หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

ก. การพัฒนาการของไข่หอยนางรมปากจีบ (Crassostrea commercialis)

ไข่หอยนางรมปากจีบที่ถูกปล่อยออกมาใหม่ ๆ มีรูปร่างค่อนข้างรี ขนาดกว้างประมาณ 38.5 - 42.1 ไมครอน ยาวประมาณ 43.1 - 51.4 ไมครอน ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับไข่หอยนางรมปากจีบที่ สุวราภรณ์ จึงแย้มยิ่น (2525) ได้รายงานไว้คือความกว้างประมาณ 39.8 - 42.8 ไมครอน และความยาวประมาณ 43.9 - 51.0 ไมครอน ไข่จะมีรูปร่างค่อย ๆ กลมมากขึ้นเมื่อสัมผัสกับน้ำทะเล ส่วนสเปิร์มมีขนาดเล็กมาก ขณะที่สเปิร์มผสมกับไข่จะมีสเปิร์มเกาะอยู่รอบไข่มากมาย แต่สเปิร์มเพียงตัวเดียวเท่านั้นที่สามารถเข้าผสมกับไข่ได้ เมื่อผสมแล้วจะสร้าง fertilization membrane ทำให้ผนังหนาขึ้นเพื่อป้องกันไม่ให้สเปิร์มตัวอื่นเข้าผสมได้อีก แต่ถ้าสเปิร์มมากจนเกินไปอาจทำให้เกิด polyspermy ซึ่งมีผลทำให้ไข่มีพัฒนาการที่ผิดปกติ สำหรับขั้นตอนในการพัฒนาการของไข่หอยนางรมปากจีบมีลักษณะคล้ายกับหอยนางรมสกุล Crassostrea ทั่ว ๆ ไป

ในการทดลองบางครั้งพบว่าเมื่อครบ 48 ชั่วโมงแล้ว เอมบริโอไม่สามารถเจริญเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped แต่พัฒนาการได้แค่ระยะ blastula หรือ trochophore larvae หรือเจริญเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ที่ไม่สมบูรณ์คือตัวอ่อนไม่สามารถสร้างเปลือกหุ้มอวัยวะภายในได้หมด ทั้งนี้อาจเนื่องจากความหนาแน่นของไข่มากเกินไป ซึ่ง Loosanoff and Davis (1963) รายงานว่าลูกหอยที่เลี้ยงไว้หนาแน่นเกินไป จะทำให้การสร้างเปลือกทั้งสองขึ้นมาปกคลุมตัวหอยไม่สมบูรณ์โดยเปลือกมีลักษณะคล้ายปีกเล็ก ๆ ลูกหอยที่มีลักษณะผิดปกตินี้เรียกว่า Winged larvae นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสภาพของไข่ คุณสมบัติของน้ำที่ใช้เลี้ยงตัวอ่อน ตลอดจนอุณหภูมิและความเค็มของน้ำ เป็นต้น

จากการทดลองผลของอุณหภูมิที่มีต่อระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการของหอยนางรมปากจีบจากไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped จะเห็นว่าอุณหภูมิสูง (32.5 องศาเซลเซียส) นั้น การพัฒนาในแต่ละขั้นจะใช้เวลาน้อยกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (28.0 และ 23.5 องศาเซล-

เซียส) ซึ่งสอดคล้องกับ Davis and Calabrese (1969) ที่รายงานว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ตัวอ่อนของ Ostrea edulis มีพัฒนาการเร็วขึ้น แต่อุณหภูมิสูงหรือต่ำจนเกินไปจะเป็นอันตรายต่อตัวอ่อนหอยนางรม Lough and Gonor (1971) พบว่าการพัฒนาของ Adula californiensis จะเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น วัฒนา ไวยนิยา (2523) อ้างถึง Giudice ในปี ค.ศ. 1973 ว่าอุณหภูมิต่ำทำให้การเจริญเติบโตของไข่หอยเม่นช้าลง เนื่องจากอุณหภูมิต่ำทำให้การทำงานของเอนไซม์ในขบวนการเมตาโบลิซึมช้ากว่าปกติ และอุณหภูมิต่ำจนเกินไปจะขัดขวางและทำลาย mitotic apparatus ซึ่งเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลโดยตรง โดยเฉพาะการแบ่งเซลในระยะ cleavage นั้นจะทำให้ mitotic apparatus เปลี่ยนสภาพจากวุ้นข้น (gel) เป็นสารละลายเหลว (sol) และยังมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง permeability ของผนังเซลต่อฟอสเฟต โดยทำให้ฟอสเฟตซึมผ่านเข้าเซลได้น้อยลงหรือเข้าไม่ได้เลย ซึ่งทำให้การสร้าง ATP, DNA และ RNA ลดน้อยลง และ Czihak (1973) รายงานว่า DNA และ RNA มีผลต่อการเจริญของเอมบริโอของหอยเม่น เมื่อมีการสร้าง DNA และ RNA มากขึ้น จะทำให้เอมบริโอมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น Cairns et al.(1975 b) รายงานว่าอุณหภูมิภายในร่างกายของสัตว์ทะเลมีค่าใกล้เคียงกับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม (ectothermy) ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนระหว่างสัตว์ทะเลกับสิ่งแวดล้อมมีค่าสูง และขบวนการหรือปฏิกิริยาทางเคมีต่าง ๆ ภายในร่างกายของสิ่งมีชีวิตจะเพิ่มขึ้น 2 - 3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส (Q_{10}) เผดิมศักดิ์ จารุพันธุ์ (2522) รายงานว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญเติบโตของลูกหอยนางรมวัยอ่อน (Crassostrea lugubris) โดยลูกหอยใช้เวลาพัฒนาตั้งแต่ไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ที่อุณหภูมิ 23.5, 28.0 และ 32.5 องศาเซลเซียส ประมาณ 48 - 60, 48 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ และสรุปว่าอุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ลูกหอยมีพัฒนาการเร็วขึ้น ส่วนไข่หอยนางรมปากจีบ (Crassostrea commercialis) ซึ่งสุวราภรณ์ สิงแย้มยิ่น (2525) ได้รายงานว่าใช้เวลาพัฒนาจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ที่อุณหภูมิ 24.8 - 26.0 องศาเซลเซียส นั้นประมาณ 17 - 20 ชั่วโมง ส่วนระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ของหอยนางรมชนิดอื่น ๆ เช่น Crassostrea angulata, Crassostrea gigas, Crassostrea glomerata, Crassostrea virginica, Crassostrea lugubris และ Crassostrea commercialis แสดงในตารางที่ 27 จะเห็นว่าระยะเวลาที่ใช้ในแต่ละขั้นของพัฒนาการนอก

ตารางที่ 27 ระยะเวลาที่ใช้ในการพัฒนาการจากไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ในหอยนางรมสกุล Crassostrea : C.angulata, C.gigas, C.glomerata, C.virginica, C.lugubris, C.commercialis[1], C.commercialis[2], C.commercialis[3]

	ระยะเวลาที่ตัวอ่อนใช้ในการพัฒนาการ							
	C.angulata	C.gigas	C.glomerata	C.virginica	C.lugubris	C.commercialis[1]	C.commercialis[2]	C.commercialis[3]
อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	20-23	25	17-18	23-25	28	25	25.8	28
ระยะของตัวอ่อน								
First polar body	-	-	30-45 นาที	25-52 นาที	35 นาที	-	20 นาที	20 นาที
Second polar body	30-60 นาที	50-70 นาที	45-60 นาที	40-65 นาที	55-60 นาที	-	25 นาที	35 นาที
First cleavage	70-80 นาที	100 นาที	90 นาที	45 นาที	75.100 นาที	90 นาที	30 นาที	45 นาที
Second cleavage	80-90 นาที	180 นาที	120 นาที	50-120 นาที	120 นาที	120 นาที	40 นาที	70 นาที
Sixth cleavage	5 ชม.30นาที	4-6 ชม.	4-5 ชม.	2 ชม.15นาที	3 ชม.	2ชม.30นาที	2ชม.5นาที	2 ชม.5 นาที
Swimming blastula	8 ชม.	10-20 ชม.	7 ชม.	6ชม.30นาที	4ชม.30นาที	5 ชม.	3ชม.30นาที	3ชม.35 นาที
Trochophore larvae	14 ชม.	24-30 ชม.	12-18 ชม.	8-9 ชม.	20 ชม.	6 ชม.	4.30-5ชม.	12 ชม.
D-shaped larvae	40 ชม.	48 ชม.	36-48 ชม.	32-48 ชม.	48 ชม.	34 ชม.	17ล20 ชม.	18 ชม.

C.angulata จาก Anemiya ในปี ค.ศ. 1926 อ้างตาม Dinamani (1973)

C.gigas จาก Fujiya ในปี ค.ศ. 1929; Anemiya ในปี ค.ศ.1931 อ้างตาม Dinamani (1973)

C.glomerata จาก Dinamani (1973)

C.virginica จาก Galtsoff (1964)

C.lugubris จาก เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ (2522)

C.commercialis[1] จาก Roughley ปี ค.ศ. 1933 อ้างตาม Dinamani (1973)

C.commercialis[2] จาก สุวราภรณ์ ลิ่งแย้มปิ่น (2525)

C.commercialis[3] จาก ผลการทดลอง

จากจะแตกต่างกันเนื่องจากอุณหภูมิแล้วยังขึ้นอยู่กับชนิดของหอยนางรม ความสมบูรณ์และความหนาแน่นของไข่ ความเค็มของน้ำ และคุณภาพของน้ำที่ใช้เลี้ยงลูกหอย เป็นต้น

นอกจากนี้อุณหภูมิมีผลทำให้ขนาดของตัวอ่อนระยะ D-shaped แตกต่างกันคือที่อุณหภูมิ 32.5 องศาเซลเซียส ตัวอ่อนระยะ D-shaped ในเวลา 48 ชั่วโมง มีขนาดความกว้างเฉลี่ย และความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 56.25 และ 65.50 ไมครอน ที่อุณหภูมิ 28.0 องศาเซลเซียส มีขนาด 57.00 และ 63.25 ไมครอน ส่วนที่อุณหภูมิ 23.5 องศาเซลเซียส มีขนาด 49.50 และ 58.0 ไมครอน จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 32.5 องศาเซลเซียส ตัวอ่อนระยะ D-shaped มีขนาดใหญ่กว่าที่อุณหภูมิ 28.0 และ 23.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากอุณหภูมิสูงมีผลทำให้ metabolic rate เพิ่มขึ้น (Naylor, 1965) นอกจากอุณหภูมิจะมีผลต่อขนาดของตัวอ่อนหอยนางรมแล้ว ชนิดของหอยนางรมก็มีผลต่อขนาดของตัวอ่อนด้วย คือ ตัวอ่อนระยะ D-shaped Crassostrea virginica มีขนาดกว้างเฉลี่ย 67 ไมครอน ยาวเฉลี่ย 75 ไมครอน (Loosanoff and Davis, 1963) ส่วน Galtsoff (1964) วัดขนาดยาว Crassostrea virginica ได้กว้างประมาณ 60 - 68 ไมครอน ยาวประมาณ 70 - 75 ไมครอน Dinamani (1973) วัดขนาดของ Crassostrea glomerata กว้าง 45 - 50 ไมครอน ยาว 50 - 60 ไมครอน ส่วน Crassostrea lugubris วัดขนาดได้ประมาณ 65 - 75 ไมครอน (เผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ 2522) และลุ่วราภรณ์ แจ้งแย้มชื่น (2525) วัดขนาดของ Crassostrea commercialis ได้กว้าง 50 - 59 ไมครอน ยาว 60 - 63 ไมครอน

จากการศึกษาพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อพัฒนาการที่เป็นปกติของเอมบริโอหอยนางรมปากจีบจนถึงตัวอ่อนระยะ D-shaped กล่าวคือ ที่อุณหภูมิ 23.5, 28.0 และ 32.5 องศาเซลเซียส เอมบริโอที่พัฒนาผิดปกติมีปริมาณ 9.5%, 4.5% และ 17.0% ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิ 28.0 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิปกติทำให้เกิดความผิดปกติน้อยที่สุดซึ่งสอดคล้องกับ MacInnes and Calabrese (1977) ที่รายงานว่าอุณหภูมิ 20, 25 และ 30 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดความผิดปกติของเอมบริโอหอยนางรม (Crassostrea virginica) เท่ากับ 4.3, 2.3 และ 11.6% ตามลำดับ โดยที่อุณหภูมิปกติ (25 องศาเซลเซียส) ทำให้เกิดความผิดปกติน้อยที่สุด Woodbery (1954) รายงานว่าอุณหภูมิต่ำกว่าปกติจะทำให้การทำงานตลอดจนกิจกรรมต่าง ๆ ช้าลงจนถึงจุดหนึ่งที่ปฏิกิริยาทางเคมีในร่างกายหยุดทำงาน ส่วนอุณหภูมิที่สูงกว่าปกติ ปฏิกิริยาทางเคมีจะเพิ่มขึ้น

แต่จะทำลายเอนไซม์และโปรตีนบางส่วนและสัตว์อาจตายได้ถ้าอุณหภูมิยังคงสูงต่อไปเรื่อย ๆ ส่วน Somero and Phillips (1977) พบว่าอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าปกติจะทำให้ความสามารถของเอนไซม์ในการจับกับ substrate สูญเสียไปอย่างรวดเร็ว ส่วนเผดิมศักดิ์ จารยะพันธุ์ (2522) รายงานว่าการที่เอมบริโอมีพัฒนาการที่ผิดปกติมากขึ้นที่อุณหภูมิสูงอาจเนื่องมาจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้ไข่และสเปิร์มมีความไว (active) มากขึ้น โอกาสที่ไข่จะได้รับการผสมจากสเปิร์มหลาย ๆ ตัวจึงมีมาก (Polyspermy) ซึ่งมีผลทำให้เอมบริโอที่ได้มีพัฒนาการที่ผิดปกติสูง

ข. ผลของโลหะหนัก (ทองแดงและแคดเมี่ยม) ที่มีต่อพัฒนาการของหอยนางรมปากจีบจากไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped ที่อุณหภูมิ 23.5, 28.0 และ 32.5 องศาเซลเซียส

จากการทดลองพบว่าทองแดงมีความเป็นพิษมากกว่าแคดเมี่ยม แต่ความเป็นพิษของโลหะหนักทั้งสองที่มีต่อหอยนางรมปากจีบวัยอ่อนนั้นแตกต่างกัน ซึ่ง Calabrese et al. (1973) รายงานความเป็นพิษของโลหะหนักต่อตัวอ่อนหอยนางรม (Crassostrea virginica) คือ ทองแดงมีพิษมากกว่าแคดเมี่ยม วัฒนา ไวยนิยา (2523) รายงานความเป็นพิษของโลหะหนักที่มีต่อการเจริญของเอมบริโอถึงตัวอ่อนระยะพลูเทียส์ของหอยเม่น (Temnopleurus toreumaticus) คือ ทองแดงมีความเป็นพิษมากกว่าแคดเมี่ยมเช่นกัน ซึ่งความเป็นพิษของโลหะหนักที่มีต่อหอยนั้น Timourian (1968) พบว่าสังกะสีมีผลในการยับยั้งการพัฒนาการและการเจริญเติบโตของตัวอ่อนหอยเม่น (Lytechias pictus) โดยลดการทำงานของเอนไซม์ การสร้างโปรตีนตลอดจนการสร้างเปลือกในหอยสองฝา Bryan (1971) รายงานว่าสัตว์ต้องการโลหะในปริมาณที่จำกัดค่าหนึ่งเพื่อให้ขบวนต่าง ๆ ภายในร่างกายดำเนินไปตามปกติ แต่ถ้าปริมาณของโลหะมีมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยการปิดกั้น reactive sites นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงระบบเอนไซม์อาจมีผลทำให้เอมบริโอและตัวอ่อนมีขนาดลดลงอีกด้วย (Coglianese and Martin, 1981)

เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของทองแดงและแคดเมี่ยม จากค่า EC_{50} จะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 28.0 องศาเซลเซียส จะมีความเป็นพิษน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 23.5 และ 32.5 องศาเซลเซียส และค่า EC_{50} ของโลหะหนักทั้งสองที่อุณหภูมิ 28.0 องศาเซลเซียส กับค่า EC_{50} ของโลหะหนักทั้งสองที่อุณหภูมิ 23.5 และ 32.5 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า EC_{50} ของโลหะหนักทั้งสองที่อุณหภูมิ 23.5 องศาเซลเซียส กับค่า EC_{50} ของโลหะหนักทั้งสองที่อุณหภูมิ 32.5 องศาเซลเซียส พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P = 0.05$) นั่นคือ อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าปกติจะทำให้ความรุนแรงของพิษมีมากกว่าอุณหภูมิปกติ ผลการทดลองครั้งนี้ได้ขัดแย้งกับ MacInnes and Calabrese (1977) ซึ่งได้ทำการทดลองกับเอมบริโอของหอยนางรม (Crassostrea virginica) ปรากฏว่าอุณหภูมิไม่มีผลต่อความเป็นพิษของโลหะหนัก (ปรอท สังกะสี และทองแดง) ส่วนวัฒนา ไวยนิยา (2523) ซึ่งได้ทำการทดลองกับไข่หอยเม่น (Temnopleurus toreumaticus) พบว่าความเป็นพิษของโลหะหนักจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น Cairns et al. (1975 a) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความเป็นพิษของโลหะต่อสัตว์ทะเลพบว่าอุณหภูมิเพียงอย่างเดียวสามารถทำให้สัตว์ตายได้และผลต่อขบวนการ osmoregulation การทำงานของเอนไซม์และขบวนการเมตาโบลิซึมต่าง ๆ นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลทำให้เกลือโลหะละลายได้มากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราของน้ำและเกลือโลหะที่ละลายอยู่ในน้ำให้เข้าสู่ผนังเซลของสัตว์ได้มากขึ้น

ค. <u>ผลของโลหะหนัก (ทองแดงและแคดเมี่ยม) ที่มีต่อหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัยที่อุณหภูมิ 23.5, 28.0 และ 32.5 องศาเซลเซียส</u>

จากการทดลองพบว่าแคดเมี่ยมมีพิษมากกว่าทองแดง ซึ่งสอดคล้องกับ Shuster and Pringle ในปี ค.ศ. 1968 อ้างตาม Eisler (1977) ว่าความเป็นพิษของโลหะหนักที่มีต่อหอยนางรม(Crassostrea virginica) คือ แคดเมี่ยมมีพิษมากกว่าทองแดง และปรียา สมมณี (2522) ศึกษาความเป็นพิษของโลหะหนักต่อหอยเสียบ (Danax faba) คือ แคดเมี่ยมมีพิษมากกว่าทองแดง ส่วน Eisler (1977) รายงานความเป็นพิษของโลหะหนักต่อ softshell clam (Mya arenaria) และ guahaug clam (Mercenaria mercenaria) ว่าทองแดงมีพิษมากกกว่าแคดเมี่ยม และจากผลการทดลองจะเห็นว่าแคดเมี่ยมมีความรุนแรงของพิษมากกว่าทองแดงไม่มากนัก เมื่อพิจารณาจากอัตราการเพิ่มความเป็นพิษของแคดเมี่ยม

(k = 0.0339) และทองแดง (k = 0.0404) จะเห็นว่าใกล้เคียงกันมาก จึงทำให้ความเป็นพิษของแคดเมี่ยมและทองแดงไม่ต่างกันมากนัก ซึ่งสอดคล้องกับปรีชา สมมณี (2522) ที่รายงานว่าความเป็นพิษของแคดเมี่ยมกับทองแดงที่มีต่อหอยเสียบไม่แตกต่างกันมากนัก

ในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการทดลองพบว่าหอยนางรมไม่ตาย แต่หลังจากนั้นหอยจะเริ่มตายซึ่งสอดคล้องกับ Okazaki (1976) ที่ว่าในตอนแรก ๆ หอยจะไม่ตายเนื่องจากหอยสามารถสะสมโลหะหนักไว้ภายในตัวได้ในปริมาณสูง Ahsanullah (1976) และ Engel and Fowler (1979) รายงานว่าหอยนางรมสามารถสะสมโลหะหนักไว้ในเนื้อเยื่อในปริมาณสูงโดยในระยะแรกจะไม่เป็นอันตราย แต่มันจะสะสมในปริมาณสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงระดับหนึ่งที่หอยไม่สามารถทนทานได้มันจะตายไป Engel and Fowler (1979) รายงานว่าการที่หอยนางรมสามารถสะสมโลหะหนักไว้ในร่างกายได้มาก ๆ นั้นเนื่องจากหอยมีความสามารถในการลดความเป็นพิษของโลหะหนักในตัวได้โดยการรวมตัวกับโปรตีน เช่นแคดเมี่ยมจะรวมตัวกับโปรตีนได้ cadmium - binding protein ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำและเก็บไว้ภายในเซล ส่วนทองแดงจะรวมกับโปรตีนได้โปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและเก็บไว้ภายในเซลหรืออาจขับออกจากตัวหอยโดยการปล่อย gelatinous material ออกไป ซึ่งจากการทดลองใช้ทองแดงและแคดเมี่ยมที่ความเข้มข้นสูง ๆ พบว่าหอยนางรมปากจีบจะขับเมือกออกมานอกตัวและเกิดเป็นฟองอยู่บนผิวหน้าน้ำทะเล Bryan (1976 a) รายงานว่าหอยนางรม (Crassostrea virginica) เก็บทองแดงไว้ในเม็ดเลือดขาว (leucocytes) และถ้ามีมากขึ้นจะทำให้เนื้อหอยนางรมมีสีเขียว Noel-Lambot ในปี ค.ศ. 1976 อ้างตาม Cunningham (1979) ว่าการลดความเป็นพิษของโลหะหนักใน Mytilus edulis นั้นคล้ายกับที่พบในหอยนางรมโดยโลหะหนักจะรวมกับโปรตีนแล้วเก็บไว้ภายในเซลและคล้ายกับ thionein ที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม Kumaragura and Ramamoorthi (1978) ศึกษาผลของปรอทต่อหอยนางรมพบว่ามี phagocytes เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก และมีเมือกถูกขับออกมาอยู่เหนือเหงือก ซึ่งมีผลต่อการหายใจของหอย และอาจทำให้หอยตายได้ ส่วน Kumaragura et al. (1980) รายงานว่าทองแดงทำให้เกิดถุงของเหลวที่ผิดปกติขึ้นภายในเนื้อเยื่อส่วน mantle ของ Meretric casta มีเมือกเป็นก้อนอยู่บนเหงือก มี phagocytes จำนวนมากอยู่ในเนื้อเยื่อส่วน mantle และส่วนของเหงือกกับ mantle จะมีสีเขียวอมเหลือง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเป็นพิษของทองแดงจะกระทำต่อเนื้อเยื่อบุผิว (integument) ของหอย

จากการทดลองผลของอุณหภูมิที่มีต่อความเป็นพิษของโลหะหนัก (ทองแดงและแคดเมี่ยม) นั้นพบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นความรุนแรงของพิษจะเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Lloyed and Herbert (1962) และ Eisler (1977) ที่ว่าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจะทำให้ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นและสัตว์ที่อยู่ในสารพิษมีช่วงเวลาการอยู่รอดลดลง Zaroogian et al. (1979) รายงานว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ตะกั่วเข้าสู่ร่างกายสัตว์มากขึ้น ส่วน Law (1981) พบว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ปฏิกิริยาทางเคมีเพิ่มขึ้น ขบวนการทางสรีรวิทยาเกิดการเปลี่ยนแปลง ถ้าอุณหภูมิสูงมาก ๆ เอนไซม์และฮอร์โมนซึ่งเป็นตัวเร่งและควบคุมปฏิกิริยาทางชีวเคมีจะแตกตัวออก ฮอร์โมนและเอนไซม์มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบและมีไฮโดรเจนบอนด์ซึ่งแตกตัวได้ง่ายเมื่อได้รับความร้อน ซึ่งมีผลทำให้ขบวนการเมตาโบลิซึมลดลง แต่ถ้าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นยังไม่ถึงขั้นอันตรายจะทำให้ขบวนการเมตาโบลิซึมเพิ่มขึ้น การดูดน้ำผ่านเหงือกของสัตว์จะเพิ่มขึ้นทำให้สารพิษเข้าสู่ร่างกายได้มากขึ้น

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและโลหะหนัก (ทองแดงและแคดเมี่ยม) ที่มีต่อเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรมปากจีบพบว่า cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกมีการเคลื่อนไหวลดลงเมื่อความเข้มข้นของโลหะหนักเพิ่มขึ้นซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองโดยใช้หอยนางรมปากจีบที่มีชีวิตทั้งตัว (whole organism) และจากผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Vernberg et al. (1963), Lagerspetr and Dubitscher (1966), Winkle (1972 และ Nicol (1976) ที่รายงานว่าการตอบสนองของเนื้อเยื่อส่วนเหงือกจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับสัตว์ทดลองที่มีชีวิตทั้งตัว

ในการนำเนื้อเยื่อส่วนเหงือกมาใช้ทดลองนั้น Winkle (1972) รายงานว่าเหงือกเป็นส่วนหนึ่งที่เหมาะสมที่จะนำมาทดลองถึงความทนทานต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อมและมลภาวะต่าง ๆ เนื่องจากเหงือกมีความสำคัญในการกินอาหาร หายใจ และขับถ่ายของเสีย นอกจากนี้เหงือกยังเป็นบริเวณที่สำคัญที่มีการรับสารพิษต่าง ๆ เข้าสู่ร่างกาย (MacLeod and Pessah, 1973) และการเคลื่อนไหวของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรม (Crassostrea virginica) ซึ่ง Galtsoff (1958) ได้ทำการศึกษาพบว่าไม่อยู่ภายใต้ระบบประสาท (nerve ganglia) Vernberg (1963) ได้ทำการทดลองหาพิกัดความเค็มที่ทำให้ตาย (lethal salinity limits) ของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรม (Crassostrea

virginica) ปรากฏว่าให้ผลสอดคล้องกับทฤษฎีความเค็มที่ทำให้ตายของหอยที่มีชีวิตทั้งตัว และฤดูกาลกับขนาดของหอยไม่มีผลต่อช่วงเวลาการอยู่รอดของเนื้อเยื่อส่วนเหงือก

เมื่อเปรียบเทียบความทนทานของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกในแต่ละอุณหภูมิ พบว่าที่อุณหภูมิ 28.0 องศาเซลเซียส cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกทำงานตามปกติได้นาน 170 ชั่วโมง ส่วนที่อุณหภูมิ 23.5 และ 32.5 องศาเซลเซียส cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกทำงานได้ถึง 148 และ 123 ชั่วโมง ตามลำดับ จะเห็นว่าที่อุณหภูมิปกติ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกมีความทนทานมากกว่าที่อุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าปกติ ซึ่ง Galtsoff et al. (1964) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรม (Crassostrea virginica) เท่ากับ 25 - 26 องศาเซลเซียส และการทำงานของ cilia จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส และต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส Lukacsovicz ในปี ค.ศ. 1966 อ้างตาม Vernberg et al. (1963) ว่าการทำงานของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น แต่ที่อุณหภูมิสูงมาก ๆ การทำงานของ cilia จะลดลงเนื่องจากอุณหภูมิทำให้เกิดการช็อคได้

สำหรับผลของทองแดงและแคดเมี่ยมที่มีต่อความทนทานของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกนั้น ปรากฏว่าทองแดงมีพิษต่อเหงือกมากกว่าแคดเมี่ยม Doudoroff and Katz (1953) พบว่าการแสดงความเป็นพิษของโลหะจะเกิดขึ้นภายในเซลและเมือกที่ถูกขับออกมาจะรวมตัวกับโลหะ แล้วตกตะกอนอยู่บนผิวของเหงือก ทำให้การหายใจของเหงือกผิดปกติ Brown et al. (1981) รายงานว่าโลหะมีผลต่อเหงือกโดยทำให้ epithelial walls หนาขึ้น และตะกอนที่เกิดขึ้นอาจอุดตันที่เหงือกซึ่งจะขัดขวางการเคลื่อนที่ของออกซิเจน ส่วน Engel and Fowler (1979) ศึกษาผลของทองแดงและแคดเมี่ยมที่มีต่อเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรม (Crassostrea virginica) พบว่าทองแดงมีพิษรุนแรงต่อเหงือกมากกว่าแคดเมี่ยม โดยทองแดงจะมีผลต่อ epithelial cell และ mitochondria กล่าวคือ เนื้อเยื่อส่วนเหงือกในสภาพปกติจะมี epithelial cell รูปร่างเป็น collumnar มี microvilli อยู่เป็นจำนวนมากและมี cilia อยู่ที่ผิวนอกสุด ส่วน mitochondria มีรูปร่างค่อนข้างยาวอยู่ที่ส่วนปลายและ cytoplasm มีน้อย ส่วนเหงือกที่ได้จากการเลี้ยงหอยนางรมที่มีความเข้มข้นของทองแดง 0.1 ส่วนในล้านส่วน เป็นเวลา 14 วัน พบว่า

epithelial cell มีรูปร่างบวมกลม mitochondria มี matrices น้อยมาก ส่วนแคดเมี่ยมไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของ epithelial cell ของเนื้อเยื่อส่วนเหงือกหรืออาจกล่าวได้ว่าแคดเมี่ยมมีอันตรายต่อเนื้อเยื่อส่วนเหงือกน้อยมาก

จากการทดลองผลของอุณหภูมิและตะกั่วที่มีต่อหอยนางรมปากจีบจากไข่ที่ผสมแล้วจะเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped นั้น ปรากฏว่าค่า 48-h. EC_{50} ที่อุณหภูมิ 23.5, 28.0 และ 32.5 องศาเซลเซียส เท่ากับ 0.3287, 1.1059 และ 0.1569 ส่วนในล้านส่วน และจากการวัดปริมาณตะกั่วที่มีอยู่จริงในน้ำเมื่อเสร็จการทดลอ งที่ความเข้มข้น 1.0 ส่วนในล้านส่วน พบว่าค่าที่ได้ลดน้อยลงมาก

ส่วนการทดลองผลของอุณหภูมิและตะกั่วที่มีต่อหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัยนั้นไม่สามารถหาค่าพิษเฉียบพลันได้ เนื่องจากความเข้มข้นที่ใช้ทดลองดังกล่าวไม่สามารถทำให้หอยนางรมปากจีบตายได้ภายใน 168 ชั่วโมง และตะกั่วที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะตกตะกอนทำให้ปริมาณตะกั่วในน้ำลดน้อยลง ดังนั้นเราจึงไม่สามารถเปรียบเทียบพิษของตะกั่วกับโลหะหนักตัวอื่น ๆ

ในการทดลองความเป็นพิษของตะกั่วที่มีต่อหอยนางรมปากจีบวัยอ่อนและที่โตเต็มวัยโดยใช้ตะกั่วไนเตรตพบว่าที่ความเข้มข้นสูงๆ จะตกตะกอน จึงทดลองใช้เกลือของตะกั่วตัวอื่น ๆ เช่นตะกั่วซีเตรต, ตะกั่วคลอไรด์ เป็นต้น ซึ่งผลที่ได้เช่นเดียวกัน แต่จากการทดลองของนักวิจัยหลายท่านที่ได้ศึกษาถึงความเป็นพิษของตะกั่วที่มีต่อสัตว์ต่าง ๆ โดยไม่ได้คำนึงถึงปริมาณตะกั่วที่มีอยู่จริงในน้ำเช่นตัวอ่อนของหอยล่องฝา (Mercenaria mercenaria) มีค่า 48-h. LC_{50} เท่ากับ 0.78 ส่วนในล้านส่วน (Calabrese and Nelson, 1974) และ Mya arenaria มีค่า LC_{50} ที่ 96 และ 168 ชั่วโมง เท่ากับ 27 และ 8.8 ส่วนในล้านส่วนตามลำดับ (Eisler, 1977) และแพลงตอนสัตว์ Daphnia hyalina, Eudiaptomus padanus และ Cyclops abyssorum มีค่า 48-h. LC_{50} เท่ากับ 0.6, 4.0 และ 5.5 ส่วนในล้านส่วน ตามลำดับ (Baudouin and Scoppa, 1974)

จากการศึกษาผลของตะกั่วที่มีต่อเนื้อเยื่อส่วนเหงือกของหอยนางรมปากจีบพบว่าตะกั่วที่ความเข้มข้นสูง ๆ จะตกตะกอน ซึ่งตะกอนที่เกิดขึ้นนี้จะยับยั้งการทำงานของ cilia บนเนื้อเยื่อส่วนเหงือกและเกิดการอุดตันที่ผนังของเหงือกมีผลทำให้การแลกเปลี่ยนก๊าซไม่เป็นปกติและอาจตายได้ (Brown et al., 1968)

ง. การเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิและโลหะหนักบางชนิด (ทองแดงและแคดเมี่ยม) ที่มีต่อหอยนางรมวัยอ่อนและที่โตเต็มวัย

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและโลหะหนักบางชนิดที่มีต่อหอยนางรมปากจีบวัยอ่อนโดยเริ่มจากไข่ที่ผสมแล้วจนเป็นตัวอ่อนระยะ D-shaped นั้น ผลปรากฏว่าทองแดงมีพิษมากกว่าแคดเมี่ยม และอุณหภูมิที่สูงหรือต่ำกว่าปกติจะทำให้ความรุนแรงของพิษมีมากกว่าที่อุณหภูมิปกติ ส่วนผลของอุณหภูมิและโลหะหนักที่มีต่อหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัยนั้นปรากฏว่าแคดเมี่ยมมีพิษมากกว่าทองแดง และความรุนแรงของพิษจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะเห็นว่าลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักที่มีต่อหอยนางรมปากจีบวัยอ่อนและที่โตเต็มวัยต่างกัน ซึ่งลำดับความเป็นพิษของโลหะหนักนั้น Calabrese et al., (1977 b) รายงานว่ามันอาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับความเค็มและชนิดของเกลือโลหะที่ใช้ทดลองตลอดจนคุณภาพของน้ำ นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับชนิดและระยะต่าง ๆ ในช่วงชีวิตของสัตว์ (life stage) การที่แคดเมี่ยมมีความรุนแรงของพิษน้อยกว่าทองแดงสำหรับหอยนางรมวัยอ่อนไม่ทราบสาเหตุแน่นอน แต่จากการทดลองพบว่าทองแดงมีผลต่อพัฒนาการขั้นต้นของเอมบริโอของหอยนางรมปากจีบมากกว่าแคดเมี่ยมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน กล่าวคือ เอมบริโอที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีทองแดง 3 ส่วนในล้านส่วน นั้นเจริญถึงระยะ sixth cleavage น้อยมาก และเป็นเอมบริโอที่มีพัฒนาการผิดปกติ ส่วนเอมบริโอที่เลี้ยงในน้ำทะเลที่มีแคดเมี่ยมที่ความเข้มข้น 3 ส่วนในล้านส่วน นั้นสามารถเจริญถึงระยะ sixth cleavage ที่มีพัฒนาการเป็นปกติได้ ซึ่ง calabrese et al., (1977 b) รายงานว่าเอมบริโอและตัวอ่อนของหอยล่องฝาสามารถทนต่อความเป็นพิษของแคดเมี่ยมได้มากกว่าโลหะหนักตัวอื่น ๆ เช่น ปรอท และเงิน แต่ในสัตว์ที่โตเต็มวัยนั้นแคดเมี่ยมจะมีความรุนแรงของพิษมากกว่า ถึงแม้ว่าสัตว์ที่โตเต็มวัยจะสามารถสะสมโลหะหนักอื่น ๆ ได้มากกว่าแคดเมี่ยม แต่สัตว์ที่โตเต็มวัยอาจมีกลไกพิเศษที่สามารถป้องกันหรือลดความเป็นพิษของโลหะหนักเหล่านั้นได้ดีกว่าแคดเมี่ยมในขณะที่สัตว์วัยอ่อนไม่มี ซึ่งจากการทดลองผลของโลหะหนักต่อหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัยก็ให้ผลสอดคล้องกัน นอกจากนี้ Servizi and Gordon ในปี ค.ศ. 1974 อ้างตาม Waldichuk (1974) ว่าแคดเมี่ยมไม่มีอันตรายต่อไข่ของปลา Salmon แต่จะมีพิษมากขึ้นเมื่อลูกปลามีอายุมากขึ้น

เมื่อพิจารณาค่า EC_{50} ซึ่งเป็นความเข้มข้นของโลหะหนักที่ทำให้เอมบริโอมีพัฒนาการที่ผิดปกติ 50% และเอมบริโอที่มีพัฒนาการผิดปกตินี้ Loosanoff and Davis (1963) รายงานว่ามันจะไม่กินอาหาร ไม่เจริญเติบโตและตายในที่สุด ซึ่งในกรณีนี้เราจะถือว่าค่า EC_{50} สามารถใช้ค่า LC_{50} แทนได้ และ Calabrese et al., (1974) ก็ได้รายงานเป็นค่า LC_{50} เช่นกัน เพื่อสะดวกในการเปรียบเทียบกับค่า LC_{50} ของโลหะหนักที่มีต่อหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัย จากการเปรียบเทียบค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง จะเห็นว่าเอมบริโอมีความไวต่อโลหะหนักมากกว่าหอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัยประมาณ 1370 เท่าสำหรับทองแดง และ 16 เท่าสำหรับแคดเมี่ยม Conner (1972) รายงานว่าตัวอ่อนของกุ้ง (Crangon crangon) และปู (Carcinus maenas) มีความไวต่อปรอท ทองแดง และสังกะสี มากกว่าตัวที่โตเต็มวัยประมาณ 14 - 1000 เท่า Portman (1972) รายงานว่าหอยนางรม (Ostrea edulis) ที่โตเต็มวัยมีค่า 96-h. LC_{50} ของสังกะสีมากกว่า 100 ส่วนในล้านส่วน และมากกว่าตัวอ่อนของมันถึง 100 เท่า จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่าเอมบริโอของหอยนางรมปากจีบมีความทนทานต่อโลหะหนัก (ทองแดง แคดเมี่ยม และตะกั่ว) น้อยกว่าหอยที่โตเต็มวัย ซึ่งสอดคล้องกับ Cairns et al., (1965); Wisely and Blick (1967); Bryan (1971); Saliba and Ahsanullah (1973); Calabrese et al., (1974, 1977 b); Hrs-Brenko et al., (1977) ดังนั้นในการกำหนดปริมาณโลหะหนักที่ยอมให้มีอยู่ในน้ำจึงควรคำนึงถึงผลที่มีต่อสัตว์วัยอ่อนด้วย เนื่องจากปริมาณโลหะหนักที่ทำให้สัตว์ที่โตเต็มวัยตายหรือเกิดความผิดปกตินั้นอาจสูงเกินความสามารถที่สัตว์วัยอ่อนจะทนได้จึงทำให้เกิดความผิดปกติและตายในที่สุด ซึ่งมีผลทำให้จำนวนประชากรสัตว์วัยอ่อนที่จะเจริญเป็นสัตว์ที่โตเต็มวัยลดน้อยลง ดังนั้นในการวางมาตรฐานกำหนดปริมาณโลหะหนักให้มีอยู่ในแหล่งน้ำจึงควรพิจารณาถึงปริมาณโลหะหนักที่ไม่ทำอันตรายต่อสัตว์วัยอ่อนด้วย

จากการวัดปริมาณของโลหะหนัก (ทองแดง แคดเมี่ยม และตะกั่ว) ที่มีอยู่จริงในน้ำจะเห็นว่าความเข้มข้นของโลหะหนักก่อนการทดลองมีค่าใกล้เคียงกับความเข้มข้นที่ใช้ทดลอง แต่ตัวอย่างน้ำที่เก็บเมื่อครบ 24 ชั่วโมง (หอยนางรมปากจีบที่โตเต็มวัย) และ 48 ชั่วโมง (หอยนางรมปากจีบวัยอ่อน) จะเห็นว่าปริมาณโลหะหนักที่วัดได้ลดน้อยลง การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากสัตว์ทดลองรับโลหะหนักเข้าไปภายในร่างกาย หรือโลหะหนักติดอยู่ที่ขอบของอ่างทดลอง นอกจากนี้โลหะหนักอาจจับกับ chelating agents ที่มีอยู่ในน้ำทะเลทำให้เกิดสาร

ประกอบเชิงซ้อน ซึ่งอาจละลายอยู่ในน้ำหรือตกตะกอนออกมา (Calabrese et al., 1973) ถ้าโลหะหนักตกตะกอนออกมามากจะทำให้ปริมาณโลหะหนักในน้ำลดน้อยลง (Pesch and Stewart, 1980)

จากการวิเคราะห์ข้อมูลหาค่า EC_{50} หรือ LC_{50} โดยวิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949) เปรียบเทียบกับค่า EC_{50} หรือ LC_{50} โดยวิธีของ Finney (1971) ผลปรากฏว่าค่าที่ได้ไม่แตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่าสำหรับข้อมูลที่ไม่มีความแปรปรวนมากนัก เราอาจใช้วิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949) คำนวณหาค่า LC_{50} ซึ่งสะดวกและใช้เวลาน้อย แต่ถ้าข้อมูลมีความแปรปรวนมาก เราจะใช้วิธีวิเคราะห์โปรบิทของ Finney (1971) มาช่วยในการคำนวณหาค่า LC_{50}