สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสภาวะมลพิษของโลหะหนักในทะเล

Study on adaptive physiology of *Penaeus monodon* as an indicator of heavy metal pollution in the marine environment

ผศ. ดร. นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร
รศ. ดร. วรวิทย์ ชีวาพร

AQ 0004396
26 ก.ย. 2544
148647

ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยบูรพา

บทคัดย่อ

จากการศึกษาอัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของแคดเมียมและปรอทที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในลูกกุ้งกุลาดำพบว่า เปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายของลูกกุ้งที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 และ 4.0 ppm ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 100%, 100%, 90%, 67%, 17% และ 0% ตามลำดับ โดยมีค่า LC_{50}- 96h เท่ากับ 2.42 ppm ส่วนเปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายของลูกกุ้งที่ระดับความเข้มข้นของปรอท 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 ppm ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 100%, 80%, 40%, 17% และ 0% ตามลำดับ โดยมีค่า LC_{50}- 96h เท่ากับ 0.25 ppm สำหรับอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารแคดเมียมที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l มีค่าเท่ากับ 6.21 $\pm$ 1.53, 6.92 $\pm$ 1.21, 4.87 $\pm$ 1.24 และ 4.37 $\pm$ 12.8 $\mu mol.g^{-1}.h^{-1}$ ตามลำดับ ส่วนอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีสารปรอทที่ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 mg/l มีค่าเท่ากับ 6.14 $\pm$ 1.33, 5.65 $\pm$ 1.03, 5.07 $\pm$ 0.80 และ 4.17 $\pm$ 1.13 $\mu mol.g^{-1}.h^{-1}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งที่เลี้ยงในที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทในระดับต่างๆ กัน พบว่า อัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทสูง จะมีค่าต่ำกว่าอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทต่ำ สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมสมดุลของน้ำในร่างกายกุ้งที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของแคดเมียมและปรอท พบว่า ค่าความเข้มข้นของเลือดกุ้งจะมีค่าต่ำลงเมื่อเลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทสูงขึ้น โดยกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของแคดเมียม 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l มีค่าความเข้มข้นของเลือดเท่ากับ 636.50 $\pm$ 10.33, 628.21 $\pm$ 8.66, 591.29 $\pm$ 7.37 และ 559.93 $\pm$ 7.94 ตามลำดับ ส่วนกุ้งที่เลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของปรอท 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 mg/l มีค่าความเข้มข้นของเลือดเท่ากับ 686.71 $\pm$ 7.23, 626.0 $\pm$ 13.48, 573.25 $\pm$ 14.38 และ 536.71 $\pm$ 7.25 ตามลำดับ เมื่อนำกุ้งที่เลี้ยงไว้มาวิเคราะห์หาปริมาณแคดเมียมและปรอท พบว่า ปริมาณแคดเมียมและปรอทที่พบในส่วนหัวจะมีค่าสูงกว่าส่วนลำตัวและปริมาณที่สะสมจะมีค่าสูงขึ้นในกุ้งที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทสูงขึ้น

จากผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า การสะสมของสารแคดเมียมและปรอทในร่างกายของลูกกุ้งกุลาดำอาจไม่มีผลต่อการตายของกุ้งในทันทีทันใด แต่การสะสมดังกล่าวจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสรีรวิทยาของกุ้ง ดังเห็นได้จากอัตราการบริโภคออกซิเจนและการควบคุมสมดุลของน้ำในร่างกายที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้อาจใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมในบริเวณที่กุ้งนั้นๆ อาศัยอยู่

ABSTRACT

Study on the effects of cadmium and mercury on percentage of survival and LC_{50} was done in shrimp *Penaeus monodon.* It has been found that percentage of survival of shrimps in seawater with cadmium concentration 0.0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 and 4.0 ppm within 96 hours were 100%, 100%, 90%, 67%, 17% and 0% respectively, and LC_{50}- 96h was 2.42 ppm. The percentage of survival of shrimps in seawater with mercury concentration 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 and 0.5 ppm within 96 hours were 100%, 80%, 40%, 17% and 0% respectively, and LC_{50}- 96h was 0.25 ppm. Rates of oxygen consumption of shrimps reared in seawater with cadmium concentration 0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l were 6.21 $\pm$ 1.53, 6.92 $\pm$ 1.21, 4.87 $\pm$ 1.24 and 4.37 $\pm$ 12.8 $\mu mol.g^{-1}.h^{-1}$ respectively. Rates of oxygen consumption of shrimps reared in seawater with mercury concentration 0, 0.01, 0.05 and 0.1 mg/l were 6.14 $\pm$ 1.33, 5.65 $\pm$ 1.03, 5.07 $\pm$ 0.80 and 4.17 $\pm$ 1.13 $\mu mol.g^{-1}.h^{-1}$ respectively. For osmoregulation study, it has been found that osmolality of blood of shrimp reared in seawater with cadmium and mercury decreased with the increase concentration of both heavy metals. Osmolality of blood of shrimp reared in seawater with cadmium concentration 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l were 636.50 $\pm$ 10.33, 628.21 $\pm$ 8.66, 591.29 $\pm$ 7.37 and 559.93 $\pm$ 7.94 respectively. Osmolality of blood of shrimp reared in seawater with mercury concentration 0, 0.01, 0.05 and 0.1 mg/l were 686.71 $\pm$ 7.23, 626.0 $\pm$ 13.48, 573.25 $\pm$ 14.38 and 536.71 $\pm$ 7.25 respectively. The analysis of cadmium and mercury in the reared shrimps found that the concentration of cadmium and mercury in the head region of shrimp was higher than in the body and the concentration found in both regions increased with the concentration of both cadmium and mercury

From the results, it is indicated that shrimps may not abruptly died after exposed to cadmium and mercury. But both heavy metals may accumulate in shrimps and result in the change of their physiology. The changes in the rates of oxygen consumption and the osmolalities of shrimps may reflect the change in environmental of habitat in which shrimps live.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางนัยนา อาภาสุวรรณกุล นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลบางส่วนในการทำวิจัยนี้ งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยบูรพา ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ โอกาสนี้ด้วย

นงนุช ตั้งเกริกโอฬาร

สารบัญ

หน้า

บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	12
บทที่ 4 ผลการศึกษา	19
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา	42
เอกสารอ้างอิง	47

บทที่ 1
บทนำ

ประเทศไทยจัดเป็นเขตที่มีความอุดมสมบูรณ์ของสัตว์น้ำมากแห่งหนึ่งของโลก อย่างไรก็ตามในช่วง 10 กว่าปีที่ผ่านมา การขยายตัวและพัฒนาทางอุตสาหกรรมได้เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว มนุษย์ได้นำเอาโลหะหนักต่างๆ เช่น ปรอท แคดเมียม ทองแดง ตะกั่ว และสังกะสี เข้ามาใช้ในกระบวนการผลิตต่างๆ อย่างแพร่หลาย ส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของกากของเสียและการปนเปื้อนของโลหะหนักที่เป็นสารพิษในสิ่งแวดล้อม จนเป็นปัญหาที่นับวันจะรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหามลพิษของแหล่งน้ำ ทั้งนี้เนื่องจากโลหะหนักเหล่านี้เป็นสารที่มีความคงตัวสูงมาก ไม่สามารถสลายตัวได้โดยกระบวนการทางธรรมชาติ แต่สามารถเข้าไปสะสมอยู่ในแหล่งน้ำ ดินตะกอน และสิ่งมีชีวิต ซึ่งถ้าสะสมอยู่ในปริมาณสูงๆ ก็จะเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต (Sadiq, 1992) ดังรายงานการวิจัยการปนเปื้อนของโลหะหนักในเขตเอสทูรี (estauries) หลายแห่งตามชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย (Chanpongsang, 1984; Hungspreugs *et al*, 1990) ซึ่งเขตเอสทูรีเหล่านี้เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยที่สำคัญของสัตว์น้ำหลายชนิดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ

โลหะหนักที่สะสมอยู่ในร่างกายของสิ่งมีชีวิต สามารถเพิ่มปริมาณสูงขึ้นได้ตามห่วงโซ่อาหาร โดยการกินต่อเนื่องกันตามลำดับขั้นของอาหาร เรียกกระบวนการสะสมดังกล่าวว่า ไบโอโลจิคัล-แมกนิฟิเคชัน (biological magnification) มนุษย์จะเป็นผู้บริโภคขั้นสุดท้าย ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จะได้รับสารพิษมากกว่าสัตว์อื่นๆ โลหะหนักหลายชนิดที่พบในทะเลนั้น หากมีอยู่ในปริมาณที่น้อยจะมีความสำคัญต่อขบวนการเมตาโบลิซึมปกติของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในทะเลนั้นๆ (Prosi, 1979) อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบัน พบว่า ปริมาณโลหะหนักที่พบในทะเล โดยเฉพาะในเขตเอสทูรีหลายแห่งของโลกมีค่าสูงขึ้น (N.A.S.,1971; Bryan, 1976) รวมทั้งเขตเอสทูรีของชายฝั่งทะเลภาคตะวันออกของประเทศไทย ดังรายงานการวิจัยที่อ้างถึงข้างต้น ก็ตรวจพบปริมาณโลหะหนักที่สูงขึ้นเช่นกัน โลหะหนักที่มีปริมาณสูงขึ้นเหล่านี้อาจเกิดการสะสมในร่างกายของสัตว์ มีผลกระทบต่อขบวนการเมตาโบลิซึม และบางครั้งอาจทำให้สัตว์เหล่านั้นตายลงได้ (Bryan, 1976)

การประเมินผลกระทบของสารพิษซึ่งรวมถึงโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมนั้น โดยทั่วไปวิธีที่นิยมใช้ได้แก่การวิเคราะห์คุณภาพน้ำ ซึ่งผลการวิเคราะห์สามารถบ่งบอกถึงปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษและระดับคุณภาพของน้ำในแหล่งน้ำนั้นๆ ได้ อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันพบว่าการประเมินผลกระทบของสารพิษโดยวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำนั้นเริ่มมีข้อจำกัด โดยเฉพาะในบริเวณเขตเอสทูรี ซึ่งเป็นบริเวณที่มีอัตราการไหลเวียนของน้ำสูง บางครั้งการเกิดภาวะมลพิษในบริเวณนี้อาจเกิดขึ้นในปริมาณที่สูง แต่เกิดในระยะเวลาสั้นๆ สารพิษที่เกิดขึ้นในปริมานที่สูงนี้บางครั้งไม่สามารถตรวจพบจากการวิเคราะห์น้ำได้ เนื่องจากไม่ได้มีการเก็บตัวอย่างน้ำในช่วงเวลาดังกล่าว สารพิษเหล่านี้อาจมีผลกระทบร้ายแรงต่อสัตว์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณเอสทูรีนั้นๆ โดยหากมีการเกิดสารพิษในช่วงระยะเวลาสั้นๆ แต่บ่อยครั้ง อาจทำให้เกิดการสะสมของปริมาณ

สารพิษในตัวสัตว์ได้ ดังนั้นการวิเคราะห์คุณภาพน้ำในเขตเอสทูรีเพื่อใช้ประเมินผลกระทบของปริมาณสารพิษต่อสิ่งมีชีวิต จึงได้รับความนิยมน้อยลง ในปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาและพัฒนาเทคนิคการประเมินสารพิษในสิ่งแวดล้อม โดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นตัวบ่งชี้ (biomarker) ถึงระดับของสภาวะมลพิษ (Bamber and Depledge, 1997) โดยดูจากการตอบสนองทางด้าน สรีรวิทยา (เช่น อัตราการบริโภคออกซิเจน, ความสามารถในการควบคุมสมดุลย์ของน้ำในร่างกาย และอัตราการเต้นของของหัวใจ เป็นต้น) ของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับสารพิษในปริมาณที่แตกต่างกัน ทั้งนี้มีรายงานว่าสัตว์ที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่มีมลภาวะสูง จะมีสภาพทางสรีรวิทยาที่อ่อนแอกว่าสัตว์ที่อยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่มีมลภาวะหรือมีมลภาวะต่ำกว่า (Bamber and Depledge, 1997; Thurbergerg *et al.*,1973; Johnson, 1988; Depledge, 1984) ทั้งนี้สัตว์ที่อาศัยอยู่ในที่มีมลภาวะสูง จะมีการสะสมสารพิษในร่างกาย ทำให้ร่างกายอ่อนแอลง และมีสรีรวิทยาที่เปลี่ยนแปลงไป

งานวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่ต้องการใช้ระดับการตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อปริมาณโลหะหนักที่สะสมอยู่ในตัวกุ้งกุลาดำ ซึ่งเป็นสัตว์น้ำที่อาศัยอยู่ในเขตเอสทูรีและที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจมากที่สุดของประเทศไทย เป็นตัวชี้ถึงสภาวะมลพิษของโลหะหนักที่มีอยู่ในน้ำทะเล ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้จากการทดลองศึกษาดังกล่าว อาจนำมาใช้เป็นดัชนีในการบ่งชี้ถึงระดับสารพิษที่จะมีอันตรายต่อกุ้งกุลาดำที่อาศัยอยู่ในเขตเอสทูรีต่างๆ ได้ และยังใช้เป็นแนวทางในการหามาตรการป้องกันแหล่งน้ำที่อยู่อาศัยของกุ้งกุลาดำให้ปลอดภัยจากมลพิษของโลหะหนักต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อศึกษาถึงอัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของแคดเมียมและปรอทที่มีต่อกุ้งกุลาดำ
2. เพื่อศึกษาผลกระทบของปริมาณแคดเมียมและปรอทที่มีต่ออัตราการบริโภคออกซิเจน (oxygen consumption) ของกุ้งกุลาดำ
3. เพื่อศึกษาผลกระทบของปริมาณแคดเมียมและปรอทที่มีต่อความสามารถในการควบคุมสมดุลย์น้ำ (osmoregulation) ในร่างกายของกุ้งกุลาดำ
4. เพื่อต้องการทราบถึงความสัมพันธ์ของปริมาณแคดเมียมและปรอทกับระดับการตอบสนองทางสรีรวิทยาของกุ้งกุลาดำ เพื่อใช้ระดับการตอบสนองดังกล่าวเป็นดัชนีชี้ถึงสถาวะมลพิษของแคดเมียมและปรอทในทะเล ที่เป็นอันตรายต่อกุ้งกุลาดำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทำให้ทราบถึงปริมาณแคดเมียมและปรอทที่มีต่ออัตราการตายของกุ้งกุลาดำ
2. ทำให้ทราบค่าของปริมาณแแคดเมียมและปรอทที่มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำ
3. ทำให้ทราบค่าของปริมาณแคดเมียมและปรอทที่มีผลทำให้กุ้งกุลาดำไม่สามารถควบคุมสมดุลย์ของน้ำในร่างกายได้
4. นำข้อมูลที่ได้มาใช้ประยุกต์ใช้เป็นวิธีหนึ่งในการการประเมินสภาวะมลพิษของโลหะหนักในทะเล
5. สามารถนำข้อมูลมาประยุกต์ใช้ในการกำหนดค่ามาตรฐานขั้นต่ำของโลหะหนักที่เป็นอันตรายต่อสัตว์ทะเล
6. เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับงานทางด้านการประมงและสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชีววิทยาทั่วไปของกุ้งกุลาดำ

กุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon* Fabricius 1798) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ที่มีการจัดลำดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้

Phylum Arthropoda

Class Crustacea

Order Decapoda

Superfamily Penaeoidea

Family Penaeidae

Genus *Penaeus*

Penaeus monodon Fabricius 1978

กุ้งกุลาดำมีชื่อภาษาอังกฤษว่า giant tiger prawn หรือ black tiger prawn เป็นกุ้งทะเลที่มีขนาดใหญ่ อยู่ในตระกูลเดียวกับกุ้งแชบ๊วย กุ้งกุลาลาย และกุ้งเหลือง กุ้งที่เจริญเติบโตเต็มที่อาจมีความยาวถึง 20-25 เซนติเมตร ลำตัวมีสีที่อาจเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพแวดล้อม เช่น สีน้ำตาลเข้มแถบน้ำเงิน สีน้ำเงินแกมม่วง สีแดงคล้ำ สีม่วงหรือสีเทา บริเวณปล้องท้องจะมีแถบสีดำหรือเทาเข้มพาดขวางสลับกับสีขาว เปลือกหัวและลำตัวเกลี้ยงไม่มีขนปกคลุม หนวดมีสีดำและไม่มีลาย ฟันกรีด้านบนมี 7-8 ซี่ ด้านล่างมี 3 ซี่ ขาว่ายน้ำแต่ละอันมีปลายแยกเป็น 2 แฉก และมีสีน้ำตาลปนน้ำเงิน ส่วนโคนมีแต้มสีขาว ส่วนปลายมีขนสีแดงอยู่โดยรอบ ขาเดินมีสีแดงดำ มีสีขาวอยู่ประปราย ขาเดินคู่ที่ 5 ไม่มีเอกโซโพไดท์ (exopodite) หางไม่มีหนาม (spine) (นงนุช, 2532) กุ้งกุลาดำที่มีขนาดตั้งแต่ 90-200 กรัมเป็นขนาดที่เหมาะสมในการใช้เป็นพ่อแม่พันธุ์ หลังจากวางไข่แล้ว ไข่จะฟักออกเป็นตัวอ่อน ซึ่งสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระยะคือ

ระยะที่ 1 หลังจากฟักออกเป็นตัวภายในเวลา 14-15 ชั่วโมง เรียกตัวอ่อนระยะนี้ว่า นอเพลียส (nauplius) มีทั้งหมด 6 ระยะ โดยผ่านการลอกคราบ 5 ครั้ง ภายในเวลา 48-56 ชั่วโมง

ระยะที่ 2 เป็นระยะ ซูเอีย (zoea) มีทั้งหมด 4 ระยะ โดยผ่านการลอกคราบ 3 ครั้ง ภายในเวลา 4-5 วัน

ระยะที่ 3 เป็นระยะไมซิส (mysis) มีทั้งหมด 4 ระยะ โดยผ่านการลอกคราบ 3 ครั้ง ภายในเวลา 4-5 วัน

ระยะที่ 4 เป็นลูกกุ้งวัยอ่อนระยะสุดท้าย เรียกว่า ระยะโพสต์ลาวา (post larva)

สำหรับลูกกุ้งวัยอ่อนระยะต่อ ๆ ไปถึงลูกกุ้งวัยรุ่นจะมีการลอกคราบและพัฒนาเฉพาะในเรื่องของขนาด ส่วนรูปร่างต่าง ๆ จะเหมือนเดิม (ประจวบ, 2530)

แหล่งที่อยู่อาศัยและการแพร่กระจาย

กุ้งกุลาดำเป็นกุ้งที่นิยมเลี้ยงกันมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย โดยธรรมชาติ กุ้งตัวเมียจะวางไข่ในทะเลที่มีน้ำลึกตั้งแต่ 10 เมตรขึ้นไป ไข่ของกุ้งจัดอยู่ในประเภทไข่จม (dermersal eggs) ใช้เวลาตั้งแต่ฟักออกเป็นตัวจนกระทั่งโตเป็นวัยรุ่นประมาณ 2 สัปดาห์ ลูกกุ้งจะใช้ชีวิตในสภาพของแพลงค์ตอนจนกระทั่งเข้ามาใกล้ฝั่งจะกลายเป็นกุ้งวัยอ่อนขั้นสุดท้าย กุ้งในระยะนี้จะมีการปรับตัว เข้ามาอาศัยอยู่บริเวณปากแม่น้ำและป่าชายเลน เมื่อโตเต็มวัยก็จะเดินทางออกไปสู่ทะเลเพื่อสืบพันธุ์และวางไข่ต่อไป (ประจวบ, 2530)

กุ้งกุลาดำมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในเขตอินโดแปซิฟิก (Dall, 1957) สามารถพบได้ทั่วไปในน่านน้ำเขตร้อนและบางส่วนของเขตอบอุ่น แหล่งที่พบแพร่กระจายจะครอบคลุมตั้งแต่ ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน ฮ่องกง อินเดีย ออสเตรเลียจนถึงแอฟริกา โดยมีการแพร่กระจายอย่างหนาแน่นในทะเลเขตร้อน ได้แก่ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ มาเลเซียและไทย (Motoh, 1984) สำหรับในประเทศไทยนั้น สามารถพบได้ทั้งในอ่าวไทยและทะเลอันดามัน โดยในอ่าวไทยพบได้ตั้งแต่จังหวัดตราด จันทบุรี ระยอง ชลบุรี สมุทรปราการ สมุทรสาคร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส ส่วนในทะเลอันดามันพบได้ตั้งแต่ชายฝั่งจังหวัดระนอง ภูเก็ต กระบี่ ตรังและสตูล (นงนุช, 2532) สำหรับในฟิลิปปินส์ Motoh & Buri (1984) รายงานว่า แหล่งที่พบลูกกุ้งกุลาดำในฟิลิปปินส์จะอยู่ตามบริเวณน้ำกร่อยที่มีลักษณะพื้นเป็นทรายปนเลน โดยลูกกุ้งกุลาดำสามารถทนอยู่ได้ในน้ำที่มีอุณหภูมิสูงและความเค็มที่แตกต่างกันมาก (euryhaline) ดีกว่ากุ้งในสกุลเดียวกัน และบางครั้งอาจพบอยู่ในลำคลอง แม่น้ำ หรือบ่อเลี้ยงปลาน้ำกร่อย

การเจริญเติบโต

กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีโครงร่างอยู่ภายนอกลำตัว (exoskeleton) มีเปลือกห่อหุ้มป้องกันตัวเป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ที่มีไคติน (chitin) เป็องค์ประกอบ Dall (1957) กล่าวว่า เมื่อกุ้งเจริญเติบโตเต็มที่ในระยะหนึ่งก็จะลอกคราบเพื่อเป็นการเพิ่มขนาดของตัวให้ใหญ่ขึ้น ฉะนั้นความถี่ของการลอกคราบจึงบ่งบอกถึงอัตราการเจริญเติบโตของกุ้ง โดยทั่วไปกุ้งจะเริ่มลอกคราบตั้งแต่ฟักออกจากไข่เพียงไม่กี่ชั่วโมงและจะลอกคราบไปเรื่อยๆ ตลอดชีวิต ทุกครั้งก่อนที่กุ้งจะลอกคราบ มันจะมีการสะสมอาหารไว้ภายในร่างกายมากกว่าปกติ โดยเฉพาะสารต่างๆ ที่ใช้ในการสร้างเปลือก เนื่องจากเปลือกจะต้องแข็งตัวโดยเร็วหลังจากลอกคราบแล้ว ในขณะลอกคราบเมื่อกุ้งมีการสลัดเปลือกเก่าออกหมดแล้ว ลำตัวของมันจะขยายใหญ่และยาวขึ้น เปลือกจะแข็งตัวภายใน 3-8 ชั่วโมง การลอกคราบของกุ้งแต่ละครั้งจะอยู่ภายใต้การควบคุมของระบบประสาทส่วนกลางและฮอร์โมนสองชนิดที่อยู่บริเวณก้านตา (eye stalk) ดังนั้นถ้ามีการตัดก้านตาออกจะทำให้กุ้งลอกคราบได้เร็วขึ้น แต่โดยทั่วไปกุ้งจะลอกคราบเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างได้แก่ แสง ความเค็ม อุณหภูมิ ปริมาณอาหาร และขนาดของกุ้ง (ธีระ, 2518)

โลหะหนัก

โลหะหนัก หมายถึง ธาตุที่มีความถ่วงจำเพาะสูงตั้งแต่ 5 ขึ้นไป และมีเลขอะตอมระหว่าง 23-92 อยู่ในคาบที่ 4-7 นอกจากนี้โลหะหนักยังหมายถึง โลหะนานาชนิดที่มีปริมาณน้อยในสิ่งแวดล้อม แต่อาจจะเป็นพิษได้ถ้ามีในปริมาณสูงกว่าในระดับปกติ ตัวอย่างของธาตุต่าง ๆ ที่จัดเป็นกลุ่มของโลหะหนักได้แก่ Hg, Cd, Zn, Co, Mn, Mo, Ni, Pb, Fe, As, Al, Cr, Sn, Ti, V, Ag, Bi, Be และ Te เป็นต้น

แคดเมียม

แคดเมียมเป็นธาตุลำดับที่ 48 มีมวลอะตอม 112.40 มีจุดเดือด 767 องศาเซลเซียส มีความถ่วงจำเพาะ 8.65 มีคุณสมบัติเบา อ่อน ดัดงอได้ง่าย และทนต่อการกัดกร่อน สารประกอบแคดเมียม เช่น แคดเมียมซัลเฟต ($CdSO_4$), แคดเมียมคลอไรด์ ($CdCl_2$), แคดเมียมไนเตรท ($Cd(NO_3)_2$) เป็นสารประกอบที่ไม่มีสีและละลายน้ำได้ดี นอกจากนี้แคดเมียมสามารถรวมกับสารอื่น ๆ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะเมื่อรวมกับ cyanides และ amines

แหล่งที่มาของแคดเมียมที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำได้แก่ โรงงานพลาสติก น้ำทิ้งจากเหมืองสังกะสีและดีบุก น้ำล้างในการทำแผ่นขั้วไฟฟ้าจากโรงงานอุตสาหกรรมเหล็กกล้า และตะกอนในน้ำโสโครก ซึ่งได้มีการคาดการณ์ว่า มีแคดเมียมปนเปื้อนลงสู่ทะเลประมาณ 8,000 ตันต่อปี แคดเมียมมักถูกสะสมในแพลงก์ตอนพืชในรูปของแคดเมียมฟอสเฟต จากนั้นจะถูกสะสมในสัตว์น้ำทางห่วงโซ่อาหาร โดยพบว่าสัตว์น้ำที่กินแพลงก์ตอนเป็นอาหารจะมีปริมาณแคดเมียมสูง (Friberg *et al.*, 1974) ทั้งนี้มาตราฐานปริมาณแคดเมียมในน้ำทะเลมีค่าไม่เกิน 5 ไมโครกรัมต่อลิตร (กองจัดการคุณภาพน้ำ, 2537)

แคดเมียมเป็นสารที่มีอันตรายและมีความเป็นพิษสูง พิษของแคดเมียมที่พบได้แก่ พิษต่อระบบทางเดินอาหาร ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการกินอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีแคดเมียมปนเปื้อนโดยตรง อาการที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับแคดเมียมคือ รู้สึกคลื่นเหียนอย่างแรง ตามด้วยการอาเจียร ท้องร่วง เป็นตะคริว และน้ำลายฟูมปาก ในรายที่เป็นมาก อาจเกิดอาการช๊อคเนื่องจากร่างกายสูญเสียน้ำมาก นอกจากนี้แคดเมียมยังมีพิษต่อระบบหายใจ โดยเกิดจากการสูดไอของแคดเมียม ซึ่งส่วนใหญ่เกิดขึ้นเนื่องจากกิจการอุตสาหกรรม โดยเฉพาะการเชื่อมโลหะด้วยความร้อน จะเกิดอาการระคายเคืองที่หลอดลมและปอด รวมทั้งจมูก คอ มีอาการไอ ปวดศรีษะ อ่อนเพลีย หนาวสั่น มีไข้ เจ็บหน้าอก สำหรับผู้ที่ได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายติดต่อกันนาน ๆ จะมีผลต่อไต ทำให้ไตขับปัสสาวะที่มีโปรตีนมากกว่าปกติ

ปรอท

ปรอทเป็นธาตุลำดับที่ 80 ของตารางธาตุ มีมวลอะตอม 200.59 มีจุดเดือด 857 องศาเซลเซียส, มีจุดหลอมเหลว -38.4 องศาเซลเซียส มีสถานะเป็นของเหลวและสามารถระเหยได้ที่

อุณหภูมิห้อง จัดเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษสูงและเป็นพิษต่อมนุษย์ (Janicki *et al.*, 1987) สามารถเปลี่ยนรูปได้ง่าย สารปรอทสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ

1. สารประกอบอนินทรีย์ของปรอท (inorganic mercury compound) ได้แก่ สารประกอบเมอร์คิวริกคลอไรด์ และสารประกอบเมอร์คิวรัสคลอไรด์ ซึ่งสารประกอบเมอร์คิวริกคลอไรด์มีอำนาจในการขัดขวางปฏิกริยาในร่างกายมากกว่าสารประกอบเมอร์คิวรัสคลอไรด์ และนิยมใช้ในการศึกษาความเป็นพิษของสารปรอท
2. สารประกอบอินทรีย์ของปรอท (organic mercury compound) จัดเป็นสารปรอทที่เป็นพิษมากที่สุด ได้แก่ สารประกอบจำพวกอัลคิลเมอร์คิวรี (alkyl mercury) เช่น เมทิลเมอร์คิวรี ซึ่งละลายได้ดีในไขมัน ดังนั้นจึงพบสะสมได้ดีในเนื้อเยื่อต่าง ๆ รวมทั้งสมอง สามารถทำอันตรายต่อระบบประสาทส่วนกลางได้อย่างถาวร และยังสามารถซึมผ่านรกเข้าสู่ทารกในครรภ์ ทำให้ทารกที่เกิดมามีอาการผิดปกติทางระบบประสาทและภูมิปัญญา นอกจากนี้ยังพบว่า สามารถทำให้เกิดการผิดปกติทางโครโมโซมของมนุษย์ ซึ่งส่งผลกระทบในระยะยาวต่อระบบพันธุกรรม

ในธรรมชาติ ปรอทที่สะสมอยู่ในดินจะเป็นไอระเหยขึ้นสู่อากาศ และน้ำฝนจะเป็นตัวชะล้างปรอทจากอากาศกลับลงสู่ทะเล แม่น้ำ และพื้นดิน ปรอทที่อยู่ในแหล่งน้ำ ถ้าอยู่ในรูปสารอนินทรีย์ จุลินทรีย์ซึ่งไม่ต้องการออกซิเจนในการดำรงชีพ เช่น จุลินทรีย์ที่อยู่ในโคลนใต้น้ำในเมือกหรือลำไส้ของปลา จะเปลี่ยนปรอทในรูปสารอนินทรีย์ให้เป็นสารปรอทอินทรีย์ โดยเฉพาะเมทิลเมอร์คิวรีซึ่งสามารถละลายน้ำได้ดี มีความเป็นพิษสูง จะเข้าสู่สิ่งมีชีวิต สารปรอทเมทิลของปรอทจะสะสมและขยายปริมาณมากขึ้นในห่วงโซ่อาหาร ไต้เป็นจำนวนนับพัน ๆ เท่า

ปรอทมีความเป็นพิษสูง หากกินอาหารหรือเครื่องดื่มที่มีปรอทปนเปื้อน จะทำให้เหงือกและเยื่อบุปากอักเสบ คลื่นเหียน อาเจียน และท้องร่วง นอกจากนี้ปรอทยังมีพิษต่อระบบกล้ามเนื้อและประสาท ทำให้เดินโซเซ ทรงตัวไม่ดี มือสั่น หนังตาและริมฝีปากสั่น พูดไม่ชัด ทำให้เกิดอาการประสาทหลอน ความจำเสื่อม หวาดระแวง นอนไม่หลับ รวมทั้งมีผลต่อประสาทตา ทำให้การมองเห็นแคบลง อาจทำให้ไตอักเสบและมีเลือดออกมาในปัสสาวะ

โลหะหนักและพิษต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล

โลหะหนักที่พบอยู่ในแหล่งน้ำตามธรรมชาตินั้นมาจาก 2 แหล่งคือ แหล่งแรกมาจากขบวนการผุพังตามธรรมชาติของพื้นผิวดิน หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของเปลือกโลก ดังรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการสลายตัวของปรอทในปี ค.ศ. 1978 ของ National Academy of Science ที่พบว่า ปริมาณของสารปรอทที่ระเหยออกมาตามผิวโลกมีจำนวนถึง 18,500-27,000 ตันต่อปี โดยปะปนออกมากับก๊าซภูเขาไฟ และระเหยมาจากมหาสมุทร (UNEP, 1984) แหล่งที่มาของโลหะหนักที่สำคัญอีกแหล่งหนึ่งคือ มาจากกิจกรรมของมนุษย์ โดยเฉพาะจากโรงงานอุตสาหกรรมที่มีขบวนการผลิตแร่และโลหะหนัก UNEP (1984) ราย

งานว่า ปริมาณของสารปรอทที่เกิดจากกิจกรรมของมนุษย์และมีการแพร่กระจายเข้าสู่สิ่งแวดล้อม มีจำนวนถึง 5,000-10,000 ตันต่อปี

โดยทั่วไปพื้นที่ชายฝั่งทะเลที่อยู่ใกล้แหล่งชุมชน แหล่งอุตสาหกรรม จะพบค่าความเข้มข้นของโลหะหนักสูงกว่าในทะเลเปิด เช่น ในกรณีทางตอนใต้ของอ่าวแคลิฟอร์เนีย ที่พบปริมาณตะกั่วสูงมาก อยู่ในช่วง 25-150 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้อ่าวดังกล่าวเป็นที่รองรับน้ำทิ้งจากบ้านเรือนและอุตสาหกรรมปิโตรเลียม (Patterson *et al.*, 1976) โลหะหนักที่แพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมทางทะเล จะถูกแพร่กระจายต่อไปโดยกระแสน้ำ โลหะส่วนหนึ่งยังคงละลายอยู่ในน้ำ อีกส่วนหนึ่งจะถูกสะสมอยู่ในชั้นบางๆ ที่ผิวหน้าหรือถูกดูดซับไว้บนสารแขวนลอย สำหรับโลหะหนักพวกที่มีค่าของเวลาการอยู่ตัว (residence time) ในทะเลต่ำ จะมีการจับตัวกับสารแขวนลอยหรือสารอินทรีย์ แล้วจมตัวลงรวมกับตะกอนบนพื้นก้นทะเล โลหะหนักเหล่านี้อาจมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยและหากินบริเวณหน้าดินของท้องทะเล โดยอาจเป็นอันตรายโดยตรงหรือเกิดการสะสมไว้ในร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ (Forstner and Wittman, 1981)

Wangersky (1986) รายงานว่า ปริมาณความเข้มข้นของโลหะหนักในน้ำที่ผิวหน้า ส่วนใหญ่จะถูกควบคุมโดยขบวนการดูดซับทางกายภาพและเคมีของสารชีวภาพในทะเล โดยขบวนการนี้ โลหะจะถูกเคลื่อนย้ายออกจากน้ำและถูกทำให้คืนกลับสู่แหล่งน้ำอีก โดยการย่อยสลายของแบคทีเรียและสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเช่น แพลงก์ตอน สัตว์เหล่านี้มีความสามารถในการดูดซับโลหะหนักได้เป็นจำนวนมาก โลหะหนักเหล่านี้จะถูกเคลื่อยย้ายไปสู่สิ่งมีชีวิตในลำดับขั้นที่สูงกว่าในห่วงโซ่อาหาร ซึ่งการสะสมของโลหะหนักในสิ่งมีชีวิต เป็นผลมาจากการดูดซับหลังจากการกินอาหาร หรือจากการซึมผ่านเข้าทางผิวหนังและเหงือกขณะที่มีการหายใจ Matida *et al.*, (1972) รายงานว่า แพลงก์ตอนพืชสามารถดึงปรอทในน้ำเข้ามาสะสมไว้ภายในตัวหรือผ่านผนังเซลล์ได้โดยตรงตามความเข้มข้นเหมาะสม สารปรอทในแพลงก์ตอนพืชจะแปรผันอยู่ในช่วง 200 ถึงหลายพันเท่า ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับรูปของสารปรอท

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโลหะหนักในสัตว์ทะเล ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณโลหะหนักในน้ำที่มีผลสืบเนื่องมาจากปัจจัยทางชีวภาพและปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมบางประการ ปัจจัยทางชีวภาพที่สำคัญที่มีผลต่อขบวนการดูดซับโลหะหนักของสิ่งมีชีวิต ได้แก่ ชนิด ขนาด อายุ เพศ และระดับการบริโภคซึ่งขึ้นอยู่กับนิสัยการกินของสิ่งมีชีวิตนั้นๆ Forrester *et al*, (1972) รายงานว่า ปลาเพศผู้มีการสะสมของปรอทสูงกว่าในเพศเมียที่มีขนาดและความยาวเท่ากัน ในสัตว์ที่กินอาหารโดยการกรองจากน้ำ เช่น หอยนางรม หอยแมลงภู่ หรือปลาที่กินแพลงก์ตอนพืช จะสามารถดูดซับโลหะหนักได้อย่างรวดเร็ว ทั้งในรูปของสารละลายและสารแขวนลอย ส่วนปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่สำคัญที่มีผลต่อปริมาณการสะสมของโลหะหนักได้แก่ คุณภาพของน้ำ ที่มีคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความเค็ม อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความกระด้าง ปริมาณสารอินทรีย์ โดยการเพิ่มอุณหภูมิหรือลดความเค็มของน้ำทะเลจะเพิ่มการรับโลหะหนักเข้าสู่ร่างกาย เนื่องจากเมื่อความเค็มของน้ำทะเลลดลง ความเข้มข้นของอิออนในน้ำเช่น แคลเซียม แมกนีเซียม จะมีปริมาณน้อยลง อิออนของโลหะอื่นๆ ก็มีโอกาสเข้าเกาะจับมากขึ้น ดังการศึกษาที่พบว่า หอยที่เลี้ยงในน้ำกร่อยจะมีความเข้มข้นของโลหะหนักในเนื้อเยื่อสูงกว่า

หอยที่เลี้ยงในน้ำเค็ม (Phillips, 1980) McLusky *et al.* (1986) พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิหรือลดความเค็มของน้ำ จะมีผลทำให้การดูดซับแคดเมียมและตะกั่วของสิ่งมีชีวิตเพิ่มขึ้น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2516) ทำการวิเคราะห์พิษตกค้างของสารปรอทในปลาทะเลที่ประชาชนนิยมบริโภค พบว่า ในปี 2516 มีสารปรอทปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 0.01-0.03 ppm. ในปี 2517 พบปริมาณ 0.048 ppm. ในปี 2518 พบสารปรอทอยู่ในช่วง 0-0.578 ppm. และในปี 2519 พบอยู่ในช่วง 0-0.253 ppm.

กัลยา วัฒนากร มนุวดี หังสพฤกษ์ และอรพินทร์ จันทร์ผ่องแสง (2521) ได้ศึกษาปริมาณการสะสมของโลหะแคดเมียม ตะกั่ว และสังกะสี ในสัตว์จำพวกปลา หมึก กั้งตั๊กแตน ปู และหอยเชลล์ จากบริเวณอ่าวไทยตอนบนในปี 2519 พบค่าเฉลี่ยของแคดเมียมในปลา หมึก กั้งตั๊กแตน ปูลาย และหอยเชลล์ เท่ากับ 0.42, 0.81, 42.8, 9.88 และ 6.8 μg/g dry weight ตามลำดับ

มนุวดี หังสพฤกษ์ และสิทธิพันธ์ ศิริรัตนชัย (2524) ศึกษาปริมาณการสะสมของโลหะแคดเมียม ทองแดง ตะกั่ว แมงกานีส และสังกะสี ในหอยนางรมและหอยตะโกรมจากอ่าวไทย พบว่า หอยจากบริเวณอ่างศิลา จังหวัดชลบุรี มีปริมาณโลหะสะสมอยู่มากที่สุด โดยมีค่าพิสัยของโลหะแคดเมียม ทองแดง ตะกั่ว แมงกานีส และสังกะสี เท่ากับ 2.55-25.01, 37.07-254.73, 7.67-27.34, 6.41-35.32 และ 253.17-1018.66 μg/g dry weight ตามลำดับ

สุธรรม สิทธิชัยเกษม และสุวรรณี เฉินบำรุง (2527) ศึกษาปริมาณโลหะหนักในสัตว์น้ำบริเวณปากแม่น้ำบางประกง ท่าจีน แม่กลอง เพชรบุรี และปราณบุรี ในเดือนเมษายน 2522 ถึงเดือนมีนาคม 2523 พบว่าปริมาณโลหะตะกั่ว สังกะสี ทองแดง แคดเมียม และปรอท มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 12.7-33.7, 8.4-17.2, 3.9-11.7, 0.9-3.7 และ 0.012-0.051 μg/g dry weight ตามลำดับ

แววตา ทองระอา และสมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร (2529) ศึกษาพิษเฉียบพลันของแคดเมียมและตะกั่วที่มีต่อกุ้งกุลาดำ พบว่า กุ้งกุลาดำระยะวัยอ่อน (2-3 ซม.) มีความทนทานต่อพิษตะกั่วได้มากกว่าแคดเมียม โดยมีค่า 96h-LC_{50} ของแคดเมียมและตะกั่วเท่ากับ 285.30 และ 0.094 ppm โดยระดับความเข้มข้นปลอดภัยของตะกั่วและแคดเมียมมีค่าอยู่ในช่วง 5.71-14.26 และ 0.002-0.005 ppm ตามลำดับ

พัชรา เพ็ชร์พิรุณ, จารุวรรณ สมศิริ และทัศนีย์ ดิษฐกมล (2535) ได้ศึกษาปริมาณความเข้มข้นและการสะสมของแคดเมียมในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ ของหมึกกระดองและหมึกสายทั้งชนิดสดและแช่แข็งจากโรงงานที่จังหวัดสมุทรปราการ พบว่าค่าเฉลี่ยทั้งตัวของแคดเมียมในหมึกกล้วย หมึกกระดอง และหมึกสายมีค่าเท่ากับ 1.14, 1.28 และ 3.40 ppm ตามลำดับ

ธนิกา จินตนะพันธ์ (2537) ได้ศึกษาปริมาณการสะสมของปรอทและแคดเมียม ในเนื้อเยื่อต่างๆ ของปูม้าขนาดใหญ่ พบว่า ตับมีการสะสมของปรอทมากที่สุด รองลงมาคือ เนื้อกรรเชียง และเนื้อก้าม เท่ากับ 11.05, 7.42 และ 5.95 μg/g ตามลำดับ ส่วนแคดเมียมพบในตับมากที่สุด รองลงมาคือ เหงือกและกระเพาะ เท่ากับ 0.41, 0.32 และ 0.27 μg/g ตามลำดับ

ศจี พรสุทธิจรรยา และจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง (2538) ศึกษาปริมาณแคดเมียมในกุ้งกุลาดำ พบว่า ส่วนหัวและลำไส้ มีปริมาณการสะสมมากกว่าส่วนอื่น คือ 0.83 $\pm$ 0.16 และ 0.93 $\pm$ 0.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทั้งนี้เนื่องบริเวณส่วนหัวและลำไส้จะเป็นที่อยู่ของสารอาหารที่กุ้งกินเข้าไป รวมทั้งของเสียที่กุ้งจะขับออกมา

Barthalamus (1977) พบว่าค่าความเข้มข้นของเมอร์คิวรีคลอไรด์ ที่ทำให้กุ้งตาย 100% ภายใน 24 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าที่ทำให้กุ้งตาย 100% ภายใน 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

Kalayarmitr (1983) ได้ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของ Cd และ Pb ที่มีต่อกุ้งแชบ้วย พบว่าระดับความเข้มข้นของแคดเมียมที่ทำให้กุ้งตาย มีค่าน้อยกว่าตะกั่ว

Rojleranya (1983) พบว่า 96-h LC_{50} ของแคดเมียม ที่มีต่อกุ้งก้ามกรามเท่ากับ 0.025 ppm.

ผลของโลหะหนักต่อสรีรวิทยาของสัตว์น้ำ

งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของโละหนักต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของสัตว์น้ำนั้น ส่วนใหญ่พบมากในรายงานวิจัยจากต่างประเทศ เช่น งานทดลองของ Thurberg, *et al* (1973) ที่ได้ทำการศึกษาผลกระทบของทองแดงและแคดเมี่ยมต่อการควบคุมความสมดุลย์ของน้ำในร่างกายและอัตราการบริโภคออกซิเจน ในปู 2 ชนิดที่อาศัยในเขตเอสทูรี จากการทดลองพบว่า ปูที่อยู่ในน้ำทะเลที่มีทองแดงในปริมาณสูงนั้น จะสูญเสียความสามารถในการควบคุมสมดุลย์ของน้ำในร่างกาย โดยเฉพาะในน้ำทะเลที่มีความเค็มสูงหรือต่ำกว่าน้ำทะเลปกติ จะมีผลกระทบมากกว่าในน้ำทะเลปกติ นอกจากนี้พบว่าแคดเมี่ยมจะมีผลทำให้อัตราการบริโภคออกซิเจนของปูต่ำกว่าปกติ

ตัวอย่างงานวิจัยของ Depledge (1984) เป็นอีกงานวิจัยหนึ่งที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของโลหะหนักที่มีต่อสรีรวิทยาของสัตว์ โดยงานวิจัยดังกล่าวเป็นการศึกษาถึงผลกระทบของทองแดงที่มีต่ออัตราการเต้นของหัวใจปู *Carcinus maenas* โดยเขาได้ทดลองวัดอัตราการเต้นของหัวใจในปูที่อยู่ในน้ำทะเลที่มีทองแดงที่มีความเข้มข้นต่างกัน ในช่วงเวลาที่เปลี่ยนแปลงไป พบว่า ทองแดงที่ความเข้มข้น 3 mg/l ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเต้นของหัวใจ แต่ที่ความเข้มข้น 10 mg/l จะทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลง

Bjerregaard and Vislie (1985) ได้ศึกษาผลของปรอทในปู พบว่าปรอทมีผลทำให้ระดับการควบคุมสมดุลย์น้ำและอิออนในเลือด (blood serum osmolality) ลดลง

สำหรับงานวิจัยที่มีรายงานล่าสุดของ Bamber & Depledge (1997) เป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเพื่อนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสภาวะมลพิษของสิ่งแวดล้อมในเขตเอสทูรี ในงานวิจัยดังกล่าว ได้ชี้ให้เห็นว่า ปู *Carcinus maenus* ที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีระดับสภาวะมลพิษแตกต่างกัน จะมีระดับการตอบสนองทางสรีรวิทยาแตกต่างกัน เช่น มีความสามารถในการควบคุมสมดุลย์ของน้ำในร่างกายต่างกัน โดยปูที่อยู่อาศัยในบริเวณที่

มีสภาวะแวดล้อมสะอาดบริเวณแม่น้ำเอวอน (River Avon) หรือสภาวะแวดล้อมที่มีมลพิษต่ำบริเวณแม่น้ำ ยีลม์ (River Yealm) จะมีความสามารถในการรักษาสมดุลย์ของน้ำในร่างกายสูงกว่าปูที่อาศัยในที่มีสภาวะแวดล้อมที่มีมลพิษสูงบริเวณเรสทรอนคี-ครีก (Restronguet Creek) นอกจากนี้อัตราการเต้นของหัวใจในภาวะที่มีความเครียดของปูที่อยู่ในบริเวณที่มีสภาวะแวดล้อมสะอาดจะมีค่าคงที่ ซึ่งต่างจากปูที่อยู่ในบริเวณที่มีสภาวะแวดล้อมที่มีมลพิษสูง อัตราการเต้นของหัวใจจะค่อย ๆ ลดลงเมื่อเวลาผ่านไป

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- ตู้กระจกขนาด 25×27×40 ลูกบาศก์เซนติเมตร
- เครื่องวัดปริมาณออกซิเจน (oxygen meter, Strathkelvin instruments Model 928)
- ห้องหายใจ (respiration chamber)
- อ่างน้ำไหลเวียนแบบควบคุมอุณหภูมิ (thermoregulated circulating water bath)
- เครื่องวัดความเค็มของน้ำทะเล (refractometer)
- เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย (vapour pressure osmometer 5520)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (4 digital electrical balance)
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 2 ตำแหน่ง (2 digital electrical balance)
- เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
- ตู้อบเครื่องแก้ว (Incubator)
- หม้อนึ่งความดัน (autoclave)
- ถังไฟเบอร์กลาสขนาด 200 และ 500 ลิตร
- ขวดโหลแก้วขนาดความจุ 15 ลิตร
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- อุปกรณ์ให้อากาศ
- เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (vernier calipper)
- 100, 290 and 1000 Osmolality standard (Opti-Mole)
- Straathkelvin instruments electrolyte solution
- Electrode membrane
- Syringe พร้อมเข็มสำหรับเจาะเลือดกุ้ง
- หลอดสำหรับเก็บตัวอย่างเลือดกุ้ง (appendrof tube)
- เครื่องวัดปริมาณโลหะหนัก (atomic absorption spectroscopy)
- โซเดียมซัลไฟต์ (Sodium sulphite)
- แคลเซียมไฮโปคลอไรต์ ($Ca(OCl)_2$)
- แคดเมียมคลอไรด์ ($CdCl_2$) (analytical grade)
- เมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$) (analytical grade)
- กรดไนตริกเข้มข้น (HNO_3) (redistilled grade)
- กรดซัลฟูริคเข้มข้น (H_2SO_4) (redistilled grade)
- สารละลายมาตรฐานของโลหะแคดเมียมและปรอท (standard solution)
- สารละลายโซเดียมโบไฮไดร์ด ($NaBH_4$) (A.R. grad)

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (A.R. grad)
- น้ำกลั่น

สถานที่ทำการทดลองและสัตว์ทดลอง

สถานที่ที่ใช้ในการทดลองคือ ภาควิชาวาริชศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา สำหรับสัตว์ที่ใช้ในการทดลองคือ ลูกกุ้งกุลาดำ ระยะวัยรุ่น กุ้งที่ใช้ในการทดลองมีความยาวลำตัวอยู่ในช่วงประมาณ 4-5 เซ็นติเมตร และมีน้ำหนักอยู่ในช่วงประมาณ 0.8-1.4 กรัม กุ้งขนาดดังกล่าวนี้มีอายุประมาณ 1 เดือน สำหรับตัวอย่างกุ้งที่ใช้ในการศึกษานี้ได้ทำการซื้อมาจากฟาร์มบ่อดินของเกษตรกรแห่งหนึ่งในจังหวัดฉะเชิงเทรา ลูกกุ้งถูกลำเลียงมาพักไว้ในถังไฟเบอร์กลาส บริเวณภาควิชาวาริชศาสตร์ น้ำที่ใช้อนุบาลลูกกุ้งในบ่อซีเมนต์ดังกล่าวนี้ จะมีความเค็มประมาณ 20 ppt ลูกกุ้งจะถูกปล่อยให้พักฟื้นและปรับตัว เป็นเวลาอย่างน้อย 1 สัปดาห์ ก่อนจะถูกนำมาใช้ในการทดลอง

การเตรียมน้ำที่ใช้สำหรับทำการทดลอง

การเตรียมน้ำที่ใช้สำหรับการทดลองนั้น โดยการนำน้ำทะเลจากบ่อเก็บน้ำทะเลของภาควิชาวาริชศาสตร์ ซึ่งมีความเค็มประมาณ 28 ส่วนในพันส่วน (ppt) มาทำการฆ่าเชื้อด้วย $Ca(OCl)_2$ (Calcium Hypochlorite) ที่มีความเข้มข้นประมาณ 30-50 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์เพื่อให้คลอรีนสลายตัวหมด ซึ่งสามารถทดสอบปริมาณคลอรีนได้โดยการใช้น้ำยาเช็คคลอรีนหยดลงในน้ำตัวอย่าง ถ้าน้ำทะเลตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแสดงว่ายังมีคลอรีนอยู่ต้องทิ้งน้ำไว้อีกสักพักหนึ่ง แต่ถ้าน้ำตัวอย่างไม่เปลี่ยนสี แสดงว่าคลอรีนสลายตัวหมดแล้ว สามารถนำมาใช้ทดลองได้ จากนั้นนำน้ำทะเลดังกล่าวมาทำการเจือจาง (dilute) ให้อยู่ในระดับความเค็มที่ต้องการคือ 20 ppt โดยการเติมน้ำจืด

สำหรับน้ำที่ใช้ในการทดลองหาอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งนั้น จะต้องนำน้ำที่เตรียมจากวิธีการข้างต้นมาทำการฆ่าสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นด้วยตาเปล่าโดยการนำน้ำดังกล่าวมาพาสเจอร์ไรท์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง โดยใช้ตู้อบหรือหม้อนึ่งความดัน สาเหตุที่ต้องมีการฆ่าสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กดังกล่าวก็เนื่องจากในระหว่างการทดลองนั้น สิ่งมีชีวิตเหล่านี้จะบริโภคออกซิเจนร่วมกับสัตว์ทดลองด้วย ซึ่งหากการบริโภคออกซิเจนของสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอยู่ในระดับที่สูงมากก็อาจมีผลทำให้ผลการทดลองออกมาคลาดเคลื่อนได้

น้ำที่เตรียมได้นั้นจะถูกนำมาวัดความเข้มข้นอย่างละเอียดอีกครั้งหนึ่ง โดยใช้เครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย (vapour pressure osmometer) ซึ่งค่าความเค็มของน้ำทะเลที่ได้จะมีหน่วยเป็น $mOsmol.kg^{-1}$

การเตรียมสารละลายแคดเมียมคลอไรด์และเมอร์คิวรีคลอไรด์

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้โลหะหนัก 2 ชนิดคือ แคดเมียมและปรอท ซึ่งแคดเมียมได้มาจากการเตรียมสารละลายแคดเมียมคลอไรด์ และปรอทได้มาจากการเตรียมสารละลายเมอร์คิวรีคลอไรด์ ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันดังตัวอย่างแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของสารละลายแคดเมียมคลอไรด์และเมอร์คิวรีคลอไรด์

แคดเมียมคลอไรด์	0 ppm (control)	0.1 ppm	0.5 ppm	1.0 ppm
เมอร์คิวรีคลอไรด์	0 ppm (control)	0.01 ppm	0.05 ppm	0.1 ppm

การศึกษาอัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของโลหะหนักแคดเมียมและปรอท

ในการศึกษาอัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของโลหะหนักแคดเมียมและปรอทที่มีต่อลูกกุ้งกุลาดำ ทำการทดลองโดยใช้วิธีชีววิเคราะห์แบบน้ำนิ่ง (static bioassay) วิธีการทดลองดำเนินการตามวิธีที่อธิบายไว้โดย APHA *et al.* (1980) และ Sprague (1969, 1973) (อ้างตามแววตา ทองระอา, 2530) ดังมีรายละเอียดดังนี้

1. การทดลองเบื้องต้น (exploratory tests) เป็นการทดลองเพื่อหาช่วงระดับความเข้มข้นโดยประมาณ ที่ทำให้กุ้งไม่ตายและตายหมด (0% และ 100%) สำหรับนำมาใช้ในการกำหนดระดับความเข้มข้นในการทดลองอย่างละเอียด
2. การทดลองอย่างละเอียด (full-scale tests) เป็นการทดลองเพื่อหาระดับความเป็นพิษ โดยนำผลจากการทดลองเบื้องต้นมาใช้ในการพิจารณาจัดระดับความเข้มข้นของสารละลายที่ใช้ทดลอง ออกเป็น 6 ระดับ ระดับละ 3 ซ้ำ พร้อมกับมีกลุ่มควบคุม เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบ

ในการทดลองอย่างละเอียดนั้น ทำการทดลองในโหลแก้วกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 นิ้ว สูง 14 นิ้ว ลูกกุ้งกุลาดำที่นำมาทดลองจะถูกทำการปรับสภาพ (acclimation) เรียบร้อยแล้วในน้ำที่มีความเค็ม 20 ppt สำหรับโลหะหนักแคดเมียมนั้น ความเข้มข้นของสารที่ใช้ได้แก่ 0 ppm (control), 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm, 2.5 ppm, 3.0 ppm, 3.5 ppm และ 4 ppm ส่วนโลหะหนักปรอทนั้น ความเข้มข้นที่ใช้คือ 0 ppm (control), 0.1 ppm, 0.2 ppm, 0.3 ppm, 0.4 ppm และ 0.5 ppm ตามลำดับ โหลที่ใช้ทดลองมีขนาดความจุ 15 ลิตร บรรจุน้ำ 10 ลิตร แต่ละโหลจะใส่กุ้งจำนวน 10 ตัว โดยใช้วิธีจัดกลุ่มสัตว์ทดลองแบบสุ่ม เพื่อให้มีการกระจายของกุ้งอย่างสม่ำเสมอในแต่ละโหลทดลอง จำนวนซ้ำของการทดลองในแต่ละความเข้มข้นของสารมีทั้งหมด 3 ซ้ำ (replication) ทำการบันทึกลักษณะอาการและจำนวนลูกกุ้งที่ตายทุก ๆ 24 ชั่วโมง เป็นระยะ

เวลา 96 ชั่วโมง โดยถือเกณฑ์การตัดสินว่ากุ้งตายจากการหยุดเคลื่อนไหวนอนอยู่ที่พื้นโหลทดลอง และไม่มีปฏิกริยาตอบสนองเมื่อใช้แท่งแก้วแตะที่ตัวกุ้ง เป็นเวลา 2-3 นาที ตลอดระยะเวลาของการทดลองจะมีการให้อากาศเหมือนกันในทุกโหลทดลอง กุ้งที่ตายในระหว่างการทดลองจะถูกจับออก เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดน้ำเสีย จำนวนกุ้งที่ตายในแต่ละความเข้มข้นที่ระยะเวลาต่างๆ จะนำไปวิเคราะห์หาค่าความเป็นพิษ LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง

การศึกษาอัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำ

นำลูกกุ้งที่เลี้ยงไว้ในสารละลายแคดเมียมคลอไรด์และสารเมอร์คิวรีคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน มาทำการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนโดยใช้เครื่องวัดปริมาณออกซิเจน (oxygen meter, Strathkelvin Instrument Model 781) ซึ่งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ ห้องหายใจ (respiration chamber) เป็น ห้องว่างที่ใช้ใส่ลูกกุ้งกุลาดำ ซึ่งสามารถรู้ปริมาตรที่แน่นอน และหัวตรวจวัดออกซิเจนหรือออกซิเจนอิเลคโทรด (oxygen electrode) ซึ่งจะต่อเข้ากับเครื่องวัดปริมาณออกซิเจน เครื่องวัดดังกล่าวสามารถวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้ในรูปของความกดออกซิเจน (Po_2) ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิเมตรปรอท (mmHg) หรือทอร์ (torr) ดังนั้นค่าตัวเลขที่อ่านได้จากเครื่องวัด จึงมิใช่ค่าของปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ หลังจากได้ค่าความกดออกซิเจนที่เปลี่ยนไปแล้ว จะต้องนำค่าดังกล่าวที่ได้ มาทำการคำนวณเพื่อหาปริมาณออกซิเจนที่กุ้งบริโภคต่อหน่วยน้ำหนักและหน่วยเวลา

ในการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนนั้น ก่อนทำการทดลองควรเช็คให้มั่นใจว่าเครื่องวัดปริมาณออกซิเจนนั้นถูกปรับ (calibration) เป็นที่เรียบร้อยแล้ว หลังจากนั้นจึงเริ่ม ทำการทดลอง โดยเริ่มต้นจากการนำกุ้งที่ต้องการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนมาใส่ในห้องหายใจที่บรรจุน้ำที่มีความเค็มตามที่กำหนดและผ่านการพาสเจอไรท์ที่ 60 องศาเซลเซียสเป็นที่เรียบร้อยแล้ว เมื่อนำลูกกุ้งมาใส่ในห้องหายใจแล้ว ทำการให้อากาศเพื่อให้น้ำมีออกซิเจนละลายอยู่เต็มที่ (Po_2 มีค่าประมาณ 150 mmHg) ปล่อยให้ลูกกุ้งมีการปรับสภาพ (acclimation) ให้คุ้นเคยกับสภาพแวดล้อมรอบๆ ประมาณ 24 ชั่วโมง ห้องหายใจนี้ จะถูกควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ที่ 25 องศาเซลเซียส โดยการแช่อยู่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) ตลอดการทดลอง หลังจาก 24 ชั่วโมงผ่านไป ให้นำฝาปิดที่มีออกซิเจนอิเลคโทรดติดอยู่ ปิดเซลล์หายใจดังกล่าว โดยมิให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายใน ปล่อยให้ลูกกุ้งมีการปรับสภาพอีกครั้งหนึ่งประมาณ 10 นาที จึงบันทึกค่า Po_2 ซึ่งค่า Po_2ที่บันทึกได้ครั้งแรกนี้ จะเป็นค่า Po_2 เริ่มต้น ปล่อยให้ลูกกุ้งอยู่ในเซลล์หายใจนี้ต่อไปอีกประมาณ 60 นาที โดยในระหว่างนี้ทำการบันทึกค่า Po_2 ทุกๆ 10 นาที เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ให้นำลูกกุ้งมาชั่งน้ำหนักบันทึกไว้ นำค่าผลต่างของ Po_2 และน้ำหนักของลูกกุ้งมาคำนวณหาอัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนักต่อหน่วยเวลาได้ โดยใช้สูตร

$$Mo_2 = (Po_2end - Po_2start) \times a \times V \times 60 / t / W \quad (\mu mol\ g^{-1}h^{-1})$$

เมื่อ a = ความสามารถในการละลายของออกซิเจนในน้ำที่อุณหภูมิขณะทำการการทดลอง (μmol $l^{-1}torr^{-1}$)

V = ปริมาตรของน้ำในห้องทดลอง (l)

t = เวลาที่ใช้ในการทดลอง (h)

W =น้ำหนักของลูกกุ้งที่ใช้ในการทดลอง (g)

การศึกษาความสามารถในการควบคุมสมดุลย์น้ำ (osmoregulation)

นำลูกกุ้งที่เลี้ยงไว้ในสารละลายแคดเมียมคลอไรด์และสารเมอร์คิวรีคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 1 เดือนมาเจาะเลือด เพื่อวัดความเข้มข้นของเลือดด้วยเครื่องวัดความเข้มข้นของสารละลาย (osmometer) นำผลที่ได้มาสร้างกราฟและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ Analysis of Variance แบบทดสอบทางเดียว (One way ANOVA)

การวิเคราะห์ปริมาณแคดเมียมและปรอทในกุ้งกุลาดำ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานของแคดเมียมและปรอทที่มีความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานของโลหะหนักในช่วงที่จะวัด ตัวอย่างเช่น ต้องการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 ppm ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากสารละลายมาตรฐานโลหะหนัก 1000 ส่วนในล้านส่วน ดังสมการต่อไปนี้

$$N_1V_1 = N_2V_2$$

แทนค่าจากสูตร

$$(10\ ppm)(100\ ml) = (1000\ ppm)\ V_2$$

$$V_2 = (10\ ppm)(100\ ml) / (1000\ ppm)$$

$$V_2 = 1\ ml$$

การเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10 ppm จากสารละลายมาตรฐาน 1000 ppm ต้องปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1000 ppm ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน volumetric flask ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นปรับให้ครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น สำหรับสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ สามารถเตรียมได้ตามที่กล่าวข้างต้น

2. การสร้างกราฟมาตรฐาน

โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้

ปรอท (Hg)	=	0.01, 0.05, 0.1	ppm
แคดเมียม (Cd)	=	0.1, 0.5, 1.0	ppm

จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer สำหรับทำกราฟมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบหาความเข้มข้นของโลหะแงสองชนิด

3. การเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ตัวอย่างกุ้ง

นำตัวอย่างกุ้งเข้าตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 วัน แล้วนำตัวอย่างกุ้งออกจากตู้แช่แข็งไปเข้าเครื่องดูดความชื้นประมาณ 2 วัน นำตัวอย่างที่แห้งแล้วออกจากเครื่องดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนักแห้งไว้

ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งแล้วประมาณ 0.1 กรัม ใส่ลงในเทฟล่อน แล้วย่อยด้วยการเติมกรดไนตริกเข้มข้น 6 มิลลิลิตร และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1 มิลลิลิตร ปิดฝาให้แน่น นำไปเข้าตู้ไมโครเวฟเป็นเวลา 30 นาที หรือจนกว่าตัวอย่างจะย่อยสลายหมด นำตัวอย่างออกจากตู้ไมโครเวฟ ทิ้งไว้ให้เย็นลง ณ อุณหภูมิห้อง สารละลายที่ได้หลังจากการย่อยจะมีปริมาตรประมาณ 7 มิลลิลิตร เท่ากับสารละลายที่ใช้ในการย่อย จากนั้นให้ทำการปรับปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยให้มีปริมาตรเท่ากับ 25 มิลลิลิตร และเก็บตัวอย่างไว้เพียง 10 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะหนักแต่ละชนิด

วิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer โดยค่าที่วัดได้จะเป็นค่าการดูดกลืนแสง แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของโลหะหนักจากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานของโลหะหนักแต่ละชนิด หน่วยที่ใช้เป็นไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้งของกุ้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการบันทึกอัตราการรอดตาย จะถูกนำมาหาเปอร์เซ็นต์การรอดตายของลูกกุ้ง และนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างที่ระดับความเค็มต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์ทางสถิติแบบ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบข้อมูลในแต่ละความเค็มและช่วงเวลา โดยใช้ Scheffe's statistical test

ความเป็นพิษเฉียบพลัน สามารถวิเคราะห์ได้จากการสร้างกราฟความถดถอยของเส้นตรง (regression line) ระหว่างความเข้มข้นของโลหะหนักกับเปอร์เซนต์การรอดตายของลูกกุ้ง ซึ่งจะได้ค่า LC_{50} ค่า LC_{50} ที่ได้สามารถนำมาประเมินค่าระดับความเข้มข้นที่ปลอดภัยของโลหะ โดยใช้ดัชนีที่เรียกว่า Laboratory Fishery Production Index (LFPI) ของ Mount and Stephan (1976) ซึ่งระดับปลอดภัยที่คำนวณจากวิธีนี้ จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 1/45 – 1/19 ของ LC_{50} หรือประมาณ 0.02 – 0.05 ของ 96-h LC_{50}

สำหรับข้อมูลที่ได้จากการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจน จะถูกนำมาคำนวณหาอัตราการบริโภคออกซิเจนโดยใช้สูตรการคำนวณดังกล่าวข้างต้น จากนั้นจะทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบผลของความเค็มระดับต่าง ๆ ต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนัก โดยใช้การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Analysis of covariance (ANCOVA) และใช้ Scheffe's statistical test ในการเปรียบเทียบแต่ละกลุ่มของข้อมูลการทดลอง

ในการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดดังกล่าวข้างต้นนั้น เป็นการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SX (Statistix, version 4.0)

บทที่ 4
ผลการศึกษา

อัตรารอดตายและพิษเฉียบพลันของแคดเมียมและปรอท รวมทั้งอัตราการบริโภคออกซิเจน การควบคุมสมดุลย์ของน้ำในร่างกาย และการสะสมของแคดเมียมและปรอทในกุ้งกุลาดำระยะวัยรุ่น (juvenile) ได้ถูกทดลองภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในน้ำที่มีความเค็ม 20 ส่วนในพัน (ppt)

1. อัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของแคดเมียมในกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียม

จากการศึกษาอัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆของแคดเมียม ซึ่งกระทำโดยการนำลูกกุ้งกุลาดำที่ทำการปรับสภาพ (acclimation) เรียบร้อยแล้วในน้ำที่มีความเค็ม 20 ppt มาทำการทดลองหาอัตราการรอดตายในน้ำที่มีความความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียม 8 ระดับคือ 0 ppm (กลุ่มควบคุม), 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm, 2.5 ppm, 3.0 ppm, 3.5 ppm และ 4.0 ppm ตามลำดับ ภายใต้อุณหภูมิ 25°C โดยใช้ลูกกุ้งทั้งหมด 10 ตัว ในแต่ละโหลของการทดลอง และทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น และเมื่อนำค่าที่ได้มาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียม จะได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟรูปที่ 1 นอกจากนี้ เมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณหา LC_{50} ภายใน 96 ชั่วโมง พบว่ากุ้งที่ทดลองที่ระดับความเข้มข้น 1.0 ppm, 1.5 ppm, 2.0 ppm, 2.5 ppm, 3.0 ppm, 3.5 ppm และ 4.0 ppm ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง จะมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 100%, 100%, 90%, 67%, 17%, 13% และ 0% ตามลำดับ ค่า LC50 (96 ช.ม.) ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 2.42 ppm ดังแสดงในกราฟรูปที่ 2

2. อัตราการรอดตายและพิษเฉียบพลันของปรอทในกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอท

จากการศึกษาอัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆของปรอท ซึ่งกระทำโดยการนำลูกกุ้งกุลาดำที่ทำการปรับสภาพ (acclimation) เรียบร้อยแล้วในน้ำที่มีความเค็ม 20 ppt มาทำการทดลองหาอัตราการรอดตายในน้ำที่มีความความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอท 5 ระดับคือ 0 ppm (กลุ่มควบคุม), 0.1 ppm, 0.2 ppm, 0.3 ppm, 0.4 ppm และ 0.5 ppm ตามลำดับ โดยใช้ลูกกุ้งทั้งหมด 10 ตัว ในแต่ละโหลของการทดลอง และทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำในแต่ละความเข้มข้น และเมื่อนำค่าที่ได้มาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอท จะได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 และกราฟรูปที่ 2 นอกจากนี้ เมื่อนำผลที่ได้มาคำนวณหา LC50 ภายใน 96 ชั่วโมง พบว่ากุ้งที่ทดลองที่ระดับความ

เข้มข้น 0.1 ppm, 0.2 ppm, 0.3 ppm, 0.4 ppm และ 0.5 ppm ในระยะเวลา 96 ชั่วโมง จะมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 100%, 80%, 40%, 17% และ 0% ตามลำดับ ค่า LC50 (96 ช.ม.) ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 0.25 ppm ดังแสดงในกราฟรูปที่ 4

3. อัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำในน้ำที่มีสารแคดเมียมที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กัน

จากการศึกษาอัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่ความเค็ม 20 ppt ที่มีสารแคดเมียมที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กันคือ 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มีสารแคดเมียม (0 mg/l) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม มีอัตราการบริโภคออกซิเจนเท่ากับ 6.21±1.53 μmol/g/h ส่วนกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียมที่ 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนเท่ากับ 6.92 ± 1.21, 4.87 ± 1.24 และ 4.37 ± 1.28 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 ซึ่งอัตราการบริโภคออกซิเจนที่แตกต่างกันนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of covariance พบว่าที่ความเข้มข้นของสารแคดเมียมต่างกัน อัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 1.0 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0 mg/l (กลุ่มควบคุม), 0.1 และ 0.5 mg/l ส่วนอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0 mg/l (กลุ่มควบคุม), 0.1 และ 0.5 mg/l ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 5 และตารางที่ 4

4. อัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำในน้ำที่มีสารปรอทที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กัน

จากการศึกษาอัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่ความเค็ม 20 ppt ที่มีสารปรอทที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กันคือ 0, 0.01, 0.05 และ 0.10 mg/l พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มีสารปรอท (0 mg/l) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม มีอัตราการบริโภคออกซิเจนเท่ากับ 6.14±1.33 μmol/g/h ส่วนกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารปรอทที่ 0.01, 0.05 และ 0.10 mg/l จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนน้อยลงคือ 5.65 ± 1.03, 5.07 ± 0.80 และ 4.17 ± 1.13 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งอัตราการบริโภคออกซิเจนที่แตกต่างกันนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of covariance พบว่าที่ความ

เข้มข้นของสารปรอทต่างกัน อัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0.05 และ 0.1 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) และ 0.01 mg/l ส่วนอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) และ 0.01 mg/l ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 6 และตารางที่ 5

5. การควบคุมสมดุลของน้ำในกุ้งกุลาดำในน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียม

จากการศึกษาการควบคุมสมดุลของน้ำในกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่ความเค็ม 20 ppt ที่มีสารแคดเมียมที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กันคือ 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มีสารแคดเมียม (0 mg/l) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม มีระดับความเข้มข้นของเลือดเท่ากับ 636.50 ± 10.33 mOsmol ส่วนกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียมที่ 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l จะมีระดับความเข้มข้นของเลือดลดลงคือ เท่ากับ 628.21 ± 8.66, 591.29 ± 7.37 และ 559.93 ± 7.94 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6 ซึ่งระดับความเข้มข้นของเลือดที่แตกต่างกันนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of variance พบว่าที่ความเข้มข้นของสารแคดเมียมต่างกัน ระดับความเข้มข้นของเลือดของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 1.0 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0 mg/l (กลุ่มควบคุม), 0.1 และ 0.5 mg/l ส่วนระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0 mg/l (กลุ่มควบคุม), 0.1 และ 0.5 mg/l ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 7 และตารางที่ 6

6. การควบคุมสมดุลของน้ำในกุ้งกุลาดำในน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอท

จากการศึกษาการควบคุมสมดุลของน้ำในกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่ความเค็ม 20 ppt ที่มีสารปรอทที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กันคือ 0, 0.01, 0.05 และ 0.10 mg/l พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่ไม่มีสารปรอท (0 mg/l) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม มีระดับความเข้มข้นของเลือดเท่ากับ

686.71±7.23 mOsmol ส่วนกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารปรอทที่ 0.01, 0.05 และ 0.10 mg/l จะมีระดับความเข้มข้นของเลือดลดลงคือ เท่ากับ 626.0 ± 13.48, 573.25 ± 14.38 และ 536.71 ± 7.25 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 7 ซึ่งระดับความเข้มข้นของเลือดที่แตกต่างกันนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of variance พบว่าที่ความเข้มข้นของสารปรอทต่างกัน ระดับความเข้มข้นของเลือดของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0.05 และ 0.10 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) และ 0.01 mg/l ส่วนระดับความเข้มข้นของเลือดในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) และ 0.01 mg/l ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในกราฟรูปที่ 8 และตารางที่ 7

7. การสะสมของสารแคดเมียมในกุ้งกุลาดำ

การวิเคราะห์หาปริมาณของแคดเมียมในกุ้งกุลาดำเมื่อเลี้ยงครบ 1 เดือน โดยทำการวิเคราะห์ในส่วนหัว (head) และลำตัวโดยเอาเปลือกออก (whole peeled-off) พบว่าบริเวณส่วนหัวที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.23 ± 0.01 mg/kg ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.55 ± 0.02 mg/kg และที่ความเข้มข้น 1.0 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.88 ± 0.04 mg/kg โดยกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณแคดเมียมเฉลี่ยเท่ากับ 0.02 ± 0.01 mg/kg และบริเวณเนื้อส่วนลำตัว ที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.03 ± 0.02 mg/kg ที่ความเข้มข้น 0.5 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.20 ± 0.01 mg/kg และที่ความเข้มข้น 1.0 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณแคดเมียมเท่ากับ 0.40 ± 0.02 mg/kg โดยกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณแคดเมียมเฉลี่ยเท่ากับ 0.01 ± 0.01 mg/kg ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งปริมาณการสะสมของสารแคดเมียมที่แตกต่างกันนี้ เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of variance พบว่าที่ความเข้มข้นของสารแคดเมียมต่างกัน ปริมาณแคดเมียมในเนื้อเยื่อของทั้งส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าทั้งในส่วนหัวและส่วนลำตัว ปริมาณแคดเมียมในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปริมาณแคดเมียมในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) mg/l นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนหัวและส่วนลำตัวพบว่า ปริมาณแคดเมียมที่สะสมที่ส่วนหัวในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยง

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยบูรพา
ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

ในความเข้มข้นของสารแคดเมียม 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปริมาณที่สะสมในส่วนลำตัว ดังแสดงในกราฟรูปที่ 9 และตารางที่ 8

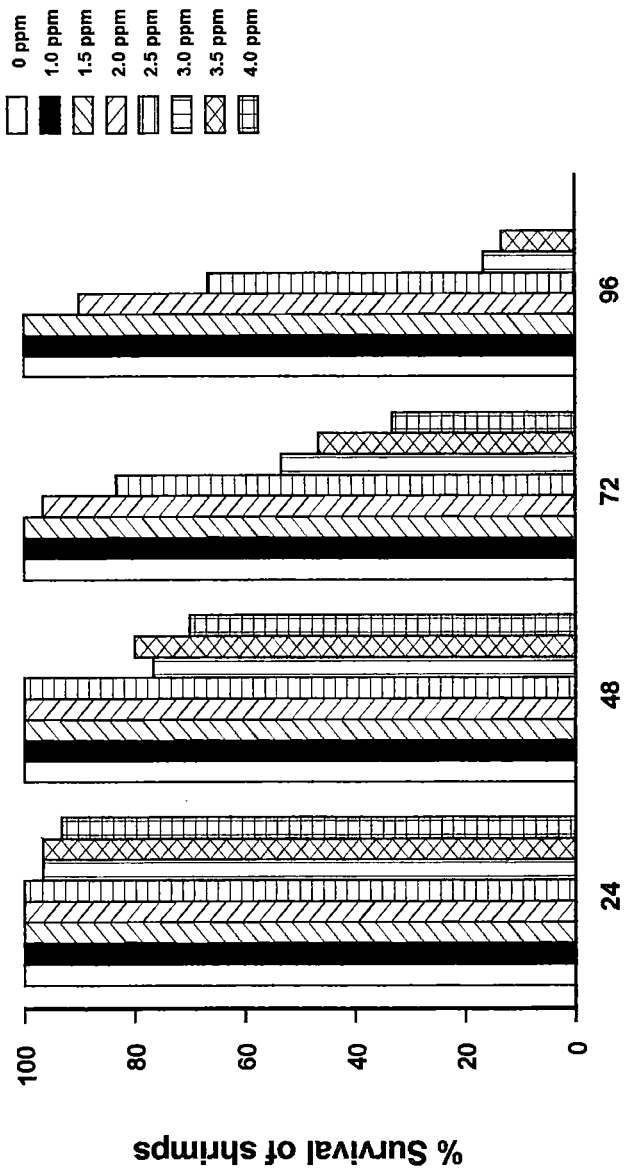
8. การสะสมของสารปรอทในกุ้งกุลาดำ

การวิเคราะห์หาปริมาณของปรอทในกุ้งกุลาดำเมื่อเลี้ยงครบ 1 เดือน โดยทำการวิเคราะห์ในส่วนหัว (head) และลำตัวโดยเอาเปลือกออก (whole peeled-off) พบว่าบริเวณส่วนหัวที่ความเข้มข้น 0.01 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 2.20 $\pm$ 0.06 mg/kg ที่ความเข้มข้น 0.05 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 5.34 $\pm$ 0.21 mg/kg และที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 6.15 $\pm$ 0.59 mg/kg โดยกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณปรอทเฉลี่ยเท่ากับ 0.03 $\pm$ 0.01 mg/kg และบริเวณเนื้อส่วนลำตัว ที่ความเข้มข้น 0.01 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 0.80$\pm$ 0.16 mg/kg ที่ความเข้มข้น 0.05 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 1.98$\pm$ 0.23 mg/kg และที่ความเข้มข้น 0.1 mg/l มีค่าเฉลี่ยปริมาณปรอทเท่ากับ 2.66$\pm$ 0.23 mg/kg โดยกลุ่มควบคุมตรวจพบปริมาณปรอทเฉลี่ยเท่ากับ 0.03 $\pm$ 0.01 mg/kg ดังแสดงในตารางที่ 9 ซึ่งปริมาณการสะสมของสารปรอทที่แตกต่างกันนี้เมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติแบบ analysis of variance พบว่าที่ความเข้มข้นของสารปรอทต่างกัน ปริมาณปรอทในเนื้อเยื่อของทั้งส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งจะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยวิธี Scheffe pairwise comparison พบว่าทั้งในส่วนหัวและส่วนลำตัว ปริมาณปรอทในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในความเข้มข้นของสารปรอท 0.01, 0.05 และ 0.1 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปริมาณปรอทในกุ้งกุลาดำที่มีความเข้มข้นของสารปรอท 0 mg/l (กลุ่มควบคุม) mg/l นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบระหว่างส่วนหัวและส่วนลำตัวพบว่า ปริมาณปรอทที่สะสมที่ส่วนหัวในกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในความเข้มข้นของสารปรอท 0.01, 0.05 และ 0.1 mg/l มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับปริมาณที่สะสมในส่วนลำตัว ดังแสดงในกราฟรูปที่ 10 และตารางที่ 9

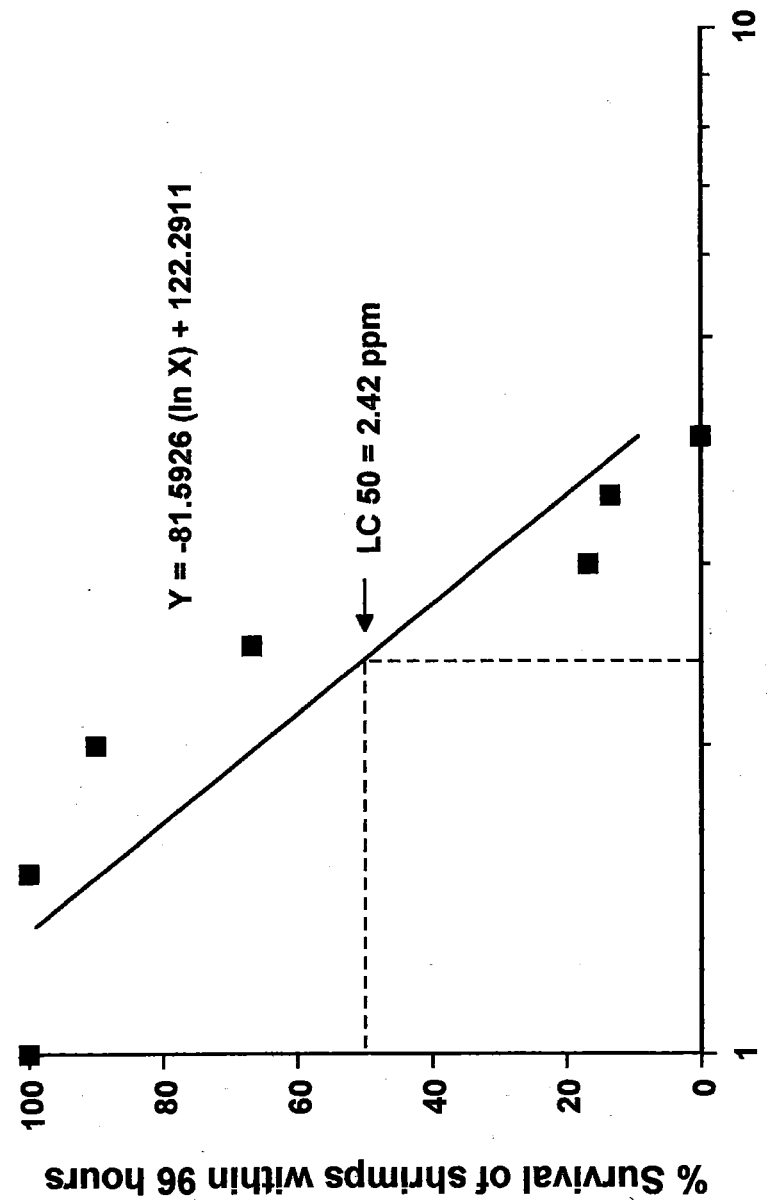
639.68
ม139ก
ค.2

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียมในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ภายใน 96 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 25°C

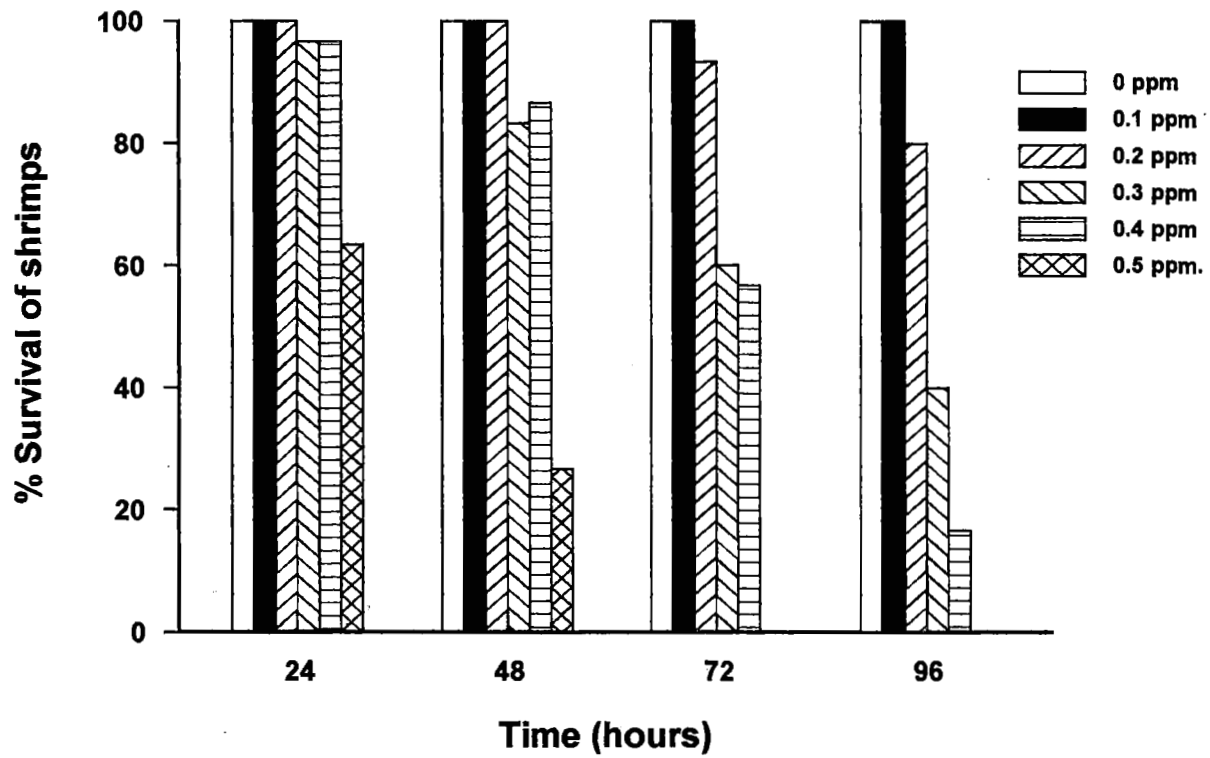
ความเข้มข้นของแคดเมียม (ppm)	เปอร์เซนต์จำนวนตัวเฉลี่ยของลูกกุ้งที่รอดตาย (Mean ± SD, n= 3)			
	24 ช.ม.	24 ช.ม.	24 ช.ม.	96 ช.ม.
0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
1.0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
1.5	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
2.0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	90 ± 10
2.5	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	67 ± 6
3.0	97 ± 5	97 ± 5	97 ± 5	17 ± 6
3.5	97 ± 5	97 ± 5	97 ± 5	13 ± 6
4.0	93 ± 5	93 ± 5	93 ± 5	0 ± 0



รูปที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การรอดตายเฉลี่ยของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียมในน้ำทะเลที่ความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ก้นภายใน 96 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 25°C



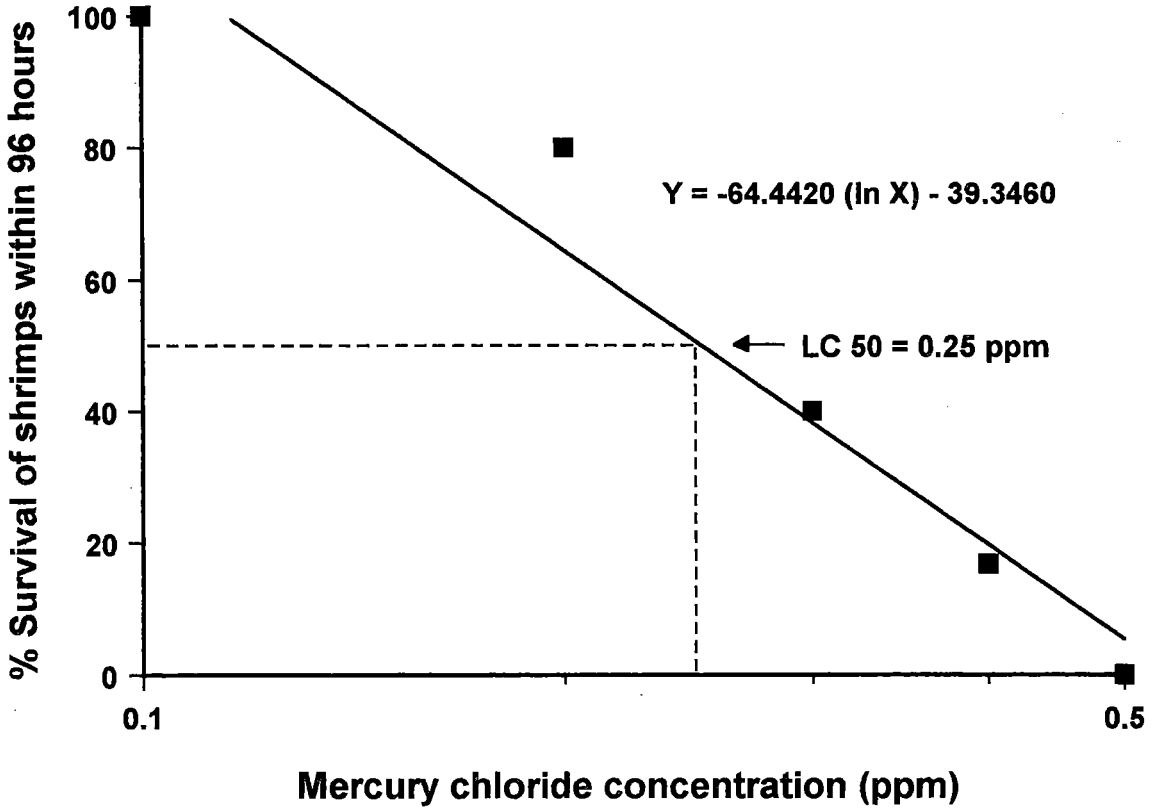
รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายเฉลี่ยภายใน 96 ชั่วโมงของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของแคดเมียม, LC50 ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 2.42 ppm



รูปที่ 3 เปอร์เซ็นต์อัตรารอดตายเฉลี่ยของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอทในน้ำทะเล ที่มีความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลาต่าง ๆ กันภายใน 96 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 25°C

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ของอัตราการรอดตายเฉลี่ยของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอทในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่ระยะเวลาต่าง ๆ ภายใน 96 ชั่วโมง, อุณหภูมิ 25°C

ความเข้มข้นของปรอท (ppm)	เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวเฉลี่ยของลูกกุ้งที่รอดตาย (Mean ± SD, n= 3)			
	24 ช.ม.	48 ช.ม.	72 ช.ม.	96 ช.ม.
0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
0.1	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0	100 ± 0
0.2	100 ± 0	100 ± 0	93 ± 6	80 ± 0
0.3	83 ± 2	83 ± 2	60 ± 0	40 ± 0
0.4	86 ± 5	86 ± 5	57 ± 6	17 ± 6
0.5	27 ± 5	27 ± 5	0 ± 0	0 ± 0

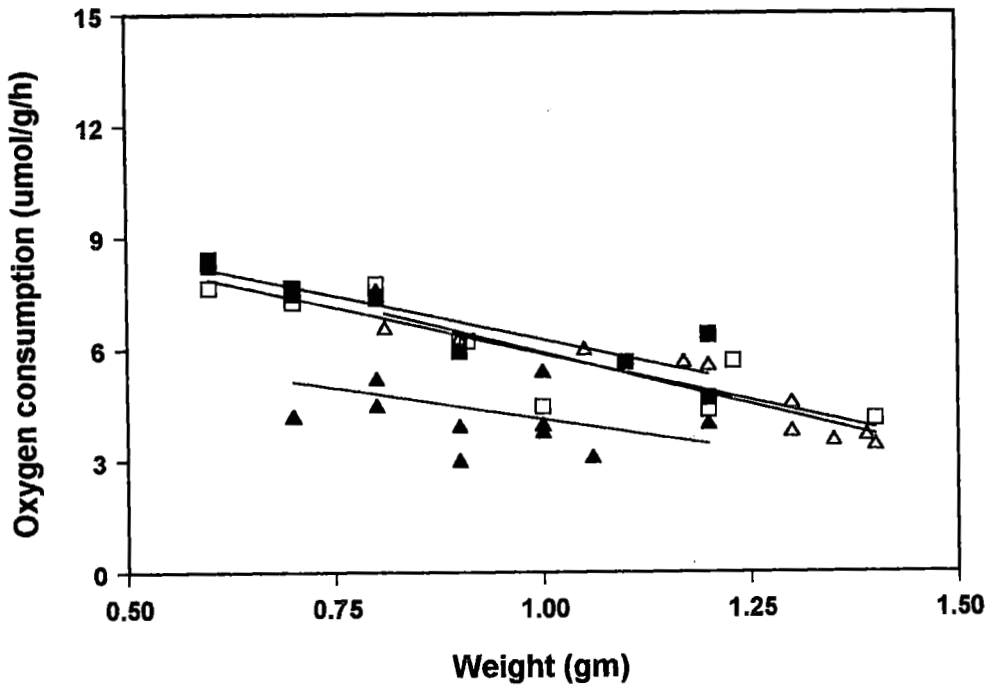


รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์อัตราการรอดตายเฉลี่ยภายใน 96 ชั่วโมงของลูกกุ้งกุลาดำที่ระดับ ความเข้มข้นต่าง ๆ ของปรอท, LC50 ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 0.25 ppm

ตารางที่ 4 อัตราการบริโภคออกซิเจนเฉลี่ย (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารแคดเมียมในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mean ± SD, n = 12), อุณหภูมิ 25°C

ความเข้มข้นของสารแคดเมียม (mg/l)	อัตราการบริโภคออกซิเจน (mean ± SD, n = 12) (μmol/g/h)
0	6.21 ± 1.53
0.1	6.92 ± 1.21
0.5	4.87 ± 1.24
1.0	*4.37 ± 1.28

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าที่ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P< 0.05)

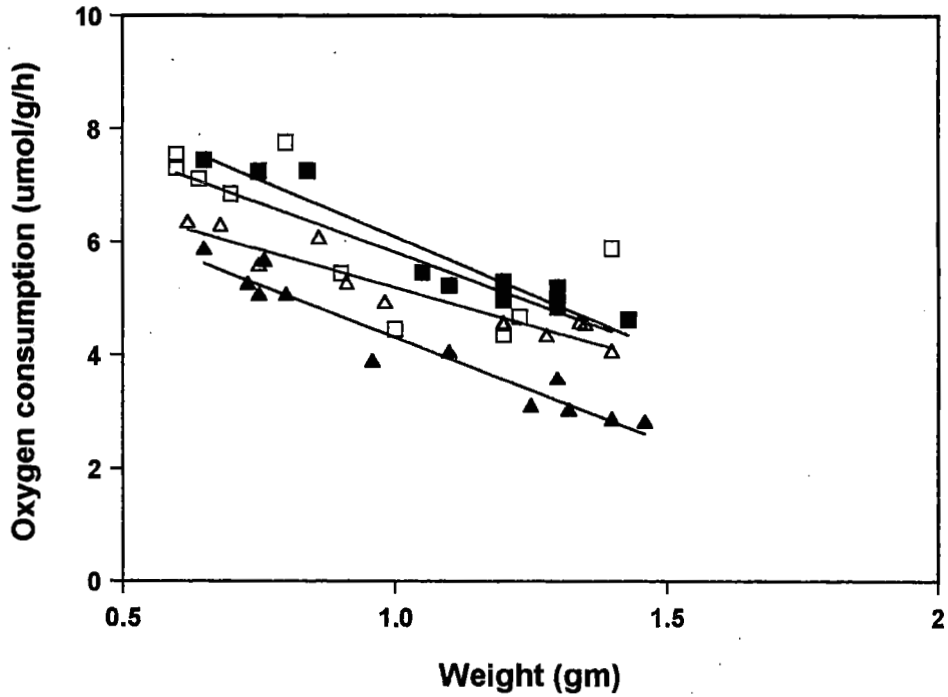


รูปที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนักกับน้ำหนักของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ของแคดเมียม (□ = 0 mg/l, ■ = 0.1 mg/l, Δ = 0.5 mg/l, ▲ = 1.0 mg/l), อุณหภูมิ 25°C

ตารางที่ 5 อัตราการบริโภคออกซิเจนเฉลี่ย (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารปรอทในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mean ± SD, n = 12), อุณหภูมิ 25°C

ความเข้มข้นของสารปรอท (mg/l)	อัตราการบริโภคออกซิเจน (mean ± SD, n = 12) (μmol/g/h)
0	6.14 ± 1.33
0.01	5.65 ± 1.03
0.05	*5.07 ± 0.80
0.10	*4.17 ± 1.13

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าที่ค่าที่อยู่ในคอลัมน์เดียวกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P< 0.05)

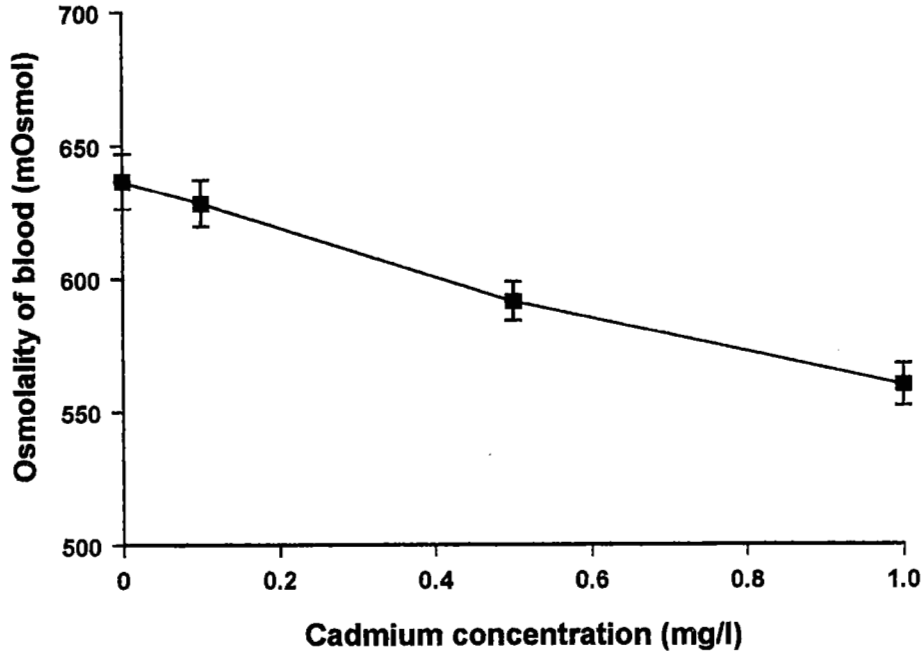


รูปที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนักกับน้ำหนักกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ ของปรอท (□ = 0 mg/l, ■ = 0.01 mg/l, Δ = 0.05 mg/l, ▲ = 0.1 mg/l), อุณหภูมิ 25°C

ตารางที่ 6 ค่าความเข้มข้นของเลือดเฉลี่ย (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt (650 mOsmol) ที่มีสารแคดเมียมในระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน (mean ± SD, n = 7), อุณหภูมิ 25°C

ความเข้มข้นของสารแคดเมียม (mg/l)	ค่าความเข้มข้นของเลือดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ (mean ± SD, n = 7) (mOsmol)
0	*636.50 ± 10.33
0.1	628.21 ± 8.66
0.5	591.29 ± 7.37
1.0	**559.93 ± 7.94

** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ*ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P< 0.05)

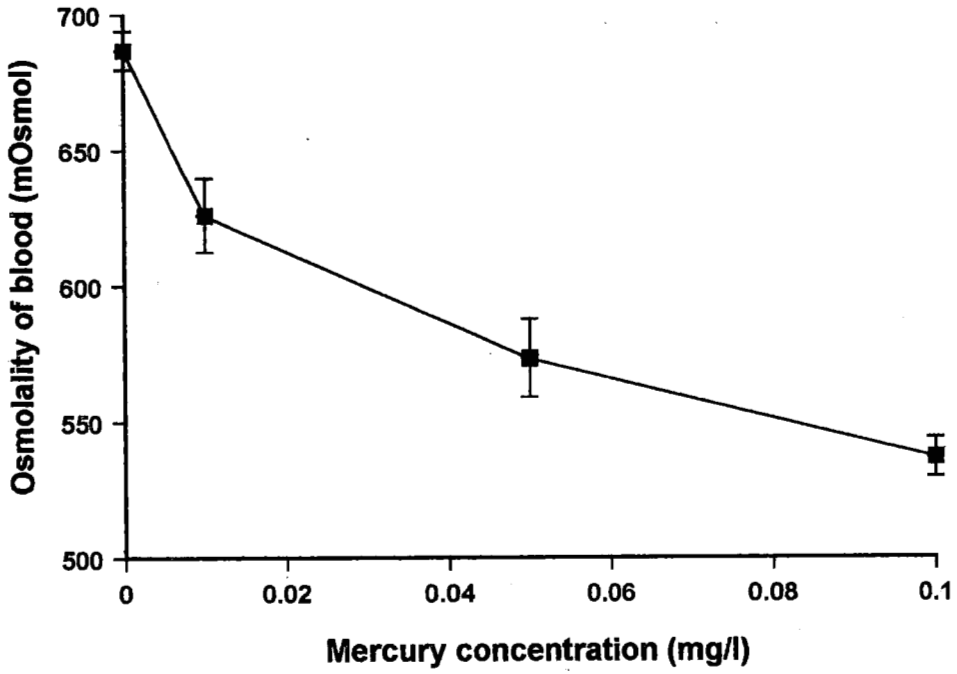


รูปที่ 7 ความเข้มข้นของเลือด (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt (650 mOsmol) ที่มีสารแคดเมียมในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mean ± SD, n = 7), อุณหภูมิ 25°C

ตารางที่ 7 ค่าความเข้มข้นของเลือดเฉลี่ย (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt (650 mOsmol) ที่มีสารปรอทในระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน (mean ± SD, n = 7), อุณหภูมิ 25°C

ความเข้มข้นของสารปรอท (mg/l)	ค่าความเข้มข้นของเลือดเฉลี่ยของกุ้งกุลาดำ (mean ± SD, n = 7) (mOsmol)
0	*686.71 ± 7.23
0.01	626.00 ± 13.48
0.05	**573.25 ± 14.38
0.10	**536.71 ± 7.25

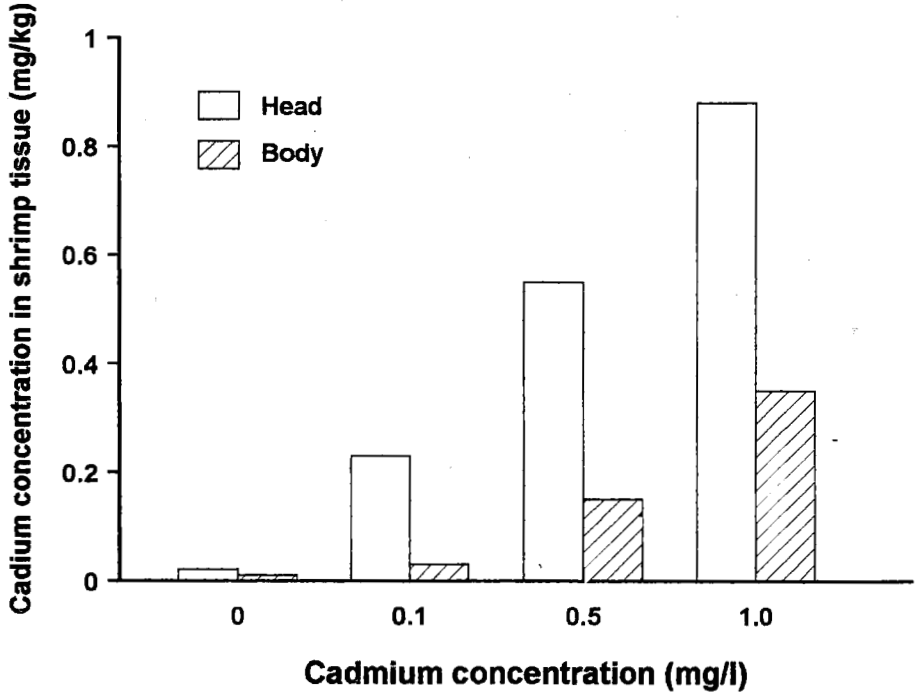
** มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ*ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P< 0.05)



รูปที่ 8 ความเข้มข้นของเลือด (μmol/g/h) ของกุ้งกุลาดำในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt (650 mOsmol) ที่มีสารปรอทในระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mean ± SD, n = 7), อุณหภูมิ 25°C

ตารางที่ 8 ปริมาณเฉลี่ยของการสะสมของแคดเมียมบริเวณส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารแคดเมียมในระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 1 เดือน (mean $\pm$ SD, n = 4)

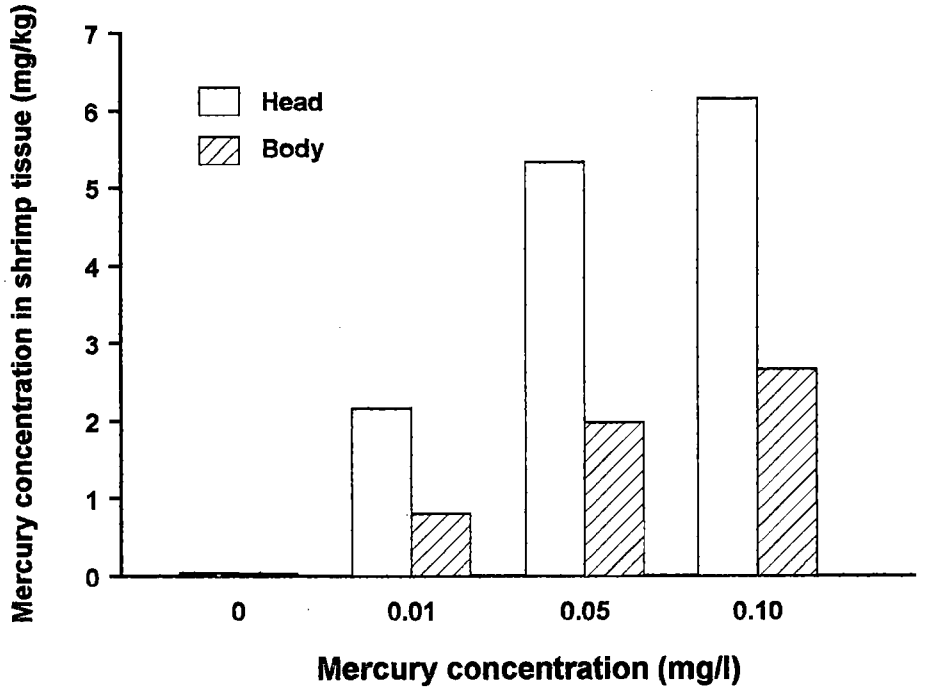
ความเข้มข้นของสารแคดเมียม (mg/l)	ปริมาณเฉลี่ยของการสะสมของแคดเมียม (mg/kg)	
	ส่วนหัว	ส่วนลำตัว
0	0.02 $\pm$ 0.01	0.01 $\pm$ 0.0
0.1	0.23 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.02
0.5	0.55 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.00
1.0	0.88 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.02



รูปที่ 9 ปริมาณการสะสมของแคดเมียมบริเวณส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารแคดเมียมในระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 1 เดือน

ตารางที่ 9 ปริมาณเฉลี่ยของการสะสมของปรอทบริเวณส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารปรอทในระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 1 เดือน (mean $\pm$ SD, n = 4)

ความเข้มข้นของสารปรอท (mg/l)	ปริมาณเฉลี่ยของการสะสมของปรอท (mg/kg)	
	ส่วนหัว	ส่วนลำตัว
0	0.04 $\pm$ 0.01	0.03 $\pm$ 0.01
0.01	2.16 $\pm$ 0.05	0.80 $\pm$ 0.16
0.05	5.34 $\pm$ 0.21	1.98 $\pm$ 0.21
0.10	6.15 $\pm$ 0.59	2.66 $\pm$ 0.23



รูปที่ 10 ปริมาณการสะสมของปรอทบริเวณส่วนหัวและส่วนลำตัวของกุ้งกุลาดำที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt ที่มีสารปรอทในระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในช่วงระยะเวลา 1 เดือน

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

โลหะหนักหลายชนิดที่เกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมในน้ำที่พบในธรรมชาตินั้น หากพบสะสมอยู่ในปริมาณที่น้อยก็จะมีประโยชน์ต่อสัตว์น้ำ ทั้งนี้เนื่องจากโลหะหนักเหล่านี้มีความจำเป็นต่อขบวนการเมตาโบลิซึมในร่างกายของสัตว์ อย่างไรก็ตาม ในปัจจุบันนี้พบว่า สัตว์น้ำหลายชนิดได้ตายลงหลังจากอาศัยอยู่ในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนักในปริมาณที่สูงกว่าปกติ (Portmann, 1970; Bryan, 1976; Connor, 1972; Calabrese *et al.*, 1973) สัตว์น้ำหลายชนิดที่ได้รับพิษจากโลหะหนักในปริมาณที่ต่ำอาจจะไม่เกิดการตายในทันทีทันใด แต่สารพิษเหล่านี้อาจมีการสะสมอยู่ในร่างกายทีละน้อยหากได้รับสารพิษในระยะเวลายาวนาน ซึ่งอาจทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางอย่างของร่างกายสัตว์ ดังเช่นรายงานเกี่ยวกับความแตกต่างของอัตราการเต้นของหัวใจและความสามารถในการควบคุมสมดุลของน้ำในร่างกายของปู *Carcinus maenas* ที่ได้มาจากบริเวณแหล่งน้ำที่มีการปนเปื้อนของสารพิษในระดับต่างๆ กัน (Bamber and Depledge, 1997)

ในการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) เพื่อใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงสภาวะมลพิษของโลหะหนักในครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาโดยใช้โลหะหนักสองชนิดคือ แคดเมียม ($CdCl_2$) และปรอท ($HgCl_2$) เป็นตัวแทนในการศึกษา เนื่องจากโลหะหนักทั้งสองชนิดดังกล่าวมีความเป็นพิษและมีการการปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำในปริมาณที่สูง สามารถจะถูกสะสมในสัตว์น้ำทางห่วงโซ่อาหารและขยายปริมาณการสะสมมากขึ้นในห่วงโซ่อาหารได้เป็นจำนวนนับพันๆ เท่า สำหรับการศึกษาในเบื้องต้นนั้นเป็นการศึกษาอัตรารอดตายและพิษเฉียบพลันของโลหะหนักทั้งสองชนิดดังกล่าวในกุ้งกุลาดำเพื่อหาระดับความเป็นพิษเพื่อใช้ในการทดลองในระดับต่อๆ ไป ซึ่งจากการศึกษาพบว่า กุ้งกุลาดำจะมีอัตรารอดตายที่ความเข้มข้นของแคดเมียมสูงกว่าปรอท โดยจะเริ่มตายที่ความเข้มข้นของ $CdCl_2$ เท่ากับ 2.0 ppm และความเข้มข้นของ $HgCl_2$ เท่ากับ 0.2 ppm ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่า ลูกกุ้งกุลาดำมีความทนทานต่อพิษของแคดเมียมได้มากกว่าปรอท โดยค่า LC_{50} 96-h แคดเมียมเท่ากับ 2.42 และปรอทเท่ากับ 0.25 ppm ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปรอทเป็นสารพิษที่มีอันตรายสูงมาก Barthalamus (1977) ศึกษาผลของ $HgCl_2$ ที่มีต่ออัตราการตายของกุ้งทะเลพบว่า $HgCl_2$ 2.0-5.0 mg/l สามารถฆ่า grass shrimps หมดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนที่ความเข้มข้น 1.0 และ 0.5 mg/l ทำให้กุ้งชนิดนี้ตายหมดภายในระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยมีค่า LC_{50} 96-h เท่ากับ 0.2 mg/l Brown & Ahsanullah (1977) ศึกษาผลของ $HgCl_2$ ที่มีต่ออัตราการตายของกุ้งทะเล พบว่า LC_{50} 48-h มีค่าเท่ากับ 0.42 mg/l *การทดลองของปรีชา สมมณี (2524) พบว่า LC_{50} 48-h ของแคดเมียมที่มีต่อกุ้งแชบ้วย มีค่าเท่ากับ 0.48 ส่วนในล้านส่วน และ*Eisler (1983) พบว่า LC_{50} 96-h ของแคดเมียม ซึ่งทำการทดลองในน้ำที่มีความเค็ม 20 ส่วนในพันใน sand shrimp และ grass shrimp มีค่าเท่ากับ 1.32 และ 1.57 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ

จากผลการศึกษาอัตรารอดตายและความเป็นพิษของแคดเมียมและปรอทข้างต้น ชี้ให้เห็นว่า ปรอทมีความเป็นพิษสูงกว่าแคดเมียมมาก โดยความเข้มข้นของแคดเมียมที่ทำให้กุ้งเริ่มตายมีค่าเท่ากับ 2.0 ppm ในขณะที่ปรอทนั้นมีค่าเท่ากับ 0.2 ppm และจากผลการศึกษานี้ทำให้คาดว่า ความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทที่ต่ำกว่า 2.0 และ 0.2 ppm ตามลำดับ ไม่น่าจะมีผลทำให้กุ้งตายแต่อาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกุ้งเมื่อกุ้งได้รับโลหะหนักทั้งสองชนิดดังกล่าวเป็นเวลานาน ดังนั้นในการศึกษาเพื่อดูผลกระทบของแคดเมียมและปรอทที่มีต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งกุลาดำ จึงทำการเลี้ยงกุ้งในน้ำทะเลที่มีปริมาณแคดเมียมและปรอทในระดับที่ต่ำกว่า 2.0 และ 0.2 ppm ตามลำดับ โดยทำการเลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเค็ม 20 ppt เปรียบเทียบกัน 3 ระดับคือ 1.0, 0.5 และ 0.1 ppm สำหรับแคดเมียม และ 0.1, 0.05 และ 0.01 ppm สำหรับปรอท โดยทำการเลี้ยงกุ้งไว้นานประมาณ 1 เดือน หลังจากนั้นจึงนำกุ้งมาทำการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาที่เกิดขึ้น โดยการวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนและวัดความเข้มข้นของเลือด

การวัดอัตราการบริโภคออกซิเจนในกุ้งกุลาดำพบว่า อัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนักของกุ้งจะมีความผันแปรกับน้ำหนักของกุ้งโดยพบว่า อัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนัก จะลดลงเมื่อน้ำหนักเพิ่มขึ้น นั่นคือ กุ้งที่มีขนาดใหญ่จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนต่อหน่วยน้ำหนักน้อยกว่ากุ้งที่มีขนาดเล็ก จารุวัฒน์และสมนึก (2532) ศึกษาอัตราการบริโภคออกซิเจนของลูกกุ้งกุลาดำในระยะต่างๆ พบว่า กุ้งน้ำหนักระหว่าง 2-130 กรัม จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนเพิ่มขึ้นตามน้ำหนัก แต่หากพิจารณาต่อหน่วยน้ำหนัก จะพบว่ากุ้งที่มีขนาดใหญ่จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนน้อยกว่ากุ้งที่มีขนาดเล็ก

สำหรับการศึกษาที่เกี่ยวกับผลกระทบของแคดเมียมและปรอทที่มีต่ออัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งนั้นพบว่า กุ้งที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทที่แตกต่างกัน จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนแตกต่างกัน โดยกุ้งที่เลี้ยงในที่ความเข้มข้นของสารปรอทสูง จะมีอัตราการบริโภคออกซิเจนต่ำกว่ากุ้งที่เลี้ยงในที่ความเข้มข้นของสารปรอทต่ำกว่า ส่วนที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันของแคดเมียม พบว่าที่ความเข้มข้นของแคดเมียมที่สูงขึ้น จะทำให้อัตราการบริโภคออกซิเจนลดลงเช่นกัน ทั้งนี้ความเข้มข้นของสารแคดเมียมและปรอทที่มีผลทำให้อัตราการบริโภคออกซิเจนของกุ้งลดต่ำลงและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่เห็นได้ชัดคือ 1.0 mg/l ของสารแคดเมียม และ 0.05, 0.1 mg/l ของสารปรอท ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า กุ้งที่ได้รับสารแคดเมียมและปรอทที่ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นระยะเวลานานประมาณ 1 เดือน จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของมัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะค่อยๆ เป็นไปอย่างช้าๆ กุ้งที่เลี้ยงไว้ไม่ได้ตายในทันทีที่ได้รับสารแคดเมียมและปรอท แต่กุ้งจะมีสภาพที่อ่อนแอลง สาเหตุที่ทำให้กุ้งอ่อนแอลงอาจมีผลเนื่องมาจาก การที่สารปรอทได้ทำลายเนื้อเยื่อเหงือก ทำให้ประสิทธิภาพการแลกเปลี่ยนก๊าซลดลง (Simkiss & Taylor, 1989) ในปู *Carcinus maenas* ที่อาศัยอยู่ในน้ำที่มีโลหะหนักทองแดงอยู่ในปริมาณสูงพบว่า จะมีผลโดยตรงต่อนื้อเยื่อของเหงือก โดยจะทำลายไซโตพลาสซึมของเนื้อเยื่อเหงือก (Nonnotte *et al.*, 1993) ซึ่งเหงือกจัดเป็นอวัยวะสำคัญที่ใช้ในการแลกเปลี่ยนก๊าซของสัตว์จำพวกครัสเตเชียน (Arthur &

Humes, 1995) นอกจากนี้ยังพบว่า โลหะหนักทำให้มีการลดลงของ PO_2 ในฮีโมลิม ทำให้เลือดมีความเป็นกรดมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับการควบคุมปริมาณอิออนที่ผ่านเข้า-ออกร่างกาย โดยพบว่าโลหะหนักจะมีผลไปรบกวนสมดุลของอิออนในฮีโมลิม เมื่อปูอาศัยอยู่ในน้ำทะเลที่มีความเค็มต่ำกว่าความเค็มปกติที่มันอาศัยอยู่ (Boitel and Truchot, 1989, 1990; Nonnotte et al., 1993) ผลในลักษณะเช่นเดียวกันนี้ก็ถูกพบในสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ อีกหลายชนิด (Spicer and Weber, 1991, 1992; Hansen et al., 1992; Weeks et al., 1993)

โดยทั่วไปสัตว์ที่อาศัยอยู่ในทะเลนั้น เมื่อถูกนำมาไว้ในน้ำที่มีความเค็มต่ำลงจะมีความสามารถในการรักษาสมดุลของน้ำในร่างกายโดยมีความเข้มข้นของน้ำในร่างกายสูงกว่าน้ำที่อยู่รอบๆ ตัวมัน (Webb, 1940; Robertson, 1960; Shaw, 1961; Theede, 1969; Greenaway, 1976; Zanders, 1980) Hunter (1949) ได้สรุปผลที่ได้จากการศึกษาผลของทองแดงและปรอทที่มีต่อ แอมฟิพอดน้ำเค็ม *Marinogammarus marinus* พบว่า การตายส่วนใหญ่เกิดจากการที่โลหะหนักไปมีผลรบกวนระบบหายใจและระบบควบคุมสมดุลของร่างกาย นอกจากนี้โลหะหนักยังมีผลโดยตรงต่อการทำงานของหัวใจ รวมทั้งการล้มเหลวของระบบการกำจัดสารพิษและขบวนการขับถ่ายอันเนื่องมาจากการที่เซลล์ถูกทำลายไป (Corner and Sparrow, 1956) ในปูก้ามดาบที่โตเต็มวัยนั้น พบว่า เมื่อได้รับ สารปรอทหรือแคดเมียมเข้าไป จะมีผลยับยั้งการทำงานของระบบควบคุมสมดุลของร่างกายและระบบหายใจ (Vernberg *et al.*, 1974) อย่างไรก็ตามในปู *Petrolisthes armatus* และกุ้งมังกร *Homarus americanus* นั้นพบว่า โลหะหนักปรอทไม่มีผลต่อระบบควบคุมสมดุลน้ำในร่างกาย (Roesijadi et al., 1974; Thurberg et al., 1977)

กุ้งกุลาดำที่ถูกเลี้ยงในน้ำที่มีความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทที่แตกต่างกัน จะมีการควบคุมสมดุลของน้ำที่แตกต่างกัน โดยความเข้มข้นของแคดเมียมและปรอทที่สูงขึ้น จะทำให้การควบคุมสมดุลของน้ำลดลง ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาที่เกี่ยวกับอัตราการบริโภคออกซิเจน ทั้งนี้ความเข้มข้นของสารแคดเมียมและปรอทที่มีผลทำให้ความเข้มข้นของเลือดกุ้งลดต่ำลงและแตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่เห็นได้ชัดคือ 1.0 mg/l ของสารแคดเมียม และ 0.05, 0.1 mg/l ของสารปรอท ตามลำดับ ทั้งนี้อิออนของปรอทจะมีผลทำให้ระบบควบคุมสมดุลของร่างกายเสียไป โดยจะไปลดการนำเข้าของ Na^+ และ Cl^- ในเหงือก (Bjerregaard & Vislie, 1985) Thurberg *et al* (1973) พบว่า ในปู *Carcinus maenas* และ *Cancer* spp. จะมีความเข้มข้นของเลือดลดลงเมื่อได้รับอิออนของแคดเมียมเข้าไป Thurberg *et al.* (1977) พบว่าแคดเมียมในระดับความเข้มข้น 0.5 ppm. จะมีผลต่อระบบหายใจ ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์ โดยอิออน ของโลหะหนักจะมีผลไปทำลายไมโตครอนเดียและเบสเม้นเมมเบรน Hubschman (1967) พบว่า การที่เซลล์ตายนั้นเนื่องมาจาก ความล้มเหลวของของกลไกในการซ่อมแซมเซลล์ถูกทำลาย ดังนั้นในสภาพดังกล่าว การมีชีวิตอยู่ได้ของเซลล์จึงขึ้นอยู่กับปริมาณของโลหะหนักที่เซลล์ได้รับรวมทั้งอัตราของการสะสมของโลหะหนักของเซลล์ ถ้าอัตราของการสะสมของโลหะหนักเป็นไปอย่างช้าๆ เซลล์ที่ได้รับความเสียหายจะสามารถถูกซ่อมแซมได้ทันการกว่าในกรณีที่อัตราการสะสมของโลหะหนักเป็นไปอย่างรวดเร็ว ในปูม้า *Thalamita crenata* นั้นพบว่า การได้รับสารปรอทโดยตรงจากน้ำทะเลที่มันอาศัยอยู่ มีผลทำ

ให้มีการสะสมของปรอทในเนื้อเยื่อเหงือก ในขณะที่เมื่อปูได้รับสารปรอททางอาหาร จะพบถูกสะสมในกล้ามเนื้อปูเป็นส่วนใหญ่ (Luoma, 1976)

จากการวัดปริมาณการสะสมของแคดเมียมในกุ้งกุลาดำพบว่าบริเวณส่วนหัวจะมีปริมาณการสะสมมากกว่ากล้ามเนื้อ โดยส่วนหัวจะมีแคดเมียมสะสมอยู่ในปริมาณ 0.02, 0.23, 0.55 และ 0.88 mg/kg dry weight ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ตามลำดับ สำหรับส่วนกล้ามเนื้อจะมีแคดเมียมสะสมอยู่ในปริมาณ 0.01, 0.03, 0.15 และ 0.35 mg/kg dry weight ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 mg/l ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kargin, *et al* (2001) ที่ศึกษาการแพร่กระจายของโลหะหนักในเนื้อเยื่อที่ต่างชนิดกันของกุ้งกุลาลาย (*Penaeus semiculatus*) และกุ้งตะกาด (*Metapenaeus monoceros*) ที่ได้จากธรรมชาติที่อ่าว Iskenderun ประเทศตุรกี โดยพบว่า ปริมาณของโลหะหนักทุกชนิดที่พบในส่วนกล้ามเนื้อของกุ้งทั้งสองชนิดนั้นมีระดับต่ำที่สุด รองลงมาคือ เหงือก และ hepatopancreas ตามลำดับ โดยเฉพาะปริมาณโลหะหนักแคดเมียมนั้น ที่พบในกุ้งกุลาลาย (*Penaeus semiculatus*) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.27, 3.0 และ 9.27 ในส่วนของกล้ามเนื้อ เหงือกและ hepatopancreas ตามลำดับ ส่วนที่พบในกุ้งตะกาด (*Metapenaeus monoceros*) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.72, 2.37 และ 3.95 ในส่วนของกล้ามเนื้อ เหงือกและ hepatopancreas ตามลำดับ (Kargin, *et al*, 2001) โดยทั่วไปปริมาณโลหะที่ถูกพบในเนื้อเยื่อของกุ้งจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น ระดับของโลหะที่พบอยู่ในตะกอนดิน ความแตกต่างของขนาดของกุ้งและอัตราการเจริญเติบโตและอัตราการนำเข้าของโลหะในกุ้งที่แตกต่างกันตามฤดูกาล อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างของปริมาณแคดเมียมที่พบระหว่างส่วนของกล้ามเนื้อและส่วนของหัวนั้น ก็เนื่องมาจากส่วนหัวจะเป็นตำแหน่งที่อยู่ของ hepatopancreas เหงือก และอวัยวะที่ควบคุมส่วนต่างๆ ทั้งหมดของร่างกาย และที่บริเวณนี้ยังเป็นจุดเริ่มต้นในการทำหน้าที่สะสมโลหะต่างๆ รวมทั้งทำหน้าที่ในการกำจัดสารพิษที่เข้ามาในร่างกายของสัตว์จำพวกครัสเตเชียน (Lyon *et. al*., 1983; Bagatto and Alikhan, 1987; Khan *et. al*., 1989; Thaker and Haritos, 1989; Darmono and Denton, 1990; Mantelato *et. al*., 1999) โลหะหนักส่วนใหญ่จะถูกพบสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อที่มีการสังเคราะห์และใช้พลังงานอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ซึ่งส่วนของ hepatopancreas และเหงือกจัดเป็นเนื้อเยื่อที่มีคุณสมบัติดังกล่าว นอกจากนี้เหงือกยังเป็นเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่ดูดซับและแลกเปลี่ยนสารต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างสัตว์กับสิ่งแวดล้อมภายนอก (Heath, 1987)

ผลการวัดปริมาณการสะสมของปรอทในกุ้งกุลาดำ พบว่า บริเวณส่วนหัว จะมีปริมาณการสะสมมากกว่าส่วนกล้ามเนื้อบริเวณลำตัวเช่นเดียวกับแคดเมียม แต่การสะสมของปรอททั้งในส่วนหัวและกล้ามเนื้อลำตัวจะมีปริมาณที่สูงกว่าแคดเมียม โดยพบปริมาณเฉลี่ยสะสมของปรอทที่ส่วนหัวเท่ากับ 0.04, 2.16, 5.34 และ 6.15 mg/kg dry weight ที่ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 ตามลำดับ ส่วนปริมาณการสะสมที่พบในส่วนของกล้ามเนื้อลำตัวเท่ากับ 0.03, 0.80, 1.98 และ 2.66 mg/kg dry weight ที่ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 ตามลำดับ โดยทั่วสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังโดยเฉพาะพวกครัสเตเชียนจะมีความสามารถในการตอบสนองต่อโลหะหนักที่ได้รับสัมผัสได้รวดเร็วมาก (Thorp and Lake, 1974) กุ้งที่พบใน

ธรรมชาติจะมีโลหะหนักสะสมในร่างกายในปริมาณที่ต่ำ อย่างไรก็ตามกุ้งเหล่านี้มีความสามารถในการสะสมปริมาณโลหะหนักที่แพร่ลงสู่แหล่งน้ำ ดังรายงานที่พบในกุ้ง *Penaeus aztacus* ซึ่งจะมีการสะสมปริมาณปรอทอย่างรวดเร็วเมื่อมันอยู่ในบริเวณที่มีการปนเปื้อนของโลหะหนัก (Palmer and Presley (1993) นอกจากนี้ยังมีรายงานการพบปริมาณโลหะหนักที่สูงในเนื้อเยื่อของ *Palaemonetes varians* ซึ่งถูกจับจากบริเวณที่มีการปนเปื้อนของสารพิษ (Frenet and Alliot, 1985) ครัสเตเชียนจำพวกกุ้งจะตอบสนองต่อโลหะหนักที่ได้รับสัมผัสโดยตรงโดยการสร้าง metallothionein ขึ้นมาในส่วนของ hepatopancreas (Darmonol, 1990; Howard and Hacker, 1990; Dallinger, 1994) ดังนั้นระดับของโลหะหนักที่สูงที่พบในส่วนของ hepatopancreas ของกุ้งนั้นอาจเนื่องมาจาก การที่โลหะหนักไปจับตัวกับ metallothionein proteins

จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่า หากสัตว์ได้รับสารพิษในปริมาณที่สูงจะมีผลทำให้สัตว์ตายลงได้ในทันทีทันใด แต่หากได้รับสารพิษในปริมาณที่ต่ำ สารพิษดังกล่าวอาจไม่มีผลทำให้สัตว์ตายในทันทีแต่สารพิษอาจมีการสะสมอยู่ในร่างกาย ซึ่งหากระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสารพิษนั้นเกิดขึ้นในช่วงสั้นๆ ร่างกายของสัตว์อาจมีความสามารถในการกำจัดสารพิษดังกล่าวออกจากร่างกายและไม่มีอันตรายต่อสัตว์แต่อย่างไร แต่หากสัตว์ได้รับสารพิษดังกล่าวเป็นระยะเวลานาน อาจทำให้มีการสะสมอยู่ในร่างกายและมีผลกระทบต่อขบวนการต่างๆ ภายในร่างกายของสัตว์ ซึ่งบางครั้งเราไม่สามารถสังเกตได้จากภายนอก การวัดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของสัตว์ที่ได้รับสารพิษเข้าไปจึงอาจเป็นเครื่องมืออันหนึ่งที่ช่วยในการศึกษาเกี่ยวกับผลกระทบของสารพิษหรือโลหะหนักต่างๆ ที่มีต่อสัตว์ ซึ่งอาจมีส่วนในการช่วยประเมินผลกระทบของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อสุขภาพร่างกายของสัตว์ และอาจใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ถึงคุณภาพของสิ่งแวดล้อมในบริเวณที่สัตว์นั้นๆ อาศัยอยู่ได้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2516). *ปริมาณปรอทในปลาทะเลเศรษฐกิจ.* กองอาหารส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

กัลยา วัฒนากร, มนุวดี หังสพฤกษ์, และอรพินทร์ จันทร์ผ่องแสง (2521) ปริมาณการสะสมของโลหะหนักบางชนิดในสัตว์ทะเลในอ่าวไทยตอนบน. *ใน* การสรุปผลซิมโปเซียนการสำรวจและวิจัยสภาวะน้ำเสียในน่านน้ำไทย (141-149), กรุงเทพฯ, สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

กองจัดการคุณภาพน้ำ (2537). *มาตรฐานคุณภาพน้ำในประเทศไทย.* กรมควบคุมมลพิษ.

ธนิกา จินตนะพันธ์ (2537). *ปริมาณการสะสมของปรอท และแคดเมียมในเนื้อเยื่อต่างๆของปูม้าขนาดใหญ่บริเวณชายฝั่งทะเลตะวันออก.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาวิทยาศาสตร์ทางทะเล บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธีระ เล็กชลยุทธ. (2518) *การเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon Fabricius) ในบ่อซีเมนต์ขนาดเล็ก.* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงนุช ลีลาปิยะนาถ (2532) *อนุกรมวิธานของกุ้งพีนีออยในประเทศไทย* วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 453 pp.

พัชรา เพ็ชร์พิรุณ, จารุวรรณ สมศิริ, และทัศนีย์ ดิษฐกมล. (2535). *แคดเมียมในหมึก.* ศูนย์พัฒนาการประมงฝั่งตะวันออก กรมประมง เอกสารวิชาการ 4/35 , 24 หน้า

แววตา ทองระอา, และสมพงษ์ ดุลย์จินดาชบาพร. (2529). *การศึกษาพิษเฉียบพลันของตะกั่ว และแคดเมียมที่มีต่อกุ้งกุลาดำ.* ชลบุรี: สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล.

ประจวบ หลำอุบล.(2530) *ความรู้เรื่องการเลี้ยงกุ้ง.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 237 หน้า.

ปรีชา สมมณี. (2523) พิษของแคดเมียม และสังกะสีที่มีต่อกุ้งแช่บ๊วย. *วารสารการประมง,* 33(1), 103-109.

สุธรรม สิทธิชัยเกษม, และสุวรรณี เฉินบำรุง. (2527). การปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมบริเวณปากแม่น้ำของอ่าวไทยตอนใน. ใน *การสัมมนาครั้งที่3การวิจัยคุณภาพน้ำและคุณภาพทรัพยากรมีชีวิตในน่านน้ำไทย* (4-9). กรุงเทพฯ: สำนักงานกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

ศจี พรสุทธิจรรยา, และจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง. (2538). แคดเมียมในกุ้งกุลาดำ. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์*, 42(1), 121-126.

APHA, AWWA and WPCF. (1980). *Standard methods for examination of water and waste water.* Washington D.C : American Public Health Association.

Bagatto, G. and M.A. Alikhan (1987) Copper, cadmium, and nickel accumulation in crayfish populations near copper-nickel smelters at Sudbury, Ontario, Canada. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 38: 540-545.

Bamber, S. D. and M. H. Depledge (1997) Evaluation of changes in the adaptive physiology of shore crabs (*Carcinus maenus*) as an indicator of pollution in estuarine environments. *Marine Biology*, 129: 667-672.

Bjerregaard P. and T. Vislie (1985) Effect of mercury on ion and osmoregulation in the shore crab (*Carcinus maenas*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 82C: 227-230.

Boitel, F. and J. P. Truchot (1989) Effects of sublethal and lethal copper levels on hemolymph acid-base balance and ion concentrations in the shore crab *Carcinus maenas* kept in undiluted seawater. *Marine Biology*, 103: 495-501.

Boitel, F. and J. P. Truchot (1990) Comparative study of the effects of copper on hemolymph ion concentrations and acid-base balance in shore crabs *Carcinus maenas* acclimated to full strength or dilute seawater. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 95C: 307-312.

Bryan, G. W. (1976) Heavy metal contamination in the sea. *In* Marine Pollution, Academic Press, London, pp. 185-302

Chanpongsang, O. (1984) The distribution of Cd, Pb, Cu and Zn from Chao Phraya estuary to Si-Racha. *Technical Paper (March, 1984), Exploratory Fishing Division, Department of Fisheries*, Samutprakarn, Thailand, 38 pp.

Dall, W. (1957) A revision of the Australian species of Penaeidae (Crustacea Decapoda: Penaeidae) *Aus. J. Mar. Freshw. Res.*, 8 (2): 136-231.

Dallinger, R. (1994) Invertebrate organisms as biological indicators of heavy metal pollution. Appl. Biochem. Biotechnol, 48: 27-31.

Darmono, D. (1990) Uptake of cadmium and nickel in Banana Prawn (*Penaeus merguiensis* de Man). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 45: 320-328.

Darmono, D. and Denton G. R. W. (1990) Heavy metal concentrations in the banana prawn, Penaeus merguiensis, and leader prawn, P. monodon, in the Townsville Region of Australia. Bull. Environ Contam Toxicol, 44: 479-486.

Depledge, M. H. (1984) Disruption of circulatory and respiratory activity in shore crabs (Carcinus maenas (L.) exposed to heavy metal pollution. *Comp. Biochem. Physiol.*, 78C (2), 445-459.

Frenet, M. and A. Alliot (1985) Comparative bioaccumulation of metals in Palaemonetes varians in pollutaed and non-pollutated environments. *Mar. Environl. Res.*, 17: 19-44.

Friberg, Madany and Wahab (1974) Trace metal concentration in marine organism from the coastal areas of Bahrain, Arabian Gulf (CD Rom) Water, Air, Soil-Pollute. 91, 233-248, Abstract from: Life Science, 8738

Hansen, J. I., T. Mustafa and M. Depledge (1992) Mechanisms of copper toxicity in the shore crab, Carcinus maenas. I. Effects on Na, K-ATPase activity, haemolymph electrolyte concentrations and tissue water contents. Marine Biology, 114: 253-257.

Heath, S. G. (1987) *Water pollution and fish physiology*. CRC Press, 245 pp, Florida USA.

Howard, C. L. and C. S., Hacker (1990) Effects of salinity, temperature and cadmium on cadmium-binding protein in the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 341-347.

Hungspreugs, M.; S. Dhamvanij; W. Utoomprukporn and H. L. Windom (1990) A comparative study of the trace metal fluxes of the Bang Pakong and the Mae Klong Rivers, *Thailand Sci. Total Environ.*, 97/98: 89-102.

Janicki, K., J. Dobrowolski and K. Krasnicki (1987). Correlation betaween contamination of the rural environment with mercury and occurance of leukaemia in men. *Cottle Chemoshere.* 16: 253-257.

Johnson, I. (1988) The effects of combinations of heavy metals, hypoxia and salinity on ion regulation in *Crangon crangon* (L.) and *Carcinus maenas* (L.), *Comp. Biochem. Physiol.*, 91C(2), 459-463.

Kalayanamitr, C. (1983). *Acute toxicity of Cadmium and Lead to giant freshwater prawns, (Marcrobrachium rosenbergii* de Man). MS. Thesis, Mahidol University, Bangkok.

Kargin, F. (1966) Seasonal changes in levels of heavy metals in tissues of *Mullus barbatus* and *Sparus aurata* collected from Iskenderun Gulf (Turkey). *Water Air Soil Pollut*, 90: 557-562.

Khan, A. T., J. S. Weis and L. D' Andrea (1989) Bioaccumulation of four heavy metals in two populations of grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 42: 339-343.

Lyon, R., M. Taylor and K. Simkiss (1983) Metal-binding proteins in the hepatopancreas of the crayfish (*Austropotamobius pallipes*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 74: 51-54.

Mantelatto, F. L. M., W. E. P. Avelar, D. M. L. Silwa, A. C. Tomazelli, J. L. C. Lopez and T. Shuhama (1999) Heavy metals in the shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeidae) from Ubatuba Bay, Sao Paulo, Brazil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 62: 152-159.

McLuskey, D., C. Bryant, V. and R, Cambel. (1986) The effect of temperature and salinily on the toxicity of heavy metal to marine and esturine invertebrates. *Ocean Marine Biology*, 24: 481-520.

Natural Academy of Sciences (NAS) (1971) *Radioactivity in the Marine Environment.* Washington, D.C., U.S.A.

Nonnotte, L., F. Boitel and J. P. Truchot (1993) Water-Borne copper causes gill damage and hemolymph hypoxia in the shore crab Carcinus maenas. Canadian Journal of Zoology, 71: 1569-1576.

Palmer, S. J. and B. J. Presley (1993) Mercury bioaccumulation by shrimp (*Penaeus aztecus*) transplanted to Lavaca Bay, Texas. *Mar. Pollut. Bull.*, 26: 564-566.

Perkin-Elmer. (1987). "Determination of Mercury" *Analysis Methods using the MHS.-10 Mercury / Hydride System.* (Operator's manual). Deutschland : Federal Republic of Germany.

Phillips, D.I.H. (1980). Toxicity and accumulation of cadmium in marine and esturine biota. *In* Nriagu, J.O., Cadmium in the environment ecological cyclic, Wille. *Interscience*, New York, 438-450.

Prosi, F. (1979) Heavy metals in Aquatic organisms. *In* Metal Pollution in the Aquatic Environment. Springer, Berlin, pp. 271-323

Rojlertjanya, P. (1983). *Acute toxicity of Copper and Cadmium in Single and Mixed Salt Solutions to Juvenile Giant Freshwater Prawn, (Macrobrachium rosenbergii* de Man). M.S.Thesis, Mahidol University., Bangkok, Thailand.

Sadiq, M (1992) Toxic Metal Chemistry in Marine Environment., New York: Marcel Debber.

Spicer, J. I. And R. E. Weber (1991) Respiratory impairment in crustaceans and molluscs due to exposure to heavy metals. Comparative Biochemistry and Physiology, 100C: 339-342.

Spicer, J. I. And R. E. Weber (1992) Respiratory impairment by waterborne copper and zinc in the edible crab Cancer pagurus (L.) (Crustacea Decapoda) during hypoxic exposure. Marine Biology, 112: 429-435.

Sprague, J.B. (1969). Measurment of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. *Journal of Water Reseach*, 3 : 793-821.

Sprague, J.B. (1973). *The A B C's of pollutant bioassay using fish.* In Cairns, J. Ja and K.L. Dickson. Biological Method for the Assessment of Water Quality, ASTM STP 528. Philadelphia : American Society for testing and Materials.

Thaker, A. A. and A. A. Haritos (1989) Cadmium bioaccumulation and effects on soluble peptides, proteins and enzymes in the hepatopancreas of the shrimp *Callianassa tyrrhena. Comp. Biochem. Physiol.*, 94: 63-70.

Thorp, V. J. and P. S. Lake (1974) Toxicity bioassays of cadmium on selected freshwater invertebrates and the interaction of cadmium and zinc on the freshwater shrimp *Paratya tasmaniensis* Riek. *Australian J. Mar. Freshwat. Res., 25: 97-104.*

Thurberg, E. P.; M. A. Dawson and R. S. Collier (1973) Effects of copper and cadmium on osmoregulation and oxygen consumption in two species of estuarine crabs. *Marine Biology*, 23: 171-175.

Thurberg, F. P., A. Calabrese, E. Gould, R. A. Greig, M. A. Dawson and R. K. Tucker (1977) Response of the lobster Homarus americanus to sublethal levels of cadmium and mercury. In Physiological Responses of Marine Biota to Pollution. (Edited by Vernberg F. J., Calabrese A., F. P. Thurberg and V. B. Vernberg), pp. 185-198, Academic Press, New York.

Vernberg, W. B.; P. J. Decoursey and J. O'Hara (1974) Multiple environmental factor effects on physiology and behaviour of the fiddler crab, Uca pugilator. In Pollution and Physiology of Marine Organisms. (Edited by Vernberg P. J. and W. B. Vernberg), pp. 381-426. Academic Presss, New York.

Wangersky, P.J. (1986). Biological Control of Trace Metal Residence Time and Speciation: A Review and Synthesis,*Journal of Marine chemistry*. 18: 269-297.

Weeks, J. M., F. B. Jensen and M. H. Depledge (1993) Acid-base status, hemolymph composition and copper accumulation in shore crabs Carcinus maenas exposed to combined copper and salinity stress. Marine Ecology Progress Series, 97: 91-98.

1.