



## อภิปรายและสรุปผลการทดลอง

## 4.1 ประเมินวิธีการที่ใช้ตรวจวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรส

การปนเปื้อนของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งปลา (Holland และ คณะ, 1967) การวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสจึงถูกนำมาใช้วินิจฉัยความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในปลา และในปัจจุบันได้มีการนำปลามาใช้เป็นดัชนี (indicator) เพื่อบอกถึงคุณภาพของน้ำ โดยใช้ในการวัดปริมาณเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสในสมอง เลือด และกล้ามเนื้อ เช่น เกี่ยวกับการวินิจฉัยความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสในคน และ สัตว์อื่น (Murphy และคณะ, 1968 ; Darlington และคณะ, 1971)

การประยุกต์ใช้วิธีการของ Ellman และคณะ(1961) ตรวจวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสในสมองและกล้ามเนื้อ รวมทั้งเนื้อเยื่ออื่น ๆ ของสัตว์มีกระดูกสันหลังเพื่อใช้ในการตรวจวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสในกล้ามเนื้อ และสมองปลา ผลที่ได้จากการวัดเปอร์เซ็นต์ recovery และความแม่นยำในการตรวจวัดจะเห็นว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ผลของการศึกษาหาความคงตัวของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสในกล้ามเนื้อและสมองปลายังพบว่าสามารถเก็บตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิ 0 °C ได้นาน 30 วัน โดยไม่มีผลทำให้สมรรถนะของเอ็นไซม์โกลูโคสเทอเรสคลาดเคลื่อนไปจากที่เป็นจริงมากนัก อย่างไรก็ตามวิธีการนี้จำเป็นต้องเตรียมเนื้อเยื่อให้เหมาะสมกับการวัด เนื้อเยื่อต้องผ่านการบดอย่างละเอียดจนเป็นเนื้อเดียวกัน ผลการทดลองจึงไม่คลาดเคลื่อน

## 4.2 ประเมินวิธีการวัดปริมาณเมทิลพาราธอนในน้ำที่ใช้เลี้ยงปลา

การวัดปริมาณเมทิลพาราธอนที่เหลืออยู่ในน้ำที่เวลาผ่านไปช่วงต่าง ๆ เพื่อจะใช้ในการบอกปริมาณเมทิลพาราธอนที่มีอยู่จริงเมื่อเริ่มใส่ลงไปในน้ำ และใช้ในการสังเกตครา

## การสลายตัวของเมทิลพาราไรออน

จึงได้มีการประยุกต์ใช้วิธีการตรวจวัดปริมาณเมทิลพาราไรออนในน้ำของ Lenardon A.M และคณะ (1984) โดยใช้อุปกรณ์ gas chromatography ผลที่ได้ของการวัดเปอร์เซ็นต์ recovery มีค่าเป็น 88.46% ดังนั้นในการตรวจวัดจึงน่าจะมีความเชื่อถือได้อย่างมาก เนื่องจากการหาปริมาณเมทิลพาราไรออนในน้ำนั้นได้ทำการสกัดสารทันทีที่เก็บตัวอย่างน้ำ และฉีดเข้าเครื่องในเวลาต่อมา ดังนั้นปริมาณเมทิลพาราไรออนที่วัดได้ในระยะเวลาเริ่มกันไม่คลาดเคลื่อนไปจากที่เป็นจริงมากนัก จากการทดลองของ Virgil et al.(1979) และ Konrad et al.(1969) พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการสลายตัวของเมทิลพาราไรออนนั้น ได้แก่ อุณหภูมิ แสงแดด และ pH เป็นต้น โดยพบว่าบริเวณที่ทดลองที่มีอุณหภูมิสูง แสงแดดจัด และ pH สูง ปริมาณการสลายตัวของเมทิลพาราไรออนยิ่งเกิดเร็วขึ้น ซึ่งในการทดลองนี้ อุณหภูมิของน้ำ 28-29°C มีแสงแดดจัดในช่วงของการทดลอง และ pH อยู่ระหว่าง 6.0-7.0 พบว่าในช่วง 24 ชั่วโมงแรกปริมาณเมทิลพาราไรออนลดลงเหลือ 18.76 %, 52.27 % และ 52.08 % ในขนาดความเข้มข้น 0.5 ppm, 1.5 ppm, 2.5 ppm ตามลำดับ และหลังจากวันที่ 4 ลดลงเหลือ 1.68 %, 7.80 %, 13.46 % ตามลำดับเช่นเดียวกัน (ดังแสดงในตาราง 21 และรูปที่ 23)

ส่วนในการทดลองวัดในขนาดความเข้มข้นที่ไม่ทำให้ปลาตาย พบว่าในช่วง 24 ชั่วโมงแรกปริมาณเมทิลพาราไรออนลดลงเหลือ 32 %, 25.3 %, 19.84 % ในขนาดความเข้มข้น 0.05 ppm, 0.1 ppm, 0.2 ppm ตามลำดับ และหลังจากวันที่ 7 ลดลงเหลือ 1.60 %, 1.69 %, 0.98 % ตามลำดับเช่นเดียวกัน (ดังแสดงในตารางที่ 26 และรูปที่ 39)

จากรูปที่ 22 และ 38 จะเห็นว่า การสลายตัวของเมทิลพาราไรออนเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 48 ชั่วโมง และช้าลงในวันต่อมา โดยที่อัตราการสลายตัวของเมทิลพาราไรออนที่ความเข้มข้นสูงช้ากว่าความเข้มข้นต่ำ

### 4.3 ความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

อาการกระวนกระวาย ว่ายชนอ่าง ของปลากะพงขาว ตลอดจนการเคลื่อนไหวที่ไม่มีทิศทางแน่นอน แสดงให้เห็นว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมีผลกระทบต่อระบบประสาทที่ควบคุมพฤติกรรม และการทรงตัวของปลา ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Reddy และ Rao (1990) ที่ทำการทดลองในปลา ความรุนแรงของอาการที่แสดง และการฟื้นตัวของปลา โดยที่อาการดังกล่าว

ลดน้อยลงไปในระยะต่อมาที่ยังขึ้นกับขนาดความเข้มข้นของเมทิลพาราธอนที่ได้รับ โดยปลา กะพงขาวที่ได้รับเมทิลพาราธอนในขนาดความเข้มข้นน้อย ๆ อาการ เป็นพิษที่แสดงออกเกิดขึ้น ช้า แล้วหายไประ็เร็วกว่าปลาในกลุ่มที่ได้รับขนาดความเข้มข้นสูงกว่าที่ยังไม่หายในทันที และจำนวน ปลาที่ตายมีน้อยกว่าในกลุ่มปลาที่ได้รับเมทิลพาราธอนในขนาดความเข้มข้นสูง ๆ ที่ปลาแสดง อาการ เป็นพิษขึ้นอย่างรวดเร็ว และยังคงแสดงอาการเป็นพิษเช่นนั้นอยู่นาน อัตราการตายของ ปลาที่มีมากกว่าและเกิดขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว แสดงว่าระดับความเป็นพิษของเมทิลพาราธอน ขึ้นกับปริมาณที่ได้รับ (dose-dependent)

ในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตาย (sublethal concentration) พบว่าปลามีอาการ คื่นคั่นกระวนกระวาย ว่ายน้ำชนอ่าง และกระโดดตัวขึ้นเหนือน้ำ เช่นเดียวกับในพวกที่ได้รับใน ขนาด acute toxicity แต่หลังจากนั้นประมาณวันที่ 4 พบว่าปลามีอาการฟื้นตัวขึ้นโรคที่ อาการต่าง ๆ ลดน้อยลงไปในระยะเวลาต่อมา และอาการต่าง ๆ เหล่านี้ก็สอดคล้องกับปริมาณ เอ็นไซม์ที่วัดได้ ซึ่งพบว่าปริมาณเอ็นไซม์เริ่มลดลงมาค่าสุดในวันที่ 3 และเริ่มมีการกลับมาเพิ่มขึ้น เมื่อปลาได้รับเมทิลพาราธอนจนถึงวันที่ 4 และสูงขึ้นไปจนถึงวันที่ 7 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของ การศึกษา แต่ปริมาณที่วัดได้ยังไม่เท่ากับกลุ่มควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Weiss (1961) ที่ทำการศึกษานปลา ให้ความปริมาณเอ็นไซม์โกลบินเอสเทอเรสกลับสู่ระดับปกติภายใน เวลา 1 เดือน หรือมากกว่านั้นหลังจากสัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

อาการเป็นพิษของปลาที่แสดงให้เห็น เช่น อาการกระวนกระวาย เหงือกกางอ้า และ ว่ายน้ำขึ้นมาบริเวณขอบอ่างน่าจะเป็นอาการแสดงออกของภาวะการหายใจคึกคัก (respiratory distress) ซึ่ง Rao และคณะ (1985) ทำการทดลองในปลา พบว่าเมทิลพาราธอนมีผลทำ ให้ความต้องการการใช้ออกซิเจนลดลง ระดับเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ เช่น succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase, cytochrome-C oxidase ลดลง คาดว่าเป็น ผลจากการกดศูนย์การหายใจในสมอง ซึ่งในช่วงแรกความต้องการการใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อ เพิ่มขึ้น ดังจะเห็นจากการที่ปลามีเหงือกกางอ้า อันเป็นกลไกการปรับตัวของร่างกายต่อสารพิษ ระยะต่อมาจึงลดลงเซลล์มีการหายใจแบบไม่ใช้  $O_2$  มีผลทำให้มีกรดแลคติกสะสมภายในเซลล์มาก ขึ้น นอกจากนี้เมทิลพาราธอนยังมีผลต่อไนโตรเจนเมคาบอลิซึม โดยทำให้เกิดแอมโมเนีย และ ยูเรียมากขึ้น สารคั่งส่วเป็นของเสียภายในเซลล์ร่างกายไม่สามารถทนสภาพนี้ได้ทำให้สัตว์ตาย ในที่สุด จากการทดลองครั้งนี้ได้ทำการวัดปริมาณออกซิเจนในน้ำร่วมด้วย ปริมาณที่สื่ออยู่ประมาณ 6.0-7.0 ppm เป็นปริมาณออกซิเจนในน้ำที่มีมากเพียงพอกับความต้องการของปลา ดังนั้นการที่ ปลาขาดออกซิเจนน่าจะเกิดเนื่องจากความสามารถของเส้นเลือดที่อวัยวะหายใจ คือ เหงือก ใน

การแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถของเส้นเลือดลดลงเนื่องจากสารออร์กาโนฟอสเฟตไปเกาะที่บริเวณหลอดเลือดซึ่งมีการทำลายชั้น thick mucosa ของหลอดเลือดที่เหงือก มีการรวมกันและบางส่วนหลุดออกของซีเหงือก ทำให้พื้นที่ผิวในการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง (Nagarathnamma, 1982) เป็นสาเหตุสำคัญอีกประการหนึ่งที่ทำให้ปลากะพงขาวตายในช่วงแรก และตายอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในปริมาณสูง ๆ อย่างเฉียบพลัน ในขณะที่ปลาได้รับขนาดที่ไม่ทำให้ปลาคายนั้นจะไม่พบการตายเกิดขึ้นในช่วง 7 วัน โดยพบว่าปลามีการปรับตัวให้สามารถทนได้ และมีการฟื้นตัวขึ้นมานั้นก็เนื่องมาจากปลามีการซ่อมแซมอวัยวะต่าง ๆ เพื่อให้สามารถดำรงชีวิตอยู่รอดต่อไปได้

นอกจากพบอาการเป็นพิษดังกล่าวแล้ว ยังพบว่าปลาที่ได้สัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกินอาหารได้น้อยลง จึงน่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การฟื้นตัวของปลาเป็นไปได้ช้า จากการศึกษาของ Reddy และคณะ (1985) ที่ศึกษาในปูที่สัมผัสกับมาลาโรอน พบว่าทำให้การลอกคราบเกิดล่าช้า ซึ่งอาจเป็นไปได้จากการที่ปูลดอาหาร เนื่องจากปูที่ได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชจะกินอาหารได้น้อยลงทั้งนี้เพราะว่ามีความอยากอาหารลดลง ดังนั้นจะเห็นจากการทดลองในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาคาย ปลาที่มีการฟื้นตัวได้ช้า ก็น่าจะมีสาเหตุจากความอยากอาหารลดลงเช่นกัน

#### 4.4 ผลการทดลองค่า median lethal concentration ในเวลา 96 ชั่วโมง

ค่า median lethal concentration ในเวลา 96 ชั่วโมง เท่ากับ 1.48 ppm ซึ่งน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของ Palawski และคณะ (1983) ค่า LC<sub>50</sub> ของเมทิลพาราธอนในปลาคูกอูย ในเวลา 96 ชั่วโมงเท่ากับ 2.8 ppm และ Pigmental (1971) พบว่า ค่า LC<sub>50</sub> ของเมทิลพาราธอนในปลาเทราห์ ในเวลา 96 ชั่วโมงเท่ากับ 2.75 ppm ค่าที่แตกต่างกันอย่างมากนี้เกิดจากความแตกต่างของอายุ ชนิด พันธุ์ปลา ตลอดจนรูปแบบและชนิดของยา (Zbinder and Flurycoversi, 1981)

อย่างไรก็ตาม การที่สัตว์น้ำได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในขนาดต่ำ ๆ ที่ตกค้างอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีผลทำให้เกิดการปรับตัวเพิ่มความต้านทานต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืชมากยิ่งขึ้น ผลการทดลองของ Smissaert และคณะ (1970) ได้สนับสนุนผลดังกล่าว ซึ่ง Zahavi และคณะ (1971) ได้ให้เหตุผลไว้ว่า อาจเป็นเพราะ esteratic site ซึ่งเป็นจุดที่ไปจับกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชของกลุ่มที่ชื่อออร์ยา มีขนาดเล็กกว่าทั้งในกลุ่มปกติและกลุ่มที่ไวต่อสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

#### 4.5 ผลการวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรส

ในการทดลองเพื่อศึกษาผลของเมทิลพาราโรฮอนต่อเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรสในสมอง และกล้ามเนื้อ

พบว่าเมทิลพาราโรฮอนมีผลทำให้สมรรถนะของเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรสในสมอง และกล้ามเนื้อลดลง โดยที่การลดลงของสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรสขึ้นกับความเข้มข้นของเมทิลพาราโรฮอนที่ได้รับ (dose-dependent) ภายหลังจากได้รับเมทิลพาราโรฮอน เข้าไปในร่างกายแล้ว ปลาที่มีเอ็นไซม์ NADPH-dependent mixed function oxidase ที่ microsomes เปลี่ยนเมทิลพาราโรฮอนเป็นเมทิลพาราออกซอน โดยการเติมออกซิเจนใน ปริมาณของเมทิลพาราโรฮอน เมทิลพาราออกซอนมีฤทธิ์รุนแรงกว่าเมทิลพาราโรฮอนหลาย เท่า (Schoor and Brauchm, 1980 ; Benke et al., 1979) จากนั้นเกิดการรวมตัวกับ เอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรสที่ electrophilic group (p=O) และ active site ของเอ็นไซม์ ซึ่งการรวมตัวนี้มีความคงทนมากทำให้อะซิโกลีซินไม่ถูกไฮโดรไลสโดยเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรส ทำให้เกิดการสะสมของอะซิโกลีซินที่รอยต่อของเส้นประสาท (synaptic junction) และที่ รอยต่อของเส้นประสาท และกล้ามเนื้อ (neuromuscular junction) ผลคือ ทำให้เกิดการ กระตุ้นโกลีจิเนอรัลจีฟเบออร์ และกล้ามเนื้ออย่างค่อเนื่อง ซึ่งอาการที่แสดงออกของปลาด้วยการ เคลื่อนไหวที่ผิดปกติ มีอาการตื่นเต้นกระวนกระวาย และโดดตัวขึ้นเหนือน้ำอย่างรวดเร็ว เช่น เดียวกับการทดลองของ สถาพร (1991) และ Reddy และ Rao (1988) ที่ทำการทดลองใน กุ้งพบว่า กุ้งมีอาการกระวนกระวาย และโดดตัวอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกับปลา การยับยั้งเอ็นไซม์ โกลีซินเอสเทอเรสในกุ้งนั้นขึ้นกับปริมาณเมทิลพาราโรฮอนที่ได้รับ และเมื่อนำกุ้งออกจากน้ำที่มี เมทิลพาราโรฮอนผสมอยู่มาเลี้ยงในน้ำปกติ สมรรถนะของเอ็นไซม์โกลีซินเอสเทอเรสกลับคืนสู่ สภาวะปกติภายในเวลา 10 วัน Reddy and Rao (1988) ได้เสนอไว้ว่าเอ็นไซม์ที่กลับสู่สภาพ ปกติ นั้น น่าจะเป็นเอ็นไซม์ที่กุ้งสร้างขึ้นมาทดแทนมากกว่าเป็นเอ็นไซม์เดิมที่รวมตัวอยู่กับสารเคมี กากจัดศัตรูพืชแบบถาวร จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นว่าในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายของเมทิล พาราโรฮอนปริมาณเอ็นไซม์เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่วันที่ 4 ของการทดลอง ถึงแม้ว่าการวิจัยครั้งนี้ไม่ ได้แยกปลาออกมาในน้ำปกติ แต่ระดับสารเคมีกากจัดศัตรูพืชก็ได้ลดลงจนเหลือ 2-4% จากเดิม แต่ค่าปริมาณเอ็นไซม์เมื่อสิ้นสุดการทดลองในวันที่ 7 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับเวลาเริ่มคั้นที่ปลาได้ รับสารเคมีกากจัดศัตรูพืช แต่ก็ยังต่ำกว่าค่าปกติ

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับเมทิลพาราโรฮอนพบว่าสมรรถนะของเอ็นไซม์โกลีซิน

เอสเทอร์ของปลาที่ได้รับเมทิลพาราไธออนทั้งพิษอย่างเฉียบพลันและในขนาดที่ไม่ทำให้ถึงตาย ลดลงอย่างเห็นได้ชัดอย่างชัดเจนในสมอง และกล้ามเนื้อ ทำให้พอสรุปได้ว่าสมรรถนะของเอ็นไซม์ ไรซินเอสเทอร์ในสมองและกล้ามเนื้อที่ลดลงไปอย่างมาก น่าจะเป็นดัชนีบ่งบอกถึงความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ชนิดออร์กาโนฟอสเฟตได้เป็นอย่างดี เช่นเดียวกับการทดลองของ Holland และคณะ (1967) ; William และคณะ (1966) ใช้สมองปลาในการหาปริมาณของ เอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ เพื่อเป็นดัชนีบ่งบอกถึงคุณภาพของแหล่งน้ำ และเช่นเดียวกับงานคน กับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ ที่การวัดสมรรถนะเอ็นไซม์ในเลือดเป็นดัชนีอันหนึ่งที่ใช้บ่งบอกถึงความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตเป็นอย่างดี

นอกจากนี้สมรรถนะของเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ในกล้ามเนื้อ และสมอง มีความสัมพันธ์กันคือ หากสมรรถนะของเอ็นไซม์ในสมองลดลง จะมีผลทำให้ระดับเอ็นไซม์ในกล้ามเนื้อลดลงด้วย จากรูปที่ 21 สมรรถนะของเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ในสมองและกล้ามเนื้อมีความสัมพันธ์กัน ( $r = 0.77$ )

ส่วนการทดลองให้เมทิลพาราไธออนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายนั้น แสดงว่าสมรรถนะของเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ในกล้ามเนื้อและสมองลดลง และเริ่มสูงขึ้นในวันที่ 4 เมื่อครบ 7 วันของการทดลอง พบว่าปริมาณเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ เพิ่มขึ้นตามลำดับ แต่ยังไม่เท่ากับในกลุ่มควบคุม (ตั้งตารางที่ 21-22 รูปที่ 35 และ 37) เช่นเดียวกับการทดลองของ Weiss (1961) ได้ทดลองในปลาที่ได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต พบว่าระดับเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์กลับสู่ระดับปกติต้องอาศัยเวลา 1 เดือน หรือมากกว่านั้น และในการทดลองของ Ansari และ Kumar (1984) ทำการศึกษาในสมองปลาที่สัมผัสมาลาไธออน พบว่าการยับยั้งเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ขึ้นกับขนาดยา และเวลา ซึ่งอาจเกิดจาก 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของมาลาไธออนที่มีฤทธิ์มากกว่าเนื่องจากการกึ่งหมู่ซัลเฟอร์ของมาลาไธออนจาก P-S ไปเป็น P-O อาจเนื่องมาจากการเพิ่มเวลาที่ได้รับ และการที่มีภาวะเครียดเป็นระยะเวลา นาน อาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ หรือลดระดับเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ลงมากเกินไป

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการยับยั้งเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ 43.7 % ปลาแสดงอาการเป็นพิษออกมาอย่างชัดเจน และพบว่าการยับยั้ง 61.14 % ปลาบางตัวเริ่มตาย ซึ่งใกล้เคียงกับการทดลองของ Weiss ในปี 1959 ที่พบว่าการยับยั้งเอ็นไซม์ไรซินเอสเทอร์ในสมองปลา 40-70 % เป็นสาเหตุให้ปลาคาย และการทดลองของ Post และ Leasure (1974)

ปลาที่สัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต พบอวัยวะบางอย่างไม่สามารถทำงานได้ เช่น การหาอาหาร ในการรักษาสสมดุลย์ของร่างกายในการผ่านเข้าออกของน้ำ และการหนีจากศัตรู ปลาจึงตายด้วยสภาวะเครียดเหล่านี้ร่วมกับภาวะที่เอ็นไซม์โรสมินเอสเทอเรสถูกยับยั้ง 90%

#### 4.6 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์เหงือก กล้ามเนื้อ และตับ

เซลล์เหงือก กล้ามเนื้อ และตับ แสดงสภาพการตายของเซลล์โดยสาเหตุที่สำคัญเนื่องจากเมทิลพาราไรดอน มีผลในการทำลายเซลล์โดยตรง โดยอาจทำให้เกิดการแข็งตัวขององค์ประกอบภายในเซลล์ หรือไปรบกวนกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ หรือการทำให้เซลล์สร้างตัวมากผิดปกติ (Mcmanus, 1962) ดังที่พบในเซลล์เหงือกมีการหนาตัวมากขึ้นจนทำให้เกิดการรวมตัวของ filament บริเวณที่เข้าในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลง จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์ตาย ซึ่งกลไกที่แท้จริงยังไม่ทราบ จากผลการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงในนิวเคลียส โดยปรากฏทั้งระยะ pyknotic nucleus และ karyolysis ซึ่งทั้ง 2 ระยะเวลาเป็นขั้นตอนของการเกิดการตายของเซลล์ โดยเห็นเด่นชัดในเซลล์เหงือก และตับ ในบางส่วนของเซลล์กล้ามเนื้อ จากการทดลองในจุลชีพพบว่าออร์กาโนฟอสเฟตสามารถทำลาย DNA และก่อให้เกิดเซลล์มะเร็งได้ และจากการทดลองในหนู ออร์กาโนฟอสเฟตทำให้เกิดมะเร็งของเยื่อหุ้มเซลล์ในทางเดินอาหาร (Borzsonyi, 1984) จากการศึกษาของ Griffin and Hill (1983) พบว่าเมทิลพาราไรดอนชักนำให้เกิด DNA breaks จากส่วน plasmic ของ *Escherichia coli* ซึ่งทั้งหมดที่กล่าวมาเป็นเหตุผลสนับสนุนว่าเมทิลพาราไรดอนเองมีผลทำลายเซลล์ได้โดยตรง เซลล์ตับ เหงือก และกล้ามเนื้อของปลาไม่ตาย เนื่องจากขาดออกซิเจน หรืออาหารเพียงอย่างเดียว

ขั้นตอนการเกิดเซลล์ตายเริ่มเกิดขึ้นที่นิวเคลียสก่อน โดยนิวเคลียสแสดงลักษณะ pyknosis โดยเป็นลักษณะของ dense mass หลังจากนั้นนิวเคลียสจะแตกเป็นเส้นเล็ก ๆ เรียก karyorrhexis หลังจากนั้นนิวเคลียสถูกทำลายจนหมด (karyolysis) เมื่อนิวเคลียสถูกทำลายหมดเซลล์จึงตาย จากผลการทดลองพบนิวเคลียสเพียง 2 ขั้นตอนการเกิดเซลล์ตาย คือ pyknosis และ karyolysis

ในกลุ่มที่ได้รับเมทิลพาราไรดอน 0.5 ppm 0.75 ppm และ 1.0 ppm มี hepatic cell vacuolation เซลล์เหงือกเริ่มมีการรวมกันของ filament และมีการหลุดออกบางส่วน เกิดเนื่องจากเซลล์ตับและเหงือกถูกทำลายโดยเมทิลพาราไรดอน แต่เนื่องจากปลาได้รับเมทิลพาราไรดอนในความเข้มข้นน้อย และได้รับนาน (96 ชั่วโมง) เซลล์ค่อย ๆ ถูกทำลายและเสื่อม

ไปเรื่อย ๆ จึงเกิด cell cytoplasmic vacuolation ในเซลล์คืบ ส่วนเซลล์เหงือกผนังเซลล์หนาตัวขึ้นแล้วรวมตัวกัน บางเซลล์หนาตัววมจนแตกหลุดออกไปบางส่วน แต่บางเซลล์ที่ไม่สามารถทนต่อพิษได้ ทำให้เซลล์ตายแต่เนื่องจากได้รับเมทิลพาราไรออนขนาดต่ำ จึงพบแต่ cell cytoplasmic vacuolation และการรวมกันกับการหลุดออกเล็กน้อยของเซลล์เหงือกมากกว่าปริมาณเซลล์ตาย

ในกลุ่มที่ได้รับเมทิลพาราไรออน 1.25 ppm และ 1.5 ppm ความเข้มข้นของเมทิลพาราไรออนสูงขึ้น ความรุนแรงของเมทิลพาราไรออนมากขึ้นประกอบกับมีจำนวนการตายของปลาเพิ่มขึ้นใน 96 ชั่วโมง ทำให้เซลล์ถูกทำลายมากขึ้นจึงพบว่าการตายมากกว่าในกลุ่ม 0.5 ppm 0.75 ppm และ 1.0 ppm และกระจายเป็นขอบเขตกว้าง นิวเคลียสถูกทำลายทั้งในเซลล์คืบและเหงือก แสดงลักษณะ pyknosis ส่วนเซลล์เหงือกมีการหลุดออกไปมากขึ้น

ในกลุ่มที่ได้รับเมทิลพาราไรออน 1.75 ppm และ 2.0 ppm ความรุนแรงของเมทิลพาราไรออนมากขึ้นรวมทั้งได้รับเมทิลพาราไรออน 96 ชั่วโมง เซลล์คืบมีการตายมากและกระจายอยู่ทั่วไป ส่วนเซลล์เหงือกถูกทำลายมากบาง filament หลุดออกไปจนหมด แสดงว่าปลาได้รับอันตรายจากเมทิลพาราไรออนมากขึ้น

ในกลุ่มที่ได้รับเมทิลพาราไรออน 2.25 ppm และ 2.5 ppm ทั้ง 2 กลุ่มนี้ได้รับเมทิลพาราไรออนในความเข้มข้นสูงมาก พบว่าการตายของเซลล์กล้ามเนื้อ คืบ และเหงือกมากจนไม่สามารถทำงานได้ ุคยในเซลล์คืบพบเห็นมี vacuolation เกิดขึ้นทั่วทั้งเซลล์คืบ ในขณะที่เซลล์เหงือกมีการหลุดไปของ filament จนเห็นแต่แกน chondroblast เท่านั้น

Morgan and Tovell (1973) รายงานว่าเมื่อปลาสัมผัสกับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ปลาจะมี defense response โดยมีการหลั่ง mucus ออกมามากผิดปกติ และมีการรวมกันของ lamellar ซึ่งทำให้สามารถลดจำนวนพื้นที่ผิวของเหงือกที่ได้รับอันตราย การซึมผ่านของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชก็ลดลงด้วย (Mallatt, 1964)

ในการทดลองให้เมทิลพาราไรออนในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาทาย ศึกษาผลทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์เหงือก กล้ามเนื้อ และคืบ ได้ผลดังนี้

ในเซลล์เหงือกเริ่มพบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพตั้งแต่วันที่ 2 หลังจากสัมผัส



เมทิลหาราไรออน คุยพบว่ามีการวมกัน การบวม และการหลุดออกของ lamellar ส่วน นิวเคลียสใน chondroblast พบว่าการเปลี่ยนแปลงอยู่ในระยะ pyknosis และ karyolysis คุยพบความรุนแรงเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสสารเคมีกำจัดศัตรูพืช แต่พบว่าในวันที่ 7 เซลล์ เหงือกเริ่มมีการปรับตัวอาการรุนแรงน้อยกว่าในวันที่ 6

ในเซลล์กล้ามเนื้อ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพอย่างเด่นชัด พบว่ามีเซลล์ ภายใต้อันหลัง ๆ ของการทดลอง

ในเซลล์ตับ พบมีอาการแสดงการตาย และพบ vacuolation มากขึ้นตามระยะเวลา ที่สัมผัสเมทิลหาราไรออน พบนิวเคลียสอยู่ในระยะ pyknosis และ karyolysis จากนั้นมี การปรับตัวดีขึ้นหลังจากวันที่ 6 ไป

อาการต่าง ๆ ที่แสดงพบได้ทั้ง 3 ขนาดความเข้มข้นของเมทิลหาราไรออน เป็น อาการซ้ำ ๆ คล้ายคลึงกัน แต่ความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้นของเมทิลหาราไรออนที่ ได้รับ และระยะเวลาที่สัมผัส

อาการที่แสดงออกมานั้นไม่สามารถวินิจฉัยได้อย่างแน่นอนเนื่องจากการตายของเซลล์ อาจเกิดจากภาวะอื่นได้ เช่น การคิดเชื้อแบคทีเรียและมีไข้สูง หรือภาวะบีบคั้นเลือดคั่ง จึงทำให้การพิจารณาจุลพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงเพียงอย่างเดียวไม่สามารถชี้ชัดได้

#### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ดังนั้นการวินิจฉัยความเป็นพิษของเมทิลหาราไรออนหรือออร์กาโนฟอสเฟตชนิดอื่น ๆ ควรจะพิจารณาจากทั้ง 2 วิธีร่วมกัน

1. คุยการวัดสมรรถนะของเอ็นไซม์โรสอินเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อ ละสมอง เพราะจากผลการทดลองพบว่า เมทิลหาราไรออนมีผลในการยับยั้งสมรรถนะของเอ็นไซม์โรสอิน เอสเทอเรสในกล้ามเนื้อเมื่อความเข้มข้นสูงพอ และสมอง ความรุนแรงของการยับยั้งขึ้นกับ ปริมาณเมทิลหาราไรออนที่ได้รับ

2. ระยะเวลาพิจารณาผลทางจุลพยาธิวิทยาที่พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เหงือก  
กล้ามเนื้อ และตับ

อย่างไรก็ตาม เกษกรควรควรรู้วิธีป้องกันเพื่อความปลอดภัยของปลา

1. ควรสูบน้ำมาพักไว้ก่อนก่อนพักน้ำอย่างน้อย 4 วัน ก่อนนำน้ำมาใช้ในบ่อเลี้ยง ถ้า  
ให้อากาศโดยใช้ air jet หรือ paddle wheel ซึ่งทำให้น้ำหมุนเวียน
2. ทดสอบน้ำโดยการกั้นคอกในบ่อพักน้ำ และใส่ปลาขนาดเล็กจำนวนหนึ่งลงไปเพื่อ  
ทดสอบก่อนการใส่ปลาจำนวนมาก ถ้าปลาคายมากผิดปกติไม่ควรนำน้ำนั้นมาใช้
3. สำหรับแหล่งน้ำที่มีค่าความกระด้าง และค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ค่านั้นในช่วง  
หน้าฝน ควรเพิ่มการระมัดระวังในการพักน้ำ เนื่องจากน้ำที่มีค่าความกระด้าง และ pH ค่า  
จะทำให้พิษของสารกำจัดศัตรูพืชต่อปลารุนแรงกว่าน้ำที่มีความกระด้าง และ pH สูงได้ เนื่องจาก  
ถ้าค่าทั้งสองนี้สูงขึ้น จะทำให้พิษของสารกำจัดศัตรูพืชสลายตัวได้เร็วขึ้น ซึ่งการลดพิษอาจทำได้โดย  
การพักน้ำให้นานขึ้น หรือการใส่ปูนขาวในบ่อเลี้ยงเพื่อเพิ่มความกระด้าง และ pH สูงได้
4. เป็นแนวทางในการวัดหาความเป็นพิษในกรณีที่มีผู้สงสัยว่ามีกำจัดศัตรูพืชมาระยะ  
เวลานาน

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย