

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

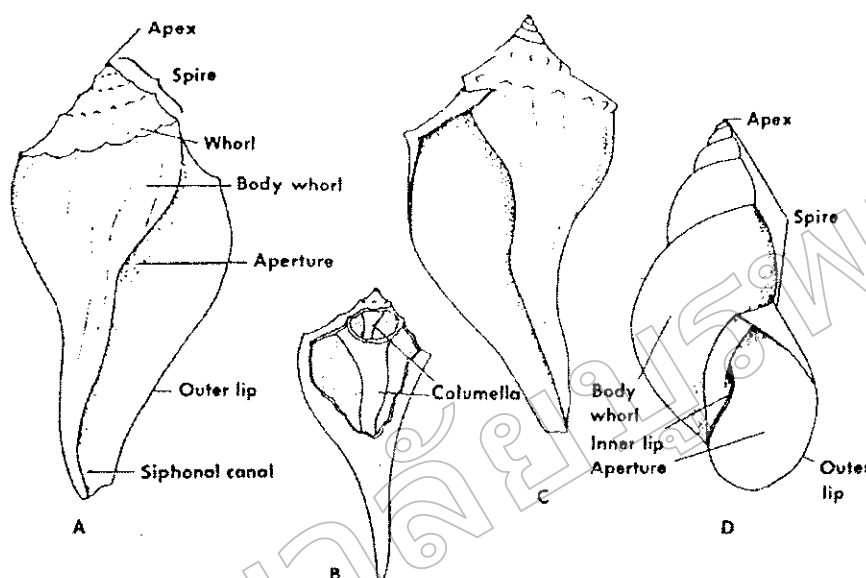
หอยฝาเดียว

หอยฝาเดียวจัดอยู่ใน Phylum Mollusca Class Gastropoda ซึ่งเป็นชั้นที่ใหญ่ที่สุดในไฟลัม จำนวนแกสโทรพอดที่จัดชื่อแล้วมีมากกว่า 80,000 ชนิด และยังมีซากดึกดำบรรพ์อีกประมาณ 20,000 ชนิด (บพิธ จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์, 2547) หอยฝาเดียวหรือหอยกาบเดียว ตามปกติหอยเป็นสัตว์ที่มีสมมาตรแบบซีกซ้ายขวาเหมือนกัน แต่สำหรับพวกหอยฝาเดียวมีการบิดร่างกายเป็นเกลียว (Torsion) 180 องศา ทำให้ทวารหนักวกกลับมาเปิดอยู่ทางด้านเดียวกันกับปาก โครงสร้างอวัยวะภายในปกคลุมด้วยแมนเทิลขึ้นลงมาคลุมส่วนหัวและเท้า ระหว่างแมนเทิลกับเท้าหรือหัว

โครงสร้างที่เห็นได้ทางด้านนอกคือ หัว เท้า แมนเทิลและเปลือก(ไม่มีในบางกลุ่ม) ส่วนหัวนับว่าเจริญดี มีหนวด 2 คู่เชื่อมต่อกับอวัยวะภายในตรงคอ บางชนิดมีตา 1 คู่ อยู่บริเวณฐานหรือปลายหนวด ภายในปากมีแผ่นลิ้น หากถูกรบกวนจะสามารถหดหัวและแมนเทิลเข้าไปในเปลือกได้

เท้ามีรูปร่างยาว ยึดหดได้มาก ด้านล่างแบนราบ มีมัดกล้ามเนื้อจำนวนมากใช้สำหรับคลาน หรือคัดแปลงไปใช้ขุดซ่อนไซ หรือว่ายน้ำ การยึดหดของเท้าเกี่ยวกับการไหลวนของเลือดเข้าไปในโพรงซีโมซัล และการหดตัวคลายตัวของกล้ามเนื้อเท้า ทำให้ไม่ได้ทำหน้าที่การเคลื่อนไหวอย่างเดียว แต่อาจทำหน้าที่ยึดเกาะคล้ายกับปุ่มดูดก็ได้ ลักษณะการคลานเป็นแบบระลอกคลื่นจากข้างหน้าไปข้างหลัง ทางตอนท้ายของเท้าของหอยกาบเดียวบางชนิดมีแผ่นปิดเปิดติดอยู่ ซึ่งหอยใช้สำหรับปิดปากเวลาหดร่างกายเข้าไปในเปลือกแล้ว

แมนเทิลเป็นอวัยวะทำหน้าที่สร้างเปลือกและหายใจ ด้านหน้าเป็นแผ่นยื่นอิสระคลุมบริเวณหัวและเท้า ระหว่างนั้นจะมีเหงือกหรือปอด เปลือกที่แมนเทิลสร้างขึ้นมามีรูปร่างต่างกัน แต่โดยส่วนใหญ่เวียนเป็นรูปเจดีย์ ด้านหนึ่งมีช่องเปิด (Aperture) และมีแกนตรงกลาง (Columella) เปลือกด้านนอกมีลักษณะเป็นชั้น (Whorl) และมีปลายยอด (Apex) ปกติเปลือกหอยจะเวียนขวาตามเข็มนาฬิกา เมื่อหันเอาด้านช่องเปิดเข้าหาตัวเรา (Dextral Clockwise) ยกเว้นหอยบางชนิด ส่วนน้อยเท่านั้นที่เปลือกเวียนไปทางซ้าย (Sinistral, Counterclockwise) และบางชนิดเป็นได้ทั้ง 2 แบบ (สุรินทร์ มัจฉาชีพ, 2526) โดยแสดงดังภาพที่ 1 และ ภาพที่ 2 แสดงอวัยวะภายในและภายนอกของหอยฝาเดียว



ภาพที่ 1 เปลือกหอยฝาเดียว A, B: *Busycon carina* เปลือกเวียนขวา C: *Busycon contrarium* เปลือกเวียนซ้าย และ D: หอยขม *Lymnaea* (สุรินทร์ มัจฉาชีพ, 2526)

ระบบสืบพันธุ์ของหอยฝาเดียว

หอยฝาเดียวมีทั้งเพศแยกและเพศรวม ตัวผู้และตัวเมีย ไม่มีความแตกต่างกันเมื่อดูจากลักษณะภายนอก ตามปกติอวัยวะสืบพันธุ์จะมีก้อนเดียวอยู่ทางด้านหลังของก้อนอวัยวะภายใน และจะมีท่อนำเซลล์สืบพันธุ์ออกนอกตัว ท่อนี้มักจะเปลี่ยนแปลงมาจากท่อใด หรือบางส่วนของเยื่อแมนเทิล อวัยวะสืบพันธุ์ของแต่ละเพศมีดังนี้

เพศผู้

1. อัณฑะ (Testis) เป็นก้อนเดี่ยวทำหน้าที่สร้างสเปิร์ม
2. วาส เดเฟเรนส์ (Vas Deferens) นำสเปิร์มออกจากอัณฑะ
3. ต่อมพรอสเทต (Prostate Gland) คือส่วนของวาสเดเฟเรนส์ ที่โป่งออกเป็นถุง ทำหน้าที่สร้างน้ำเลี้ยงสเปิร์ม ทำให้สเปิร์มแข็งแรง
4. ฟินิส (Penis) เป็นส่วนปลายสุดของท่อ มีกล้ามเนื้อผนังท่อแข็งแรงยื่นออกนอกตัวได้

เพศเมีย

1. รังไข่ (Ovary) เป็นก้อนเดี่ยวทำหน้าที่สร้างไข่
2. ท่อนำไข่ (Oviduct) เป็นท่อนำไข่ออกจากรังไข่



ภาพที่ 2 อวัยวะของหอยฝาเดียว A: ฝา *Helix* ทางด้านหลังของลำตัวเพื่อแสดงอวัยวะภายใน และ B-C: หอยฝาเดียวทะเล *Buccinum undatum* B: ลักษณะภายนอกและการเคลื่อนที่ C: ภาพทางด้านหลังที่แกะเปลือกออกและตัดแยกแมนเทิลออก (บพิท จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์, 2547)

3. ต่อมไข่ขาว (Albumin Gland) เป็นต่อมสร้างอาหารให้กับไข่ อยู่ตอนต้นของท่อนำไข่ จะสร้างไข่ขาว (Albumin) มาหุ้มไข่แต่ละฟองก่อนที่จะสร้างเปลือกไข่มาหุ้มไว้

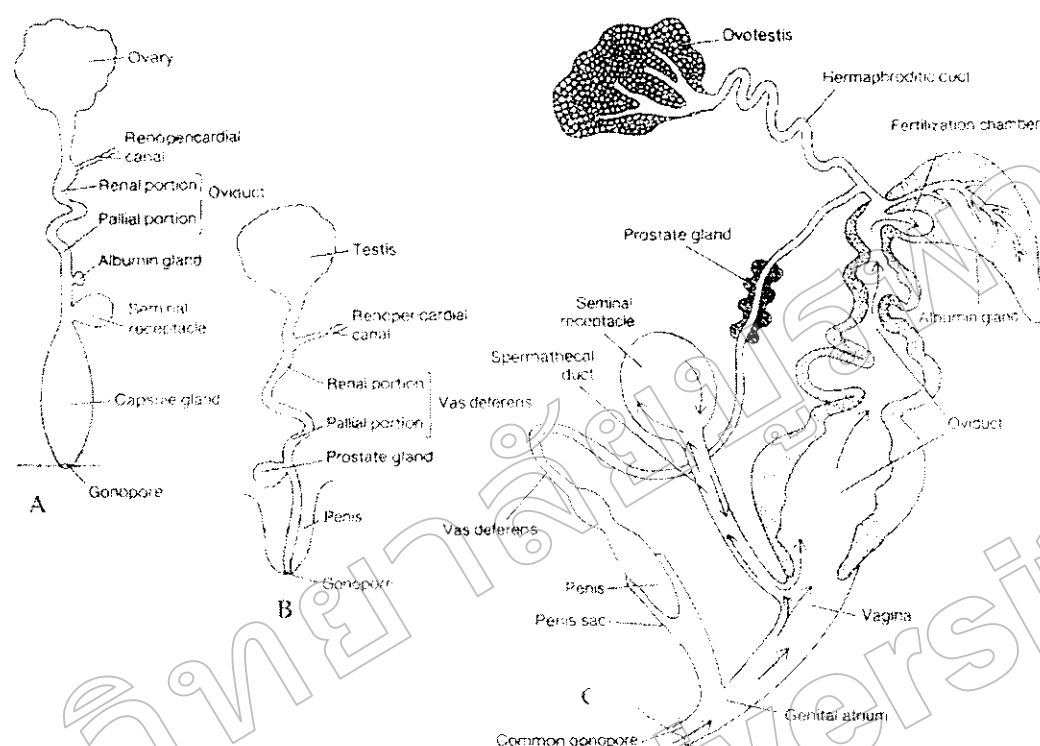
4. ถุงรับสเปิร์ม (Seminal Receptacle) เป็นถุงเก็บสเปิร์มได้มาจากตัวผู้ในเวลาจับคู่ ผสมพันธุ์

5. ต่อมแคปซูล (Capsule Gland), ต่อมเจลลี่ (Jelly Gland), ต่อมเมือก (Mucus Gland) เป็นต่อมที่สร้างสารหุ้มไข่อีกชั้นหนึ่งก่อนจะออกจากตัว ทำให้ไข่เป็นกลุ่มฝังอยู่ในวุ้นเมือกหรืออยู่ในแคปซูลที่ยึดติดอยู่กับวัตถุต่าง ๆ

ปลายสุดของท่อน้ำสืบพันธุ์จะเปิดออกทางรูสืบพันธุ์ซึ่งอยู่ที่โคนหนวดข้างขวา เมื่อมีการจับคู่ผสมพันธุ์ ตัวผู้จะยื่นพินิสออกมาทางรูสืบพันธุ์และสอดเข้าไปในรูสืบพันธุ์เพศเมีย

หอยฝาเดียวบางกลุ่มมีเพศรวม มีโอโวเทสทิส (Ovotestis) ก้อนเดียวทำหน้าที่สร้างทั้งไข่และสเปิร์มจากโอโวเทสทิสจะมีท่อนำเซลล์สืบพันธุ์ที่เรียกว่า ท่อเพศรวม (Hermaphroditic Duct) ยาวขดงอไปมาแล้วแตกแขนงเป็นท่อเพศผู้และท่อเพศเมียคือ วาสเดเฟอเรนส์ และท่อนำไข่แยกออกไปสองข้าง สเปิร์มก็จะเข้าสู่วาสเดเฟอเรนส์และพินิสตามลำดับ ส่วนไข่ก็จะไปตามท่อนำไข่และวาไจนา (Vagina) ตามลำดับ ท่อเพศผู้และเพศเมียจะมาบรรจบกันเป็นท่อเดียวที่ช่องสืบพันธุ์ (Genital Atrium) และรวมกันออกนอกตัวเพียงช่องเดียวทางรูสืบพันธุ์ร่วม (Common Gonopore) อวัยวะอื่นที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์จะมีเช่นเดียวกับที่พบในพวกที่มีเพศแยกกัน

พวกที่มีเพศรวมจะมีการปฏิสนธิข้ามตัว (Cross Fertilization) ต่างฝ่ายจะใช้พินิสสอดเข้าไปในช่องสืบพันธุ์ของตัวที่มาจับคู่กัน และส่งสเปออร์มาโทฟอร (Spermatophore) ไปเก็บไว้ที่ถุงรับสเปิร์ม แคปซูลของสเปออร์มาโทฟอรจะละลายไป ปลออสเปิร์มออกมาและเข้าไปยังวาไจนา ตามท่อนำไข่และขึ้นไปผสมกับไข่บริเวณตอนต้นของท่อนำไข่ (Fertilization Chamber) ไข่ของหอยฝาเดียวส่วนมากจะฟักออกมาเป็นตัวคล้ายพ่อแม่โดยมีระยะ โทรโคฟอรหรือเวลิจเอร์อยู่ในไข่ และบางชนิดไข่อาจจะฟักอยู่ภายในท่อนำไข่ซึ่งขยายตัวพองออกเป็นยูเทรัส (Uterus) และออกลูกเป็นตัวแบบที่เรียกว่า Ovoviviparous (ออกลูกเป็นตัวโดยมีระยะตัวอ่อนเจริญอยู่ในยูเทรัสและไม่ได้รับอาหารจากแม่) แต่หอยฝาเดียวส่วนใหญ่จะวางไข่และฟักนอกตัว ไข่มักจะรวมเป็นกลุ่มหรืออยู่ในแคปซูลยึดเกาะกับวัตถุต่าง ๆ (บพิท จารุพันธุ์ และนันทพร จารุพันธุ์, 2548)

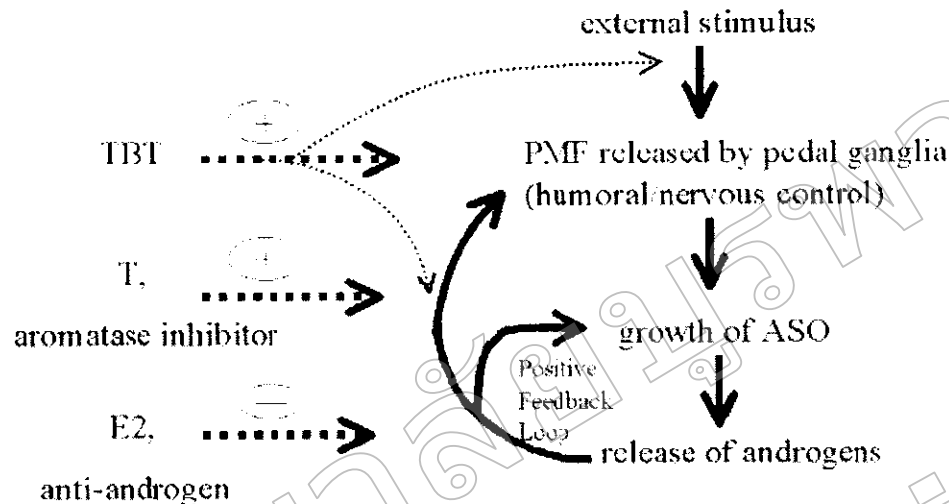


ภาพที่ 3 ระบบสืบพันธุ์ของหอยฝาเดียว A: เพศเมีย B: เพศผู้ และ C: เพศรวม (บพิท จารุพันธุ์ และ นันทพร จารุพันธุ์, 2548)

Imposex

Imposex เป็นปรากฏการณ์เนื่องจากพิษสะสมของ TBT เหนี่ยวนำให้หอยเพศเมียแสดงลักษณะของหอยเพศผู้ โดยมี Pseudopenis และ Pseudo Vas Deferens (ท่อนาสเปิร์ม) เกิดขึ้น เนื่องจาก TBT จะกระตุ้นการขับ Penial Morphogenetic Factor จาก Pedal Ganglia ซึ่งอยู่ภายใต้การควบคุมของ Cerebropleural ทำให้ปล่อย Testosterone ออกมาส่งผลให้เกิดการพัฒนา Pseudopenis และ Pseudo Vas Deferens ในหอยเพศเมีย (Foale, 1993) อวัยวะที่เกิดขึ้นใหม่นี้จะไปขวางท่อนำไข่ ทำให้ท่อนำไข่อุดตัน หอยเพศเมียจึงเป็นหมันเพราะไม่สามารถวางไข่ได้ เมื่อไข่มีการสะสมมากขึ้น ทำให้ท่อนำไข่แตก เป็นสาเหตุของการตายของหอยและจำนวนประชากรของหอยชนิดนั้นๆ ลดลง (Gibbs & Bryan, 1996) โดยงานวิจัยปี 2002 ของ Oberdorster และคณะ (Oberdorster et al., 2002) ที่ทำการศึกษากลไกการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียวชนิด *Ilyanassa obsoleta* ซึ่งแสดงกลไกในการเกิด Imposex ดังภาพที่ 4

Peptide Control of Accessory Sex Organs

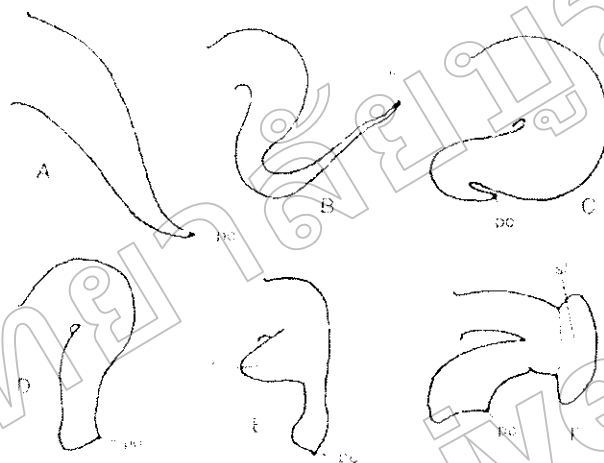


ภาพที่ 4 กลไกในการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียว *Ilyanassa obsoleta* (Oberdorster et al., 2002)

- หมายเหตุ
- PMF คือ Penis Morphogenic Factor
 - ASO คือ Accessory Sex Organs
 - T คือ Testosterone
 - E2 คือ Estrogen
 - + คือ การกระตุ้นให้เกิด Imposex
 - คือ การยับยั้งการเกิด Imposex

จากภาพที่ 4 กลไกการเกิด Imposex เกิดจาก TBT เป็นสาร Neurotoxic และเกิดการสะสมในปมประสาทของหอย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Peptide Hormone ซึ่งเป็น Hormone ควบคุมการเปลี่ยนแปลงเพศในหอยฝาเดียว และพบว่า PMF neuropeptide APGWamide ชักนำให้เกิด Imposex ใน *Ilyanassa obsoleta* กลไกการเกิด Imposex ที่ 2 คือ TBT ยับยั้ง Aromatase Activity นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของระดับ Testosterone และระดับ Estradiol ลดลง ในการศึกษาด้วย Snail Digestive Gland Microsome แสดงให้เห็นว่า ระดับของ TBT ที่ไม่ทำให้หอยแสดง Imposex แต่ทำให้มีการลดลงของ Aromatase Activity ถึง 52% ถึงแม้จะยังไม่มีข้อมูลของ Vertebrate Sex Steroids ในหอยฝาเดียว แต่เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ Peptide ร่วมกับ Steroid Hormone อาจนำไปสู่การชักนำการเกิด Imposex ใน TBT ปริมาณต่ำได้ (Oberdorster et al., 2002)

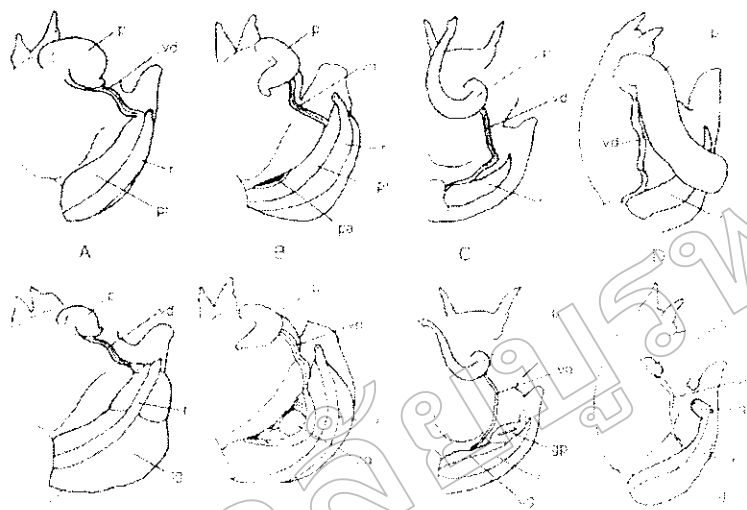
การเกิด Imposex เป็นการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรในระบบนิเวศน์ ดังที่มี รายงานถึงการลดลงของจำนวนประชากร Dogwhelks *Nucella lapillus* ในภาคใต้ด้านตะวันตกของ อังกฤษในช่วงทศวรรษ 1980 (Evan et al., 1995a) ในหอยฝาเดียวเพศผู้แต่ละชนิดนั้นจะมีลักษณะ ของ Penis ที่แตกต่างกันแสดงดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ลักษณะของ Penis ในหอยฝาเดียวเพศผู้ A: *Muricanthus fulvescens* B: *Nassa sarta* C: *Thais nodosa* D: *Cymia tecta* E: *Cronia amygdale* และ F: *Morula uva* (de Mora, 1996)

หมายเหตุ po คือ ช่องเปิดเพศผู้ (Penial Opening)
sl คือ ดั้งด้านข้าง (Side Lobe)

จากการที่หอยฝาเดียวเพศผู้แต่ละชนิดนั้นจะมีลักษณะของ Penis ที่แตกต่างกันนั้นยัง พบว่าลักษณะของ Penis ที่พัฒนาขึ้นในหอยฝาเดียวเพศเมียยังมีลักษณะแตกต่างจาก Penis ของหอย ฝาเดียวเพศผู้ชนิดเดียวกันด้วยแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การเปรียบเทียบ Penis ในหอยฝาเดียวเพศเมียที่เกิด Imposex กับ หอยฝาเดียวเพศผู้
ภาพด้านบนเป็นภาพของหอยฝาเดียวเพศผู้ และด้านล่างเป็นภาพของหอยฝาเดียวเพศ
เมียที่เกิด Imposex โดย A: *Nucella lapillus* B: *Ocenebra erinacea*
C: *Nassarius reticulatus* และ D: *Buccinum undatum* (de Mora, 1996)

หมายเหตุ cg คือ ต่อมแคปซูล (Capsule Gland)

gp คือ ตุ่มอวัยวะสืบพันธุ์ (Genital Papilla)

p คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (Penis)

pa คือ ช่องเปิดของพรอสเทต (Prostate Aperture)

pr คือ พรอสเทต (Prostate)

r คือ ไส้ตรง (Rectum)

vd คือ ท่อนำสุจิ (Vas Deferens)

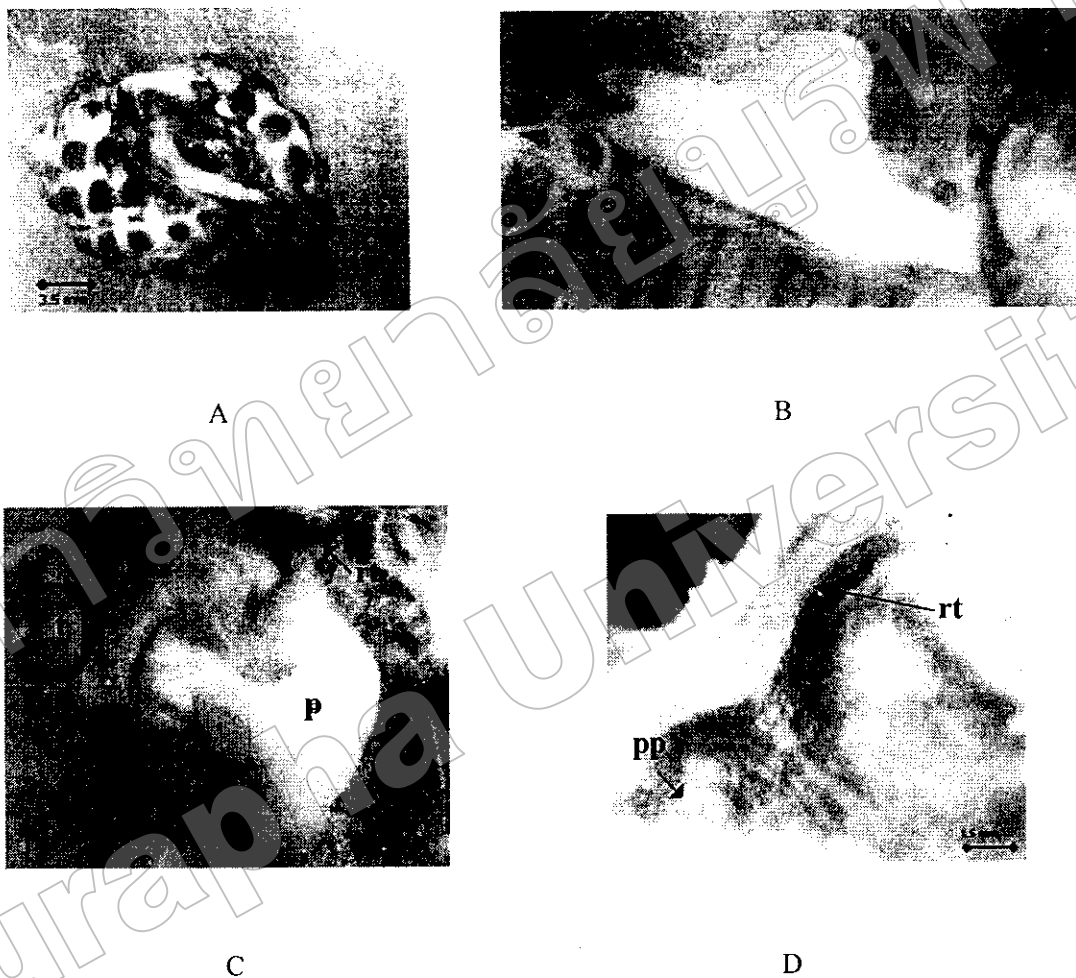
การวัด Imposex มีดัชนีที่บ่งชี้ได้ 2 วิธี คือ (Wilson, Ahsanullah, & Thompson, 1993)

1. เปอร์เซ็นต์ของหอยเพศเมียที่เกิดผลกระทบ

2. Relative Penis Size Index (RPSI) (Wilson et al., 1993, pp. 44-48 อ้างอิงจาก Bryan et al., 1987, pp. 17-20) เป็นผู้นำดัชนีนี้มาใช้ในการประเมินผลการเกิด Imposex เป็นคนแรก RPS มีสูตรดังนี้คือ

$$\frac{\text{ความยาวเฉลี่ยของ Penis ในหอยเพศเมีย}}{\text{ความยาวเฉลี่ยของ Penis ในหอยเพศผู้}} \times 100$$

ในปี 2004 Andersen Leonie (Leonie, 2004) พบการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียวชนิด Mulberry whelks (*Morula marginalba*) บริเวณท่าเรือกรุงทิสของประเทศวินแลนด์เกิด Imposex ถึง 43 % โดยการเกิด Imposex ใน *Morula marginalba* แสดงดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 ลักษณะการเกิด Imposex ใน *Morula marginalba* A: หอยฝาเดียวชนิด Mulberry whelks (*Morula marginalba*) B: ลักษณะพินิสของเพศผู้ C: ลักษณะของเพศผู้ และ D: การเกิด Imposex ใน Mulberry whelks (*Morula marginalba*) เพศเมีย (Leonie, 2004)

- หมายเหตุ
- pp คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เทียม (Pseudopenis)
 - p คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (Penis)
 - rt คือ หนวดข้างขวา (Right Tentacle)
 - t คือ อัณฑะ (Testis)

และในการแบ่งระดับการเกิด Imposex นั้นได้มีการนำเสนอระดับการเกิด Imposex ในหลาย ๆ ลักษณะ เช่น ในปี 1992 Stroben และคณะ (Stroben, Brommel, Oehlmann, & Fioroni, 1992, pp. 349-374). ทำการศึกษาการเกิด Imposex ใน *Trivia arctica* และ *T. monacha* โดยทำการแบ่งระดับขั้นตอนของการเกิด Imposex เป็น 6 ขั้นตอน

Stage 0: ไม่เกิดลักษณะเพศผู้ (ไม่มี Pseudopenis และ Pseudo Vas Deferens)

Stage 1: พบ Pseudopenis บริเวณใกล้กับหนวดด้านขวา

Stage 2: พบ Pseudopenis มีการพัฒนาขนาดและความยาวรวมทั้งเกิด Pseudo Vas Deferens บริเวณใกล้กับหนวดด้านขวา

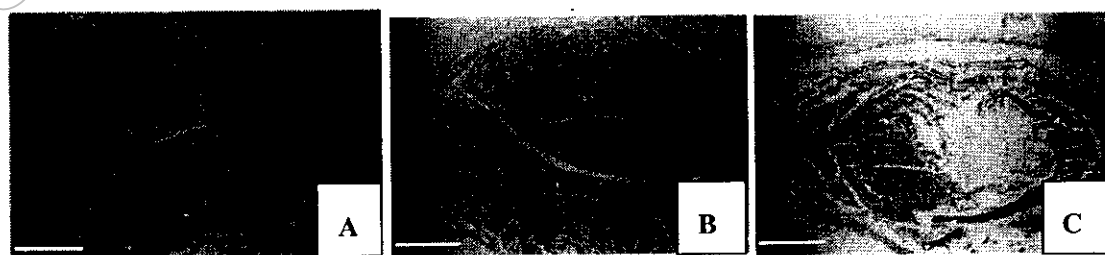
Stage 3: Pseudo Vas Deferens จาก Pseudopenis เจริญถึงช่องเปิดเพศเมีย

Stage 4: พบ Pseudopenis มีการพัฒนาขนาดและความยาว รวมทั้ง Pseudo Vas Deferens เจริญถึงรอยแยกของช่องเปิดเพศเมีย

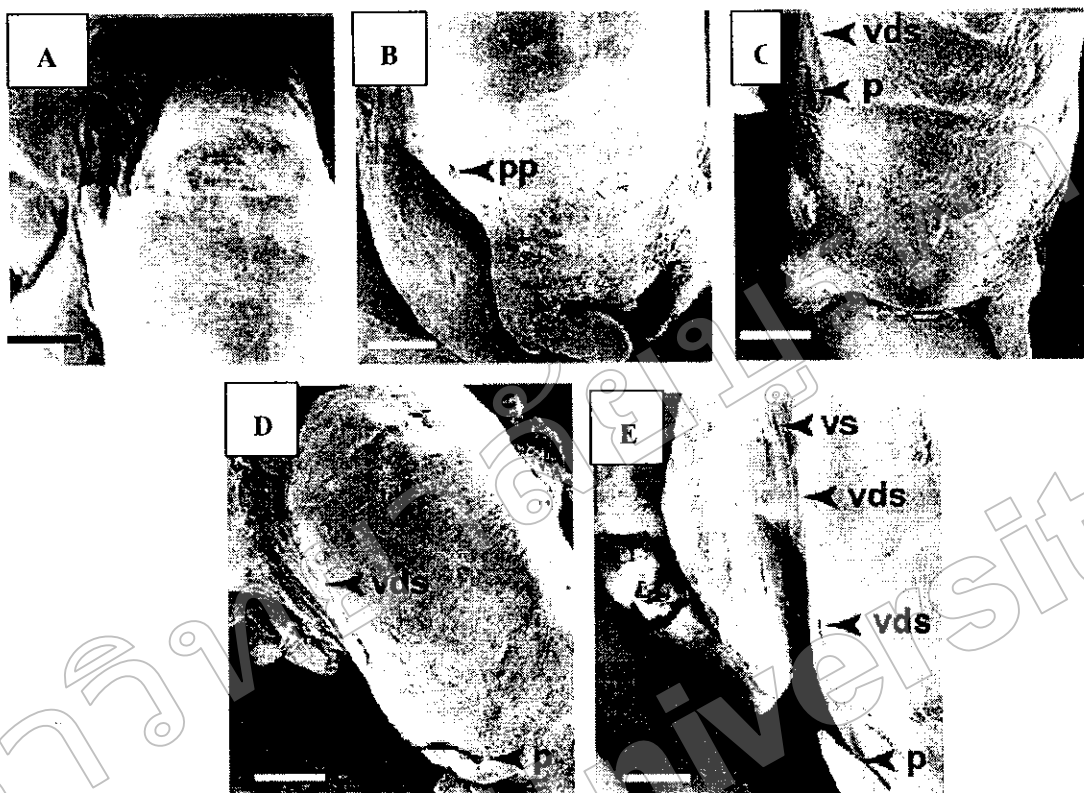
Stage 5: พบ Pseudopenis มีการพัฒนาขนาดและความยาว รวมทั้ง Pseudo Vas Deferens เจริญเข้าไปในรอยแยกของช่องเปิดเพศเมียและเข้าไปยังต่อมแคปซูล (Capsule Gland)

Stage 6: พบ Pseudopenis มีการพัฒนาขนาดและความยาวรวมทั้ง Pseudo Vas Deferens เจริญเข้าไปในรอยแยกของช่องเปิดเพศเมียและเจาะทะลุเข้าไปยังต่อมแคปซูล (Capsule Gland)

และในปี 2005 Vishwakiran และคณะ (Vishwakiran, Anil, Venkat, & Sawant, 2005). ศึกษาการเกิด Imposex ในหอย *Gyrineum natator* ซึ่งทำการศึกษาโดยการตัดเนื้อเยื่อบริเวณต่อมแคปซูล (Capsule Gland) ของหอยเพศเมียที่เกิด Imposex โดยพบการเปลี่ยนแปลงของต่อมแคปซูล (Capsule Gland) ดังภาพที่ 8 และลักษณะการเกิด Imposex แสดงดังภาพที่ 9



ภาพที่ 8 ลักษณะของต่อมแคปซูล (Capsule Gland) A: ต่อมแคปซูล (Capsule Gland) ในเพศเมียปกติ B: ต่อมแคปซูล (Capsule Gland) ในเพศเมียที่เกิด Imposex Stage 4 และ C: ต่อมแคปซูล (Capsule Gland) ในเพศเมียที่เกิด Imposex Stage 6 (Vishwakiran et al., 2005)



ภาพที่ 9 การเกิด Imposex ของหอย *Gyrineum natator* โดย A: คือ Stage 0 B: คือ Stage 1-2 C: คือ Stage 3 D: คือ Stage 4 และ E: คือ Stage 5 (Vishwakiran et al., 2005)

หมายเหตุ pp คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เทียมเริ่มต้น (Pseudopenis Primodium)

p คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เทียม (Pseudopenis)

vs คือ รอยแยกของช่องเปิดเพศเมีย (Vaginal Slit)

vds คือ ท่อนำอสุจิเทียม (Pseudo Vas Deferens)

ในปี 1999 Vishwakiran และ Anil ได้ทำการศึกษาการเกิด Imposex ใน *Cronia konkanensis* โดยทำการแบ่งระดับขั้นตอนของการเกิด Imposex 4 ขั้นตอนดังภาพที่ 10

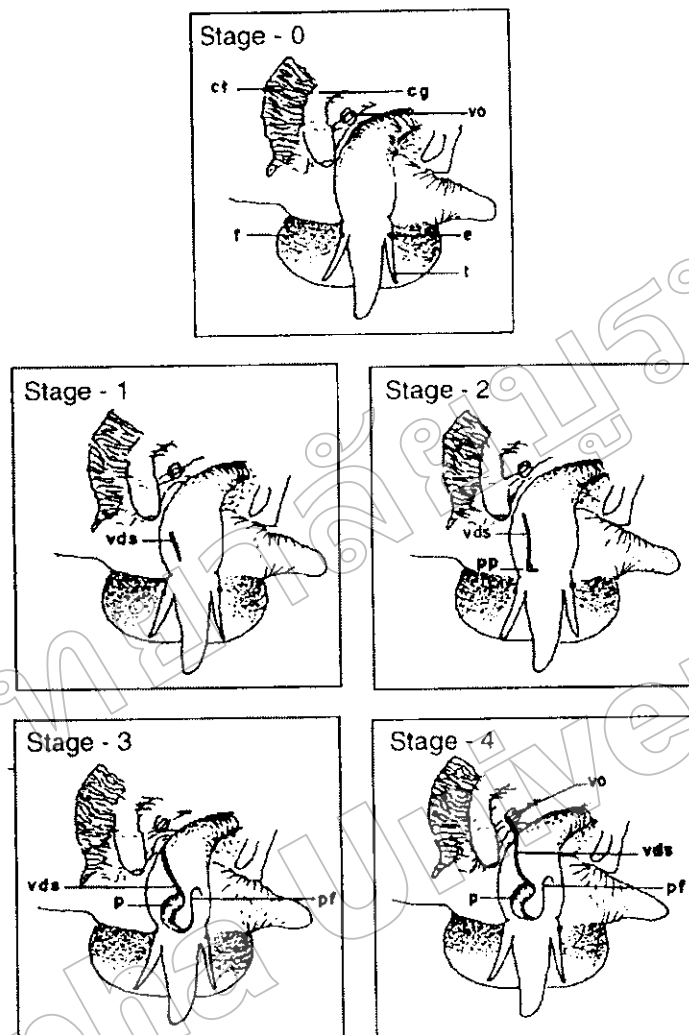
Stage 0: ไม่เกิดลักษณะเพศผู้ (ไม่มี Pseudopenis และ Pseudo Vas Deferens)

Stage 1: เกิด Pseudo Vas Deferens(vds) ก่อน Pseudopenis Primordium (pp)

Stage 2: เกิด Pseudopenis Primordium ต่อจาก Pseudo Vas Deferens

Stage 3: เกิด Pseudo Penial Flagellum (pf)

Stage 4: Pseudo Vas Deferens ขัดขวางการทำงานของ Vaginal Opening (vo)



ภาพที่ 10 การเกิด Impossex ของหอย *Cronia konkanensis* (Vishwakiran, & Anil, 1999)

- หมายเหตุ
- pp คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เทียมเริ่มต้น (Pseudopenis Primodium)
 - vo คือ ช่องเปิดเพศเมีย (Vaginal Opening)
 - p คือ อวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้เทียม (Pseudopenis)
 - vds คือ ท่อนำอสุจิเทียม (Pseudo Vas Deferens)
 - cg คือ ต่อมแคปซูล (Capsule Gland)
 - pf คือ ส่วนปลายอวัยวะเพศผู้ (Penial Flagellum)
 - t คือ หนวด (Tentacle)
 - e คือ ตา (Eye)

สารประกอบไตรบิวทิลทิน (Tributyltin Compounds: TBT)

Tributyltin (TBT) เป็นสารประกอบชนิดหนึ่งในกลุ่มของ Butyltins (BTs) ประกอบด้วย Dibutyltin (DBT), Monobutyltin (MBT) และสารประกอบอินทรีย์ทั้งหมดที่มีส่วนประกอบของดีบุกอยู่เรียกว่า Organotin (OTs) ซึ่งเป็นสารมลพิษที่สำคัญในระบบนิเวศวิทยาของแหล่งน้ำ (Fent & Looser, 1995) TBT ประกอบด้วยพันธะของคาร์บอน 3 พันธะจับอยู่กับอะตอมของดีบุก มีสูตรโมเลกุล $(C_4H_9)_3Sn$ TBT เป็นส่วนประกอบของสีทาเรือป้องกันเฟรียง, สาท่ายเรือหรือ Tunicate มาเกาะ และในดาข่ายที่ใช้เลี้ยงสัตว์น้ำ (Iwata et al., 1994) เนื่องจาก TBT มีคุณสมบัติเป็น Biocide ดังนั้นจึงมีการนำเอา TBT ใช้เป็นสารฆ่าเชื้อรา (Fungicide) แบคทีเรีย (Bactericide) แมลง (Insecticide) สารที่ใช้ในการรักษาเนื้อไม้ (Wood Preservative) (Evan, Leksono, & Mckinnell, 1995b) และสารป้องกันราเมือก (Slimeicide) และมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของสีทาเรือ ซึ่งได้มีการนำมาใช้ตั้งแต่ปลายทศวรรษ 1960s (Minchin, Oehlmann, Duggan, Stroben, & Keatinge, 1995) จนปัจจุบันมีการใช้สีทาเรือกันอย่างแพร่หลายถึง 3,000 ตันต่อปี (Fargasova & Kizlink, 1996) ซึ่งการปลดปล่อย TBT ของสีทาเรือเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ TBT ปนเปื้อนสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะในบริเวณท่าเรือและอ่าวทะเลหรือน่านน้ำที่เป็นเส้นทางเดินเรือที่สำคัญ มีกิจกรรมทางเรือมาก (Evan et al., 1995b)

การสะสมของสารไตรบิวทิลทินในดินตะกอน

TBT มีคุณสมบัติเป็น Hydrophobic จึงละลายน้ำได้น้อย สามารถจับกับอนุภาคหรือดินตะกอนได้ดี ดินตะกอนจึงเป็นแหล่งสะสมของ TBT ทำให้ทนทานต่อการย่อยสลาย จึงทำให้สะสมในดินตะกอนและปลดปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตในน้ำเป็นระยะเวลานาน โดยพบว่าการปลดปล่อย TBT ออกมาจากดินตะกอนหรือ Desorption เกิดขึ้นได้ช้ากว่า Adsorption ดังนั้นทำให้ครึ่งชีวิตหรือการสะสมของ TBT ในดินตะกอนมีค่าประมาณ 2.5 ปี ซึ่งมากกว่าครึ่งชีวิตของ TBT ในน้ำที่เป็นระยะเวลาสั้นๆ ประมาณ 1 สัปดาห์ (Kan-atireklap, Tanabe, & Sanguansin, 1997) สำหรับการดูดซับของ TBT ในดินตะกอนเป็นค่า K_d (Sediment/Water Distribution Coefficients) ซึ่งขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของดินตะกอน ปริมาณการปนเปื้อนของ TBT ในบริเวณนั้นๆ คือบริเวณท่าเรือซึ่งเป็นที่จอดเรือจำนวนมาก จะมีปริมาณของ TBT ในดินตะกอนสูง ความเค็ม pH และ Humic Substance (Langston & Pope, 1996) และสำหรับในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2548 ได้มีการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินในดินตะกอนในบริเวณจังหวัดชลบุรีและจังหวัดภูเก็ต โดยกรมควบคุมมลพิษส่วนแหล่งน้ำทะเลพบว่ามีการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 5-21 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยตรวจพบค่าสูงสุด

ที่สถานีหัวแหลมฉบบัง รองลงมาที่สถานีท่าเรือแหลมฉบบัง อ่าวอุดมกลาง ในจังหวัดชลบุรี (21, 19 และ 15 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ) ส่วนในจังหวัดภูเก็ตพบค่าสูงสุดในบริเวณท่าเทียบเรือ ภูเก็ต ภูเก็ต ลากูจ จำกัด รองลงมาคือ คานเรือ บริษัท รัดนชัย คานเรือ จำกัด (14 และ 10 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ) (กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

การสะสมของสารไตรบิวทิลทินในน้ำทะเล

การแพร่กระจายของ TBT ในน้ำทะเลมีความสัมพันธ์กับปริมาณของเรือที่ใช้สีทาเรือที่มีส่วนผสมของ TBT โดยมีการหมุนเวียนของน้ำเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อระดับการปนเปื้อนของ TBT บริเวณชายฝั่งเมดิเตอร์เรเนียนในประเทศฝรั่งเศส มีการหมุนเวียนของน้ำได้น้อยกว่าชายฝั่งทางคัวมหาสมุทรแอตแลนติก น้ำทะเลชายฝั่งเมดิเตอร์เรเนียนจึงมีระดับการปนเปื้อนสูงกว่า (จูรีพร ล้อมเมตตา, 2544 อ้างอิงจาก Alzieu et al., 1991) TBT มีค่า Octanol-Water Partitioning (K_{ow}) = 5000 (de Mora, 1996) จึงละลายน้ำได้น้อย สามารถจับกับอนุภาคดินตะกอนและสะสมในสิ่งมีชีวิตได้ดีกว่า ในชั้นน้ำจึงพบว่ามีค่าเข้มข้นของ TBT ในปริมาณที่น้อยกว่าดินตะกอนและในสิ่งมีชีวิต นอกจากนั้นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณ TBT ที่พบในชั้นน้ำมีปริมาณน้อยเนื่องมาจากการย่อยสลายเป็น Dibutyltin (DBT) และ Monobutyltin (MBT) ตามลำดับ เกิดได้ทั้งกระบวนการทางชีวภาพคือการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์และทางกายภาพ คือ กระบวนการ Photochemical แต่ในทางกายภาพจะเกิดได้น้อยกว่า (Dowson, Bubb, & Lester, 1992) นอกจากนี้ความเข้มข้นของ TBT ในชั้นน้ำก็ยังขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น การปลดปล่อยออกมาจากอนุภาคดินตะกอน (Desorption) และกระแสน้ำที่ไหลเวียน จะทำให้ความเข้มข้นของ TBT ในชั้นน้ำเจือจางลง ซึ่งลักษณะเช่นนี้จะมีผลต่ออ่าวหรือชายฝั่งที่มีลักษณะปิดจะมีความเข้มข้นของ TBT มากพอที่จะทำให้เกิดผลกระทบต่อสัตว์น้ำ แต่ความเข้มข้นของ TBT จะเจือจางลงในอ่าวหรือชายฝั่งที่มีลักษณะเปิด และสำหรับในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2548 ได้มีการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินในน้ำทะเลในบริเวณจังหวัดชลบุรีและจังหวัดภูเก็ตโดยกรมควบคุมมลพิษส่วนแหล่งน้ำทะเลพบว่ามีการปนเปื้อนของสารไตรบิวทิลทินอยู่ระหว่าง 18-140 นาโนกรัมต่อลิตร โดยตรวจพบค่าสูงสุดในบริเวณท่าเทียบเรือ ภูเก็ต ภูเก็ต ลากูจ จำกัด (140 นาโนกรัมต่อลิตร) ส่วนในจังหวัดชลบุรีตรวจพบค่าสูงสุดในสถานีหัวแหลมฉบบัง (69 นาโนกรัมต่อลิตร) (กรมควบคุมมลพิษ, 2549)

ผลของสารไตรบิวทิลทินต่อสิ่งมีชีวิต

นอกจากผลกระทบที่ก่อให้เกิด Imposex ในหอยเพศเมียแล้วยังพบว่ามีผลต่อรูปร่าง ลักษณะภายนอกของสิ่งมีชีวิต (Morphology) TBT ทำให้เกิดความผิดปกติของเปลือกหอยนางรม โดยประเทศฝรั่งเศสเป็นประเทศแรกที่มีรายงานความผิดปกติของเปลือกหอยนางรม ซึ่งรายงานว่า เปลือกหอยนางรมที่เลี้ยงบริเวณชายฝั่งแอตแลนติกที่มีการปนเปื้อนของ TBT ที่ใช้เป็นส่วนผสมของสีทาเรือมีการแบ่งชั้นของเปลือกหอยเกิดขึ้นใหม่มากกว่า 10 ชั้น เปลือกหอยจึงมีรูปร่างลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจนเป็นก้อนกลมเรียกว่า Ball จนทำให้โพรงหรือช่องว่างที่อยู่ด้านในเล็กลง ดังภาพที่ 11 เนื้อเยื่อหอยที่อยู่ในเปลือกจึงมีขนาดเล็ก มีน้ำหนักน้อย และมีมูลค่าทางเศรษฐกิจลดลง ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อการเพาะเลี้ยงหอย ซึ่งหอยนางรม *C. gigas* (Stebbing, 1985; de Mora, 1996)



ภาพที่ 11 ผลกระทบของสารไตรบิวทิลทินต่อการเจริญเติบโตของเปลือกหอยนางรม
(Environmental Toxicology 80E Aquatic Toxicology, 2004)

- A - การเจริญเติบโตของเปลือกหอยตามปกติ
B - ความผิดปกติของเปลือกหอยเนื่องจาก TBT

โดยในปี 1984 Laughlin, Nordlund และ Linden ได้ทำการศึกษาในตัวอ่อนของ *Gammarus oceanicus* พบว่าเมื่อสัมผัสกับ TBT เวลาหนึ่งตัวเต็มวัยได้รับการสัมผัสในเวลา 1 สัปดาห์ โดยที่ 50% จะตายในเวลา 3 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งจะมีอายุยืนกว่าตัวอ่อนที่ได้รับ TBT มีจำนวนรอดน้อยกว่าตัวอ่อนในกลุ่มควบคุมเกือบครึ่ง การเจริญเติบโตของตัวอ่อนลดลงเห็นได้จากขนาดความยาวและน้ำหนักน้อยกว่าในกลุ่มควบคุม พฤติกรรมการว่ายน้ำของตัวอ่อนจะแตกต่างกัน ในกลุ่มที่สัมผัสกับ TBT ตัวอ่อนจะว่ายน้ำมากขึ้น หลังจากนั้นจะว่ายน้ำที่ผิวน้ำ ส่วนกลุ่มควบคุมจะอยู่นิ่ง ๆ และว่ายน้ำน้อยมากในเวลากลางวัน (จิตติลาวัณย์ กลิ่นคล้ายกัน, 2539)

และยังพบอีกว่าสารไตรบิวทิลทินทำให้เกิดความผิดปกติในอวัยวะ Penis ของหอยเพศผู้ *Bolinus brandaris* ในบริเวณ North-Western Mediterranean ซึ่งแสดงดังภาพที่ 12



ภาพที่ 12 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดง Penis ในหอย *Bolinus brandaris* เพศผู้ โดย A แสดงลักษณะ Penis ที่ปกติ และ B แสดงลักษณะ Penis ที่ผิดปกติ หมายเหตุ ex คือส่วนที่ผิดปกติ (Excrecences) (Ramon & Amor, 2001)

ผลของสารไตรบิวทิลทินต่อมนุษย์

คนงานที่ทำงานเกี่ยวข้องกับ Di และ Tributyltin Chlorides เกิดการอักเสบที่ผิวหนัง และพบว่าผิวหนังจะไหม้หลังจากการสัมผัส Di หรือ Tributyltin Chlorides เป็นเวลา 1-8 ชั่วโมง ถ้าล้างออกทันทีอาการจะไม่รุนแรง สารดังกล่าวหากถูกนัยน์ตาจะทำให้แสบตา น้ำตาไหลและมีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อนัยน์ตาอาการอักเสบนั้นจะคงอยู่ได้นานถึง 4 วัน แม้จะล้างตาออกอย่างรวดเร็วก็ไม่สามารถป้องกันอาการอักเสบที่ตานี้ได้

คนงานหญิงที่ฉีดพ่นสีทาบ้านประเภท Latex Paint ที่มีสารประกอบ Bis-(Tributyltin)Oxide ร้อยละ 20 เมื่อเริ่มทำงานจะเกิดอาการเวียนศีรษะ ระบายจุก และนัยน์ตา โดยทันทีและเมื่อทำงานเป็นเวลานาน ๆ อาจทำให้เกิดโรคเรื้อรังดวงจุก เลือดไหลไม่หยุดในช่องจุก เมื่อหยุดใช้อาการเหล่านี้ก็จะหายไป (การจัดการสารอันตรายและกากของเสีย, 2541)

มาตรการการควบคุม

ประเทศสหรัฐอเมริกาได้กำหนดปริมาณดีบุกที่ยอมให้มีได้ในบรรยากาศขณะทำงาน คือ กรณีเป็นดีบุกอินทรีย์กำหนด PEL/ TWA (Permissible Exposure Limit/ Time Weighted Average) เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม/ ลูกบาศก์เมตร โดยมีข้อผลข้อบังคับใช้ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2417 นอกจากนี้ FAO/ WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations World Health Organisation) ได้กำหนดค่า ADI (Acceptable Daily Intake) สำหรับดีบุกในอาหารที่มนุษย์บริโภคเท่ากับ 20 มิลลิกรัม/ กิโลกรัม ของน้ำหนักตัว (การจัดการสารอันตรายและกากของเสีย, 2541)

ประเทศเยอรมันได้มีการออกกฎหมาย ห้ามใช้สารประกอบดีบุกในวัสดุสิ่งทออย่างเป็นทางการโดยผู้ผลิตสินค้าประเภทเสื้อผ้าก็ฬารายใหญ่ระดับโลกได้ประกาศออกมาอย่างชัดเจนว่าห้ามโรงงานที่ผลิตสินค้ากลุ่มดังกล่าว ใช้สารตกแต่งที่มี TBT เป็นส่วนประกอบ ทั้งนี้ก็เพราะสารในกลุ่ม TBT นี้มีดีบุก (Tin) เป็นองค์ประกอบซึ่งสามารถก่อให้เกิดอันตรายแก่ทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภคได้ โดยจะมี TLV (Threshold Limit Value) ของดีบุก ประมาณ 0.1 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เมตรของอากาศ (กลุ่มงานเทคโนโลยีสิ่งทอ (เคมีสิ่งทอ) ส่วนอุตสาหกรรมสิ่งทอ, ม.ป.ป.).

ประเทศไทย TBT Fluoride จัดเป็นสารอันตรายประเภทที่ 3 ที่ต้องขออนุญาตก่อนนำเข้า และจากผลกระทบต่าง ๆ ที่มีต่อสิ่งมีชีวิตที่กล่าวมาข้างต้น จึงมีการพิจารณากำหนด ค่ามาตรฐาน TBT ในน้ำทะเลเพื่อปกป้องสิ่งมีชีวิตและป้องกันผลกระทบต่อการใช้ประโยชน์อื่น ๆ โดยจากการประชุมคณะกรรมการพิจารณาปรับปรุงมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลชายฝั่ง ครั้งที่ 1/ 2545 เมื่อวันที่ 1 พฤศจิกายน พ.ศ. 2545 ได้เห็นชอบให้มีค่า ไม่เกิน 0.010 $\mu\text{g/l}$ สำหรับการใช้ประโยชน์ประเภท 1-6 คือ อุตสาหกรรมทรัพยากรธรรมชาติอนุรักษ์แหล่งปะการัง เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ นันทนาการ บริเวณ แหล่งอุตสาหกรรมและท่าเรือ และบริเวณแหล่งชุมชนซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่เสนอสำหรับภูมิภาคอาเซียน ภายใต้โครงการ ASEAN Canada Cooperative Programme on Marine Science Phase II(CPMS-II) และได้เพิ่ม TBT ในการติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำทะเลด้วย (พรสุข จงประสิทธิ์, 2547)

สำหรับการควบคุมสีกันเฟรียงที่มีส่วนผสมของสาร ไตรบิวทิลทินนั้นมีสนธิสัญญาการห้ามใช้สีกันเฟรียงที่มีไตรบิวทิลทินเป็นส่วนประกอบ(International Convention on the Control of Harmful Anti-fouling Systems on ship, 2001 The Global Antifouling Treaty) ขององค์การทางทะเลระหว่างประเทศ (IMO: International Marine Organization) โดยมีสาระสำคัญคือ การห้ามไม่ให้พ่นหรือทาสีกันเฟรียงที่มีส่วนผสมของสารประกอบดีบุก และรณรงค์ให้บริษัทผลิตสีทั่วโลกเลิกผลิตสีทากันเฟรียงที่มีส่วนผสมของสารประกอบดีบุก โดยเริ่มมีผลบังคับใช้ตั้งแต่ 1 ม.ค. 2546

ที่ผ่านมา และห้ามไม่ให้มีสีกันเพรียงที่มีส่วนผสมของสารประกอบดีบุกบนตัวเรือตั้งแต่ 1 ม.ค. 2551 โดยอนุโลมให้ใช้สีกันเพรียงที่ปราศจากดีบุกทาที่บนสีกันเพรียงที่มีสารประกอบดีบุก หลังจากวันที่ 1 ม.ค.2551 ได้ ซึ่งจะเป็นการหยุดยั้งการใช้สารประกอบดีบุกในสีกันเพรียงโดยอัตโนมัติ สำหรับเรือรบ เรือช่วยรบ และเรือราชการที่ไม่ประกอบธุรกิจ ได้รับการยกเว้น ไม่อยู่ในข่ายต้องปฏิบัติตามอนุสัญญาดังกล่าว ซึ่งประเทศไทยยังไม่เป็นภาคีอนุสัญญา แต่เนื่องจากเรือพาณิชย์ จะต้องแล่นผ่านน่านน้ำประเทศต่าง ๆ จึงจำเป็นต้องมีการออกใบรับรอง จาก กองตรวจเรือ กรมเจ้าท่า เพื่อรับรองว่าได้มีการใช้สีที่ปลอดดีบุก ในการซ่อมทำสีเรือ ตั้งแต่ 1 ม.ค. 2546 (กึ่งแก้ว แก้วกรรม, 2548) และการปลดปล่อย TBT ไม่ควรเกิน $4 \text{ ug/cm}^2/\text{วัน}$ (ประสาธ วรชัยทองคำ, 2546)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

de Mora et al. (1995) เก็บตัวอย่างดินตะกอนจากท่าเรือใกล้กับ Auckland ประเทศ นิวซีแลนด์ เพื่อหาอัตราการย่อยสลาย TBT พบว่า TBT มีความคงทนอยู่ในดินตะกอนเป็นเวลานาน ใช้เวลาในการย่อยสลายช้ากว่าในน้ำ และมีอัตราการย่อยสลายเป็น First-Order Kinetics มีค่าครึ่งชีวิตในดินตะกอนประมาณ 2.5 ปี

Vishwakiran and Anill (1999) ทำการศึกษาการเกิด Impossex ในหอย *Cronia konkanensis* จากทะเลในประเทศอินเดียโดยเก็บตัวอย่างบริเวณท่าเรือ Goa ในพื้นที่ Marmugao , Dona Paula และ Arambol โดยทำการเก็บตัวอย่างระหว่างเดือน เมษายน ถึง เดือนพฤษภาคม 1997 พบว่าในบริเวณ Marmugao มีค่า Impossex 90-100 % ส่วนในบริเวณ Dona Paula มีค่า Impossex 0-7 % และในบริเวณ Arambol ไม่พบการเกิด Impossex

นพิตา คุณประเสริฐ (2546) การศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบดีบุกอินทรีย์ใน หอยแมลงภู่โดยใช้เทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี โดยทำการศึกษาหอยแมลงภู่ที่ เก็บตัวอย่างเมื่อวันที่ 29 มิถุนายน 2546 พบว่าในบริเวณอ่าวคุ้งกระเบนพบ TBT $62.31 \pm 8.54 \text{ ng/g}$ น้ำหนักตัวอย่าง บริเวณอ่างศิลาพบปริมาณ TBT $27.18 \pm 0.99 \text{ ng/g}$ และบริเวณแหลมแท่นพบ ปริมาณ TBT $18.12 \pm 1.68 \text{ ng/g}$ เนื่องจากบริเวณอ่าวคุ้งกระเบนที่มีกิจกรรมทางเรือและกิจกรรม ทางน้ำตามแนวชายฝั่งสูง

พรสุข จงประสิทธิ์ (2547) การศึกษาในปี พ.ศ.2544 พบว่าสาร TBT มีค่าสูงที่บริเวณอ่างศิลา ศรีราชา เกาะศรีชัง จังหวัดชลบุรีและบริเวณปากแม่น้ำในพื้นที่ชายฝั่งทะเลตะวันออกของอ่าวไทย โดยตรวจพบว่ามีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง $0.043\text{-}0.277 \text{ ug/l}$ ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการเกิด Impossex และความผิดปกติอื่น ๆ ในหอย และหลายพื้นที่ในประเทศไทย ในบริเวณท่าเทียบเรือ

และเส้นทางเดินเรือ เช่นที่ บางละมุง ศรีราชา เกาะสีชัง และอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี รวมถึงอ่าว
ปัตตานี จังหวัดปัตตานี เป็นบริเวณที่เป็น Hot Spot ของการเกิด Imposex ด้วย

มนทกานต์ วิสุทธิแพทย์ (2548) ได้ศึกษาการย่อยสลาย TBT DBT และ MBT ในน้ำทะเล
และดินตะกอนโดยใช้ความเข้มข้นที่ 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่าเกิดการย่อยสลายในน้ำ
ทะเลของ TBT เปลี่ยนแปลงไปเป็น DBT และ MBT ตามลำดับ ส่วน DBT เปลี่ยนแปลงไปเป็น
MBT และ MBT เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารที่ไม่ได้ทำการตรวจวัด และพบการสะสมของสาร
ตั้งต้นและสารที่ได้จากการย่อยสลายในดินตะกอนชั้นบนและชั้นล่างในปริมาณที่สูงและลดลงตาม
ระยะเวลาทำการทดลอง

เพ็ญภา ศรีสวัสดิ์ (2548) ได้ศึกษาการย่อยสลาย TBT DBT และ MBT ในหอยหวาน
โดยใช้ความเข้มข้นที่ 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อลิตร รวมทั้งศึกษานิคมและปริมาณของสารประกอบ
บิวทิลทินที่ส่งผลให้เกิด Imposex ในหอยหวานพบว่า TBT DBT และ MBT มีความสามารถในการ
กระตุ้นการเกิด Imposex ในหอยหวานได้แต่มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสาร โดยสารสาร
TBT สามารถกระตุ้นการเกิด Imposex ได้สูงสุดรองลงมาคือ MBT และ DBT

กรมควบคุมมลพิษ (2549) ทำการสำรวจการเกิด Imposex และการสะสมของ TBT ใน
หอยฝาเดียวจากจังหวัดชลบุรีและจังหวัดภูเก็ตพบว่ามีค่าระหว่าง 10-97 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนัก
แห้ง) โดยตรวจพบค่าสูงที่สุดบริเวณเกาะสีชัง รองลงมาคือ ท่าเทียบเรือ บริษัท ภูเก็ต โปรดักส์
จำกัด และท่าเรือแหลมฉบังตอนกลาง (97, 40 และ 30 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ)
และสำหรับการเกิด Imposex พบว่าสถานที่เกิด Imposex มากที่สุด ได้แก่ ท่าเรือแหลมฉบัง และ
ท่าเรือแหลมฉบังตอนกลาง คือ พบการเกิด Imposex ในหอยน้ำพริก (*Planaxis sulcatus*) 50 % ทั้ง 2
สถานี และมีการสะสม TBT ในหอย 17-35 นาโนกรัมต่อกรัม (น้ำหนักแห้ง) เกิด Imposex ในหอย
จีกา (*Littorina ardouiniana*) 10 % บริเวณอ่าวชลบุรี และ 23.08% บริเวณท่าเทียบเรือโอเชียน มารีน่า
ยอร์ช คลับ สำหรับจังหวัดภูเก็ตพบการเกิด Imposex 3 สถานี ในหอยจีกา (*Littorina ardouiniana*)
บริเวณท่าเทียบเรือ บริษัท ภูเก็ตโปรดักส์ จำกัด เกิด Imposex 3.51% คานเรือสีจิง เกิด Imposex 16.36%
และบริเวณคานเรือ บริษัท รันชัยคานเรือ จำกัด เกิด Imposex 35.66%

Bech (2002) ได้ทำการสำรวจการเกิด Imposex ในหอยฝาเดียวจากบริเวณชายฝั่ง
ตะวันตกของประเทศไทย ในหอยฝาเดียว *Thais distinguenda* พบว่ามีการเกิด Imposex เพิ่มขึ้น
อย่างมีนัยสำคัญ จากปี 1996-2000 ที่ 21 สถานีในอ่าวพังงาซึ่ง การเพิ่มขึ้นของ Imposex จากบริเวณ
3.5 กิโลเมตรจากฝั่งในปี 1996 เป็น 10 กิโลเมตรจากฝั่งในปี 1999-2000 และพบว่า *Morula musiva*,
Morula granulata, *Morula margariticola* และ *Thais rufutincta* เกิด Imposex น้อย คือพบเพียง 3

สถานีหลักในพื้นที่ที่มีกิจกรรมทางเรือ และใช้ *Thais distinguenda* และ *Thais distinguenda* เป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของ TBT ในสิ่งแวดล้อมเนื่องจากมีความไวต่อสารและพบได้ทั่วไป

Eva et al. (2002) ศึกษาพบว่า TBT และ Organotin ตัวอื่นที่ปริมาณน้อยกว่า 2 ng/l เป็นสาเหตุชักนำให้เกิด Impossex ได้ โดยอาจเกิดจากหลายกลไกด้วยกัน กลไกการเกิดอย่างแรกคือเกิดจากการที่ TBT เป็นสาร Neurotoxic และเกิดการสะสมในปมประสาทของหอย ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Peptide Hormone ที่เป็น Hormone ควบคุมการเปลี่ยนแปลงเพศในหอยฝาเดียว และพบว่า PMF neuropeptide APGWamide ชักนำให้เกิด Impossex อย่างมีนัยสำคัญใน *Ilyanassa obsoleta* ที่ 0.1 โมล โดยทำการฉีดเข้าไปที่ Sub-Cutaneous เป็นเวลานานกว่า 2 สัปดาห์ และสามารถเป็น Penis Morphogenic Factor ในหอยสกุลนี้ กลไกการเกิด Impossex ที่สอง คือ TBT ยับยั้ง Aromatase Activity นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของระดับ Testosterone และทำให้ระดับ Estradiol ลดลง ในการศึกษาด้วย Snail Digestive Gland Microsome แสดงให้เห็นว่า ระดับของ TBT ที่ไม่ทำให้หอยแสดง Impossex แต่ทำให้มีการลดลงของ Aromatase Activity ถึง 52% ถึงแม้จะยังไม่มีข้อมูลของ Vertebrate Sex Steroids ในหอยฝาเดียว แต่เป็นไปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของ Peptide ร่วมกับ Steroid Hormone อาจนำไปสู่การชักนำการเกิด Impossex ใน TBT ปริมาณต่ำได้

Gibson and Wilson (2003) ทำการศึกษาการเกิด Impossex ใน *Thais orbita* บริเวณ New South Wales ประเทศ ออสเตรเลีย พบว่ายังมีการเกิด Impossex หลังจากที่ได้มีการยกเลิกใช้สารกันเฟรียงที่มี TBT เป็นส่วนประกอบ ส่วนในบริเวณท่าเรือ Sydney พบการเกิด Impossex ใน *Thais orbita* 100% ในบริเวณ Eden และบริเวณ Balmoral และพบว่าการเกิด Impossex มีปริมาณลดลงในบริเวณทะเลเปิด ส่วนในบริเวณท่าเรือนั้นพบว่าไม่มีการลดลงของการเกิด Impossex ซึ่งถือเป็นบริเวณ Hot Spots

Santos et al. (2004) ทำการศึกษาการปนเปื้อนของ TBT โดยใช้การเกิด Impossex ของ *Hinia reticulata* เป็นไบโออินดิเคเตอร์ บริเวณท่าเรือ Oporto พบการเกิด Impossex ลดลงเมื่อระยะห่างจากท่าเรือมีมากขึ้น ซึ่งในบริเวณทะเลเปิดพบปริมาณ TBT ที่ต่ำกว่าค่า Detection Limit (40 ng Sn/g น้ำหนักแห้ง) ส่วนในบริเวณท่าเรือพบการเกิด Impossex สูงมากคือ 100 % และพบปริมาณ TBT DBT และ MBT ในเนื้อเยื่อของ *Hinia reticulata* ที่อยู่ในบริเวณท่าเรือ Oporto 124, 109 และ 83 ng Sn/g น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

Fernandez et al. (2005) ศึกษาการเกิด Impossex ใน *Stramonita haemastoma* บริเวณท่าเรือ Guanabara ประเทศบราซิล พบว่าภายในบริเวณท่าเรือมีค่า Relative Penis Length 42.7-107.6 และการสะสมของ TBT ในดินตะกอนบริเวณท่าเรือพบว่ามีปริมาณ TBT 10-522 ng/g น้ำหนักแห้ง

Vasconcelos et al. (2005) ศึกษาการเกิด Imposex ใน *Hexaplex (Trunculariopsis) trunculus* จาก Ria Formosa lagoon ซึ่งอยู่ทางตอนใต้ของ Portugal พบว่ามีการเกิด Imposex 93.24% และมีความยาวของพินิสในเพศเมียเฉลี่ย 5.18 ± 2.04 มิลลิเมตร ในขณะที่ความยาวของพินิสในเพศผู้เฉลี่ย 11.82 ± 1.68 มิลลิเมตร

Strand et al. (2005) พบการเกิด Imposex ใน *Buccinum finmarkianum* บริเวณ Trule Air Base ที่อยู่ทางตอนเหนือของ Greenland โดยบริเวณที่พบ Imposex ใน *Buccinum finmarkianum* มากที่สุดคือบริเวณท่าเรือ North Star ซึ่งพบการเกิด Imposex 77 % และการสะสมของ TBT DBT และ MBT ใน *Buccinum finmarkianum* พบ น้อยกว่า 2 ug Sn/kg น้ำหนักแห้ง 3.1 ug Sn/kg น้ำหนักแห้ง และ น้อยกว่า 2 ug Sn/kg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ