50303204 : สาขาวิชาชีววิทยา

คำสำคัญ : $NaAsO_2$/ปลากะพงขาว/ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม/ไมโครนิวเคลียส/Comet assay/ลิปิดเพอรอกซิเดชัน

นพมาศ พึ่งทรัพย์ : ผลของสารหนูต่อความเป็นพิษของสารพันธุกรรมและความเป็นพิษต่อเซลล์ตับในปลากะพงขาว *(Lates calcarifer)*. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : รศ.ดร.เรณู เวชรัชต์พิมล. 119 หน้า.

การศึกษาความเป็นพิษของสารหนู ($NaAsO_2$) ต่อลูกปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) พบว่ามีค่า LC_{50} ของ $NaAsO_2$ ที่ 24 ชั่วโมง เท่ากับ 16.4224 mg/L เมื่อใช้ความเข้มข้นของ $NaAsO_2$ ที่ต่ำกว่าค่า LC_{50} ไปศึกษาความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของปลากะพงขาว โดยแช่ปลาใน $NaAsO_2$ เข้มข้น 0.25, 0.5, 1 และ 2 mg/L เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยปลากลุ่ม positive control ได้รับ $CdCl_2$ 0.05 mg/L (N=20) แล้วตรวจความเสียหายของสารพันธุกรรมจากเซลล์เม็ดเลือดแดงลูกปลากะพงขาว (*Lates calcarifer*) ด้วยเทคนิค micronucleus test (MNT) และ comet assay ผลการตรวจด้วยเทคนิค MNT พบว่าปลากลุ่มที่แช่ $NaAsO_2$ 2 mg/L ชักนำให้มีค่า micronucleus frequencies (MNFs) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และพบว่าค่า MNFs มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ $NaAsO_2$ ในกลุ่มที่แช่ปลา 24 และ 48 ชั่วโมง โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.3960 และ 0.9245 เมื่อตรวจความผิดปกติของนิวเคลียส 4 ลักษณะพบว่าในกลุ่มที่แช่ปลา 24 ชั่วโมง ทุกความเข้มข้นมีความถี่ของ Notch nucleus (NT), Lobe nucleus (LB) และ Blebed nucleus (BL) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.8771, 0.7937 และ 0.8901 ตามลำดับ และกลุ่มที่แช่ปลา 48 ชั่วโมง ทุกความเข้มข้นของ $NaAsO_2$ พบว่ามีเฉพาะ NT เท่านั้นที่มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9044 ซึ่งลำดับความไวของพารามิเตอร์ คือ NT > LB > BL ส่วนการตรวจด้วยเทคนิค comet assay พบว่าสามารถตรวจวัดความเสียหายของ DNA แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ในปลากลุ่มที่แช่ $NaAsO_2$ ความเข้มข้นต่ำสุด 0.25 mg/L ซึ่งลำดับความไวของพารามิเตอร์ คือ Tail length > Tail DNA% = Olive moment > Tail moment โดย Tail length มีค่า R^2 เท่ากับ 0.7613 และ 0.5392 ในกลุ่มที่แช่ปลานาน 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้เทคนิค comet assay มีความไวในการตรวจความเสียหายของสารพันธุกรรมมากกว่าเทคนิค MNT เมื่อศึกษาความเป็นพิษของ $NaAsO_2$ ต่อเซลล์โดยใช้เทคนิค lipid peroxidations ตรวจวัดระดับ malondialdehyde (MDA) จากเซลล์ตับปลากะพงขาว พบว่าปลาที่ได้รับ $NaAsO_2$ ทุกความเข้มข้นมีค่าเฉลี่ย MDA ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม และไม่แตกต่างระหว่างช่วงเวลาที่ทดสอบ ($P>0.05$) ทั้งนี้เพราะความเข้มข้นของ $NaAsO_2$ ที่ปลาได้รับอยู่ในระดับต่ำจึงไม่สามารถชักนำให้ปริมาณของ MDA ในเซลล์ตับเพิ่มขึ้นเพื่อบ่งชี้การเกิด oxidative damage ในปลาที่ได้รับ $NaAsO_2$ 0.25-2 mg/L ได้ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าลูกปลากะพงขาวมีความไวในการตรวจความเสียหายของสารพันธุกรรมได้ในระดับที่เฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารหนูในน้ำทิ้งของอุตสาหกรรมด้วยเทคนิค comet assay และมีประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้จัดการแหล่งเลี้ยงปลาในกระชังให้ปลอดภัยต่อการบริโภคและเฝ้าระวังคุณภาพสิ่งแวดล้อมของประเทศ

ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2552

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ .....

50303204 : MAJOR : BIOLOGY
KEY WORDS :$NaAsO_2$/*Lates calcarifer*/GENOTOXICITY/MICRONUCLEUS/COMET ASSAY/ LIPID PEROXIDATIONS

NOPPAMAS PUENGSAP : EFFECTS OF ARSENIC ON GENOTOXICITY AND TOXICITY ON LIVER CELLS IN WHITE SEA BASS (*Lates calcarifer*). THESIS ADVISOR : ADVISOR : ASSOC. PROF. RENU VEJARATPIMOL, Ph.D. 119 pp.

This study describes the investigation of the genotoxic effect of $NaAsO_2$ to *Lates calcarifer.* The LC_{50} exposed to $NaAsO_2$ for 24 h was 16.224 mg/L. Fish were exposed to sublethal concentration of 0.25, 0.5, 1 and 2 mg/L of $NaAsO_2$ for 24 and 48 h while $CdCl_2$ at the concentration of 0.05 mg/L was set as positive control group (N=20). The genotoxicity of red blood cells (RBCs) from test fish was examined by the micronucleus test (MNT) and the comet assay. Micronucleus frequencies (MNFs) in the fish exposed to 2 mg/L $NaAsO_2$ significantly increased more than those in the control group ($P<0.05$). The correlation coefficients (R^2) between MNFs and $NaAsO_2$ concentrations at the exposure times of 24 and 48 h were 0.3960 and 0.9245. Four characteristics of nucleus abnormalities were studied and the results indicated that the notched nucleus (NT), lobed nucleus (LB) and blebed nucleus (BL) at all concentrations of 24 h $NaAsO_2$ treated-fish were significantly ($P<0.05$) higher than the control group with the value of R^2 = 0.8771, 0.7937 and 0.8901, respectively but in 48 h $NaAsO_2$ treated-fish, NT was the only parameter that was higher than the control group ($P<0.05$), and the values of R^2 = 0.9044. The most sensitive parameters of MNT were NT > LB > BL. At the concentration of 0.25 mg/L of $NaAsO_2$, the comet assay indicated that the DNA damage in the treated group was significantly higher than the control group. The most sensitive parameters of comet assay were Tail length > Tail DNA% = Olive moment > Tail moment. The values of R^2 of Tail length were 0.7613 and 0.5392 in 24 and 48 h. This led to the conclusion that the comet assay was more sensitive and reliable than MNT. In addition, lipid peroxidation was performed to the level of malondialdehyde from liver cells of *L. calcarifer.* But there was no significant difference between 24 and 48 h. and the control group ($P>0.05$). $NaAsO_2$ at the concentrations of 0.25-2 mg/L might be too low to induce an increase of malondialdehyde in liver cells. This study revealed that *L. calcarifer* was sensitive in detecting genotoxicity levels of arsenic contamination in industrial effluent by the comet assay. Thus it may be beneficial to be used in fish farming for monitoring the arsenic contaminations to ensure food safety and to monitor the environmental quality.

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2009
Student's signature .....
Thesis Advisor's signature .....