



พิษเฉียบพลันของสังกะสี ในแต่ละช่วงอายุของ *Daphnia magna* Acute toxicity of zinc in different ages of *Daphnia magna*

ณัฐธิดา หนูนาค¹ และ ศรัณยา พีระเกียรติขจร^{1*}

¹Department of Biology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand

*Corresponding Author, E-mail: saranya.pe@psu.ac.th

บทคัดย่อ

สังกะสี (Zinc) เป็นแร่ธาตุที่สำคัญและจำเป็นต่อการทำงานทางสรีรวิทยาของสิ่งมีชีวิต ส่งผลต่อการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ เป็นต้น แต่การได้รับปริมาณของสังกะสีที่มากเกินไปจนเกินความจำเป็นนั้น ส่งผลให้เกิดความเป็นพิษและรบกวนระบบต่างๆ ของร่างกาย ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ในแต่ละช่วงอายุของ *Daphnia magna* จากผลการศึกษาพบว่า ค่า lethal concentration 50 (LC50) ที่ 48 ชั่วโมง ของ *D. magna* อายุ 1, 3 และ 5 วัน เท่ากับ 1.46 ± 0.05 , 1.52 ± 0.06 และ 2.29 ± 0.02 mg/L ตามลำดับ โดยค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง ของกลุ่ม *D. magna* อายุ 5 วัน มีค่า LC50 สูงกว่ากลุ่ม *D. magna* อายุ 1 และ 3 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อาจเนื่องมาจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่น

ABSTRACT

Zinc is an essential element for physiological functions of organisms (e.g., growth and reproduction). However, the excess of zinc uptake causes toxic to the organisms and affects their physiological systems. In this study, we clarified the acute toxicity of $ZnSO_4$ in different ages of *D. magna*. The results showed that the LC50s at 48 h of 1, 3, and 5-day-old *D. magna* were 1.46 ± 0.05 , 1.52 ± 0.06 and 2.29 ± 0.02 mg/L, respectively. This significantly higher LC50 of the 5-day-old *D. magna* might be a result of its lower surface area to volume ratio when compared to other experimental conditions.

คำสำคัญ: *Daphnia magna* อายุ $ZnSO_4$ พิษเฉียบพลัน LC50

Keywords: *Daphnia magna*, Age, $ZnSO_4$, Acute toxicity, LC50

บทนำ

สังกะสีเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการทำงานของสิ่งมีชีวิตและกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น การส่งสัญญาณในกระบวนการการทำงานทางสรีรวิทยา การทำงานของเอนไซม์ การแสดงออกของยีน การเพิ่มจำนวนเซลล์ การเผาผลาญพลังงาน และการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (Stefanidou et al., 2006) ในปัจจุบันสารประกอบของสังกะสี เช่น $ZnSO_4$

ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมและใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชในงานเกษตรกรรม เมื่อ $ZnSO_4$ ถูกปล่อยลงแหล่งน้ำ จะอยู่ในรูปเกลืออินทรีย์ จากการรวมตัวของ zinc ion และความสามารถในการละลายน้ำของ zinc ion ทำให้พิษและสัตว์สามารถนำสังกะสีไปใช้ประโยชน์ได้ (Boone et al., 2012) แต่การได้รับปริมาณของสังกะสีที่มากเกินไปจนเกินความจำเป็นนั้น มีผลเข้าไปแทรกแซงรบกวนระบบการทำงานต่างๆ ของร่างกาย (Ruttkey-Nedecky et al., 2013) จากการศึกษาที่ผ่านมา

เกี่ยวกับความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *Thamnocephalus platyurus* และ *Lamellidens consobrinus* ซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยในแหล่งน้ำจืด พบว่ามีค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 0.98 mg/l และ 1.99 mg/l ตามลำดับ โดย $ZnSO_4$ ส่งผลให้เหงือกได้รับความเสียหายลดอัตราการหายใจและอัตราการกรอง ส่งผลต่อการรักษาสมดุลของน้ำในร่างกาย ดังนั้นสัตว์จะต้องปรับตัวทางสรีรวิทยาเพื่อรักษาระดับความเข้มข้นของสังกะสีในเซลล์ให้คงที่และกำจัดสารพิษออกจากเซลล์ (Heinlaan et al., 2008; Bhamre et al., 2010) นอกจากนี้การศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ในแพลงก์ตอนสัตว์ เช่น *Daphnia magna* โดยใช้ตัวอ่อนอายุ 1 วัน พบว่ามีค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.37 mg/l และมีค่า EC50 ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 0.99 mg/l และเมื่อ *D. magna* ได้รับ $ZnSO_4$ ปริมาณ 0.1 และ 0.3 mg/l เป็นเวลา 21 วัน พบว่าปริมาณตัวอ่อนที่ผลิตได้มีจำนวนลดลง อีกทั้งยังทำให้แวกไคโอลในเซลล์ที่บุบริเวณเนื้อเยื่อทางเดินอาหารมีขนาดใหญ่ขึ้น (Bacchetta et al., 2016; Bacchetta et al., 2017) อย่างไรก็ตามการศึกษาคือความเป็นพิษของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในแต่ละช่วงอายุยังไม่มีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย

ด้วยเหตุนี้ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของสังกะสีในแต่ละช่วงอายุของแพลงก์ตอนสัตว์ เพื่อเปรียบเทียบความไวต่อสังกะสีของแพลงก์ตอนสัตว์ในแต่ละช่วงอายุ เนื่องจากแพลงก์ตอนสัตว์มีความสำคัญต่อระบบนิเวศน้ำจืด เพราะเป็นผู้บริโภคอันดับหนึ่งซึ่งต่อพลังงานจากผู้ผลิตไปยังผู้บริโภคในอันดับที่สูงขึ้น อีกทั้งแพลงก์ตอนสัตว์แต่ละช่วงอายุอาจจะเป็นอาหารของสัตว์ต่างชนิดกัน ดังนั้นการถ่ายทอดสังกะสีอาจจะกระจายไปยังสัตว์หลายชนิดในระบบนิเวศได้ โดยในการศึกษานี้ผู้วิจัยเลือกใช้ *D. magna* เป็นโมเดลในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในแต่ละช่วงอายุ เนื่องจาก *D. magna* เป็นแพลงก์ตอนสัตว์ที่อาศัยในน้ำจืดและนิยมใช้ในการศึกษาทั่วโลก ในด้านนิเวศวิทยา วิวัฒนาการ ชีววิทยาระดับโมเลกุล สรีรวิทยา รวมถึงพิษวิทยา นอกจากนี้ *D. magna* มีวงชีวิตที่สั้น มีขนาดเล็ก สามารถเลี้ยงได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมและสารเคมี จึงนิยมใช้ *D. magna* เป็นโมเดลในการศึกษา (Kim et al., 2015)

วิธีการดำเนินการวิจัย

สัตว์ทดลอง

Daphnia magna สายพันธุ์ NIES ซึ่งได้รับมาจาก National Institute for Environmental Studies ประเทศญี่ปุ่น (Oda et al., 2006) นำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการทางน้ำ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 23°C และให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และมีมืดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

วิธีการเตรียม *Chlorella vulgaris*

เพาะเลี้ยง *Chlorella vulgaris* ในอาหาร COMBO medium (Kilham et al., 1998) โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 23°C ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และมีมืดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง และให้พองอากาศตลอด 24 ชั่วโมง เป็นเวลาประมาณ 7 วัน จึงจะใช้ *Chlorella* เพื่อใช้เป็นอาหาร *D. magna*

วิธีการเลี้ยง *Daphnia magna*

เลี้ยง *D. magna* จำนวน 20 ตัวใน COMBO medium 750 ml และให้ *Chlorella* เป็นอาหารทุกวัน โดยในวันที่ 1 - 7 ให้ *Chlorella* จำนวน 7.5×10^7 cells ต่อวัน วันที่ 8 - 21 ให้ *Chlorella* เพิ่มเป็น 1.5×10^8 cells ต่อวัน เนื่องจาก *D. magna* เข้าสู่ช่วงตัวโตเต็มวัยจึงต้องการปริมาณอาหารที่เพิ่มขึ้น และควบคุมอุณหภูมิที่ 23 °C ให้แสงสว่าง 16 ชั่วโมง และมีมืด 8 ชั่วโมง

การเตรียม $ZnSO_4$ เพื่อใช้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

เตรียมสารละลาย $ZnSO_4$ ความเข้มข้น 6 g/l จากนั้นเจือจางโดยใช้น้ำ milliQ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ 0, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8, 2.0, 2.2, 2.4 2.6, 2.8, 3.0, 3.2, 3.4, 3.6, 3.8, 4.0, 5.0, 6.0 g/l จากนั้นเจือจางสารละลายที่เตรียมไว้ 1000 เท่า โดยหยดสารละลาย $ZnSO_4$ แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 10 μ l ลงใน COMBO medium 9.990 ml เพื่อให้ COMBO medium มีความเข้มข้นของสารละลาย $ZnSO_4$ อยู่ในช่วง 0 - 6 mg/l

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *Daphnia magna*

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* เพื่อเปรียบเทียบค่า LC50 ของ $ZnSO_4$ ในแต่ละช่วงอายุของ *D. magna* แบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง ได้แก่ ช่วงอายุ 1, 3 และ 5 วัน (รูปที่ 1) โดยทำการทดลองใน 6-well

plate โดยแต่ละหลุมมี COMBO medium 10 ml ที่มีความเข้มข้นของสารละลาย $ZnSO_4$ อยู่ในช่วง 0 – 6 mg/l และ *D. magna* จำนวน 5 ตัว แต่ความเข้มข้นมีจำนวน 10 ตัว ในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 23°C ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และมีมืดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง และไม่ให้อาหารตลอดการทดลอง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (OECD, 2004)

การวิเคราะห์ข้อมูลและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เมื่อครบกำหนดเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนตัว *D. magna* ที่ตาย เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์การตายและค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง โดยใช้วิธี probit analysis และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วย one-way ANOVA และ Tukey's HSD test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* อายุ 1 วัน

การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 - 6 mg/l เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0 และ 1 mg/l ไม่พบการตายของ *D. magna* (percentage of mortality = 0%) และเริ่มมีการตายเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.2 mg/l ขึ้นไป และที่ความเข้มข้น 2 mg/l ขึ้นไป *D. magna* ตายทั้งหมด (percentage of mortality = 100%) โดยค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมงของ *D. magna* อายุ 1 วัน มีค่าเท่ากับ 1.46 ± 0.05 mg/l (รูปที่ 2)

การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* อายุ 3 วัน

การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 – 6 mg/l เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 1.2 mg/l ไม่พบการตายของ *D. magna* และเริ่มมีการตายเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.4 mg/l ขึ้นไป และพบการตายของ *D. magna* ทั้งหมดที่ความเข้มข้น 6 mg/l โดยค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมงของ *D. magna* อายุ 3 วัน มีค่าเท่ากับ 1.52 ± 0.06 mg/l (รูปที่ 3)

การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* อายุ 5 วัน

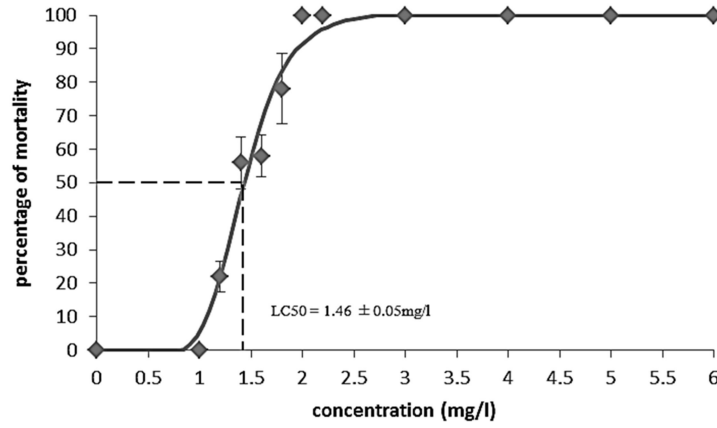
การทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ที่ความเข้มข้น 0 – 6 mg/l เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0, 1 และ 1.2 mg/l ไม่พบการตายของ *D. magna* และเริ่มมีการตายเกิดขึ้นที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 1.4 mg/l ขึ้นไป และที่ความเข้มข้น 5 mg/l ขึ้นไป เปอร์เซ็นต์การตายของ *D. magna* เท่ากับ 100% โดยค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมงของ *D. magna* อายุ 5 วัน มีค่าเท่ากับ 2.29 ± 0.02 mg/l (รูปที่ 4)

เปรียบเทียบความทนทานต่อความเป็นพิษของ $ZnSO_4$ ในแต่ละช่วงอายุของ *D. magna*

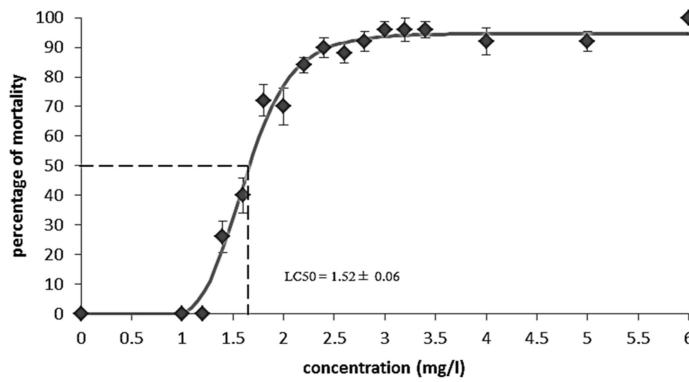
จากการทดสอบพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* อายุ 1, 3 และ 5 วัน พบว่ามีค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.46 ± 0.05 mg/l, 1.52 ± 0.06 mg/l และ 2.29 ± 0.02 mg/l ตามลำดับ (รูปที่ 5) ซึ่งค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมงของกลุ่ม *D. magna* อายุ 5 วัน มีค่า LC50 สูงกว่ากลุ่มอายุ 1 และ 3 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ *D. magna* อายุ 1 และ 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



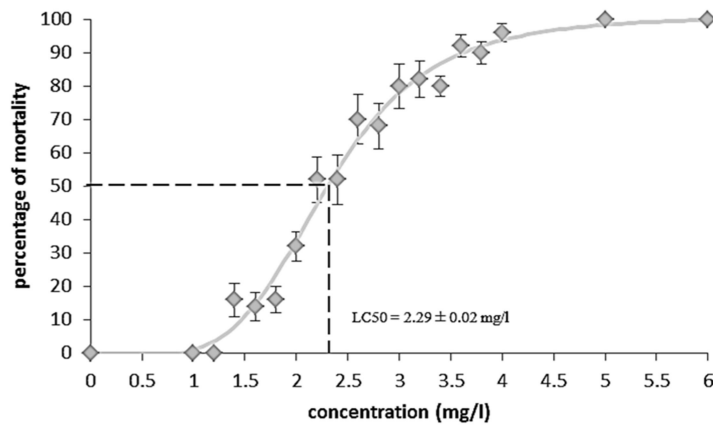
รูปที่ 1 *Daphnia magna* อายุ 1 วัน (A), 3 วัน (B) และ 5 วัน (C) โดยสเกลมีค่าเท่ากับ 500 μ m



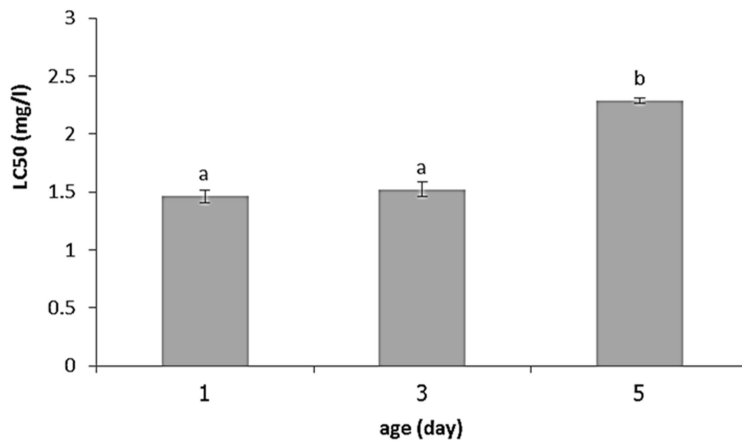
รูปที่ 2 เปอร์เซนต์การตายของ *D. magna* อายุ 1 วัน ในแต่ละความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ ที่ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 3 เปอร์เซนต์การตายของ *D. magna* อายุ 3 วัน ในแต่ละความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ ที่ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4 เปอร์เซนต์การตายของ *D. magna* อายุ 5 วัน ในแต่ละความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ ที่ 48 ชั่วโมง



รูปที่ 5 ค่า LC50 ของ $ZnSO_4$ ที่ 48 ชั่วโมง ในแต่ละช่วงอายุของ *D. magna* โดยตัวอักษรที่แสดงเหนือกราฟที่แตกต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (one-way ANOVA และ Tukey's HSD test, $P < 0.05$)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $ZnSO_4$ สูงขึ้น พบอัตราการตายของ *D. magna* เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ เนื่องจาก $ZnSO_4$ เมื่อละลายน้ำจะอยู่ในรูป zinc ion ซึ่งสามารถเข้าสู่เซลล์ของ *D. magna* แล้วถูกสะสมที่ carapace และ appendages และทำให้เกิดการยับยั้งกระบวนการการสร้างโคติน เปลี่ยนรหัสโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนที่ และมีผลยับยั้งกระบวนการการดูดซึมแคลเซียม ส่งผลให้ปริมาณแคลเซียมในสิ่งมีชีวิตลดลง เกิดภาวะ hypocalcaemia ยับยั้งการเคลื่อนที่ ลดอัตราการหายใจและอัตราการกรอง ทำให้การได้รับสารอาหารและสร้างพลังงานน้อยลง มีการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ลดลง และอาจชักนำให้เกิดการตายได้ (Muysen et al., 2006; Poynton et al., 2007; Poynton et al., 2011) Bacchetta และคณะ ได้ทดสอบความเป็นพิษของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* ระยะตัวอ่อนอายุ 1 วัน มีค่า LC50 เท่ากับ 1.37 mg/l ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับในงานวิจัยนี้ และพบว่า zinc ion มีผลทำให้แควคิวโอลมีขนาดใหญ่ขึ้น และมีฤทธิ์เจาะจงทำลายไมโทคอนเดรีย ส่งผลให้ไมโทคอนเดรียบวมขึ้น cristae และ outer membrane บางส่วนแตกสลาย ทำให้ไมโทคอนเดรีย เสื่อมประสิทธิภาพลง และ zinc ion ยังรบกวนกระบวนการ electron transport chain ส่งผลให้เกิด reactive oxygen species (ROS) (Bacchetta et al., 2016; Bacchetta et al., 2017) นอกจากนี้ยังพบว่า zinc ions มีผลยับยั้งการทำงานของ aconitase ซึ่งเป็น enzyme ในไมโทคอน

เดรียของ prostate cell ที่ใช้เป็นตัวกระตุ้นการเปลี่ยน citrate เป็น isocitrate ใน Krebs cycle และ zinc ion มีผลกระตุ้นการทำงานของกระบวนการ apoptosis โดย zinc ions จะกระตุ้นการสร้าง BAX ซึ่งเป็นโปรตีนที่ทำให้เกิดการตายและกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ caspase ทำให้เกิด apoptosis ขึ้น (Ruttkay-Nedecky et al., 2013)

นอกจากนี้เมื่อ *Daphnia* ได้รับโลหะหนักเข้าสู่เซลล์จะชักนำให้เกิดการแสดงออกของ metallothionein มีบทบาทในการควบคุมการรักษาสมดุลของแร่ธาตุ สำหรับสังกะสีซึ่งเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต การได้รับปริมาณสังกะสีในความเข้มข้นต่ำ metallothionein จะมีบทบาทในการเพิ่มปริมาณ superoxide dismutase (SOD) ซึ่งเป็น antioxidant enzyme ช่วยปกป้องเซลล์จากสารอนุมูลอิสระ แต่ถ้าได้รับสังกะสีในความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิด reactive oxidative radical และยับยั้งการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ จนทำให้เกิดการเป็นพิษต่อเซลล์ metallothionein จะมีบทบาทในการกำจัดสารโลหะหนักออกจากเซลล์ และเพิ่มการสังเคราะห์ metallothionein เพิ่มขึ้น (Guan and Wang, 2004; Fan et al., 2009)

จากการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ใน *D. magna* อายุ 5 วัน มีค่า LC50 สูงกว่ากลุ่ม *D. magna* อายุ 1 และ 3 วัน อาจเนื่องมาจากขนาดตัวของ *D. magna* เพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น ทำให้อัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของลำตัวน้อยกว่า *D. magna* ที่อายุน้อยกว่า โดยอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของลำตัวที่น้อยลง ส่งผลให้อัตราการสะสมของสังกะสีในร่างกายน้อยกว่าในกลุ่มอื่น จึงทำให้ *D. magna* อายุ

5 วัน มีค่า LC50 สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า ที่ศึกษาพิษแบบเฉียบพลันของ nanosilver ใน *Daphnia* 3 ชนิด พบว่า *D. magna* มีความทนทานต่อ nanosilver มากที่สุด อาจเนื่องมาจาก *D. magna* มีขนาดลำตัวใหญ่ *D. pulex* และ *D. galeata* ทำให้ *D. magna* มีอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของลำตัวน้อยกว่าสปีชีส์อื่น ส่งผลให้มีความทนทานต่อ nanosilver มากกว่า (Volker et al., 2013) ดังนั้นในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ค่า LC50 ในกลุ่ม *D. magna* ที่มีอายุน้อยและมีขนาดตัวเล็กจึงต่ำกว่ากลุ่มที่มีขนาดใหญ่และมีอายุมากกว่า เนื่องจากมีโอกาสได้รับสารพิษสูง

นอกจากนี้ในขณะที่กำลังทดลอง *D. magna* กลุ่มอายุ 5 วัน เริ่มมีการสร้างไข่ ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากเริ่มทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ อาจเป็นไปได้ว่า *D. magna* กลุ่มอายุ 5 วันต้องการสังกะสีมากขึ้น เนื่องจากในการสร้างไข่ของ *D. magna* จะมีการสูญเสียปริมาณของสังกะสีโดยกระบวนการ maternal transfer ซึ่งจำนวนไข่จะแปรผันตามปริมาณของสังกะสีในร่างกาย จึงมีการเพิ่มการผลิตไข่ให้มากขึ้น นอกจากนี้ในกระบวนการ maternal transfer มีการเพิ่มประสิทธิภาพการ detoxification ในรุ่นลูกอีกด้วย เพื่อเพิ่มอัตราการอยู่รอดให้รุ่นลูก (Guan and Wang, 2004; Brausch and Salice, 2011)

ผลจากการศึกษาความเป็นพิษของสังกะสีในงานวิจัยครั้งนี้ อาจนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดค่าการปนเปื้อนของสังกะสีในแหล่งน้ำได้ในอนาคต นอกจากนี้ควรศึกษาเพิ่มเติมในแพลงก์ตอนสัตว์ชนิดอื่นด้วยเช่นกัน เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการกำหนดให้แพลงก์ตอนสัตว์เป็นดัชนีชีวภาพ (bioindicator) ที่สามารถชี้วัดคุณภาพน้ำและการปนเปื้อนของสารมลพิษในแหล่งน้ำ เนื่องจาก bioindicator ถือเป็นดัชนีที่สามารถบ่งชี้ถึงคุณภาพแหล่งน้ำ ปริมาณสารปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่มีผลกระทบโดยตรงต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำได้ ซึ่งจะเป็ประโยชน์ในการจัดการแหล่งน้ำในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

การทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของ $ZnSO_4$ ในแต่ละช่วงอายุของ *D. magna* มีค่า LC50 ที่ 48 ชั่วโมง ของกลุ่ม *D. magna* อายุ 5 วัน สูงกว่ากลุ่มอายุ 1 และ 3 วัน อาจเนื่องมาจากมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่ต่ำกว่ากลุ่มอื่น และความ

ต้องการของสังกะสีที่เพิ่มสูงขึ้น เพื่อใช้ในการสร้างไข่อีกด้วย อย่างไรก็ตามยังไม่ค่อยมีการศึกษาผลของ maternal transfer ต่อการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ รวมถึงความทนทานต่อสารพิษในรุ่นลูก ดังนั้นการทดลองเกี่ยวกับ maternal transfer จึงเป็นที่น่าสนใจ เพื่อให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับพิษวิทยาของสังกะสีมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก โครงการพัฒนาและส่งเสริมผู้มีความสามารถพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (พสวท.) และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- Bacchetta, R., Maran, B., Marelli, M., Santo, N. and Tremolada, P. (2016). Role of soluble zinc in ZnO nanoparticle cytotoxicity in *Daphnia magna*: a morphological approach. *Environ Res.* 148: 376–385.
- Bacchetta, R., Santo, N., Marelli, M., Nosengo, G. and Tremolada, P. (2017). Chronic toxicity effects of $ZnSO_4$ and ZnO nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environ Res.* 152: 128-140.
- Bhamre, P. R., Thorat, S. P., Desai, A. E. and Deoray, B. M. (2010). Evaluation of acute toxicity of mercury, cadmium and zinc to a freshwater mussel *Lamellidens consobrinus*. *Our Nature.* 8: 180-184.
- Boone, C., Bond, C., Buhl, K. and Stone, D. (2012). Zinc Sulfate General Fact Sheet; National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. <http://npic.orst.edu/factsheets/zns04gen.html>.
- Brausch, J. M. and Salice, C. J. (2011). Effects of an environmentally realistic pesticide mixture on *Daphnia magna* exposed for two generations. *Arch Environ Contam Toxicol.* 61: 272–279.
- Fan, W., Tang, G., Zhao, C., Duan, Y. and Zhang, R. (2009). Metal accumulation and biomarker responses in *Daphnia magna* following cadmium and zinc exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 28(2): 305–310.
- Guan, Rai. and Wang, W., (2004). Cd and Zn uptake kinetics in *Daphnia magna* in relation to Cd exposure history. *Environ Sci Technol.* 38: 6051-6058.

- Heinlaan, M., Ivask, A., Blinova, I., Dubourguier, H. and Kahru, K. (2008). Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere* 71: 1308–1316.
- Kim, H. J., Koedrith, P. and Seo, Y. R. (2015). Ecotoxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of environmental chemical toxicity using aquatic invertebrate, *Daphnia* model organism. *International Journal of Molecular Sciences* 16: 12261-12287.
- Kilham, S. S., Kreeger, D.A., Lynn, S.G., Goulden, C.E., Herrera, L. (1998). COMBO: a defined freshwater culture medium for algae and zooplankton. *Hydrobiologia* 337: 147-159.
- Muysen, B. T. A., De Schampelaere, K. A. C. and Janssen, C. R. (2006). Mechanisms of chronic waterborne Zn toxicity in *Daphnia magna*. *Aquat Toxicol.* 77: 393–401.
- Oda, S., Tatarazako, N., Watanabe, H., Morita, M., and Iguchi, T. (2006). Genetic differences in the production of male neonates in *Daphnia magna* exposed to juvenile hormone analogs. *Chemosphere* 63: 1477–1484.
- OECD (2004). *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test. In: OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No.202 Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
- Poynton, H. C., Lazorchak, J. M., Impellitteri, C. A., Smith, M. E., Rogers, K., Patra, M., Hammer, K., Joelallen, H. and Vulpe, C. V. (2011). Differential gene expression in *Daphnia magna* suggests distinct modes of action and bioavailability for ZnO nanoparticles and Zn ions. *Environ Sci Technol.* 45: 762-768.
- Poynton, H. C., Varshavsky, J. R., Chang, B., Cavigliolo, G., Chan, S., Holman, P. S., Loguinov, A. V., Bauer, D. J., Komachi, K., Theil, E.C., Perkins, E. J., Hughes, O. and Vulpe, C. V. (2007). *Daphnia magna* ecotoxicogenomics provides mechanistic insights into metal toxicity. *Environ Sci Technol.* 41: 1044-1050.
- Ruttkey-Nedecky, B., Nejd, L., Gumulec, J., Zitka, O., Masarik, M., Eckschlager, T., Stiborova, M., Adam, V. and Kizek, R. (2013). The role of metallothionein in oxidative stress. *International Journal of Molecular Sciences* 14: 6044-6066.
- Stefanidou, M., Maravelias, C., Dona, A. and Spiliopoulou, C. (2006). Zinc: a multipurpose trace element. *Arch Toxicol.* 80: 1–9.
- Volker, C., Boedicker, C., Daubenthaler, J., Oetken, M. and Oehlmann, J. (2013). Comparative toxicity assessment of nanosilver on three *Daphnia* species in acute, chronic and multi-generation experiments. *PLOS ONE* 8(10): 1-10.

