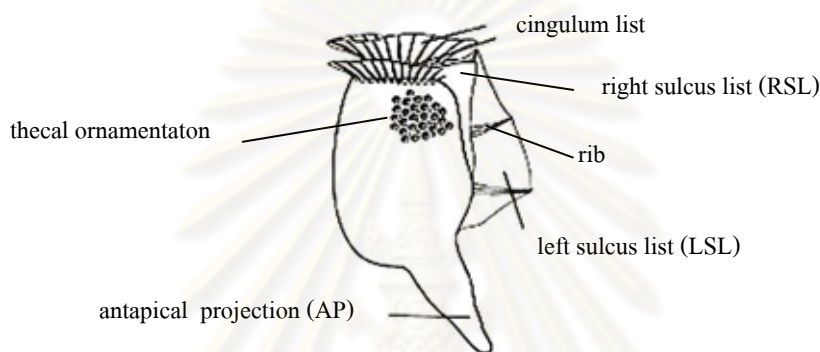
รูปที่ 7 ลักษณะผิวบนผนังเซลล์ของ *Dinophysis sacculus*, เส้นบอกระยะ 10 ไมโครเมตร (Zingone *et al.*, 1998)

ไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* ที่พบได้ทั่วไปจะอยู่กันเป็นคู่หรือ 4 เซลล์ที่ติดกันที่บริเวณด้านหลังของเซลล์ (dorsal) ภายหลังจากการแบ่งเซลล์ด้วยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่แบ่งตัวออกทางด้านข้าง (lateral) เช่นเดียวกับการแบ่งเซลล์ของสกุล *Prorocentrum* (Steidinger and Tangen, 1997)

2. ลักษณะทั่วไปของไดโนแฟลกเจลเลตชนิด *Dinophysis caudata* Saville - Kent 1881

เซลล์มีขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่ ซึ่งมีความยาว 70 - 110 ไมโครเมตร และความกว้าง 37 - 50 ไมโครเมตร (Larsen and Moestrup, 1992; Reguera *et al.*, 2000) รูปร่างรีคล้ายรูปไข่ epitheca มีขนาดเล็กรูปสี่เหลี่ยมกลมคล้ายเลนส์ ถัดจาก epitheca ลงมาเป็นร่องตามขวางซึ่งมีการเรียงตัวของแผ่นปีกเป็นวงที่แผ่กว้างคล้ายกรวยหงายและมีก้านค้ำจุนที่เป็นก้านอ่อนจำนวนมาก hypotheca ขนาดใหญ่โดยมีส่วนยื่นยาวออกมาเรียกว่า antapical projection (AP) มีลักษณะคล้ายนิ้วมือยาวประมาณ 1 ใน 3 ของความยาวเซลล์ ซึ่งส่วนปลายของส่วนนี้อาจมีหรือไม่มี spine ก็ได้ ถ้ามีจะมีอยู่ 1 - 3 อัน ถัดจากส่วนนี้มาทางด้านหลังเป็นบริเวณร่องตามยาวที่มี list อยู่ที่ขอบของร่องทั้ง 2 ข้าง โดย list ที่อยู่ขอบทางด้านซ้ายของร่อง (left sulcus list: LSL) วางตัวตามแนวยาวของเซลล์ซึ่งแผ่กว้างและยาวกว่า list ที่อยู่ด้านขวาของร่อง (right sulcus list: RSL) โดย LSL มีก้านค้ำจุน (rib) ที่เป็นก้านแข็งจำนวน 3 ก้าน ลักษณะผิวของแผ่นปีกมีการสานกันเป็นร่างแห (reticulation) ซึ่งสามารถพบได้ในเซลล์ที่เจริญเต็มที่แล้วและหายไปเมื่อเกิดการแบ่งเซลล์ ส่วน RSL มีขนาดเล็กและยาวลงมาถึงแค่เพียงก้านค้ำจุนก้านที่ 3 ของ LSL (รูปที่ 8) เมื่อมีการแบ่งเซลล์เป็น 2 เซลล์ เซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นทั้ง 2 เซลล์ยังเชื่อมติดกันทางด้านท้องของเซลล์ (dorsal) เรียกว่า megacytic bridge เป็นช่วงเวลาหนึ่งก่อนที่เซลล์ทั้ง 2 จะแยกออกจากกัน จึงทำให้พบเซลล์ในระยะนี้ได้ทั่วไป แผ่นเปลือกของ

ส่วน *epitheca* และ *hypotheca* มีลักษณะผิวซึ่งเกิดจากการเรียงตัวกันของรู (*areolation*) เป็นแบบที่ 5 (type E) ตามการแบ่งของ Hallegraeff and Lucas (1988) คือ มีลักษณะเป็นหลุมลึก รูปร่างกลมหรือรูปหกเหลี่ยมซึ่งในหลุมแต่ละหลุมจะมีรูที่ขอบหรือกลางหลุม (รูปที่ 4) *D. caudata* มีคลอโรพลาสต์จึงทำให้สามารถสร้างอาหารเองได้โดยอาศัยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง และมีนิวเคลียสขนาดใหญ่บริเวณส่วนท้ายของเซลล์ (Balech, 1976; Hallegraeff and Lucas, 1988; Larsen and Moestrup, 1992; Steidinger and Tangen, 1997; Reguera *et al.*, 2000; Nishitani *et al.*, 2002; Nishitani *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008)



รูปที่ 8 ลักษณะทั่วไปของ *Dinophysis caudata*

3. ลักษณะวิทยาของสกุล *Dinophysis*

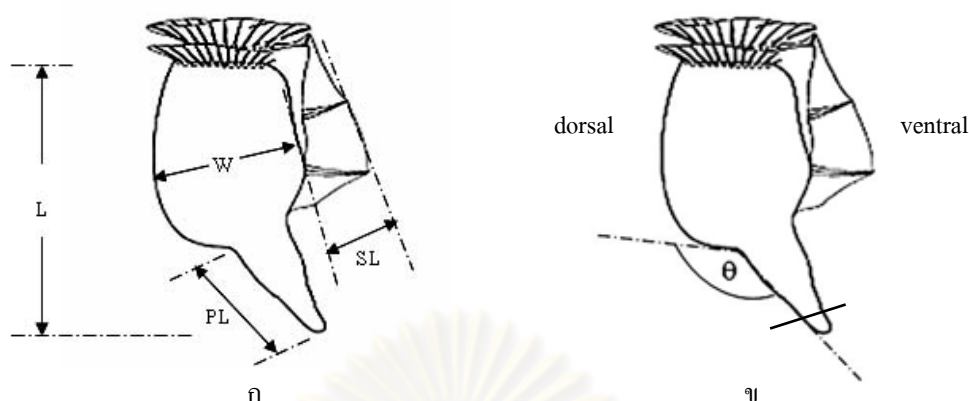
ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* เป็นการศึกษาลักษณะภายนอกเช่น รูปร่าง ขนาด ลักษณะแผ่นปีกหรือแผ่นเปลือก หรือลักษณะอื่นที่มีลักษณะแตกต่างหรือเปลี่ยนไปจากเซลล์ปกติ ซึ่งการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสกุล *Dinophysis* สามารถทำได้โดยการพิจารณาลักษณะต่างๆ (Reguera *et al.*, 2000) ดังนี้ สัดส่วนระหว่างความยาว(L) และความกว้าง(W) สูงสุดของแผ่นเปลือกในส่วนของ *hypotheca* (L:W ratio)(รูปที่ 9ก)

3.1 ลักษณะแนวขอบส่วนหลังของเซลล์ (contour of dorsal side) ว่ามีลักษณะเป็นเส้นตรง เส้นโค้ง เป็นแนวขนานกับแนวทางด้านหลังของเซลล์ (รูปที่ 9ก)

3.2 มุมระหว่างส่วนท้ายของด้านท้องกับส่วนยื่นทางด้านหลังของเซลล์ทำโดยการวัดขนาดมุม (θ)ที่เกิดจากการตัดกันของเส้น 2 เส้นที่ลากจากด้านหน้าของ AP กับส่วนโค้งที่อยู่ส่วนท้ายสุดของส่วนท้ายของด้านท้องของเซลล์ (รูปที่ 9ข)

3.3 ความยาวของ antapical projection(PL) เมื่อเทียบกับความยาวของเซลล์ (PL:L)(รูปที่ 9ก)

3.4 ความกว้างสูงสุดของ list ที่อยู่ขอบด้านซ้ายของร่องตามยาว (SL) (รูปที่ 9ก)



รูปที่ 9 สัณฐานวิทยาของส่วนต่างๆของ *Dinophysis caudata* : L = maximum length, W = width, PL = antapical projection length, SL = sulcus list length, θ = angle between posterior end of the dorsal margin and antapical projection

4. การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตสกุลอื่น

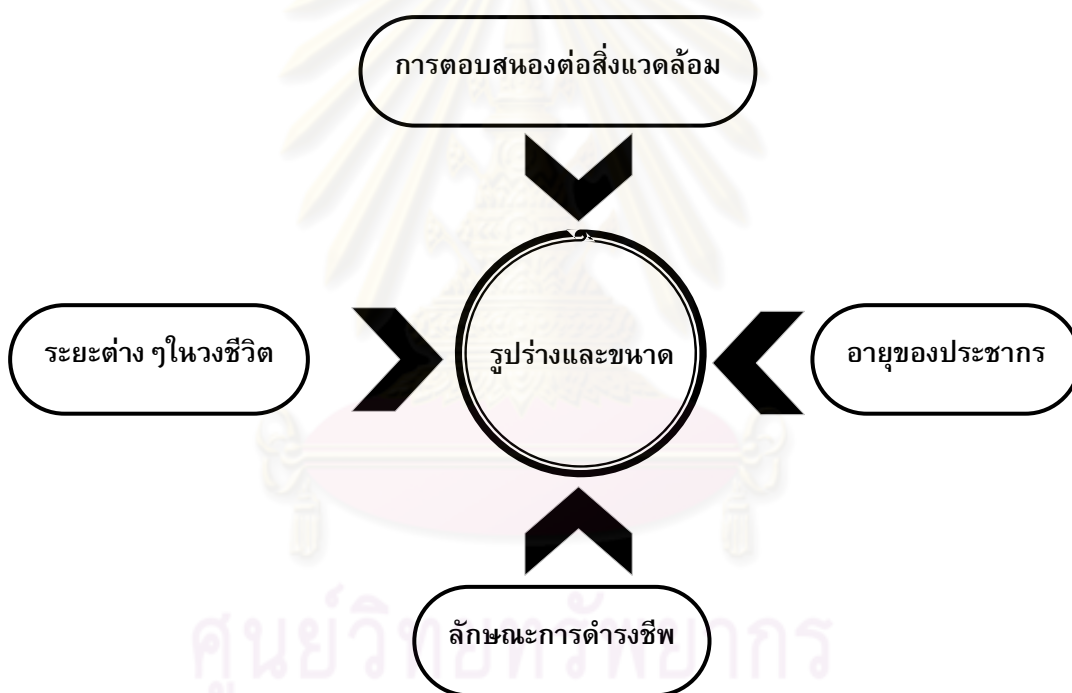
การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* มีการศึกษาครั้งแรกโดย Reguera และ González - Gil (2001) ซึ่งพบ *Dinophysis* ถึง 11 ชนิดที่มีการผันแปรทางสัณฐานวิทยาได้ โดยเฉพาะ *Dinophysis* 3 ชนิด ได้แก่ *Dinophysis acuminata*, *D. caudata* และ *D. tripos* โดย *D. acuminata* มีรูปร่างที่แตกต่างกันถึง 15 แบบ ซึ่งทำให้เซลล์บางรูปร่างมีลักษณะคล้ายคลึงกับ *Dinophysis* อีกชนิดหนึ่งคือ *D. skagii* ส่วน *D. caudata* มีรูปร่างต่างกันถึง 7 แบบที่มีลักษณะคล้ายคลึงกับ *D. diegensis* แต่ภายหลัง Reguera *et al.* (2007) ได้ทำการศึกษา *D. caudata* อีกครั้งโดยการนำเอาเซลล์จากธรรมชาติมาเลี้ยงทำให้พบเซลล์รูปร่างและขนาดต่างๆถึง 70 แบบ ซึ่งนอกจากจะพบลักษณะดังกล่าวแล้วยังได้พิสูจน์ว่า *D. caudata* และ *D. diegensis* ที่มีการจำแนกเป็นคนละชนิดกันโดย Steidinger and Tangen (1997) Reguera *et al.* (2000) และ Gómez (2005) นั้น แท้จริงแล้วเป็นชนิดเดียวกัน คือ *D. caudata* นอกจากนี้การพบ *D. tripos* ที่มีเซลล์ลักษณะต่างกัน 12 แบบซึ่งมีลักษณะคล้ายคลึงกับ *D. diegensis* var. *curvata*

การที่ *Dinophysis* 3 ชนิดคือ *D. acuminata* *D. caudata* และ *D. tripos* อาจมีรูปร่างที่คล้ายคลึงกันทำให้ยากในการจำแนกชนิดและอาจส่งผลต่อการศึกษาความหลากหลายของไดโนแฟลกเจลเลตโดยเฉพาะกลุ่มที่สร้างพิษได้ (Culverhouse *et al.*, 2003) เนื่องจากการจำแนกชนิดส่วนใหญ่ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจำแนกได้แก่ รูปร่าง ขนาด และส่วนยื่นต่างๆของเซลล์ เป็นต้น

การผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถจำแนกได้เป็น 3 ลักษณะใหญ่ๆ คือ เซลล์ที่มีลักษณะเหมือนกับเซลล์ปกติ (vegetative cells) เซลล์ที่มีลักษณะก้ำกึ่งระหว่างเซลล์ปกติของชนิดหนึ่งกับอีกชนิดหนึ่ง (intermediate cells) และเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายกับเซลล์ปกติแต่มีขนาดเล็ก (small cells)

5. ปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตสกุลอื่น

การผันแปรทางสัณฐานวิทยาในสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตสกุลอื่น MacKenzie (1992) และ Reguera and González-Gil (2001) ได้กล่าวถึงปัจจัยในการเกิดการผันแปรทางสัณฐานวิทยาว่าประกอบด้วย 4 ปัจจัยหลักดังนี้ (รูปที่ 10)

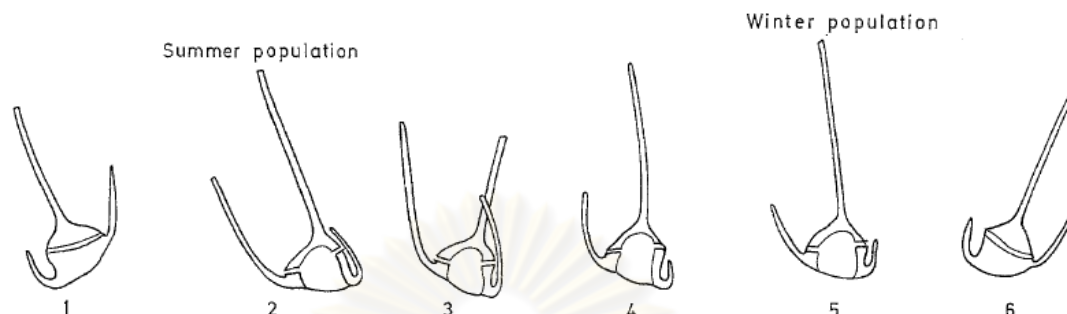


รูปที่ 10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตสกุลอื่น

5.1 การตอบสนองต่อสภาพแวดล้อม

สภาพแวดล้อมประกอบด้วยปัจจัยทางสภาวะและเคมีได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม และปริมาณสารอาหาร โดยเฉพาะสารอาหารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเช่น การศึกษาของ Dowidar (1972) ประเทศอียิปต์พบว่าความกว้างและความยาวของส่วนยื่น (horn) ของ *Ceratium egyptiacum* เปลี่ยนแปลงตามอุณหภูมิโดยในฤดูร้อนที่น้ำทะเลมีอุณหภูมิสูงเซลล์จะมี

ขนาดเล็กและมี horn ยาวกว่าเซลล์ปกติ ส่วนในฤดูหนาวที่อุณหภูมิของน้ำทะเลต่ำเซลล์จะมีขนาดใหญ่และมี horn สั้น (รูปที่ 11)

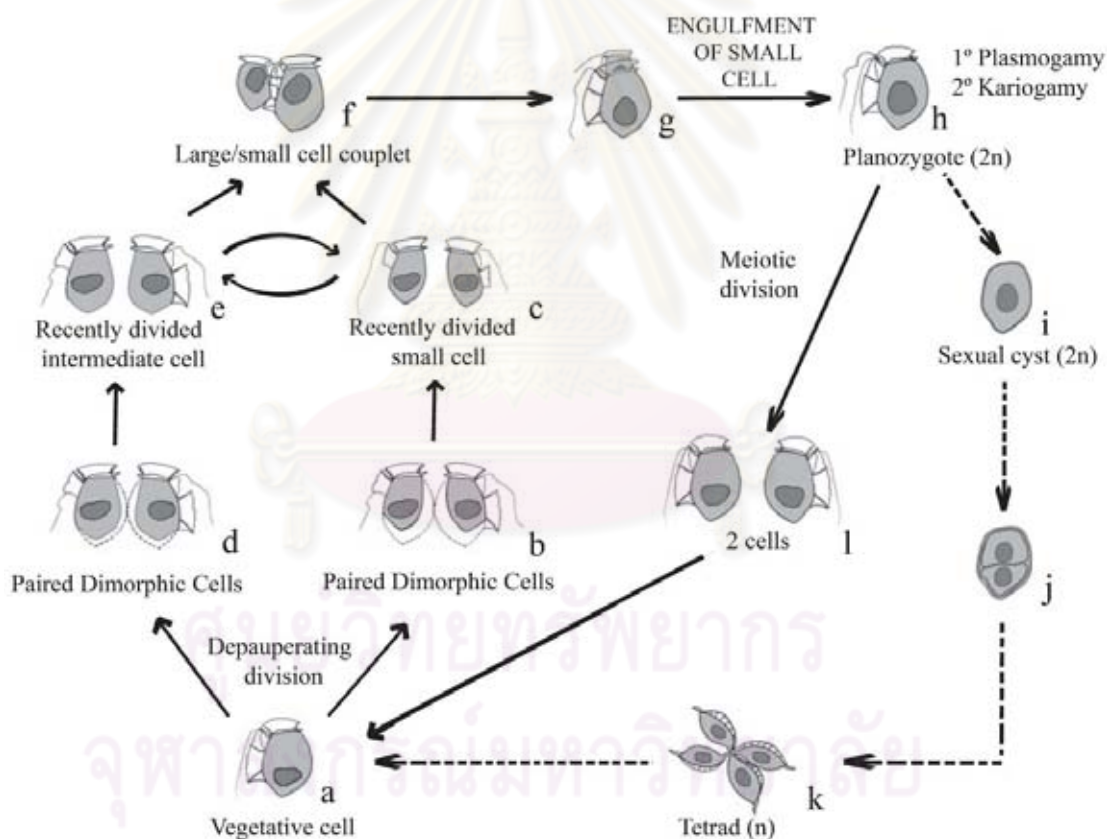


รูปที่ 11 การผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *Ceratium egyptiacum* (Dowidar, 1972)

5.2 ระยะเวลาต่างๆในวงจรชีวิต

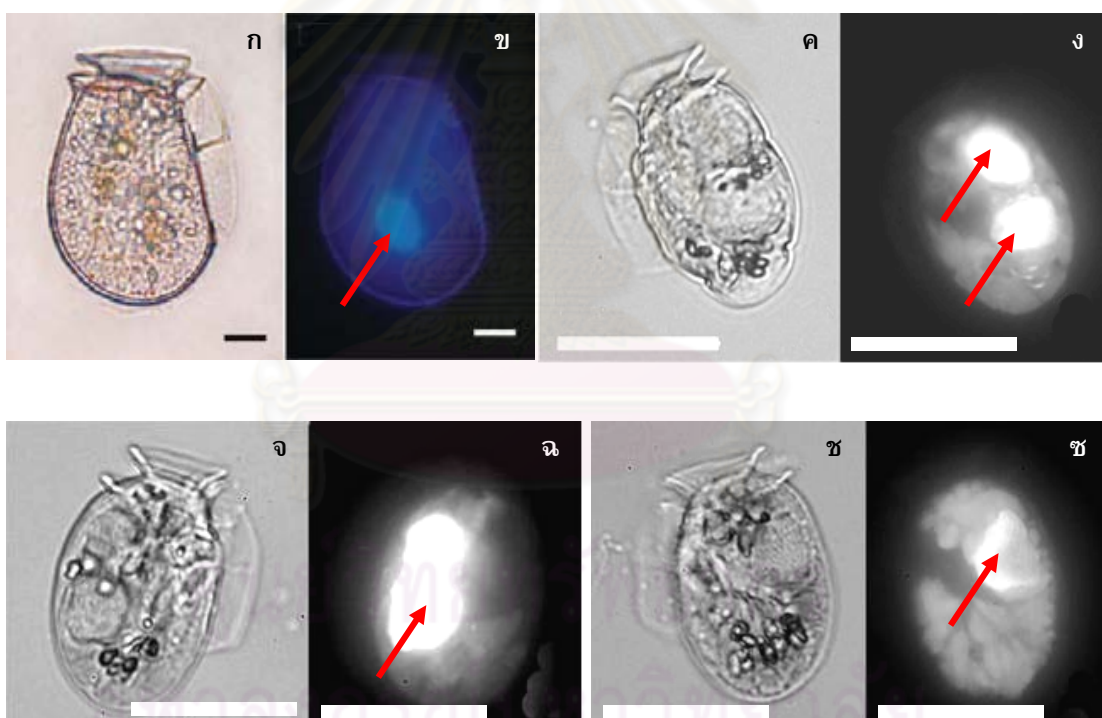
วงจรชีวิตของไดโนแฟลกเจลเลตประกอบด้วยระยะการสืบพันธุ์ 2 แบบคือแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศโดยเฉพาะในระยะเวลาที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศของสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตบางชนิดจะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ 2 แบบที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันหรือเรียกว่า anisogamete เช่น วงจรชีวิตของ *Dinophysis acuminata* ที่มีการเลี้ยงได้สำเร็จเป็นชนิดแรก ในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจะมีการแบ่งเซลล์จาก 1 เซลล์ได้เป็น 2 เซลล์โดยภายหลังจากการแบ่งเซลล์แล้วเซลล์ทั้ง 2 ยังยึดติดกันอยู่เป็นระยะเวลาหนึ่งเรียกว่าระยะเซลล์คู่ (pair cells) จากนั้นจึงค่อยแยกออกจากกันแต่เซลล์ที่ได้อาจมีขนาดเท่ากับเซลล์ต้นแบบหรือขนาดเล็กกว่าก็ได้โดยมีโครโมโซมแบบ haploid (n) ส่วนการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดจากเซลล์ปกติมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ 2 แบบที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันเรียกว่า anisogamete คือ เซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (female gametes) เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดแบบเซลล์ปกติ และเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (male gametes) เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดเล็กกว่าปกติ จากนั้น gamete ทั้งสองเกิดการรวมตัวกัน โดยเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียจะกินเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้เข้าไปทางด้านบนของเซลล์ (anterior part) นิวเคลียสของเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองรวมตัวกันเป็น planozygote ที่เป็น diploid ($2n$) ซึ่งมีหนวดที่รองตามยาว 2 เส้น ต่อมาเกิดการแบ่งเซลล์แบบ meiosis 2 ครั้ง จนได้เซลล์ใหม่ 2 เซลล์ ที่มีขนาดปกติ บางครั้งหลังจากการเกิด planozygote แล้วอาจมีการสร้างเซลล์ที่มีลักษณะคล้ายโครงร่างแข็งเรียกว่า resting cyst (Moita and Sampayo, 1993; Reguera, 2001; Escalera and Reguera, 2008) จากนั้นจะเกิดการแบ่งเซลล์แบบ meiosis 2 ครั้งจนได้เซลล์ใหม่ทั้งหมด 4 เซลล์ เซลล์ที่ได้มีการยึดติดกันด้วย megacytic bridge บริเวณด้านหลังของเซลล์ (dorsal part) เมื่อเซลล์ใหม่ทั้ง 4 แยกออกจากกันจะได้เซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดเหมือนเซลล์ปกติทุกประการ เซลล์ปกติที่เกิดขึ้นมีการแบ่งเซลล์ด้วยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เรียกระยะนี้ว่า depauperating division โดยผลที่เกิดขึ้นจาก

การแบ่งเซลล์ครั้งนี้สามารถให้เซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดเหมือนกับเซลล์ปกติหรือเป็นเซลล์ขนาดเล็กได้ ซึ่งเซลล์ที่ได้จากระยะนี้มีความจำเป็นต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศต่อไป ขณะเดียวกันเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นนอกจากมีรูปร่างและขนาดต่างไปจากเซลล์ปกติแล้ว ยังพบว่ามี การลดรูปหรือขาดหายไปของส่วนยื่นต่างๆของเซลล์ เช่น ขนาดของ antapical projection ขนาดและความยาวของแผ่นปีก (list หรือ sail) หรือลวดลายบนแผ่นปีก (hyaline) เป็นต้น แต่ลักษณะดังกล่าวเกิดขึ้นในระยะแรกภายหลังการแบ่งเซลล์และจะหายไปเมื่อเซลล์พัฒนาเข้าสู่ระยะโตเต็มวัยที่มีลักษณะเหมือนเซลล์ปกติ (Mackenzie, 1992; Reguera and González-Gil, 2001; Reguera *et al.*, 2007; Escalera and Reguera, 2008; รูปที่ 12) โดยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเกิดขึ้นเนื่องจากการถูกกระตุ้นหรือเหนี่ยวนำจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมเช่น การลดลงของแสงและอุณหภูมิ หรือการขาดสารอาหารที่จำเป็น (Pfiester and Anderson, 1987)



รูปที่ 12 วงชีวิตของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* แสดงระยะที่พบจริง(เส้นทึบ) และระยะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่น่าจะเป็นตามทฤษฎี (เส้นประ) (Escalera and Reguera, 2008)

เมื่อพิจารณาลักษณะนิวเคลียสของเซลล์ในแต่ละระยะของวงจรชีวิตพบว่าในช่วงก่อนการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศซึ่งเป็นเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดและรูปร่างปกติ นิวเคลียสมีรูปร่างกลมหรือรีอยู่บริเวณส่วนด้านท้องของเซลล์ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น n (รูปที่ 13ก-ข) แต่ในระยะที่มีการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนิวเคลียสของเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ที่มีขนาดเล็กจะมีการเข้าไปรวมกับเซลล์สืบพันธุ์เพศเมียที่มีขนาดใหญ่กว่าและพัฒนาเข้าสู่ระยะ *planozygote* ที่มีนิวเคลียส 2 อัน ซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น $2n$ (รูปที่ 13ค-ง) และจะยังคงมีการปรากฏลักษณะดังกล่าวจนกระทั่งนิวเคลียสทั้ง 2 เกิดการรวมตัวกันและพัฒนาเข้าสู่ระยะ *karyogamy* แต่นิวเคลียสก็ยังคงมีขนาดใหญ่กว่าปกติ (รูปที่ 13จ-ฉ) เมื่อเกิดการแบ่งเซลล์แบบไม่อาศัยเพศอีกครั้งก็จะได้เซลล์เดี่ยวที่มีลักษณะนิวเคลียสปกติซึ่งมีจำนวนโครโมโซมเป็น n ดังรูปที่ 13ซ-ซ (Berland *et al.*, 1995; Reguera *et al.*, 2003; Koike *et al.*, 2006; Escalera and Reguera, 2008)



รูปที่ 13 ลักษณะนิวเคลียสของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis*: ก-ข *Dinophysis fortii*, ค-ช *D. cf. ovum*; ก ค จ และ ซ กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ, ข ง ฉ และ ฅ ย้อมสีเซลล์ด้วยสีย้อม DAPI ภายใต้กล้อง epifluorescence; ลูกศรแสดงลักษณะของนิวเคลียส; ก-ข เส้นบอกระยะ 10 ไมโครเมตร, ค-ช ใช้เส้นบอกระยะเดียวกันกับรูป ค มีระยะ 20 ไมโครเมตร (Koike *et al.*, 2006; Escalera and Reguera, 2008)

5.3 อายุของประชากร

มีการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กเมื่อเข้าสู่ช่วงภายหลังการเพิ่มจำนวน (bloom) ของเซลล์ขนาดปกติซึ่งโดยทั่วไปมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 5 – 10 แต่ในบางชนิดเช่น *Dinophysis acuta* ที่พบสัดส่วนของเซลล์ขนาดเล็กได้สูงถึงร้อยละ 40 – 45 ซึ่งการพบเซลล์ขนาดเล็กในสกุล *Dinophysis* หรือไดโนแฟลกเจลเลตหลายชนิดในช่วงที่เริ่มมีการลดจำนวนของประชากรในธรรมชาติแสดงถึงการเพิ่มจำนวนประชากรโดยอาศัยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่มีเซลล์ขนาดเล็กทำหน้าที่ในการเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในสภาวะที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อม ซึ่งจะกลายเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสม (MacKenzie, 1992; Silva and Faust, 1995; Reguera and González-Gil, 2001)

5.4 ลักษณะการดำรงชีพ

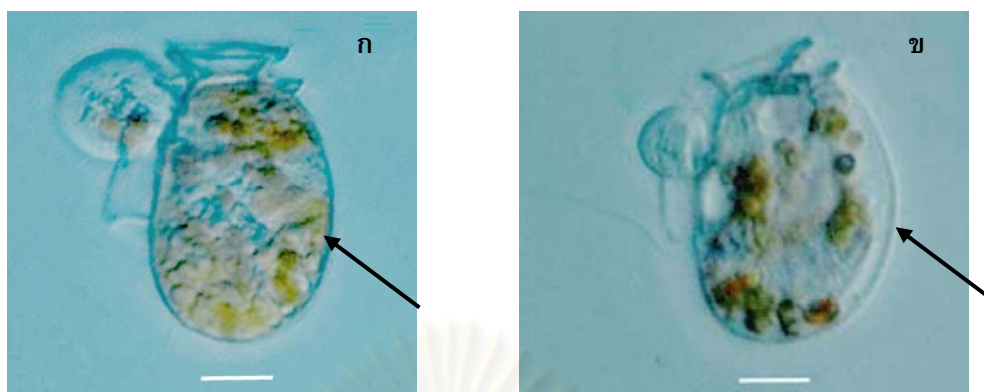
สกุล *Dinophysis* ประกอบด้วยสมาชิกที่มีการดำรงชีพที่หลากหลายได้แก่ autotroph heterotroph หรือ mixotroph ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เซลล์มีรูปร่างและขนาดที่ต่างกัน (ตารางที่ 1) โดยเฉพาะพฤติกรรมในการกินอาหารเช่น *D. acuminata* ที่มีการดำรงชีพแบบ mixotroph พบว่าในช่วงที่มีการกินแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นเป็นอาหารจะทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนรูปร่างโดยเกิดการปองออกของส่วนท้ายของเซลล์ทำให้พบขนาดเซลล์ใหญ่กว่าในช่วงที่ไม่มีการกินอาหาร หรือช่วงที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสง (Park *et al.*, 2006; Reguera *et al.*, 2007) ดังรูปที่ 14

ตารางที่ 1 ลักษณะการดำรงชีพของสกุล *Dinophysis*

ชนิด	ลักษณะการดำรงชีพ			วิธีการศึกษา	แหล่งที่มา
	autotroph	heterotroph	mixotroph		
<i>Dinophysis acuminata</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
			/	¹⁴ C uptake	Granéli <i>et al.</i> (1995)
			/	Food vacuole using DIC microscope	Grason and Miranda (2002)
			/	เพาะเลี้ยง	Setälä <i>et al.</i> (2005) ; Park <i>et al.</i> (2006)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ชนิด	ลักษณะการดำรงชีพ			วิธีศึกษา	แหล่งที่มา
	autotroph	heterotroph	mixotroph		
<i>Dinophysis acuta</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
			/	¹⁴ C uptake	Granéli <i>et al.</i> (1995)
<i>D. aretica</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. caudata</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
			/	เพาะเลี้ยง	Escalera and Reguera (2008); Nishitani <i>et al.</i> (2008); Park <i>et al.</i> (2008)
<i>D. exigua</i>		/		TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. fortii</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
			/	TEM	Koike <i>et al.</i> (2000)
<i>D. hastata</i>		/		TEM	Hallegraeff and Lucas (1988); Hansen (1991)
<i>D. infundibulus</i>	/			TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. miles</i>	/			TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. norvegica</i>	/		?	TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
			/	เพาะเลี้ยง	Carvalho <i>et al.</i> (2008)
			/	พันธุกรรม	Minnhagen <i>et al.</i> (2008)
<i>D. ovum</i>	/			TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. schuettii</i>		/		TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)
<i>D. tripos</i>	/			TEM	Hallegraeff and Lucas (1988)



รูปที่ 14 *Dinophysis acuminata* ที่มีการดำรงชีพแบบ mixotroph ลูกศรแสดงส่วนท้ายของเซลล์, ก: รูปร่างเซลล์ก่อนการกินอาหาร, ข: รูปร่างเซลล์หลังการกินอาหาร เส้นบอกระยะ 10 ไมโครเมตร (Park *et al.*, 2006)

6. ลักษณะทางพันธุกรรมของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis*

การจำแนกชนิดของไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* เบื้องต้นส่วนใหญ่ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ รูปร่างและขนาดของเซลล์ ความยาวของ sulcus lists รูปร่างและตำแหน่งของ spine ส่วนยื่นต่างๆของเซลล์ การมีหรือไม่มีคลอโรพลาสต์ และลักษณะผิวเซลล์ (Balech, 1976; Dodge, 1982 อ้างถึงใน Edvardsen *et al.*, 2003) แต่เนื่องจากข้อมูลและความเข้าใจเกี่ยวกับนิเวศวิทยา สรีรวิทยา วงชีวิต ชีวเคมี และพันธุกรรมของไดโนแฟลกเจลเลตสกุลนี้มีอยู่อย่างจำกัด การจำแนกชนิดของ *Dinophysis* จึงทำได้ยากโดยเฉพาะ *Dinophysis* หลายชนิดมีรูปร่างหรือลักษณะบางอย่างที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นวิธีการที่ช่วยให้การจำแนกชนิดมีความถูกต้องมากขึ้นประกอบด้วย 2 วิธีคือ การเพาะเลี้ยงซึ่งต้องอาศัยระยะเวลาอันยาวนาน อีกทั้งยังมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและซับซ้อนจึงไม่ค่อยเป็นที่นิยม ส่วนอีกวิธีหนึ่งคือการนำเอาเทคนิคทางชีวโมเลกุลมาใช้ เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทราบผลได้ในระยะเวลาสั้นและมีความแม่นยำสูง เทคนิคทางชีวโมเลกุลที่มีการนำมาใช้คือปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction: PCR) โดยมี primer ที่จำเพาะเจาะจงต่อบริเวณที่มีลำดับเบสซึ่งจำเพาะในการจำแนกชนิด ลักษณะของสารพันธุกรรมหรือ DNA ในนิวเคลียสเซลล์ (nuclear rDNA) จึงเป็นบริเวณที่ถูกนำมาใช้ในการจำแนกชนิด รวมถึงหาความสัมพันธ์ตามลำดับวิวัฒนาการของแพลงก์ตอนพืช (Córdova and Müller, 2002; Godhe *et al.*, 2002; Guilloua *et al.*, 2002; Edvardsen *et al.*, 2003;; Hansen *et al.*, 2003; MacKenze *et al.*, 2004; Lilly *et al.*, 2005; Murray *et al.*, 2005; Hart *et al.*, 2007; McDonald *et al.*, 2007; Pitcher *et al.*, 2007; Sonnenberg *et al.*, 2007; Jensen, 2008; Sparmann *et al.*, 2008; Handy *et al.*, 2009; Jensen and Daugbjerg, 2009) ซึ่งตำแหน่งยีนที่การศึกษาส่วนใหญ่นำมาใช้ในการจำแนกชนิดสกุล *Dinophysis* หรือไดโนแฟลกเจลเลตชนิดอื่นคือ large subunit ribosomal DNA (LSU rDNA gene: 28s) เนื่องจากเป็น

ตำแหน่งที่มีความหลากหลายของลำดับเบสค่อนข้างน้อยจึงทำให้มีลักษณะจำเพาะของแต่ละชนิด (รูปที่ 15)



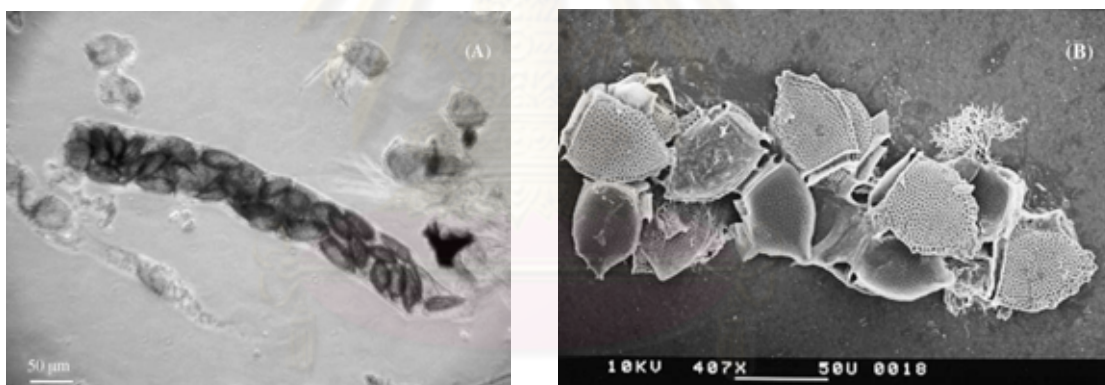
รูปที่ 15 ตำแหน่งของหน่วยต่างๆใน nuclear rDNA (Sonnenberg *et al.*, 2007)

7. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการผันแปรประชากรของ *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติ

D. caudata เป็นไดโนแฟลกเจลเลตชนิดหนึ่งในสกุล *Dinophysis* ที่สามารถสร้างสารชีวพิษได้และเป็นชนิดที่มีการรายงานการปรากฏในความหนาแน่นสูงเมื่อเทียบกับในอดีต (พรศิลป์ ผลพันธ์, 2530; สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ, 2546; อิชฌมิกา พรหมทอง และคณะ, 2546; ณีฎฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ, 2549; ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2551) ความชุกชุมของ *D. caudata* ส่วนใหญ่พบในช่วงที่น้ำทะเลมีความเค็มค่อนข้างสูงโดยเฉพาะในช่วงฤดูแล้งตั้งการศึกษาของสุทธิชัย เตมียวนิชย์ (2527ก) บริเวณปากแม่น้ำปราณบุรี ที่พบ *D. caudata* มีความชุกชุมสูงในเดือนกันยายนถึงเดือนมีนาคม โดยเฉพาะเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนธันวาคม เช่นเดียวกับการศึกษาของณีฎฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ (2549) บริเวณอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตกที่พบ *D. caudata* มีความชุกชุมสูงในเดือนธันวาคม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในบริเวณอื่นเช่น การศึกษาในชายฝั่งประเทศเวียดนามที่พบ *D. caudata* มีความชุกชุมสูงในเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคมและบริเวณอ่าว Triestec ตอนเหนือของทะเล Adriatic ที่พบชุกชุมในฤดูร้อนจนถึงฤดูใบไม้ร่วง (Sidari *et al.*, 1995; Larsen and Nguyen, 2004) เป็นต้น นอกจากความชุกชุมของ *D. caudata* มีความสัมพันธ์กับความเค็มแล้วยังพบที่มีความสัมพันธ์กับการผันแปรของอุณหภูมิและปริมาณสารอาหารโดยเฉพาะสารอาหารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบได้แก่ ไนเตรท - ไนโตรเจน และไนไตรท์ - ไนโตรเจน (สุทธิชัย เตมียวนิชย์, 2527ก; หมั่น โพธิ์วิจิตร และอัจฉรา มโนเวชพันธ์, 2527; Delmas *et al.*, 1992; Paerl, 1997; Larsen and Nguyen, 2004; เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550) รวมทั้งการพัดพาของกระแสน้ำหรือการแบ่งชั้นของมวลน้ำที่พบชุกชุมสูงในบริเวณที่เป็นชั้นของ euphotic zone (ทวีศักดิ์ ปิยะกาญจน์ และคณะ, 2530; Gisselson *et al.*, 2002; France and Mozetič, 2006)

นอกจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางกายภาพและเคมีที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* แล้วยังพบการเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* จนมีความชุกชุมสูงเกิดขึ้นภายหลังจากที่มีการเพิ่มจำนวนของไดอะตอมหรือแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก (Delmas *et al.*, 1993; Nishitani *et al.*, 2005) ขณะที่มีการเพิ่มจำนวนของไดอะตอมหรือแพลงก์ตอนพืชกลุ่มอื่นพบว่า

แพลงก์ตอนในกลุ่มพีโคและนาโนแพลงก์ตอนมีการเพิ่มจำนวนตามไปด้วยทำให้ปริมาณอินทรีย์คาร์บอนในระยะนี้มีค่าสูงตามไปด้วย อีกทั้งพีโคและนาโนแพลงก์ตอนบางกลุ่มสามารถเกาะที่ผนังเซลล์ของ *Dinophysis* spp. ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ มีปริมาณสูง (Müller-Niklas and Herndl, 1996; Nishitani *et al.*, 2002) ซึ่งนอกจากจะพบพีโคและนาโนแพลงก์ตอนแล้วยังพบแพลงก์ตอนสัตว์ในกลุ่มโคฟีพอดโดยเฉพาะคาลานอยด์และไซโคลพอยด์โคฟีพอดที่กินไดโนแฟลกเจลเลตสกุล *Dinophysis* เป็นอาหารทำให้มีความชุกชุมลดลง โดยเฉพาะโคฟีพอดเพศเมียที่พบว่าในระยะที่มีการสร้างไข่จะมีอัตราการกินสูงกว่าในระยะปกติ แต่การกิน *Dinophysis* ของโคฟีพอดบางครั้งไม่ได้ทำให้ความชุกชุมของ *Dinophysis* ลดลงเนื่องจาก *Dinophysis* ที่ถูกกินเข้าไปถูกย่อยไม่หมด บางส่วนของเซลล์ที่ยังมีชีวิตถูกถ่ายออกมาในรูปของมูลก็สามารถเป็นสาเหตุให้เกิดการเพิ่มจำนวนของ *Dinophysis* ขึ้นใหม่ได้ และขณะเดียวกันการที่โคฟีพอดกิน *Dinophysis* เป็นอาหารก็เป็นการถ่ายทอดสารชีวพิษเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารซึ่งสามารถเข้าสู่ผู้บริโภคลำดับสูงได้ (Maneiro *et al.*, 2002; Jansen *et al.*, 2006; Kozlowsky-Suzuki *et al.*, 2006; รูปที่ 16)



รูปที่ 16 Fecal pellet ของโคฟีพอดที่ยังคงมีเซลล์ของ *Dinophysis novogica* ที่ย่อยไม่หมด (Jansen *et al.*, 2006)

นอกจากโคฟีพอดที่มีส่วนในการเป็นตัวกลางที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของไดโนแฟลกเจลเลตในกลุ่มนี้แล้วยังพบว่าการกินของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดอื่นโดยเฉพาะ *Noctiluca scintillans* ซึ่งเป็นตัวการหนึ่งที่ทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* และไดอะตอมสกุล *Pseudo-nitzschia* ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถสร้างสารชีวพิษได้ด้วย รวมถึงเป็นตัวกลางในการถ่ายทอดสารชีวพิษจากแพลงก์ตอนพืชดังกล่าวเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารได้เช่นเดียวกับโคฟีพอดจึงทำให้สามารถพบไดโนแฟลกเจลเลตทั้ง 2 ชนิดพร้อมกัน (Escalera *et al.*, 2007)

8. การศึกษาเกี่ยวกับ *Dinophysis caudata* ในประเทศไทย

การรายงานพบ *D. caudata* เป็นครั้งแรกจากการศึกษาบริเวณเกาะช้าง จังหวัดตราด ในปี พ.ศ. 2444 หรือ ค.ศ. 1901 (สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ, 2546 อ้างถึง Schmidt, 1901) แต่การศึกษาเกี่ยวกับ *D. caudata* ในระยะแรกส่วนใหญ่มีการรายงานไว้คู่กับศึกษาในแพลงก์ตอนพืชที่เป็นสาเหตุของปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ทำให้มีข้อมูลเฉพาะความหลากหลายและชุกชุมของแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นซึ่งพบได้บ่อยกว่า *D. caudata* จนกระทั่งในปี พ.ศ. 2526 ได้มีการรายงานพบผู้ป่วยที่เกิดอาการท้องร่วงและอาเจียนเนื่องจากได้รับประทานหอยที่มีเนื้อเยื่อสีแดงเข้าไป ภายหลังได้มีการนำน้ำทะเลมาศึกษาแพลงก์ตอนพืชจึงพบว่า *D. caudata* เป็นแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่น ดังนั้นจึงเป็นการรายงานความเป็นพิษเนื่องจาก *D. caudata* เป็นครั้งแรก (สุทธิชัย เตมียวนิชย์, 2527ข) หลังจากนั้นเป็นต้นมาก็ไม่มีรายงานการได้รับพิษเนื่องจาก *Dinophysis* ชนิดนี้อีกเลย

การศึกษาในด้านการกระจายของ *D. caudata* เริ่มมีการศึกษาในปี พ.ศ. 2530 โดยพรศิลป์ ผลพันธิน ได้ศึกษาอนุกรมวิธานและการกระจายของไดโนแฟลกเจลเลต 3 ครอบครัวยาวไทยทำให้พบว่า *D. caudata* มีการกระจายทั่วทั้งอ่าวไทยโดยเฉพาะอ่าวไทยตอนในที่มีความชุกชุมสูงในบริเวณปากแม่น้ำสำคัญๆ ได้แก่ ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ และปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร รวมไปถึงบริเวณชายฝั่งจังหวัดเพชรบุรี ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับ *D. caudata* ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในด้านความหนาแน่นและการกระจายของแพลงก์ตอนพืชที่สาเหตุของการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีเฉพาะบริเวณ (สุนีย์ สุวภีพันธ์, 2525; สุทธิชัย เตมียวนิชย์, 2527ข; สุนีย์ สุวภีพันธ์, 2528; ปิยรัตน์ เชื้อซี่, 2547; ทิพวรรณ แซ่มา, 2549; รวมทรัพย์ ชำนาญธนา, 2549; ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2551) หรือความหลากหลายของแพลงก์ตอนพืชในบริเวณต่างๆ เพื่อใช้ในการประเมินทรัพยากรชายฝั่งหรือผลผลิตทางชีวภาพในระบบนิเวศ (หมั่น โพธิ์วิจิตร และอัจฉรา มโนเวชพันธ์, 2527; อธิภา พรหมทอง และคณะ, 2546; วรญา ไชวพันธ์, 2548; อรุณี สมมณี และคณะ, 2548; ณีฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ, 2549) ซึ่งการศึกษาทั้งสองส่วนเป็นการรายงานในระดับสกุลและบางช่วงเวลาเท่านั้น ทำให้ยากในการศึกษาแนวโน้มการเพิ่มขึ้นและการกระจายของ *Dinophysis* ชนิดนี้ จากสาเหตุดังกล่าวทำให้ขาดข้อมูลที่ต่อเนื่องซึ่งจำเป็นต่อการศึกษาเกี่ยวกับนิเวศวิทยา วงชีวิต พันธุกรรม และพิษวิทยา ที่เป็นส่วนสำคัญเพื่อนำไปใช้ในการติดตามการผันแปรของ *D. caudata* หรือแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นโดยเฉพาะชนิดที่สามารถสร้างสารพิษซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อประมงและการเพาะเลี้ยงชายฝั่งได้

9. บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร

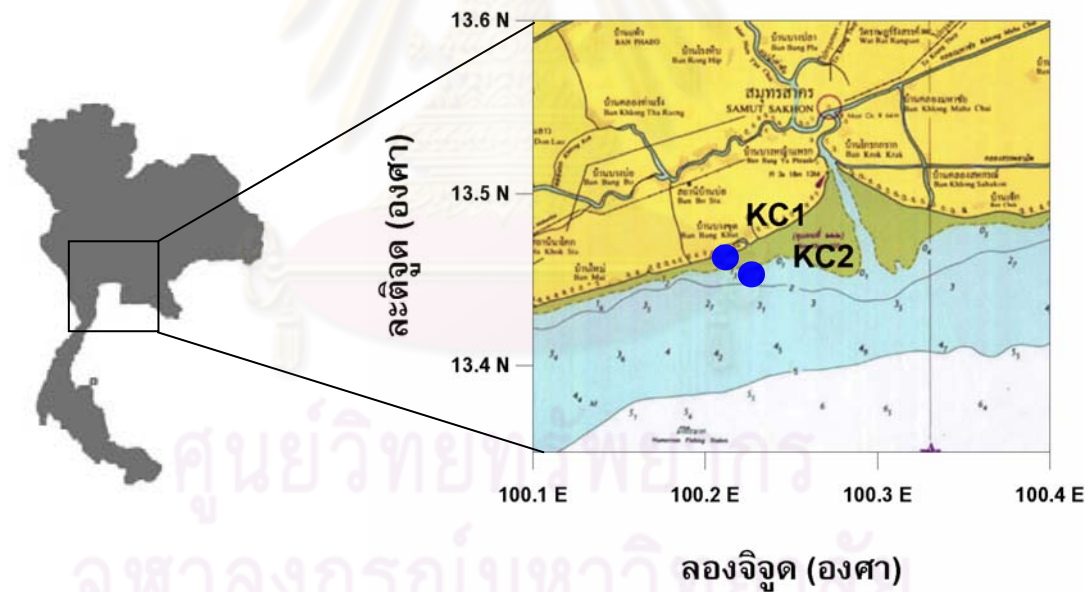
ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครถือได้ว่าเป็นบริเวณที่มีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งแห่งหนึ่งในอ่าวไทยตอนบนทำให้มีการประมงและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งเป็นจำนวนมาก (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) ความอุดมสมบูรณ์ดังกล่าวได้รับอิทธิพลมาจากปริมาณน้ำท่าทำให้มีปริมาณสารอาหารสูงส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีอยู่บ่อยครั้งโดยตั้งแต่ปี พ.ศ. 2546 – 2551 มีการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีทั้งสิ้น 30 ครั้งซึ่งมีความถี่สูงกว่าบริเวณอื่นในอ่าวไทยตอนบน (รวมทรัพย์ ชำนาญธนา, 2549; ทิพวรรณ แซ่มา, 2549; ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2551) โดยเฉพาะ *D. caudata* ที่พบว่ามีความหนาแน่นสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการศึกษาในอดีตจากเดิมในปี 2540 พบความหนาแน่น 7.44×10^2 เซลล์ต่อลิตร และความหนาแน่นเพิ่มสูงถึง 4.70×10^5 เซลล์ต่อลิตรในปีพ.ศ. 2549 (อิชฌิกา พรหมทอง และคณะ, 2546; รวมทรัพย์ ชำนาญธนา, 2549; เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550) ถึงแม้ว่าความหนาแน่นของ *D. caudata* จะไม่มากพอที่จะเป็นสาเหตุของการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี แต่ความเป็นพิษของ *Dinophysis* ชนิดนี้ก็อาจมีการสะสมในเนื้อเยื่อหอยสองฝาซึ่งสามารถส่งผลต่อการเพาะเลี้ยงชายฝั่งและการบริโภคอาหารทะเลได้

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

บริเวณศึกษา

บริเวณศึกษาตั้งอยู่บริเวณชายฝั่งตะวันตกของปากแม่น้ำท่าจีน ที่บ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร รวม 2 สถานี (รูปที่ 17 และตารางที่ 2) ซึ่งเป็นชุมชนที่มีการประกอบอาชีพประมงเป็นหลักได้แก่ ประมงอวนลาก และประมงชายฝั่ง เป็นต้น รวมถึงมีการเพาะเลี้ยงชายฝั่งจึงทำให้มีการพัฒนาสารอาหารที่ได้จากการเพาะเลี้ยงผ่านทางคลองขนาดเล็กลงสู่บริเวณชายฝั่ง ทำให้บริเวณดังกล่าวมีการรายงานพบความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ในความหนาแน่นที่ค่อนข้างสูง (เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550) อีกทั้งยังเป็นพื้นที่ศึกษาที่อยู่ในโครงการตรวจเฝ้าระวังแพลงก์ตอนพืชที่ก่อให้เกิดอันตรายบริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร-สมุทรสงคราม



รูปที่ 17 สถานที่เก็บตัวอย่างบริเวณบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร

ตารางที่ 2 สถานีเก็บตัวอย่างบริเวณบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร

สถานี	ละติจูด	ลองจิจูด	ลักษณะพื้นที่
KC1	13°27'44.8"	100°12'43.9"	บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จ.สมุทรสาคร ฝั่งตะวันตกของปากคลองบ้านกระช้ำขาวอยู่ห่างจากชายฝั่ง ประมาณ 500 เมตร
KC2	13°27'14.1"	100°13'39.5"	บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จ.สมุทรสาคร ฝั่งตะวันออกของปากคลองบ้านกระช้ำขาวอยู่ห่างจากชายฝั่ง ประมาณ 1,000 เมตร

วิธีการศึกษา

1. การผันแปรประชากรของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งจังหวัดสมุทรสาคร และความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมและแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่น

การศึกษาการผันแปรประชากรของ *D. caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครทำการเก็บตัวอย่างเดือนละ 1 ครั้ง ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือน พฤษภาคม 2551 โดยการเก็บตัวอย่างเชิงปริมาณด้วยกระบอกเก็บน้ำให้มีปริมาตรรวม 20 ลิตร จากนั้นกรองน้ำผ่านถุงกรองแพลงก์ตอนที่มีขนาดตา 20 ไมโครเมตร ทั้งหมด 3 ชั่วโมง ที่ค้างอยู่บนถุงกรองมารักษาสภาพด้วยสารละลายฟอร์มาลินให้มีความเข้มข้นสุดท้าย ร้อยละ 2 - 4 ขณะเดียวกันทำการตรวจวัดปัจจัยสิ่งแวดล้อมขณะทำการเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ความลึกน้ำด้วยเครื่อง depth sounder (ยี่ห้อ Hawk Eye รุ่น Fish finder model FF3355P) อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลาย และความเป็นกรด - เบสของน้ำด้วยเครื่อง water quality checker (TOA model WQC-22A) และความโปร่งแสงของน้ำด้วย Secchi disc และเก็บน้ำปริมาตร 1 ลิตร ต่อตัวอย่างมาสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารละลายน้ำ ตามวิธีของ Parsons *et al.* (1984)

ศึกษาความหนาแน่นของ *D. caudata* และแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นโดยการสุ่มตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มานับจำนวนเซลล์ของ *D. caudata* และแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นซึ่งมีการ จำแนกชนิดตามวิธีของ Steidinger and Tangen (1997), Syversen and Hasle (1997) และ ลัดดา วงศ์รัตน์ (2546) ด้วย Sedgewick - Rafter slide แล้วคำนวณเป็นความหนาแน่นเซลล์ ต่อลิตร จำนวน 3 ชั่วโมง ตามสูตรของ Thronson (1995)

$$\text{ความหนาแน่น (เซลล์ต่อลิตร)} = (a \times b) / c$$

เมื่อ a คือ จำนวนเซลล์ที่นับได้ในน้ำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (เซลล์)

b คือ ปริมาตรน้ำตัวอย่างที่ได้จากการกรองผ่านถุงกรองแพลงก์ตอน (มิลลิลิตร)

c คือ ปริมาตรน้ำที่กรอง (ลิตร)

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ในรอบปี กับ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation)

2. การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของประชากร *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติ

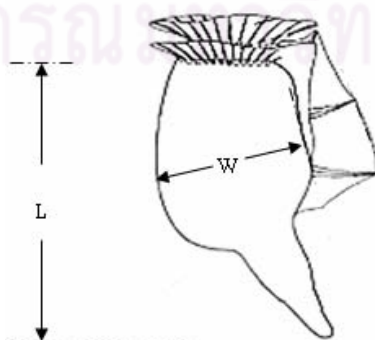
การศึกษาการผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาทำการเก็บตัวอย่างทุกเดือนตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ในบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร โดยเก็บตัวอย่างที่เก็บเชิงคุณภาพด้วยการใช้ถุงกรองแพลงก์ตอนที่มีขนาดตา 20 ไมโครเมตร ลากใน แนวเฉียงเพื่อรวบรวมตัวอย่างให้มากที่สุด รักษาสภาพตัวอย่างด้วยสารละลายฟอร์มาลินที่เป็น กลางให้มีความเข้มข้นสุดท้ายร้อยละ 2 – 4

2.1 การผันแปรทางด้านรูปร่างและขนาดของ *D. caudata*

ทำการสุ่มตัวอย่างเซลล์ *D. caudata* จากตัวอย่างของแต่ละเดือนประมาณ 100 เซลล์ เพื่อศึกษารูปร่างเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ โดยการวาดรูปเซลล์ที่มีรูปร่าง ต่างกันซึ่งลักษณะที่ใช้ในการจำแนกเซลล์ *D. caudata* แต่ละรูปร่างดังนี้

- 1) รูปร่างของแผ่นเปลือกส่วนของ hypotheca
- 2) ลักษณะการโค้งของส่วนท้ายของเซลล์
- 3) รูปร่างและขนาดของส่วนยื่น (antapical projection)

ทำการสุ่มตัวอย่างเซลล์ *D. caudata* จากตัวอย่างแต่ละเดือนอย่างน้อยเดือนละ 30 เซลล์ มาถ่ายรูปเซลล์เพื่อวัดขนาดความกว้างและความยาวเซลล์ด้วยโปรแกรม Image - Pro Plus (Media Cybernetics, USA) ดังรูปที่ 18



รูปที่ 18 การวัดความกว้างและความยาวเซลล์ของ *Dinophysis caudata*

นำข้อมูลความกว้างและความยาวเซลล์มาเขียนกราฟแจกแจงความถี่ (histogram) และวิเคราะห์หาความถี่ในการปรากฏของเซลล์แต่ละขนาดด้วยจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างและความยาวเซลล์ พร้อมทั้งหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของความกว้างและความยาวเซลล์

2.2 การผันแปรทางด้านลักษณะผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata*

ตัวอย่างที่นำมาศึกษาลักษณะผิวเซลล์เป็นตัวอย่างเดียวกับการศึกษาการผันแปรด้านรูปร่างและขนาดหลังจากการถ่ายรูปแล้วมาทำการเตรียมตัวอย่างเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Truby (1997) ดังนี้

- 1) นำตัวอย่างเซลล์ที่ได้ทำการเก็บด้วยวิธีข้างต้นมาคัดเลือกเซลล์รูปร่างต่างๆ อย่างน้อย 100 เซลล์ มาล้างด้วยน้ำกลั่น 2 - 3 ครั้ง
- 2) กรองตัวอย่างลงบนกระดาษกรอง polycarbonate ที่มีขนาดรู 2 ไมโครเมตร
- 3) ทำการแทนที่น้ำในเซลล์ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10, 30, 50, 70, และ 90 ตามลำดับ จากนั้นนำกระดาษกรองติดลงบนกระจกปิดสไลด์ขนาดเล็ก (cover slide) ที่ติดอยู่บนแท่นติดตัวอย่าง (aluminum stub)
- 4) ทำตัวอย่างให้แห้งด้วยวิธี air dry โดยตั้งทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นนาน 2 - 3 วัน
- 5) นำตัวอย่างที่แห้งแล้วมาฉาบผิวด้วยทองโดยเครื่อง Ion Sputter (ยี่ห้อ BALZERS รุ่น SCD040) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราด (ยี่ห้อ JOEL รุ่น JSM - 5410LV)

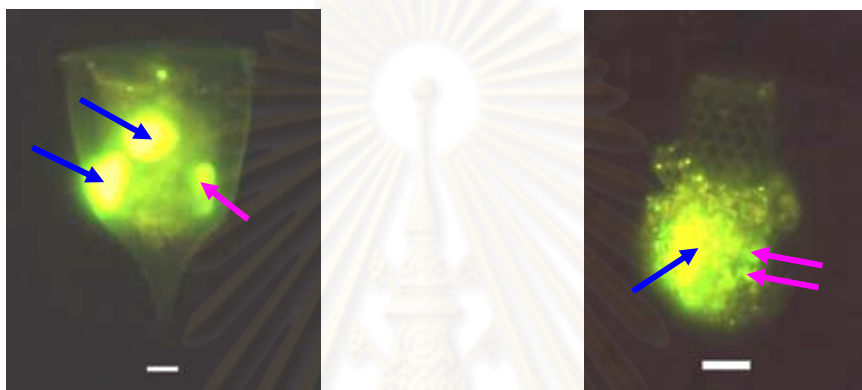
2.3 ลักษณะการดำรงชีพของ *D. caudata*

ตัวอย่างเซลล์ที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้เป็นตัวอย่างที่ได้จากการเก็บตัวอย่างเชิงคุณภาพ โดยทำการคัดเลือกเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดเซลล์ที่แตกต่างกันด้วย Pasteur's pipette ที่ดัดแปลงให้แหลมมาใช้เพื่อศึกษาลักษณะนิเวศของเซลล์ โดยมีขั้นตอนในการศึกษาดังนี้

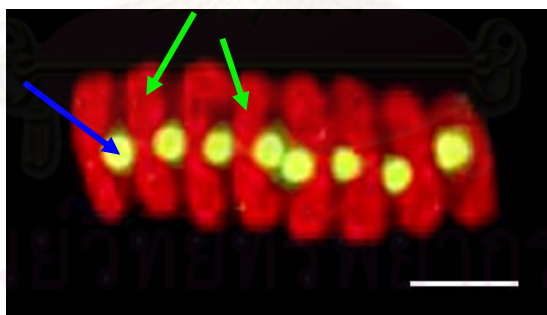
- นำเซลล์ที่ได้มากรองลงบนกระดาษกรองโพลีคาร์บอนเนตสีดำ (Black membrane filter) ซึ่งมีขนาดรู 0.2 ไมโครเมตร จนกระทั่งตัวอย่างเกือบแห้ง
- หยดสีย้อม Sybr Green I (Sigma – Aldrich, USA) ที่เจือจาง 2.5×10^3 เท่า ลงบนกระดาษกรองประมาณ 2-3 หยด ทิ้งเอาไว้ในที่มืดนาน 5-15 นาที เพื่อให้สีย้อมติดเซลล์ (Vítová *et al.*, 2005)
- วางกระดาษกรองลงบนกระดาษซับเพื่อดึงสารละลายของสีย้อมและนำส่วนเกินออกจนกระดาษกรองแห้ง
- นำกระดาษกรองที่ได้วางลงบนกระจกสไลด์และปิดด้านบนกระดาษกรองด้วยกระจกปิดสไลด์

- นำสไลด์ที่ได้มาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ epifluorescence โดยกระตุ้นด้วยช่วงแสงสีฟ้า (excitation ที่ 353 - 377 นาโนเมตร, 395 นาโนเมตร cutoff, emission ที่ 515 - 565 นาโนเมตร)

การเรืองแสงของสีย้อม Sybr Green I จะมีการเรืองแสงเป็นสีเขียวอมเหลืองของนิวเคลียสและถุงอาหารเมื่อมีการดำรงชีพแบบ heterotroph (รูปที่ 19) หรือเรืองสีเขียวอมเหลืองของนิวเคลียสและสีแดงของคลอโรพลาสต์เมื่อมีการดำรงชีพแบบ autotroph (รูปที่ 20)



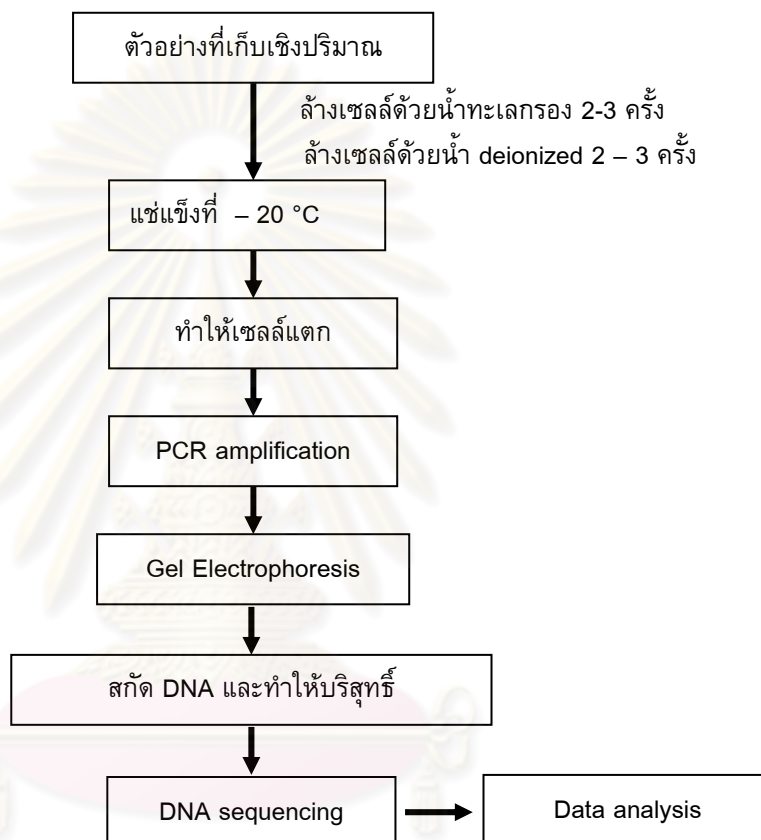
รูปที่ 19 นิวเคลียส (ลูกศรสีน้ำเงิน) และถุงอาหาร (ลูกศรสีชมพู) ในแพลงก์ตอนสัตว์ ciliated protozoa กลุ่ม Tintinnid (เส้นบอกระยะ 40 ไมโครเมตร)



รูปที่ 20 นิวเคลียส (ลูกศรสีน้ำเงิน) และคลอโรพลาสต์ (ลูกศรสีเขียว) ในสาหร่ายสีเขียวสกุล *Scenedesmus* (เส้นบอกระยะ 10 ไมโครเมตร)(Vítová *et al.*, 2005)

3. การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ *Dinophysis caudata* จากธรรมชาติ

ตัวอย่างที่ใช้สำหรับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาได้มาจากตัวอย่างที่เก็บเชิงคุณภาพซึ่งที่ถูกรักษาสภาพด้วยเมธิลแอลกอฮอล์ที่เย็นจัดที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งทำการศึกษา จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้มาศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมตามวิธีของ Godhe *et al.* (2002) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ (รูปที่ 21)



รูปที่ 21 ขั้นตอนการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ *Dinophysis caudata*

1) การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างดองที่ได้เก็บรักษาสภาพจากวิธีข้างต้นมาทำการคัดเลือกเซลล์ *D. caudata* ที่มีรูปร่างต่างกันมากที่สุดได้แก่ เซลล์ขนาดเล็กที่สุด ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ที่สุด ซึ่งเป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสอยู่ด้านท้องของเซลล์ชัดเจน จากนั้นล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่เอาไอออนออก (deionized water) ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 - 3 ครั้ง ทำการถ่ายรูปเซลล์และเก็บตัวอย่างเซลล์ที่ผ่านการล้างแล้วลงใน PCR tube ขนาด 0.2 มิลลิลิตร หลอดละ 1 เซลล์ มาทำให้เซลล์แตกและนำไปศึกษาด้วยวิธีปฏิกิริยาถูโกโซ

2) ปฏิกิริยาลูกโซ่ (Polymerase Chain Reaction: PCR)

PCR primer สำหรับศึกษาครั้งนี้เป็น primer ที่มีการนำมาใช้เพื่อศึกษาพันธุกรรมในบริเวณ D1 - D2 ของตำแหน่ง LSU rDNA ซึ่งประกอบด้วย primer 3 คู่ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 primer สำหรับศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

Primer	ลำดับเบส (5' – 3')	G + C %	แหล่งที่มา
DIR-F	ACCCGCTGAATTTAAGCATA	40	Scholin <i>et al.</i> (1994)
D2C-R	CCTTGGTCCGTGTTTCAAGA	50	Scholin <i>et al.</i> (1994)
Dino1-R	TTGTGGCAGCAACCAATCCT	50	Guillou <i>et al.</i> (2002)
Dtripcau-R	TTATGCTGATCGCAACCCTC	50	Hart <i>et al.</i> (2007)

* F คือ forward primer; R คือ reverse primer

การทำ PCR แต่ละตัวอย่างจะมีปริมาตรสุดท้ายของสารในการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 25 ไมโครลิตร ประกอบด้วยสารต่างๆ ดังนี้ เซลล์ *Dinophysis caudata* 1 เซลล์ เป็น DNA ต้นแบบ (DNA template), 10x PCR buffer + KCl (Fermentas), MgCl₂ ความเข้มข้นสุดท้าย 25 มิลลิโมลต่อลิตร (25 mM)(Fermentas), dNTPs ความเข้มข้นสุดท้าย 0.25 มิลลิโมลต่อลิตร (0.25 mM)(Promega), forward และ reverse primer แต่ละ primer มีความเข้มข้นสุดท้าย 1 ไมโครโมลต่อลิตร (1 μM)(1st Base Pte Ltd.) และ Taq DNA polymerase ความเข้มข้นสุดท้าย 1 ยูนิต (1U)(iNTRON)

ในการทำปฏิกิริยาต้องมีการเตรียมตัวอย่างควบคุมที่เป็นตัวอย่างควบคุมแบบลบ (negative control) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใส่สารเคมีทุกตัวเหมือนตัวอย่าง แต่ไม่มี DNA ต้นแบบ เมื่อเตรียมสารเคมีในการทำปฏิกิริยาเรียบร้อยแล้ว จากนั้นทำการ amplification ด้วยเครื่อง Thermal Cycler (ยี่ห้อ Eppendorf รุ่น Mastercycler personal) โดยมีลำดับในการทำปฏิกิริยาของ primer ทั้ง 3 คู่ ดังนี้

a) initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที

b) 35 รอบของ denaturation อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที annealing อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที และ elongation อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 2 นาที

c) final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 7 นาที

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาจะนำมาตรวจสอบบน 1% agarose gel ที่ย้อมสีด้วย Ethidium Bromide ด้วยวิธี Gel Electrophoresis

3) Agarose Gel Electrophoresis

ทำการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาถูกโซ่ด้วยการตรวจสอบบนเจลที่มีหลุมสำหรับโหลดตัวอย่างซึ่งมีการผสมกับ loading dye (standard strain orange G, 40% w/w) รวมปริมาตรทั้งหมด 30 ไมโครลิตร โดยขนาดของ PCR product จะมีการเทียบกับ 100 bp ladder DNA marker (Fermentas) จากนั้นตรวจสอบแถบ DNA ที่ได้ภายใต้แสงยูวี (UV transilluminator) และถ่ายรูปเจลด้วยโปรแกรม gel document system (Bio-Rad)

4) การสกัดและการทำ DNA ให้บริสุทธิ์ (PCR product purification)

PCR product ของตัวอย่างที่ได้จากวิธีข้างต้นต้องนำมาทำให้บริสุทธิ์ (purified) ด้วย MACHERY - NAGEL PCR clean up Gel extraction kit จากนั้น DNA ที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วจะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกระทั่งส่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาลำดับเบส

5) การส่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาลำดับเบส (Sequencing)

ตัวอย่าง DNA ของ *Dinophysis caudata* จะต้องมีการตรวจสอบความเข้มข้นให้มีความพอในการส่งเพื่อวิเคราะห์หาลำดับเบส ถ้าหากความเข้มข้นไม่เพียงพอต้องมีการทำปฏิกิริยาถูกโซ่ซ้ำอีกครั้งหนึ่งด้วย primer คู่เดิม ซึ่งใช้ DNA ต้นแบบที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว จนกระทั่งได้ความเข้มข้นของ DNA ที่ต้องการ จากนั้นส่งตัวอย่าง DNA ไปที่บริษัท Bio Design จำกัดเพื่อวิเคราะห์หาลำดับเบส ลำดับเบสที่ได้จากการวิเคราะห์จะถูกนำมาทำการตรวจสอบและเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม BLAST ผ่านทางเว็บไซต์ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (ภาคผนวก ก)

เปรียบเทียบลำดับเบสของ *D. caudata* ระหว่างเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกัน (alignment)

4. องค์ประกอบขนาดของประชากร *Dinophysis caudata*

4.1 ศึกษาองค์ประกอบขนาดของ *D. caudata* ในธรรมชาติ

ตัวอย่างเซลล์ *D. caudata* ที่นำมาศึกษาใช้ตัวอย่างแพลงก์ตอนพืชเดียวกับการศึกษาในข้อ 2 โดยตรวจหาเซลล์ในระยะต่างๆของวงชีวิตได้แก่ เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ เซลล์คู่ขนาดใหญ่ เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และเซลล์คู่ขนาดเล็ก ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 จากนั้นทำการนับจำนวนเซลล์ของ *D. caudata* ในแต่ละกลุ่มแล้วคำนวณเป็นความหนาแน่นเซลล์ต่อลิตร ความหนาแน่นที่ได้นำไปคำนวณหาสัดส่วนความหนาแน่นของเซลล์แต่ละกลุ่มในธรรมชาติและวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์แต่ละกลุ่มตามลักษณะเซลล์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมด้วยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson correlation)

4.2 ศึกษาอัตราส่วนของปริมาณสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสในอาหารน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเซลล์ *Dinophysis caudata*

ตัวอย่างเซลล์ที่นำมาเลี้ยงเป็นเซลล์สดที่ได้จากการเก็บตัวอย่างเชิงคุณภาพตามวิธีในข้อ 2 ทำการคัดเลือกเซลล์ของ *D. caudata* ที่เป็นเซลล์สดซึ่งเป็นเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้และมีคลอโรพลาสต์อยู่เต็มเซลล์มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการด้วย Pasteur's pipette ที่ตั้งปลายแหลม ล้างตัวอย่างเซลล์ด้วยน้ำทะเลกรองหลาย ๆ ครั้งเพื่อกำจัดแพลงก์ตอนชนิดอื่นออกและปรับสภาพเซลล์ที่ได้ในน้ำทะเลกรองที่เติมอาหารเลี้ยงสูตร L1 (Guillard and Hargraves, 1993) ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เป็นระยะเวลา 2 – 3 วัน โดยมีช่วงเวลาให้แสง 12 ชั่วโมงและมีมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส แต่ละวันจะทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์และลดการปนเปื้อนจากแพลงก์ตอนชนิดอื่น จากนั้นนำเซลล์ที่ได้ทำการปรับสภาพแล้วมาเลี้ยงในหน่วยทดลองที่เป็นขวดแก้วขนาดเล็ความจุ 4 มิลลิลิตร ที่มีการเติมอาหารเลี้ยงที่แบ่งออกเป็น 2 สูตร สูตรแรกเป็นอาหารเลี้ยงที่มีการผสมระหว่างน้ำทะเลใหม่กับน้ำทะเลเก่าโดยน้ำทะเลเก่าเป็นน้ำทะเลที่มีสารอาหารน้อยมากหรือไม่มีเลย ในขณะที่น้ำทะเลใหม่เป็นน้ำทะเลที่เก็บมาพร้อมกับตัวอย่างเซลล์ที่มีสารอาหารตามธรรมชาติ และสูตรที่สองเป็นอาหารเลี้ยงแบบที่มีการผสมระหว่างน้ำทะเลใหม่และอาหารเลี้ยงสูตร L1 (Guillard and Hargraves, 1993) ซึ่งเป็นการเติมสารอาหารเพิ่มจากเดิมที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยมีอัตราส่วนสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสในระดับต่างๆ รวมทั้งสิ้น 8 ระดับ

วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในแต่ละหน่วยการทดลองก่อนทำการทดลอง โดยแต่ละหน่วยทดลองมีจำนวนเซลล์ทั้งหมด 10 เซลล์ ทั้งหมด 3 ข้ว รวม 1 หน่วยการทดลองมีจำนวนเซลล์ทั้งสิ้น 30 เซลล์ แต่ละวันทำการนับจำนวนเซลล์และเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10 วัน นำจำนวนเซลล์ที่นับได้ในแต่ละหน่วยการทดลองมาวาดกราฟเพื่อหาอัตราการเติบโตที่ดีที่สุดไว้ใช้สำหรับการเลี้ยงเพื่อศึกษาวงชีวิต ซึ่งอัตราการเติบโตสามารถคำนวณได้ตามสูตรของ Wood *et al.*, 2005 ดังนี้

$$\mu = \frac{\log (N_t / N_0)}{t_n - t_0}$$

เมื่อ	μ	คือ	อัตราการเติบโต (เซลล์ต่อวัน)
	N_0	คือ	จำนวนเซลล์เริ่มต้น (เซลล์)
	N_t	คือ	จำนวนเซลล์สูงสุด (เซลล์)
	t_0	คือ	เวลาที่เริ่มวัดการเติบโต (วัน)
	t_n	คือ	เวลาที่สิ้นสุดการวัดการเติบโต (วัน)

4.3 การศึกษาองค์ประกอบขนาดของ *Dinophysis caudata* ในวงชีวิต

ตัวอย่างเซลล์ที่นำมาเลี้ยงเป็นเซลล์สดที่ได้จากการออกเก็บตัวอย่างเชิงคุณภาพตามวิธีในข้อ 2 นำตัวอย่างมาทำการคัดเลือกเซลล์ของ *D. caudata* ที่เป็นเซลล์สดซึ่งเป็นเซลล์ที่เคลื่อนที่ได้และมีคลอโรพลาสต์อยู่เต็มเซลล์มาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการโดยทำการปรับสภาพเซลล์เช่นเดียวกับวิธีในข้อ 4.2 จากนั้นนำเซลล์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วมาเลี้ยงในขวดแก้วขนาดเล็กปริมาตร 4 มิลลิลิตรที่เติมน้ำทะเลกรองที่มีอาหารเลี้ยงซึ่งมีสัดส่วนของไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 4.2 แต่ละขวดมีเซลล์ของ *D. caudata* ประมาณ 10 – 20 เซลล์ จำนวน 10 ขวด ติดตามการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เป็นระยะเวลา 10 วัน ซึ่งดัดแปลงวิธีมาจากวิธีของ Reguera *et al.* (2007) โดยแต่ละวันทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเซลล์มาทำการถ่ายภาพ เมื่อครบระยะเวลาที่ทำการทดลองนำเซลล์ทั้งหมดมาทำการรักษาสภาพด้วยสารละลายฟอร์มาลินที่เป็นกลางความเข้มข้นร้อยละ 2 แล้วนำไปศึกษาลักษณะผิวเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบลำแสงส่องกราดโดยมีวิธีการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อที่ 2.2 ผลที่ได้ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เกิดขึ้นโดยนำรูปร่างเซลล์และผิวเซลล์ที่พบจากการเลี้ยงไปเปรียบเทียบกับเซลล์ในธรรมชาติ จากนั้นทำการเปรียบเทียบรูปร่างและขนาดของเซลล์และลักษณะผิวเซลล์ระหว่างเซลล์จากธรรมชาติและจากการเลี้ยง

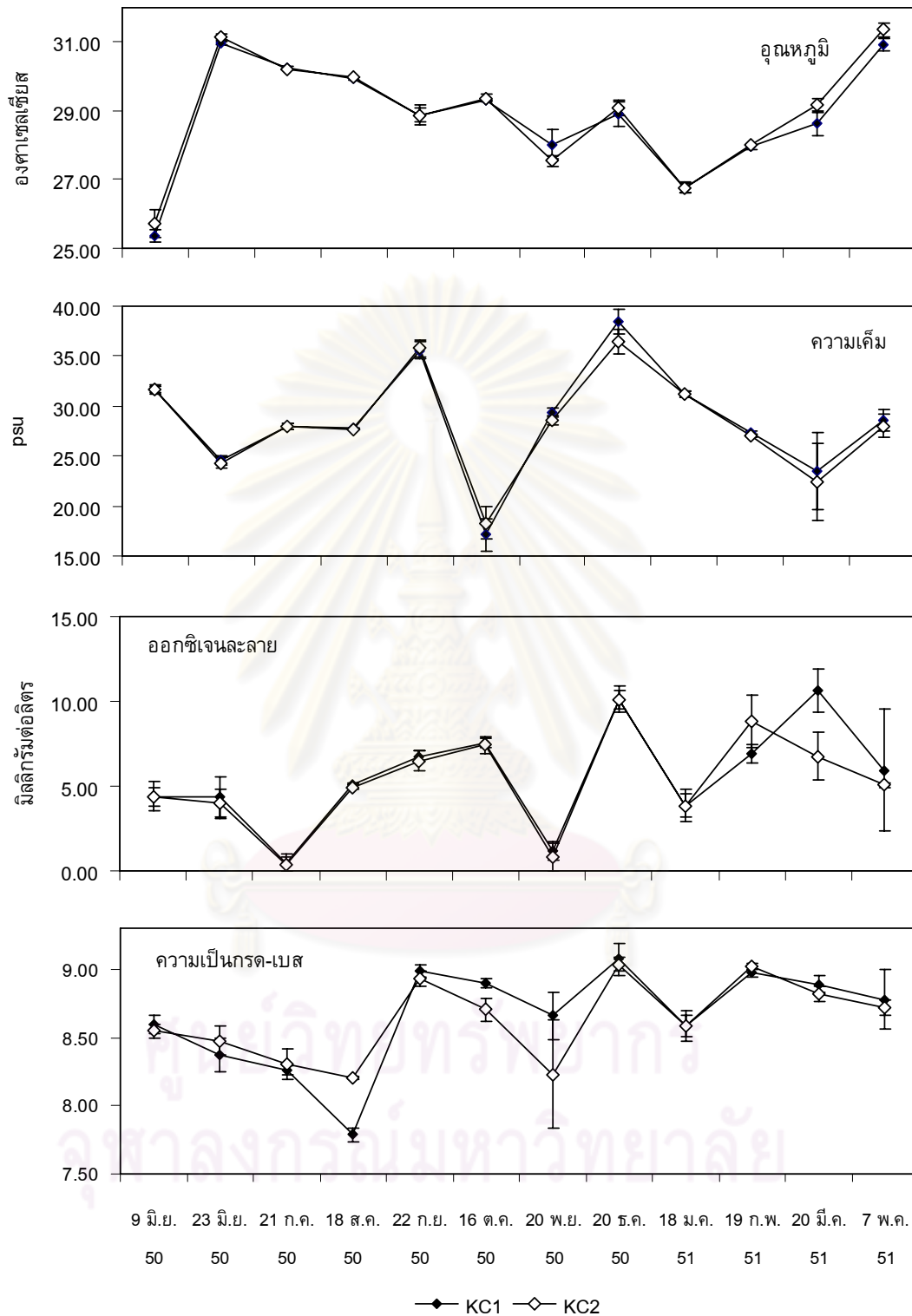
บทที่ 3

ผลการศึกษา

1. ปัจจัยสิ่งแวดล้อมและแหล่งกักตุนพีชชนิดอื่นในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร

1.1 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสภาวะและเคมี

ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสภาวะของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครได้แก่ อุณหภูมิ ความเค็ม ปริมาณออกซิเจนละลาย และความเป็นกรด - เบส ในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ของทั้งสองสถานีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอุณหภูมิของน้ำทะเลมีการผันแปรอยู่ในช่วงแคบๆคือมีค่าเฉลี่ย 28.9 ± 1.7 องศาเซลเซียส (พิสัย 25.3 – 31.3 องศาเซลเซียส) แต่มีความแตกต่างของฤดูกาลอย่างชัดเจน โดยในช่วงตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายนซึ่งตรงกับฤดูแล้งมีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจาก 26.76 องศาเซลเซียสจนถึง 31.14 องศาเซลเซียส ในขณะที่ตั้งแต่ปลายเดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายนซึ่งตรงกับฤดูฝนที่มีการลดลงของอุณหภูมิ ยกเว้นในช่วงต้นเดือนมิถุนายนที่พบอุณหภูมิต่ำสุด ส่วนความเค็มพบว่ามีค่าค่อนข้างสูงโดยมีค่าเฉลี่ย 28.4 ± 5.3 psu (พิสัย 17.1 – 39.5 psu) แต่ความเค็มนั้นไม่เห็นความแตกต่างของฤดูกาลอย่างชัดเจน ยกเว้นในเดือนตุลาคมที่พบความเค็มต่ำที่สุดอย่างชัดเจนซึ่งตรงกับช่วงรอยต่อระหว่างฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้และฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนละลายในรอบปีส่วนใหญ่มีค่าสูงกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยมีค่าเฉลี่ย 5.43 ± 2.93 มิลลิกรัมต่อลิตร (พิสัย 10.61 – 0.41 มิลลิกรัมต่อลิตร) ยกเว้นในเดือนกรกฎาคมและเดือนพฤศจิกายนซึ่งเป็นช่วงหลังจากเดือนที่มีความเค็มของน้ำทะเลมีค่าต่ำที่พบปริมาณออกซิเจนละลายต่ำกว่า 2 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเป็นค่ามาตรฐานของคุณภาพน้ำชายฝั่งสำหรับการดำรงชีพของสัตว์น้ำ (กรมควบคุมมลพิษ, 2547) และความเป็นกรด-เบสในรอบปีพบที่มีการผันแปรอยู่ในอยู่ในพิสัย 7.79 – 9.07 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.64 ± 0.33 (รูปที่ 22)



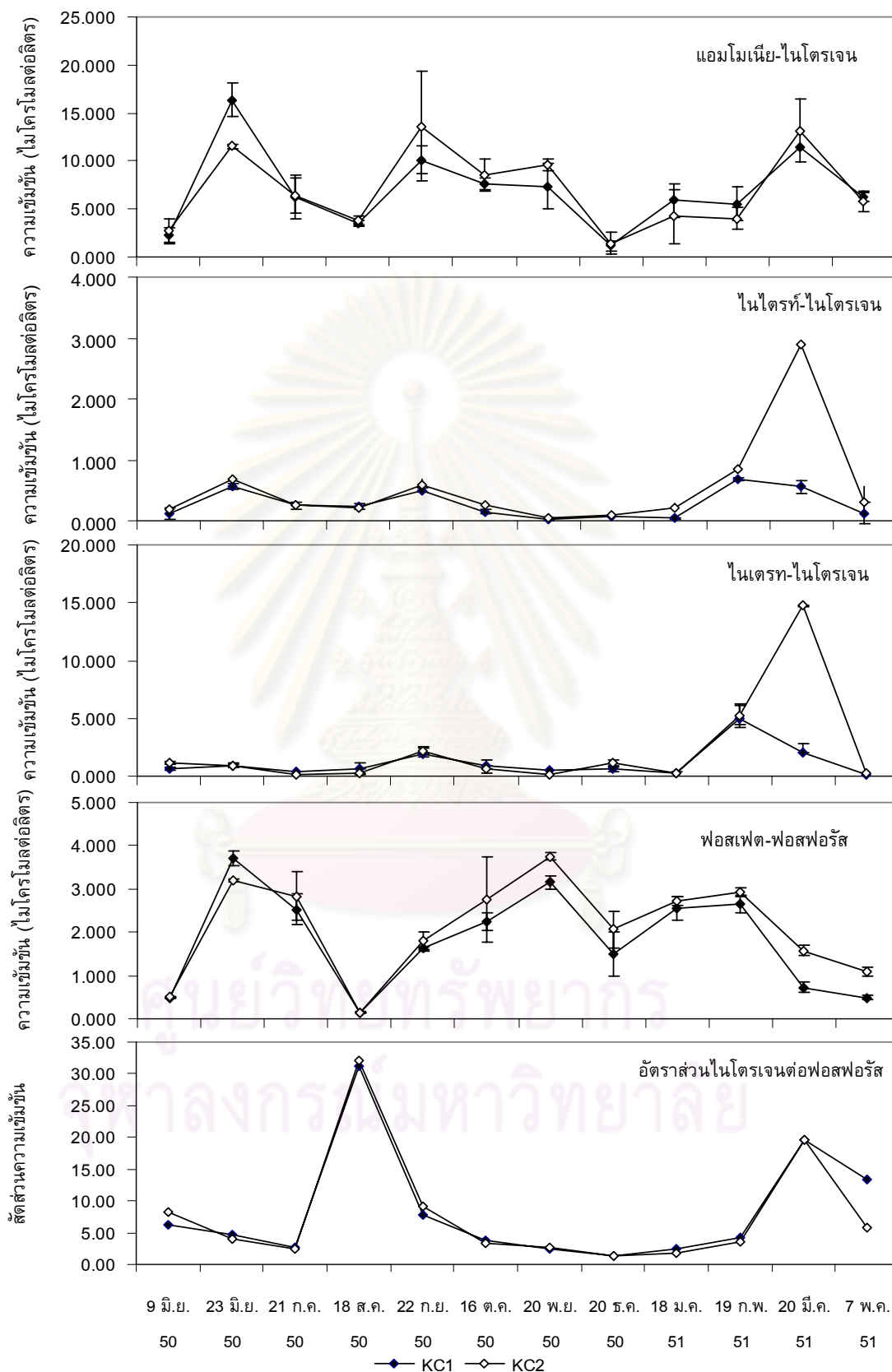
รูปที่ 22 ปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางสภาวะบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

การผันแปรของปัจจัยสิ่งแวดล้อมทางเคมีของน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำชาว จังหวัดสมุทรสาครได้แก่ ปริมาณสารอาหารอนินทรีย์ละลายน้ำคือ ไนโตรเจนอนินทรีย์ในรูปของ แอมโมเนีย - ไนโตรเจน ไนเตรท - ไนโตรเจน และไนไตรท์ - ไนโตรเจน ในรอบปีของทั้งสอง สถานีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สารอาหารแอมโมเนีย - ไนโตรเจนมีความเข้มข้น ค่าเฉลี่ย 7.023 ± 4.016 ไมโครโมลต่อลิตร (พิสัย 1.197 - 16.361 ไมโครโมลต่อลิตร) สารอาหารไนไตรท์ - ไนโตรเจนในรอบปีมีการผันแปรอยู่ในช่วงแคบๆคือมีค่าเฉลี่ย 0.424 ± 0.472 ไมโครโมลต่อลิตร (0.034 - 2.898 ไมโครโมลต่อลิตร) เดือนกุมภาพันธ์เป็นเดือนที่มีความเข้มข้นสูงสุด ในขณะที่เดือนพฤศจิกายนเป็นเดือนที่มีค่าต่ำที่สุด (รูปที่ 23) สารอาหาร ไนเตรท-ไนโตรเจนในรอบปีมีค่าเฉลี่ย 1.716 ± 2.512 ไมโครโมลต่อลิตร (0.095 - 14.715 ไมโครโมลต่อลิตร) เดือนมีนาคมเป็นเดือนที่มีความเข้มข้นสูงสุด ในขณะที่เดือนพฤษภาคม เป็นเดือนที่มีค่าต่ำสุด

ส่วนปริมาณสารอาหารฟอสเฟต - ฟอสฟอรัสมีความแตกต่างกันระหว่างสถานีอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.015$) สถานี KC2 ซึ่งตั้งอยู่ทางฝั่งตะวันออกของปากคลองมีค่าสูงกว่าสถานี KC1 ซึ่งตั้งอยู่ทางฝั่งตะวันตกของปากคลองเกือบทุกเดือนที่ทำการศึกษา โดยสถานี KC1 มีความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.818 ± 1.168 ไมโครโมลต่อลิตร (0.142 - 3.153 ไมโครโมลต่อลิตร) ส่วนสถานี KC2 มีค่าเฉลี่ย 2.110 ± 1.121 ไมโครโมลต่อลิตร (0.130 - 3.754 ไมโครโมลต่อ ลิตร)

อัตราโดยโมลของไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อฟอสฟอรัสอนินทรีย์ (DIN:DIP) ในรอบปีมี ค่าเฉลี่ยกับ 7.957 ± 8.964 หรืออยู่ในพิสัย 1.056 - 32.071 ซึ่งส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่า 16:1 หรือ Redfield ratio สำหรับแพลงก์ตอนพืชในการเกิดกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ยกเว้น เดือนสิงหาคมเป็นเดือนที่มีอัตราส่วน DIN:DIP สูงกว่า 16:1 โดยมีค่าสูงถึง 32.071 ในขณะที่ เดือนธันวาคมเป็นเดือนที่มีอัตราส่วน DIN:DIP ต่ำสุดซึ่งมีค่าเพียง 1.056 (รูปที่ 23)

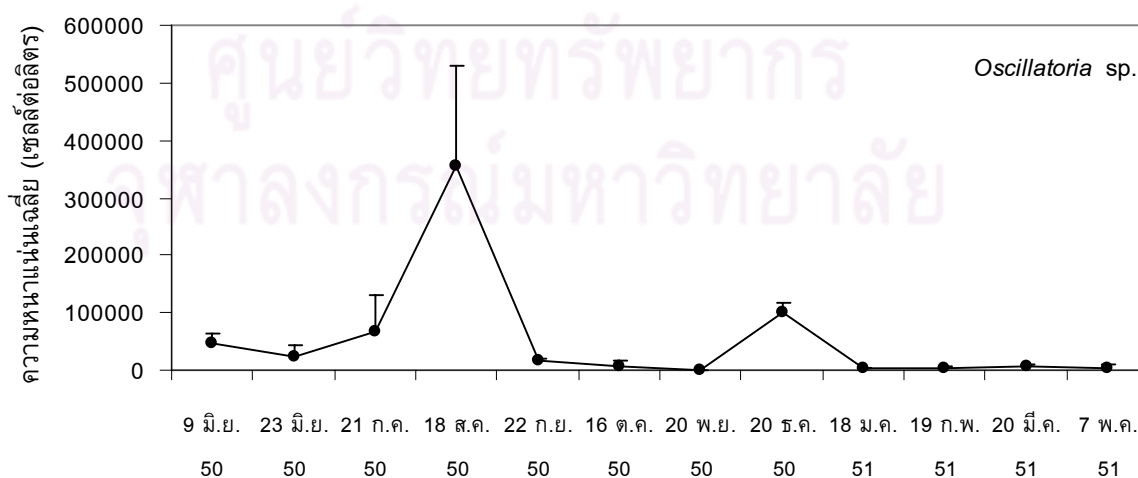
ศูนย์วิจัยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



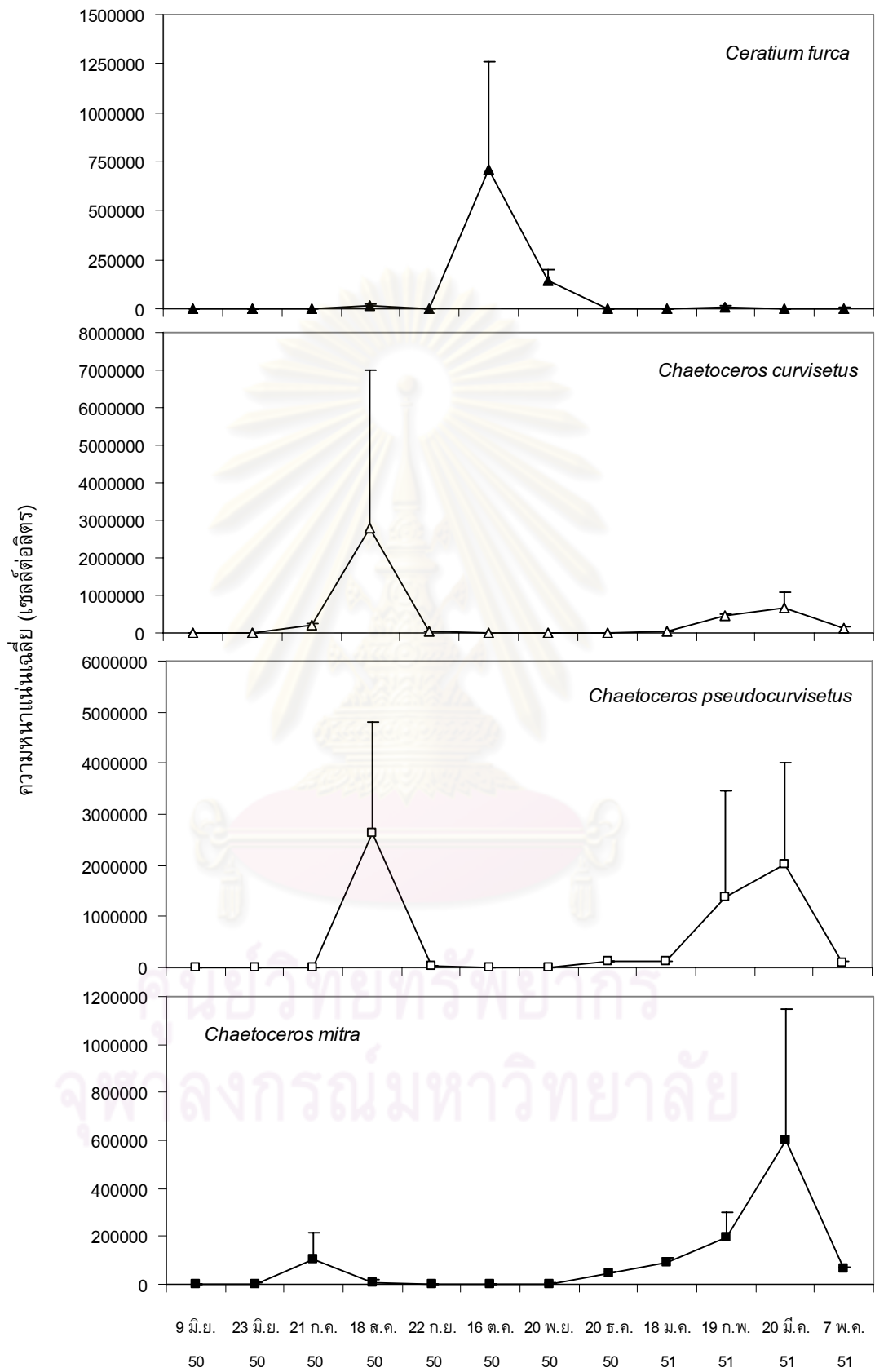
รูปที่ 23 ปริมาณสารอนินทรีย์ละลายน้ำบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

1.2 แพลงก์ตอนพีชชนิดอื่น

ชุมชนแพลงก์ตอนพีชในบริเวณชายฝั่งบ้านกระเช้าขาว จังหวัดสมุทรสาครในรอบปี ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ของทั้งสองสถานีไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความหนาแน่นเฉลี่ยมีค่าอยู่ในช่วง $5.07 \times 10^4 - 5.89 \times 10^6$ เซลล์ต่อลิตร ซึ่งความหนาแน่นส่วนใหญ่มาจากแพลงก์ตอนพีชชนิดเด่นทั้งสิ้น 5 ชนิดประกอบด้วย *Oscillatoria* sp. *Ceratium furca* *Chaetoceros curvisetus* *C. pseudocurvisetus* และ *C. mitra* โดยความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพีชทั้ง 5 ชนิดเมื่อนำมาคิดเป็นร้อยละพบว่ามีค่ามากกว่าร้อยละ 50 ของความหนาแน่นทั้งหมด เมื่อแบ่งชนิดตามกลุ่มของแพลงก์ตอนพีชพบว่า ประกอบด้วยกลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย ไดโนแฟลกเจลเลต และไดอะตอม กลุ่มไซยาโนแบคทีเรีย คือ *Oscillatoria* sp. เป็นชนิดที่พบได้ทุกเดือนที่ทำการศึกษา มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $2.34 \times 10^2 - 3.54 \times 10^5$ เซลล์ต่อลิตร โดยความหนาแน่นของ *Oscillatoria* sp. มีค่าสูงในเดือนสิงหาคมที่มีความหนาแน่นสูงที่สุดและเดือนธันวาคมที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าช่วงแรก ส่วนกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตนั้นพบว่า *Ceratium furca* มีความหนาแน่นสูงที่สุดในเดือนตุลาคม รองลงมาคือเดือนพฤศจิกายน และเดือนสิงหาคม ตามลำดับ โดยมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 7.14 \times 10^5$ เซลล์ต่อลิตร ในขณะที่ไดอะตอมเป็นแพลงก์ตอนพีชกลุ่มที่พบความหนาแน่นสูงเกือบทุกเดือนที่ทำการศึกษาโดยเฉพาะ *Chaetoceros curvisetus* *C. pseudocurvisetus* และ *C. mitra* ซึ่งความหนาแน่นของไดอะตอมทั้ง 3 ชนิดนั้นมีค่าสูงที่สุดในเดือนสิงหาคม และเดือนมีนาคม เมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของไดอะตอมทั้ง 3 ชนิดพบว่า *C. curvisetus* เป็นชนิดที่พบความหนาแน่นสูงที่สุดซึ่งมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 2.79 \times 10^6$ เซลล์ต่อลิตร รองลงมาคือ *C. pseudocurvisetus* มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 2.64 \times 10^6$ เซลล์ต่อลิตร และ *C. mitra* มีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 5.97 \times 10^5$ เซลล์ต่อลิตร ตามลำดับ (รูปที่ 24)



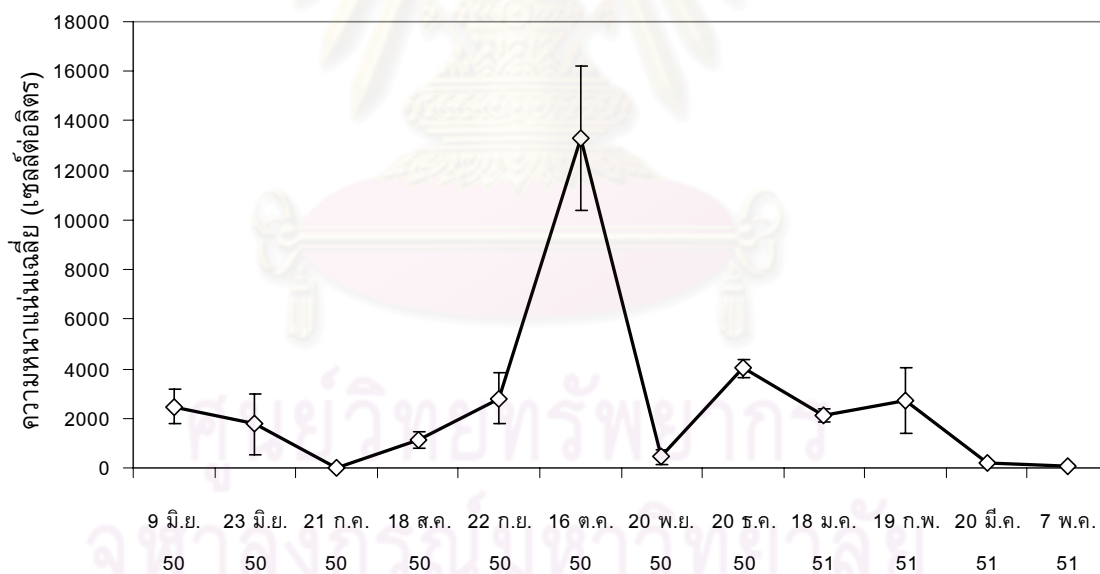
รูปที่ 24 ความหนาแน่นเฉลี่ยในรอบปีของแพลงก์ตอนพีชกลุ่มเด่นบริเวณชายฝั่งบ้านกระเช้าขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึง เดือนพฤษภาคม 2551



รูปที่ 24 (ต่อ)

2. ความหนาแน่นของประชากร *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร

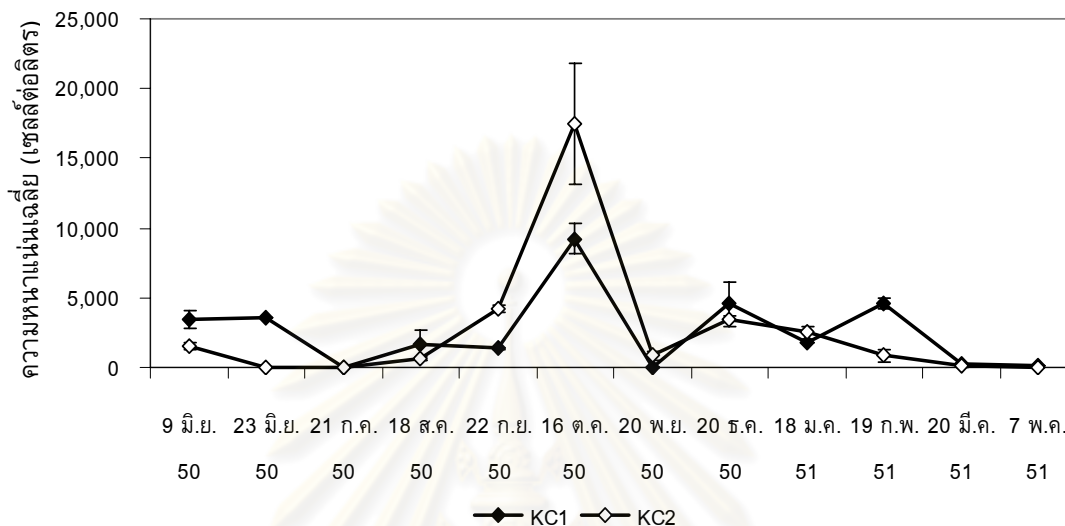
ความหนาแน่นของ *D. caudata* บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ของทั้งสองสถานีพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 1.33 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร (ความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 2.59×10^3 เซลล์ต่อลิตร) *D. caudata* มีความชุกชุมสูงที่สุดในเดือนตุลาคม โดยมีความหนาแน่นสูงถึง 1.33×10^4 เซลล์ต่อลิตร รองลงมาคือเดือนธันวาคมและกันยายน ซึ่งมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 4.03×10^3 และ 2.79×10^3 เซลล์ต่อลิตรตามลำดับ ส่วนเดือนกรกฎาคมไม่พบ *D. caudata* เลย เมื่อพิจารณาความหนาแน่นตามฤดูมรสุมพบว่าความหนาแน่นของทั้งสองฤดูมรสุมมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนโดยฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งเป็นตัวแทนของฤดูแล้งเริ่มตั้งแต่กลางเดือนตุลาคมจนถึงกลางเดือนเมษายนพบความหนาแน่นสูงโดยมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $2.09 \times 10^2 - 1.33 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตรซึ่งสูงกว่าฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ซึ่งเป็นตัวแทนของฤดูฝนที่เริ่มตั้งแต่กลางเดือนพฤษภาคมจนถึงเดือนกันยายนซึ่งมีความหนาแน่นอยู่ในช่วง $0 - 2.48 \times 10^2$ เซลล์ต่อลิตร (รูปที่ 25)



รูปที่ 25 ความหนาแน่นเฉลี่ยในรอบปีของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

ความหนาแน่นของ *D. caudata* ในรอบปีของแต่ละสถานีพบว่าไม่มีแนวโน้มทางเดียวกันคือพบความหนาแน่นสูงสุดในเดือนตุลาคม สถานี KC1 มีความหนาแน่นอยู่ในช่วงในรอบปีอยู่ในช่วง $0 - 9.20 \times 10^3$ เซลล์ต่อลิตร ซึ่งมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 2.54×10^3 เซลล์ต่อลิตร โดยมีความหนาแน่นสูงที่สุดในเดือนตุลาคม ที่มีค่าสูงถึง 9.20×10^3 เซลล์ต่อลิตร แต่มี

ค่าน้อยกว่าสถานี KC2 ในเดือนเดียวกันที่มีความหนาแน่นสูงถึง 1.74×10^4 เซลล์ต่อลิตร โดยสถานี KC2 มีความหนาแน่นในรอบปีผันแปรอยู่ในช่วง $0 - 1.74 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร ซึ่งมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 2.65×10^3 เซลล์ต่อลิตร (รูปที่ 26)



รูปที่ 26 การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ตามสถานีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

3. การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของประชากร *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร

การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครเป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทยโดยการผันแปรทางสัณฐานวิทยาใช้ลักษณะในการจำแนกตามวิธีของ Steidinger and Tangen (1997) และ Reguera *et al.* (2000) ประกอบด้วยรูปร่างและขนาด และลักษณะผิวเซลล์

3.1 การผันแปรทางด้านรูปร่างและขนาดของ *D. caudata*

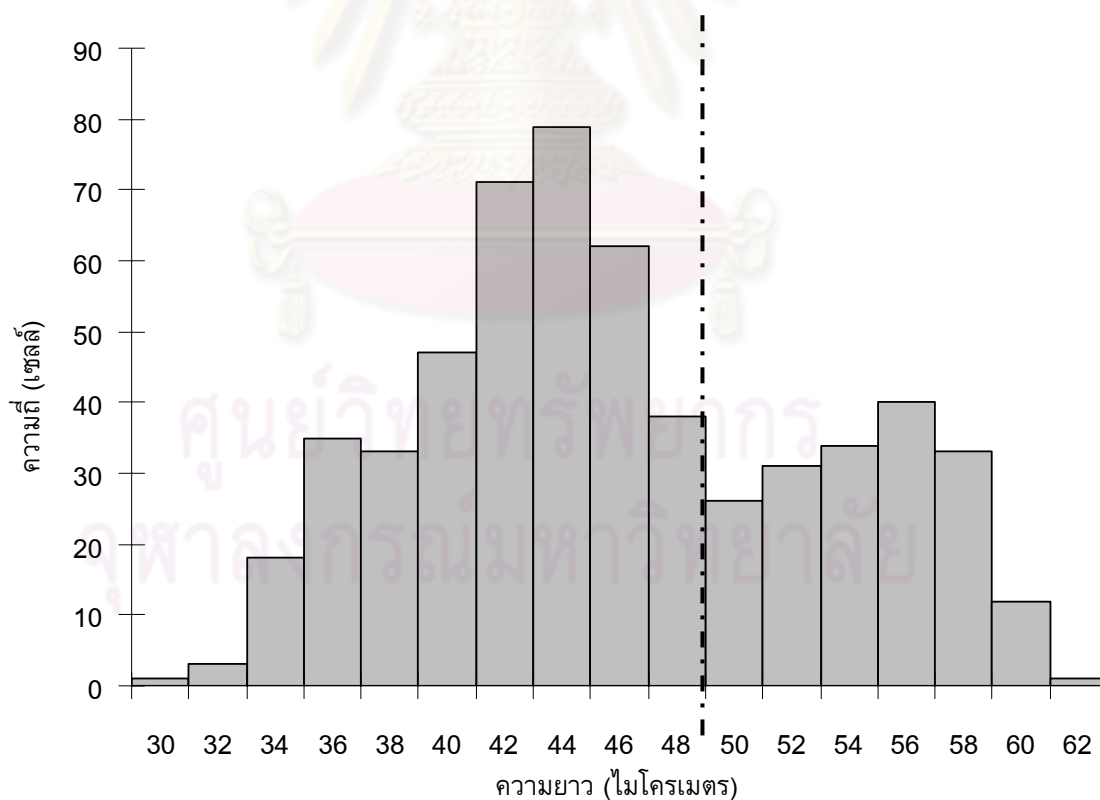
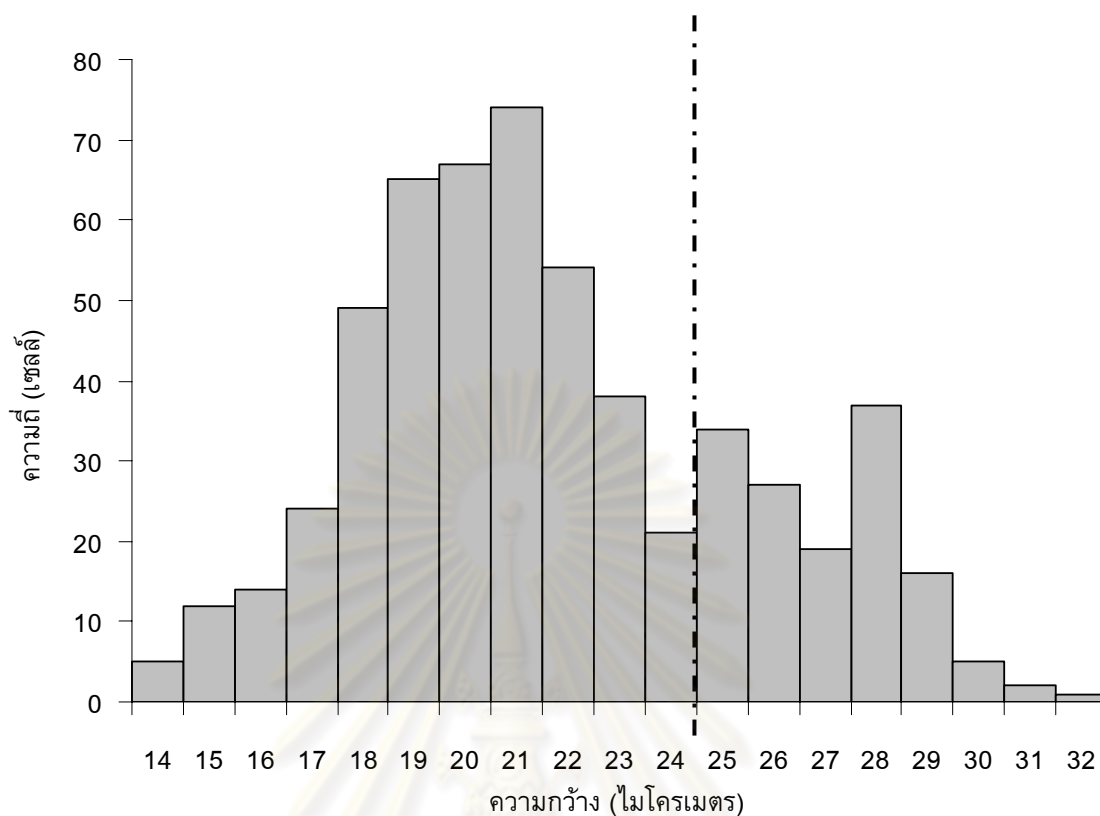
การผันแปรทางสัณฐานวิทยาด้านรูปร่างและขนาดของ *D. caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครโดยทำการสุ่มจากตัวอย่างเซลล์ที่เก็บเชิงคุณภาพที่เป็นตัวแทนในแต่ละเดือนตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 รวมทั้งหมด 122 เซลล์พบเซลล์มีรูปร่างแตกต่างกันถึง 56 แบบ โดยในแบบที่ 1 – 16 (รูปที่ 27 แถวที่ 1 – 2 จากบน) เป็นรูปร่างเซลล์ของ *D. caudata* ที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ส่วนแบบที่ 17 – 56 เป็นรูปร่างเซลล์ที่มีขนาดเล็กกว่ารูปร่างปกติและมีการลดรูปลงของ antapical projection (รูปที่ 27 แถวที่ 3 – 7)



20 ไมโครเมตร

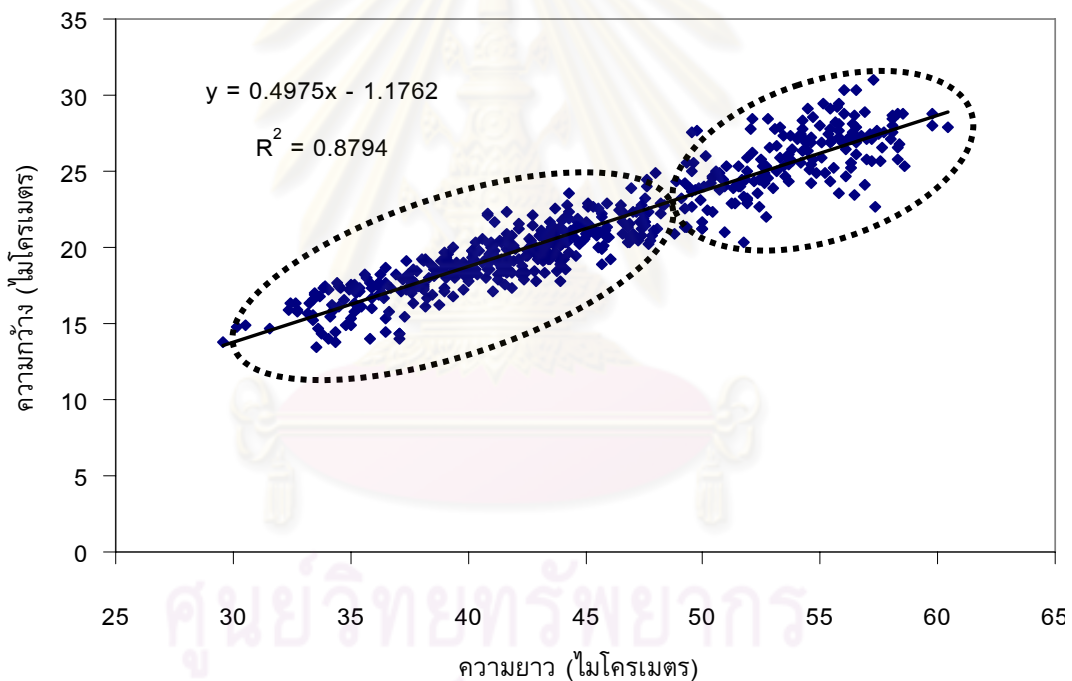
รูปที่ 27 ลักษณะรูปร่างของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

เมื่อทำการสุ่มเซลล์ *Dinophysis caudata* จากตัวอย่างที่เก็บเชิงคุณภาพของแต่ละเดือนในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 รวมทั้งสิ้น 564 เซลล์มาทำการวัดขนาดความกว้างและความยาว พบว่าความกว้างเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 13.43 – 36.60 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 21.68 ± 4.22 ไมโครเมตร) และความยาวมีค่าอยู่ในช่วง 29.54 – 76.56 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 46.03 ± 8.45 ไมโครเมตร) ดังรูปที่ 28



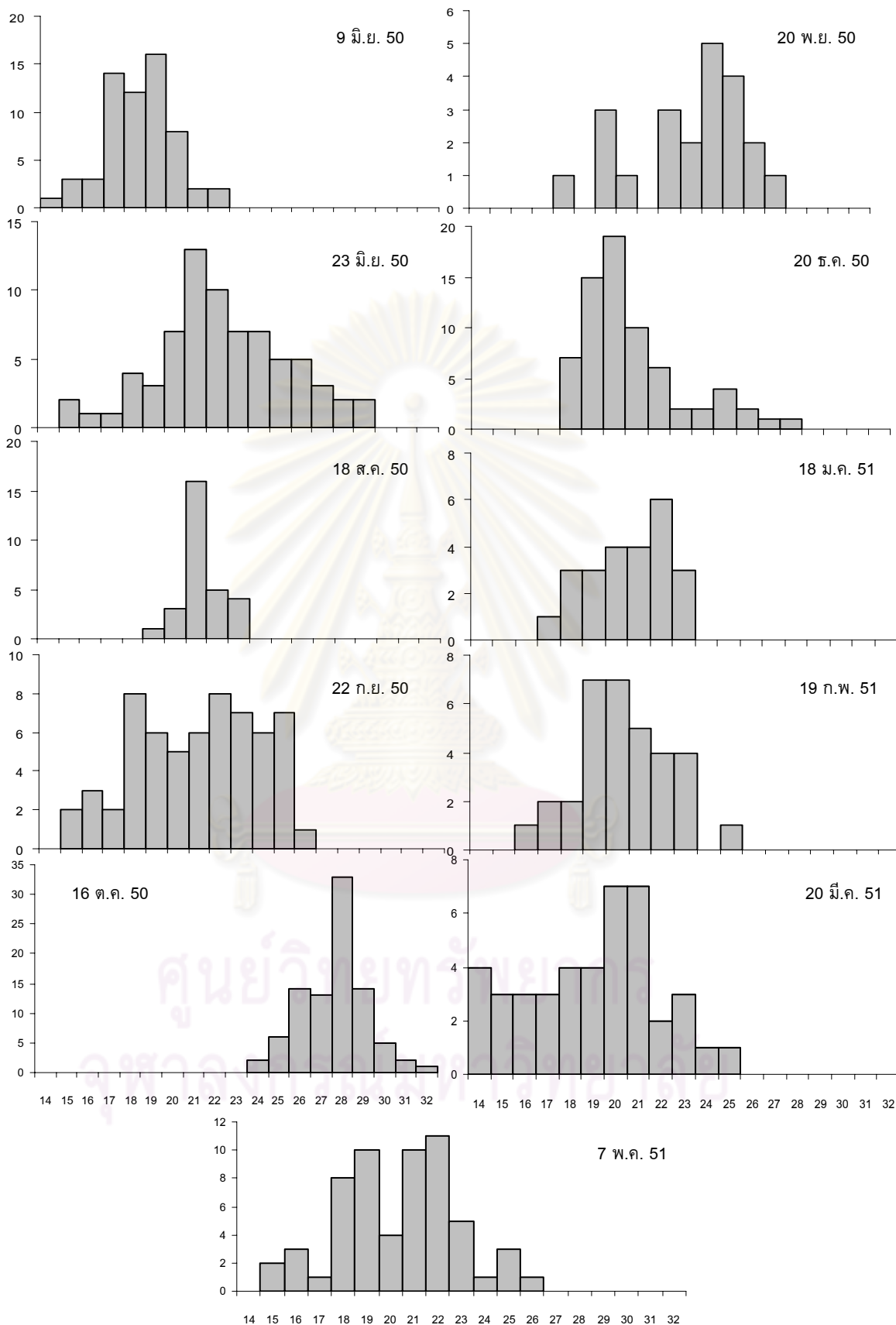
รูปที่ 28 กราฟแจกแจงความถี่ (histogram) ความกว้างและความยาวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

เมื่อนำข้อมูลความกว้างและความยาวเซลล์ *Dinophysis caudata* มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นพบว่าความสัมพันธ์สามารถแสดงด้วยสมการ $y = 0.4975x - 1.1762$ เมื่อ y คือความกว้างเซลล์และ x คือความยาวเซลล์ ดังนั้นเมื่อใช้ขนาดความกว้างเท่ากับ 25 ไมโครเมตรและความยาวเท่ากับ 50 ไมโครเมตรซึ่งเป็นค่าความกว้างและความยาวที่เป็นจุดกึ่งกลางของค่าฐานนิยม (mode) 2 ฐานในรูปที่ 28 เป็นเกณฑ์พบว่าสามารถจำแนกกลุ่มประชากรออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มประชากรที่เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ และกลุ่มประชากรที่เป็นเซลล์ขนาดเล็ก โดยกลุ่มประชากรที่เป็นเซลล์ขนาดเล็กเป็นกลุ่มเซลล์ที่พบมากที่สุดซึ่งมีความกว้างอยู่ในช่วง 13.0 – 24.9 ไมโครเมตร และความยาวอยู่ในช่วง 30.0 – 49.9 ไมโครเมตร และกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่มีความกว้างเซลล์อยู่ในช่วง 25.0 – 31.0 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 50.0 – 60.4 ไมโครเมตร ซึ่งเซลล์ขนาดใหญ่มีขนาดใหญ่มากกว่าเซลล์ขนาดเล็กกว่าประมาณ 1.22 – 1.75 เท่า (รูปที่ 29)

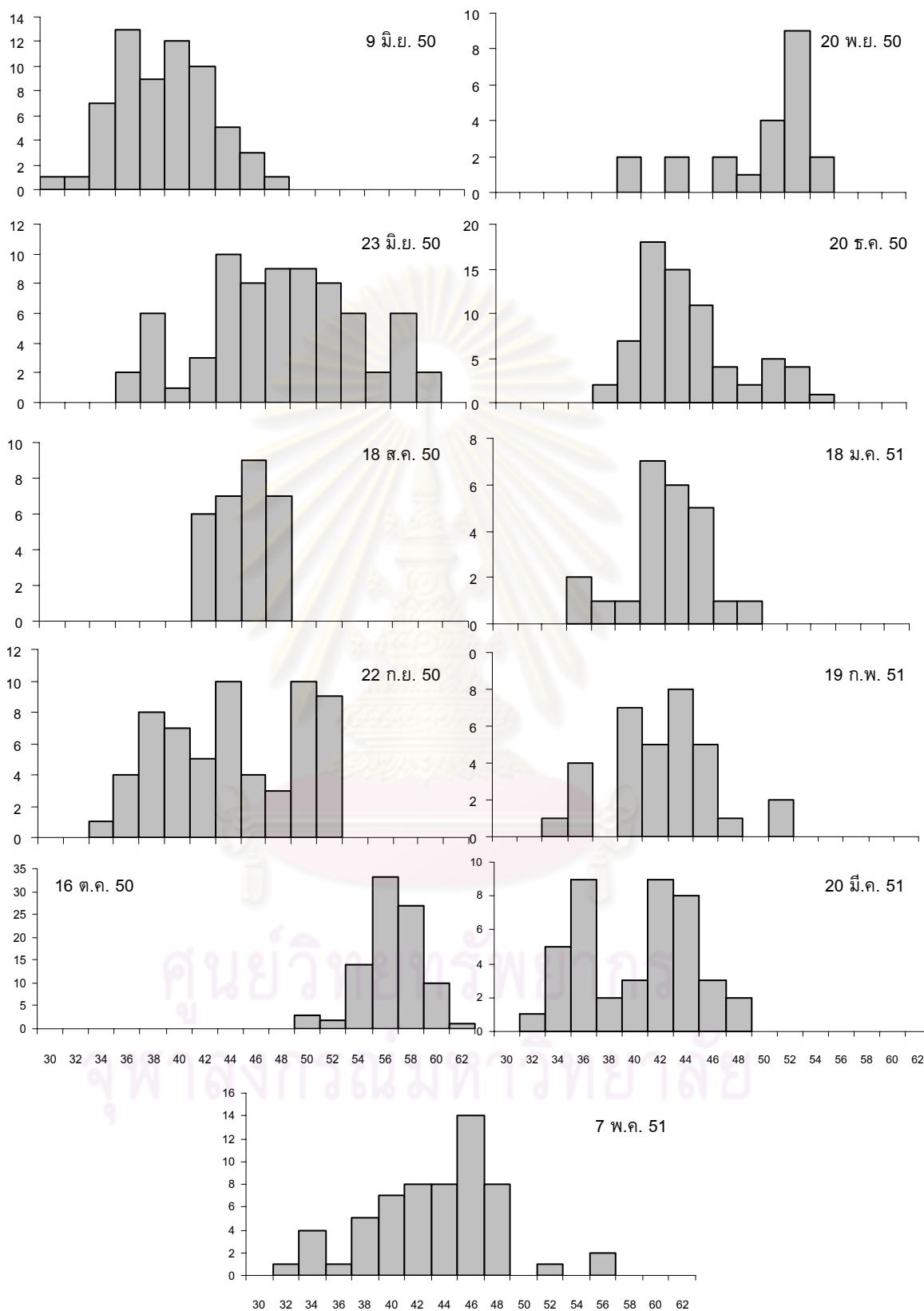


รูปที่ 29 ความสัมพันธ์ระหว่างความกว้างและความยาวของเซลล์ *Dinophysis caudata*

กราฟแจกแจงความถี่ของความกว้างและความยาวเซลล์ของ *D. caudata* ในรอบปีแสดงถึงการผันแปรความถี่ของเซลล์ขนาดต่างๆที่พบในแต่ละเดือน กลุ่มเซลล์ขนาดเล็กและขนาดใหญ่สามารถพบพร้อมกันได้เกือบทุกเดือนที่ทำการศึกษา โดยเซลล์ขนาดเล็กมีความถี่สูงในเดือนมิถุนายน จากนั้นเริ่มมีการปรากฏของเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมเรื่อยๆ จนกระทั่งเดือนตุลาคมที่พบเซลล์ขนาดใหญ่เพียงกลุ่มเดียว (ความกว้าง >25 ไมโครเมตรและความยาว >50 ไมโครเมตร) จากนั้นเซลล์เริ่มมีขนาดเล็กลงเรื่อยๆ ตั้งแต่เดือนธันวาคมจนกระทั่งเดือนมีนาคมที่พบเซลล์ขนาดเล็กมีความถี่สูงอีกครั้ง (รูปที่ 30 และ 31)



รูปที่ 30 การเปลี่ยนแปลงความกว้างเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

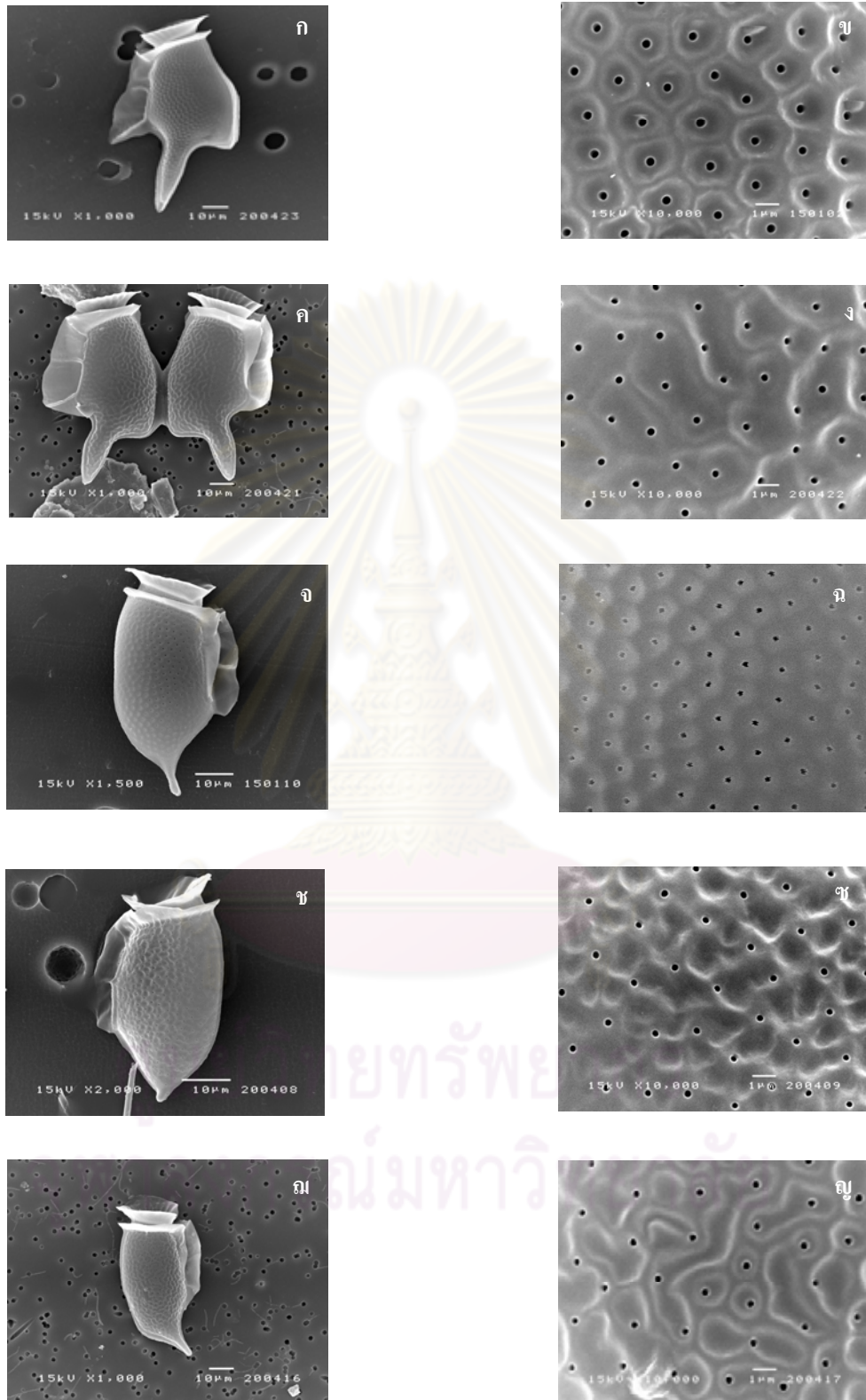


รูปที่ 31 การเปลี่ยนแปลงความยาวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

3.2 การผันแปรทางด้านลักษณะผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata*

ลักษณะผิวเซลล์ของ *D. caudata* มีลักษณะผิวเซลล์เป็นแบบ Type E ซึ่งเป็นลักษณะประจำชนิดตามการจำแนกของ Hallegraeff and Lucas (1988) ซึ่งเมื่อทำการส่องตัวอย่างเซลล์ *D. caudata* ทั้งเซลล์คู่และเซลล์เดี่ยวที่มีขนาดต่างๆ ในรอบปีพบว่าเซลล์ *D. caudata* ซึ่งมีผิวเซลล์แบบ Type E นั้นพบการผันแปรของลักษณะผิวเซลล์จากแบบ Type E ได้หลากหลายถึง 5 แบบย่อย ซึ่งมีความแตกต่างของความถี่ลึกของหลุม รูปร่างและขนาดหลุม และการกระจายของรู โดย *D. caudata* ซึ่งเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่เป็นขนาดเซลล์ที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติมีผิวเซลล์ 2 แบบคือ E1 และ E2 ส่วนกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่มีผิวเซลล์ได้ 3 แบบคือ E3 – E5 ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

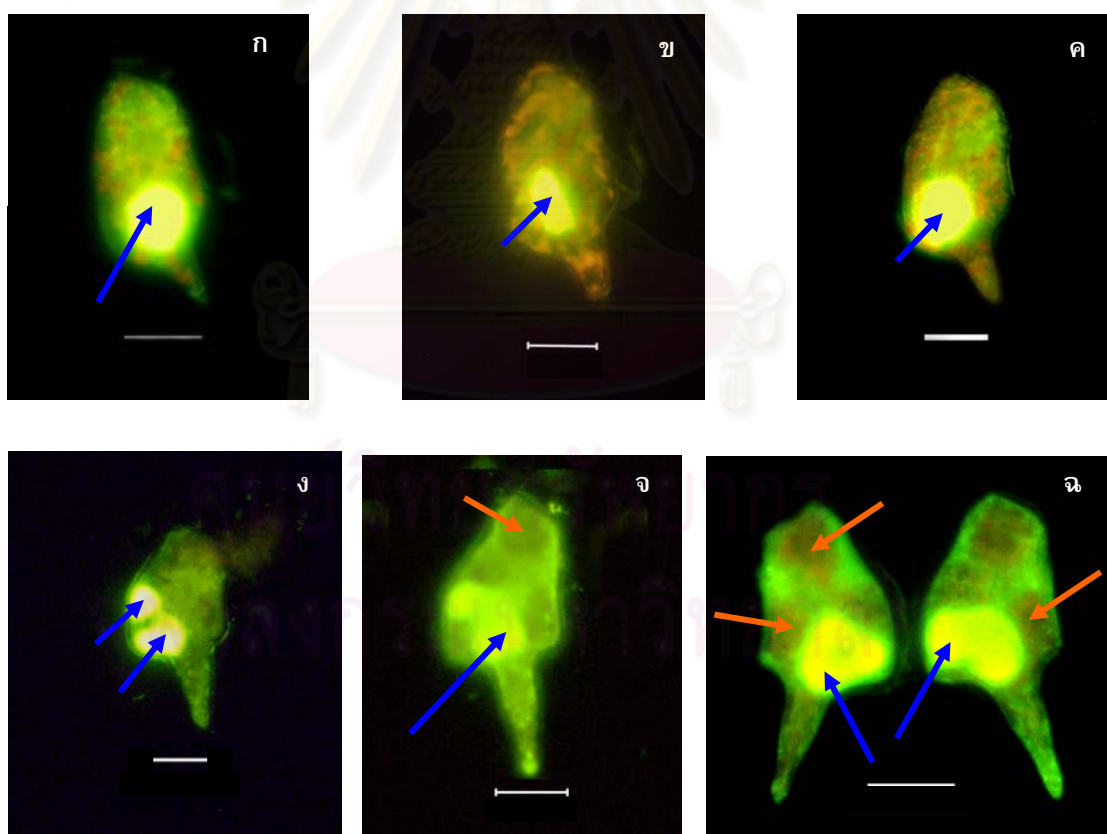
- E1 เป็นลักษณะประจำของชนิดนี้ คือ ผิวเซลล์เป็นสันยกตัวขึ้นสูงทำให้เกิดแอ่งหรือหลุมลึกกว้างที่มีรูปร่างหลายเหลี่ยม หลุมลึกกว้าง โดยหลุมแต่ละหลุมจะมีรู (trichocyst pore) ที่กลางหลุม ในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตร มีจำนวนรูทั้งหมด 7 รู (รูปที่ 32ก และ 32ข)
- E2 ผิวเซลล์เป็นสันยกตัวขึ้นเป็นแนวยาว หลุมตื้นมีรูปร่างไม่แน่นอน แต่ละหลุมจะมีรูในบริเวณที่แตกต่างกันคือ กลางหลุม ค่อนไปทางด้านข้าง หรือติดขอบหลุม โดยในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตร มีจำนวนรูทั้งหมด 6 รู (รูปที่ 32ค และ 32ง)
- E3 ผิวเซลล์มีหลุมตื้นมากขนาดเล็กมีรูปร่างไม่แน่นอน แต่ละหลุมจะมีรูที่กลางหลุม โดยในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตร มีจำนวนรูทั้งหมด 6 รู (รูปที่ 32จ และ 32ฉ)
- E4 ผิวเซลล์ยกตัวขึ้นสูงเล็กน้อยเชื่อมต่อกันคล้ายร่างแห ทำให้เกิดหลุมรูปร่างไม่แน่นอน แต่ละหลุมอาจมีหรือไม่มีรูก็ได้ โดยในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตรมีจำนวนรูทั้งหมด 5 รู (รูปที่ 32ช และ 32ซ)
- E5 ผิวเซลล์มีสันยกตัวขึ้นสูงซึ่งเชื่อมต่อกันทำให้เกิดหลุมรูปร่างไม่แน่นอน แต่ละหลุมจะมีจำนวนรูไม่เท่ากัน โดยในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตร มีจำนวนรูทั้งหมด 5 รู (รูปที่ 32ฅ และ 32ญ)



รูปที่ 32 ลักษณะผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 (รูปซ้าย: เป็นรูปเซลล์ที่ใช้ศึกษา, รูปขวา: เป็นลักษณะผิวเซลล์)

4. ลักษณะการดำรงชีพของ *Dinophysis caudata*

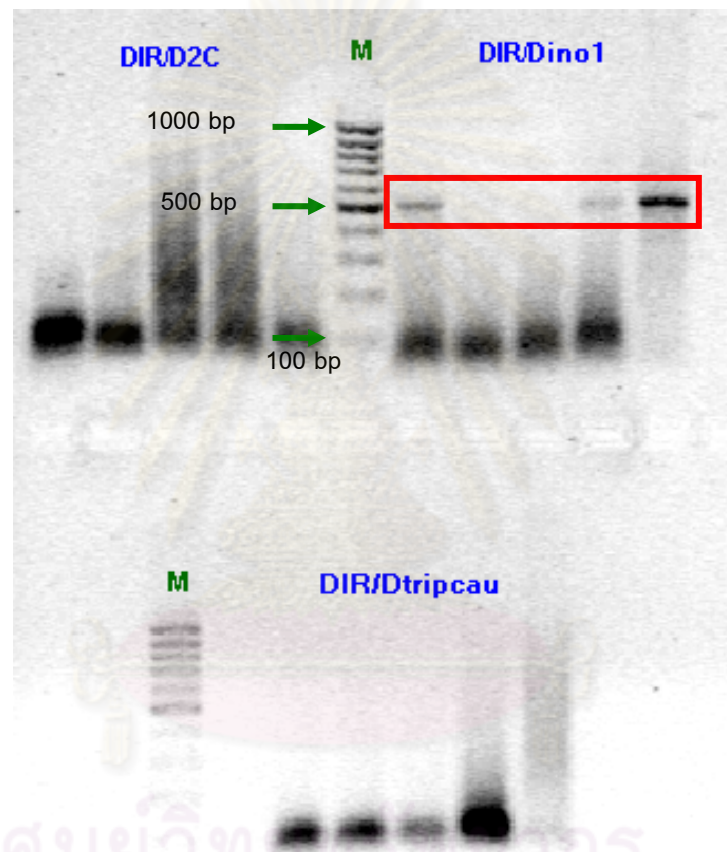
การศึกษาลักษณะการดำรงชีพของ *D. caudata* บริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครได้ทำการคัดเลือกตัวอย่างเซลล์ *D. caudata* ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันคือ เซลล์ขนาดเล็ก(ความกว้างอยู่ในช่วง 13.0 – 24.5 ไมโครเมตร และความยาวอยู่ในช่วง 30.0 – 49.5 ไมโคร- เมตร) และขนาดใหญ่ (ความกว้างเซลล์อยู่ในช่วง 24.6 – 31.0 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 49.6 – 60.4 ไมโครเมตร) ทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่มาย้อมสีด้วย Sybr Green I พบว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันทั้งหมดต่างมีการดำรงชีพแบบ autotroph คือสามารถสร้างอาหารเองได้โดยมีการเรืองแสงสีเขียวอมเหลืองของนิวเคลียสซึ่งมีรูปร่างกลมรีอยู่ส่วนท้ายของเซลล์และเรืองแสงสีแดงของคลอโรพลาส (รูปที่ 33) เมื่อพิจารณาลักษณะของนิวเคลียสตามขนาดเซลล์พบว่าเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ขนาดเล็กมีนิวเคลียสรูปร่างกลมรี ในขณะที่เซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ขนาดใหญ่โดยเฉพาะเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่พบลักษณะนิวเคลียสต่างกันอย่างชัดเจน 2 แบบคือ เซลล์ที่มีนิวเคลียส 1 อัน (รูปที่ 33จ) และเซลล์ที่มีนิวเคลียส 2 อัน (รูปที่ 33ง)



รูปที่ 33 *Dinophysis caudata* รูปร่างและขนาดต่างๆที่ย้อมด้วยสีย้อม Sybr Green I (ก – ง: เซลล์เดี่ยวขนาดปกติ, จ: เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่, ฉ: เซลล์คู่ขนาดใหญ่; ลูกศรสีส้มแสดงคลอโรพลาส, ลูกศรสีน้ำเงินแสดงนิวเคลียส)(เส้นบอกระยะ 20 ไมโครเมตร)

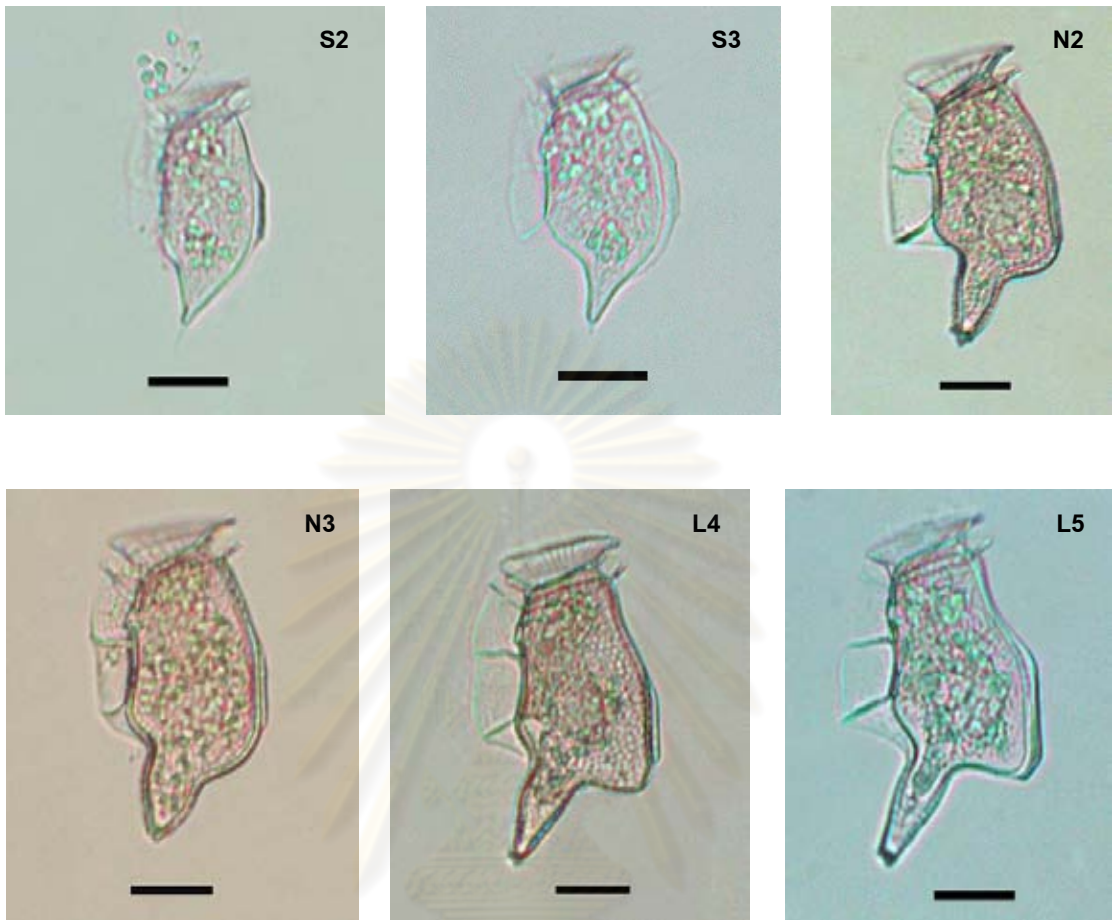
5. ลักษณะทางพันธุกรรมของประชากร *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติ

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ *D. caudata* ได้เลือกใช้ primer ทั้งหมด 3 คู่คือ DIR/D2C, DIR/Dino1 และ DIR/Dtripcau เทียบกับ 100 bp DNA ladder พบว่า primer DIR-F (5' ACCCGCTGAATTTAAGCATA 3') และ Dino1-R (5' TTGTGGCAGCAACCAATCCT 3') เป็น primer คู่เดียวที่มีการขึ้นแถบของ DNA แสดงว่าเป็นคู่ที่เหมาะสมในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของ *D. caudata* (รูปที่ 34)

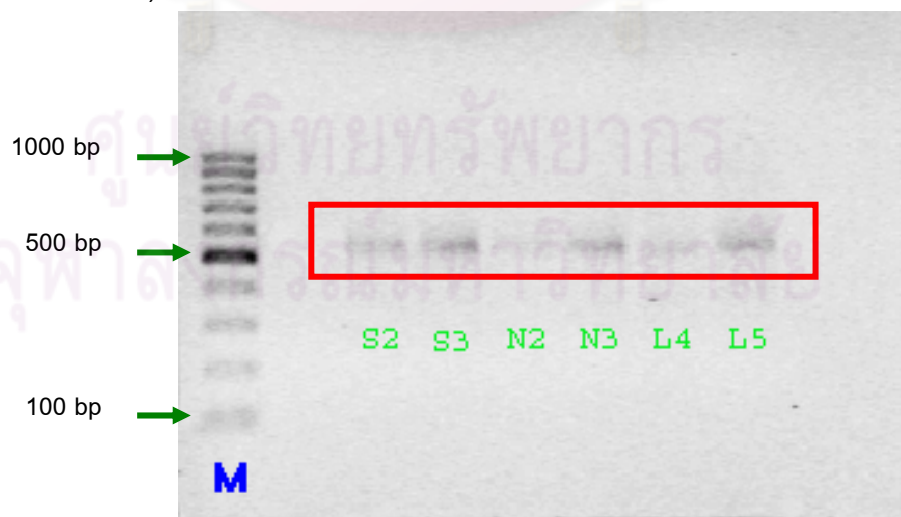


รูปที่ 34 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ primer ทั้ง 3 คู่ (M: 100 bp DNA ladder)(กรอบสี่เหลี่ยมสีแดงแสดงแถบ DNA)

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมเป็นวิธีหนึ่งที่น่ามาใช้ในการตรวจสอบว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันเป็น *D. caudata* เหมือนกันหรือไม่ ซึ่งเซลล์ที่น่ามาใช้ในการศึกษาด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ (PCR) มาจากการคัดเลือกเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันมากที่สุดตั้งแต่ขนาดเล็กสุดจนถึงขนาดใหญ่สุดทั้งหมด 6 ตัวอย่างได้แก่ D.caudata_S2 - 3 D.caudata_N2 - 3 และ D.caudata_L4 - 5 (รูปที่ 35) โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่มีความยาวของลำดับเบสประมาณ 500 คู่เบส (bp)(รูปที่ 36)



รูปที่ 35 *Dinphysis caudata* รูปร่างและขนาดต่างที่ใช้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม (เส้นบอก ระยะ 20 ไมโครเมตร)



รูปที่ 36 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่ (M: 100 bp DNA marker; S1-3: เซลล์ขนาดเล็ก; N2-3: เซลล์ปกติ; L4-5: เซลล์ขนาดใหญ่, กรอบสี่เหลี่ยมแสดงแถบ DNA)

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์หาลำดับเบสพบว่าความยาวของลำดับเบสที่สามารถนำไปใช้ได้มีความยาวทั้งสิ้น 450 คู่เบส ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่างเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันและเปรียบเทียบกับ *Dinophysis* ชนิดอื่นได้แก่ *Dinophysis acuminata* (D.acuminata_fr) และ *D. tripos* (D.tripos_fr) ที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank ด้วยโปรแกรม Clustal X 1.83 (Thompson *et al.*, 1997) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันของลำดับเบสระหว่างเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกัน แต่มีความแตกต่างของลำดับเบสระหว่างชนิด (รูปที่ 37, ภาคผนวก ข) ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันเป็นชนิดเดียวกันคือ *D. caudata* และการที่ *D. caudata* มีรูปร่างและขนาดได้หลายแบบน่าจะมาจากปัจจัยอื่นที่ไม่ใช่ลักษณะทางพันธุกรรมและจากการย้อมสีเซลล์ด้วยสีย้อม Sybr Green I พบว่ามีการดำรงชีพแบบ autotroph แสดงว่าปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยา น่าจะมาจากการตอบสนองต่อสิ่งแวดล้อม วงชีวิต และอายุของประชากร

```

          310          420          430          440          450
D.acuminata_fr  AACAATGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGCATTG
D.tripos_fr     AACAATGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_S2    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_S3    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_N2    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_N3    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_L5    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
D.caudata_L4    AACAAGGGTT CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT ACAAGCATTG
Clustal Consensus *****

```

รูปที่ 37 ลำดับเบสของ *Dinophysis caudata* รูปร่างและขนาดต่างๆ และ *Dinophysis* ชนิดอื่นที่ได้จากฐานข้อมูล GenBank (กรอบสี่เหลี่ยมแสดงตำแหน่งที่ลำดับเบสต่างกันระหว่าง *D. caudata* กับ *Dinophysis* อื่นๆ 2 ชนิด)

การศึกษาสัณฐานวิทยาและพันธุกรรมของ *D. caudata* ในธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระเช้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร แสดงให้เห็นว่า *D. caudata* ทั้งหมดเป็นชนิดเดียวกันและเมื่อใช้ลักษณะรูปร่างและขนาดของ hypotheca มาเป็นเกณฑ์ในการจำแนกพบว่า มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันได้หลายรูปแบบโดยรูปร่างและขนาดที่พบสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีลักษณะผิวเซลล์ 2 แบบและกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่พบลักษณะผิวเซลล์ถึง 3 แบบโดยเซลล์ทั้ง 2 กลุ่มนั้นเมื่อย้อมสีด้วย Sybr Green I มีการดำรงชีพแบบ autotroph ซึ่งสามารถสรุปเป็นตารางดังตารางที่ 4

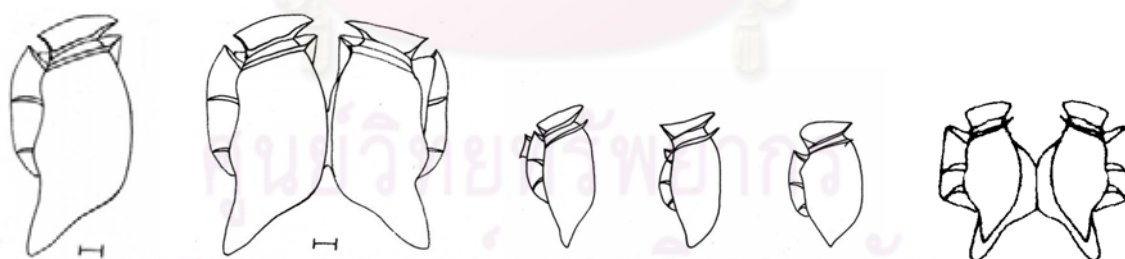
ตารางที่ 4 ความแตกต่างระหว่าง *Dinophysis caudata* ขนาดเล็กและขนาดใหญ่

ลักษณะ	เซลล์ขนาดเล็ก	เซลล์ขนาดใหญ่
รูปร่าง (แบบ)	40	16
ขนาด		
ความกว้าง (ไมโครเมตร)	13.0 – 24.5	24.6 – 31.0
ความยาว (ไมโครเมตร)	30.0 – 49.5	49.6 – 60.4
ลักษณะผิวเซลล์	E1 – E2	E3 – E5
การดำรงชีพ	autotroph	autotroph

6. องค์ประกอบขนาดประชากรของ *Dinophysis caudata*

6.1 องค์ประกอบขนาดของ *D. caudata* ในธรรมชาติ

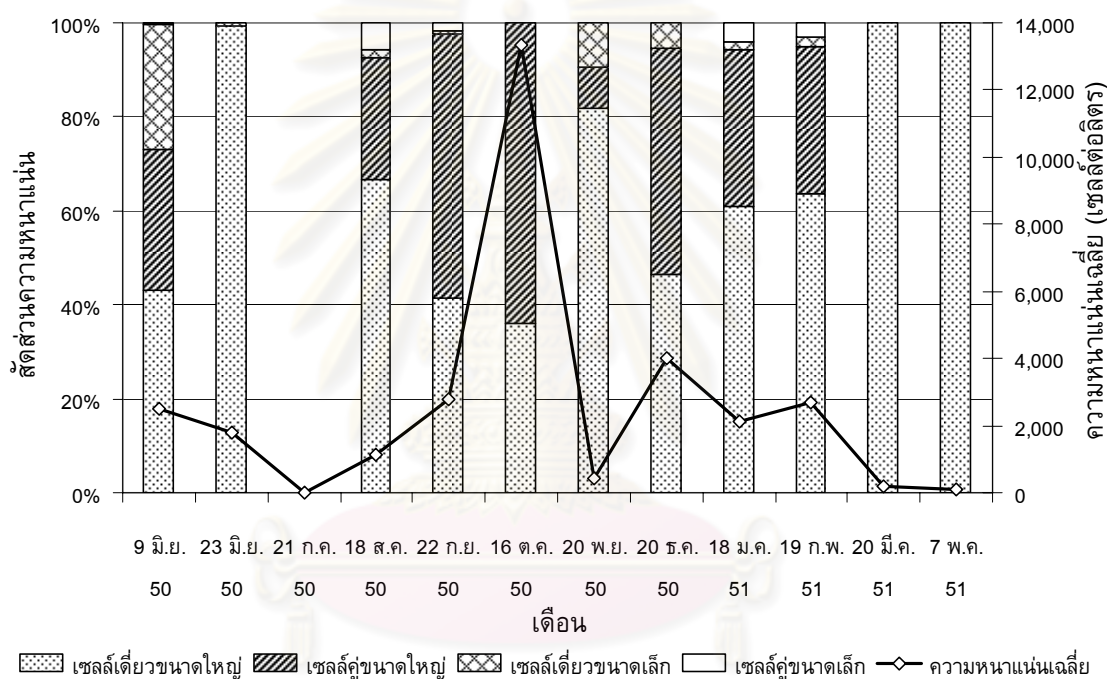
การศึกษาการผันแปรประชากรของ *D. caudata* เมื่อพิจารณาตามลักษณะเซลล์ในระยะต่างๆของวงชีวิตได้แก่ เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ เซลล์คู่ขนาดใหญ่ เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และเซลล์คู่ขนาดเล็ก (รูปที่ 38) ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ใช้ตัวอย่างแพลงก์ตอนพีชเดียวกับการศึกษาในข้อ 2



รูปที่ 38 *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 (ก : เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่, ข: เซลล์คู่ขนาดใหญ่, ค: เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และ ง: เซลล์คู่ขนาดเล็ก) เส้นบอกระยะ 20 ไมโครเมตร

ประชากร *D. caudata* ที่พบตลอดช่วงเวลาของการศึกษาตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 ส่วนใหญ่เป็นเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่และสามารถพบได้ทุกเดือนที่ทำการศึกษา ส่วน *D. caudata* ที่เป็นเซลล์คู่ขนาดใหญ่พบว่าชุกชุมในระหว่างเดือนสิงหาคมถึง

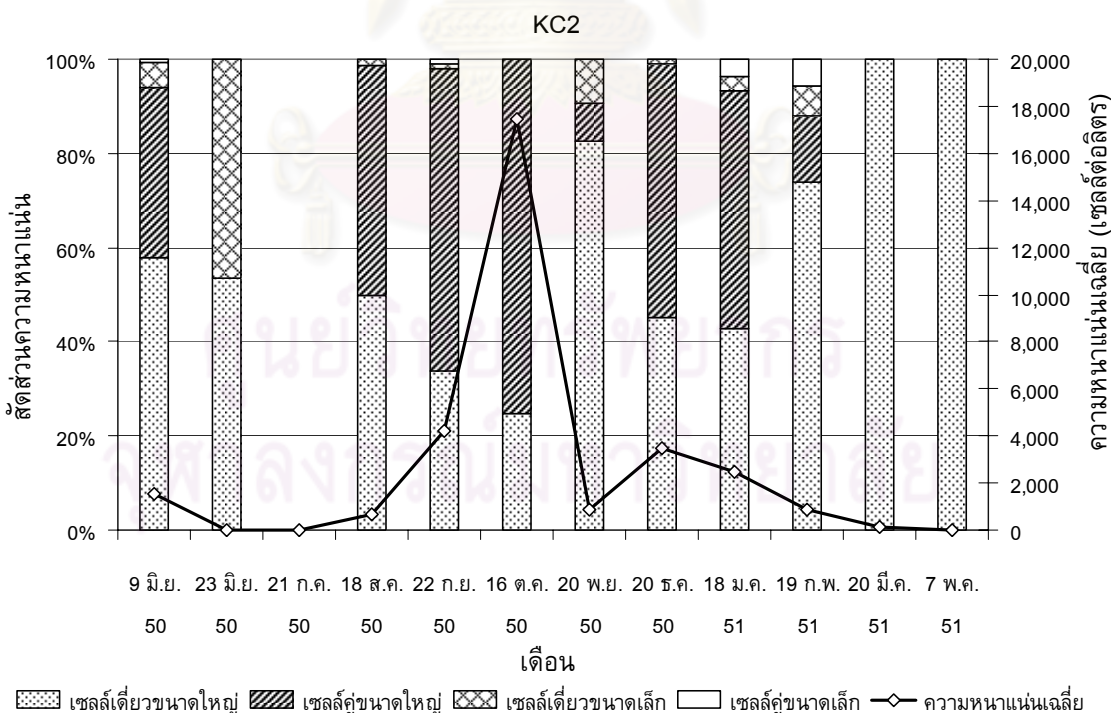
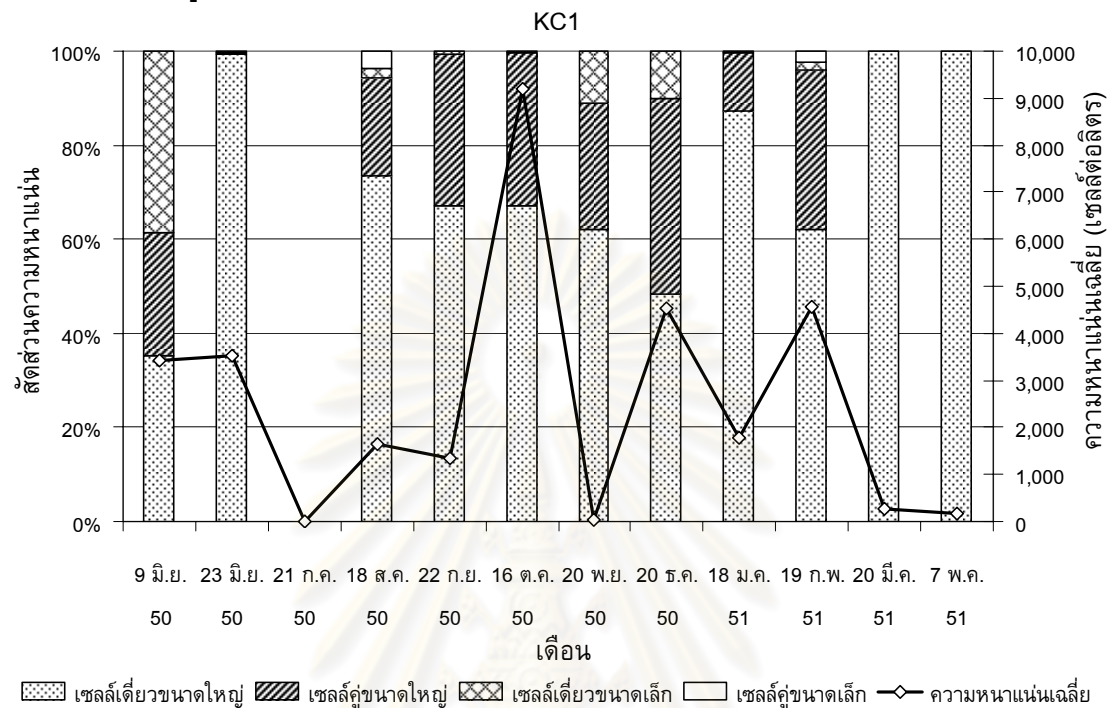
เดือนกุมภาพันธ์ โดยเฉพาะเดือนตุลาคมที่พบ *Dinophysis caudata* เซลล์คู่ในสัดส่วนที่สูงถึงร้อยละ 60 ของความหนาแน่นทั้งหมดซึ่งเป็นเดือนที่พบความหนาแน่นสูงที่สุด รองลงมาคือเดือนกันยายนและธันวาคม ที่พบเซลล์คู่ได้ร้อยละ 57 และ 48 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าช่วงเวลาดังกล่าวน่าจะเป็นช่วงภายหลังจากการแบ่งเซลล์ทั้งโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ในขณะที่ *D. caudata* ขนาดเล็กทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่มีสัดส่วนน้อยกว่าสัดส่วนของเซลล์ขนาดใหญ่และสามารถพบได้บางเดือนเท่านั้น โดยเฉพาะต้นเดือนมิถุนายนเป็นช่วงที่มีการปรากฏของเซลล์ *D. caudata* เดี่ยวขนาดเล็กมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 25 ของความหนาแน่นทั้งหมด (รูปที่ 39)



รูปที่ 39 ความหนาแน่นเฉลี่ยและสัดส่วนความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ขนาดต่างๆ ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

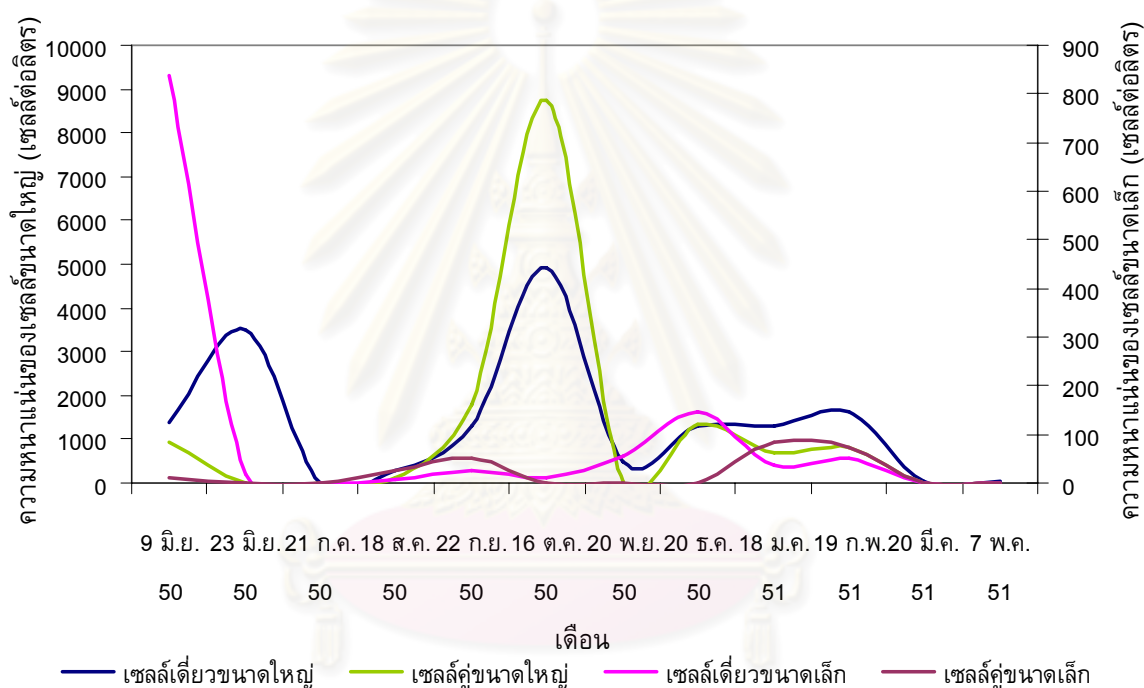
ประชากรของ *D. caudata* ในรอบปีบริเวณสถานี KC1 มีเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่เป็นส่วนใหญ่ โดยมีสัดส่วนคิดเป็นร้อยละ 67 ของความหนาแน่นทั้งหมด ยกเว้นในต้นเดือนมิถุนายนที่พบเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กในสัดส่วนส่วนที่สูงถึงร้อยละ 40 ของความหนาแน่นทั้งหมด ส่วนในเดือนที่พบเซลล์คู่ขนาดใหญ่ได้แก่ ต้นเดือนมิถุนายน สิงหาคมถึงเดือนธันวาคม และเดือนกันยายนพบว่ามีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกันคือประมาณร้อยละ 30 ในขณะที่ประชากรของ *D. caudata* ในสถานี KC2 ประกอบด้วยเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่เป็นส่วนใหญ่เช่นเดียวกับสถานี KC1 ยกเว้นในบางเดือนได้แก่ เดือนสิงหาคม กันยายน ตุลาคม ธันวาคม และมกราคม ที่พบสัดส่วนของเซลล์คู่ขนาดใหญ่สูงกว่าซึ่งมีค่าสูงถึงร้อยละ 50 ส่วนเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กพบใน

อัตราส่วนที่สูงในช่วงปลายเดือนมิถุนายน แต่เซลล์คู่ขนาดเล็กพบในสัดส่วนที่น้อยและในบางเดือนเท่านั้น (รูปที่ 40)



รูปที่ 40 สัดส่วนความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 (KC1 = สถานีที่ 1 และ KC2 = สถานีที่ 2)

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงประชากรของ *Dinophysis caudata* ในแต่ละกลุ่มในรอบปีพบว่ามีความโน้มของการเปลี่ยนแปลงกลุ่มขนาดเซลล์ได้อย่างชัดเจน โดยในเดือนที่พบความหนาแน่นของเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กทั้งเซลล์คู่และเซลล์เดี่ยวสูง เดือนถัดมาความหนาแน่นของเซลล์ขนาดเล็กจะเริ่มลดลง ในขณะที่ความหนาแน่นของกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่เพิ่มสูงขึ้นเช่น ในเดือนกันยายนที่พบเซลล์ขนาดเล็กสูง ขณะเดียวกันเซลล์ขนาดใหญ่ก็เริ่มเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งมีความหนาแน่นสูงสุดในเดือนตุลาคมที่มีความหนาแน่นของเซลล์ขนาดเล็กน้อยทำให้พบเซลล์ขนาดใหญ่เป็นกลุ่มเด่น ซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าเซลล์ขนาดเล็กจะทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวนประชากรของเซลล์ขนาดใหญ่ในธรรมชาติจึงทำให้ประชากรเพิ่มจำนวนสูงขึ้น (รูปที่ 41)



รูปที่ 41 การเปลี่ยนแปลงขนาดเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551

6.2 องค์ประกอบขนาดของ *D. caudata* จากการเลี้ยง

6.2.1 อัตราส่วนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่เหมาะสมต่อการเติบโตของ *D. caudata*

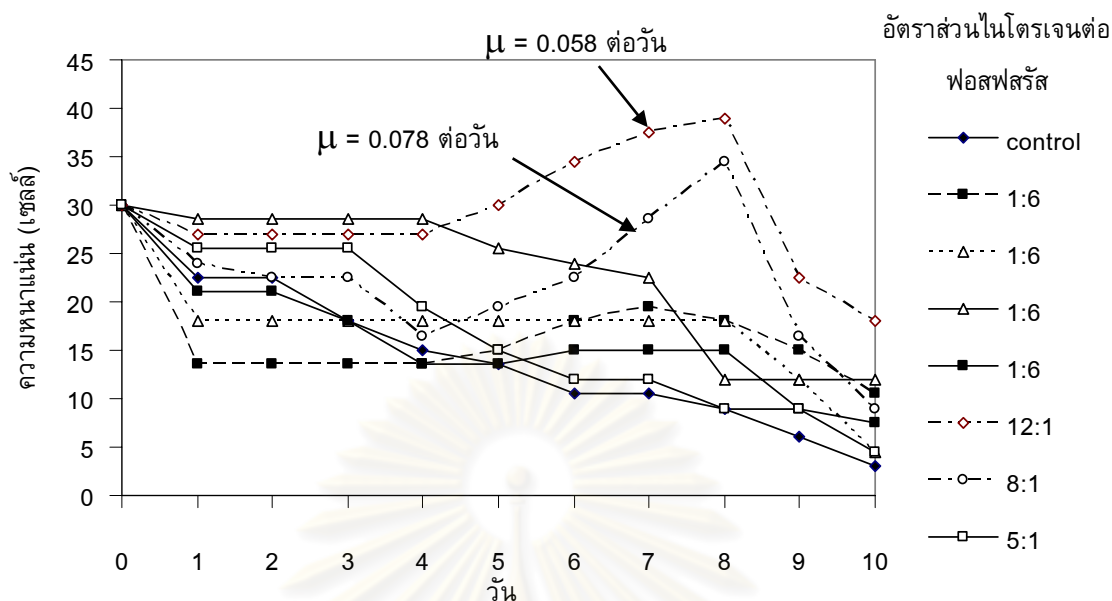
อาหารเลี้ยงที่เตรียมให้มีอัตราส่วนไนโตรเจนและฟอสฟอรัสที่แตกต่างกันสำหรับการศึกษาคั้งนี้มี 2 แบบคือ N-depleted nutrient ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่มีการผสมกันระหว่างน้ำทะเลเก่าที่มีสารอาหารน้อยมากหรือไม่มีเลยกับน้ำทะเลใหม่ที่มีสารอาหารเหมือนกับในธรรมชาติที่ได้ขณะที่เก็บเซลล์ *D. caudata* ซึ่งเมื่อคำนวณความเข้มข้นแล้วพบว่ามีความเข้มข้นของไนโตรเจนต่ำ แบบที่สองเรียกว่า P-depleted nutrient เป็นสูตรอาหารที่มีการผสมกันระหว่างน้ำทะเลใหม่กับอาหารเลี้ยงสูตร L1 ซึ่งเป็นสูตรที่เติมสารอาหารเพิ่มจากที่มีอยู่ใน

ธรรมชาติโดยมีการปรับระดับอัตราส่วนระหว่างไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสมาจากอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเฉลี่ยในรอบปีซึ่งมีอัตราส่วนเท่ากับ 8:1 ผลการศึกษาพบว่า *Dinophysis caudata* มีอัตราการเติบโตสูงสุดเท่ากับ 0.078 ต่อวันในอาหารเลี้ยงที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 8:1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนเดียวกับอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเฉลี่ยในรอบปี รองลงมาคือสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนเท่ากับ 12:1 โดยมีอัตราการเติบโตเท่ากับ 0.058 ต่อวัน แต่เนื่องจากสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนเท่ากับ 12:1 มีจำนวนเซลล์ที่มากกว่าในช่วงเวลาเดียวกันจึงได้เลือกอาหารเลี้ยงสูตรดังกล่าวมาศึกษาการผันแปรทางสัณฐานวิทยาในขั้นต่อไป (ตารางที่ 5, รูปที่ 42)

ตารางที่ 5 อัตราส่วนสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสและอัตราการเติบโตของ *Dinophysis caudata*

อัตราส่วนสารอาหาร	สัญลักษณ์	DIN:DIP	ความเข้มข้น (ไมโครโมลต่อลิตร)		μ (เซลล์ต่อวัน)
			DIN	DIP	
น้ำทะเลเก่า		1:3	0.222	0.640	-
L1		24:1	511.380	21.413	-
น้ำทะเลใหม่	Control	1:8	0.726	4.438	-0.052*
	T1-1	1:9	0.474	2.539	-0.062*
	T1-2	1:8	0.642	3.805	-
	T1-3	1:7	0.680	4.092	-0.027*
	T1-4	1:6	0.702	4.257	-
น้ำทะเลเก่า : น้ำทะเลใหม่	T2-1	12:1	103.002	8.720	0.053
	T2-2	8:1	51.864	6.579	0.078
	T2-3	5:1	26.295	5.508	-0.111*

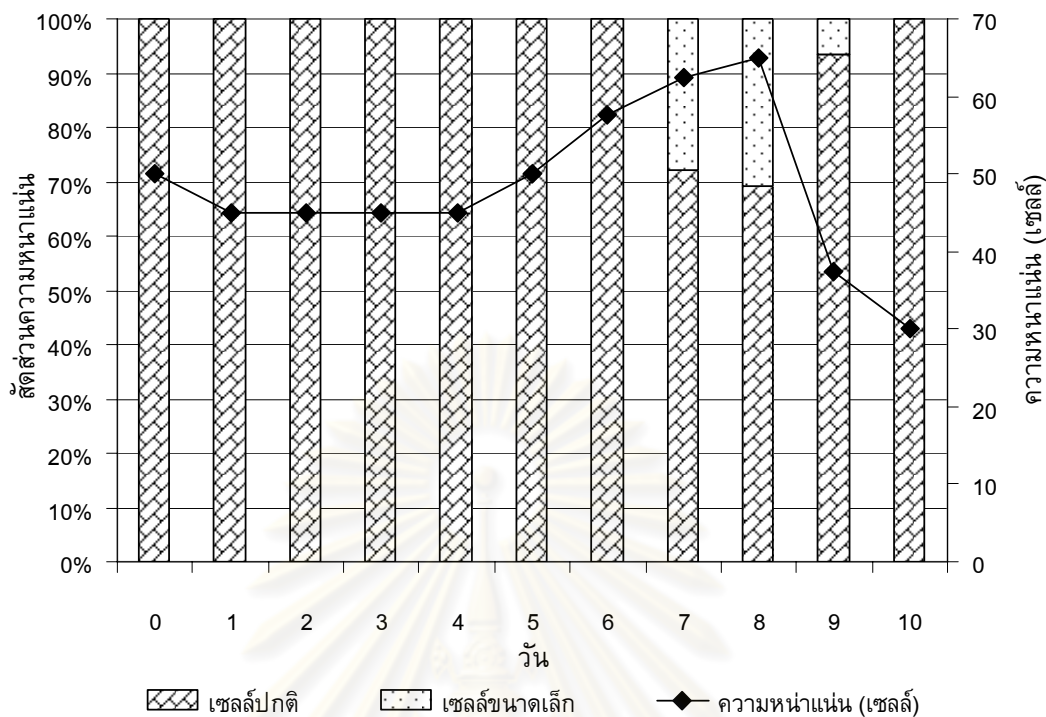
* ค่า μ ที่ติดลบแสดงความหนาแน่นเซลล์ลดลงจากวันเริ่มต้นการศึกษา



รูปที่ 42 การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* ในอาหารเลี้ยงที่มีอัตราส่วนสารอาหารไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส (DIN:DIP) ที่แตกต่างกัน

6.2.2 การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *Dinophysis caudata* จากการเลี้ยง

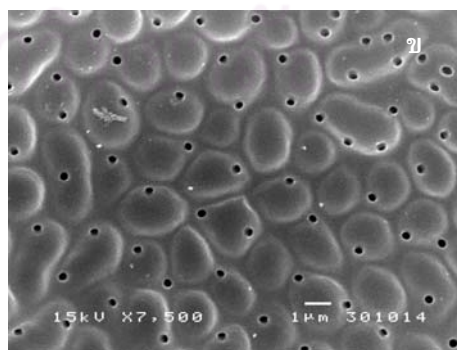
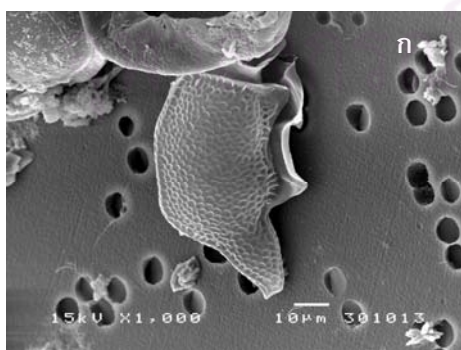
เมื่อนำเซลล์ *D. caudata* ขนาดใหญ่ที่ได้จากธรรมชาติมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 12:1 ที่ได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่แล้วซึ่งมีอัตราส่วนที่สูงกว่าอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเฉลี่ยในรอบปีพบว่าในระยะแรก *D. caudata* มีการเติบโตที่ค่อนข้างช้าซึ่งอยู่ในระยะ lag phase จากนั้นเริ่มมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นจนกระทั่งเข้าสู่ระยะ log phase เมื่อเวลาผ่านไป 7 วันซึ่งมีอัตราการเติบโตเท่ากับ 0.05 ต่อวัน เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างและขนาดเซลล์โดยมีการเริ่มต้นด้วยเซลล์ขนาดใหญ่พบที่มีการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กเมื่อเวลาผ่านไป 7 วันและพบจำนวนเซลล์ขนาดเล็กสูงสุดเมื่อเข้าสู่วันที่ 8 แต่หลังจากนั้นเซลล์ขนาดเล็กเริ่มลดลงและหายไปเมื่อผ่านไป 10 วัน (รูปที่ 43) การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและขนาดเซลล์ของ *D. caudata* ในการเลี้ยงพบว่าเซลล์ *D. caudata* มีรูปร่างและขนาดได้หลายแบบทำให้สามารถสรุปได้ว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันที่พบในธรรมชาตินั้นเป็นผลมาจากระยะต่างๆในวงจรชีวิต



รูปที่ 43 การเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นและสัดส่วนขนาดเซลล์ของ *Dinophysis caudata*

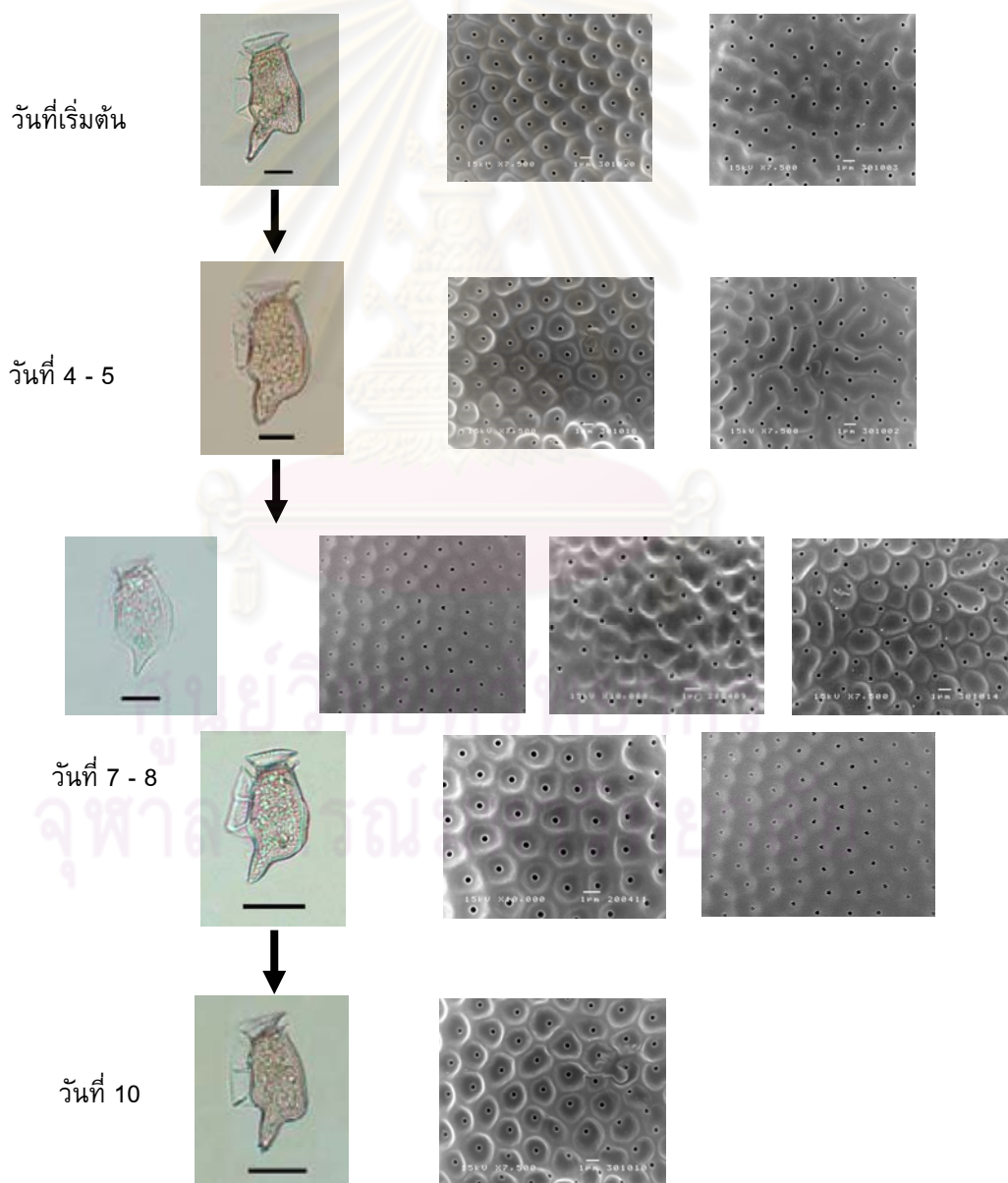
การนำเซลล์ *Dinophysis caudata* จากธรรมชาติมาเลี้ยงนอกจากพบการเปลี่ยนแปลงในด้านรูปร่างและขนาดแล้วยังพบว่ามีเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวเซลล์ด้วย โดยพบลักษณะผิวเซลล์ที่ผันแปรมาจากลักษณะประจำชนิดคือ Type E ทั้งสิ้น 5 แบบ ซึ่งใน 4 แบบแรกมีลักษณะเหมือนกับที่พบในธรรมชาติคือแบบ E1 – E4 (รูปที่ 32) ยกเว้นผิวเซลล์แบบสุดท้ายที่มีลักษณะต่างไปจากแบบอื่นที่พบในธรรมชาติคือ

- E6 มีสันยกตัวขึ้นค่อนข้างสูงทำให้เกิดหลุมไม่มีเหลี่ยมรูปร่างไม่แน่นอน มีรูกระจายอยู่ทั่วไปไม่เป็นระเบียบ ซึ่งแต่ละหลุมอาจมีหรือไม่มีรูก็ได้ โดยในพื้นที่ 5 x 5 ตารางไมโครเมตร มีจำนวนรูทั้งหมด 6 รู (รูปที่ 44ก และ 44ข)



รูปที่ 44 ลักษณะผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ที่ได้จากการเลี้ยง

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงในด้านรูปร่างและขนาดร่วมกับลักษณะผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ทำให้เห็นการเปลี่ยนแปลงในแต่ละระยะเวลาที่เลี้ยงได้ ในวันแรกของการเลี้ยงที่เริ่มต้นด้วยเซลล์ขนาดใหญ่มีผิวเซลล์แบบ E1 และ E2 เมื่อเวลาผ่านไป 4 – 5 วัน เซลล์เริ่มมีขนาดเล็กลงกว่าเดิมซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กที่มีรูปร่างเหมือนกับเซลล์ปกติพบลักษณะผิวเซลล์แบบเดียวกับที่พบในวันเริ่มต้นคือ แบบ E1 และ E2 จนกระทั่งเข้าสู่วันที่ 7 – 8 ที่มีการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กมากร่วมกับเซลล์ขนาดเล็ก โดยเซลล์ขนาดเล็กมากสามารถพบผิวเซลล์ได้ถึง 3 แบบคือ แบบ E3 E4 และ E6 ส่วนเซลล์ขนาดเล็กมีการเปลี่ยนแปลงผิวเซลล์ไปจากวันแรกๆ คือพบแบบ E1 กับ E3 เมื่อเข้าสู่วันสุดท้ายของการเลี้ยงที่พบแต่เซลล์ขนาดเล็กเพียงขนาดเดียวพบผิวเซลล์เพียงแบบเดียวคือ E1 (รูปที่ 45)



รูปที่ 45 การผันแปรรูปร่างและผิวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* ในระยะต่างๆ

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการศึกษา

การผันแปรทางสัณฐานวิทยาของประชากร *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร

การผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 เป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทยโดยการผันแปรลักษณะทางสัณฐานวิทยาใช้ลักษณะในการจำแนกตามวิธีของ Steidinger and Tangen (1997) และ Reguera *et al.* (2000) ประกอบด้วยรูปร่างและขนาด และลักษณะผิวเซลล์ พบว่าเซลล์มีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันถึง 56 แบบซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Reguera *et al.* (2007) ในประเทศสเปนที่พบการผันแปรของเซลล์ *D. caudata* ได้ถึง 70 แบบ เนื่องจากประชากร *D. caudata* ในเขตอบอุ่นมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าในเขตร้อนจึงทำให้พิสัยของความกว้างและความยาวเซลล์กว้างกว่าประชากรในเขตร้อน แต่เซลล์ที่พบจากการศึกษาทั้งสองมีรูปร่างที่คล้ายคลึงกัน โดยความกว้างของเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 13.42 – 35.60 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 21.68 ± 4.22 ไมโครเมตร) และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 29.54 – 76.56 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 46.03 ± 8.45 ไมโครเมตร) ซึ่งมีขนาดเล็กกว่าการศึกษาอื่นในชนิดเดียวกันบริเวณเขตอบอุ่นและเขตกึ่งร้อนที่พบว่าเซลล์มีความกว้างเซลล์อยู่ในช่วง 37.00 – 54.00 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 70.00 – 110.00 ไมโครเมตร (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ขนาดเซลล์ของ *Dinophysis caudata*

บริเวณที่ศึกษา	ความกว้าง (ไมโครเมตร)	ความยาว (ไมโครเมตร)	แหล่งที่มา
ชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร	13.42 – 35.60	29.54 – 76.56	การศึกษาครั้งนี้
ประเทศญี่ปุ่น	-	70.00 – 90.00	Fukuyo <i>et al.</i> (1976)
ประเทศเดนมาร์ก	-	70.00 – 110.00	Larsen and Moestrup (1992)
ประเทศสเปน	37.00 – 50.00	70.00 – 110.00	Reguera <i>et al.</i> (2007)
ประเทศเกาหลีใต้	37.00 – 54.00	84.00 – 93.00	Park <i>et al.</i> (2008)

ความกว้างและความยาวเซลล์ของ *Dinophysis caudata* สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ เซลล์ขนาดเล็ก (ความกว้างอยู่ในช่วง 13.0 – 24.5 ไมโครเมตร และความยาวอยู่ในช่วง 30.0 – 49.5 ไมโครเมตร) และเซลล์ขนาดใหญ่ (ความกว้างเซลล์อยู่ในช่วง 24.6 – 31.0 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 49.6 – 60.4 ไมโครเมตร) โดยกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กเป็นกลุ่มที่มีความถี่ของการปรากฏสูงที่สุด

D. caudata บริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครนอกจากมีรูปร่างหลากหลายแล้วยังพบว่ามี การผันแปรผิวเซลล์จากลักษณะของแบบ Type E ซึ่งเป็นลักษณะประจำชนิด (Hallegraeff and Lucas, 1988) โดยพิจารณาจากความแตกต่างของความตื้นลึกของหลุม รูปร่างและขนาดหลุม และการกระจายของรู สามารถจำแนกได้ทั้งสิ้น 5 แบบคือ เซลล์ขนาดใหญ่มีผิวแบบ E1 – E2 ในขณะที่เซลล์ขนาดเล็กมีลักษณะผิวเซลล์ได้ถึง 3 แบบคือ E3 – E5 การผันแปรของลักษณะผิวเซลล์จากลักษณะประจำชนิดนั้นสามารถพบได้ใน *Dinophysis* ชนิดอื่นได้แก่ *D. acuminata* และ *D. sacculus* ที่มีการผันแปรทั้งสิ้น 3 แบบ ซึ่งการผันแปรผิวเซลล์โดยเฉพาะในเซลล์ขนาดเล็กนั้น มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยรวมเช่น รูปร่างและขนาดเล็กลง หรือผนังเซลล์บางลง ทำให้ลักษณะที่พบต่างไปจากเซลล์ปกติ (Silva and Faust, 1995)

เมื่อนำเซลล์ *Dinophysis caudata* จากบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันคือ เซลล์ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ มาศึกษา ลักษณะทางพันธุกรรมพบว่าไม่มีความแตกต่างของลำดับเบสระหว่างเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกัน แต่พบความแตกต่างของลำดับเบสเมื่อเปรียบเทียบกับ *Dinophysis* ชนิดอื่น แสดงว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันเป็นชนิดเดียวกัน สอดคล้องกับการศึกษาใน *Dinophysis* ชนิดอื่นที่ไม่พบความแตกต่างกันของลำดับเบสระหว่างเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันเมื่อศึกษาความแตกต่างของลำดับเบสในตำแหน่ง Internal Transcribed Spacers (ITS1, ITS2) หรือ mitochondrial DNA (Edvardsen et al., 2003; Raho et al., 2008)

ดังนั้นการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ที่พบในบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาครน่าจะเป็นผลมาจากการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ลักษณะการดำรงชีพและวงชีวิต โดยเซลล์ *D. caudata* ที่มีขนาดเล็กและขนาดใหญ่ทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ที่พบในบริเวณนี้มีการดำรงชีพแบบ autotroph เหมือนกันซึ่งต่างจากการศึกษาในเขตบ่ออุ่นและเขตหนาวที่พบว่า *D. caudata* มีการดำรงชีพแบบ mixotroph ขณะเดียวกัน *Dinophysis* ชนิดอื่นเช่น *D. acuminata* ที่มีการดำรงชีพแบบ mixotroph เหมือนกันนั้นพบว่าช่วงที่มีการกินอาหารจะมีขนาดเซลล์ใหญ่กว่าช่วงที่ไม่มีการกินอาหาร (Escalera and Reguera, 2008; Nishitani et al., 2008; Park et al., 2008) เมื่อพิจารณาเซลล์ขนาดต่าง ๆ ร่วมกับลักษณะนิวเคลียสสามารถแยกเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ออกเป็น 2 ลักษณะคือ เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียส 2 อัน และเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียส 2 อันที่มีส่วนห้ายป่องออกทำให้เซลล์มี

ขนาดใหญ่กว่าเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียสเพียง 1 อัน ดังผลการศึกษาใน *Dinophysis* ชนิดอื่นที่พบว่าในระยะ planozygote ที่มีนิวเคลียส 2 อันนั้นมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ในระยะปกติ (Berland *et al.*, 1995; Reguera *et al.*, 2003; Koike *et al.*, 2006; Escalera and Reguera, 2008) ดังนั้น *Dinophysis caudata* เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีการป้องกันของส่วนท้ายนั้นอาจอยู่ในระยะที่เป็น planozygote ที่เป็นผลมาจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศหรืออาจเป็นเซลล์ที่เป็นผลมาจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

อายุของประชากรและความอุดมสมบูรณ์ของสารอาหารถือว่าเป็นอีกปัจจัยที่มีผลต่อการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ในบริเวณชายฝั่งบ้านกระซ้าขาว จังหวัดสมุทรสาคร โดยเมื่อนำเซลล์ *D. caudata* ขนาดใหญ่จากธรรมชาติมาเลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 12:1 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่มีการปรับความเข้มข้นให้มีค่าสูงกว่าอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสที่ตรวจวัดในธรรมชาติพบว่ามีอัตราการเติบโตเท่ากับ 0.05 ต่อวันเมื่อผ่านไป 5 วัน ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการศึกษาอื่นในชนิดเดียวกันที่มีอัตราการเติบโตอยู่ในช่วง 0.02 – 1.03 ต่อวัน และน้อยกว่า *Dinophysis* ชนิดอื่นได้แก่ *D. acuminata* *D. acuta* *D. sacculus* และ *D. tripos* (ตารางที่ 7) อัตราการเติบโตในการศึกษานี้มีค่าต่ำกว่าการศึกษาอื่นมีสาเหตุมาจากสภาวะในการเลี้ยงแตกต่างกัน เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า *D. caudata* มีการดำรงชีพแบบ autotroph จึงได้ทำการเลี้ยงเซลล์ในอาหารเลี้ยงเพียงอย่างเดียว ในขณะที่การศึกษาอื่น *D. caudata* มีการดำรงชีพแบบ mixotroph ซึ่งเลี้ยงโดยการให้อาหารเลี้ยงร่วมกับการให้อาหารที่เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ขนาดเล็กในกลุ่ม ciliated protozoa (*Myrionecta rubra*) ที่ถูกเลี้ยงด้วยสาหร่ายขนาดเล็กในกลุ่ม cryptophyte ทำให้ *D. caudata* สามารถเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น ขณะเดียวกัน *D. caudata* ก็สามารถเก็บเอาคลอโรพลาสต์ที่อยู่ในเซลล์ของแพลงก์ตอนสัตว์ซึ่งได้จากสาหร่ายสีเขียวไว้ในตัวเองได้เรียกว่า kleptoplastid ภายหลังจากช่วงที่มีการให้อาหารอย่างเต็มที่แล้วเซลล์ของ *D. caudata* สามารถทนอยู่ในสภาวะอดอาหารได้นานถึง 2 เดือน (Nishitani *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 อัตราการเติบโตของ *Dinophysis caudata* จากการเลี้ยงในสภาวะการดำรงชีพที่แตกต่างกัน

ชนิด	อัตราการเติบโต (ต่อวัน)	สภาวะการดำรงชีพ	แหล่งที่มา
<i>Dinophysis caudata</i>	0.05	autotroph	การศึกษาคั้งนี้
	0.28	autotroph	Reguera <i>et al.</i> (1996)
	0.22	mixotroph	Nishitani <i>et al.</i> (2003)
	0.19 – 0.25	mixotroph	Reguera <i>et al.</i> (2003)
	0.68 – 1.03	mixotroph	Nishitani <i>et al.</i> (2008)
	0.02 – 0.1	mixotroph	Park <i>et al.</i> (2008)
	0.52 – 0.73	mixotroph	Granili <i>et al.</i> (1995)
<i>D. acuminata</i>	0.69 – 0.75	mixotroph	Gisselson <i>et al.</i> (1999)
	0.95 – 1.37	mixotroph	Park <i>et al.</i> (2006)
<i>D. acuta</i>	0.02 – 0.65	autotroph	Reguera <i>et al.</i> (2003)
<i>D. tripos</i>	0.19 – 0.50	autotroph	Reguera <i>et al.</i> (2003)
<i>D. sacculus</i>	0.10 – 0.42	heterotroph	Garcés <i>et al.</i> (1997)

เมื่อเลี้ยง *D. caudata* ที่เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ในอาหารเลี้ยงสูตร L1 ที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัสเท่ากับ 12:1 พบว่ามีการแบ่งเซลล์ให้เซลล์ขนาดเล็กเมื่อเวลาผ่านไป 7 วันโดยคิดเป็นร้อยละ 20 ของจำนวนเซลล์ทั้งหมดและเซลล์ขนาดเล็กจะเริ่มลดจำนวนลงจนกระทั่งหายไปเมื่อเวลาผ่านไป 10 วันทำให้พบแต่เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาอื่นในชนิดเดียวกันและใน *Dinophysis* ชนิดอื่นที่พบว่าการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กเมื่อเวลาผ่านไป 8 – 10 วัน (Nishitani *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008; Reguera *et al.*, 2007) การปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กในสกุล *Dinophysis* และไดโนแฟลกเจลเลตชนิดอื่นนั้น มีบทบาทในวงจรชีวิต 2 บทบาทคือ ทำหน้าที่ในการเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในช่วงที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ และทำหน้าที่ทดแทนและเพิ่มจำนวนประชากรในธรรมชาติโดยเซลล์ขนาดเล็กจะมีการพัฒนาไปเป็นเป็นเซลล์ปกติ ซึ่งจากบทบาททั้ง 2 ประการทำให้สามารถอธิบายถึงการหายไปของเซลล์ขนาดเล็กจากประชากรในธรรมชาติในช่วงเดือนตุลาคม 2550 ได้ (Silva and Faust, 1995; Escalera and Reguera, 2008)

ความหนาแน่นและองค์ประกอบขนาดของประชากร *Dinophysis caudata* ในรอบปี บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำชาวจังหวัดสมุทรสาคร

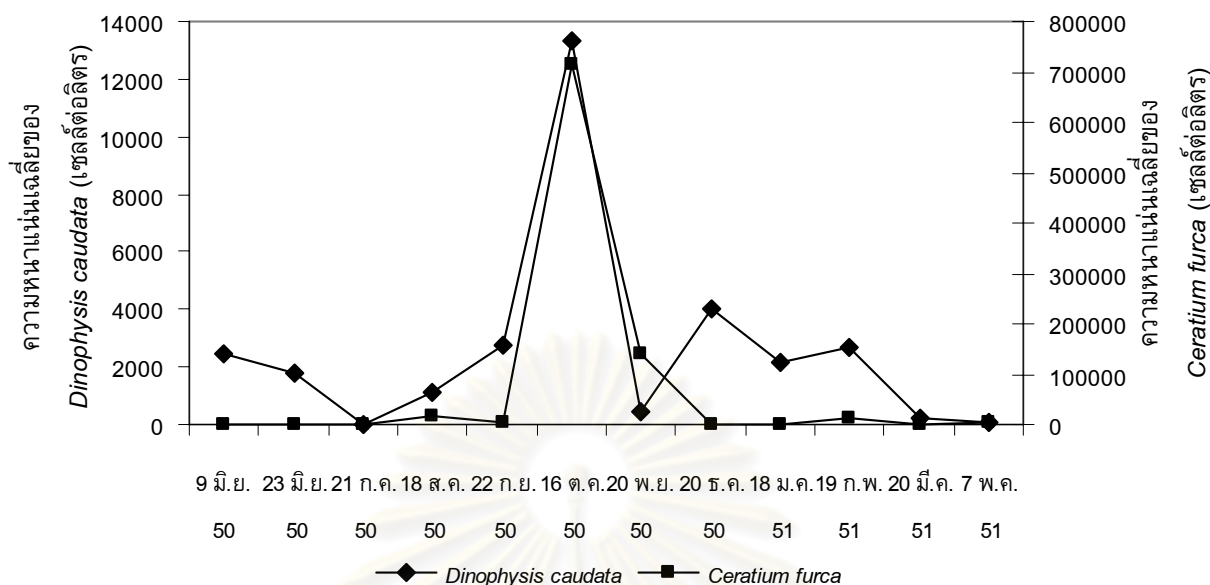
D. caudata บริเวณชายฝั่งทะเลบ้านกระช้ำชาว จังหวัดสมุทรสาครในรอบปีตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 มีความหนาแน่นเฉลี่ยอยู่ในช่วง $0 - 1.33 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร โดยมีความหนาแน่นเฉลี่ยเท่ากับ 2.59×10^3 เซลล์ต่อลิตร ความหนาแน่นของ *D. caudata* ที่พบในการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่าที่มีการรายงานในอดีตบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครและบริเวณใกล้เคียงซึ่งมีความหนาแน่นของ *D. caudata* อยู่ในช่วง $0 - 9.33 \times 10^3$ เซลล์ต่อลิตร (ตารางที่ 8) ยกเว้นการศึกษาของศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนที่บริเวณฝั่งตะวันออกของปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครและปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการในเดือนมกราคมที่พบว่ามีความหนาแน่นของ *D. caudata* สูงกว่า แต่เมื่อพิจารณาทิศทางการไหลของกระแสน้ำในอ่าวไทยเดือนมกราคม (ณัฐวรรธน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ, 2549) พบว่ากระแสน้ำที่ไหลมาจากฝั่งตะวันตกและฝั่งตะวันออกของอ่าวไทยตอนบนมีการไหลมาบรรจบกันที่ตอนกลางของปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครทำให้ความหนาแน่นของ *D. caudata* ที่พบทั้งสองฝั่งของปากแม่น้ำท่าจีนมีความแตกต่างกัน ขณะเดียวกันค่าความหนาแน่นของ *D. caudata* ที่รายงานโดยศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบนมีการรายงานเฉพาะช่วงที่พบความหนาแน่นสูงเท่านั้น เมื่อนำเอาความหนาแน่นของ *D. caudata* มาหาความสัมพันธ์กับปัจจัยสิ่งแวดล้อม พบว่าความหนาแน่นของ *D. caudata* มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกับความหนาแน่นของไดโนแฟลกเจลเลตชนิด *Ceratium furca* ($r = 0.899$, $p < 0.01$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (รูปที่ 46) ต่างจากการศึกษาในบริเวณอื่นของอ่าวไทยที่มีการรายงานว่าความหนาแน่นของ *D. caudata* แปรตามการผันแปรของปัจจัยทางสภาวะและเคมีได้แก่ ความเค็มและปริมาณไนเตรท - ไนโตรเจน (สุทธิชัย เตมียวนิชย์, 2527ก; หมั่น โพธิ์วิจิตร และอัจฉรา มโนเวชพันธ์, 2527; Delmas *et al.*, 1992; Paerl, 1997; Larsen and Nguyen, 2004; เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* จากบริเวณบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น

บริเวณที่ศึกษา	ปีที่ศึกษา (พ.ศ.)	ชนิดที่ศึกษา	ความหนาแน่น (เซลล์ต่อลิตร)
ชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร ⁽¹⁾	2550 - 2551	<i>Dinophysis caudata</i>	0 – 13,300
ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร ⁽²⁾	2540 - 2541	<i>Dinophysis</i> spp.	0 - 744
อ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี ⁽³⁾	2545 - 2546	<i>Dinophysis</i> spp.	0 – 4,202
ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร ⁽⁴⁾	2546 - 2547	<i>Dinophysis caudata</i>	0 – 7,875
ชายฝั่งทะเลบางพระ จังหวัดชลบุรี ⁽⁵⁾	2546 - 2547	<i>Dinophysis</i> spp.	0 – 3,255
ปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา ⁽⁶⁾	2547 - 2548	<i>Dinophysis caudata</i>	6 - 618
อ่าวไทยตอนบน ⁽⁷⁾	2527	<i>Dinophysis caudata</i>	0 - 63
อ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตก ⁽⁸⁾	2549	<i>Dinophysis caudata</i>	0 – 9,333
ชายฝั่งทะเลบางขุนเทียน จังหวัดกรุงเทพฯ ⁽⁹⁾	ธ.ค. 2550 ม.ค. 2551	<i>Dinophysis caudata</i>	4,730 – 8,600 2,200 – 5,670
ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร ⁽⁹⁾	ม.ค. 2551 ม.ค. 2552	<i>Dinophysis caudata</i>	5,500 – 41,850 15,132 – 31,130
ปากแม่น้ำเจ้าพระยา จังหวัดสมุทรปราการ ⁽⁹⁾	ม.ค. 2552	<i>Dinophysis caudata</i>	17,739 – 36,353

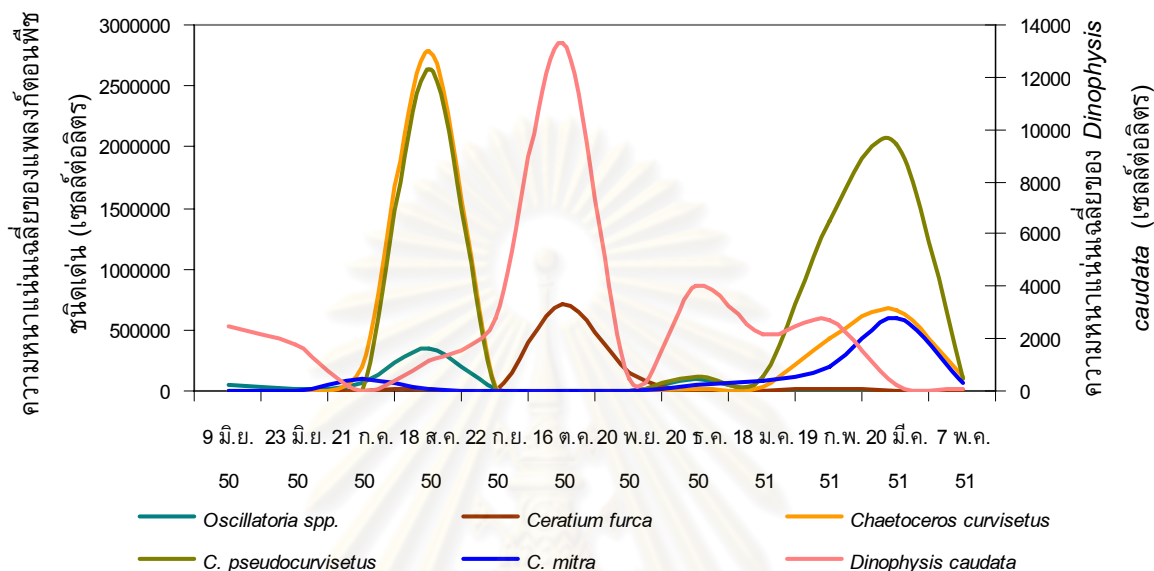
แหล่งที่มา: ⁽¹⁾ การศึกษาครั้งนี้, ⁽²⁾ อธิฉิกา พรหมทอง และคณะ (2546), ⁽³⁾ อรุณี สมมติ และคณะ (2548), ⁽⁴⁾ รวมทรัพย์ ชานาญธนา (2549), ⁽⁵⁾ ปิยะรัตน์ เชาว์ชัย (2547), ⁽⁶⁾ วรญา ไชว์พันธุ์ (2548), ⁽⁷⁾ พรศิลป์ ผลพันธ์ (2530), ⁽⁸⁾ เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ (2550), ⁽⁹⁾ ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน (2552)



รูปที่ 46 การผันแปรความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* และความหนาแน่นของ *Ceratium furca*

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นของ *Dinophysis caudata* กับองค์ประกอบของแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นในรอบปีพบว่าการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มแพลงก์ตอนพืชอย่างชัดเจนโดยพบ *D. caudata* มีความหนาแน่นสูงหลังจากช่วงที่มีการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอมได้แก่ *Chaetoceros curvisetus*, *C. pseudocurvisetus* และ *C. mitra* และกลุ่มไซยาโนแบคทีเรียคือ *Oscillatoria* sp. (รูปที่ 47) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในต่างประเทศที่พบว่า การเพิ่มจำนวนของ *D. caudata* เกิดขึ้นภายหลังจากการเพิ่มจำนวนของไดอะตอมและแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็ก (ฟิโคแพลงก์ตอนและนาโนแพลงก์ตอน) ซึ่งนอกจากไดอะตอมและแพลงก์ตอนพืชขนาดเล็กแล้วยังมีรายงานว่า ไดโนแฟลกเจลเลต *Noctiluca scintillans* ในเขตอบอุ่นซึ่งมีลักษณะการดำรงชีพแบบผู้ล่า (heterotroph) ทำให้ไม่มีสาหร่ายเซลล์เดี่ยวเป็น symbiont หรือเรียกว่า pink *Noctiluca* นั้นมีบทบาทในการควบคุมจำนวนประชากรของ *D. caudata* อีกทั้งเมื่อ *N. scintillans* ที่กิน *D. caudata* เข้าไปถูกกินโดยสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นอีกทอดหนึ่งทำให้เกิดการถ่ายทอดสารชีวพิษเข้าสู่ระบบห่วงโซ่อาหารและเข้าสู่ผู้บริโภคลำดับสูงได้ (Delmas *et al.*, 1993; Müller-Niklas and Herndl, 1996; Maneiro *et al.*, 2002; Nishitani *et al.*, 2002; Nishitani *et al.*, 2005; Jansen *et al.*, 2006; Kozlowsky-Suzuki *et al.*, 2006; Escalera *et al.*, 2007) แต่ผลการศึกษาบริเวณบ้านกระซ้าขาวไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *D. caudata* และไดโนแฟลกเจลเลต *N. scintillans* เนื่องจากเซลล์ *N. scintillans* ที่พบในเขตร้อนมีการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกับสาหร่ายเซลล์เดี่ยว (*Pedinomonas noctilucea*) ทำให้เซลล์มีสีเขียวหรือเรียกว่า green *Noctiluca* (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2546; Furuya, *et al.*, 2006) ทำให้ *N. scintillans* ได้รับอาหารทั้งจากการล่าและจาก

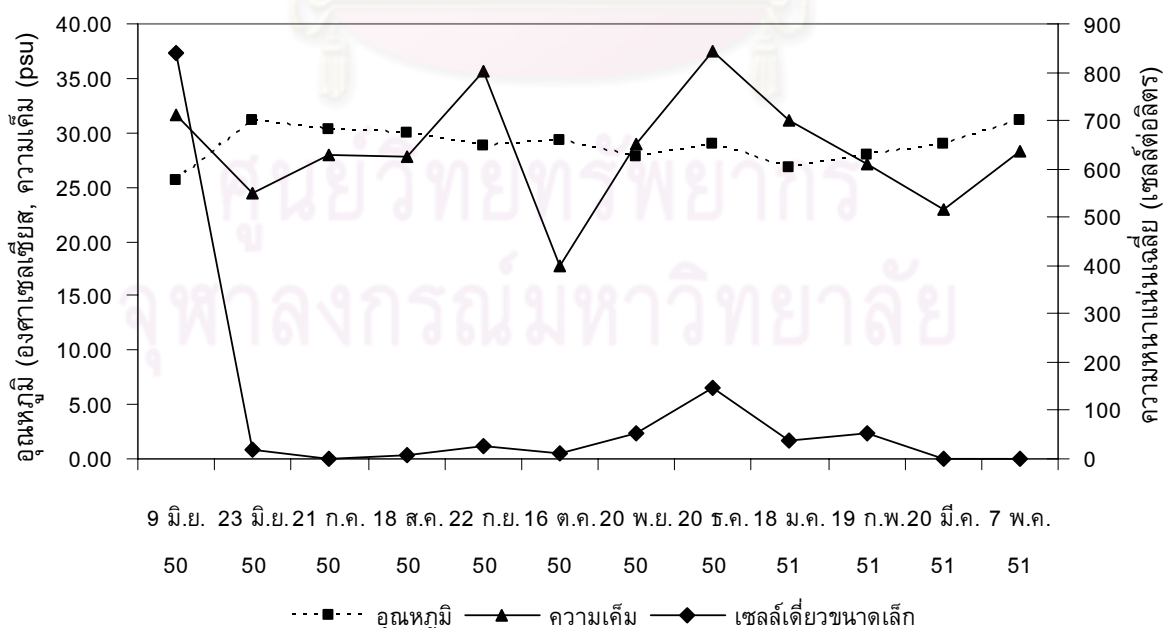
กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของสาหร่ายเซลล์เดี่ยวจึงทำให้เซลล์ *Noctiluca scintillans* ไม่จำเป็นต้องล่ากินอาหารเท่ากับ *N. scintillans* ในเขตหนาว จึงไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง *N. scintillans* และ *Dinophysis caudata*



รูปที่ 47 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบแพลงก์ตอนพืชชนิดเด่นกับ *Dinophysis caudata*

ความหนาแน่นของ *D. caudata* ในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 มีค่าสูงในเดือนตุลาคม ซึ่งเป็นช่วงรอยต่อระหว่างฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ รองลงมาคือ เดือนธันวาคมและกันยายน ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาในบริเวณอื่นได้แก่ ชายฝั่งปราณบุรี จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ (สุทธิชัย เตมียวนิชย์, 2527) ปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร (อิชฌิกา พรหมทอง และคณะ, 2546) ปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา (วราญา ไชว์พันธุ์, 2548) ชายฝั่งทะเลบางพระ จังหวัดชลบุรี (ปิยรัตน์ เชื้อซี่, 2547) อ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตก (เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550) และชายฝั่งประเทศเวียดนาม (Larsen and Nguyen, 2004) ที่มีการรายงานพบ *D. caudata* มีความชุกชุมสูงในเดือนกันยายนถึงมีนาคมโดยเฉพาะในเดือนกันยายน พฤศจิกายน และธันวาคมซึ่งตรงกับช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและน้ำทะเลมีความเค็มค่อนข้างสูง

ประชากรของ *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 สามารถแบ่งกลุ่มตามลักษณะเซลล์ในวงชีวิตออกเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ เซลล์คู่ขนาดใหญ่ เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และเซลล์คู่ขนาดเล็ก พบว่าประชากร *D. caudata* ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ ยกเว้นต้นเดือนมิถุนายนพบ *D. caudata* ที่เป็นเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 25 ของความหนาแน่นทั้งหมดซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาความหนาแน่นของ *D. caudata* บริเวณชายฝั่งสเปนที่พบเซลล์ขนาดเล็กสูงโดยมีค่าสูงถึงร้อยละ 20 ของความหนาแน่น *D. caudata* ทั้งหมดในช่วงฤดูใบไม้ร่วงเดือนกันยายนและตุลาคม (Reguera *et al.*, 2003; Escalera and Reguera, 2008) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์ทั้ง 4 กลุ่มพบว่าความหนาแน่นของกลุ่มเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กแปรผันไปในทางเดียวกันกับการผันแปรของความเค็ม ($r = 0.656$, $p < 0.05$) และแปรผกผันกับการผันแปรของอุณหภูมิ ($r = -0.707$, $p < 0.05$) ดังรูปที่ 48 ซึ่งคล้ายคลึงกับการศึกษาในไดโนแฟลกเจลเลตชนิดอื่นคือ *Ceratium egyptiacum* ในประเทศอียิปต์ที่พบว่าความยาวของเขา(horn) และความหนาของแผ่นเปลือกแปรผันตามอุณหภูมิ โดยในฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิสูง เซลล์มีขนาดเล็ก เปลือกบางและมี horn ยาว ในขณะที่ในฤดูหนาวที่มีอุณหภูมิต่ำ เซลล์มีขนาดใหญ่ เปลือกหนาและมี horn สั้น (Dowidar, 1972) โดยเซลล์ขนาดเล็กที่พบอาจเป็นเซลล์ในช่วงที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยทำหน้าที่เป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ และในช่วงหลังจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ขนาดปกติโดยจะมีการพัฒนารูปร่างและขนาดไปเป็นเซลล์ขนาดปกติเพื่อทดแทนประชากรในธรรมชาติ (MacKenzie, 1992; Silva and Faust, 1995; Reguera *et al.*, 2007; Escalera and Reguera, 2008)



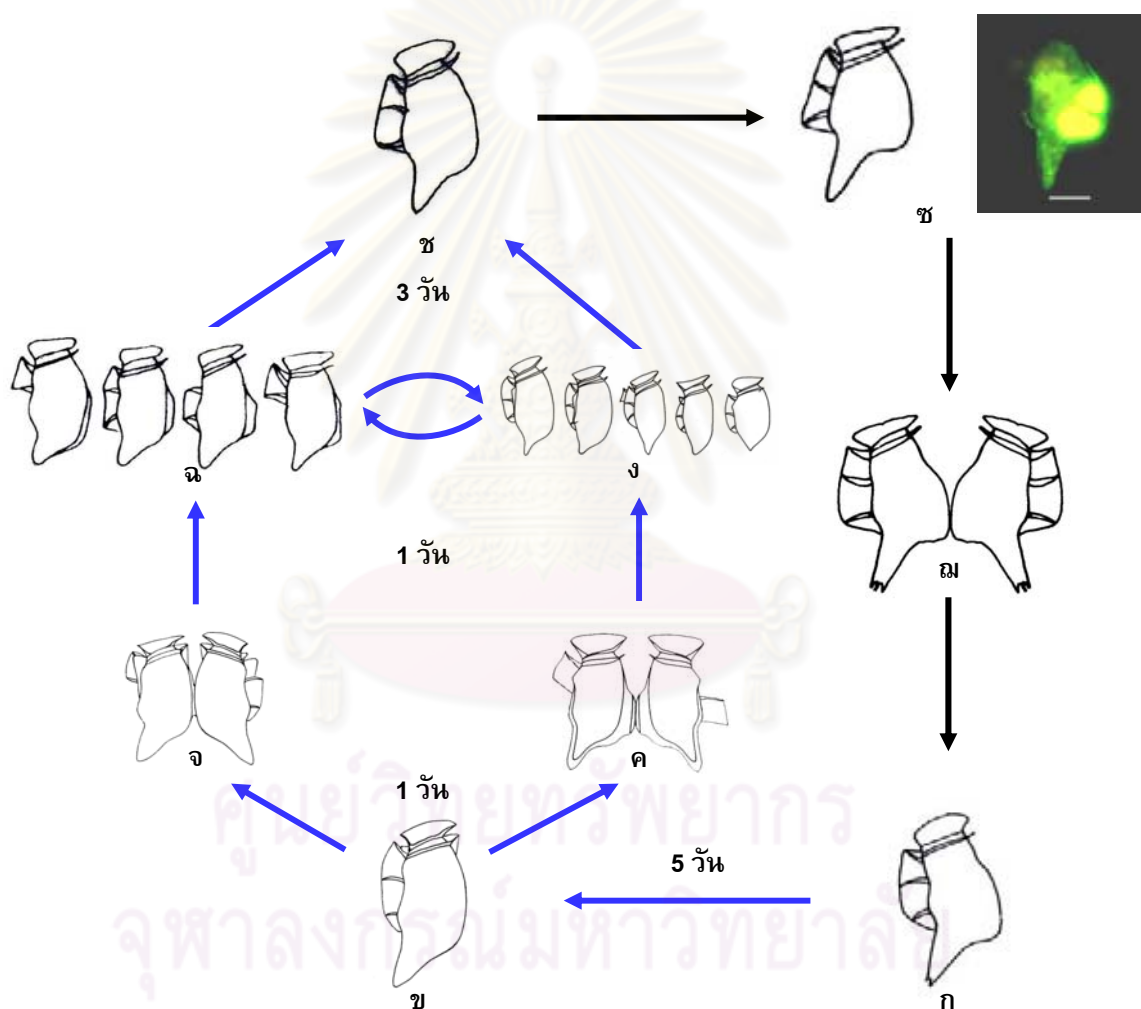
รูปที่ 48 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนาแน่นของเซลล์เดี่ยวขนาดเล็กกับปัจจัยสิ่งแวดล้อม

นิเวศวิทยาของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาคร

การผันแปรของประชากร *D. caudata* ในบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครในรอบปีตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2550 ถึงเดือนพฤษภาคม 2551 พบว่ามีความหนาแน่นเฉลี่ยอยู่ในช่วง $0 - 1.33 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าที่มีการรายงานในอดีตบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครและบริเวณใกล้เคียง (พรศิลป์ ผลพันธ์, 2530; อิทธิภา พรหมทอง และคณะ, 2546; ปิยะรัตน์ เชื้อศรี, 2547; วรญา ไชว์พันธุ์, 2548; อรุณี สมมณี และคณะ, 2548; รวมทรัพย์ ชำนาญธนา, 2549; เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ และคณะ, 2550; ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน, 2552) โดยมีความหนาแน่นสูงสุดในเดือนตุลาคมซึ่งตรงกับช่วงรอยต่อระหว่างฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและฤดูมรสุมตะวันตกเฉียงใต้และเป็นช่วงที่น้ำทะเลมีความเค็มต่ำสุดและสามารถพบ *D. caudata* หนาแน่นในช่วงเวลาเดียวกับที่มีการปรากฏของไดโนแฟลกเจลเลตชนิดอื่นคือ *Ceratium furca* และมีการเพิ่มจำนวนสูงขึ้นภายหลังจากการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มไดอะตอมและไซยาโนแบคทีเรีย

เซลล์ของ *D. caudata* มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันถึง 56 แบบซึ่งมีการดำรงชีพแบบ autotroph ต่างจากการศึกษาอื่นที่พบว่า *D. caudata* มีขนาดใหญ่กว่าและมีการดำรงชีพแบบ mixotroph (Fukuyo *et al.*, 1976; Larsen and Moestrup, 1992; Reguera *et al.*, 2007; Escalera and Reguera, 2008; Nishitani *et al.*, 2008; Park *et al.*, 2008) *D. caudata* สามารถแบ่งตามขนาดออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มเซลล์ขนาดเล็กซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความถี่ในการปรากฏมากที่สุด โดยมีความหนาแน่นสูงในช่วงฤดูหนาวที่มีความเค็มสูงและอุณหภูมิต่ำซึ่งสามารถพบลักษณะผิวเซลล์ได้ถึง 3 แบบ และกลุ่มเซลล์ขนาดใหญ่พบลักษณะผิวเซลล์ได้ 2 แบบซึ่งแบบแรก (E1) เป็นลักษณะประจำชนิด ดังนั้นจากลักษณะการดำรงชีพและลักษณะทางพันธุกรรมแสดงว่าการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *Dinophysis* ชนิดนี้มีสาเหตุมาจากความแตกต่างของระยะต่างๆในวงจรชีวิตที่มีการตอบสนองมาจากการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยสิ่งแวดล้อม เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงประชากรของ *D. caudata* ในรอบปีตามลักษณะเซลล์ในวงจรชีวิตพบว่าการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็ก 2 ช่วงคือ ช่วงแรกเป็นช่วงก่อนการเพิ่มจำนวนของเซลล์ขนาดใหญ่ทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ และช่วงที่สองเป็นช่วงภายหลังที่มีการลดจำนวนของเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ *D. caudata* ในการเลี้ยงที่พบเซลล์ขนาดเล็กในช่วงหลังจากที่มีการเพิ่มจำนวนสูงสุดซึ่งสามารถกล่าวได้ว่าการผันแปรของประชากร *D. caudata* ในธรรมชาติที่พบว่ามีค่าหนาแน่นสูงนั้นเป็นผลมาจากเซลล์ขนาดเล็กทำหน้าที่ในการเพิ่มจำนวนประชากร (MacKenzie, 1992; Silva and Faust, 1995; Reguera *et al.*, 2007; Escalera and Reguera, 2008) การปรากฏของเซลล์ *D. caudata* ที่มีขนาดต่างๆ ทั้งในธรรมชาติและในการเลี้ยงสามารถนำไปเขียนแบบจำลองวงชีวิตของ *D. caudata* ได้ (รูปที่ 49) แบบจำลองวงชีวิตของ *D. caudata* พบทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ที่มี

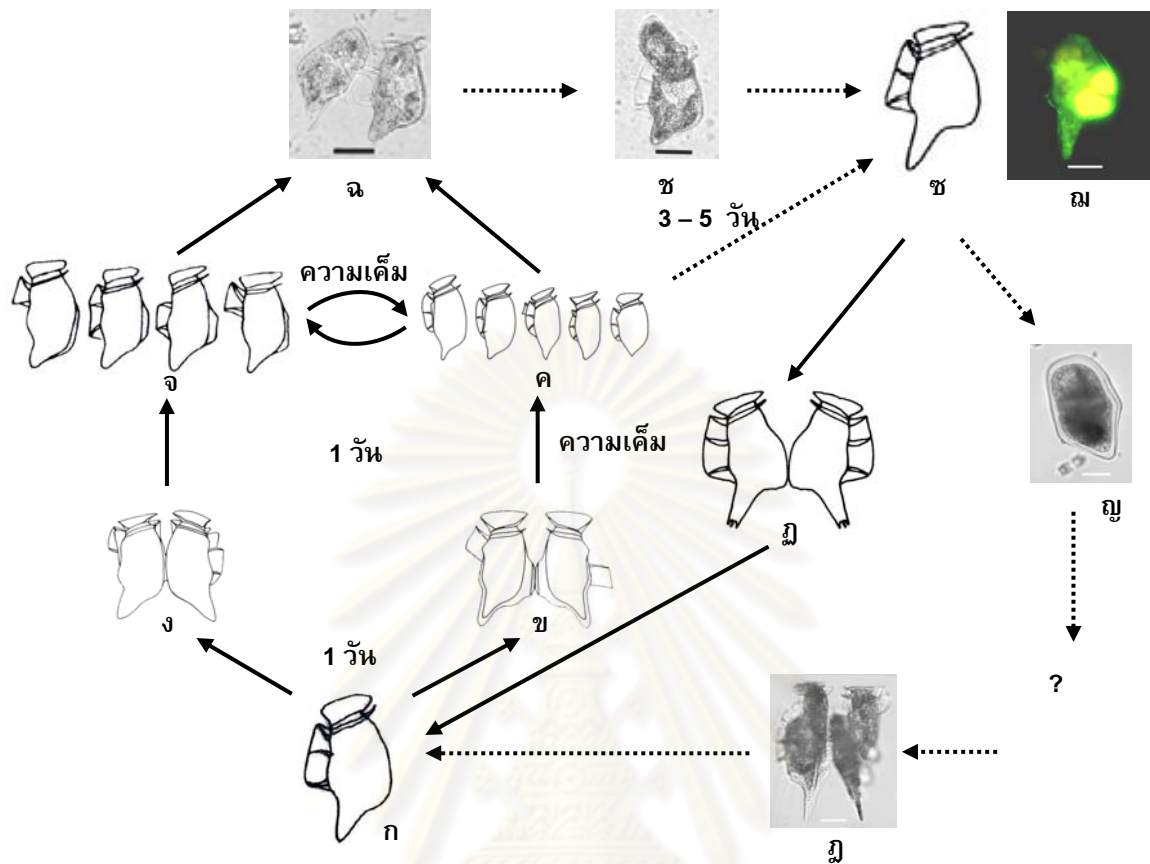
รูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันซึ่งมีการดำรงชีพแบบ autotroph โดยเซลล์ขนาดใหญ่ซึ่งเป็นเซลล์ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ (รูปที่ 49ก) เกิดการแบ่งเซลล์ได้เป็นเซลล์ขนาดใหญ่และเซลล์ขนาดเล็กเมื่อเวลาผ่านไป 7 - 10 วัน และหลังจากนั้น 3 - 5 วันเซลล์ขนาดเล็กเริ่มลดจำนวนลงจนกระทั่งหายไปทำให้พบเฉพาะเซลล์ขนาดใหญ่ แสดงว่าเซลล์ขนาดเล็กอาจมีการพัฒนารูปร่างและขนาดไปเป็นเซลล์ขนาดใหญ่ แต่การศึกษาในครั้งนี้ไม่พบเซลล์ในระยะที่มีการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์ แสดงว่าแบบจำลองวงจรชีวิตที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้พบเฉพาะระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ



รูปที่ 49 แบบจำลองวงจรชีวิตของ *Dinophysis caudata* ในธรรมชาติและจากการเลี้ยง เส้นสีฟ้า แสดงเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยง และเส้นสีดำแสดงเซลล์ที่ได้จากธรรมชาติ, (ก) เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่; (ข) เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่; (ค) เซลล์คู่ขนาดเล็ก; (ง) เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก; (จ) เซลล์คู่ขนาดใหญ่; (ฉ - ช) เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่; (ฌ) เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่ส่วนท้องป่องออกและมีนิวเคลียส 2 อัน; (ก) เซลล์คู่ขนาดใหญ่ (ช: เซลล์ที่ย้อมด้วยสีย้อม Sybr Green I ภายใต้กล้อง Epifluorescence)

วงชีวิตของ *Dinophysis caudata* ในบริเวณบ้านกระเช้าขาว จังหวัดสมุทรสาครที่เสนอนี้ อาจไม่ได้รวมถึงระยะต่างๆครบทุกระยะเนื่องจากช่วงเวลาของการเก็บตัวอย่างที่ห่างกัน 1 เดือน จึงอาจทำให้ไม่พบระยะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แต่จากการศึกษาใน *D. acuminata* โดย Reguera และคณะ (2007) และการศึกษาใน *D. caudata* โดย Escalera และ Reguera (2008) และ Nishitani และคณะ (2008) พบว่ามีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจึงได้นำเอาเซลล์ขนาดต่างๆที่พบในการศึกษาครั้งนี้และการศึกษาอื่นประกอบกับข้อมูลชีวเซลล์และปัจจัยสิ่งแวดล้อมนำมาสร้างแบบจำลองวงชีวิตที่มีความสมบูรณ์มากขึ้น (รูปที่ 50) โดยในระยะที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจะมีการรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์เป็นเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่และขนาดเล็กได้เป็นเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีการปล่อยออกของส่วยท้ายของเซลล์และมีนิวเคลียส 2 อัน จากนั้นอาจมีการแบ่งเซลล์ต่อได้เป็นเซลล์คู่ขนาดใหญ่หรือพัฒนารูปร่างไปเป็นเซลล์ที่คล้าย cyst และเซลล์ทั้งสองส่วนจะมีการพัฒนาไปเป็นเซลล์ขนาดปกติที่สามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ อย่างไรก็ตามเซลล์ขนาดใหญ่และเซลล์ขนาดเล็กอาจไม่เกิดการรวมกันเพื่อสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ แต่อาจมีการพัฒนารูปร่างโดยเฉพาะเซลล์ขนาดเล็กไปเป็นเซลล์ใหญ่เพื่อสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศแทน แบบจำลองวงชีวิตแบบนี้ก็มีบางระยะก็ไม่พบทั้งในการศึกษาครั้งนี้และการศึกษาอื่นทำให้ไม่ทราบว่าเซลล์ในระยะดังกล่าวมีลักษณะอย่างไรจึงได้เว้นเอาไว้ เมื่อพิจารณาแบบจำลองวงชีวิตรวมกับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเซลล์ในรอบปี ทำให้สามารถอธิบายการพบเซลล์แต่ละระยะและการผันแปรความหนาแน่นในธรรมชาติได้ โดยพบว่าประชากรของ *D. caudata* ในธรรมชาติที่พบความหนาแน่นสูงซึ่งมีเซลล์คู่เป็นส่วนใหญ่ น่าจะมาจากการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศโดยเป็นผลมาจากการเพิ่มจำนวนของเซลล์ขนาดเล็กที่ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มและอุณหภูมิ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 50 แบบจำลองวงจรชีวิตของ *Dinophysis caudata* บริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนใน แสดงระยะที่พบในการศึกษาครั้งนี้ (เส้นทึบ) และระยะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่พบในการศึกษาอื่น (เส้นประ); (ก) เซลล์เด็ยว; (ข) เซลล์คู่ขนาดเล็ก; (ค) เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก; (ง) เซลล์คู่ขนาดกลาง; (จ) เซลล์เดี่ยวขนาดกลาง; (ฉ) การเข้าคู่กันของเซลล์สืบพันธุ์; (ช) การรวมกันของเซลล์สืบพันธุ์; (ช - ฉ) planozygote (2n); (ญ) การสร้างเซลล์ที่มีลักษณะคล้าย cyst; (ฎ) การแบ่งเซลล์เป็น 4 เซลล์; (ฏ) เซลล์คู่ขนาดใหญ่; (?) ไม่ทราบลักษณะเซลล์; ฉ-ช: เส้นบอกระยะ 30 ไมโครเมตร; ฉ - ฎ: เส้นบอกระยะ 20 ไมโครเมตร; ฉ - ช มาจาก Nishitani *et al.*, 2008, ญ - ฎ มาจาก Escalera and Reguera, 2008)

แบบจำลองวงชีวิตของ *Dinophysis caudata* ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจติดตามประชากรของ *D. caudata* ในบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครได้ ซึ่งสามารถใช้ในการคาดการณ์ความหนาแน่นของประชากรในธรรมชาติโดยอาศัยระยะเวลาในการปรากฏของเซลล์ขนาดต่างๆ โดยเฉพาะเซลล์ขนาดเล็กที่พบเป็นร้อยละ 25 ของความหนาแน่นทั้งหมด อย่างไรก็ตามการนำแบบจำลองวงชีวิตนี้มาใช้จริงในธรรมชาติต้องมีการพิจารณาปัจจัยสิ่งแวดล้อมร่วมด้วยเนื่องจากในแต่ละบริเวณและแต่ละช่วงเวลามีผลกระทบจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันซึ่งอาจทำให้ระยะเวลาในการปรากฏของเซลล์แต่ละรูปร่างหรือขนาดที่พบอาจแตกต่างกันไป รวมถึงระยะของการสืบพันธุ์ที่อาจพบแบบใดแบบหนึ่งหรือทั้งสองแบบก็ได้ ขณะเดียวกันปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตนี้อาจมีนอกเหนือจากที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ก็ได้เช่น การไหลของกระแสน้ำ ความเป็นกรด-เบส หรือแพลงก์ตอนสัตว์ เป็นต้น ซึ่งหากมีการคำนึงถึงการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวก็จะสามารถนำแบบจำลองนี้ไปประยุกต์ใช้ในการตรวจเฝ้าระวังประชากรของ *D. caudata* ในบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร เพื่อให้มีการจัดการเกี่ยวกับไดโนแฟลกเจลเลตชนิดนี้ได้เหมาะสมทำให้ได้อาหารทะเลที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา

1. การผันแปรของประชากร *Dinophysis caudata* ในรอบปีบริเวณชายฝั่งบ้านกระช้ำขาว จังหวัดสมุทรสาครมีความหนาแน่นเฉลี่ยอยู่ในช่วง $0 - 1.33 \times 10^4$ เซลล์ต่อลิตร (ค่าเฉลี่ย 2.59×10^3 เซลล์ต่อลิตร) โดยเดือนตุลาคมเป็นเดือนที่มีความหนาแน่นสูงที่สุด รองลงมาคือเดือนธันวาคมและกันยายน ตามลำดับ ซึ่งความหนาแน่นของ *D. caudata* แปรตามการผันแปรของความหนาแน่นของไดโนแฟลกเจลเลตชนิด *Ceratium furca* และ *D. caudata* มีความหนาแน่นเพิ่มสูงขึ้นหลังจากการเพิ่มจำนวนของแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมและไซยาโนแบคทีเรีย
2. การผันแปรลักษณะสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ในธรรมชาติพบทั้งสิ้น 56 แบบ โดยมีความกว้างอยู่ในช่วง 13.42 – 35.60 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 21.68 ± 4.22 ไมโครเมตร) และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 29.54 – 76.56 ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 46.03 ± 8.45 ไมโครเมตร) โดยอาจแบ่งกลุ่มตามขนาดเซลล์ได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มเซลล์ขนาดเล็ก (ความกว้างอยู่ในช่วง 13.0 – 24.9 ไมโครเมตร และความยาวอยู่ในช่วง 30.0 – 49.9 ไมโครเมตร) และขนาดใหญ่ (ความกว้างเซลล์อยู่ในช่วง 25.0 – 31.0 ไมโครเมตร และความยาวเซลล์มีค่าอยู่ในช่วง 50.0 – 60.4 ไมโครเมตร) กลุ่มเซลล์ขนาดเล็กซึ่งมีการผันแปรของผิวเซลล์ได้ 3 แบบนั้นเป็นกลุ่มที่พบได้บ่อย ส่วนเซลล์ขนาดใหญ่พบผิวเซลล์ได้ 2 แบบรวมทั้งแบบที่เป็นลักษณะประจำชนิด ลักษณะทางพันธุกรรมและการย้อมสีเซลล์เพื่อศึกษาการดำรงชีพแสดงว่าเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดต่างกันเป็นชนิดเดียวกันและมีการดำรงชีพแบบ autotroph แสดงว่าการผันแปรทางสัณฐานวิทยาของ *D. caudata* ไม่ได้มีสาเหตุมาจากลักษณะทางพันธุกรรมและการดำรงชีพ แต่ น่าจะเป็นผลมาจากช่วงเวลาต่างๆในวงจรชีวิตและปัจจัยสิ่งแวดล้อม
3. องค์ประกอบขนาดเซลล์ของประชากร *D. caudata* ในธรรมชาติพบว่าประกอบด้วยเซลล์ 4 กลุ่มตามช่วงเวลาในวงจรชีวิตได้แก่ เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ เซลล์คู่ขนาดใหญ่ เซลล์เดี่ยวขนาดเล็ก และเซลล์คู่ขนาดเล็ก โดยเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่เป็นเซลล์ที่พบได้ในทุกเดือนที่ทำการศึกษา เซลล์คู่ขนาดใหญ่พบว่ามีสัดส่วนสูงในเดือนตุลาคมซึ่งเป็นเดือนที่ *D. caudata* มีความหนาแน่นสูงที่สุด ในขณะที่พบเซลล์ขนาดเล็กทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ในความหนาแน่นสูงในช่วงฤดูหนาวที่มีความเค็มสูงและอุณหภูมิต่ำ โดยเซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่สามารถพบได้ 2 ลักษณะคือ

เซลล์เดี่ยวขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียส 1 อันและเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีนิวเคลียส 2 อันซึ่งมีการป้องกันของส่วนท้ายเซลล์แสดงถึงระยะภายหลังจากการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ

4. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบขนาดเซลล์ของ *Dinophysis caudata* จากการเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนไนโตรเจนต่อฟอสฟอรัส 12:1 (เป็นค่าที่สูงกว่าอัตราส่วนที่พบในธรรมชาติ) ซึ่งมีอัตราการเติบโต 0.05 ต่อวันพบว่าองค์ประกอบประชากร *D. caudata* ขนาดใหญ่จากระยะเริ่มต้นนั้นมีการปรากฏของเซลล์ขนาดเล็กเมื่อเวลาผ่านไป 5 วันและหลังจากนั้นอีก 7 วันซึ่งเป็นช่วงที่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงสุดและหายไปเมื่อเวลาผ่านไป 10 วัน ซึ่งเซลล์ขนาดเล็กเป็นผลมาจากการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศและสามารถเพิ่มจำนวนประชากรในธรรมชาติทั้งการเป็นเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ในการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศและการพัฒนารูปร่างและขนาดไปเป็นเซลล์ปกติในการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

5. วงชีวิตของ *D. caudata* บริเวณบ้านกระช้ำชาวจังหวัดสมุทรสาครพบว่าประชากรประกอบด้วยเซลล์ที่มีรูปร่างได้หลายแบบ โดยเซลล์ขนาดใหญ่ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถพบได้บ่อยนั้นมีความชุกชุมสูงในช่วงหลังจากที่มีความเค็มต่ำและเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความเค็มทำให้เริ่มพบเซลล์ขนาดเล็กพร้อมด้วยแสดงว่าเป็นช่วงที่มีการเพิ่มจำนวนของประชากรโดยการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จากนั้นจึงพบเซลล์ขนาดใหญ่ขึ้นทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่ ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศทำให้พบว่ามีจำนวนจนมีความหนาแน่นสูงสุด

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการผันแปรทางสัณฐานวิทยาควรมีการศึกษาในแพลงก์ตอนพืชชนิดอื่นโดยเฉพาะกลุ่มที่ก่อให้เกิดอันตรายทั้งกลุ่มที่เป็นสาเหตุของการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีและกลุ่มที่สามารถสร้างสารพิษได้เพื่อให้การจำแนกชนิดแพลงก์ตอนพืชในกลุ่มนี้มีความถูกต้องมากขึ้น
2. ควรมีการศึกษาด้านพิษวิทยาของ *Dinophysis caudata* ที่มีรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันว่ามีความสามารถในการสร้างพิษที่เหมือนหรือต่างกันหรือไม่ หากมีความสามารถในการสร้างพิษที่แตกต่างกันก็สามารถนำเซลล์ที่มีรูปร่างและขนาดดังกล่าวมาใช้ในการคาดการณ์ประชากรของ *D. caudata* ในธรรมชาติโดยเฉพาะในช่วงที่พบ *D. caudata* มีความหนาแน่นสูงซึ่งเสี่ยงต่อการสะสมพิษในหอยสองฝาเพื่อให้การตรวจเฝ้าระวังและลดผลกระทบเนื่องจาก *D. caudata* บริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาครมีประสิทธิภาพมากขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรมควบคุมมลพิษ. 2547. รายงานสถานการณ์คุณภาพสิ่งแวดล้อมทางทะเล จังหวัดสมุทรสาคร. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพมหานคร. 42 หน้า.
- ณัฐจารีรัตน์ ปภาวสิทธิ์ และคณะ. 2549. สถานภาพและแนวทางการจัดการทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตก. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กรุงเทพมหานคร.
- ทวีศักดิ์ ปียากัญจน์ สุขนา วิเศษสังข์ Massaki Kodama Yasuwo Fukuyo Takashi Ishimaru และ Tachchiko Ogata. 2530. การแพร่กระจายบริเวณชายฝั่งน่านน้ำไทยของแพลงก์ตอนไดโนแฟลกเจลเลตที่เป็นสาเหตุของพิษในหอย. การสัมมนาครั้งที่ 4 การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย. หน้า 180 – 196. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ณ จังหวัดสุราษฎร์ธานี.
- ทิพวรรณ แซ่มา. 2549. แพลงก์ตอนพืชชั้น DINOPHYCEAE ที่ก่อให้เกิดปรากฏการณ์น้ำเปลี่ยนสีในพื้นที่อ่าวไทยตอนใน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 3 / 2549. ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน. 21 หน้า.
- ปียรรัตน์ เช้าชี่. 2547. ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียกับชุมชนแพลงก์ตอนพืชที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีบริเวณชายฝั่งทะเลบางพระ จังหวัดชลบุรี. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พรศิลป์ ผลพันธ์. 2530. อนุกรมวิธานและการกระจายของไดโนแฟลกเจลเลตในครอบครัว Dinophysiaceae, Gonyaulacaceae และ Peridiniceae ในอ่าวไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ ชลธยา ทรงรูป นิรุชา มงคลแสงสุรีย์ อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และณัฐจารีรัตน์ ปภาวสิทธิ์. 2550. ไดโนแฟลกเจลเลตที่อาจก่อให้เกิดอันตรายบริเวณอ่าวไทยตอนในฝั่งตะวันตก. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์ (Section T) 6(1): 65 – 74.
- รวมทรัพย์ ชำนาญธนา. 2549. แพลงก์ตอนพืชที่ทำให้เกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2549. สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเล ชายฝั่งทะเล และป่าชายเลน. 89 หน้า.
- ลัดดา วงศ์รัตน์. 2546. แพลงก์ตอนพืช. กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 851 หน้า.

- วรรณ ไขว์พันธ์. 2548. ความหลากหลายและความชุกชุมของแพลงก์ตอนพีชีขนาดไมโครแพลงก์ตอนบริเวณปากแม่น้ำบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา. วิทยานิพนธ์ปริญญา มหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย.
- ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน. 2551. รายงานการเกิดปรากฏการณ์ น้ำทะเลเปลี่ยนสีบริเวณชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน ช่วงปี พ.ศ. 2550 – 2551. (ออนไลน์). แหล่งที่มา: http://www.mcrc.thachin.com/Report_page/Redtide.htm (2552, กันยายน 23)
- สถาบันวิจัยทรัพยากรทางน้ำ. 2546. การตรวจเฝ้าระวังปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีในประเทศไทย. ส่วนแหล่งน้ำทะเล สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กรุงเทพมหานคร. 213 หน้า.
- สุทธิชัย เตมียวนิชย์. 2527ก. สาเหตุและผลกระทบของปรากฏการณ์ซีปลาวาพ (RED TIDE) ที่เกิดในอ่าวไทยตอนใน. การสัมมนาครั้งที่ 3 การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย. หน้า 481 – 486. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- สุทธิชัย เตมียวนิชย์. 2527ข. หอยสีเลือดอันเนื่องมาจากปรากฏการณ์ซีปลาวาพ (RED TIDE). การสัมมนาครั้งที่ 3 การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย. หน้า 487 – 489. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัย ศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- สุนีย์ สุวภีพันธ์. 2525. น้ำเปลี่ยนสีบริเวณชายฝั่งทะเลของอ่าวไทย. รายงานวิชาการที่ สจ/24/18. งานสถานีวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง กรุงเทพมหานคร. 23 หน้า.
- สุนีย์ สุวภีพันธ์. 2528. น้ำเปลี่ยนสีกับการประมงของไทย. รายงานวิชาการที่ สจ/ 27/ 7. งานสถานีวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง กรุงเทพมหานคร. 19 หน้า.
- หมั่น โพธิ์วิจิตร และอัจฉรา มโนเวชพันธ์. 2527. แพลงก์ตอนพีชีบริเวณชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย. การสัมมนาครั้งที่ 3 การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย. หน้า 1 – 23. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน.
- อรุณี สมมณี สาโรจน์ เกรียงศักดิ์ชาย ปทุมพร เมืองพระ และสุรียัน ัญญกิจจานุกิจ. 2548. ปริมาณและความหลากหลายของแพลงก์ตอนพีชีกลุ่มไดโนแฟลกเจลเลตบริเวณอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี. วารสารการประมง 58(2): 151 – 158.
- อิชฌิกา พรหมทอง อัจฉราภรณ์ เปี่ยมสมบูรณ์ และณัฐวรรธน์ ปภาวสิทธิ์. 2546. ความหลากหลายของแพลงก์ตอนพีชีในบริเวณปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร. ใน อิชฌิกา พรหมทอง ศิริมาศ สุขประเสริฐ นิรุชชา มงคลแสงสุรีย์ และพรเทพ พรณรัักษ์

(คณะบรรณาธิการ) รวมบทความทางวิชาการ "แพลงก์ตอนพืชและสาหร่ายขนาดเล็ก" ปี พ.ศ. 2540 – 2545. หน้า 63 – 73. หน่วยปฏิบัติการณิเวศวิทยาทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Balech, E. 1976. Notas sobre el genero *DINOPHYSIS* (DINOFLAGELLATA). Physis B. Aires (A) 35(91): 183 – 193.
- Balech, E. 1998. Los Dinoflagellados Del Atlantico Sudoccidental. Especiales Instituto Español De Oceanografia. Madrid
- Berland, B.R., Maestrini, S.Y. and Grzebyk, D. 1995. Observations on possible life cycle stages of the dinoflagellates *Dinophysis* cf. *acuminata*, *Dinophysis acuta* and *Dinophysis pavillardii*. Aquatic Microbial Ecology 9: 183 – 189.
- Carvalho, W., Minnhagen, S. and Granéli, E. 2008. *Dinophysis norvegica* (Dinophyceae), more a predator than a producer?. Harmful Algae 7: 174 – 183.
- Córdova, J.L. and Müller, I. 2002. Use of PCR and partial sequencing of the large-subunit rRNA gene to identify *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) from the South of Chile. Harmful Algae 1: 343 – 350.
- Culverhouse, P.F., Williams, R., Reguera, B., Herry, V. and González-Gil, S. 2003. Do expert make mistake? A comparison of human and machine identification of dinoflagellate. Marine Ecology Progress Series 247: 17 - 25.
- Delmas, D., Herbland, A. and Maestrini, S.Y. 1992. Environmental conditions which lead to increase in cell density of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* spp. in nutrient-rich and nutrient poor waters of the French Atlantic coast. Marine Ecology Progress Series 89: 53 - 61.
- Delmas D., Herbland, A. and Maestrini, S. 1993. Do *Dinophysis* spp. come from the open sea" along the French Atlantic coast?. In Smayda, T.J. and Shimizu, Y. (eds.), Proceedings of the Fifth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton: Toxic Phytoplankton Bloom in the Sea, pp. 489 – 494. The Netherlands: Elsevier Science Publishers.
- Dowidar, N.M. 1972. Morphological variations in *Ceratium egyptiacum* in different natural habitats. Marine Biology 6: 138 – 149.

- Edvardsen, B., Shalchian-Tabrizi, K., Jakobsen, K.S., Medlin, L.K, Dahl, E., Brubak, S. and Paasche, E. 2003. Genetic variability and molecular phylogeny of *Dinophysis* species (DINOPHYCEAE) from Norwegian waters inferred from single cell analyses of rDNA. Journal of Phycology 39: 395 – 408.
- Escalera, L., Pazos, Y., Moroño, A. and Reguera, B. 2007. *Noctiluca scintillans* may act as a vector of toxigenic microalgae. Harmful Algae 6: 317 – 320.
- Escalera, L. and Reguera, B. 2008. Planozygote division and other observations on the sexual cycle of several species of *Dinophysis* (Dinophyceae, Dinophysiales). Journal of Phycology 44: 1425 – 1436.
- France, J. and Mozetič, P. 2006. Ecological characterization of toxic phytoplankton species (*Dinophysis* spp., Dinophyceae) in Slovenian mariculture areas (Gulf of Trieste, Adriatic Sea) and the implications for monitoring. Marine Pollution Bulletin 52: 1504 – 1516.
- Fukuyo, Y., Sako, Y., Matsuoko, K., Imai, I., Takahashi, M.M. and Watanabe, M. 1976. Biological character of Red – Tide organisms. In Okaichi, T. (ed.), Red Tides, pp. 61 – 178. Tokyo: Terra Scientific Publishing Company.
- Furuya *et al.* 2006. Persistent whole-bay red tide of *Noctiluca scintillans* in Manila Bay, Philippines. Coastal Marine Science 30(1): 74 – 79.
- Garcés, E., Delgado, M. and Camp, J. 1997. Phased cell division in natural population of *Dinophysis sacculus* and the *in situ* measurement of potential growth rate. Journal of Plankton Research 19: 2067 – 2077.
- Gisselson, L., Carlsson, P., Granéli, E. and Pallon, J. 2002. *Dinophysis* blooms in the deep euphotic zone of the Baltic Sea: do they grow in the dark?. Harmful Algae 1: 401 – 418.
- Godhe, A., Anderson, D.M. and Rehnstam-Holm, A. 2002. PCR amplification of microalgal DNA for sequencing and species identification: studies on fixatives and algal growth stages. Harmful Algae 1: 375 – 382.
- Gómez, F. 2005. A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. Acta Bot. Croat. 64 (1): 129 – 212.
- Grason, E. and Maranda, L. 2002. An exploration of mixotrophy in *Dinophysis acuminata*. In Summer Undergraduate Research Fellowship Program in Oceanography, pp. 33 - 38. THE UNIVERSITY OF RHODE ISLAND.

- Granéli *et al.* 1995. Nutrition, growth rate and sensibility to grazing for the dinoflagellates *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* and *D. norvegica*. La mer 33: 149 – 156.
- Guillard, R.R.L. 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In Smith, W.L. and Chanley, M.H. (eds.), Culture of Marine Invertebrate Animals, pp. 26 – 60. New York: Plenum Press.
- Guilloua, L., Nézanb, E., Cueffa, V., Dennc, E.E., Cambon-Bonavitaa, M., Gentiend, P. and Barbiera, G. 2002. Genetic diversity and molecular detection of three toxic dinoflagellate Genera (*Alexandrium*, *Dinophysis*, and *Karenia*) from French Coasts. Protist 153: 223 – 238.
- Hallegraeff, G.M. and Lucas, I.A.N. 1988. The marine dinoflagellate genus *Dinophysis* (Dinophyceae): photosynthetic, neritic and non-photosynthetic, oceanic species. Phycologia 27: 25 – 42.
- Handy, S.M., Bachvaroff, T.R., Timme, R.E., Coats, D.W., Kim, S. and Delwiche, C.F. 2009. Phylogeny of four dinophysiacean genera (Dinophyceae, Dinophysiales) on rDNA sequences from single cells and environmental samples. Journal of Phycology 43: 1163 – 1174.
- Hansen, P.J. 1991. *Dinophysis* – a planktonic dinoflagellate genus which can act both as a prey and a predator of a ciliate. Marine Ecology Progress Series 69: 201 – 204.
- Hansen, G., Daugbjerg, N. and 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: 317 – 335.
- Hart, M.C., Green, D.H., Bresnan, E. and Bolch C.J. 2007. Large subunit ribosomal RNA gene variation and sequence heterogeneity of *Dinophysis* (Dinophyceae) species from Scottish coastal waters. Harmful Algae 6 : 271 – 287.
- Jansen, S., Riser, C.W., Wassmann, P. and Bathmann, U. 2006. Copepod feeding behaviour and egg production during a dinoflagellate bloom in the North Sea. Harmful Algae 5: 102 – 112.
- Jensen, M.H. 2008. Molecular Phylogeny and Evolutionary History of Selected Members of Dinophysiales (Dinophyceae) from the Indian Ocean – a study based on LSU rDNA sequences and light microscopy. Master Thesis of University of Copenhagen, Canada. 80 p.

- Jensen, M.H. and Daugbjerg, N. 2009. Molecular phylogeny of selected species of the Order Dinophysiales (Dinophyceae) – testing hypothesis of a dinophysoid radiation. Journal of Phycology 45: 1136 – 1152.
- Koike, K., Koike, K., Takagi, M., Ogata, T. and Ishimaru, T. 2000. Evidence of phagotrophy in *Dinophysis fortii* (Dinophysiales, Dinophyceae), a dinoflagellate that causes diarrhetic shellfish poisoning (DSP). Phycological Research 48: 121 – 124.
- Koike, K., Nishiyama, A., Saitoh, K., Imai, K., Koike, K., Kobiyama, A. and Ogata, T. 2006. Mechanism of gamete fusion in *Dinophysis fortii* (Dinophyceae, Dinophyta): light microscopic and ultrastructural observations. Journal of Phycology 42: 1247 – 1256.
- Kozłowsky-Suzuki, B., Carlsson, P., Rühl, A. and Granéli, E. 2006. Food selectivity and grazing impact on toxic *Dinophysis* spp. by copepods feeding on natural plankton assemblages. Harmful Algae 5: 57 – 68.
- Larsen, J. and Moestrup, Ø. 1992. Potentially toxic phytoplankton. 2. Genus *Dinophysis* (Dinophyceae). In Lindley, J.A. (ed.), ICES Identification Leaflets for Plankton 180, pp. 1 – 12. Denmark: International Council for the Exploration of the Sea, Copenhagen.
- Larsen, J. and Nguyen, N.L. 2004. OPERA OF BOTANICA 140: Potentially toxic microalgae of Vietnamese water, pp. 78 – 108. Denmark: Grafisk Data Center AIS.
- Lilly, E.L., Halaných, K.M. and Anderson, D.M. 2005. Phylogeny, biogeography, and species boundaries within the *Alexandrium minutum* group. Harmful Algae 4: 1004 – 1020.
- MacKenzie, L. 1992. Does *Dinophysis* (Dinophyceae) have a sexual life cycle?. Journal of Phycology 28: 399 – 406.
- MacKenzie, L., Miguel de Salas, de M., Adamson, J. and Beuzenberg, V. 2004. The dinoflagellate genus *Alexandrium* (Halim) in New Zealand coastal waters: comparative morphology, toxicity and molecular genetics. Harmful Algae 3: 71 – 92.
- Maneiro, I., Guisande, C., Frangópulos, M. and Riveiro, I. 2002. Importance of copepod faecal pellets to the fate of the DSP toxins produced by *Dinophysis* spp. Harmful Algae 1: 333 – 341.

- McDonald, S.M., Sarno, D. and Zingone, A. 2007. Identifying *Pseudo-nitzschia* species in natural samples using genus-specific PCR primers and clone libraries. Harmful Algae 6: 849 – 860.
- Minnhagen, S., Carvalho, W.F., Salomon, P.S. and Jason, S. 2008. Chloroplast DNA content in *Dinophysis* (Dinophyceae) from different cell cycle stage is consistent with kleptoplasty. Environmental Microbiology 10(9): 2411 – 2417.
- Moita, M.T. and Sampayo, M.A. de M. 1993. Are there cysts in the genus *Dinophysis*?. In Smayda, T. J. and Shimizu, Y.(eds.), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. pp. 153 – 157. Elsevier Science Publishers B. V.
- Müller-Niklas, G. and Herndl, G.J. 1996. Dynamics of bacterioplankton during a phytoplankton bloom in the high Arctic waters of the Franz-Joseph Land archipelago. Aquatic Microbial Ecology 11: 111 – 118.
- Murray, S., Jørgensen, G.F., Ho, S.Y.W., Patterson, D.J. and Jermiin, L.S. 2005. Improving the Analysis of Dinoflagellate Phylogeny based on rDNA. Protist 156: 269 — 286.
- Nishitani, G., Sugioka, H. and Imai, I. 2002. Seasonal distribution of species of the toxic dinoflagellate genus *Dinophysis* in Maizuru Bay (Japan), with comments on their autofluorescence and attachment of picophytoplankton. Harmful Algae 1: 253 – 264.
- Nishitani, G., Miyamura, K. and Imai, I. 2003. Trying to cultivation of *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) and the appearance of small cells. Plankton Biology and Ecology 50(2): 31 – 36.
- Nishitani, G., Yamaguchi, M., Ishikawa, A., Yanagiya, S., Mitsuya, T. and Imai, I. 2005. Relationships between occurrences of toxic *Dinophysis* species (Dinophyceae) and small phytoplanktons in Japanese coastal waters. Harmful Algae 4: 755 – 762.
- Nishitani, G., Nagai, S., Sakiyama, S. and Kamiyama, T. 2008. Successful cultivation of the toxic dinoflagellate *Dinophysis caudata* (Dinophyceae). Plankton Benthos Research 3(2): 78 – 85.
- Norris, D.R. and Berner, Jr. L.D. 1970. Thecal morphology of selected species of *Dinophysis* (Dinoflagellata) from the Gulf of Mexico. Contributions in Marine Science 15: 145 - 192.

- Okaichi, T., Honjo, T., Fukuyo, Y., Matsuyama, Y. and Uchida, T. 1976. Red – Tides species and the environmental conditions. In Okaichi, T. (ed.), Red Tides, pp. 323 – 393. Tokyo: Terra Scientific Publishing Company.
- Paerl, H.W. 1997. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: Importance of atmospheric deposition and groundwater as "new" nitrogen and other nutrient sources. Limnology and Oceanography 42(5, part 2): 1154 – 1165.
- Park, M.G., Kim, S., Kim, H.S., Myung, G., Kang, Y.G. and Yih, W. 2006. First successful of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. Aquatic Microbial Ecology 45: 101 – 106.
- Park, M.G., Park, J.S., Kim, M. and Yih, W. 2008. Plastid dynamic during survival of *Dinophysis caudata* without its ciliate prey. Journal of Phycology 44: 1154 – 1163.
- Parsons, T. R., Maita, Y. and Lalli, C. M. 1984. A Practical Handbook of Seawater Analysis. Oxford: Pergamon Press.
- Pfiester, L.A. and Anderson, D.M. 1987. Dinoflagellate Reproduction. In Taylor, F.J.R. (ed.), The Biology of Dinoflagellates, pp. 611 - 645. Blackwell Scientific Publications.
- Pitcher, G.C., Cembella, A.D., Joyce, L.B., Larsen, J., Probyn, T.A. and Sebastian, C.R. 2007. The dinoflagellate *Alexandrium minutum* in Cape Town harbour (South Africa): Bloom characteristics, phylogenetic analysis and toxin composition. Harmful Algae 6: 823 – 836.
- Raho, N., Pizarro, G., Escalera, L., Reguera, B. and Marin, I. 2008. Morphology, toxin composition and molecular analysis of *Dinophysis ovum* Schütt, a dinoflagellate of the "*Dinophysis acuminata* complex". Harmful Algae 7: 839 - 848.
- Rao, D.V.S. 1995. Life cycle and reproduction of the dinoflagellate *Dinophysis norvegica*. Aquatic Microbial Ecology 9: 199 – 201.
- Reguera, B., Bravo, I., McCall, H. and Reyero, M.I. 1996. Phased cell division and other biological observations in field populations of *Dinophysis* spp. during cell cycle studies. In Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y (eds), Harmful and Toxic Algal Blooms, pp. 257 – 260. Paris: IOC of UNESCO.
- Reguera B., Gonzalez-Gil S., Williams R., Fonda S. and Cabrini M. 2000. The Genus Dinophysis. DiCANN: A description of Species Vol. 2.

- Reguera, B. 2001. Small cells in *Dinophysis* spp.: a life strategy for phytoplankters with a holoplanktonic way of living?. In Garcés, E., Zingone, A., Monstesor, M., Reguera, B. and Dale, B. (eds.), Life History of Microalgae Species Causing Harmful Blooms, pp. 60 – 63. Spain.
- Reguera, B. and González-Gil, S. 2001. Small cell and intermediate cell formation in species of *Dinophysis* (Dinophyceae, Dinophysiales) Spain. Journal of Phycology 37: 318 – 333.
- Reguera, B., Garcés, E., Pazos, Y., Bravo, I., Ramilo, L. and Gonzalez-Gil S. 2003. Cell cycle patterns and estimates of *in situ* division rates of dinoflagellates of genus *Dinophysis* by a postmitotic index. Marine Ecology Progress Series 249: 117 – 131.
- Reguera, B., González-Gil, S. and Delgado, M. 2007. *Dinophysis diegensis* is a life history stage of *Dinophysis caudata* (Dinophyceae, Dinophysiales) Spain. Journal of Phycology 43: 1083 – 1093.
- Schollin, C.A., Herzog, M., Sogin, M. and Anderson, D.M. 1994. Identification of group- and strain-specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene. Journal of Phycology 30: 999 – 1011.
- Setälä, O., Autio, R., Kuosa, H., Rintala, J. and Ylöstalo, P. 2005. Survival and photosynthetic activity of different *Dinophysis acuminata* populations in the northern Baltic Sea. Harmful Algae 4: 337 – 350.
- Sidari, L., Cok, S., Cabrini, M., Tubaro, A. and Honsell, G. 1995. Temporal distribution of toxic phytoplankton in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) in 1991 and 1992. In Lassus, P., Arzul, G., Erard, E., Gentien, P. and Marcaillou, C. (eds.), Proceeding of the Sixth International Conference on Toxic Marine Phytoplankton: Harmful Marine Algae Blooms, pp. 231 - 236. France: Lavoisier Publishing Inc.
- Silva, E.S. and Faust, M.A. 1995. Small cells in the life history of dinoflagellates (Dinophyceae): a review. Phycologia 34(5): 396 – 408.
- Sonnenberg, R., Nolte, A.W. and Tautz, D. 2007. An evaluation of LSU rDNA D1 - D2 sequences for their use in species identification. Frontiers in Zoology 4(6): 1 - 12.
- Sparmann, S.F., Leander, B.S. and Hoppenrath, M. 2008. Comparative Morphology and Molecular Phylogeny of *Apicoporus* n. Gen.: A new genus of marine benthic dinoflagellates formerly classified within *Amphidinium*. Protist 159: 383 - 399.

- Steidinger, K.A. and Tangen, K. 1997. Dinoflagellates. In Tomas, C.R. (ed.), Identifying Marine Phytoplankton, pp. 387 – 584. San Diego: Academic Press.
- Stoecker, D., Tillmann, U. and Granéli, E. 2006. Phagotrophy in Harmful Algae. In Granéli, E. and Turner, T. (eds.) Ecology of Harmful Algae, pp. 177 – 187. Ecological studies vol. 189. Heidenberg: Springer – Verlag Berlin.
- Syvertsen, E.E. and Halse, G.R. 1997. Diatoms. In Tomas, C.R. (ed.), Identifying Marine Phytoplankton, pp. 1 - 386. San Diego: Academic Press.
- Taylor, F.J.R. 1976. Dinoflagellates from the International Indian Ocean Expedition. Germany.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. and Higgins, D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research 24: 4876 – 4882.
- Thronson, J. 1995. Estimating cell numbers. In Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M. and Cembella, A.D. (eds) Manual on Harmful Marine Microalgae. pp. 72 – 79. France: UNESCO.
- Truby, E.W. 1997. Preparation of single-celled marine dinoflagellates for electron microscopy. Microscopy Research and Technique 36: 337 – 340.
- Vítová, M., Hendrychová, J., Cepák, V. and Zachleder, V. 2005. Visualization of DNA-containing structures in various species of *Chlorophyta*, *Rhodophyta* and *Cyanophyta* using SYBR Green I dye. Journal of Folia Microbiology 50(4): 333 – 340.
- Wood, M., Everroad, R.C. and Wingard, L.M. 2005. Measuring growth rates in microalgae cultures. In Andersen, R.A. (ed.) Algae Culturing Techniques, pp. 269 - 283. San Diego: Academic Press.
- Zingone, A, Montresor, M. and Marino, D. 1998. Morphological variability of the potentially toxic dinoflagellate *Dinophysis sacculus* (Dinophyceae) and its taxonomic relationship with *D. pavillardii* and *D. acuminata*. European Journal of Phycology 33: 259 - 273.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อักษรย่อที่ใช้ในการศึกษา

DSP toxin	=	Diarrhetic Shellfish Poisoning
RSL	=	Right sulcus list
LSL	=	Left sulcus list
AP	=	Antapical projection
LSU rDNA	=	Large Subunit Ribosomal Deoxyribonucleic Acid
SSU rDNA	=	Small Subunit Ribosomal Deoxyribonucleic Acid
ITS	=	Internal transcribes spacers
mtDNA	=	Mitochondrial Deoxyribonucleic Acid
PCR	=	Polymerase Chain Reaction หรือ ปฏิกิริยาลูกโซ่
EDTA	=	Ethylenediaminetetraacetic acid
TE buffer	=	Tris / EDTA buffer
TBE buffer	=	Tris / borate / EDTA buffer
KCl	=	Potassium chloride
MgCl ₂	=	Magnesium chloride
dNTP	=	Deoxynucleoside triphosphate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

1. EDTA pH 8.0

$\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$

H_2O

ปรับ pH ด้วย 10M NaOH

2. TE buffer

1M Tris, pH 7.4, 7.6, 8.0

0.5M EDTA pH 8.0

H_2O

3. TBE Electrophoresis Buffer

Tris base

Boric acid

0.5M EDTA pH 8.0

H_2O

4. Ethidium bromide electrophoresis gel stain

Ethidium bromide

H_2O

5. Loading dye (standard strain orange G, 40% w/w)

10mM Tris-HCl, pH 7.6

0.15% orange G

0.03% xylene cyanol FF

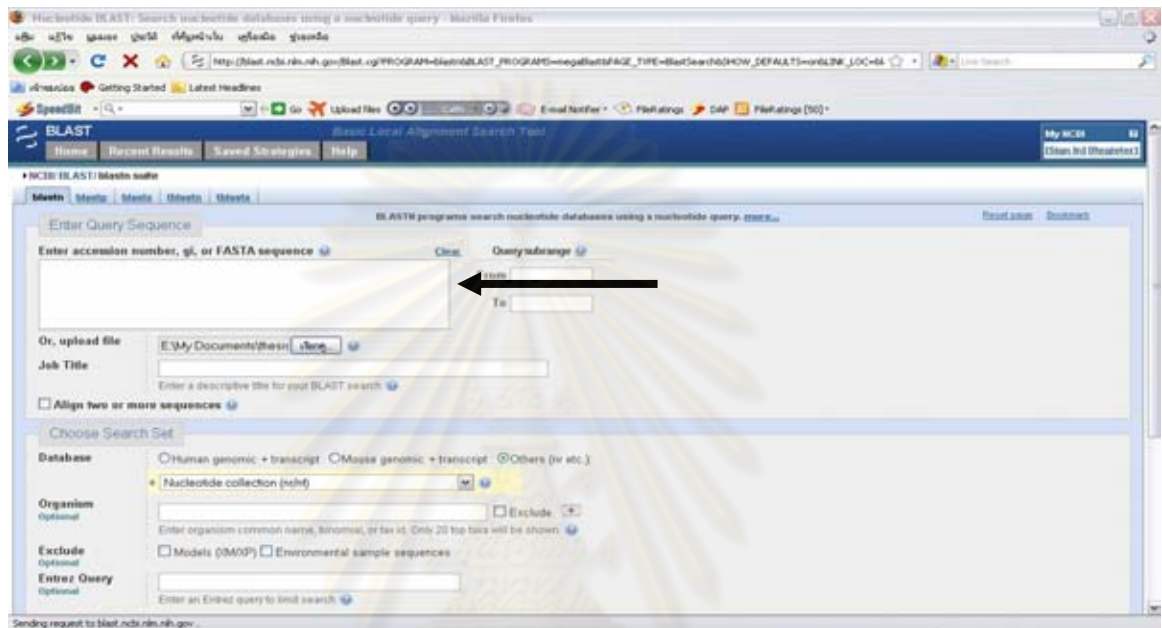
60% Glycerol

60mM EDTA

ภาคผนวก ก ขั้นตอนในการตรวจสอบความถูกต้องของลำดับเบสด้วยวิธี Blast ผ่านเว็บไซต์

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

- นำลำดับเบสที่ได้ทำการตัดด้วยโปรแกรม Bio Edit เรียบร้อยแล้วมาป้อนลงในหน้าต่างของเว็บไซต์ พร้อมทั้งกรอกรายละเอียดเพื่อใช้ในการเทียบกับฐานข้อมูล



- จากนั้นทำการ Blast จะมีการปรากฏของหน้าต่างใหม่ซึ่งจะมีรายละเอียดของชนิดของสิ่งมีชีวิตที่มีลำดับเบสตรงกับลำดับเบสของตัวอย่างที่ได้กรอกในขั้นตอนที่แล้ว

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident	Links
EU720642.1	Dinophysis caudata isolate FTL93 small subunit ribosomal RNA gene, par	802	807	100%	0.0	99%	
EU720643.1	Dinophysis caudata isolate CBC4L8 small subunit ribosomal RNA gene, f	802	807	100%	0.0	99%	
AY040384.1	Dinophysis caudata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S rbo	802	807	100%	0.0	99%	
F0477281.1	Dinophysis cf. acuminata strain CBC4-L10 18S small subunit ribosomal i	803	803	100%	0.0	99%	
EU720640.1	Dinophysis cf. acuminata isolate CBC4L3 small subunit ribosomal RNA g	803	803	100%	0.0	99%	
AY040383.1	Dinophysis tripos from France internal transcribed spacer 1, 5.8S riboso	803	803	100%	0.0	99%	
EU720644.1	Dinophysis caudata isolate FTL69 small subunit ribosomal RNA gene, pai	801	801	100%	0.0	99%	
AJ250477.1	Dinophysis acuta partial 24S rRNA gene, isolate DactF9-12	798	799	100%	0.0	99%	
AY040382.1	Dinophysis sacculus from France internal transcribed spacer 1, 5.8S rbi	798	794	100%	0.0	99%	
AY040381.1	Dinophysis sacculus from France internal transcribed spacer 1, 5.8S rbi	798	794	100%	0.0	99%	
AY040380.1	Dinophysis sacculus from France internal transcribed spacer 1, 5.8S rbi	798	794	100%	0.0	99%	
AY040379.1	Dinophysis acuminata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S ri	798	794	100%	0.0	99%	
AY040378.1	Dinophysis acuminata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S ri	798	794	100%	0.0	99%	
AY040377.1	Dinophysis acuminata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S ri	798	794	100%	0.0	99%	
AY040376.1	Dinophysis acuminata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S ri	798	794	100%	0.0	99%	
AY040375.1	Dinophysis acuminata from France internal transcribed spacer 1, 5.8S ri	798	794	100%	0.0	99%	
AY040374.1	Dinophysis acuminata from United Kingdom internal transcribed spacer	798	794	100%	0.0	99%	
AF118240.5	Dinophysis caudata isolate 24/1 24S large subunit ribosomal RNA gene,	798	794	99%	0.0	99%	
AF118239.1	Dinophysis norvegica 24S rRNA gene, isolate DnorF8-4	798	794	100%	0.0	99%	
AF118238.1	Dinophysis acuminata partial 24S rRNA gene, isolate DnorF5-17	798	794	100%	0.0	99%	
AF118237.1	Dinophysis tripos 24S large subunit ribosomal RNA gene, partial sequen	791	791	98%	0.0	99%	
EU720641.1	Dinophysis sp. PPIP small subunit ribosomal RNA gene, partial sequenc	789	789	100%	0.0	98%	
AB251149.1	Dinophysis fortii gene for large subunit rRNA, partial sequence, strain C	789	789	99%	0.0	99%	
AB251148.1	Dinophysis fortii gene for large subunit rRNA, partial sequence, strain C	789	789	99%	0.0	99%	
AB251147.1	Dinophysis fortii gene for large subunit rRNA, partial sequence, strain C	789	789	99%	0.0	99%	
AB251146.1	Dinophysis fortii gene for large subunit rRNA, partial sequence, strain C	789	789	99%	0.0	99%	
AB251145.1	Dinophysis fortii gene for large subunit rRNA, partial sequence, strain C	789	789	99%	0.0	99%	
AY040373.1	Dinophysis acuta isolate LC115 large subunit ribosomal RNA gene, parti	789	789	99%	0.0	99%	
AY040372.1	Dinophysis acuta isolate LC114 large subunit ribosomal RNA gene, parti	789	789	99%	0.0	99%	
AY040371.1	Dinophysis acuminata from Australia internal transcribed spacer 1, 5.8S	789	789	100%	0.0	98%	
AY040370.1	Dinophysis dens from Portugal internal transcribed spacer 1, 5.8S rbo	788	788	100%	0.0	98%	

```

NCBI Blast: Nucleotide Sequence (450 letters) - Match 1 (inset)
http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?13236238
Query 1036  GGGTGAAGATTGTACATGCTGCAAGGATTG 1036
>|Dinophysis caudata isolate 2471.245 large subunit ribosomal rRNA
gene, partial sequence
Length=736
Score = 794 bits (880), Expect = 0.0
Identities = 442/443 (99%), Gaps = 0/443 (0%)
Strand=Plus/Plus
Query 1036  GGGTGAAGATTGTACATGCTGCAAGGATTG 1036
Subject 1    GCTGAATTTAAGCATATAAGTAAGCGAGGACAAAGAACTAAACAGGATCCCCATAGTAA 67
          |||
Query 69    TGGCGAATGAAACGGGATAAAGTAACTCAGCATGGAAATGGGGCTTTGGCTTTGACTGTAA 127
          |||
Subject 61  TGGCGAATGAAACGGGATAAAGTAACTCAGCATGGAAATGGGGCTTTGGCTTTGACTGTAA 120
          |||
Query 128   TCTGGTGAAGGATTGCCAACAGAGGGCCATATGTAAGTCTCTGGAAAAGAGCATCAAG 187
          |||
Subject 121  TCTGGTGAAGGATTGCCAACAGAGGGCCATATGTAAGTCTCTGGAAAAGAGCATCAAG 180
          |||
Query 188   AAGGTGAGAGTCTGATGTCATGTGCAAGCCCCCTGTGCACGGTGTGCTTCTAAGAGT 247
          |||
Subject 185  AAGGTGAGAGTCTGATGTCATGTGCAAGCCCCCTGTGCACGGTGTGCTTCTAAGAGT 240
          |||
Query 248   CAGCTTCTTTGGGATTGGAGCGCAAAATGGGTGGTAATTTTCATCTGAAGTTAAACAAG 307
          |||
Subject 243  CAGCTTCTTTGGGATTGGAGCGCAAAATGGGTGGTAATTTTCATCTGAAGTTAAACAAG 300
          |||
Query 308   GTTGGGACCGATAGSAAACAAGTACCATGAGGAAAGGTGAAAAGGACTTTGGAAAGAG 367
          |||
Subject 301  GTTGGGACCGATAGSAAACAAGTACCATGAGGAAAGGTGAAAAGGACTTTGGAAAGAG 360
          |||
Query 368   AGTTAAAAGTGCCTGAAATTCCTGAAAGGGGAAAGTGAACCCAGTAGTCTGGGTGAG 427
          |||
Subject 361  AGTTAAAAGTGCCTGAAATTCCTGAAAGGGGAAAGTGAACCCAGTAGTCTGGGTGAG 420
          |||
Query 428   ATTTGCACATGCTACAAAGGTTG 450
          |||
Subject 421  ATTTGCACATGCTACAAAGGTTG 443
          |||
>|Dinophysis nonvegca 245 rRNA gene, isolate DnoFB-4
Length=736
Score = 794 bits (880), Expect = 0.0
Identities = 442/450 (99%), Gaps = 0/450 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

นอกจากนี้ยังมีรายละเอียดของตำแหน่งของลำดับเบสที่ตรงกันเพื่อใช้ในการตรวจสอบความจำเพาะของ primer ว่าตรงกับบริเวณที่ศึกษาหรือไม่

3. หากเมื่อตรวจสอบความถูกต้องแล้วพบว่าลำดับเบสของตัวอย่างครอบคลุมหลายบริเวณ จะต้องทำการตัดลำดับเบสอีกครั้งด้วยโปรแกรม Bio Edit เพื่อให้ได้ลำดับเบสในบริเวณที่ศึกษาจริงๆ โดยทำการเปรียบเทียบตำแหน่งกับฐานข้อมูลของ *Dinophysis caudata* ซึ่งสามารถดาวน์โหลดได้จากเว็บไซต์เดียวกัน

4. จากนั้นนำลำดับเบสที่ได้ทำการตัดแล้วมาทำการเปรียบเทียบลำดับเบสระหว่างตัวอย่างต่อไป

ภาคผนวก ข ลำดับเบสของ *Dinophysis caudata* ขนาดต่างๆ กับ *Dinophysis* อีก 2 ชนิดคือ *D. acuminata* และ *D. tripos*

```

          10          20          30          40          50
D.acu_fr      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
D.tripos_fr   ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
S2-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
S3-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
N2-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
N3-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
L4-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
L5-1         ATCACCTGCT GAATTTAAGC ATATAAGTAA GCGGAGGACA AGAAACTAAA
Clustal Consensus *****
          60          70          80          90          100
D.acu_fr      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
D.tripos_fr   CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
S2-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
S3-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
N2-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
N3-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
L4-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
L5-1         CAGGATCCCC ATAGTAATGG CGAATGAACC GGGATAAACT CAGCATGGAA
Clustal Consensus *****
          110         120         130         140         150
D.acu_fr      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
D.tripos_fr   ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
S2-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
S3-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
N2-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
N3-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
L4-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
L5-1         ATTGGGGCCT TTGGCTTTGA CTTGTAATCT GGTGAGGCAT TGCCAACAGA
Clustal Consensus *****
          160         170         180         190         200
D.acu_fr      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
D.tripos_fr   GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
S2-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
S3-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
N2-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
N3-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
L4-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
L5-1         GGCGCATATG TAAGTCTCTT GGAAAAGAGC ATCAACGAAG GTGAGAGTCC
Clustal Consensus *****

```


ภาคผนวก ข (ต่อ)

```

                210           220           230           240           250
D.acuminata_fr  ....|....|  ....|....|  ....|....|  ....|....|  ....|....|
D.tripos_fr     TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_S2   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_S3   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_N2   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_N3   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_L5   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
D.caudata_L4   TGATTGTCAT GTGCAGCCCC CCTGTGCACG GTGTGCCTTC TAAGAGTCAC
Clustal Consensus *****

                260           270           280           290           300
D.acuminata_fr  GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.tripos_fr     GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_S2   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_S3   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_N2   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_N3   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_L5   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
D.caudata_L4   GTTCCTTGGG ATTGGAGCGC AAATTGGGTG GTAACCTTCA TCTGAAGTTA
Clustal Consensus *****

                310           320           330           340           350
D.acuminata_fr  AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.tripos_fr     AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_S2   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_S3   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_N2   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_N3   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_L5   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
D.caudata_L4   AACAAAGGGTT TGGGACCGAT AGGAAACAAG TACCATGAGG GAAAGGTGAA
Clustal Consensus *****

                360           370           380           390           400
D.acuminata_fr  AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.tripos_fr     AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_S2   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_S3   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_N2   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_N3   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_L5   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
D.caudata_L4   AAGGACTTTG GAAAGAGAGT TAAAAGTGCC TGAAATTGCT GAAGGGGAAG
Clustal Consensus *****

                410           420           430           440           450
D.acuminata_fr  CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.tripos_fr     CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_S2   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_S3   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_N2   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_N3   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_L5   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
D.caudata_L4   CGAATGGAAC CAGTAGTGCT GGGTGAGATT GTCACATGCT GCAAGGATTG
Clustal Consensus *****

```

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวเพ็ญไพลิน อุดมรัตน์ เกิดเมื่อวันที่ 17 กรกฎาคม พ.ศ. 2527 จังหวัดกรุงเทพมหานคร จบการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2549 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2550



ศูนย์วิทยพักร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

