

พิษของปรอทและทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเล *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. และ *Chaetoceros calcitrans*

ฉลวย มุสิก๊ะ¹ แววตา ทองระอา² และ อมรรัตน์ ชมรุ่ง¹

Abstract

Musika, C., Thongra-ar, W. and Chomrung, A.

Toxicity of mercury and copper to marine phytoplankton, *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. and *Chaetoceros calcitrans*

Songklanakarin J. Sci. Technol., 2005, 27(4) : 915-928

Static 96-hour phytoplankton growth tests were carried out to measure the toxicity of mercury (Hg) and copper (Cu) on growth (cell density) and chlorophyll *a* content of three marine phytoplankton species: *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. and *Chaetoceros calcitrans*. The experiments were carried out at a temperature of $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, using natural seawater (salinity 30 psu) filtered with a $0.4\ \mu$ polycarbonate membrane, under continuous illumination of 3800 ± 200 lux and they were repeated three times for each metal. Results showed that *C. calcitrans* was the most sensitive species to Hg and Cu, followed by *Tetraselmis* sp. and *D. salina*, respectively. In addition, Hg was found to be more toxic to the three species than Cu. The mean IC_{50} values of Hg on growth of *D. salina*, *Tetraselmis* sp. and *C. calcitrans* were 0.277, 0.144 and 0.043 mg L^{-1} , respectively, while those of Cu were 1.132, 0.270 and 0.090 mg L^{-1} , respectively.

Key words : phytoplankton, mercury, copper, cell growth, chlorophyll *a*

Institute of Marine Science, Burapha University, Chon Buri 20131 Thailand

¹วท.ม.(วาริชศาสตร์), นักวิทยาศาสตร์ ²D. Tech. Sc. (Environmental Technology and Management), นักวิทยาศาสตร์ สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Corresponding e-mail: musika@buu.ac.th, chaluay@bimsbuu.ac.th

รับต้นฉบับ 30 สิงหาคม 2547 รับลงพิมพ์ 24 พฤศจิกายน 2547

บทคัดย่อ

จลวย มุสิกะ แวตตา ทองระอา และ อมรรัตน์ ชมรุ่ง
พิษของปรอท และทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเล *Dunaliella salina*,
Tetraselmis sp. และ *Chaetoceros calcitrans*

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(4) : 915-928

พิษของปรอทและทองแดงได้ทำการศึกษากับแพลงก์ตอนพืชทะเล 3 ชนิด คือ *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. และ *Chaetoceros calcitrans* โดยศึกษาผลที่มีต่อการเจริญเติบโต (ความหนาแน่นของเซลล์) และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ภายในเวลา 96 ชั่วโมง ทำการทดลองที่อุณหภูมิ $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ใช้น้ำทะเลธรรมชาติ ความเค็ม 30 พีเอสยู กรองผ่านแผ่นกรอง polycarbonate membrane ขนาดรูเปิด 0.4 ไมครอน ให้แสงสว่าง 3800 ± 200 ลักซ์ อย่างต่อเนื่อง และทดลองซ้ำในลักษณะเดียวกันรวม 3 ครั้งสำหรับโลหะหนักแต่ละชนิด ผลการทดลองพบว่า *C. calcitrans* มีความไวในการตอบสนองต่อความเป็นพิษของปรอทและทองแดงสูงสุด รองลงมา ได้แก่ *Tetraselmis* sp. และ *D. salina* ตามลำดับ โดยความเป็นพิษของปรอทที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด สูงกว่าทองแดง กล่าวคือ ค่าเฉลี่ย IC_{50} ของปรอทต่อ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* เท่ากับ 0.277, 0.144 และ 0.043 มก./ลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ค่าเฉลี่ย IC_{50} ของทองแดงต่อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด เท่ากับ 1.132, 0.270 และ 0.090 มก./ลิตร ตามลำดับ

การปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมทางทะเล มีแหล่งที่มาสำคัญ 2 แหล่ง คือ จากธรรมชาติ และจากการกระทำของมนุษย์ เช่น การทำเหมืองแร่ การปล่อยทิ้งน้ำเสียจากโรงงาน การใช้ปุ๋ยเคมีและยาปราบศัตรูพืชในภาคการเกษตร เป็นต้น โลหะหนักเป็นสารที่คงตัว ไม่สามารถสลายตัวได้ มีความเป็นพิษสูง สามารถเข้าไปสะสมในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และถ่ายทอดไปยังผู้บริโภคในระดับที่สูงกว่าได้ ปกติโลหะหลายชนิด เช่น ทองแดง แมงกานีส สังกะสี และเหล็ก จัดเป็นธาตุอาหารปริมาณน้อย ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยมีบทบาทสำคัญในระบบการทำงานของเอนไซม์ ขณะเดียวกันมีโลหะอีกกลุ่มซึ่งไม่พบว่ามีประโยชน์แต่กลับเป็นพิษโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิต เช่น ปรอท แคดเมียม และตะกั่ว (Errasquin and Vázquez, 2003) อย่างไรก็ตาม เมื่อแหล่งน้ำมีโลหะที่มีความจำเป็นสูงเกินไป หรือมีโลหะชนิดที่ไม่จำเป็นปรากฏอยู่ในระดับหนึ่ง ก็สามารถเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตได้ (Negilski, 1976) โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชซึ่งจัดเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่สามารถสังเคราะห์แสงสร้างอาหารได้เอง และมีความสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำในฐานะที่เป็นผู้ผลิตเบื้องต้น รวมทั้งเป็นอาหารลำดับแรกสำหรับผู้บริโภคในวงจรห่วงโซ่อาหาร หากวันหนึ่งเมื่อ

ทะเลซึ่งเป็นแหล่งน้ำธรรมชาติที่เคยอุดมสมบูรณ์ไปด้วยสัตว์น้ำ ได้รับผลกระทบจากโลหะหนัก อาจทำให้ผู้ผลิตเบื้องต้นอย่างแพลงก์ตอนพืชลดลง ก็ย่อมส่งผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหารในระดับสูงขึ้นรวมถึงมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคสูงสุดด้วย

จากบทบาทและความสำคัญของแพลงก์ตอนพืชดังกล่าวข้างต้น จึงทำให้มีการใช้แพลงก์ตอนพืชเป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนของสารมลพิษ รวมทั้งโลหะหนักในแหล่งน้ำกันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในต่างประเทศ (Laube et al., 1980) สำหรับประเทศไทยการศึกษาค้นคว้าความเป็นพิษของโลหะหนักกับแพลงก์ตอนพืชทะเลมีอยู่ค่อนข้างน้อยเท่าที่มีการรายงานไว้ ได้แก่ การศึกษาของสุวรรณี และ มัทธนา (2525) แวตตา และคณะ (2536) กรมควบคุมมลพิษ (2545) และ Thongra-ar และคณะ (1995) การศึกษาดังกล่าวยังไม่ครอบคลุมโลหะหนักที่สำคัญและมีการตรวจพบในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งอ่าวไทย เช่น ปรอท และทองแดง ซึ่งจัดอยู่ในจำนวนโลหะหนัก 10 อันดับแรกที่มีพิษมากที่สุดต่อสิ่งมีชีวิตในทะเล (Davies, 1978) ดังนั้นการศึกษาดังนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพิษของปรอทและทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเล 3 ชนิด คือ *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. และ *Chaetoceros*

calcitrans ซึ่งเป็นสาหร่ายเซลล์เดียวที่มีขนาดเล็กและมีความสำคัญในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์น้ำทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการปรับปรุงค่ามาตรฐานคุณภาพน้ำชายฝั่งทะเลของไทยได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาความเป็นพิษของสารปรอทและทองแดงกับแพลงก์ตอนพืชทะเล 3 ชนิดคือ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* ทำการทดลองโดยใช้วิธีทดสอบการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแบบน้ำนิ่ง และไม่มีการเปลี่ยนสารละลายทดลองตลอดระยะเวลา 96 ชั่วโมง วิธีการทดลองดำเนินการตามคู่มือการทดสอบความเป็นพิษที่ใช้กับสิ่งมีชีวิตในทะเลเขตร้อน ภายใต้โครงการความร่วมมือด้านวิทยาศาสตร์ทางทะเลระหว่างอาเซียนและแคนาดา ระยะที่ 2 (CPMS-II, 1995) ความเป็นพิษแสดงโดยผลของสารที่มีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์หรือความหนาแน่นของเซลล์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยมีขั้นตอนการทดลอง ดังนี้

1. การเตรียมหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช

นำหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* จากห้องปฏิบัติการแพลงก์ตอนพืช สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา มาเพาะขยายพันธุ์ในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร โดยใช้ น้ำทะเลธรรมชาติ ความเค็ม 30 พีเอสยู ซึ่งผ่านการกรองด้วยผ้ากรองขนาดรูเปิด 38 ไมครอน และนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์/ตร.นิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำเลี้ยงเชื้อสูตร Walne's media (ลัดดา, 2543) ที่มีสาร EDTA รวมอยู่ด้วย ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7.8 ± 0.1 เติมหิวเชื้อแพลงก์ตอนพืชและเลี้ยงให้ได้ระยะที่มีการแพร่ขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว (log phase) ภายใต้สภาวะควบคุมอุณหภูมิ $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ให้อากาศและแสงอย่างต่อเนื่อง ใช้เวลา 4-5 วัน

2. การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารละลายของปรอทและทองแดง เตรียมจาก HgCl_2 และ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ตามลำดับ โดยละลายในน้ำ

ดีไอออนไนซ์ MAXIMA (18.2 mΩ) ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นของโลหะไอออนแต่ละชนิด เท่ากับ 1000 มก./ลิตร หลังจากนั้นจึงนำมาเจือจางด้วยน้ำทะเลชนิดเดียวกับที่ใช้ในการเตรียมหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช แต่กรองผ่านแผ่นกรองขนาดรูเปิด 0.4 ไมครอน (polycarbonate membrane) และเติมน้ำเลี้ยงเชื้อสูตร Walne's media ที่ไม่เติมสาร EDTA ลงไปในสูตรอาหาร (CPMS-II, 1995) ให้มีความเข้มข้นต่างๆ กัน 5 ระดับ โดยความเข้มข้นที่เลือกใช้ได้จากการทดลองเบื้องต้น (preliminary test) เพื่อหาช่วงความเข้มข้นกว้างๆ ของสารปรอทและทองแดงที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดในช่วง 0-100% จากกลุ่มควบคุม และนำช่วงความเข้มข้นที่ได้มาขยายใช้ในการทดลองจริงคือ ปรอทอยู่ในช่วง 0.050-0.450, 0.010-0.250 และ 0.010-0.070 มก./ลิตร สำหรับ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* ตามลำดับ ส่วนทองแดงอยู่ในช่วง 0.100-3.000, 0.050-0.650 และ 0.010-0.200 มก./ลิตร สำหรับ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีกลุ่มควบคุมที่ไม่เติมสารละลายโลหะไว้ใช้ในการเปรียบเทียบ ทำการทดลองในขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 250 มล. ปริมาตรของสารละลายทดลอง 100 มล. ความเข้มข้นละ 4 ขั้ว และทุกครั้งจะแบ่งสารละลายทดลองแต่ละความเข้มข้นไว้วิเคราะห์หาความเข้มข้นที่แท้จริงของโลหะที่เติมลงไป การวิเคราะห์ทองแดงใช้วิธีสกัดตัวอย่างด้วยวิธี cobalt-APDC coprecipitation technique ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Huizenga (1981) และวัดค่าความเข้มข้นด้วยเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (Perkin Elmer; AAnalyst 100) ส่วนปรอททำการสกัดตัวอย่างโดยวิธี BrCl oxidation (Quémereis and Cossa, 1997) วัดความเข้มข้นโดยใช้เทคนิค Cold Vapour Atomic Absorption Spectrometry ด้วยระบบ Flow Injection Mercury Hydride System (Perkin Elmer; FIAS 100) ค่า method detection limit (MDL) ของปรอทและทองแดง เท่ากับ 0.0001 และ 0.005 มก./ลิตร ตามลำดับ

3. การทดลอง

นำหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่ปรับความหนาแน่นของเซลล์เท่ากับ 1×10^6 เซลล์/มล. จำนวน 1 มล. เติมน้ำ

ลงไปในการละลายทดลองของแต่ละหน่วยทดลองที่เตรียมไว้ เพื่อให้ได้ความหนาแน่นเริ่มต้นเท่ากับ 1×10^4 เซลล์/มล. เท่ากันทุกหน่วยทดลอง พร้อมทั้งเขย่าและปิดด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก แล้วนำไปวางแบบสุ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ให้แสงสว่าง 3800 ± 200 ลักซ์ อย่างต่อเนื่อง เขย่าขวดวันละ 3 ครั้ง เพื่อป้องกันแพลงก์ตอนพืชตกตะกอนหรือเกาะติดภาชนะ เมื่อครบกำหนด 96 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างในแต่ละหน่วยทดลอง จำนวน 0.9 มล. ลงในขวด vial เติมน้ำยาฟอรัมาลีน 4 % (v/v) ลงไป 0.1 มล. เก็บไว้จำนวนเซลล์ และนำตัวอย่างที่เหลือไปกรองเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ตามวิธีของ UNESCO (1966) โดยสกัดตัวอย่างด้วยอะซิโตน 90 % (v/v) และวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Unicam; UV 300) ทำการทดลองซ้ำในลักษณะเดียวกันนี้รวม 3 ครั้ง ในทุกความเข้มข้นของสารละลายโลหะหนักที่ใช้และแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด โดยเกณฑ์การยอมรับผลการทดลองทุกครั้งพิจารณาจากความหนาแน่นของเซลล์ในกลุ่มควบคุมเมื่อสิ้นสุดการทดลองต้องไม่น้อยกว่า 2×10^5 เซลล์/มล. (CPMS-II, 1995)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ความเป็นพิษของปรอทและทองแดงต่อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ใช้วิธีวิเคราะห์หาค่าระดับความเข้มข้นที่มีผลต่อการเจริญเติบโต และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยพิจารณาจากค่า NOEC, LOEC, IC_{25} และ IC_{50} เมื่อ NOEC (no observed effect concentration) หมายถึง ระดับความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ใช้และไม่มีผลทำให้การเจริญเติบโต หรือปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม LOEC (lowest observed effect concentration) หมายถึง ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ใช้ และมีผลทำให้การเจริญเติบโต หรือปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม ซึ่งค่า NOEC และ LOEC คำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป TOXSTAT (Gulley et al., 1990) ส่วนค่า IC_{25} และ IC_{50} (inhibition concentration) หมายถึง ระดับความเข้มข้นของสารที่มีผลยับยั้งการเจริญเติบโต หรือการสร้างคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชลดลง 25

และ 50% ตามลำดับ ซึ่งคำนวณโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ICPIN (Norberg-King, 1993)

ผลการทดลอง

พิษของปรอทและทองแดงที่มีต่อการเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชทะเล 3 ชนิด ได้แก่ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* แสดงใน Table 1-3 พบว่าความหนาแน่นของเซลล์ในกลุ่มควบคุมทุกชุดการทดลองมีค่าสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับที่กำหนดไว้โดย CPMS-II (1995) คือ สูงกว่า 2×10^5 เซลล์/มล. โดย *C. calcitrans* มีการเพิ่มจำนวนเซลล์สูงสุด (ระหว่าง $724-881 \times 10^3$ เซลล์/มล.) รองลงมาคือ *D. salina* (ระหว่าง $478-647 \times 10^3$ เซลล์/มล.) และ *Tetraselmis* sp. (ระหว่าง $237-473 \times 10^3$ เซลล์/มล.) ตามลำดับ ในขณะที่ *D. salina* มีการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงสุด รองลงมาคือ *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* ตามลำดับ การเจริญเติบโตของเซลล์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด ลดลงตามลำดับความเข้มข้นของปรอทและทองแดงที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าทองแดงที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.108 มก./ลิตร) สามารถกระตุ้น *D. salina* ให้สร้างคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นจากภาวะปกติ การตรวจสอบความเข้มข้นของปรอทและทองแดงที่มีอยู่จริงในสารละลายก่อนการทดลองแต่ละครั้งพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นที่เตรียมไว้ ดังนั้นในรายงานฉบับนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่มีอยู่จริงในสารละลายทดลองสำหรับคำนวณหาค่าความเป็นพิษ (NOEC, LOEC, IC_{25} และ IC_{50}) ของปรอทและทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด

ผลการวิเคราะห์ระดับความเป็นพิษของปรอทและทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทั้ง 3 ชนิด แสดงไว้ใน Table 4 ซึ่งพบว่าปรอทมีพิษสูงกว่าทองแดงทั้งผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และเมื่อเปรียบเทียบความไวในการตอบสนองต่อพิษของปรอทและทองแดง โดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยของ IC_{50} (Figure 1) ทั้งผลที่มีต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ พบว่าแพลงก์ตอนทั้ง 3 ชนิด มีความไวในการตอบสนองต่อพิษของปรอทและทองแดง แตกต่างกันอย่างมีนัย

Table 1. Summary of responses for 96-h *Dunaliella salina* toxicity tests with mercury and copper.

Metal	Test No.	Nominal Conc. (mg L ⁻¹)	Actual Conc. (mg L ⁻¹)	Mean Growth Response (x10 ³ cell mL ⁻¹)	% Inhibition of Growth	Mean Chlorophyll <i>a</i> Content (µg L ⁻¹)	% Chlorophyll <i>a</i> With Respect to Control
Hg	1	0.450	0.494	122	81*	95	20*
		0.350	0.382	148	76*	119	26*
		0.250	0.275	244	61*	175	38*
		0.150	0.163	421	33*	278	60*
		0.050	0.053	620	1	396	85
		Control	0.0002	628		465	
	2	0.450	0.488	85	85*	107	28*
		0.350	0.388	131	76*	114	30*
		0.250	0.281	265	52*	205	55*
		0.150	0.167	376	31	339	90
		0.050	0.053	519	5	362	96
		Control	< 0.0001	549		377	
	3	0.450	0.488	106	78*	71	21*
		0.350	0.385	194	59*	107	32*
		0.250	0.280	272	43*	175	53*
		0.150	0.167	322	33	239	72
		0.050	0.053	471	1	328	99
		Control	< 0.0001	478		332	
Cu	1	3.000	3.024	183	65*	64	18*
		2.200	2.274	228	57*	94	27*
		1.500	1.575	238	55*	106	30*
		0.800	0.809	288	41*	123	35*
		0.100	0.105	460	13	384	109
		Control	0.009	531		352	
	2	3.000	3.060	209	62*	55	14*
		2.200	2.287	215	61*	76	19*
		1.500	1.577	228	59*	92	23*
		0.800	0.818	317	43*	186	46*
		0.100	0.109	550	1	421	104
		Control	0.009	556		406	
	3	3.000	3.334	274	58*	108	23*
		2.200	2.401	282	56*	127	28*
		1.500	1.565	299	54*	155	33*
		0.800	0.834	331	49*	160	35*
		0.100	0.110	617	5	494	107
		Control	< 0.005	647		462	

* Significantly ($p < 0.05$) lower than the control.

สำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดย *C. calcitrans* มีความไวในการตอบสนองต่อพิษของโลหะทั้งสองได้สูงที่สุด รองลงมาคือ *Tetraselmis* sp. และ *D. salina* ตามลำดับ

โดยความเป็นพิษของปรอทและทองแดงที่วัดในรูปของการเจริญเติบโตของเซลล์ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ให้ผลที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

Table 2. Summary of responses for 96-h *Tetraselmis* sp. toxicity tests with mercury and copper.

Metal	Test No.	Nominal Conc. (mg L ⁻¹)	Actual Conc. (mg L ⁻¹)	Mean Growth Response (x10 ³ cell mL ⁻¹)	% Inhibition of Growth	Mean Chlorophyll <i>a</i> Content (µg L ⁻¹)	% Chlorophyll <i>a</i> With Respect to Control
Hg	1	0.250	0.281	22	93*	64	28*
		0.180	0.200	96	69*	75	33*
		0.120	0.133	176	43*	153	66*
		0.060	0.064	218	29*	157	68*
		0.010	0.011	286	7	198	86
		Control	< 0.0001	308		231	
	2	0.250	0.265	45	90*	193	39*
		0.180	0.187	166	65*	299	61*
		0.120	0.133	246	48*	368	75*
		0.060	0.062	316	33*	437	89
		0.010	0.011	371	21	486	99
		Control	< 0.0001	473		491	
	3	0.250	0.284	56	87*	215	46*
		0.180	0.202	147	66*	281	61*
		0.120	0.134	224	48*	347	75*
		0.060	0.064	312	28	408	88
		0.010	0.010	345	21	458	99
		Control	< 0.0001	435		462	
Cu	1	0.650	0.740	43	83*	41	18*
		0.500	0.549	68	73*	69	30*
		0.350	0.389	128	49*	133	58*
		0.200	0.218	193	23	139	60
		0.05	0.059	252	0	180	78
		Control	0.005	252		231	
	2	0.650	0.670	17	95*	45	19*
		0.500	0.484	18	94*	50	24*
		0.350	0.352	76	76*	68	33*
		0.200	0.206	135	58*	115	55*
		0.050	0.048	272	15	181	87
		Control	0.005	322		209	
	3	0.650	0.688	32	87*	52	29*
		0.500	0.494	65	72*	74	42*
		0.350	0.335	83	65*	87	49*
		0.200	0.207	132	44*	123	69*
		0.050	0.054	196	17	160	91
		Control	0.009	237		177	

* Significantly ($p < 0.05$) lower than the control.

ดังนั้นจึงสามารถเลือกใช้อย่างใดอย่างหนึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้ความเป็นพิษ (toxicity endpoint) สำหรับการศึกษาค้างต่อไป

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาค้างนี้พบว่า โปรทมีความเป็นพิษ

Table 3. Summary of responses for 96-h *Chaetoceros calcitrans* toxicity tests with mercury and copper.

Metal	Test No.	Nominal Conc. (mg L ⁻¹)	Actual Conc. (mg L ⁻¹)	Mean Growth Response (x10 ³ cell mL ⁻¹)	% Inhibition of Growth	Mean Chlorophyll <i>a</i> Content (µg L ⁻¹)	% Chlorophyll <i>a</i> With Respect to Control
Hg	1	0.070	0.075	0	100*	0	0*
		0.055	0.056	17	98*	2	1*
		0.040	0.041	447	47*	168	71*
		0.025	0.027	572	32*	212	90
		0.010	0.010	629	25*	224	95
		Control	0.0003	843		235	
	2	0.070	0.074	0	100*	0	0*
		0.055	0.057	14	98*	3	1*
		0.040	0.042	388	51*	164	67*
		0.025	0.027	522	33*	201	82*
		0.010	0.011	578	26*	221	90
		Control	0.0004	783		245	
	3	0.070	0.067	0	100*	0	0*
		0.055	0.057	85	90*	24	12*
		0.040	0.043	431	47*	156	75*
		0.025	0.028	546	32*	196	94
		0.010	0.011	631	22*	207	99
		Control	0.0001	808		209	
Cu	1	0.200	0.211	65	93*	6	3*
		0.150	0.157	107	88*	14	8*
		0.100	0.110	201	77*	35	20*
		0.050	0.052	703	20*	134	76
		0.010	0.010	843	4	152	87
		Control	< 0.005	881		176	
	2	0.200	0.215	57	93*	3	3*
		0.150	0.160	168	81*	13	10*
		0.100	0.104	394	55*	53	43*
		0.050	0.052	579	44*	89	72*
		0.010	0.010	691	21	106	86
		Control	< 0.005	875		124	
	3	0.200	0.214	68	91*	11	10*
		0.150	0.158	185	75*	23	21*
		0.100	0.105	319	56*	48	44*
		0.050	0.050	525	27	71	66*
		0.010	0.009	626	13	106	98
		Control	< 0.005	724		108	

* Significantly ($p < 0.05$) lower than the control.

สูงกว่าทองแดง ประมาณ 2-4 เท่า ขึ้นอยู่กับชนิดของ
แพลงก์ตอนพืช โดยค่าเฉลี่ยความเป็นพิษ (96-h IC₅₀)

ของปรอทที่มีต่อ *D. salina*, *Tetraselmis* sp. และ *C. calcitrans* เท่ากับ 0.277, 0.144 และ 0.043 มก./ลิตร

Table 4. Summary of statistical endpoints measured in phytoplankton toxicity tests of *Dunaliella salina*, *Tetraselmis* sp. and *Chaetoceros calcitrans* with mercury and copper.

Species	Metal	Test endpoint	Test No.	NOEC (mg L ⁻¹)	LOEC (mg L ⁻¹)	IC ₂₅ (mg L ⁻¹)	IC ₅₀ (mg L ⁻¹)
<i>Dunaliella salina</i>	Hg	Cell density	1	0.053	0.163	0.135	0.231
			2	0.167	0.281	0.188	0.275
			3	0.167	0.280	0.139	0.325
			Mean	0.129	0.241	0.154	0.277
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.053	0.163	0.097	0.212
			Mean	0.129	0.241	0.155	0.269
	Cu	Cell density	1	0.105	0.809	0.456	1.394
			2	0.109	0.818	0.476	1.016
			3	0.110	0.834	0.442	0.991
			Mean	0.108	0.820	0.458	1.132
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.105	0.809	0.370	0.634
			Mean	0.108	0.818	0.394	0.680
<i>Tetraselmis</i> sp.	Hg	Cell density	1	0.011	0.064	0.053	0.152
			2	0.011	0.062	0.026	0.139
			3	0.064	0.134	0.041	0.140
			Mean	0.028	0.087	0.040	0.144
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.011	0.064	0.043	0.166
			Mean	0.046	0.110	0.103	0.218
	Cu	Cell density	1	0.218	0.389	0.228	0.393
			2	0.048	0.206	0.084	0.176
			3	0.054	0.207	0.097	0.242
			Mean	0.107	0.267	0.136	0.270
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.218	0.389	0.089	0.434
			Mean	0.107	0.267	0.121	0.335
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Hg	Cell density	1	< 0.010	0.010	0.010	0.042
			2	< 0.011	0.011	0.010	0.042
			3	< 0.011	0.011	0.016	0.044
			Mean	< 0.011	0.011	0.012	0.043
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.027	0.041	0.038	0.046
			Mean	0.013	0.037	0.038	0.047
	Cu	Cell density	1	0.010	0.052	0.057	0.083
			2	0.010	0.052	0.022	0.092
			3	0.050	0.105	0.043	0.094
			Mean	0.023	0.070	0.041	0.090
		Chlorophyll <i>a</i>	1	0.053	0.110	0.054	0.079
			Mean	0.024	0.071	0.046	0.082

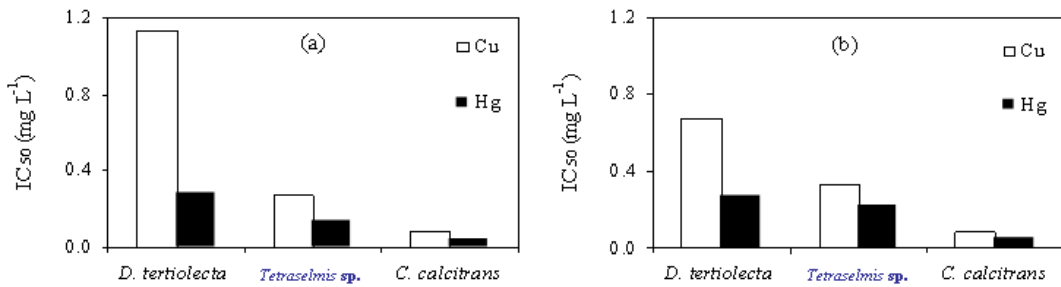


Figure 1. Comparison of 96-h IC₅₀ for mercury and copper with different phytoplankton species on (a) cell growth and (b) chlorophyll a.

ตามลำดับ และของทองแดง เท่ากับ 1.132, 0.270 และ 0.090 มก./ลิตร ตามลำดับ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Davies (1978) ซึ่งได้เรียงลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักต่อสิ่งมีชีวิตในทะเลไว้คือ Hg > Cd > Ag > Ni > Se > Pb > Cu > Cr > As > Zn และรายงานของ Canterford และ Canterford (1980) ซึ่งศึกษาพิษของโลหะไอออน (free metal) กับแพลงก์ตอนพืชทะเล พบว่าความเป็นพิษของ Hg²⁺ > Ag⁺ > Cu²⁺ > Pb²⁺ > Cd²⁺ > Zn²⁺ > Ti⁺ การที่ปรอทมีพิษต่อแพลงก์ตอนพืชสูงกว่าทองแดงนั้น อาจเนื่องจากปรอทมีคุณสมบัติพิเศษในการเข้าจับ (specific binding) กับแพลงก์ตอนพืชได้ดีกว่าโลหะหนักอื่นหลายชนิด (Kamp-Nielson, 1971)

นอกจากนี้แพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิด ยังมีความทนทานต่อพิษของโลหะหนักได้แตกต่างกัน (Davies, 1978) สำหรับการศึกษาครั้งนี้พบว่า *C. calcitrans* ซึ่งเป็นไดอะตอมมีความไวต่อพิษของปรอทและทองแดงมากกว่า *Tetraselmis sp.* และ *D. salina* ซึ่งเป็นสาหร่ายสีเขียว สาเหตุอาจเนื่องมาจากแพลงก์ตอนพืชแต่ละชนิดมีคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์และประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษ (detoxication) แตกต่างกัน การศึกษาของ Davies (1976, 1978) พบว่า *D. tertiolecta* มีความทนทานต่อการได้รับปรอทและทองแดงสูงมาก เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์มีคุณสมบัติในการยอมให้โลหะซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้น้อย ทำให้อัตราการสะสมโลหะภายในเซลล์เกิดขึ้นได้ช้า เมื่อเทียบกับ *Isochrysis galbana* ซึ่งเป็นไดอะตอม ประกอบกับ *D. tertiolecta* มีกลไกในการลดความเป็นพิษของโลหะ โดยการเปลี่ยนรูปปรอทและทองแดงให้อยู่ในรูปของโลหะซัลไฟด์ที่ไม่ละลายน้ำ ด้วยการจับกับซัลเฟอร์ (sulphydryl

groups) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของโปรตีนและเอ็นไซม์ นอกจากนี้ Nassiri และคณะ (1996) พบว่าแพลงก์ตอนพืช *Tetraselmis suecica* มีกลไกในการกำจัดทองแดงส่วนเกินที่รับไว้ ด้วยการขับออกจากเซลล์พร้อมกับสารอินทรีย์อื่นขณะที่มีการแบ่งเซลล์ แต่อัตราการแบ่งเซลล์จะช้าลงตามลำดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นในช่วง 0.2-1.0 มก./ลิตร โดยที่ความเข้มข้น 1 มก./ลิตร ไม่พบการแบ่งเซลล์ และยังพบว่า *T. suecica* มีการสะสมทองแดงไว้ในเซลล์ได้มากกว่าในสารละลายหลายเท่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Yap และคณะ (2004) เมื่อทดลองกับสาหร่ายสีน้ำตาล *Isochrysis galbana*

ในประเทศเขตร้อน (tropical zone) การศึกษาความเป็นพิษของปรอทและทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเลมีรายงานไว้ค่อนข้างน้อย โดย Gonzales (1997) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของปรอทที่มี *Tetraselmis sp.* ภายใต้สภาวะที่ใช้น้ำทะเลสังเคราะห์ ความเค็ม 34 พีเอสยู อุณหภูมิ 23-26°C พบว่าค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.034 มก./ลิตร ซึ่งต่ำกว่าผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ ทั้งนี้เนื่องจากมาจากสภาพการทดลองที่ต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองกับสัตว์ทดลองอื่น (Table 5) พบว่าแพลงก์ตอนพืชสามารถทนต่อความเป็นพิษของปรอทได้สูงกว่าตัวอ่อนของพวกหอย กุ้ง หรือแม้แต่ลูกปลากะพงขาว ซึ่งเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังและน่าจะมีความทนทานต่อพิษของปรอทมากกว่าแพลงก์ตอนพืชซึ่งเป็นพืชชั้นต่ำเซลล์เดียว สาเหตุอาจเป็นเพราะว่าการทดลองกับแพลงก์ตอนพืชเป็นการทดลองแบบน้ำนิ่ง ทำให้ไม่สามารถรักษาระดับความเข้มข้นของปรอทที่มีอยู่ในน้ำทดลองให้คงที่ได้ตลอด 96 ชั่วโมง เนื่องจากปรอทมีคุณสมบัติกลายเป็นไอ (volatilization)

Table 5. Comparison of the toxicity of mercury on tropical marine organisms.

Species	Life Stage	Test Duration	Temp. (°C)	Salinity (psu)	Exposure Type	Effect Measure	Statistical Endpoint (mg L ⁻¹)	Reference
<i>Dunaliella salina</i>	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 0.277 IC ₅₀ = 0.269	This study
<i>Tetraselmis</i> sp.	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 0.144 IC ₅₀ = 0.218	This study
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 0.043 IC ₅₀ = 0.047	This study
<i>Tetraselmis</i> sp.	5-d	96-h	23-26	34	Static	Cell density	IC ₅₀ = 0.034	Gonzales (1997)
Seabass, <i>Lates calcarifer</i>	Juvenile	96-h	25-27	31-32	Static	Survival	LC ₅₀ = 0.113	Chayarat (1985)
Seabass, <i>Lates calcarifer</i>	Juvenile	96-h	28-29	29	Static	Survival	LC ₅₀ = 0.086	Tamiyavanich (1984)
Seabass, <i>Lates calcarifer</i>	~12-d	7-d	25.2-28.9	2	Static-renewal	Survival	LC ₅₀ = 0.054	Thongra-ar et al. (2003)
		7-d	25.6-29.3	10	Survival		LC ₅₀ = 0.045	
		7-d	25.0-28.5	20	Survival		LC ₅₀ = 0.048	
		7-d	25.0-29.2	30	Survival		LC ₅₀ = 0.038	
Seabass, <i>Lates calcarifer</i>	~12-d	7-d	25.2-28.9	2	Static-renewal	Growth	IC ₅₀ = 0.019	Thongra-ar et al. (2003)
		7-d	25.6-29.3	10		Growth	IC ₅₀ = 0.015	
		7-d	25.0-28.5	20		Growth	IC ₅₀ = 0.023	
		7-d	25.0-29.2	30		Growth	IC ₅₀ = 0.020	
Milkfish, <i>Chanos chanos</i>	Juvenile	96-h	28-30	15-16	Static	Survival	LC ₅₀ = 0.38	Diaz (1995)
Estuarine Prawn <i>Penaeus indicus</i>	Post Larvae	48-h	96-h	19-24	Flowthrough	Survival Survival	LC ₅₀ = 0.016 LC ₅₀ = 0.015	McClurg (1984)
Giant prawn, <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Various larval stages	96-h	25.5-27.0	12	Static	Survival	LC ₅₀ = 0.05 - 0.34	Piyan et al. (1985)
Giant prawn, <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Post larvae (P _{4.5})	96-h	28	12	Static	Survival	LC ₅₀ = 0.031	Navanaraset and Menasveta (1986)
Pacific oyster, <i>Crassostrea gigas</i>	Embryo	48-h	20±1	33.79 ±0.07	Static	Development	EC ₅₀ = 0.007	Martin et al. (1981)
Mussel, <i>Mytilus edulis</i>	Embryo	48-h	17±1	33.79 ±0.07	Static	Development	EC ₅₀ = 0.006	Martin et al. (1981)
Clam, <i>Donax faba</i>		96-h	27-32		Static	Survival	LC ₅₀ = 0.160	Sommanee (1980)

ได้สูง และถูกดูดซับที่ผิวภายนอกของไดคิ (Carr and Wilkniss, 1973; Lo and Wai, 1975) จึงทำให้ปรอทส่วนหนึ่งสูญหายไปในช่วงการทดลอง ทั้งนี้มีรายงานว่าปรอทสามารถลดลงจากเริ่มต้น 40-80% ตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ภายในเวลา 24 ชั่วโมง (Thongra-ar et al., 2003) ดังนั้นในทำนองเดียวกันปริมาณปรอทในน้ำทดลองครั้งนี้อาจลดลงไปได้มากเมื่อครบ 96 ชั่วโมง และ

ทำให้แพลงก์ตอนพืชที่อยู่รอดในช่วงแรกมีการปรับตัวและทนอยู่ได้ในช่วงหลังๆ สอดคล้องกับรายงานของกรมควบคุมมลพิษ (2545) ซึ่งพบว่าปรอทความเข้มข้น 0.030-0.045 มก./ลิตร สามารถทำให้เซลล์ของ *Chaetoceros* sp. ลดลงอย่างรวดเร็วใน 2 วันแรกของการทดลอง หลังจากนั้นเซลล์มีการปรับตัว สามารถแบ่งเซลล์และเติบโตได้ตามปกติ แต่ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตลดลงตามระดับความ

Table 6. Comparison of the toxicity of copper on tropical marine organisms.

Species	Life Stage	Test Duration	Temp. (°C)	Salinity (psu)	Exposure Type	Effect Measure	Statistical Endpoint	Reference
<i>Dunaliella salina</i>	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 1.132 IC ₅₀ = 0.680	This study
<i>Tetraselmis</i> sp.	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 0.270 IC ₅₀ = 0.335	This study
<i>Chaetoceros calcitrans</i>	Log phase	96-h	27±1	30	Static	Cell density Chlorophyll a	IC ₅₀ = 0.090 IC ₅₀ = 0.082	This study
<i>Tetraselmis tetrahele</i>	-	96-h	19-29	34	Static	Cell density	IC ₅₀ = 0.22	Gonzales (1997)
<i>Isochrysis galbana</i>	Log phase	5-day	-	27	Static	Cell density	EC ₅₀ = 0.91	Yap <i>et al.</i> (2004)
Mysis shrimp, <i>Mysidopsis bahia</i>	24-h	35-d	24	30	Flowthrough Survival	Growth	NOEC = 0.077 LOEC = 0.140	Lussier <i>et al.</i> (1985)
Sea urchin, <i>Diadema setosum</i>	Sperm and eggs	20-min	25.5-28.8	32-33	Static	Cell fertilization	EC ₅₀ = 0.017	Thongra-ar (1997)
Seabass, <i>Lates calcarifer</i>	12-d	7-d	27-30	23-29	Static-renewal	Survival Growth	LC ₅₀ = > 1.40 IC ₂₅ = > 1.40	Thongra-ar and Musika (1997)
Green-lipped mussel, <i>Perna viridis</i>	3-4 cm	24-h	25-28	25-27	Static	Mortality	EC ₅₀ = 0.25	Yap <i>et al.</i> (2004)

เข้มข้นของปรอทที่เพิ่มขึ้น

ส่วนความเป็นพิษของทองแดงที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ *Tetraselmis tetrahele* (Gonzales, 1997) และ *Isochrysis galbana* (Yap *et al.*, 2004) พบว่าระดับความเป็นพิษ (IC₅₀ หรือ EC₅₀) เท่ากับ 0.22 และ 0.91 มก./ลิตร ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในช่วงของการศึกษาครั้งนี้ (0.090-1.132 มก./ลิตร) และเมื่อเปรียบเทียบกับพิษของทองแดงกับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในทะเลเขตร้อน (Table 6) พบว่าแพลงก์ตอนพืชมีความไวต่อพิษของทองแดงได้สูงกว่าลูกปลาปะการัง แต่มีความทนทานสูงกว่าไข่และสปอร์ของเม่นทะเล ซึ่งจัดเป็นแพลงก์ตอนชนิดหนึ่ง

เมื่อเปรียบเทียบพิษของปรอทและทองแดงจากการศึกษาครั้งนี้กับพิษของแคดเมียมและสังกะสีที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเลจากการศึกษาของแวนดา และคณะ (2536) พบว่าปรอทและทองแดงมีพิษสูงกว่า ดังนั้นลำดับความเป็นพิษของโลหะที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเลจากการศึกษาทั้งสองครั้งเป็นดังนี้ ปรอท > ทองแดง > สังกะสี > แคดเมียม
ระดับความเป็นพิษของปรอทและทองแดง (IC₅₀) ที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชจากการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่าความ

เข้มข้นของปรอทและทองแดงที่ตรวจพบในน้ำทะเลบริเวณชายฝั่งของไทยและในอ่าวไทย โดยปรอทมีค่าอยู่ระหว่าง < 0.01-0.69 ไมโครกรัม/ลิตร (กรมควบคุมมลพิษ, 2546) และทองแดงมีค่าอยู่ระหว่าง 0.07-0.56 ไมโครกรัม/ลิตร (Rattanachongkiat, 1998) ปริมาณดังกล่าวยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำชายฝั่งทะเลของไทย ซึ่งกำหนดไว้ให้มีค่าของปรอทและทองแดงไม่เกิน 0.1 และ 50 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ (กรมควบคุมมลพิษ, 2540) ยกเว้นปรอทในอ่าวไทยบางบริเวณและบางฤดูกาลที่มีค่าสูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนด ดังนั้นหากดำเนินการป้องกันและวางมาตรการไม่ให้ปรอทและทองแดงในน้ำทะเลสูงเกินเกณฑ์มาตรฐาน แพลงก์ตอนพืชรวมทั้งสิ่งมีชีวิตในลำดับสูงขึ้นไปจะยังคงปลอดภัยจากพิษของโลหะทั้งสองต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ ของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ 2546 ผู้วิจัยคือ

ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเลทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยเรื่องนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2540. เกณฑ์ระดับคุณภาพน้ำและมาตรฐานคุณภาพน้ำประเทศไทย. กองจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

กรมควบคุมมลพิษ. 2545. โครงการประเมินความสามารถในการรองรับมลพิษและการประเมินความเสี่ยงต่อนิเวศทางทะเล. กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม.

กรมควบคุมมลพิษ. 2546. ทะเลไทยวันนี้. สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.

ลัดดา วงศ์รัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอนพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

แหวตา ทองระอา ฉลุย มุสิกะ วันชัย วงศ์ดาวรรณ และอมรรัตน์ ชมรุ่ง. 2536. ผลของโลหะหนักบางชนิดที่มีต่อแพลงก์ตอนพืชทะเล. รายงานการวิจัย สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.

สุวรรณณี เงินบำรุง และมณฑนา ภิรมย์นันทน์. 2525. พิษของปรอทที่มีต่อแพลงก์ตอนพืช. รายงานวิจัย และเอกสารเผยแพร่ สถาบันวิจัยประมงทะเล กองประมงทะเล กรมประมง.

Canterford, G.S. and Canterford, D.R. 1980. Toxicity of heavy metals to the marine diatom *Ditylum brightwellii* (West) Grunow: correlation between toxicity and metal speciation. J. Mar. Biol. U.K., 60: 227-242.

Carr, R. and Wilkniss, P. 1973. Mercury: short-term storage of natural waters. Environ. Sci. Tech., 7: 62-63.

Chayarat, C. 1985. Acute toxicity of mercury, lead and their mixtures to pla ka-pong khao, *Lates calcarifer* (Bloch). M.Sc. Thesis, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

CPMS-II (ASEAN-Canada Cooperative Programme on Marine Science-Phase II). 1995. Draft protocol for sublethal toxicity tests using tropical marine organism. ASEAN-Canada cooperative pro-

gramme on marine science-phase II. CIDA Project No. 149/15461.

Davies, A.G. 1976. An assessment of the basis of mercury tolerance in *Dunaliella tertiolecta*. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 56: 39-57.

Davies, A.G. 1978. Pollution studies with marine phytoplankton, Part II. heavy metals. Adv. Mar. Biol., 5: 381-508.

Diaz, V.R. 1995. Preliminary results of acute toxicity tests for mercury and cadmium on milkfish (*Chanos chanos*) juvenile. In: ASEAN criteria and monitoring: advances in marine environmental management and human health protection (edited by Watson, D., Ong, K.S. and Vigers, G.), Proceedings of the ASEAN-Canada mid-term technical review conference on marine science, Singapore. Oct. 24-28, 1994: 112-115.

Errasquín, E.L. and Vázquez, C. 2003. Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge. Chemosphere, 50: 137-143.

Gonzales, D.C.Q. 1997. Chronic toxicity of cadmium, copper and mercury to unicellular marine algae, *Tetraselmis* sp./*Tetraselmis tetrahele*. In: Vigers, G., Ong, K.S., McPherson, C., Millson, N., Watson, I. and Tang, A. (eds.). ASEAN marine environmental management: quality criteria and monitoring for aquatic life and human health protection. Proceedings of the ASEAN-Canada technical conference on marine science, EVS Environment Consultants, North Vancouver and Department of Fisheries Penang, Malaysia, Jun. 24-28, 1996: X-9 - X-12.

Gulley, D.D., Boelter, A.M. and Bergman, H.L. 1990. TOXSTAT Release 3.2. Department of Zoology and Physiology, University of Wyoming, Laramie, Wyoming.

Huizenga, D.L. 1981. The cobalt-APDC coprecipitation technique for the preconcentration of trace metal sample. Graduate School of Oceanography, University of Rhode Island.

Kamp-Nielsen, L. 1971. The effect of deleterious concentrations of mercury on the photosynthesis and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Physiol. Plant., 24: 556-561.

- Laube, V.M., Mckenzine, C.N. and Kushner, D.J. 1980. Strategies of response to copper, cadmium and lead by blue-green and a green algae. *Can. J. Microbiol.*, 26: 1300-1311.
- Lo, L.M. and Wai, C.M. 1975. Mercury loss from water during storage: mechanisms and prevention. *Anal. Chem.*, 47: 1869-1870.
- Lussier, S.M., Gentile, J.H. and Walker, J. 1985. Acute and chronic effects of heavy metals and cyanide on *Mysidopsis bahia* (Crustacea: Mysidacea). *Aquat. Toxicol.*, 7: 25-35.
- Martin, M., Osborn, K.E., Billig, P. and Glicksteins, N. 1981. Toxicities of ten metals to *Crassostrea gigas* and *Mytilus edulis* embryos and *Cancer magister* larvae. *Mar. Pollut. Bull.*, 12: 305-308.
- McClurg, T.P. 1984. Effects of fluoride, cadmium and mercury on the estuarine prawn *Penaeus indicus*. *Water SA.*, 10: 40-45.
- Nassiri, Y., Ginsburger-Vogel, T., Mansot, J.L. and Wery, J. 1996. Effects of heavy metals on *Tetraselmis suecica*: Ultrastructural and energy-dispersive X-ray spectroscopic studies. *Biol Cell.*, 86: 151-160.
- Navanaraset, N. and Menasveta, P. 1986. Acute toxicity of different toxicants to giant prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) larvae. **In:** Proceeding of the third national marine science seminar. National Research Council of Thailand, Aug. 6-8, 1986. (in Thai)
- Negilski, D.S. 1976. Acute toxicity of zinc, cadmium and chromium to the marine fishes, yellow-eye mullet (*Aldrichetta forsteri* C. & V.) and small-mouthed hardyhead (*Atherinasoma microstoma* Whittler). *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 27: 137-149.
- Norberg-King, T.J. 1993. A linear interpolation method for sublethal toxicity: The inhibition concentration (ICp) approach (Version 2.0). U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Research Laboratory, Duluth, Minnesota.
- Piyan, B.T., Law, A.T. and Cheah, S.H. 1985. Toxic levels of mercury for sequential larval stages of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *Aquacult.*, 46: 353-359.
- Quémerais, B. and Cossa, D. 1997. Procedures for sampling and analysis of mercury in natural waters. Scientific and technical report ST-31E. Environment Canada-Quebec, Environment Conservation, St. Lawrence Centre.
- Rattanachongkiat, S. 1998. Distribution of trace metals in the Gulf of Thailand and east coast of Malay Peninsula. M.Sc. Thesis, Chulalongkorn University, Bangkok.
- Sommanee, P. 1980. Toxicity of heavy metals on *Donax faba* Chemniz. *Thai Fish Gazette*, 32: 391-402. (in Thai)
- Tamiyavanich, S. 1984. Bioassay studies on the impacts of heavy metals on certain marine animals. **In:** Proceeding of the third seminar on the water quality and the quality of living resources in Thai waters, National Research Council of Thailand. Mar. 26-28, 1984: 490-493. (in Thai)
- Thongra-ar, W. and Musika, C. 1997. Short-term chronic toxicity of cadmium, zinc and copper on larval seabass, *Lates calcarifer*. **In:** Vigers, G., Ong, K.S., McPherson, C., Millson, N., Watson, I. and Tang, A. (eds.). ASEAN marine environmental management: quality criteria and monitoring for aquatic life and human health protection. Proceedings of the ASEAN-Canada technical conference on marine science (24-28 June, 1996), Penang, Malaysia. EVS Environment Consultants, North Vancouver and Department of Fisheries Malaysia, Jun. 24-28, 1996: IV-27 - IV-33.
- Thongra-ar, W., Musika, C. and Suratragoon, P. 1995. Toxicity of cadmium and zinc on marine phytoplankton, *Dunaliella tertiolecta*. **In:** Watson, D., Ong, K.S. and Viger, G. (eds.). ASEAN criteria and monitoring: advances in marine environmental management and human health protection. Proceedings of the ASEAN-Canada midterm technical review conference on marine science. EVS Environment Consultants, Vancouver and National Science and Technology Board, Singapore, Oct. 24-28, 1994: 123-127.
- Thongra-ar, W. 1997. Toxicity of cadmium, zinc and copper on sperm cell fertilization of sea urchin, *Diadema setosum*. *J. Sci. Soc. Thailand*, 23: 297-306.
- Thongra-ar, W., Parkpian, P. and Tang, A. 2003. Toxicity of mercury to growth and survival of seabass

- larvae, *Lates calcarifer* and the modifying effects of salinity. *ScienceAsia*, 29: 209-219.
- UNESCO. 1966. Determination of photosynthetic pigments in seawater. Report of SCOR-UNESCO Working Group 17.
- Yap, C.K., Ismail, A., Omar, H. and Tan, S.G. 2004. Toxicities and tolerances of Cd, Cu, Pb and Zn in a primary producer (*Isochrysis galbana*) and in a primary consumer (*Perna viridis*). *Environ. Internat.*, 29: 1097-1104.