

กรดโดโมอิกในเต่าตนุเกยตื้นบริเวณชายฝั่งอันดามัน ของประเทศไทย

Domoic Acid in Stranded Green Turtle in Andaman Coast of Thailand

ฐิติมา นียมศิลป์ชัย^{1*}, สุภาน้อย ทรัพย์สินเสริม², นฤมล กรคนิตนันท์¹, ปิยรัตน์ คุ่มรักษา³,
ราชาวดี จันทรา⁴

¹สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรุงเทพมหานคร 10210

²กองตรวจสอบคุณภาพปลิ้นค้าประมง กรมประมง กรุงเทพมหานคร 10900

³ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอันดามันตอนล่าง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง ตรีัง 92150

⁴ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง สมุทรสาคร 74000

Thitima Niyomsilpchai^{1*}, Supanoi Subsinserm², Narumol Kornkanitnan¹,
Piyarat Khumraksa³, Rachawadee Chantra⁴

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

³ Marine and Coastal Resources Research Center, Lower Andaman sea, Department of Marine
and Coastal Resources, Trang 92150

⁴ Marine and Coastal Resources Research Center, Upper Gulf of Thailand,
Department of Marine and Coastal Resources, Samut Sakhon 74000

Received 3 April 2023; Received in revised 7 June 2023; Accepted 16 June 2023

บทคัดย่อ

ศึกษาการปนเปื้อนกรดโดโมอิกในเต่าตนุ (*Chelonia mydas*) ที่เกยตื้นเสียชีวิตบริเวณชายฝั่งอันดามัน ประเทศไทย ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2563 จำนวน 12 ตัว ผลการศึกษาพบเต่าตนุปนเปื้อนกรดโดโมอิก 11 ตัว คิดเป็นร้อยละ 92 ของจำนวนเต่าตนุที่ศึกษาทั้งหมด โดยตรวจวัดค่าได้อยู่ในช่วง ตรวจไม่พบ-16.24 $\mu\text{g/g}$ พบว่า ตับของเต่าตนุมีค่าเฉลี่ยกรดโดโมอิกสูงสุด (2.61 ± 4.46) รองลงมา ได้แก่ ไต (2.49 ± 5.20) อาหารในกระเพาะ (1.17 ± 1.65) อูจจาระ (0.92 ± 1.63) และกล้ามเนื้อ (0.85 ± 1.45) ตามลำดับ ทั้งนี้ ในหลายประเทศพบว่ากรได้รับสารชีวพิษหลายชนิดที่สร้างจากแพลงก์ตอนพืช ทำให้เกิดการเกยตื้นอย่างผิดปกติของสัตว์ทะเลหายาก (ทั้งแบบที่มีและไม่มีชีวิต) ซึ่งรวมทั้งเต่าทะเล อย่างไรก็ตามในส่วนของประเทศไทย การศึกษาการปนเปื้อนสารชีวพิษกรดโดโมอิก

ในเต่าทะเลเกยตื้นครั้งนี้ถือเป็นการศึกษาครั้งแรก ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อให้มีความเข้าใจมากขึ้นเกี่ยวกับสารชีวพิษจากแพลงก์ตอนพืช และผลกระทบที่เกิดต่อเต่าทะเล ซึ่งเป็นสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ของประเทศไทย

คำสำคัญ: กรดโดโมอิก; เต่าตนุ; ชายฝั่งอันดามันของประเทศไทย

Abstract

Exposure to domoic acid was determined in 12 stranded green turtles on the Andaman coast, Thailand from March-November 2020. The results revealed that 92% (11/12) of the stranded green turtles were positive for domoic acid concentrations ranging between not detected and 16.24 µg/g. The highest average concentration was detected in the liver (2.61±4.46 µg/g), followed by the kidneys (2.49±5.20 µg/g), stomach contents (1.17±1.65 µg/g), feces (0.92±1.63 µg/g), and muscles (0.85±1.45 µg/g). In many countries, exposure to biotoxins, produced by phytoplankton can result in unusual strandings (dead and alive) of marine wildlife. However, in Thailand, this study is the first report of domoic acid in stranded sea turtles. More research is needed for a better understanding of the phytoplankton biotoxins in the marine food web and their impact on sea turtles, which are marine endangered species in Thailand.

Keywords: Domoic acid; Green turtle; Andaman coast of Thailand

1. บทนำ

ปัจจุบันในประเทศไทยพบเต่าทะเล รวม 5 ชนิด ได้แก่ เต่าตนุ (Green turtle) เต่ากระ (Hawksbill turtle) เต่าหญ้า (Olive ridley turtle) เต่ามะเฟือง (Leatherback turtle) และเต่าหัวค้อน (Loggerhead turtle) ซึ่งเต่าทะเลทั้ง 5 ชนิด ถูกจัดเป็นสัตว์ป่าสงวนและคุ้มครองตามพระราชบัญญัติสงวนและคุ้มครองสัตว์ป่า พ.ศ. 2535 และยังได้รับการคุ้มครองตามอนุสัญญาว่าด้วยการค้าระหว่างประเทศซึ่งพันธุ์พืชป่าและสัตว์ป่าที่ใกล้สูญพันธุ์ (CITES) โดยเต่าทะเลทุกชนิดจัดอยู่ในรายชื่อ CITES บัญชี 1 เนื่องจากอยู่ในภาวะใกล้สูญพันธุ์อย่างยิ่ง (Critically Endangered, CR) [1, 2] ในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2563 ถึงกันยายน พ.ศ. 2564 พบการเกยตื้นของสัตว์ทะเลหายากรวม 828 ตัว โดยเต่าทะเลเกยตื้นสูงสุด 506 ตัว (ร้อยละ 61) รองลงมา ได้แก่ โลมาและวาฬ 294 ตัว (ร้อยละ 36) และพะยูน 28 ตัว (ร้อยละ 3) โดยร้อยละ 38 ของเต่าทะเลที่เกยตื้นเป็นการ

เกยตื้นแบบมีชีวิต สามารถนำมาอนุบาลฟื้นฟูสุขภาพจนแข็งแรงและปล่อยกลับคืนสู่ธรรมชาติได้ ซึ่งในอนาคตคาดว่าแต่ละปีจะมีแนวโน้มสัตว์ทะเลหายากเกยตื้นเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากคุณภาพสิ่งแวดล้อมที่เสื่อมโทรมลง รวมถึงความเสี่ยงที่เกิดตามธรรมชาติและกิจกรรมการใช้ประโยชน์ทางทะเลของมนุษย์ นอกจากนี้ความก้าวหน้าในเรื่องของเทคโนโลยีที่ทำให้มีการรับแจ้งข้อมูลการเกยตื้นที่สะดวก รวดเร็วมากขึ้น [2] ในต่างประเทศ พบหลายเหตุการณ์ที่เต่าทะเลจำนวนมากเกยตื้นตายอย่างผิดปกติ เนื่องจากได้รับสารชีวพิษที่ถูกสร้างจากแพลงก์ตอนพืชผ่านทางกรกินอาหาร อาทิ ประเทศเอลซัลวาดอร์ พบเต่าทะเลจำนวนมากเกยตื้นตาย ที่ชายฝั่งมหาสมุทรแปซิฟิก ในปี 2013 และ 2017 โดยเต่าทะเลที่ตายมีสภาพสมบูรณ์ไม่พบอาการบาดเจ็บ โดยจากข้อมูลการศึกษาภาพถ่ายดาวเทียมในพื้นที่ดังกล่าวพบปริมาณคลอโรฟิลล์เอคอนข้างสูง และการเกยตื้นของเต่าทะเลมีความสัมพันธ์กับการสะสมของแพลงก์ตอนพืช *Pyrodinium*

bahamense ที่พบในช่วงเวลาเดียวกัน ซึ่งเป็นชนิดที่สามารถสร้างสารชีวพิษ Paralytic Shellfish Poisoning (PSP) ได้ โดยนักวิทยาศาสตร์ให้ข้อสรุปว่าการสะสมของแพลงก์ตอนพืชชนิดนี้เป็นสาเหตุของการเกิดตายอย่างผิดปกติของเต่าทะเลบริเวณดังกล่าว [3] นอกจากนี้ยังพบว่าบริเวณชายฝั่งตะวันออกเฉียงใต้ของรัฐฟลอริดา ในช่วงฤดูใบไม้ร่วง ปี 2014 ถึงฤดูหนาว ปี 2015 มีการเกิดตายอย่างผิดปกติของเต่าตนุวัยอ่อนจำนวนมาก โดยเต่าตนุที่เกยตื้นนั้น มีสภาพร่างกายสมบูรณ์ และพบว่าหลายตัวที่มีอาการทางระบบประสาท กล้ามเนื้ออ่อนแรง ซึ่งพบว่าเต่าตนุจำนวนหนึ่งที่พบมีอาการผิดปกตินั้นตรวจพบการปนเปื้อนของสารชีวพิษกรดโดโมอิก (Domoic Acid: DA) มีค่าสูงในตัวอย่าง อูจจาระ อาหารในกระเพาะ อาหารในลำไส้ และไต [4]

แพลงก์ตอนพืชทะเลมีจำนวนมากกว่า 5,000 ชนิด ในจำนวนนี้ประมาณ 80 ชนิด สามารถผลิตสารชีวพิษได้ [5] สำหรับสารชีวพิษ DA ผลิตโดยไดอะตอมสกุล *Nitzschia* และ *Pseudo-nitzschia* [6, 7, 8, 9] นอกจากนี้ยังพบว่าอุบัติการณ์เกิดสารชีวพิษ DA มีความสัมพันธ์กับการสะสมของแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* spp. และ *Nitzschia* spp. [10, 11, 12, 13] สำหรับในประเทศไทยพบแพลงก์ตอนพืชสกุล *Pseudo-nitzschia* และ *Nitzschia* แพร่กระจายอยู่บริเวณชายฝั่งทั่วไป [14] ระหว่างปี พ.ศ. 2500-2544 ยังพบว่า *Pseudo-nitzschia* spp. เป็นแพลงก์ตอนที่เป็นสาเหตุของปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี โดยแพลงก์ตอนพืชดังกล่าวจะถูกถ่ายทอดผ่านระบบห่วงโซ่อาหารมายังผู้บริโภคลำดับสุดท้าย อันได้แก่ สัตว์ทะเลเลี้ยงลูกด้วยนม ตลอดจนมนุษย์ที่บริโภคสิ่งมีชีวิตที่สะสมสารชีวพิษดังกล่าวเข้าไป โดย DA เป็นพิษต่อระบบประสาทและทางเดินอาหาร (Amnesic Shellfish Poisoning: ASP) [15, 16] ทั้งนี้ การได้รับสารชีวพิษเหล่านี้อาจส่งผลให้เกิดการเกยตื้น (ทั้งแบบตาย และมีชีวิต) ของสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ ดังเช่น เต่าทะเล นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงในชีวเคมีของเลือด ภูมิคุ้มกัน และ

การทำงานของระบบประสาทที่มีผลต่อสุขภาพของสัตว์เหล่านั้น [17] ในต่างประเทศ ได้มีการศึกษาการปนเปื้อน DA ในเต่าทะเล รวมทั้งอุบัติการณ์การเกยตื้นอย่างผิดปกติของเต่าทะเลอันเนื่องจากการได้รับสารชีวพิษที่สร้างจากแพลงก์ตอนพืช สำหรับการศึกษาการปนเปื้อนสารชีวพิษ DA ในเต่าทะเลเกยตื้นครั้งนี้ถือเป็นการศึกษารั้งแรกในประเทศไทย วัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงสถานการณ์ DA ในเต่าตนุที่พบเกยตื้นบริเวณชายฝั่งอันดามันของประเทศไทย รวมทั้งสถานการณ์ภัยคุกคามจากสารชีวพิษที่สร้างจากแพลงก์ตอนพืชอันอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ สามารถนำข้อมูลที่ได้มาใช้เป็นแนวทางในการจัดการ ฝ้าระวังและลดผลกระทบจากการปนเปื้อนสารชีวพิษในเต่าทะเลของประเทศไทยต่อไปในอนาคต

2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 พื้นที่ศึกษา ชายฝั่งทะเลอันดามันของประเทศไทย แสดงดัง Figure 1

2.2 การเก็บตัวอย่าง เก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างเต่าตนุที่มีสภาพสด จำนวนรวม 12 ตัว โดยเป็นเต่าตนุที่เสียชีวิตระหว่างเดือนมีนาคม-พฤศจิกายน พ.ศ. 2563 โดยเก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่าง ดับ ไต อาหารในกระเพาะ อูจจาระ และเนื้อเยื่อที่มีสภาพสด ได้รวมทั้งสิ้น 47 ชิ้นเนื้อ และรักษาสภาพตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่าง ตามวิธีการของ Quilliam [18]

2.3.1 การคำนวณปริมาณ DA จากสารละลายมาตรฐาน

2.3.1.1 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 mmx150 mm บรรจุด้วย C18 ขนาดอนุภาค 5 μm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพื้นที่ Peak ของ DA ที่ความยาวคลื่น 242 nm กับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานของ DA ที่ความเข้มข้น 0, 5, 20 และ 50 $\mu\text{g/ml}$

2.3.1.2 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 $^{\circ}\text{C}$

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

2.3.2 การคำนวณปริมาณ DA จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง

2.3.2.1 การเตรียมตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 4 กรัมในบีกเกอร์ หลังจากนั้นเติม 50% เมธานอล 16 มิลลิลิตร นำไปปั่นให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันนาน 1 นาที และนำไป Centrifuge ที่ 3,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที กรองด้วยแผ่นกรองไนลอนขนาด 0.2 ไมครอน

2.3.2.2 นำตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง ฉีดเข้าเครื่อง HPCL ซึ่งประกอบด้วยชุดตรวจวัดสารชนิด UV Detector ความยาวคลื่น 242 นาโนเมตร เวลาในการฉีดสารละลาย คือ 15 นาที กำหนดอัตราการไหลของสาร ที่ 1 มิลลิลิตร/นาที และสำหรับสารละลายเฟสเคลื่อนที่ คือ 10% Acetonitrile: 0.1 % TFA

2.3.2.3 นำค่าพื้นที่ใต้กราฟของตัวอย่างสารละลายที่สกัดได้จากชิ้นเนื้อตัวอย่าง มาเทียบหาปริมาณ DA โดยใช้กราฟมาตรฐาน

2.4 วิธีการควบคุมคุณภาพของการทดสอบ

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

2.4.2 การสร้าง Standard Calibration

curve ทุกครั้งที่ทดสอบ ค่า $r \geq 0.995$

2.4.3 การทดสอบ Fortified sample ทุก 5% ของตัวอย่าง % recovery จะต้องอยู่ในช่วง 80-110 %

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

2.4.5 การทดสอบซ้ำ (Duplicate) ทุก 5% ของตัวอย่าง % RPD จะต้อง $\leq 10\%$ โดยทำการ Duplicate ตัวอย่างเดียวกัน โดยทำตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

2.4.6 การทดสอบ Blank (Mobile Phase) ทำก่อนการทดสอบ Standard 0.517 $\mu\text{g/ml}$ ปิดท้ายไม่พบสัญญาณ Peak ที่สนใจ

2.4.7 การทดสอบ Standard 0.517 $\mu\text{g/ml}$ ปิดท้ายหลังฉีดตัวอย่าง ทุกครั้งที่ทดสอบ Retention time อยู่ในช่วง ± 0.5 min และความเข้มข้นของสารมาตรฐาน % RPD $\leq 10\%$

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูล โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณการปนเปื้อน DA ในแต่ละประเภทชิ้นเนื้อตัวอย่าง

2.6 ระยะเวลาที่ศึกษา ระหว่างเดือนมีนาคม ถึง พฤศจิกายน พ.ศ. 2563

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจพบในแต่ละประเภทชิ้นเนื้อตัวอย่าง (47 ตัวอย่าง)

แต่ตานุเกยตันตายที่มีสภาพสด และถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณ DA ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นแต่ตานุที่เกยตันในจังหวัดกระบี่ ตรัง และสตูล (Figure 1) มีจำนวนทั้งสิ้น 12 ตัว รวม 47 ตัวอย่าง ได้แก่ ตับ (10 ตัวอย่าง) ไต (10 ตัวอย่าง) อาหารในกระเพาะ (9 ตัวอย่าง) อูจจาระ (9 ตัวอย่าง) และกล้ามเนื้อ (9 ตัวอย่าง) ผลการศึกษาพบ DA ในแต่ตานุเกยตัน จำนวนทั้งสิ้น 11 ตัว คิดเป็นร้อยละ 92 ของจำนวนแต่ตานุที่ศึกษาทั้งหมด โดยมีค่าอยู่ระหว่าง Not detected (nd)-16.24 $\mu\text{g/g}$ ทั้งนี้จากการศึกษาของ Perrault [17] ซึ่งตรวจวัดปริมาณสารชีวพิษใน plasma ของแต่ตานุที่มีชีวิต ที่ Florida's Big Ben พบว่า DA เป็นสารชีวพิษที่ตรวจพบได้มากที่สุด

(ร้อยละ 29) จากสารชีวพิษทั้งหมด 10 ชนิดที่
 ทำการศึกษา หรือตรวจพบ 6 ตัวจากเต่าทั้งหมด 21 ตัว

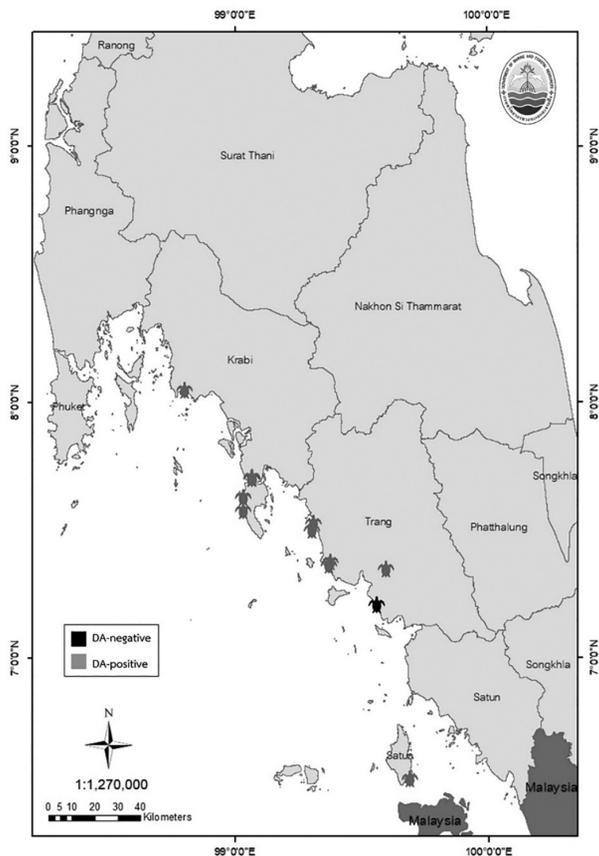


Figure 1 Stranding locations and detections of DA in the Green turtles.

ในการศึกษาครั้งนี้ตรวจวัดได้ค่า DA สูงสุดในชิ้นเนื้อตัวอย่างไต (16.24 µg/g) รองลงมา ได้แก่ตับ (13.00 µg/g) เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยที่ตรวจวัดได้ในชิ้นเนื้อตัวอย่าง 5 ประเภท พบว่า ตับมีค่าเฉลี่ย DA สูงสุดเท่ากับ 2.61±4.46 µg/g (nd-13.00 µg/g) รองลงมาคือไต มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.49±5.20 µg/g (nd-16.24 µg/g) อาหารในกระเพาะมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.17±1.65 µg/g (nd-4.88 µg/g) อูจจาระ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.92±1.63 µg/g (nd-4.56 µg/g) และกล้ามเนื้อมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.85±1.45 µg/g (nd-3.52 µg/g) ผลการวิเคราะห์ DA แสดงใน Table 1 สาเหตุที่ตรวจวัดปริมาณ DA ในไตของ

เต่าตนุได้ค่าค่อนข้างสูงกว่าเนื้อเยื่อส่วนอื่น เนื่องจากไตและตับเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ในการดักกรองของเสียในร่างกาย และโดยทั่วไปอวัยวะทั้งสองส่วนนี้มักจะพบมีการปนเปื้อนของมลสารได้มากกว่าอวัยวะอื่น ๆ [19, 20, 21] อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า DA ที่ตรวจพบได้ในชิ้นเนื้อแต่ละประเภทนั้นมีความผันแปรไม่เป็นรูปแบบที่แน่นอน ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะการได้รับ DA ของเต่าทะเลเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัย เช่น อายุ เพศ ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัย รวมถึงพฤติกรรมการหากินของเต่าตนุ

Table 1 Concentration of DA in the stranded Green turtles

Turtle ID	Maturation stage	Sex	Stranding Province	Stranding Month	Concentration of DA ($\mu\text{g/g}$)						
					Liver	Kidney	Stomach Cont.	Feces	Muscle	Range	
TRTU010	Adult	Female	Trang	Mar	nd	nd	nd	0.10	-	nd - 0.10	
TRTU013	Juvenile	Female	Krabi	Apr	nd	nd	2.79	0.53	nd	nd - 0.53	
TRTU018	Adult	Female	Trang	May	nd	nd	0.19	-	nd	nd - 0.19	
TRTU027	Juvenile	Male	Satun	Aug	nd	nd	0.78	nd	nd	nd - 0.78	
TRTU033	Adult	Female	Krabi	Aug	nd	nd	-	-	nd	nd	
TRTU039	Juvenile	Female	Krabi	Sep	6.60	16.24	-	2.80	-	2.80-16.24	
TRTU043	Juvenile	Female	Trang	Oct	nd	nd	1.00	nd	nd	nd - 1.00	
TRTU044	Adult	Female	Krabi	Oct	-	-	-	-	0.96	0.96	
TRTU045	Juvenile	Female	Trang	Oct	-	-	4.88	0.32	nd	nd - 4.88	
TRTU046	Juvenile	Female	Trang	Oct	0.70	nd	0.87	nd	-	nd - 0.87	
TRTU048	Adult	Female	Trang	Nov	5.84	2.84	nd	nd	3.15	nd - 5.84	
TRTU049	Juvenile	Female	Krabi	Nov	13.00	5.83	nd	4.56	3.52	nd - 13.00	
Mean \pm SD					2.61 \pm 4.46	2.49 \pm 5.20	1.17 \pm 1.65	0.92 \pm 1.63	0.85 \pm 1.45		
Range					nd-13.00	nd-16.24	nd-4.88	nd-4.56	nd-3.52	nd - 16.24	
Number (N)					10	10	9	9	9		
Number Positives					4 (36%)	3 (27%)	6 (67%)	5 (56%)	3 (33%)		

Note: nd = not detected (-) = no sample available

3.2 ตรวจพบ DA ได้บ่อยที่สุดในระบบทางเดินอาหารของเต่า

ผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าประเภทชิ้นเนื้อที่ตรวจพบ DA ได้บ่อยที่สุด ได้แก่ อาหารในกระเพาะ คือจาก 9 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 6 ตัวอย่าง (ร้อยละ 67) รองลงมาได้แก่ อุจจาระ คือ 9 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 56) ตับจาก 10 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 4 ตัวอย่าง (ร้อยละ 36) กล้ามเนื้อจาก 9 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 33) และต่ำสุด ได้แก่ ไข่ คือ 10 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน DA จำนวน 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27) รายละเอียดแสดงใน Table 1 และ Figure 2-3 สอดคล้องกับการศึกษาการปนเปื้อนสารชีวพิษ Brevetoxins ในเต่าตนุเกย์ตันที่ Florida ช่วงปี 2003-2006 ของ Angela [22] โดยตรวจพบ Brevetoxins ในทางเดินอาหารส่วนล่างคิดเป็นร้อยละ 64 ของจำนวนเต่าทั้งหมดที่ศึกษา รองลงมาพบในตับ คิดเป็นร้อยละ 55 และสอดคล้องกับการศึกษาของ Manire [4] ศึกษาการเกย์ตันตายอย่างผิดปกติของเต่าตนุวัยอ่อน ที่ Southeast Florida ในฤดูใบไม้ร่วงปี 2014 พบว่าเต่าหลายตัวมีอาการทางระบบประสาท กล้ามเนื้ออ่อนแรง เนื่องจากกลไกการออกฤทธิ์ของสารกลุ่ม neurotoxin ทำให้มีอาการชาหรืออ่อนแรง นอกจากนี้พบว่าเต่าตนุจำนวนหนึ่งที่มีอาการผิดปกติ ตรวจวัด DA ได้ค่าสูงในชิ้นเนื้อตัวอย่างอุจจาระ อาหารในกระเพาะ และอาหารในลำไส้

การที่ตรวจพบ DA ได้บ่อยที่สุดในตัวอย่างระบบทางเดินอาหารของเต่าตนุ (อาหารในกระเพาะ และอุจจาระ) นั้น อาจเนื่องจากเต่าตนุได้รับ DA จากการกินสาหร่ายหรือหญ้าทะเลที่มีสิ่งมีชีวิตที่ปนเปื้อน DA เกาะติดอยู่บนพื้นผิว การตรวจพบบ่อยในระบบทางเดินอาหารแสดงให้เห็นชัดเจนว่าเต่าได้รับสารพิษมาจากห่วงโซ่อาหาร และน่าจะมาจากการเจือปนของแพลงก์ตอนพืช ซึ่งพืชจะแสดงออกเมื่อผ่านกระบวนการย่อยก่อน ดังนั้นจึงพบที่ระบบทางเดินอาหารบ่อย จากนั้นจะถูกส่งเข้าสู่กระแสเลือด เมื่อเลือดถูกส่งไปฟอกที่ไตจึงเจอสารพิษ

เข้มข้นมากที่สุด พิษบางส่วนจะถูกกำจัดออกทางอุจจาระและคั่งอยู่ในระบบทางเดินอาหารเป็นสำคัญ เหล่านี้เป็นสาเหตุว่าทำไมเจอสารพิษที่ทางเดินอาหารบ่อย โดยเต่าตนุเป็นเต่าทะเลชนิดเดียวที่เมื่อพ้นช่วงวัยอ่อนแล้วกินพืชเป็นอาหาร ซึ่งอาหารหลัก ได้แก่ หญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลชนิดต่าง ๆ [1] และสอดคล้องกับการศึกษาของ Perrault [17] ที่รายงานว่าได้พบสารชีวพิษจากการกินเหยื่อหรือผู้บริโภคลำดับหนึ่งที่มีการสะสมสารชีวพิษอยู่แล้ว และจากการกินสาหร่ายและหญ้าทะเลที่มีสิ่งมีชีวิตที่ปนเปื้อนสารชีวพิษที่เกาะติดอยู่บนพื้นผิว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Stacy [23] ซึ่งตรวจวัดปริมาณ DA ในตัวอย่างเต่าตนุเกย์ตันที่ Texas ในปี 2019 พบว่าตรวจพบปริมาณ DA ในรอบปีได้สูงสุดในช่วงเดือนเมษายน และพฤษภาคม ซึ่งจากการชันสูตรซากเต่าที่เกย์ตัน ในช่วงต้นเดือนพฤษภาคม พบสาหร่าย *Sargassum* sp. ในระบบทางเดินอาหารของเต่าตนุเกย์ตันมากที่สุด ซึ่งจากการตรวจวัดปริมาณ DA ในระบบทางเดินอาหารของเต่าตนุ พบว่าตรวจได้ค่าสูงกว่า 10 µg/g อย่างไรก็ตาม ไม่มีข้อมูลสนับสนุนเพียงพอที่จะสรุปว่า DA มีบทบาทสำคัญในการเกย์ตันของเต่าทะเลใน Texas ปี 2019 นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Thitima [24] ที่พบว่าในแหล่งหญ้าทะเลซึ่งเป็นอาหารของพะยูนและเต่าตนุ อาจมีองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิต DA ร่วมอยู่ ซึ่งก็คือแพลงก์ตอนพืชกลุ่มไดอะตอมสกุล *Nitzschia* spp. โดยบนใบหญ้าทะเลนั้นจะมีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดอาศัยอยู่ ถูกเรียกโดยรวมว่าสิ่งมีชีวิตที่อิงอาศัยบนใบหญ้าทะเล (epiphyte) เกิดเป็นชั้นสลับซับซ้อนอยู่บนผิวใบของหญ้าทะเล ซึ่งประกอบไปด้วย แบคทีเรีย ฟังไจ ไดอะตอม สาหร่ายขนาดใหญ่ สาหร่ายที่มีโครงสร้างแข็ง สัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง รวมไปถึงเศษซากต่าง ๆ และตะกอนที่มาจาก [25] โดยเฉพาะอย่างยิ่งไดอะตอม ซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งมีชีวิตที่อิงอาศัยบนใบหญ้าทะเล (epiphyte) กลุ่มที่เด่นและพบในปริมาณมากบนใบหญ้าทะเล เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ๆ [26] เช่นเดียวกับการศึกษาของ Jariyavadee [27] พบว่าไดอะตอม *Cocconeis*, *Pleurosigma*, *Nitzschia* เป็น

ไดอะตอมที่อิงอาศัยบนใบหญ้าทะเลกลุ่มเด่น และพบในปริมาณมากบนใบหญ้าทะเล ชนิด *Halodule uninervis* ที่จังหวัดชลบุรี

จากการศึกษาของ Thitima [24] ซึ่งได้ศึกษาไดอะตอมกลุ่มเด่นที่อิงอาศัยบนใบหญ้าทะเล บริเวณบ้านป่าคอก จังหวัดภูเก็ต พบว่า *Nitzschia* เป็นไดอะตอมสกุลที่พบเด่นบนใบหญ้าทะเลทุกชนิดตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากไดอะตอมสกุลนี้มีคุณสมบัติในการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงได้ดี และสามารถทนความเค็มได้ในช่วงกว้าง [28, 29] นอกจากนี้ จากการศึกษาการปนเปื้อนของ DA ในสิ่งมีชีวิตในทะเลในประเทศไทยที่จังหวัดชลบุรี พบว่า DA ที่พบในแพลงก์ตอนบริเวณพื้นที่อ่าวน้ำมีค่าสูงกว่าบริเวณผิวน้ำ ประมาณ 8.5 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 0.04-110.05 ng/l และ nd-12.85 ng/l ตามลำดับ [30] การที่ตรวจพบ DA ได้บ่อยที่สุดในระบบทางเดินอาหารของเต่าตนุ จึงอาจเนื่องมาจากการที่เต่าตนุกินสาหร่ายและหญ้าทะเลซึ่งมีแพลงก์ตอนพืชหรือสิ่ง

มีชีวิตที่ปนเปื้อน DA นั้นเอง

โดยจากการวิเคราะห์ ค่าการกระจายตัวของข้อมูลการปนเปื้อน DA ในชิ้นเนื้อตัวอย่าง 5 ประเภท (ตับ ไต อาหารในกระเพาะ อูจจาระ และกล้ามเนื้อ) ของเต่าตนุเกย์ตื่น (Figure 4) พบว่าค่า DA ที่ตรวจพบได้ในระบบทางเดินอาหารของเต่าตนุ จากอาหารในกระเพาะ (10 ตัวอย่าง) และอูจจาระ (9 ตัวอย่าง) มีการกระจายตัวของข้อมูลในช่วงแคบ บ่งบอกว่า DA ในระบบทางเดินอาหารของเต่าทั้ง 12 ตัว ตรวจวัดได้ค่าใกล้เคียงกัน ในขณะที่ DA ในตัวอย่างไต และตับของเต่าตนุบางตัวจะมีค่าสูงมากกว่าเต่าตนุตัวอื่น ดังเห็นได้จากกราฟการกระจายตัวของข้อมูล อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า DA ที่ตรวจพบได้ในชิ้นเนื้อตัวอย่างแต่ละประเภทนั้น ไม่มีรูปแบบที่แน่นอน อาจเป็นเพราะการปนเปื้อน DA เกี่ยวเนื่องกับหลายปัจจัย เช่น อายุ เพศ ฤดูกาล แหล่งที่อยู่อาศัย พฤติกรรมการหากินของเต่าตนุ ปริมาณ DA ที่ปนเปื้อนในอาหารของเต่าตนุ รวมทั้งความหนาแน่นของแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* และ *Nitzschia* ในช่วงเวลาที่ศึกษา

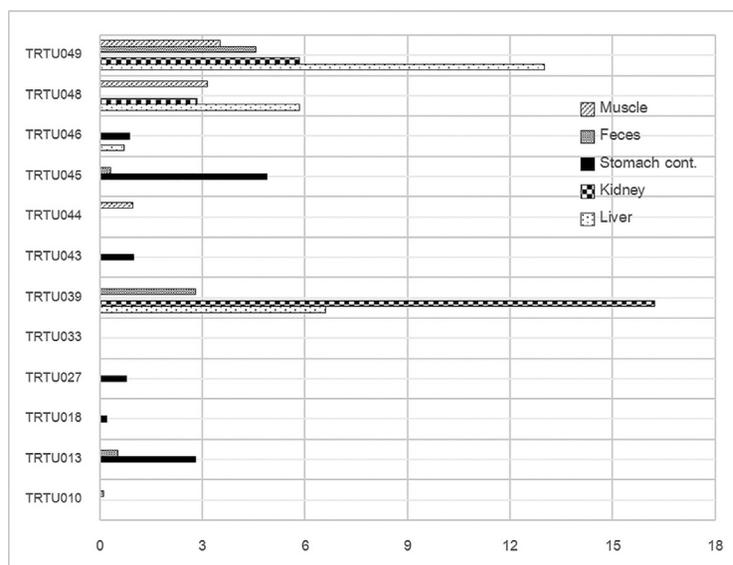


Figure 2 Proportion of DA detected in liver, kidney, feces, Stomach contents and muscle of the Green turtles.

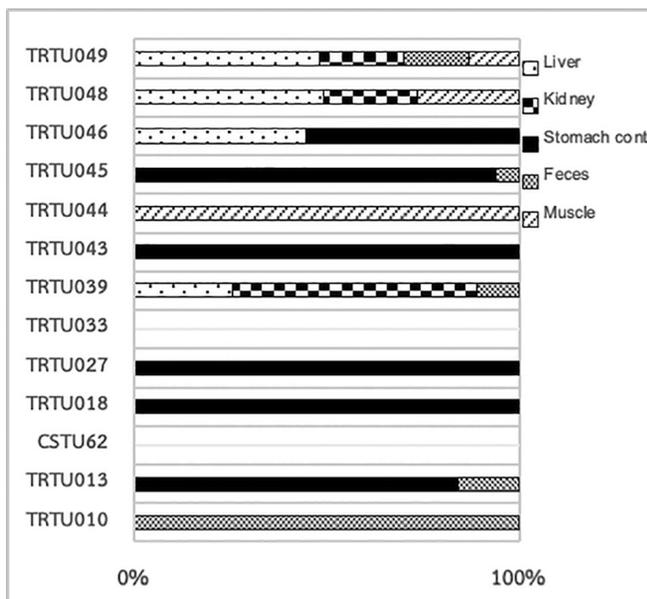


Figure 3 DA ($\mu\text{g/g}$) detected in tissue samples of the Green turtle.

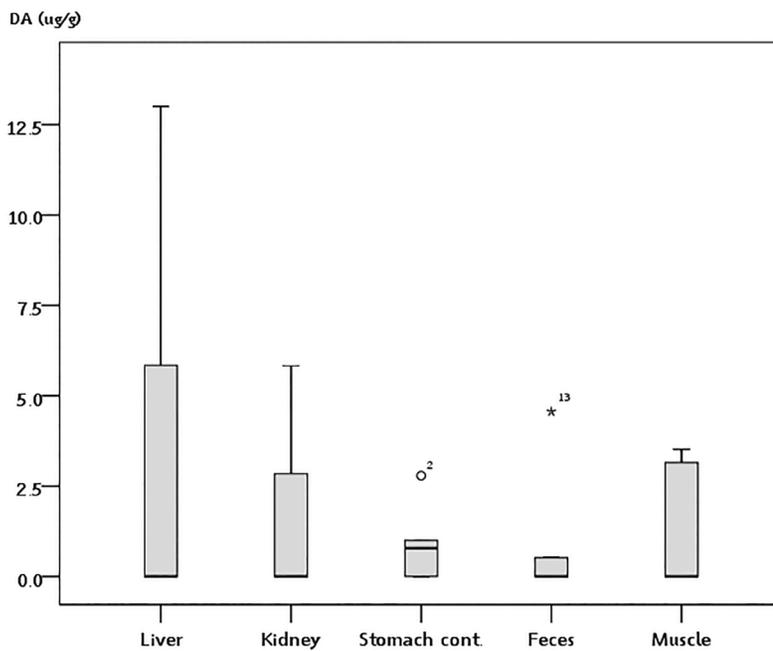


Figure 4 Box plot representing DA concentration variations in Green turtle tissues

3.3 การเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ในช่วงเวลา และพื้นที่ที่พบการเกยตื้นของเต่าตนุ

เมื่อตรวจสอบการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีในช่วงเวลาและพื้นที่ที่ศึกษาครั้งนี้ พบว่าในปี พ.ศ. 2559-2564 ไม่พบปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีในจังหวัดกระบี่ ตรัง และสตูล [2] จากการพิจารณาค่าความเข้มข้นของ DA ในเต่าตนุ เมื่อจำแนกข้อมูลการเกยตื้นเป็นรายเดือน พบว่าค่า DA ที่ตรวจวัดได้ในเดือนกันยายน มีค่าสูงสุด (Figure 5) เนื่องจากพบการเกยตื้นของเต่าตนุหมายเลข TRTU039 ซึ่งตรวจวัดค่า DA ได้สูงสุดในการศึกษาครั้งนี้จากซากเต่าตนุตัวนี้ โดยซากเต่าตนุที่เกยตื้นในเดือนพฤศจิกายนก็มีค่าเฉลี่ย DA สูงกว่าเดือนอื่นเช่นกัน อย่างไรก็ตาม เนื่องจากตัวอย่างที่ได้จากการศึกษามีจำนวนน้อย จึงไม่อาจสรุปให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยด้านต่าง ๆ กับความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจพบได้ในซากเต่าตนุเกยตื้นในการศึกษานี้

เมื่อพิจารณารายงานการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีในพื้นที่ใกล้เคียง ได้แก่ จังหวัดภูเก็ต ซึ่งตั้งอยู่ทางทิศเหนือของพื้นที่ศึกษา พบว่าในช่วงปี พ.ศ. 2559-2563 เกิดน้ำทะเลเปลี่ยนสี 19 ครั้ง ช่วงเวลาที่เกิด

ส่วนใหญ่อยู่ในเดือนกรกฎาคม-ตุลาคม และมกราคม-เมษายน โดยแพลงก์ตอนพืชที่ก่อให้เกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ได้แก่ *Alexandrium* sp., *Chaetoceros* spp., *Bellerochea* sp., *Gymnodinium catenatum*, *Peridinium quinquecorne*, *Coolia* cf. *malayensis*, *Karenia* sp. และ *Eunotogramma* sp. [2] เห็นได้ว่าในพื้นที่ชายฝั่งทะเลจังหวัดภูเก็ต ไม่มีรายงานการเกิดการสะสมพริ้ง (bloom) ของแพลงก์ตอนพืชไดอะตอม สกุล *Pseudo-nitzschia* และ *Nitzschia* ซึ่งสามารถผลิตสารชีวพิษ DA ได้

อาจกล่าวได้ว่า ปริมาณ DA ในเต่าตนุเกยตื้นในพื้นที่และช่วงเวลาที่ศึกษา (มีนาคม-พฤศจิกายน พ.ศ. 2563) ไม่มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดน้ำทะเลเปลี่ยนสี ซึ่งเป็นไปได้ว่า อาจเกี่ยวข้องกับอาหารที่เต่าตนุกินเข้าไปในการดำรงชีวิตตามภาวะปกติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Angela [22] ที่พบว่าสัตว์ไม่ได้รับสารชีวพิษ Brevetoxins ใน dose ที่ก่อให้เกิดอันตรายร้ายแรงเฉพาะในช่วงที่เกิดการสะสมพริ้งของแพลงก์ตอนเท่านั้น แต่รวมถึงการได้รับสารชีวพิษมาจากการถ่ายทอดผ่านทางห่วงโซ่อาหารในระยะเวลาเป็นสัปดาห์หรือเป็นเดือนหลังจากที่มีการสะสมพริ้งของแพลงก์ตอนพืช

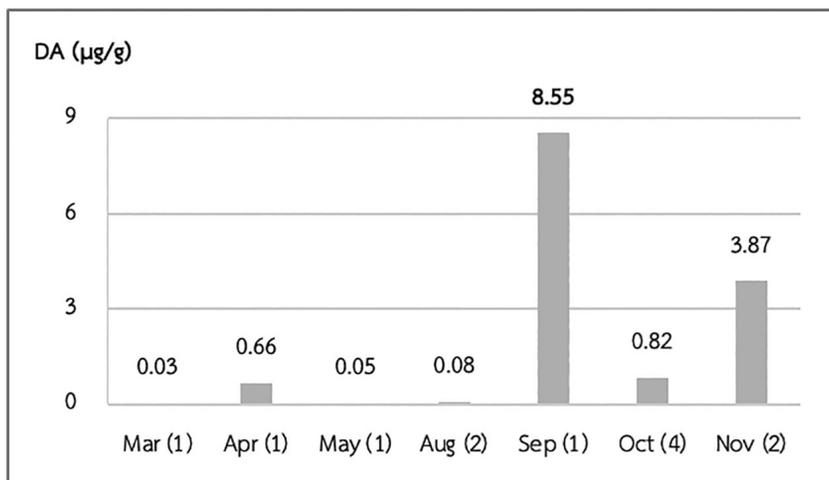


Figure 5 average concentration of DA in each month (number of Green turtles shown in bracket)

อย่างไรก็ตาม ในพื้นที่ชายฝั่งอันดามัน มีรายงานการพบแพลงก์ตอนพืชสกุลที่สามารถสร้างสารชีวพิษ DA ได้ โดยในปี พ.ศ. 2541 Priisholm [31] รายงานการพบ *Pseudo-nitzschia* บริเวณชายฝั่งอันดามันใกล้เกาะภูเก็ต จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ *P. cf. cuspidata*, *P. delicatissima*, *P. cf. heimii*, *P. sinica*, *P. pseudodelicatissima* และ *P. inflatula* เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างสารชีวพิษของ *Pseudo-nitzschia* จากการศึกษาของ Bates [32] รายงานว่าแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-nitzschia* spp. จะสร้าง DA ได้ปริมาณความเข้มข้นที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่เลี้ยง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Fehling [33] ที่พบว่าอุณหภูมิอาจเป็นปัจจัยสำคัญต่อการสร้างสาร DA ของแพลงก์ตอนพืช โดยพบว่า *Pseudo-nitzschia seriata* ที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 4 °C นั้น ไม่เหมาะสมต่อการดำรงชีพของแพลงก์ตอนพืชชนิดดังกล่าว จึงส่งผลให้แพลงก์ตอนเกิดความเครียดและตอบสนองโดยการสร้าง DA ในปริมาณที่สูงกว่าที่เลี้ยงในอุณหภูมิ 15 °C และจากการศึกษาของ Liefer [34] พบว่า *Pseudo-nitzschia* จะมีความหนาแน่นและปริมาณความเข้มข้นของ DA เพิ่มมากขึ้นเมื่ออยู่ในน้ำที่มีความเค็มสูง

3.4 ความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นของ DA กับอาการเกิดโรคเนื้องอกในเต่าทะเล

Fibropapillomatosis (FP)

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ตรวจพบ DA ในเต่าตนุ 11 ตัว จากจำนวนเต่าตนุที่ศึกษาทั้งหมด 12 ตัว (ร้อยละ 92) โดยไม่พบอาการเกิดโรคเนื้องอกในเต่าทะเล (FP) ในเต่าตนุทั้ง 11 ตัว (0% positives with FP) โดยไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Perrault [17] ซึ่งตรวจวัด biotoxin 10 ชนิด ใน plasma ของเต่าตนุ 21 ตัว ที่ Florida's Big Bend ตรวจพบ DA ในเต่าตนุรวม 6 ตัว โดยทั้ง 6 ตัว มีอาการของโรค FP ร่วมด้วย (100% positives with FP) โดยไม่มีรายงานการเกิด Harmful algae bloom (HABs) ในช่วงระยะเวลาดังกล่าว อย่างไรก็ตาม การได้รับสารชีวพิษที่ผลิตโดยแพลงก์ตอนพืชถูกตั้งเป็น

สมมติฐานไว้ว่า เป็นปัจจัยร่วมที่ทำให้เกิดโรค FP เนื่องจากด้วยมีแนวโน้มว่าพบชนิดของแพลงก์ตอนกลุ่มสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน และการสะสมของแพลงก์ตอนพืชได้บ่อย ในภูมิภาคที่เกิดโรค FP

ผลการชันสูตรซากเต่าตนุเกยตื้น 12 ตัวในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ พบว่ามีสาเหตุการตายเนื่องจากมีอาการป่วยตามธรรมชาติ รวม 10 ตัว ตายเพราะขยะทะเล 1 ตัว และอีก 1 ตัวไม่สามารถระบุสาเหตุการตายได้ อาจกล่าวโดยสรุปได้ว่า ปริมาณ DA ที่ตรวจวัดได้ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ไม่ได้เป็นสาเหตุที่ทำให้เต่าตนุเกยตื้นตาย หรือก่อให้เกิดโรค FB ดังเหตุการณ์ที่ปรากฏในต่างประเทศ

3.5 ความสัมพันธ์ของขนาดเต่าตนุเกยตื้น กับค่าความเข้มข้นของ DA

เต่าตนุที่เกยตื้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ จำนวน 7 ตัว จัดอยู่ในช่วงอายุวัยอ่อน (Juvenile) อีก 5 ตัว อยู่ในช่วงโตเต็มวัย (adult) โดยร้อยละ 92 เป็นเต่าเพศเมีย มีน้ำหนักเฉลี่ย 26.1 ± 26.4 kg มีค่าอยู่ในช่วง 5.0-79.0 kg เต่าตนุมีค่าความกว้างกระดองเฉลี่ย 52.5 ± 16.9 cm มีค่าอยู่ในช่วง 30.0-79.0 cm โดยมีค่าความยาวกระดองเฉลี่ย 57.2 ± 18.6 cm มีค่าอยู่ในช่วง 38.0-88.0 cm รายละเอียดผลการศึกษานิตยสารสัตวศาสตร์นอกของเต่าตนุเกยตื้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ ระบุใน (Table 2)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของขนาดเต่าตนุเกยตื้นกับปริมาณ DA ที่ได้รับ โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์จากค่าความยาวของกระดองเต่า (carapace length) และค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในเนื้อเยื่อ 5 ประเภท (ไต ตับ อาหารในกระเพาะ อูจจาระ และกล้ามเนื้อ) ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างขนาดของเต่าตนุกับค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการขบวนการสะสมหรือได้รับสารชีวพิษของเต่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยร่วมกัน ไม่ใช่แค่เพียงอายุ รวมทั้งอาจเกี่ยวข้องกับคุณลักษณะของสารชีวพิษดังกล่าว ดังเช่น ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการของ Maucher [35] พบว่า DA ใน plasma ของสัตว์สามารถสลายตัวไปได้ภายในช่วงเวลา 2 ชั่วโมงจนถึง 1 สัปดาห์

นอกจากนี้อาจขึ้นอยู่กับขบวนการทางชีวเคมีของสัตว์อีกด้วย

อย่างไรก็ตาม ในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาปริมาณ DA ในหญ้าทะเลหรือสาหร่าย ซึ่งเป็นอาหารหลักของเต่าตนุและพะยูน โดยเฉพาะอย่างยิ่งหญ้าทะเลในบริเวณแหล่งอาศัยที่สำคัญของเต่าและพะยูน คือพื้นที่จังหวัดกระบี่ และตรง Perrault [17] ได้รายงานว่ เต่าตนุได้รับสารชีวพิษจากการกินเหยื่อหรือกินผู้บริโภคลำดับหนึ่งที่มีการสะสมสารชีวพิษอยู่แล้ว และจากการกินสาหร่ายและหญ้าทะเลที่มีสิ่งมีชีวิตที่ปนเปื้อนสารชีวพิษเกาะติดอยู่บนพื้นผิว โดยเต่าตนุที่ได้จากการศึกษานี้ พบเกยตื้นในพื้นที่ชายฝั่งจังหวัดตรัง (6 ตัว) และกระบี่ (5 ตัว) ซึ่งเป็นแหล่งหญ้าทะเลผืนใหญ่ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุดแห่งหนึ่งของประเทศไทย ทั้งนี้จากข้อมูลในปี พ.ศ. 2565 ของกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง [2] พบว่าประเทศไทยมีพื้นที่หญ้าทะเลแพร่กระจายอยู่ใน 17 จังหวัดชายทะเล พื้นที่รวมทั้งสิ้น 103,580 ไร่ โดยจังหวัดที่พบพื้นที่หญ้าทะเลมากที่สุดได้แก่ จังหวัดตรัง (26,124 ไร่) รองลงมาได้แก่จังหวัดกระบี่ (21,724 ไร่) ในอนาคตควรสนับสนุนให้มีการศึกษาเรื่องการปนเปื้อนของสารชีวพิษในหญ้าทะเล พื้นที่

จังหวัดตรัง และกระบี่ซึ่งเป็นแหล่งอาศัยที่สำคัญของสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ รวมทั้งขบวนการถ่ายทอดสารชีวพิษดังกล่าวไปในห่วงโซ่อาหาร เพื่อทราบถึงสถานการณ์และแนวโน้มผลกระทบจากสารชีวพิษต่อสุขภาพของสัตว์ทะเลหายากเหล่านี้

จากการศึกษาของ Landsberg [36] พบว่า DA สามารถถ่ายทอดระดับความเป็นพิษที่เพิ่มสูงขึ้นให้กับสิ่งมีชีวิตลำดับถัดไปของห่วงโซ่อาหาร ในส่วนของประเทศไทย Oning [30] ศึกษาการถ่ายทอด DA จากผู้ผลิตไปสู่ผู้บริโภคตามลำดับขั้นของห่วงโซ่อาหารที่ชายฝั่งตะวันออกของอ่าวไทย โดยพบการถ่ายทอด DA จากแพลงก์ตอนพืช *Pseudo-Nitzschia* spp. และ *Nitzschia* spp. ไปสู่แพลงก์ตอนสัตว์ มีค่าร้อยละ 7.15 จากนั้นถูกถ่ายทอดไปสู่หอย และปลา มีค่าร้อยละ 20.60 และ 6.31 ตามลำดับ โดย Landberg [36] พบว่า DA จะเข้าไปสะสมอยู่ในร่างกายของสัตว์น้ำที่กรองกินแพลงก์ตอนพืชนั้นเป็นอาหาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำที่เป็นผู้บริโภคอันดับหนึ่ง แต่สามารถถ่ายทอดระดับความเป็นพิษที่เพิ่มสูงขึ้นให้กับสิ่งมีชีวิตลำดับถัดไปของห่วงโซ่อาหาร [38]

Table 2 Morphometric result and presence or absence of Fibropapillomatosis (FP) in Green turtles

Measurement	N	Mean±SD	Range	Fibropapillomatosis (FP)
Body weight (kg)	12	26.1±26.4	5.0-79.0	
Carapace length (cm)	12	57.2±18.6	38.0-88.0	0% positives with FP
Carapace width (cm)	12	52.5±16.9	30.0-79.0	

3.6 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในเต่าตนุ กับสัตว์ทะเลชนิดอื่นในประเทศไทย

เมื่อเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในซากเต่าตนุเกยตื้นจากการศึกษาคั้งนี้ (nd-16.24 µg/g) กับค่าที่ตรวจวัดได้ในสัตว์ทะเลชนิดอื่นในประเทศไทย พบว่า DA ในเต่าตนุ มีค่าสูงกว่าที่

ตรวจวัดได้ในสัตว์ทะเลพื้นที่อ่างศิลา จังหวัดชลบุรี โดยจากการศึกษาของ Oning [30] พบว่า ค่าความเข้มข้นของ DA ในหอยแมลงภู่มีค่าอยู่ในช่วง 0.214-0.454 µg/g หอยนางรมกรมดำ 0.171-0.370 µg/g และหอยนางรมลอย 0.117-0.282 µg/g ในส่วนของปลาทะเล 4 ชนิด ได้แก่ ปลาแบนป้อม พบว่ามีค่า DA อยู่ในช่วง nd-0.044

µg/g ปลาสดหินจุดขาว 0.0003-0.276 µg/g ปลาทุแรม nd-0.235 µg/g และปลาทุ nd-0.284 µg/g ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเต่าตนุกินหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลซึ่งอยู่บริเวณพื้นที่ท้องทะเล ที่มีการตกทับถมของตะกอนหรือมี epiphyte ที่ปนเปื้อน DA เกาะติดอยู่ เต่าตนุจึงมีโอกาสรับ DA มากกว่าสิ่งมีชีวิตที่กินอาหารโดยการกรองกิน แพลงก์ตอนที่ลอยลอยในมวลน้ำหรือผิวน้ำ เช่น ปลา หรือ หอย นอกจากนี้ Oning [30] ยังพบว่าค่า DA ที่ตรวจวัดได้จากแพลงก์ตอนที่อยู่บริเวณพื้นที่ท้องน้ำมีค่าสูงกว่าบริเวณผิวน้ำ ประมาณ 8.5 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 0.04-110.05 ng/l และ nd-12.85 ng/l ตามลำดับ

อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้จากซากพะยูนซึ่งกินหญ้าทะเลเป็นอาหารเช่นเดียวกับเต่าตนุ และพบเกยตื้นในปี พ.ศ. 2561-2562 ที่จังหวัดกระบี่ และตรัง โดย Thitima [15] พบว่าค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้จากซากพะยูน มีค่าอยู่ในช่วง nd-7.26 µg/g ต่ำกว่าช่วงค่าที่ตรวจวัดได้ในเต่าตนุจากการศึกษาครั้งนี้ (nd-16.24 µg/g) แต่หากเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้จากซากพะยูน 13 ตัว ที่เกยตื้นในช่วงปี พ.ศ. 2563-2564 พบว่าค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้จากซากพะยูน มีค่าอยู่ในช่วง nd-37.29 µg/g (ข้อมูลที่ไม่ได้ตีพิมพ์) ซึ่งสูงกว่าช่วงค่าที่ตรวจวัดได้ในเต่าตนุจากการศึกษาครั้งนี้

3.7 เปรียบเทียบค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในเต่าทะเล จากรายงานการศึกษาอื่น

ค่าความเข้มข้นของ DA ในเต่าตนุที่ตรวจวัดได้จากการศึกษานี้ มีค่าอยู่ระหว่าง nd-16.24 µg/g ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดจากรายงานการศึกษาอื่น พบว่าเต่าตนุเกยตื้นบริเวณชายฝั่งอันดามันของประเทศไทย ตรวจวัดค่าความเข้มข้น DA ได้สูงกว่าเต่าตนุที่พบเกยตื้นในต่างประเทศ รายละเอียดแสดงใน (Table 3)

จะเห็นได้ว่าข้อมูลการศึกษา HABs toxins ชนิดต่าง ๆ และผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อเต่าทะเลมีอยู่อย่างจำกัดมาก ซึ่งหากไม่มีการศึกษาวิจัยหรือติดตามตรวจสอบเกี่ยวกับปริมาณการได้รับ toxins เหล่านี้ในเต่าทะเล การทำความเข้าใจถึงกระบวนการและพลวัตการได้รับหรือการปนเปื้อนสารชีวพิษจะถูกจำกัด ทำให้ยากที่จะบริหารจัดการหรือป้องกันผลกระทบจาก HABs ที่อาจจะเกิดต่อสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์เหล่านี้ นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศของโลก ส่งผลให้แพลงก์ตอนในมหาสมุทรมีการแพร่กระจายไปในขอบเขตและพื้นที่ที่กว้างขึ้น อันอาจเพิ่มความเสี่ยงให้สัตว์ทะเลหายากได้รับผลกระทบต่อสุขภาพ และการดำรงชีวิตในอนาคตอันใกล้ เนื่องมาจากประเด็นปัญหาเรื่อง HABs

Table 3 Literature comparisons of DA concentrations in sea turtles

Sampling period	Sampling site	Sea turtle species	Sample type	Conc. of DA (µg/g)	Sampling method	No. of animals/sample	No. positive	% Positive	References
Jun 2015	Big Bend, Florida	<i>Chelonia mydas</i>	P	<0.005 - 0.0505	Live Capture	21	6/21	29%	[18]
2019	Lower Texas Coast	<i>Chelonia mydas</i>	L	< LD - 0.0299	Stranded	28	9	32%	[24]
			GC	< LD - 0.1344		27	10	36%	
			F	< LD - 1.1048		31	12	42%	
			P	< LD - 0.0007		5	3	11%	
			K	< LD		5	0	0%	
Mar-Nov 2020	Andaman Coast, Thailand	<i>Chelonia mydas</i>	L	nd - 13.00	Stranded	10	4/10	36%	This study
K	nd - 16.24	10	3/10	27%					
SC	nd - 4.88	9	6/9	67%					
F	nd - 4.56	9	5/9	56%					
M	nd - 3.52	9	3/9	33%					
Sep 2005 and 2007	California coast	<i>Dermochelys coriacea</i>	P	ND	Live Capture	20	0/20	0%	[39]
			F	ND		7	0/7	0%	
2010 - 2011	US West coast	<i>Dermochelys coriacea</i>	U	0.433	Stranded	1	1/1	100%	[40]
		EC	0.327						
		SC	0.285						

Notes: P = plasma, L = liver, K = kidney, F = feces, SC = stomach contents, M = muscle, EC = esophageal contents, U = urine, GC = gastrointestinal contents, nd = not detected

4. สรุปผลการวิจัย

การศึกษาการปนเปื้อน DA ในเต่าตนุเกยตื้นถือเป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทย (1) ตรวจพบ DA ในเต่าตนุ 11 ตัว จากทั้งหมด 12 ตัวที่ทำการศึกษา (ร้อยละ 92) มีค่าความเข้มข้นอยู่ระหว่าง $nd-16.24 \mu\text{g/g}$ พบว่าตัวมีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น DA สูงสุด ($2.61 \pm 4.46 \mu\text{g/g}$) และกล้ามเนื้อมีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น DA ต่ำสุด ($0.85 \pm 1.45 \mu\text{g/g}$) (2) ตรวจพบ DA ได้บ่อยที่สุดในระบบทางเดินอาหารของเต่า โดยอาหารในกระเพาะมีความถี่ในการตรวจพบ DA สูงสุด (ร้อยละ 67) และกล้ามเนื้อมีความถี่ในการตรวจพบต่ำสุด (ร้อยละ 33) ทั้งนี้ เต่าตนุอาจได้รับ DA จากการกินเหยื่อหรือผู้บริโภคลำดับหนึ่งที่มีการสะสม DA อยู่ก่อนหรือจากการกินหญ้าทะเลหรือสาหร่ายที่มีสิ่งมีชีวิตที่ปนเปื้อน DA ที่เกาะติดอยู่บนพื้นผิว [17] สอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าในแหล่งหญ้าทะเลซึ่งเป็นแหล่งอาหารของพะยูนและเต่าตนุ นั้น มีองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตที่สามารถผลิต DA ร่วมอยู่ ซึ่งก็คือไดอะตอม *Nitzschia* spp. [24] (3) ไม่พบการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสี ในช่วงเวลาและพื้นที่ที่พบการเกยตื้นของเต่าตนุ การปนเปื้อนของ DA ที่พบในเต่าตนุจึงอาจเกี่ยวเนื่องกับอาหารที่เต่าตนุกินเข้าไปในการดำรงชีวิตตามภาวะปกติ (4) ไม่พบอาการเกิดโรคเนื้องอก (FP) ในเต่าตนุ 11 ตัวที่ตรวจพบ DA (0% positives with FP) แสดงให้เห็นว่าปริมาณ DA ที่ตรวจวัดได้ในการศึกษานี้ไม่ได้เป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรค FB ดังเหตุการณ์ที่ปรากฏในต่างประเทศ (5) ไม่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างขนาดของเต่าตนุ กับค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ อาจเนื่องมาจากขบวนการการสะสมหรือได้รับสารชีวพิษของเต่าขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยร่วมกัน (6) ช่วงค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในซากเต่าตนุเกยตื้นจากการศึกษานี้ ($nd-16.24 \mu\text{g/g}$) มีค่าสูงกว่าที่ตรวจวัดได้ในหอย ($0.117-0.454 \mu\text{g/g}$) และปลา ($nd-0.284 \mu\text{g/g}$) ในพื้นที่จังหวัดชลบุรี ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากเต่าตนุกินหญ้าทะเลและสาหร่ายทะเลซึ่งอยู่บริเวณพื้นที่ของทะเล ที่มีการตกทับถมของตะกอน

หรือมีไดอะตอมที่อิงอาศัยบนใบหญ้าทะเลซึ่งปนเปื้อน DA เกาะติดอยู่ เต่าตนุจึงมีโอกาสรับ DA มากกว่าสิ่งมีชีวิตที่กินอาหารโดยการกรองกินแพลงก์ตอนที่ล่องลอยในมวลน้ำหรือผิวน้ำ เช่น ปลา หรือหอย โดย Oning [30] พบว่าค่า DA ที่ตรวจวัดได้จากแพลงก์ตอนที่อยู่บริเวณพื้นท้องน้ำมีค่าสูงกว่าในบริเวณผิวน้ำน้ำ ประมาณ 8.5 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าช่วงค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้ในเต่าตนุจากการศึกษานี้ ($nd-16.24 \mu\text{g/g}$) มีค่าสูงกว่าที่ตรวจวัดได้จากซากพะยูนระหว่าง พ.ศ. 2561-2562 ($nd-7.26 \mu\text{g/g}$) Thitima [15] รวมทั้ง (7) สูงกว่าค่าความเข้มข้นของ DA ที่ตรวจวัดได้จากเต่าทะเลในต่างประเทศ

อย่างไรก็ตาม ในอนาคตควรต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมทั้งในประเด็น biotoxin ชนิดต่าง ๆ ซึ่งอาจปนเปื้อนหรือสะสมในสัตว์ทะเลหายากและใกล้สูญพันธุ์ เช่น เต่าทะเล ทั้งในแหล่งหากิน (foraging) และแหล่งวางไข่ (nesting) และผลกระทบจาก HABs ที่อาจจะเกิดขึ้นต่อสุขภาพของเต่าทะเล รวมทั้งศึกษาเกี่ยวกับสารชีวพิษของไดอะตอม *Pseudo-nitzschia* spp. และ *Nitzschia* spp. ในน่านน้ำไทย เพื่อสามารถนำมาสรุปถึงสถานการณ์การปนเปื้อน DA ในเต่าทะเล ของประเทศไทยได้ชัดเจนมากขึ้น นอกจากนี้ควรมีจำนวนตัวอย่างที่มากพอ รวมถึงต้องเก็บรวบรวมข้อมูลพื้นฐานคุณภาพสิ่งแวดล้อมและปัจจัยที่เกี่ยวข้องอย่างเป็นระบบ เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับการจัดการและเฝ้าระวังการปนเปื้อนของ DA ที่อาจส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการดำรง ชีวิตของเต่าทะเล รวมถึงมนุษย์อาจมีโอกาที่จะได้รับผลกระทบจากสารชีวพิษที่ผลิตจากแพลงก์ตอนที่ขมากขึ้นในอนาคตจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งในการเก็บรวบรวมข้อมูลเพื่อศึกษาวิจัยเรื่องดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มตรวจสอบคุณภาพทางเคมี กองตรวจสอบคุณภาพสินค้าประมง กรมประมง ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลืองานในห้องปฏิบัติการอย่างดียิ่ง รวมถึงเจ้าหน้าที่กลุ่มสัตว์ทะเลหายาก

ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งอันดามันตอนล่าง สถาบันวิจัยและพัฒนาทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่งทุกท่าน ที่ช่วยในการเก็บรวบรวมชิ้นเนื้อตัวอย่างเต่าตนุสำหรับการศึกษาครั้งนี้

6. References

- [1] Marine and Coastal Resources Research and Development Institute, Department of Marine and Coastal Resources. Marine Endangered Species Stranding Response Manual. Available Sources: <https://www.dmcrc.go.th/detailLib/6245>. 112 p., March, 2023 (in Thai)
- [2] Department of Marine and Coastal Resources, 2023, State of Marine and Coastal Resources and Coastal Erosion Thailand National Report 2021, 407 p. (in Thai)
- [3] Amaya, O., Quintanilla, R., Stacy, B.A., Dechraoui, B., M-Y., Flewelling, L., Hardy, R., Dueñas, C. and Ruiz, G., 2018, Large-Scale Sea Turtle Mortality Events in El Salvador Attributed to Paralytic Shellfish Toxin-Producing Algae Blooms, *Frontiers in Marine Science*, doi: 10.3389/fmars.2018.00411, 5: 1-10
- [4] Manire, C, A., Stacy, B., Flewelling, L., Rodriguez, M., Foley, A., Young, M. and Keene, J., 2016, Follow-Up Report on Unusual Strandings of Small Juvenile Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) in Southeast Florida, In IAAAM Conference Proceedings, International Association for Aquatic Animal Medicine
- [5] Hallegraeff, G.M., 2014, Harmful algae and their toxins: progress, paradoxes and paradigm shifts. In Rossini, G.P. (Ed.), *Toxins and Biologically Active Compounds from Microalgae, Volume I: Origin, Chemistry and Detection*, CRC Press, Boca Raton, p. 3-20
- [6] Kelchner, H.; Reeve-Arnold, K.E.; Schreiner, K.M.; Bargu, S.; Roques, K.G.; Errera, R.M., 2021. Domoic Acid and Pseudo-nitzschia spp. Connected to Coastal Upwelling along Coastal Inhambane Province, Mozambique: A New Area of Concern. *Toxins* 13, Available Sources: <https://doi.org/10.3390/toxins13120903>, March, 2023
- [7] 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 Sources: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243570>, March, 2023
- [8] Oning, V., Shettapong, M., Nissara, T., Thaithaworn, L., 2017. Accumulation of domoic acid in marine organisms from Sriracha bay, Chonburi province, Thailand, *ScienceAsia*, 43 (4): 207-216
- [9] Shettapong, M., Nissara, T., Boontarika, T. and Oning, V., 2013. Study on Distribution of phytoplankton in the Central Gulf of Thailand. pp. 84-99., In *Proceedings of 2013 Survey of Fisheries Resources and*

- Marine Environment in the Central Gulf of Thailand by SEAFDEC Training Office Southeast Asian Fisheries Development Center, Samutprakarn (in Thai)
- [10] 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
- [11] 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., *Journal Harmful Algae*, 10: 330-336
- [12] 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*, 6, 7: 1-15
- [13] Bargu, S., Goldstein, T., Roberts, K., Li, C. and Gulland, F., 2012. Pseudo-nitzschia bloom, domoic acid, and related California sea lion stranding in Monterey Bay, California, *Marine Mammal Science*, 28 (2), 237-253
- [14] Charermchai, Y., C., Attawut, K. and Saroj, R., 2006, Relationships between water qualities and phytoplankton at Sriracha Bay, Chonburi province pp. 511-517., In *Proceedings of 44th Kasetsart University Annual Conference: Fisheries*, Kasetsart University, Bangkok (in Thai)
- [15] Thitima, N., Narumo, 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 (in Thai)
- [16] Heil, C.A. and Muni-Morgan, A.L., 2021, Florida's Harmful Algal Bloom (HAB) Problem: Escalating Risks to Human, Environmental and Economic Health with Climate Change, *Frontiers in Ecology and Evolution*, Available Source: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fevo.2021.646080/full>, March, 2023
- [17] Perrault, J. R., Perkins, C. R., Ajemian, M. J., Brette, M. J., Mott, C. R., and Page-Karjian, A., 2020, Harmful algal and cyanobacterial toxins in foraging green turtles (*Chelonia mydas*) in Florida's Big Bend, Elsevier, *Toxicon X*, (5): 1-6
- [18] 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)
- [19] Law, R.J., Fileman, C. F., Hopkins, A.D., Barker, J.R., Harwood, J., Jackson, D.B., Kennedy, S. Marin, A.R., and Morris, R.J.,

- 1991, Concentration of trace metals in the livers of marine mammals (Seals, Porpoises and Dolphins) from waters around the British Isles, *Marine Pollution Bullen* 22(4): 183-191
- [20] Kemmper, C., Gibbs, P., Obendorf, D., Marvanek, S. and Lenghaus, C., 1994, A review of heavy metal and organochlorine levels in marine mammals in Australia, *Science of the Total Environment*, 154: 129-139
- [21] Geraci, J.R. and Lounsbury, V.J., 2005, *Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Stranding* (second edition), Sparks Maryland, 309 p.
- [22] Angela, C., Leanne, J., Flewelling, K.A., 2013, Dietary exposure to harmful algal bloom (HAB) toxins in the endangered manatee (*Trichechus manatus latirostris*) and green sea turtle (*Chelonia mydas*) in Florida, USA., *Harmful Algae*, 28: 1-9
- [23] Stacy, B., Hardy, R., Shaver, D., Purvin, C., Howell, L., Wilson, H., Devlin, M., Krauss, A., Macon, C., Cook, M., Wang, Z., Flewelling, L., Keene, J., Walker, A., Baker, P. and Yaw, T., 2020, Sea Turtle Strandings in Texas: A Summary of Findings and Analyses. Department of Commerce, National Marine Fisheries Service, NOAA Technical Memorandum NMFS OPR-66, 64 p.
- [24] Thitima, N., 2010, Epiphytic Diatom on Seagrass Blade at Ban Pa Khlok, Phuket Province, Master of Science, Kasetsart University, Bangkok Thesis, 327 p. (in Thai)
- [25] Borowizka, M. A. Paul, S.L., and Michel V.K., 2006, Epiphytes of Seagrasses, In A.D.W. Larkum et al. (Eds), *Biology, Ecology and Conservation*, pp. 441-461, Springer
- [26] Sand-Jensen, K., 1977, Effect of epiphytes on eelgrass photosynthesis, *Aquatic Botany*, 3: 55-63
- [27] Jariyavadee, S. and Jittra, T., 2019, Factor effecting of nutrient on biomass and epiphytic community in seagrass bed, Sattahip bay, Chon Buri Province, Faculty of Science, Burapha University, 72 p. (in Thai)
- [28] Nipaporn, C., 1994. Biology and electron microscopic structure of the diatom *Nitzschia* sp. Master of Science, Kasetsart University, Bangkok, Thesis, 123 p. (in Thai)
- [29] Jackson, A.E., Stephen, W.A. and Maurice, V.L., 1992, The effect of salinity on growth and amino acid composition in the marine diatom *Nitzschia pungens*, *Canadian Journal of Botany*, 70(1): 2198-2201
- [30] 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. (in Thai)
- [31] Priisholm, K., Moestrup, Ø. and Lundholm, N., 2011, Taxonomic notes on the marine diatom genus *Pseudo-nitzschia* in the Andaman Sea near the island of Phuket, Thailand, with a description of *Pseudo-*

- nitzschia micropora sp. nov.*, Diatom Research, 17(1): 153-175
- [32] Bates, S.S., 1998, Ecophysiology and Metabolism of ASP Toxin Production, Physiological ecology of harmful algal blooms, 405-426
- [33] 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
- [34] 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
- [35] Jennifer Maucher, F., Noah, M., Zhihong, W., John, S.R., 2012, Toxicokinetics of domoic acid in the fetal rat, Toxicology, 294 (1): 36-41
- [36] Landsberg, J.H., 2002, The effects of harmful algal blooms on aquatic organisms, Fisheries Science, 10: 113-390
- [37] Harris, H.S., Benson, S.R., Gilardi, K.V., Poppenga, R.H., Work, T.M., Dutton, P.H. and Mazet, J.A.K., 2011, Comparative health assessment of Western Pacific leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) foraging off the coast of California, 2005-2007, Wildl Dis 47(2): 321-337
- [38] Harris, H.S., Benson, S.R., Miller, M.A., Fire, S.E., Stacy, B.A., Kudela, R.M., Fahy, C.C and Seminoff, J.A., 2013, Domoic Acid in the Leatherback Turtle Food Web on Critical Foraging Grounds in Central California, In Proceeding (2013) p. 2, International Association for Aquatic Animal Medicine