

กรดโดโมอิกในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมเกยตื้นในน่านน้ำไทย

Domoic Acid in Stranded Marine Mammals in Thai Waters

จิตติมา นิยมศิลป์ชัย^{1,*}, สุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม², นฤมล กรณิตนันท์¹, ปิยรัตน์ คุ่มรักษา¹,
พัชรภรณ์ แก้วโมง¹, ราชาวดี จันทรา¹

¹ สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรุงเทพมหานคร 10210

² กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

Thitima Niyomsilpchai^{1,*}, Supanoi Subsinserm², Narumol Kornkanitnan¹,
Piyarat Khumraksa¹, Patcharaporn Kaewmong¹, Rachawadee Chandra¹

¹ Marine and Coastal Resources Research and Development Institute,
Department of Marine and Coastal Resources, Bangkok 10210

² Fish Inspection and Quality Control Division, Department of Fisheries, Bangkok 10900

Received 20 March 2023; Received in revised 16 July 2023; Accepted 24 July 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการปนเปื้อนสารชีวพิษกรดโดโมอิก (Domoic acid: DA) ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่เกยตื้นและเสียชีวิตในน่านน้ำไทย ระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึง ธันวาคม 2564 โดยพบสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมปนเปื้อน DA ทั้งสิ้น 16 ตัว (จาก 46 ตัว) คิดเป็นร้อยละ 34.8 ของจำนวนสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด พบค่าการปนเปื้อน DA ผันแปรอยู่ระหว่าง ตรวจไม่พบ - 37.29 $\mu\text{g/g}$ โดยพะยูนมีร้อยละการปนเปื้อน DA สูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.8 ของจำนวนพะยูนทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ วาฬ คิดเป็นร้อยละ 40.0 ของจำนวนวาฬทั้งหมด และ โลมา คิดเป็นร้อยละ 25.0 ของจำนวนโลมาทั้งหมด ในฤดูแล้งพบร้อยละการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม มากกว่าฤดูฝน โดยที่พะยูนมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดในกล้ามเนื้อ ($7.79 \pm 16.50 \mu\text{g/g}$) โลมามีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดที่อาหารในกระเพาะ ($0.44 \pm 0.87 \mu\text{g/g}$) และวาฬมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดในสมอง ($0.9 \pm 1.33 \mu\text{g/g}$) การศึกษาครั้งนี้ พบอุบัติการณ์การปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมชนิดใหม่ 3 ชนิด ได้แก่ โลมากระโดด วาฬเพชฌฆาตดำ และวาฬโอมูระ ผลจากการศึกษาสามารถใช้เฝ้าระวังผลกระทบจากการปนเปื้อน DA ที่อาจเกิดขึ้นต่อสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่มีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์ในประเทศไทย

คำสำคัญ: กรดโดโมอิก; สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม; น่านน้ำไทย

Abstract

The purpose of this research was to study the contamination of biotoxin domoic acid (DA) in stranded marine mammals in Thai waters between June 2019 and December 2021. DA was found in 34.8% (16/46) of marine mammals with concentrations ranging from non-detectable level to 37.29 µg/g. Notably, dugongs exhibited the highest DA contamination rate (53.8%), followed by whales (40%) and dolphins (25%). During the dry season, the percentage of DA contamination in marine mammals was higher than rainy season. Specifically, dugongs displayed the highest average DA concentration in muscle (7.79 ± 16.50 µg/g), while dolphins exhibited that in the stomach contents (0.44 ± 0.87 µg/g). Among whales, the highest average DA concentration was discovered in the brain (0.94 ± 1.33 µg/g). Moreover, in this study, the DA contamination had been reported for the first time in three species of marine mammals, namely *Stenella longirostris*, *Pseudorca crassidens*, and *Balaenoptera omurai*. The results obtained from this study are useful for monitoring DA contamination on marine mammals which are marine endangered species at high risk of extinction.

Keywords: Domoic acid; Marine mammals; Thai waters

1. บทนำ

สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม (Marine Mammal) จัดเป็นกลุ่มสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ ปัจจุบันประเทศไทยพบสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมทั้งสิ้น 28 ชนิด เป็นโลมาและวาฬ 27 ชนิด และพะยูน 1 ชนิด สถิติการเกยตื้นสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในช่วง 13 ปี (พ.ศ. 2546 - 2559) พบเกยตื้นทั้งสิ้น 1,330 ตัว ในจำนวนนี้ประกอบด้วยพะยูน รวม 167 ตัว โลมาและวาฬ รวม 1,163 ตัว โดยพบแนวโน้มการเกยตื้นเพิ่มสูงขึ้นทุกปี โดยค่าเฉลี่ยการเกยตื้นต่อปีของพะยูน เท่ากับ 12 ± 5 ตัวต่อปี โลมาและวาฬ เท่ากับ 83 ± 62 ตัวต่อปี ประเทศไทยตระหนักถึงปัญหาการลดลงของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม ดังเห็นได้จากการออกประกาศคุ้มครองและห้ามทำการประมงหรือทำอันตรายต่อสัตว์ทะเลกลุ่มนี้ เช่น พระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2562 ที่ประกาศให้พะยูน วาฬและโลมา รวม 24 ชนิด เป็นสัตว์ป่าสงวนและสัตว์ป่าคุ้มครอง และประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2559 เรื่องกำหนดชนิดสัตว์น้ำที่เลี้ยงลูกด้วยนมที่ห้ามจับหรือนำขึ้นเรือ

ประมง เป็นต้น [1, 2, 3] โดยสาเหตุการตายและการเกยตื้นส่วนใหญ่มาจากกิจกรรมของมนุษย์ ทั้งจากเครื่องมือประมง ขยะทะเล รวมถึงปัญหาจากการปนเปื้อนของมลพิษในน้ำทะเล และการเสียชีวิตเนื่องจากโรคตามธรรมชาติ ซึ่งขณะเดียวกันหลายกรณียังไม่สามารถระบุสาเหตุการตายที่แน่ชัด ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการปนเปื้อนสารชีวพิษกรดโดมอิก (Domoic acid: DA) ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจาก DA เป็นสารชีวพิษที่เป็นพิษต่อระบบประสาทและทางเดินอาหาร (Amnesic Shellfish Poisoning: ASP) [4] ทำให้สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมมีอาการชัก สูญเสียความทรงจำ สับสน มึนงง หรือแท้งตาย [5, 6] ในต่างประเทศหลายพื้นที่พบว่า DA เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม [7, 8] โดย DA เป็นสารชีวพิษ สร้างได้ทั้งจากสาหร่ายทะเลสีแดงและแพลงก์ตอนพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแพลงก์ตอนพืชสกุล *Pseudo-nitzschia* และ *Nitzschia* หลายชนิด [9, 10, 11, 12] ซึ่งแต่ละชนิดมีความสามารถผลิต DA ได้แตกต่างกัน จากการศึกษการถ่ายทอด DA จากผู้ผลิตไปสู่ผู้บริโภคตาม

ลำดับชั้นของห่วงโซ่อาหารที่บริเวณชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย พบร้อยละการถ่ายทอด DA จากแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-Nitzschia* spp. และ *Nitzschia* spp. ไปสู่แพลงก์ตอนสัตว์ มีค่าร้อยละ 7.15 จากนั้นถูกถ่ายทอดไปสู่หอย และปลา มีค่าร้อยละ 20.60 และ 6.31 ตามลำดับ [13] นอกจากนี้ยังมีรายงานพบการสะสม DA ในสัตว์หน้าดินที่ส่งผลให้มีการถ่ายทอด DA ผ่านทางโภชนาการไปยังสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมและมนุษย์อีกด้วย [14] โดยความเสี่ยงในการได้รับ DA ของมนุษย์และสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมมาจากการบริโภคสิ่งมีชีวิตที่กรองกินแพลงก์ตอนพืชที่ปนเปื้อน DA เข้าไป อาทิ หอยเชลล์ หอยแมลงภู่ ปลาเกะตัก ปลาซาร์ดีน [15, 16, 17, 18] ปัจจุบันข้อมูลการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทยมีน้อยมาก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของ DA ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปวิเคราะห์หาความเชื่อมโยงในเรื่องของสัญญาณทางคลินิก (Clinical signs) เพื่อพิสูจน์ทราบถึงสาเหตุการตายที่แน่ชัดต่อไปในอนาคต รวมทั้งเพื่อป้องกัน ฝ้าระวังและลดผลกระทบจากการปนเปื้อนของ DA ซึ่งจะประโยชน์ต่อการอนุรักษ์สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการสูญพันธุ์ให้คงอยู่ต่อไป

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 พื้นที่ศึกษา

ชายฝั่งทะเลอ่าวไทย และอันดามันของประเทศไทย

2.2 ระยะเวลาที่ศึกษา

ระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึง ธันวาคม 2564

2.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่เกยตื้นและมีสภาพสด ได้แก่ ตัว เต ออาหารในกระเพาะ อาหารในลำไส้ อูจจาระ สมอ ปอด กล้ามเนื้อ และหัวใจ ซึ่งจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างภายหลังการเกยตื้นอย่างรวดเร็ว โดยยังไม่พบการสลายของเนื้อเยื่อ และนำ

มารักษาสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

2.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่าง

ตามวิธีการของ Quilliam (2003)

2.4.1 การคำนวณปริมาณ DA จากสารละลาย

มาตรฐาน

2.4.1.1) นำสารละลายมาตรฐานของ DA ความเข้มข้น 0.000, 0.258, 0.517, 2.066, 10.330, 20.660 และ 30.810 $\mu\text{g/ml}$ ฉีดเข้าเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ยี่ห้อ WATERS รุ่น Alliance 2695 ปริมาตร 20 μl ขนาดของ column 3.9 mm x 150 mm บรรจุด้วย C18 ขนาดอนุภาค 5 μm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ Peak ของ DA ที่ความยาวคลื่น 242 nm กับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานของ DA ที่ความเข้มข้น 0, 5, 20 และ 50 $\mu\text{g/ml}$

2.4.1.2) ใช้ mobile phase คือ 10% Acetonitrile: 0.1% Trifluoroacetic acid (TFA) เครื่องตรวจวัด UV ความยาวคลื่นคงที่ 242 nm อัตราการไหลของ mobile phase เท่ากับ 1 ml/min และควบคุมอุณหภูมิ column ที่ 40 องศาเซลเซียส

2.4.1.3) ค่า Method Detection Limit (MDL) = 0.03 $\mu\text{g/g}$

2.4.2 การคำนวณปริมาณ DA จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง

2.4.2.1) การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งตัวอย่างที่บดละเอียด 4 กรัม ในบีกเกอร์ หลังจากนั้นเติม 50% เมทานอล 16 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันนาน 1 นาที และนำไป Centrifuge ที่ 3,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยแผ่นกรองไนลอนขนาด 0.2 ไมครอน

2.4.2.2) นำตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ซึ่งประกอบด้วยชุดตรวจวัดสารชนิด UV Detector ความยาวคลื่น 242

นาโนเมตร เวลาในการฉีดสารละลาย คือ 15 นาที กำหนดอัตราการไหลของสารที่ 1 มิลลิลิตร/นาที และสำหรับสารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ 10% Acetonitrile: 0.1 % TFA

2.4.2.3) นำค่าพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง มาเทียบหาปริมาณ DA โดยใช้กราฟมาตรฐาน

2.5 วิธีการควบคุมคุณภาพของการทดสอบ

2.5.1 การทดสอบ System Suitability

ทุกครั้งที่ทดสอบ % RSD ของ Peak Area และ Retention time, $\leq 1\%$ ($n \geq 5$)

2.5.2 การสร้าง Standard Calibration curve

ทุกครั้งที่ทดสอบ ค่า $r \geq 0.995$

2.5.3 การทดสอบ Fortified sample

ทุก 5% ของตัวอย่าง % recovery จะต้องอยู่ในช่วง 80 -110 %

2.5.4 การทดสอบ Reagent Blank

อย่างน้อย 1 ตัวอย่างใน 1 ชุดทดสอบ ค่า Reagent Blank น้อยกว่า LOD (Limit of Detection)

2.5.5 การทดสอบซ้ำ (Duplicate)

ทุก 5% ของตัวอย่าง % RPD จะต้อง $\leq 10\%$ โดยทำการ Duplicate ตัวอย่างเดียวกันโดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

2.5.6 การทดสอบ Blank (Mobile Phase)

ทำการทดสอบ Standard 0.517 $\mu\text{g/ml}$ ปิดท้าย ไม่พบสัญญาณ Peak ที่สนใจ

2.5.7 การทดสอบ Standard

0.517 $\mu\text{g/ml}$ ปิดท้ายหลังฉีดตัวอย่างทุกครั้งทดสอบ Retention time อยู่ในช่วง ± 0.5 min และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน % RPD $\leq 10\%$

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล

โดยวิธีการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของปริมาณการปนเปื้อนของ DA ในแต่ละประเภทชิ้นเนื้อตัวอย่าง

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ร้อยละการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในน่านน้ำไทย

จากการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่เกยตื้นและมีสภาพสด ระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึง เดือนธันวาคม 2564 จำนวนทั้งสิ้น 46 ตัว ได้แก่ พะยูน 13 ตัว โลมา 28 ตัว และวาฬ 5 ตัว พบสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมปนเปื้อน DA จำนวนทั้งสิ้น 16 ตัว คิดเป็นร้อยละ 34.8 ของจำนวนสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่ทำการศึกษาทั้งหมด มีค่าการปนเปื้อนของ DA อยู่ระหว่าง not detected (nd) - 37.29 $\mu\text{g/g}$ โดยพะยูนมีร้อยละการปนเปื้อน DA มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.8 ของจำนวนพะยูนทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ วาฬ คิดเป็นร้อยละ 40.0 ของจำนวนวาฬทั้งหมด และโลมา คิดเป็นร้อยละ 25.0 ของจำนวนโลมาทั้งหมด ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 1 และ Figure 1 - 2

Table 1 Percent positive for domoic acid (DA) in stranded marine mammals.

Marine mammal group		Number (n)	Number positive for DA	% Positive for DA	Concentration of DA ($\mu\text{g/g}$)
Sirenians	Dugong	13	7	53.8	nd - 37.29
Cetaceans	Dolphin	28	7	25.0	nd - 3.44
	Whale	5	2	40.0	nd - 1.88
Total		46	16	34.8	nd - 37.29

Note: nd = not detected

การศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมครั้งแรกในประเทศไทย [19] ซึ่งพบว่าพะยูนมีร้อยละการปนเปื้อน DA ในอัตราที่สูงกว่าโลมาและวาฬ ทั้งนี้ อาจเนื่องจากสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมแต่ละประเภทมีพฤติกรรมการกินอาหารและอาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน โดยพะยูนเป็นสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่มีพฤติกรรมการกินแบบกินพืช โดยกินหญ้าทะเลเป็นอาหารหลัก เป็นไปได้ว่าสาเหตุการปนเปื้อน DA ที่พบในพะยูน มาจากองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตที่เกาะติดอยู่บนใบหญ้าทะเลที่สามารถผลิต DA ได้ และการที่พะยูนบริโภคสิ่งมีชีวิตที่ผลิต DA เข้าไปในร่างกายโดยตรงนั้น อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลให้พบอัตราการปนเปื้อนของ DA ในพะยูน

ที่สูงกว่า ซึ่งแตกต่างกับโลมาและวาฬที่มีพฤติกรรมการกินทั้งแบบกรองกินแพลงก์ตอนและแบบผู้ล่า โดยกิน กุ้ง หมึก ปลา ดังนั้น การสะสม DA ที่พบในโลมาและวาฬ จึงมีลักษณะแบบถูกถ่ายทอดผ่านตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหาร จากการศึกษาของ Oning [13] พบว่าการถ่ายทอด DA จากแพลงก์ตอนพืชสู่แพลงก์ตอนสัตว์ในรอบปี มีค่าร้อยละ 7.15 และจากแพลงก์ตอนสัตว์ถ่ายทอดสู่ปลา มีค่าร้อยละ 6.31 นอกจากนี้ ยังมีหลักฐานการเสียชีวิตของสิ่งมีชีวิตที่สืบเนื่องมาจากการถ่ายโอน DA ผ่านทางห่วงโซ่อาหารจากการบริโภคปลา ชาร์ดิน และปลาเกะดัก ที่มีการสะสม DA ในบริเวณชายฝั่งแคลิฟอร์เนียตอนกลาง [20]

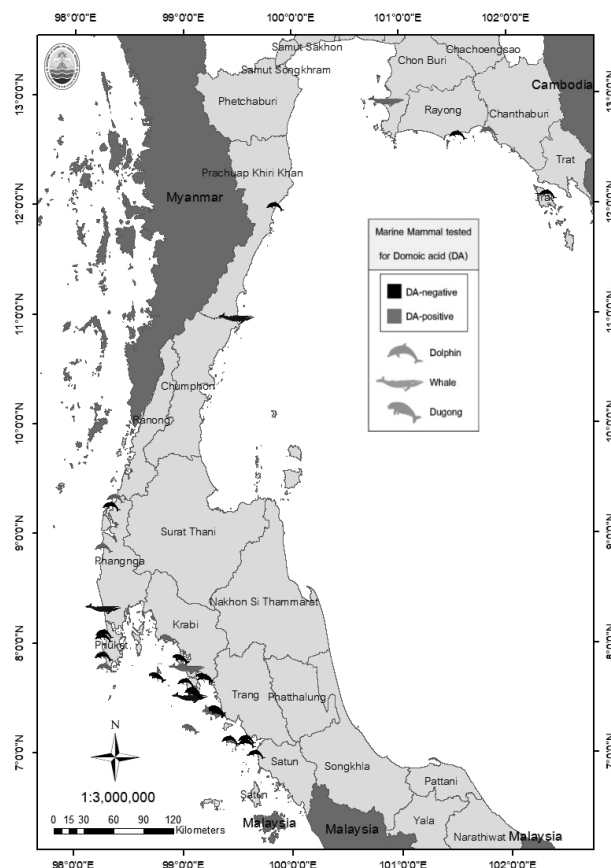


Figure 1 Stranding locations and detections of DA in the marine mammals from June 2019 to December 2021.

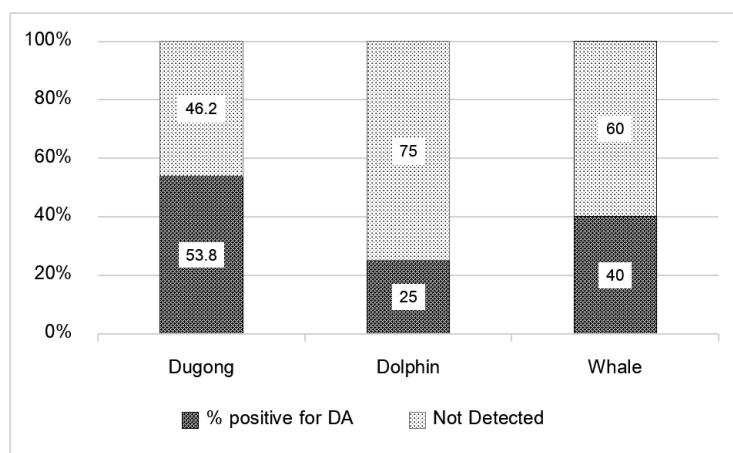


Figure 2 Percent positive for DA in 3 groups of stranded marine mammals from June 2019 to December 2021.

จากการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม ทั้งสิ้น 46 ตัว พบการปนเปื้อน DA ตลอดทั้งปี โดยในช่วงฤดูแล้งพบการปนเปื้อน DA รวมทั้งสิ้น 9 ตัว จาก 19 ตัว (คิดเป็นร้อยละ 47.4 ของการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่พบในฤดูแล้ง) ได้แก่ พะยูน 4 ตัว โลมา 3 ตัว และวาฬ 2 ตัว มีค่าการปนเปื้อน DA

อยู่ระหว่าง nd - 37.29 $\mu\text{g/g}$ ส่วนในฤดูฝน พบการปนเปื้อน DA รวมทั้งสิ้น 7 ตัว จาก 27 ตัว (คิดเป็นร้อยละ 25.9 ของการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่พบในฤดูฝน) ได้แก่ พะยูน 3 ตัว และโลมา 4 ตัว มีค่าการปนเปื้อน DA อยู่ระหว่าง nd - 3.50 $\mu\text{g/g}$ ดังแสดงใน Figure 3

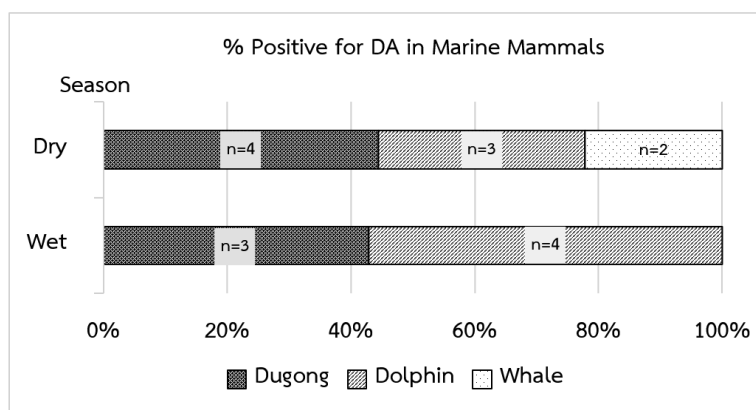


Figure 3 Seasonal contamination of DA in stranded marine mammals from June 2019 to December 2021.

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบตามฤดูกาล พบว่าในฤดูแล้งสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมมีอัตราการปนเปื้อนและการผันแปรของ DA ที่สูงกว่าฤดูฝน เช่นเดียวกับที่มีการตรวจพบปริมาณเฉลี่ยของ DA ในปลา 2 ชนิด

ได้แก่ *Siganus canaliculatus* และ *Rastrelliger brachysoma* ที่พบว่ามีค่าการปนเปื้อน DA สูงในช่วงฤดูแล้งมากกว่าฤดูฝนอย่างมีนัยสำคัญ [21] โดยทั่วไปการแสดงความเข้มข้นพิษของ DA ในปลาจะแสดง

ต่อเมื่อปลานั้นกำลังกินหรือเพิ่งกินอาหารที่มีการสะสม DA ผ่านไปไม่นาน โดยระดับความเป็นพิษในปลาที่กินแพลงก์ตอนพืชจะสอดคล้องกับค่าปริมาณความเป็นพิษทั้งหมดในประชาคมของ *Pseudo-nitzschia* ที่พบในบริเวณนั้น โดยความเป็นพิษจะถูกกำจัดออกจากตัวปลาอย่างรวดเร็วและปลาจะเป็นตัวส่งผ่านที่อันตรายในช่วงที่มีการสะสมของ *Pseudo-nitzschia* เท่านั้น ดังนั้นการพบปลาชนิดต่าง ๆ ที่กินแพลงก์ตอนพืชในขณะที่มีการสะสมของ *Pseudo-nitzschia* เป็นอาหารนั้น ปลา ก็จะมีการสะสมของ DA ในระดับที่สูงมากเช่นกัน โดยสามารถตรวจพบ DA ในตัวอย่างอวัยวะภายในของปลาได้ก็ต่อเมื่อใดอะตอมที่เป็นพิษนั้นมีความหนาแน่นสูงถึง 1,000 เซลล์ต่อลิตร [22] โดยพบว่าเหตุการณ์การเกยตื้นของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมจำนวน 2,239 ตัว ในช่วงปี ค.ศ. 2022 ที่บริเวณตอนใต้ของชายฝั่งแคลิฟอร์เนีย มีความสัมพันธ์กับช่วงฤดูกาลที่พบมีการสะสมของแพลงก์ตอน *Pseudo-nitzschia* spp. [23] สำหรับข้อมูลที่น่าสนใจในเรื่องฤดูกาลที่เกี่ยวข้องกับการปนเปื้อน DA ที่ผลิตโดยแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* ในประเทศไทยนั้น ได้แก่ การศึกษาของ Atcharaporn [24] ที่ตรวจพบแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia*

ชนิดที่สามารถสร้างสารชีวพิษ DA ได้ คือ *Pseudo-nitzschia pungens* และ *Pseudo-nitzschia* sp. โดยพบหนาแน่นมากในช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและฤดูแล้ง การศึกษาของ Kongkiat และ Varin [25] พบว่า *Pseudo-nitzschia* spp. มีการแพร่กระจายไม่สม่ำเสมอตลอดปี โดยพบมีความหนาแน่นสูงสุดที่ทำให้เกิดน้ำทะเลเปลี่ยนสีในช่วงเดือนตุลาคม นอกจากนี้ มีรายงานการพบ *Pseudo-nitzschia* spp. แพร่กระจายอยู่บริเวณอ่าวไทยตอนใน จังหวัดสมุทรสาคร สมุทรสงคราม และเพชรบุรี และพบปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีจากแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* spp. บริเวณชายฝั่งทะเลบางขุนเทียน [26, 27] การศึกษาครั้งนี้พบการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมทั้งเพศผู้และเพศเมียในอัตราที่ใกล้เคียงกัน โดยเพศผู้พบการปนเปื้อน DA จำนวนทั้งสิ้น 9 ตัว จาก 26 ตัว (คิดเป็นร้อยละ 34.6) ได้แก่ พะยูน 3 ตัว โลมา 4 ตัว และวาฬ 2 ตัว โดยมีค่าการปนเปื้อน DA อยู่ระหว่าง nd - 3.50 µg/g ส่วนเพศเมียพบการปนเปื้อน DA จำนวนทั้งสิ้น 7 ตัว จาก 20 ตัว (คิดเป็นร้อยละ 35) ได้แก่ พะยูน 4 ตัว และโลมา 3 ตัว โดยมีค่าการปนเปื้อน DA อยู่ระหว่าง nd - 37.29 µg/g ดังแสดงใน Figure 4

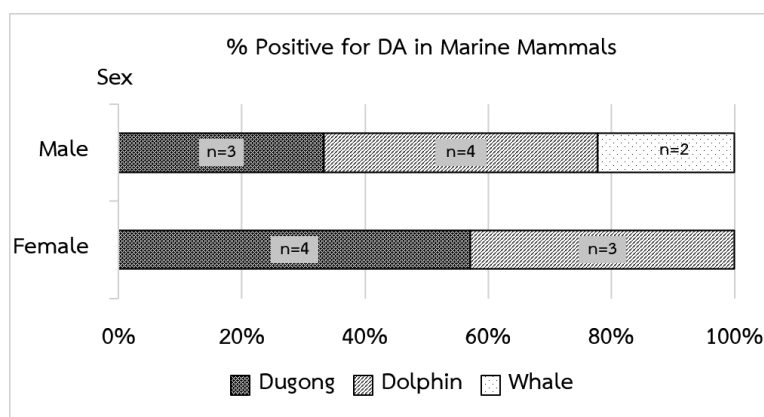


Figure 4 Percent positive for DA in stranded marine mammals separated by gender from June 2019 to December 2021

3.2 การปนเปื้อน DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่างของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม

3.2.1 การปนเปื้อน DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่างพะยูน จำนวน 13 ตัว (47 ชิ้นเนื้อตัวอย่าง)

รวบรวมตัวอย่างจากพะยูนเกยตื้น 13 ตัว ได้ชิ้นเนื้อตัวอย่างพะยูน รวมทั้งสิ้น 47 ตัวอย่าง ได้แก่ ดับ 8 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25) ไต 8 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25) อาหารในกระเพาะ 12 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 25) อูจจาระ 13 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 38.5) สมอง 1 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA และกล้ามเนื้อ 5 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 2 ตัวอย่าง (ร้อยละ 40) โดยกล้ามเนื้อพะยูน มีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $7.79 \pm 16.50 \mu\text{g/g}$ (nd-37.29 $\mu\text{g/g}$) รองลงมา ได้แก่ ดับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $3.18 \pm 8.44 \mu\text{g/g}$ (nd-24.02 $\mu\text{g/g}$) อูจจาระ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $1.09 \pm 1.96 \mu\text{g/g}$ (nd-6.54 $\mu\text{g/g}$) อาหารในกระเพาะ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.71 \pm 1.50 \mu\text{g/g}$ (nd-4.88 $\mu\text{g/g}$) และไต มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.56 \pm 1.09 \mu\text{g/g}$ (nd-2.85 $\mu\text{g/g}$) โดยตัวอย่างสมองตรวจไม่พบการปนเปื้อน DA ดังแสดงใน Figure 5 และ Table 2 เนื่องจากพะยูนมีพฤติกรรมการบริโภคอาหารแบบกินพืช (Herbivore) อาหารหลัก คือ หญ้าทะเล ลูกพะยูนเริ่มกินหญ้าทะเลได้ตั้งแต่อายุ 1 เดือน โดยกินนมควบคู่กับกินหญ้าทะเลจนอายุ 13 เดือน จากนั้นเริ่มกินหญ้าทะเลเป็นหลักการศึกษอาหารในกระเพาะของพะยูน พบว่าพะยูนกินหญ้าทะเลได้เกือบทุกชนิด [28, 29] โดยแต่ละตัวจะมีความชอบกินหญ้าทะเลแต่ละชนิดในปริมาณที่ต่างกัน จากการศึกษาองค์ประกอบของอาหารที่พบในระบบทางเดินอาหารของซากพะยูน พบว่าพะยูนกินหญ้าทะเลคิดเป็นร้อยละ 92 ขององค์ประกอบอาหารทั้งหมด อีกร้อยละ 8 เป็นสาหร่ายทะเลและสัตว์พื้นทะเลที่เกาะบริเวณพื้นผิวของหญ้าทะเล โดยพะยูนแต่ละตัวกิน

หญ้าทะเลประมาณ 5-10 % ของน้ำหนักร่างกาย [30] จากการศึกษาแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมที่ดำรงชีพแบบเกาะติดบนใบหญ้าทะเล 4 ชนิด ได้แก่ *Enhalus acoroides*, *Thalassia hemprichii*, *Cymodocea rotundata* และ *Halophila ovalis* บริเวณบ้านปากคลอง จังหวัดภูเก็ต พบว่า *Nitzschia* spp. เป็นแพลงก์ตอนพืชกลุ่มที่พบดำรงชีพแบบเกาะติดอยู่บนใบหญ้าทะเลทั้ง 4 ชนิด ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา [31] เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจาก *Nitzschia* spp. มีความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี และสามารถทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง [32] นอกจากนี้มีรายงานพบไดอะตอม *Nitzschia* หลายชนิด ที่มีการดำรงชีพแบบเกาะติดอยู่บนใบหญ้าทะเล [33, 34, 35, 36, 37] จึงเป็นสมมุติฐานได้ว่า การปนเปื้อน DA ที่พบในพะยูนนั้น เกิดจากการที่พะยูนบริโภคแพลงก์ตอน *Nitzschia* บางชนิดที่มีความสามารถในการผลิต DA ได้ การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงอุบัติการณ์การปนเปื้อนของ DA ในพะยูน แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาใด ๆ ที่ช่วยสนับสนุนข้อมูลได้ว่า สารชีวพิษ DA ที่ถูกสร้างขึ้นในแหล่งหญ้าทะเลมาจากแพลงก์ตอนพืชที่ดำรงชีพแบบเกาะติดหรือสาหร่ายชนิดใด ผู้วิจัยเห็นว่า จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อพิสูจน์ทราบถึงข้อเท็จจริงดังกล่าวต่อไป เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้พบการปนเปื้อน DA ในทุกชิ้นเนื้อตัวอย่างของพะยูน ยกเว้นสมอง แสดงให้เห็นว่าทุกอวัยวะของพะยูนมีความสามารถในการสะสม DA ได้ในระดับที่แตกต่างกัน โดยพบว่ากล้ามเนื้อพะยูนมีความสามารถในการสะสม DA สูงกว่าอวัยวะอื่น รองลงมาคือ ดับ แต่เนื่องจากครั้งนี้เป็นการนำชิ้นเนื้อตัวอย่างสมองของพะยูนมาศึกษาเป็นครั้งแรกและมีเพียงตัวอย่างเดียว เหตุเพราะข้อจำกัดของความสดของเนื้อเยื่อสมองพะยูนที่สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างได้ ในอนาคตจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมให้มีจำนวนตัวอย่างเพิ่มขึ้น เพื่อสามารถสรุปผลได้อย่างแน่ชัดมากขึ้น

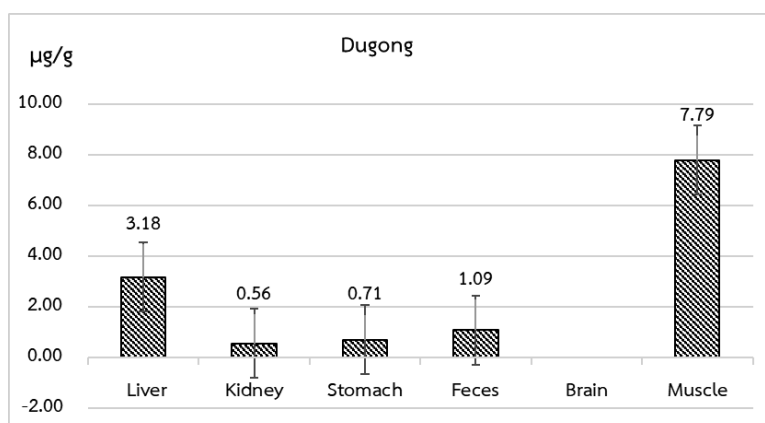


Figure 5 Average concentrations of DA in tissue samples of 13 stranded Dugongs.

Table 2 Contamination of DA in 13 stranded Dugongs.

Dates	Dates	Stranded Provinces	Sex	Concentrations of DA (µg/g)					
				Liver	Kidney	Stomach	Feces	Brain	Muscle
พะยูน Dugong dugon	Jun 2020	Krabi	M	1.43	1.67	nd	3.50	nd	nd
	Jun 2020	Krabi	F	nd	nd	nd	nd	-	nd
	Jul 2020	Krabi	M	-	-	-	1.12	-	-
	Sep 2020	Trang	F	nd	nd	nd	0.94	-	-
	Oct 2020	Krabi	F	nd	nd	nd	nd	-	-
	Nov 2020	Trang	F	-	-	1.40	nd	-	nd
	Nov 2020	Trang	F	-	-	2.23	6.54	-	37.29
	Dec 2020	Trang	F	24.02	2.85	4.88	nd	-	1.68
	Dec 2020	Trang	M	-	-	nd	2.07	-	-
	Mar 2021	Trang	M	-	-	nd	nd	-	-
	Apr 2021	Krabi	M	nd	nd	nd	nd	-	-
	Nov 2021	Trang	M	nd	nd	nd	nd	-	-
	Dec 2021	Trang	M	nd	nd	nd	nd	-	-
Average				3.18	0.56	0.71	1.09	nd	7.79
SD				8.44	1.09	1.50	1.96	-	16.50
Number (n)				8	8	12	13	1	5
Number positive for DA				2	2	3	5	0	2
% positive for DA				25.00	25.00	25.00	38.50	0	40.00
Total				47 samples (nd - 37.29 µg/g)					

Note: nd = not detected

3.2.2 การปนเปื้อน DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่างโลมาจำนวน 28 ตัว (85 ชิ้นเนื้อตัวอย่าง)

รวบรวมตัวอย่างจากโลมาเกยตื้น 28 ตัว ได้ชิ้นเนื้อตัวอย่างโลมาจำนวนทั้งสิ้น 85 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัว 27 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.7) ตัว 26 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA อาหารในกระเพาะ 17 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 29.4) อาหารในลำไส้ 3 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 33.3) อุจจาระ 3 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA สมอ 4 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA ปอด 2 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA กล้ามเนื้อ 2 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA และหัวใจ 1 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA โดยอาหารในกระเพาะของโลมา มีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดเท่ากับ $0.44 \pm 0.87 \mu\text{g/g}$ (nd-2.99 $\mu\text{g/g}$) รองลงมา ได้แก่ อาหารในลำไส้ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.29 \pm 0.51 \mu\text{g/g}$ (nd-0.88 $\mu\text{g/g}$) และตับ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ $0.13 \pm 0.66 \mu\text{g/g}$ (nd-3.44 $\mu\text{g/g}$) สำหรับชิ้นเนื้อตัวอย่างของโลมาที่ตรวจไม่พบการปนเปื้อน DA ได้แก่ ไต อุจจาระ สมอ ปอด กล้ามเนื้อ และหัวใจ ดังแสดงใน Figure 6 และ Table 3 โลมาเป็น Top consumer หรือผู้บริโภคชั้นสูง (High-order carnivores) มีพฤติกรรมการกินแบบผู้ล่า กินอาหารค่อนข้างหลากหลายและในปริมาณมาก อาหารที่สามารถพบได้ในกระเพาะของโลมา ได้แก่ ปลา กุ้ง หมึก เป็นต้น นอกจากนี้ โลมายังกินสิ่งมีชีวิต ทั้งที่อยู่กลางน้ำ (pelagic) และพื้นท้องน้ำ (demersal) มีช่วงชีวิตค่อนข้างยาว ดังนั้น โลมาจึงถูกพิจารณาให้เป็น indicator species สำหรับการติดตามตรวจสอบการสะสมของมลสาร (Bioindicator) ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม โลมาเป็นสัตว์ที่มีการอพยพย้ายถิ่นในพื้นที่ที่กว้างมาก โดยอาจเป็นการโยกย้ายตามแหล่งอาหาร ฤดูกาล และย้ายแหล่งผสมพันธุ์ [38] การศึกษาครั้งนี้ พบการปนเปื้อน DA ในโลมารวมทั้งสิ้น 3 ชนิด โดย 2 ชนิดแรก พบซากเกยตื้นบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน ได้แก่ โลมากระโดด (*Stenella longirostris*)

และโลมาลายแถบ (*Stenella coerulealba*) ซึ่งเป็นชนิดที่มีแหล่งอาศัยในเขตน้ำลึกห่างฝั่ง (offshore) ส่วนอีก 1 ชนิดนั้น พบซากเกยตื้นบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย ได้แก่ โลมาหัวบาตรหลังเรียบ (*Neophocaena phocaenoides*) ซึ่งเป็นชนิดที่มีแหล่งอาศัยบริเวณใกล้ชายฝั่ง (nearshore) โดยสอดคล้องกับการศึกษา [19] ที่พบการปนเปื้อน DA ในโลมาลายแถบและโลมาหัวบาตรหลังเรียบเช่นเดียวกัน โดยการปนเปื้อน DA ในอวัยวะของโลมานั้นเกิดขึ้นจากการบริโภคผ่านตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหารดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น เมื่อพิจารณาถึงอาหารของโลมาชนิดที่พบมีการปนเปื้อน DA นั้นพบว่า โลมากระโดด กินปลากลางน้ำ กุ้ง และหมึก ส่วนโลมาลายแถบ กินปลาผิวน้ำ-กลางน้ำ ปลาหน้าดิน และหมึก ขณะที่โลมาหัวบาตรหลังเรียบ กินปลาขนาดเล็กตั้งแต่ผิวน้ำ-พื้นท้องน้ำ กุ้ง และหมึก [39, 40] โดยพบว่าตัวอย่างของโลมาที่มีค่าการปนเปื้อน DA สูงสุด คืออาหารในกระเพาะ รองลงมา ได้แก่ อาหารในลำไส้ และตับ สำหรับในประเทศไทยมีรายงานพบการปนเปื้อน DA ในโลมาครั้งแรก จำนวน 5 ชนิด ได้แก่ โลมาหลังโหนด (*Sousa chinensis*) พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่อาหารในกระเพาะ ($42.85 \mu\text{g/g}$) โลมาปากขวด (*Tursiops aduncus*) พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่อาหารในลำไส้ ($68.61 \mu\text{g/g}$) โลมาลายแถบ (*Stenella coerulealba*) พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่ไต ($8.09 \mu\text{g/g}$) โลมาอิรวดี (*Orcaella brevirostris*) พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่ไต ($16.83 \mu\text{g/g}$) และโลมาหัวบาตรหลังเรียบ (*Neophocaena phocaenoides*) พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่อาหารในกระเพาะ ($4.65 \mu\text{g/g}$) ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าการปนเปื้อน DA ของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมกลุ่มโลมาในประเทศไทย ทั้งจากข้อมูลการศึกษาก่อนหน้าและจากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าค่าการปนเปื้อน DA ที่ตรวจพบในโลมามีความผันแปรไม่สม่ำเสมอในแต่ประเภทของชิ้นเนื้อตัวอย่าง โดยมีค่าอยู่ในช่วง nd- $68.61 \mu\text{g/g}$ [19] ทั้งนี้ อาจเกี่ยวเนื่องกับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุ เพศ ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัย เป็นต้น

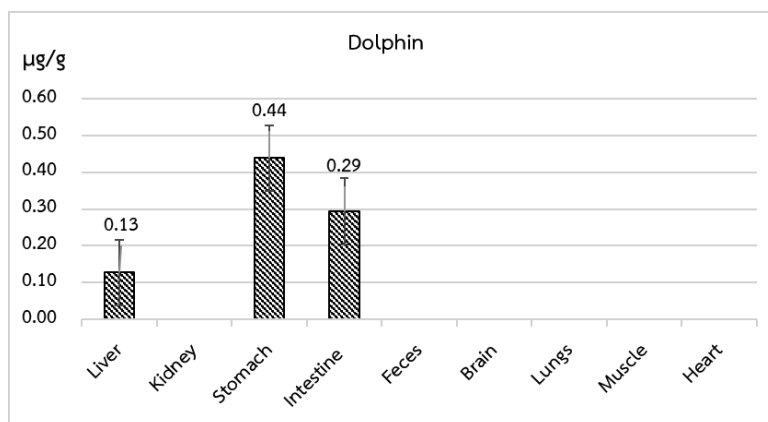


Figure 6 Average concentrations of DA in tissue samples of 28 stranded dolphins.

Table 3 Contamination of DA in 28 stranded dolphins

Species	Date	Stranded Provinces	Sex	Concentrations of DA (µg/g)								
				Liver	Kidney	Stomach	Intestine	Feces	Brain	Lung	Muscle	Heart
โลมากระโดด <i>Stenella longirostris</i>	Aug 2020	Phang Nga	F	nd	nd	0.87	nd	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phuket	F	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	0.87	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Jun 2021	Phang Nga	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
โลมาปากขวด <i>Tursiops aduncus</i>	Jan 2020	Krabi	F	nd	nd	-	-	-	nd	nd	nd	-
	May 2020	Rayong	F	nd	nd	-	-	-	nd	-	-	-
	Jan 2021	Satun	M	nd	nd	nd	-	nd	-	-	-	-
โลมาฟันห่าง <i>Steno bredanensis</i>	Jun 2021	Prachuap Khiri Khan	F	nd	-	-	-	-	-	-	-	-
โลมาลิซโซ่ <i>Grampus griseus</i>	May 2021	Trang	F	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-
โลมาลายจุด <i>Stenella attenuate</i>	Mar 2021	Phuket	F	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-
	Stenella attenuate	Phuket	M	nd	nd	nd	-	-	-	-	-	-

Table 3 Contamination of DA in 28 stranded dolphins (Conts).

Species	Date	Stranded Provinces	Sex	Concentrations of DA (µg/g)								
				Liver	Kidney	Stomach	Intestine	Feces	Brain	Lung	Muscle	Heart
โลมาลายแถบ <i>Stenella coeruleoalba</i>	Mar 2020	Phang Nga	F	nd	nd	-	0.88	-	-	-	-	-
		Stenella coeruleoalba	F	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-
	Sep 2020	Phuket	M	nd	nd	2.17	nd	-	-	-	-	-
	Apr 2021	Phuket	M	nd	nd	2.99	-	-	-	-	-	-
	May 2021	Satun	F	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-
โลมาหลังโหนด <i>Sousa chinensis</i>	Sep 2021	Krabi	M	nd	nd	-	-	-	-	-	-	-
	Dec 2021	Trang	F	nd	nd	-	-	nd	-	-	-	-
โลมาหัวบาตรหลังเรียบ <i>Neophocaena phocaenoides</i>	Jun 2019	Trad	F	-	-	-	-	-	nd	-	-	nd
	Jul 2020	Trad	M	3.44	nd	-	-	-	-	nd	-	-
	Feb 2021	Chanthaburi	F	nd	nd	0.55	-	-	-	-	-	-
โลมาอิรวดี <i>Orcaella brevirostris</i>	May 2020	Trang	M	nd	nd	nd	-	nd	nd	-	nd	-
Averages				0.13	nd	0.44	0.29	nd	nd	nd	nd	nd
SD				0.66	-	0.87	0.51	-	-	-	-	-
Numbers (n)				27	26	17	3	3	4	2	2	1
Number positive for DA				1	0	5	1	0	0	0	0	0
% Positive for DA				3.70	0	29.40	33.30	0	0	0	0	0
Total				85 samples (nd - 3.44 µg/g)								

Note: nd = not detected

3.2.3 การปนเปื้อน DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่างวาฬจำนวน 5 ตัว (19 ชิ้นเนื้อตัวอย่าง)

รวบรวมตัวอย่างจากวาฬเกยตื้น 5 ตัว ได้ชิ้นเนื้อตัวอย่างวาฬ จำนวนทั้งสิ้น 19 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัว 5 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA ไต 5 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA อาหารในกระเพาะ 2 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA อาหารในลำไส้ 1 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA (ร้อยละ 100) อูจกระ 1 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA สมอง 2 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน

DA 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 50) ปอด 1 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA และกล้ามเนื้อ 2 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อน DA โดยสมองของวาฬ มีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุด เท่ากับ $0.94 \pm 1.33 \mu\text{g/g}$ (nd-1.86 $\mu\text{g/g}$) รองลงมา ได้แก่ อาหารในลำไส้ มีค่าการปนเปื้อน DA เท่ากับ $0.42 \mu\text{g/g}$ สำหรับชิ้นเนื้อตัวอย่างของวาฬที่ตรวจไม่พบการปนเปื้อน DA ได้แก่ ตัว ไต อาหารในกระเพาะ อูจกระ ปอด และกล้ามเนื้อ ดังแสดงใน Figure 7 และ Table 4

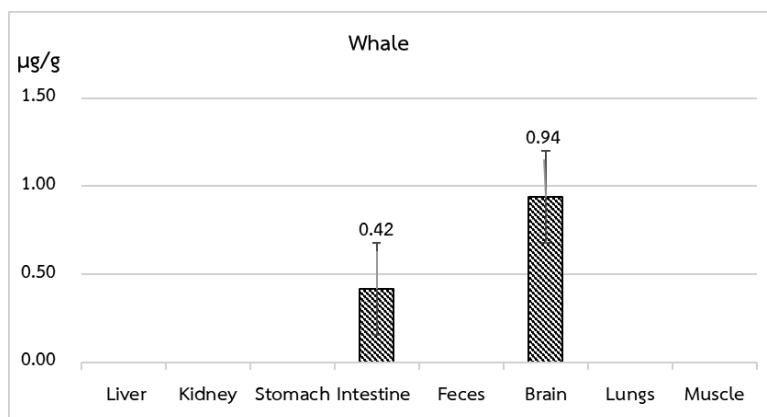


Figure 7 Average concentration of DA in tissue samples of 5 stranded whales.

การศึกษานี้ พบการปนเปื้อน DA ในวาฬ 2 ชนิด ได้แก่ วาฬโอมูระ (*Balaenoptera omurai*) ที่เกยตื้นบริเวณชายฝั่งทะเลอันดามัน มีพฤติกรรมการบริโภคปลาขนาดเล็ก หมึก และกุ้งเป็นอาหาร ส่วนใหญ่ พบแพร่กระจายทั้งบริเวณเขตชายฝั่งและนอกฝั่ง และ วาฬเพชฌฆาตดำ (*Pseudorca crassidens*) ที่เกยตื้นบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย มีพฤติกรรมการบริโภคปลาและหมึกเป็นอาหาร พบแพร่กระจายในเขตน้ำลึกและอบอุ่น [39, 40] ซึ่งการปนเปื้อน DA ในวาฬนั้นเกิดจากการบริโภคผ่านตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหารเช่นเดียวกับโลมา โดยพบค่าการปนเปื้อน DA สูงสุดที่สมอง รองลงมา คือ อาหารในลำไส้ จากการประเมินแนวโน้มการได้รับสารพิษจากสาหร่ายที่เป็นอันตรายในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่เกยตื้นบริเวณชายฝั่ง New England ของประเทศอังกฤษ จำนวน 458 ตัว พบว่ามีอัตราการปนเปื้อน DA ร้อยละ 7 โดยพบมากที่สุดในกลุ่มที่อาศัยอยู่นอกชายฝั่ง (offshore) โดยเฉพาะวาฬหลังค่อม (*Megaptera novaengliae*) อย่างไรก็ตาม ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างฤดูกาลกับแหล่งที่ตื้นที่สร้างสารชีวพิษ DA ในบริเวณดังกล่าว โดยตรวจพบค่าการปนเปื้อน DA สูงสุดในอุจจาระ (0.0394 µg/g) รองลงมาคือ อาหารในกระเพาะ (0.200 µg/g) ปัสสาวะ (0.012 µg/g)

และตับ (0.006 µg/g) โดยพบว่าอาหารในกระเพาะมีความถี่ในการตรวจพบ DA ต่ำกว่าในอุจจาระอย่างมีนัยสำคัญ [41] และจากการศึกษาวาฬ 3 ชนิด ที่พบเกยตื้นและปนเปื้อน DA ในบริเวณชายฝั่งเขตอลาสก้า ตลอดระยะเวลา 9 ปี (ค.ศ. 2004-2013) [42] ได้แก่ วาฬหลังค่อม (*Megaptera novaengliae*) พบค่าการปนเปื้อน DA สูงสุดที่อุจจาระ (0.051 µg/g) วาฬหัวคันศร (*Balaena mysticetus*) พบค่าการปนเปื้อน DA สูงสุดที่อุจจาระ (0.359 µg/g) และ วาฬเบลูกา (*Delphinapterus leucas*) พบค่าการปนเปื้อน DA สูงสุดที่อาหารในกระเพาะ (0.007 µg/g) การศึกษาที่บริเวณตะวันออกเฉียงใต้และตอนกลางของมหาสมุทรแอตแลนติก พบว่า อุจจาระของวาฬหัวทุยเล็ก (*Kogia brevicrps*) และวาฬหัวทุยแคระ (*Kogia sima*) มีระดับการปนเปื้อน DA ที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นเนื้อตัวอย่างอื่น และยังถือเป็นตัวบ่งชี้สถานะการปนเปื้อนของ DA ในวาฬ 2 ชนิดนี้ โดยพบมีค่าอยู่ระหว่าง 0.020-13.56 µg/g [43] สำหรับประเทศไทยมีรายงานพบการปนเปื้อน DA ในกลุ่มวาฬครั้งแรก ในวาฬหัวทุยเล็ก (*Kogia brevicrps*) โดยพบความเข้มข้นสูงสุดที่ไต (8.97 µg/g) รองลงมา คือ ตับ (6.09 µg/g) ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าการปนเปื้อน DA ของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมกลุ่มวาฬในประเทศไทย

ทั้งจากข้อมูลการศึกษาก่อนหน้านี้และจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ค่าการปนเปื้อน DA ที่ตรวจพบในวาฬมีความผันแปรไม่สม่ำเสมอในแต่ละประเภทของขึ้นเนื้อตัวอย่าง

โดยมีค่าการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง $nd-8.9 \mu\text{g/g}$ [19] ทั้งนี้ อาจเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย ได้แก่ อายุ เพศ ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัย เช่นเดียวกับที่พบในกลุ่มโลมา

Table 4 Contamination of DA in 5 stranded whales.

Species	Dates	Stranded Provinces	Sex	Concentrations of DA ($\mu\text{g/g}$)							
				Liver	Kidney	Stomach	Intestine	Feces	Brain	Lung	Muscle
วาฬเพชฌฆาตดำ <i>Pseudorca crassidens</i>	Nov 2019	Chonburi	M	nd	nd	nd	-	-	1.88	-	-
	Nov 2020	Chumphon	M	nd	nd	-	-	-	-	-	-
วาฬหัวทุยแคระ <i>Kogia sima</i>	Aug 2019	Phang Nga	F	nd	nd	-	-	-	nd	nd	-
	Jul 2020	Krabi	M	nd	nd	-	-	nd	-	-	nd
วาฬโอมูระ <i>Balaenoptera omurai</i>	Jan 2020	Krabi	M	nd	nd	nd	0.42	-	-	-	-
Average				nd	nd	nd	0.42	nd	0.94	nd	nd
SD				-	-	-	-	-	1.33	-	-
Number (n)				5	5	2	1	1	2	1	2
Number positive for DA				0	0	0	1	0	1	0	0
% positive for DA				0	0	0	100	0	50	0	0
Total				19 samples (nd - 1.88 $\mu\text{g/g}$)							

Note: nd = not detected

3.3 สถานการณ์การปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทย ในช่วง 6 ปี (พ.ศ. 2559-2564)

เนื่องจากข้อมูลการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมของประเทศไทยมีน้อยมาก ดังนั้น เพื่อสามารถแสดงให้เห็นถึงแนวโน้มสถานการณ์การปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมของประเทศไทยได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ผู้วิจัยจึงนำข้อมูลการศึกษาที่ผ่านมา [19] ซึ่งได้ทำการศึกษากการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมครั้งแรกของประเทศไทยในช่วงระหว่างเดือนตุลาคม 2559 ถึง มิถุนายน 2561

มาประกอบการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งผลจากการวิเคราะห์สมการถดถอยแบบเชิงเส้น (Linear Regression) แสดงให้เห็นว่าสถานการณ์ร้อยละการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่ พะยูน โลมา และ วาฬ มีแนวโน้มลดลง โดยสามารถพบการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมได้ทั้งชนิดที่มีแหล่งอาศัยอยู่บริเวณใกล้ฝั่งและห่างฝั่ง โดยพบว่าโลมาปากขวด มีค่าความผันแปรของ DA สูงสุด เมื่อเทียบกับสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น ดังแสดงใน Figure 8 และ Table 5

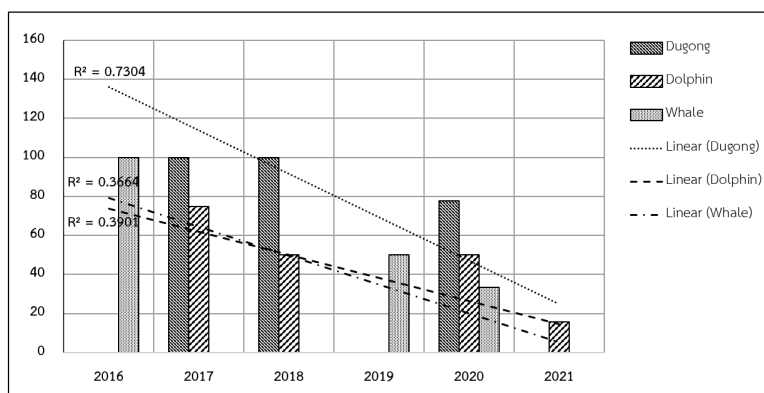


Figure 8 Trends of DA contamination in marine mammals stranded in the past 6 years (2016 - 2021).

DA เป็นสารชีวพิษ ผลิตโดยสิ่งมีชีวิตกลุ่มแพลงก์ตอนพืชสกุล *Pseudo-nitzschia* และ *Nitzschia* ซึ่งมีรายงานความสัมพันธ์ต่ออัตราการป่วยและตายของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มของโลมา วาฬ แมวน้ำ นากทะเล และสิงโตทะเล [42, 44, 45, 46, 47, 48] รวมทั้งเป็นสาเหตุหลักอย่างหนึ่งที่ทำให้สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในต่างประเทศเกยตื้นพร้อมกันเป็นจำนวนมาก (Mass stranding) [7, 8, 18, 49] โดยพบว่า DA เป็นสาเหตุการตายอันดับที่ 3 ของนากทะเล [44] ซึ่งการสะสม DA ในปริมาณมากหรือในระยะเวลาสั้นส่งผลทำให้สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมแสดงอาการป่วยเรื้อรัง อ่อนแอ หรือตายได้ โดย DA จะเข้าไปทำลายสมองส่วนฮิปโปแคมปัส (Hippocampus) ทำให้เกิดรอยโรคในสมองส่วน piriform และหัวใจ ส่งผลทำให้สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม มีอาการผิดปกติของระบบประสาทและทางเดินอาหาร ตาอักเสบ เกิดอาการบวม น้ำของทารกในครรภ์ หรือกรณีที่รุนแรงจะพบว่าเซลล์สมองถูกทำลาย อาจมีอาการชัก สูญเสียความทรงจำ สับสน มึนงง แท้ง หรือตายได้ในทันที [6, 18, 50, 51, 52, 53] สำหรับปริมาณ DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่ปรากฏในรายงานการศึกษาค้นคว้านี้ มีค่าอยู่ระหว่าง $nd-37.29 \mu\text{g/g}$ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับที่ปรากฏในรายงานการศึกษาของต่างประเทศ [17, 42, 48, 54, 55, 56, 57, 58] แสดงให้เห็นถึงความผันแปรของระดับความเข้มข้น

ของการปนเปื้อนที่ควรเฝ้าระวัง เนื่องจากค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้จากการศึกษาค้นคว้านี้ อยู่ในช่วงที่ส่งผลทำให้สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในต่างประเทศแสดงอาการป่วยและตายจากการได้รับสารชีวพิษดังกล่าว ($nd-258 \mu\text{g/g}$) ในรัฐแคลิฟอร์เนียได้กำหนดปริมาณความหนาแน่นของจำนวนแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia australis* ไว้ที่ 5×10^4 เซลล์ต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นเฉลี่ยของพิษในหอยและปลาที่ถือว่าไม่เหมาะสมต่อการนำไปบริโภคของมนุษย์ [59] โดยพบว่าแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* spp. จะสร้าง DA ได้ปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่เลี้ยง [60] เช่นเดียวกับการศึกษา [61] ที่พบว่าอุณหภูมิอาจเป็นปัจจัยสำคัญต่อการสร้างสาร DA ของแพลงก์ตอนพืช โดยพบว่า *Pseudo-nitzschia seriata* ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนั้น ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของแพลงก์ตอนพืชชนิดดังกล่าว จึงส่งผลให้แพลงก์ตอนเกิดความเครียดและตอบสนองโดยการสร้าง DA ในปริมาณที่สูงกว่าที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่า *Pseudo-nitzschia* จะมีความหนาแน่นและปริมาณความเข้มข้นของ DA เพิ่มขึ้นเมื่ออยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูง [62] *Pseudo-nitzschia multiseries* จะสร้าง DA ที่สูงมากในช่วงที่มีความเข้มข้นของซิลิเกตจำกัด [63] และยังพบว่าเมื่อเกิดการสะสมของแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* spp. จะมีการ

สร้างสารชีวพิษ DA ในช่วงที่มีความเข้มข้นของซิติเกดลดลง [64] นอกจากนี้ ธาตุอาหารยังมีบทบาทที่สำคัญมากต่อการผลิต DA ของแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia seriata* โดยเฉพาะอย่างยิ่งซิติเกด [65] อย่างไรก็ตาม เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคสัตว์น้ำที่อาจได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อน DA ในยุโรปและอเมริกาเหนือ บางประเทศจึงประกาศค่ามาตรฐานให้มีสารชีวพิษ ASP ในเนื้อหอย

ได้ไม่เกิน 20 mg/kg ซึ่งเท่ากับปริมาณของกรดโดโมอิก 0.03-0.10 กรัมต่อมื้ออาหาร [13] [66] สำหรับประเทศไทย กรมประมงได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานสารชีวพิษ เพื่อควบคุมไม่ให้มนุษย์บริโภคหอยสองฝาในที่จับสัตว์น้ำที่เป็นแหล่งทะเลที่มีการสะสม

สารชีวพิษ DA ไม่เกิน 20 mg/kg ของน้ำหนักเนื้อหอย [67]

Table 5 DA detection frequencies by 15 marine mammals species.

No.	Marine Mammal Species	Habitat Status [40]	Number of Species	% Positive for DA						Concentration of DA (µg/g)
				Previous study [19]			This study			
				2016	2017	2018	2019	2020	2021	
1	<i>Dugong dugon</i>	nearshore	16	-	100	100	-	77.8	0	nd - 37.29
2	<i>Stenella longirostris</i>	offshore	10	-	-	-	-	100	11.1	nd - 0.87
3	<i>Sousa chinensis</i>	nearshore	3	-	-	100	-	-	0	nd - 42.85
4	<i>Tursiops aduncus</i>	nearshore	6	-	100	100	-	0	0	nd - 68.61
5	<i>Stenella coeruleoalba</i>	offshore	8	-	50	0	-	66.7	50	nd - 8.09
6	<i>Orcaella brevirostris</i>	offshore	3	-	100	0	-	0	-	nd - 16.83
7	<i>Neophocaena phocaenoides</i>	nearshore	8	-	67	50	0	100	100	nd - 4.86
8	<i>Stenella attenuate</i>	offshore	2	-	-	-	-	-	0	nd
9	<i>Steno bredanensis</i>	offshore	1	-	-	-	-	-	0	nd
10	<i>Grampus griseus</i>	offshore	1	-	-	-	-	-	0	nd
11	<i>Pseudorca crassident</i>	offshore	2	-	-	-	100	0	-	nd - 1.88
12	<i>Kogia sima</i>	offshore	3	-	-	0	0	0	-	nd
13	<i>Kogia breviceps</i>	offshore	1	100	-	-	-	-	-	nd - 8.97
14	<i>Balaenoptera omurai</i>	nearshore/ offshore	1	-	-	-	-	100	-	nd - 0.42
15	<i>Globicephala macrorhynchus</i>	offshore	1	-	-	0	-	-	-	nd
Total			66	nd - 68.61 µg/g						

Note: nd = not detected

ปัจจุบันข้อมูลศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในประเทศไทยยังคงมีน้อยมาก ผู้วิจัยเห็นควรมีการศึกษาเรื่องดังกล่าวอย่างต่อเนื่องเพื่อทราบสาเหตุและสถานการณ์การปนเปื้อน รวมทั้งศึกษาในเรื่องของสัญญาณทางคลินิก (Clinical signs) หรือสภาพทางพยาธิวิทยา (Pathology) ที่มีความเชื่อมโยงเกี่ยวข้องประกอบรวม เพื่อสามารถพิสูจน์ทราบสาเหตุการตายและผลกระทบที่เกิดขึ้นจากการปนเปื้อน

DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในน่านน้ำไทยได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้น

4. สรุป

จากการศึกษาการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในน่านน้ำไทย ระหว่างเดือนมิถุนายน 2562 ถึง ธันวาคม 2564 พบสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมปนเปื้อน DA ทั้งหมด 16 ตัว (จาก 46 ตัว) คิดเป็น

ร้อยละ 34.8 ของจำนวนสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมทั้งหมด โดยพะยูนมีร้อยละการปนเปื้อน DA สูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 53.8 ของจำนวนพะยูนทั้งหมด รองลงมาได้แก่ วาฬ คิดเป็นร้อยละ 40 ของจำนวนวาฬทั้งหมด และโลมา คิดเป็นร้อยละ 25 ของจำนวนโลมาทั้งหมด ตามลำดับ ความเข้มข้นของ DA มีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง $nd-37.29 \mu\text{g/g}$ โดยในฤดูแล้งพบร้อยละการปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมมากกว่าฤดูฝน โดยที่พะยูนมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดในกล้ามเนื้อ ($7.79 \pm 16.50 \mu\text{g/g}$) โลมามีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดที่อาหารในกระเพาะ ($0.44 \pm 0.87 \mu\text{g/g}$) และวาฬมีค่าเฉลี่ยการปนเปื้อน DA สูงสุดในสมอง ($0.94 \pm 1.33 \mu\text{g/g}$) การศึกษาครั้งนี้ พบอุบัติการณ์การปนเปื้อน DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมชนิดใหม่ 3 ชนิด ได้แก่ โลมากระโดด วาฬเพชฌฆาตดำ และวาฬโอมูระ จากการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบข่าวสารชีวพิษ DA ที่ผลิตจากแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมสามารถทำให้เกิดการปนเปื้อนและสะสมในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในน่านน้ำไทย ซึ่งข้อมูลที่ได้ถือเป็นส่วนสำคัญในการสืบทราบถึงสาเหตุการเจ็บป่วยและตายของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมในน่านน้ำไทยต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มตรวจสอบคุณภาพทางเคมี กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลืองานในห้องปฏิบัติการอย่างดียิ่ง รวมถึงขอขอบคุณทีมงานสัตวแพทย์กลุ่มสัตว์ทะเลหายาก สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ได้แก่ น.สพ.ธนพรรณ ขมชื่น สพ.ญ.วัชรวิศา ศากรวิมล สพ.ญ.สุนันท์นิ พูลสวัสดิ์ และ สพ.ญ.ขวัญญา เจียรกัญญ์ ที่ช่วยในการเก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมอย่างดียิ่งตลอดมา

6. ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะ

ข้อจำกัดในเรื่องจำนวนตัวอย่างของสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมที่รวบรวมได้มีจำนวนน้อย เนื่องจากซากสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมส่วนใหญ่ที่เกยตื้นจะเน่าไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้ จึงควรทำการเก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างเพื่อศึกษาเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่อง เพื่อจะสามารถทำให้มีความเข้าใจถึงสถานการณ์การปนเปื้อนของ DA ในสัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนมของประเทศไทยได้ดียิ่งขึ้น

7. References

- [1] Department of Marine and Coastal Resources, 2017, Report on the status of rare marine animals 2017, Bangkok, 22 p.
- [2] The working group prepares status information and plans for measures to conserve marine mammals for reporting in the system, 2022, National Action Plan for the Conservation and Management of Marine Mammals 2023 - 2027, Department of Marine and Coastal Resources. Bangkok, 33 p.
- [3] Kanchana, A., Surasak, T., Teerawat, P. and Phaothep, C., 2014, Handbook of Marine Mammal Species and Sea Turtles in Thailand, Department of Marine and Coastal Resources: Ministry of Natural Resources and Environment, National Buddhism Office Printing, 98 p.
- [4] Todd, E.C.D., 1993, Domoic Acid and Amnesic Shellfish Poisoning - A Review, Journal of food protection, 56 : 68-83
- [5] Brodie, E.C., Gulland, F.M.D., Greig, D.J., Hunter, M., Jaakola, J., St Leger, J., Leighfield, T.A. and Van Dolah F.M., 2006, Domoic acid causes reproductive failure

- in california sea lions (*Zalophus californianus*), Marine Mammal Science, 22 (3): 700-707
- [6] Silvagni, P., Lowenstine, L.J, Spraker, T., Lipscomb, T.P. and Gulland, F.M., 2005, Pathology of domoic acid toxicity in California sea lions (*Zalophus californianus*), Veterinary Pathology, 42: 184-191
- [7] Gulland, F., 2000, Domoic Acid Toxicity In California Sea Lions (*Zalophus Californianus*) Stranded Along The Central California Coast, May-October 1998, pp. 1-48, In Report to the National Marine Fisheries Service Working Group on Unusual Marine Mammal Mortality Events, NOAA Technical Memorandum, Washington, DC, USA
- [8] Kreuder, C., Miller, M.A. and Jessup, D.A., 2003, Patterns of mortality in southern sea otters (*Enhydra lutris nereis*) from 1998-2001, Journal of Wildlife Diseases, 39: 495-509
- [9] Bates, S.S., Katherine, A. H., Nina, L., Marina, M. and Chui, P. L., 2018, *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: new research since 2011, Elsevier, 79: 3-43
- [10] Kotaki Y., Koike, K., Yoshida, M., Thuoc, C.V., Huyen, N.T.M., Chu Hoi, N., Fukuyo, Y. and , Kodama, M. 2008, Domoic Acid Production in *Nitzschia* sp. (Bacillariophyceae) Isolated From a Shrimp-Culture Pond in Doson, Vietnam, Journal of Phycology, 36: 1057-1060
- [11] Quilliam, M.A., 2003, Chemical methods for domoic acid, the amnesic shellfish poisoning (ASP) toxin, pp. 247-265, In Hallegraeff, G.M., Anderson D.M. and Cembella A.D. (Eds), Manual on Harmful Marine Microalgae, Monographs on Oceanographic Methodology, Vol II. Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission (UNESCO)
- [12] Zabaglo, K., Chrapusta, E., Bober, B., Kaminski, A., Adamski M. and Bialczyk, J., 2016, Environmental roles and biological activity of domoic acid: A review, Algal Research, 13: 94 -101
- [13] Oning, V., 2017, Domoic acid contamination process in marine organisms: case on the east coast of the Gulf of Thailand, Doctor of Philosophy (Marine Science), Kasetsart University, Thesis, 201 p.
- [14] Kvitek, R., Judh D. G., G. Jason S. and Gregory J. D., 2008, Domoic acid contamination within eight representative species from the benthic food web of Monterey Bay, California, USA, Marine Ecology Progress Series, 367: 35-47
- [15] Andjelkovic, M., Vandevijvere, S., Van Klaveren, J., Van Oyen, H. and Van Loco, J., 2012, Exposure to domoic acid through shellfish consumption in Belgium, Environment International, 49: 115-119
- [16] Bejarano, A.C., VanDola. F. M., Gulland, F.M., Rowles, T.K. and Schawacke, L.H., 2008, Production and Toxicity of the Marine Biotxin Domoic Acid and Its Effects on Wildlife: A Review, Human and Ecological Risk Assessment, 13: 544-567
- [17] Lefebvre, K.A, Bargu, S., Kieckhefer, T. and Silver, M.W., 2002, From sanddabs to

- blue whales: the pervasiveness of domoic acid, *Toxicon* 40 (7): 971-977
- [18] Scholin, C.A., Gulland, F., Doucette, G. J., Benson, S., Busman, M., Chavez, F. P. Cordaro, J., DeLong, R., Vogelaere, A. D., Harvey, J., Haulena, M., Lefebvre, K., Lipscomb, T., Loscutoff, S., Lowenstine, L. J., Marin R., Miller, P.E., McLellan, W.A., Moeller, P.D., Powell, C.L., Rowles, T., Silvagni, P., Silver, M., Spraker, T., Trainer, V. and Van Dolah, F.M., 2000, Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom, *Nature*, 403 (6765): 80-84.
- [19] Thitima, N., Narumo, I. K., Supanoi S. and Rachawadee C., 2019, Contamination of Biotxin, Domoic Acid in Stranded Marine Mammals in Thai Water, *Burapha Science Journal*, 24 (22): 550-567
- [20] Trainer, V.L., Adams, N.G., Bill, B.D., Carla, M.S., John C.W., Peter, M., Mark, B. and Woodruff, D., 2000, Domoic acid production near California coastal upwelling zones, June 1998, *Limnology and Oceanography*, 45(8): 1818-1833
- [21] Oning, V., Shettapong, M. and Thaithaworn, L., 2017., Domoic acid contamination in fish from Sriracha bay, Chonburi province, Thailand, *Journal of Fisheries and Environment*, 41(3): 48-56
- [22] Lefebvre, K.A., Silver, M.W., Coale, S.L. and Tjeerdema, R.S., 2002. Domoic acid in planktivorous fish in relation to toxic *Pseudo-nitzschia* cell densities, *Marine Biology*, 140: 625-631
- [23] Riva, G.T., Johnson, C.K., Gulland, F.M.D, Langlois, G.W. , Heyning, J.E., Rowles, T.K. and Mazet, J.A.K., 2009, Association of an unusual marine mammal mortality event with *Pseudo-nitzschia* spp. Blooms along the southern California coastline, *Journal of Wildlife Disease*, 45(1): 109-121
- [24] Atcharaporn P., 2009, Changes in the composition and abundance of potentially harmful phytoplankton coastal area Samut Sakhon Province - Samut Songkhram, Printing House of the Agricultural Cooperatives Association of Thailand, Bangkok, 176 p.
- [25] Kongkiat, P. and Varin, T., 2556, Relationship between Dominant Red Tide Phytoplankton and Water Quality in Samutsakhon Province Coast, Technical Paper 2023, Coastal Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, 60 p.
- [26] Ruamsub, C., 2004, Relationship between phytoplankton that causes sea water color change phenomenon and water quality along the coast of Bang Khun Thian Sea, Department of Marine and Coastal Resources, Bangkok, Technical Paper, 5: 1-32
- [27] Ruamsub, C., 2006, Phytoplankton of Red Tide Phenomenas in The Upper Gulf of Thailand, Academic Document, No. 1/2006. Phuket Marine Biological Center, Department of Marine and Coastal Resources, Ministry of Natural Resources and Environment, 96 p.

- [28] Nakanishi, Y., Adulyanukosol, K., Arai, N., and Hosoya, S., 2009, Dugong grazing scars confirmed in *Enhalus acoroides* meadows, *Journal of Advanced Marine science and Technology Society*, 14(2): 1-8
- [29] Sheppard, J. K., Lawler, I. R., and Marsh, H., 2007, Seagrass as pasture for seacows: Landscape-level dugong habitat evaluation, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 71: 117-132
- [30] Department of Marine and Coastal Resources, 2017, National Dugong Conservation Plan Phase 1 (2020-2022), Bangkok, 27 p.
- [31] Thitima, N., 2010, Epiphytic Diatom on Seagrass Blade at Ban Pa Khlok, Phuket Province, Master of Science. Kasetsart University, Bangkok, Thesis, 327 p.
- [32] Nipaporn, C., 1994, Biology and electron microscopic structure of the diatom *Nitzschia* sp. Master of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thesis, 123 p. (in Thai)
- [33] Sullivan, M.J., 1979, Epiphytic Diatom of Three Seagrass Species in Mississippi Sound, *Bulletin of Marine Science*, 29(4): 459-464
- [34] Sullivan, M.J., 1983, Community Structure of Epiphytic Diatom from the Gulf Coast of Florida, USA, pp. 374-384., In *Proceedings of the 7th Symposium on Recent and Fossil Diatom*. Otto Koeltz Press, Koengstein
- [35] Chang, M.H. and Lee, K.S., 2008, Species Composition of the Epiphytic Diatoms on the Leaf Tissues of Three *Zostera* Species Distributed on the Southern Coast of Korea, *Algae*, 23(3): 75-81
- [36] Cheng, A., 2016, Benthic algae and diatom communities in seagrass meadows under three different human impact regimes in Bocas del Toro, Panamá, SIT Graduate Institute, Carleton College, 24 p.
- [37] Vanessa, C.d.R. and Margareth, C., 2022, Diversity and Variation of Epiphytic Diatoms on *Ruppia maritima* L., Related to Anthropogenic Impact in an Estuary in Southern Brazil, *Diversity*, 14: 1-25
- [38] Patrawut, T., Chetphong, M. and Chalutip, J., 2018, Accumulation of Heavy Metals in Aquatic Environment and Impacts on Irrawady Dolphins in Trat bay, Trat Province, In *Research Project in the Category of Income budget from government subsidies (national budget) For the fiscal year 2018*, Burapha University, 64 p.
- [39] Department of Marine and Coastal Resources, Knowledge Mamagment, Available Source: https://km.dmcrc.go.th/c_1/s_96/d_4209, March, 2023
- [40] Kanjana, A., Surasak, T., Teerawat, P., and Poathep, C., 2014, Field Guide to Marine Mammals and Turtles of Thailand, Department of Marine and Coastal Resources, Bangkok, 96 p. (in Thai)
- [41] Fire, E.F.,Andrea, B., Robert, A.D.,Greg, E.,Tod, A. L., Keith, M.,Glenn, A. M., Kathleen, M. T. M.,Michael, M., Misty, N., Katie, P., Zhihong, W., Frederick, W. W., 2021, An assessment of temporal, spatial and taxonomic trends in harmful algal toxin exposure in stranded marine mammals

- from the U.S. New England coast, Available Source: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243570>, March, 2023
- [42] Lefebvre, K. A., Quakenbush, L., Frame, E., Burek Huntington, K., Sheffield, G., Stimmelmayer, R., Bryan, A., Kendrick, P., Ziel, H., Dickerson, B. and Gill, V., 2016, Prevalence of algal toxin in Alaskan marine mammals foraging in a changing arctic and subarctic environment, *Harmful Algae*, 55: 13 - 24
- [43] Fire, S.E., Wang, Z., Leighfield, T.A., Morton, S.L., McFee, W.E., McLellan, W.A., Litake, R.W., Tester, P.W., Hohn, A.A., Lovewell, G., Harms, C., Rotstein, D.S., Barco, S.G., Costidis, A., Sheppard, B., Bossart G.D., Stolen, M., Durden, W.N. and Van Dolah, F.M., 2009, Domoic acid exposure in pygmy and dwarf sperm whales (*Kogia* spp.) from southeastern and mid-Atlantic U.S. waters. *Harmful Algae*, 8, 658-664.
- [44] Parker, A., Corinne, G., Raphael, K., Megan, M., Christine, K.J. and Melissa M., Distribution of the neurotoxin domoic acid (DA) among various tissues and bodily fluids of naturally-exposed, DA-positive southern sea otter (*Enhydra lutris nereis*), Available Source: <https://www.vetmed.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk491/files/inline-files/Parker.pdf>, March, 2023
- [45] De la Riva, G.T., Christine, K. J., Jonna, A.K. M., Frances, M.D.G., Gregg, L., John, H. and Teri, R., 2006, Marine Mammal Strandings Along the Southern California Coast Associated With Domoic Acid Producing Algal Blooms, In IAAAM Conference Proceeding, Retrieved September 15, 2018, Available Source: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11215&meta=Generic&catId=31320&id=3981151&ind=117&objTypeID=17>
- [46] De la Riva, G.T., Johnson, C.K., Gulland, F.M.D., Langlois, G.W., Heyning, J.E., Rowles, T.K. and Mazet, J.A.K., 2009, Association of an unusual marine mammal mortality event with *Pseudo-nitzschia* spp. blooms along the Southern California coastline, *Journal of Wildlife Diseases*, 45: 109-121
- [47] Bargu, S., Mary S., Tracey, G., Kathryn, R. and Frances, G., 2010, Complexity of domoic acid-related sea lion strandings in Monterey Bay, California: foraging patterns, climate events, and toxic blooms, *Marine Ecology Progress Series*, 418: 213-222
- [48] Fire, S.E., Wang, Z., Byrd, M., Whitehead, H.R., Paternoster, J. and Morton, S.L., 2011, Co-occurrence of multiple classes of harmful algal toxins in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) stranding during an unusual mortality event in Texas, USA. *Harmful Algae*, 10, 330-336
- [49] Silvagni, P., Lowenstine, L.J., Spraker, T., Lipscomb, T.P. and Gulland, F.M., 2005, Pathology of domoic acid toxicity in California sea lions (*Zalophus californianus*), *Vet. Pathology Journal*, 42: 184-191
- [50] Ramsdell, J.S. and Zabka, T.S., 2008, In utero domoic acid toxicity: a fetal basis

- to adult disease in the California sea lion (*Zalophus californianus*). Mar Drugs, 6(2), 262-290. Royal Thai Government Gazette. (2018). Criteria for Toxins and Bacteria in Bivalve, 161, p. 47-48.
- [51] Gulland, F.M.D., Leslie, A.D. and Kary, L.W., 2018, CRC Handbook of Marine Mammal Medicine, Boca Raton: Taylor & Francis Group, p. 319-327
- [52] Gulland, F.M.D., Haulena, M., Fauquier, D., LangLois, G., Lander, M.E., Zabka, T., and Duerr, R., 2002, acid toxicity in Californian sea lions (*Zalophus californianus*): clinical signs, treatment and survival, Veterinary Record, 150(15): 475-480
- [53] Nash, S.B., Baddock, M.C., Takahashi, E., Dawson, A., Cropp, R., 2017, Domoic acid poisoning as a possible cause of seasonal cetacean mass stranding events in Tasmania, Australia. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology 98, 8-13
- [54] Fire, S.E., Wang, Z., Leighfield, T.A., Morton, S.L., McFee, W.E., McLellan, W.A., Litake, R.W., Tester, P.W., Hohn, A.A., Lovewell, G., Harms, C., Rotstein, D.S., Barco, S.G., Costidis, A., Sheppard, B., Bossart G.D., Stolen, M., Durden, W.N. and Van Dolah, F.M., 2009, Domoic acid exposure in pygmy and dwarf sperm whales (*Kogia* spp.) from southeastern and mid-Atlantic U.S. waters Harmful Algae, 8: 658-664
- [55] Twiner, M.J., Flewelling, L.J., Fire S.E., Bowen-Stevens, S.R., Gaydos, J.K., Johnson, C.K., Landsberg, J.H., Leighfield, T.A., Mase-Guthrie, B., Schwacke, L., Van Dolah, F.M., Wang, Z. and Rowles, T.K., 2012, Comparative Analysis of Three Brevetoxin-Associated Bottlenose Dolphin (*Tursiops truncatus*) Mortality Events in the Florida Panhandle Region (USA), PLOS ONE, 7:1-19
- [56] Lefebvre, K. A., Alison, R., Elizabeth, R. F., Kathleen, M. C., Shelly, N., Keri, A. B., Heather, W. and Frances, M.D.G., 2010, Clinical signs and histopathology associated with domoic acid poisoning in northern furseals (*Callorhinus ursinus*) and comparison of toxin detection methods, Harmful Algae, 9:374-383.
- [57] Fire, S.E., Wang, Z., Berman, M., Langlois, G.W., Morton, S.L., Sekula-Wood, E. and Benitez-Nelson, C.R., 2010, Trophic Transfer of the Harmful Algal Toxin Domoic Acid as a Cause of Death in a Minke Whale *Balaenoptera acutorostrata* Stranding in Southern California. Aquatic Mammals, 36(4): 342-350
- [58] Twiner, M. J., Spencer, F., Lori, S., Leigh, D., Zhihong, W., Steve, M., Stephen, R., Brian, B., Teresa, K. R. and Randall, S. W., 2011, Concurrent Exposure of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) to Multiple Algal Toxins in Sarasota Bay, Florida, USA, PLOS ONE, 7:1-15
- [59] Busse, L.B., Venrick, E.L., Antrobus R., Miller, P.E., Vigilant, V., Silver, M.W., Mengelt, C., Mydlarz L. and Prezelin, B.B., 2006, Domoic acid in phytoplankton and fish in San Diego, CA, USA. Harmful Algae, 5: 91-101

- [60] Bates, S.S., 1998, Ecophysiology and Metabolism of ASP Toxin Production, Physiological ecology of harmful algal blooms, 405-426
- [61] Fehling, J., Green, D.H., Davidson, K., Bolch, C.J. and Bates, S.S., 2004, Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia seriata* (Bacillariophyceae) in Scottish water, Journal Phycology, 40: 622-630
- [62] Liefer, J.D., Robertson, A., MacIntyre, H.L., Smith W.L. and Dorsey, C.P., 2013, Characterization of a toxic *Pseudo-nitzschia* spp. bloom in the Northern Gulf of Mexico associated with domoic acid accumulation in fish, Harmful Algae, 26: 20-32
- [63] Bates, S.S. and Richard, J., 1995, Domoic acid production and cell division by *P. multiseriata* in relation to a light: dark cycle in silicate-limited chemostat culture, Harmful Marine Algae Blooms, 140-143
- [64] Bates, S.S., Garrison, D. and Horner, R., 1998, Bloom Dynamics and Physiology of Domoic Acid Producing *Pseudo-nitzschia Species*, Physiological ecology of harmful algal blooms, 267-292
- [65] Fehling, J., Davidson, K., Bolch, C.J. and Bates, S.S., 2004, Growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia seriata* (Bacillariophyceae) under phosphate and silicate limitation, Journal Phycology, 40: 674-683
- [66] FAO. 2004, Marine biotoxins. 133-134 pp., Available Source: https://www.google.co.th/books/edition/Marine_Biotoxins/9fEfCzh5DXwC?hl=th&gbpv=1&dq=Marine+biotoxins+FAO+FOOD+AND+NUTRITION+PAPER&printsec=frontcover, July, 2023
- [67] Royal Thai Government Gazette, 2018, Criteria for Toxins and Bacteria in Bivalve, 161: 47-48 (in Thai)