หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

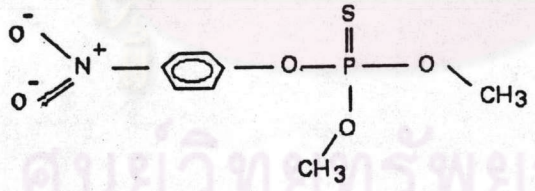
การสำรวจเอกสาร

เมทิลพาราไธออน

เมทิลพาราไธออนเป็นสารกำจัดแมลงในกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟต มีคุณสมบัติต่าง ๆ คือ

ชื่อสามัญ เมทิลพาราไธออน

ชื่อเคมี O,O-Dimethyl O-P-Nitrophenyl Phosphorothiate มีสูตรโมเลกุล $C_8 H_{10} NO_5 PS$ และ สูตรโครงสร้าง คือ



คุณสมบัติทางเคมี และทางกายภาพ

จุดเดือด	143 °C
จุดหลอมเหลว	37-38 °C
น้ำหนักโมเลกุล	263.23
ความดันไอ	1.3 mPa ที่ 20 °C
การละลายน้ำ	55 - 60 mg/l ที่ 25 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมทิลพาราไธออนที่บริสุทธิ์ 98% (Chemscience Co.Ltd.) มีลักษณะเป็นเกล็ดสีขาวไม่ละลายน้ำ ละลายได้ในน้ำมันและตัวทำลายอินทรีย์ เช่น อัลกอฮอล์ เฮกเซน และจะเสถียรในน้ำที่มีสภาพเป็นกลางหรือกรด (Sharmila et al.,1988)

รูปแบบและการใช้

รูปแบบที่ผลิต มีทั้งชนิดฝุ่นผง ผงเปียก ผงแขวนลอย และชนิดน้ำโดยใช้ในนาข้าว สวนผลไม้ ไร่ยาสูบ ใช้เพื่อกำจัดแมลงและตัวอ่อน สารที่ใช้เป็นสื่อ ได้แก่ น้ำมัน ดินเผา สารระเหยปิโตรเลียม

แหล่งกำเนิด

เมทิลพาราไธออนเป็นสารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตที่ไม่ได้เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ แต่ถูกสร้างผลิตโดยมนุษย์เพื่อใช้ในรูปสารเคมีกำจัดแมลง สามารถแพร่กระจายในธรรมชาติได้จากหลายกิจกรรม เช่น กระบวนการผลิต การขนส่ง การเก็บรักษา และการใช้ในรูปสารกำจัดแมลง โดยฉีดพ่นในรูปของสารละลายน้ำมัน ผงฝุ่นผสมน้ำ ผงเปียก หรือสารละลาย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

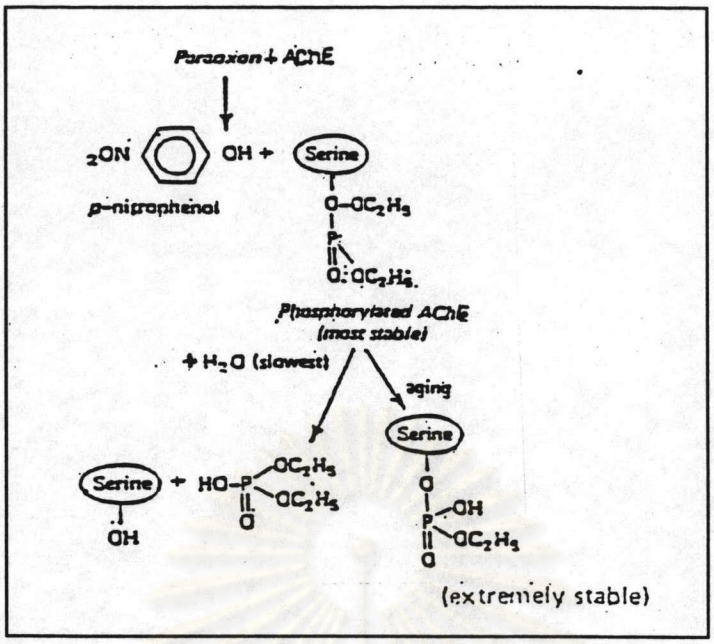
การแพร่กระจายในสิ่งแวดล้อม

ในความเข้มข้นต่ำๆ เมทิลพาราไธออนจะถูกย่อยสลายได้ง่ายภายในระยะเวลาไม่นาน(วันหรือเดือน)โดยกระบวนการทางชีวภาพ และจะย่อยสลายได้มากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และได้รับแสงอาทิตย์ ในบริเวณที่มีแสงแดดส่องถึง อุณหภูมิสูง มีจุลินทรีย์ผู้ย่อยสลายชนิด *Bacillus sp.* และ *Flavobacterium* เมทิลพาราไธออนจะถูกย่อยสลายหมดภายใน 2-4 สัปดาห์ (Michalenko et al., 1991) บริเวณที่มีการปนเปื้อนในความเข้มข้นสูง การย่อยสลายจะเกิด

ขึ้นได้ช้า และจะถูกซึมซับลงสู่ดิน และแพร่กระจายสู่แหล่งน้ำเมื่อฝนตก หรือเกิดการชะพาของน้ำผิวดิน การระเหยของน้ำมีส่วนช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย เมทิลพาราไธออนจะมีปริมาณสูงในฤดูหนาวมากกว่าฤดูร้อน โดยค่าครึ่งชีวิตในฤดูร้อนใช้เวลาเพียง 8 วันแต่ในฤดูหนาวใช้เวลาถึง 38 วัน (Michalenko et al., 1991)

กลไกการออกฤทธิ์และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

เมทิลพาราไธออนมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) มีผลทำให้เกิดการสะสมของอะเซติลโคลีน (ACh) บริเวณรอยต่อของเส้นประสาท (pre-post synaptic site) ในภาวะปกติเมื่อ ACh ทำหน้าที่สื่อประสาทแล้วจะเกิดปฏิกริยา กับ AChE ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ (reversible complex) เอนไซม์จะถูก acetylated ที่ตำแหน่ง serine ได้เป็นเอนไซม์อิสระ จากนั้นจะถูก hydrolysis ได้ choline ที่สามารถเข้ารวมตัวกับ ACh ได้ใหม่ แต่เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออนเข้าสู่ร่างกาย เมทิลพาราไธออนจะเข้าแย่งจับกับ AChE ทำให้ปฏิกิริยาระหว่าง ACh และ AChE ถูกขัดขวาง ได้เป็นสารเชิงซ้อนระหว่างตัวยับยั้งของเมทิลพาราไธออนกับ AChE ที่อยู่ได้ถาวรมากไม่ปล่อยให้ AChE เป็นอิสระอีกครั้ง (irreversible cholinesterase inhibitors) การเกิด phosphorylated ที่ตำแหน่ง serine ทำให้มีการปลดปล่อยอนุมูลอิสระ แต่จะเกิดการ hydrolysis ช้ามาก จึงทำให้ AChE ไม่สามารถทำปฏิกริยากับ ACh ได้ (รูปที่ 1) ผลของ ACh ที่ไม่ถูกทำลายทำให้มีกระแสประสาทกระตุ้นการทำงานของระบบต่างๆ อย่างต่อเนื่อง



รูปที่ 1 การยับยั้ง AChE โดยสารกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟต (Corbett,1974)

ผลของการได้รับสารอินทรีย์ฟอสเฟตในสัตว์ต่างๆ คล้ายกับการให้ ACh หรือคล้ายกับการกระตุ้นปลายประสาทให้หลั่ง ACh ได้แก่

1. ฤทธิ์มัสคารินิค (Muscarinic effect) มีผลจากการกระตุ้น M-cholinergic receptor เป็นการกระตุ้นระบบประสาทพาราซิมพาธีติค มีผลต่อกล้ามเนื้อเรียบ เกิดจากการหดรัดตัวที่ระบบทางเดินอาหาร มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดเกร็งในท้อง น้ำลายหลั่งมากผิดปกติ เหงื่อออก สำหรับระบบหายใจ มีอาการแน่นในอก หายใจมีเสียงหวีด ผลต่อกล้ามเนื้อหัวใจ ทำให้กล้ามเนื้อหัวใจอ่อนแรง หัวใจเต้นช้าลง ความดันโลหิตต่ำ และมีผลทำให้รูม่านตาหดเล็กลง

2. ฤทธิ์นิโคตินิค (Nicotinic effect) มีผลจากการกระตุ้น N-cholinergic receptor เป็นการกระตุ้นระบบประสาทซิมพาธีติค และกล้ามเนื้อลาย มีฤทธิ์ตรงข้ามกับการกระตุ้นระบบพาราซิมพาธีติค อาการกระตุ้นระบบซิมพาธีติคที่เด่นชัด เช่น หัวใจเต้นเร็วขึ้น ความดันโลหิตสูง รูม่านตาขยาย มีการกระตุกของกล้ามเนื้อบริเวณเปลือกตา ใบหน้า และคอ

3. ฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลาง อาจมีผลมาจากการกระตุ้นระบบ central M-cholinergic ทำให้มีอาการวิงเวียน เคลื่อนไหวเปะปะ ความคิดฟุ้งซ่าน หมดสติ

ไม่มีปฏิกิริยาโต้ตอบต่อสิ่งกระตุ้น การหายใจผิดปกติ มีการกระตุกของกล้ามเนื้อ และการชักเกร็งของกล้ามเนื้ออย่างรุนแรง

สารอินทรีย์ฟอสเฟตมีผลต่อระดับ AChE ในปลาหลายชนิด (Qadri et al., 1982; Lockart et al., 1985) ปลา *Channa punctatus* ที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.239 ppb เป็นเวลา 7 วัน มีระดับ AChE ในเนื้อเยื่อสมองลดลง (Ghosh and Bhattacharya, 1992) ปลาจีด(*Heteropneustes fossilis*) ปลาดุกด้าน(*Clarias batrachus*) ปลาหมอ (*Anabas testudineus*) ที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.1 mg/l เป็นเวลา 4 ชั่วโมง การทำหน้าที่ของ AChE ลดลง 10-37% (Chakraborty et al., 1989) ประสิทธิภาพของ AChE ในปลาม้าลาย (*Brachydanio rerio*) ลดลง 20-30% เมื่อสัมผัสเมทิลพาราไธออน 0.26-2.08 mg/l เป็นเวลา 12 วัน (Ansali et al., 1987)

การสลายตัวของเมทิลพาราไธออนในสิ่งมีชีวิต

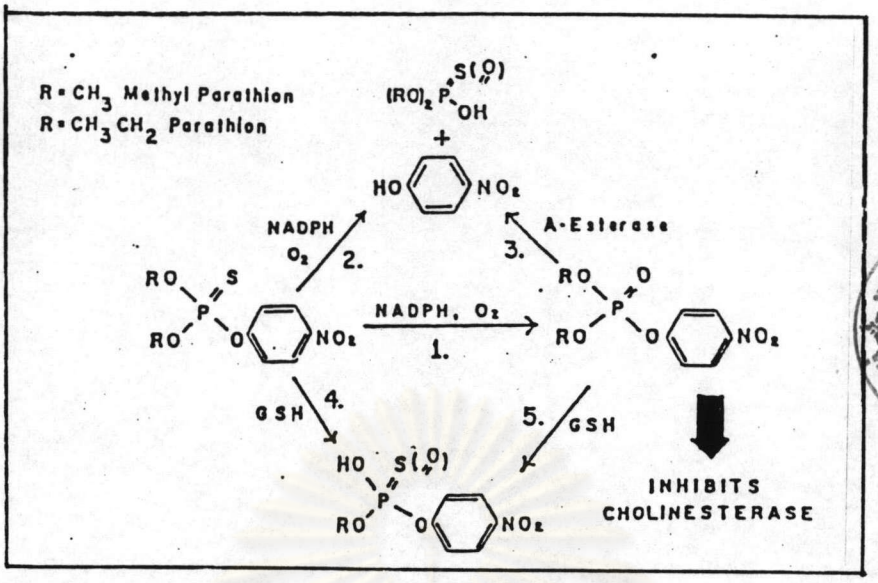
เมทิลพาราไธออนในสิ่งมีชีวิตเสื่อมสลายโดยปฏิกริยาออกซิเดชัน - รีดัคชัน ไฮโดรไลซีส ดีเมทิลเลชัน และคอนจูเกชัน (EPA, 1994) พาลาภ สิงหเสนี (2535) ได้อธิบายการเปลี่ยนรูปสารอินทรีย์ฟอสเฟตโดยปฏิกริยาต่างๆ ดังนี้

1. ปฏิกริยาออกซิเดชัน เป็นการดึงกลุ่ม methyl และ alkyl ออกจากโมเลกุล ทำให้โครงสร้างโมเลกุลเปลี่ยนแปลง

2. ปฏิกริยารีดัคชัน ใช้เอนไซม์ซึ่งเปลี่ยน nitrogroup ให้เป็น aminogroup

3. ปฏิกริยาไฮโดรไลซีส เป็นปฏิกริยาที่สำคัญที่สุดที่ทำให้อินทรีย์ฟอสเฟตหมดฤทธิ์ลง เกิดร่วมกับปฏิกริยาการสลายตัวอื่นๆทุกรูปแบบ โดยอาศัยเอนไซม์ฟอสฟาเตสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในพลาสมา และเนื้อเยื่อ

4. ปฏิกริยาคอนจูเกชัน เกิดการแย่งจับกับสารในตัวสัตว์ เช่น glucuronic acid, sulfuric acid, glucose, glutathione ทำให้โมเลกุลเปลี่ยนแปลง



รูปที่ 2 ขบวนการเมตาบอลิซึมของเมทิลพาราไธออนในร่างกาย (Benke et al., 1975)

นอกจากนี้ เมทิลพาราไธออนยังถูกเปลี่ยนแปลงในขบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายที่อาศัย Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) เป็น coenzyme ร่วมกับ oxygen (O_2) เกิดเป็นเมทิลพาราออกซอน (methyl paraoxon) ดังปฏิกริยาที่ 1 ในรูปที่ 2 ซึ่งเป็นสารที่มีผลในการยับยั้งการทำงานของ AChE ในขณะเดียวกันร่างกายจะหลั่งเอนไซม์ Glutathione-S-Alkyl transferase ออกมาจากตับเพื่อทำลายเมทิลพาราไธออนให้กลายเป็นสารที่ไม่มีผลในการยับยั้ง AChE ดังปฏิกริยาที่ 4 และ 5 หรือในปฏิกริยาที่ 2 และ 3

การสลายตัวในสิ่งแวดล้อม

การสลายตัวของอินทรีย์ฟอสเฟตในสิ่งแวดล้อมขึ้นกับปัจจัยหลายประการเช่น อุณหภูมิ pH ความเค็ม และปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำ จากการเปรียบเทียบอัตราการสลายตัวโดยพิจารณาจากค่าครึ่งชีวิตของสารอินทรีย์ฟอสเฟตที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิสูงการไฮโดรไลซีสเกิดขึ้นได้ดี (Sharmila et al., 1988) ทำให้มีการสลายตัวเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (ตารางที่2) ส่วน pH ของน้ำต่อการสลายตัวของมาลาไธออนนั้นพบว่า ที่ pH สูงอัตราการสลายตัวเกิดมากกว่าที่ pH ต่ำ (ตารางที่3) และเช่นเดียวกัน การสลายตัว

ของเมทิลพาราไธออนจะเกิดเร็วขึ้นเมื่อ pH สูงขึ้น โดยที่ระดับ pH เดียวกันเมทิลพาราไธออนที่ปนเปื้อนในน้ำจืดจะมีอัตราการสลายตัวเร็วกว่าในน้ำกร่อย และน้ำทะเล (ตารางที่4) การทดลองเปรียบเทียบค่าครึ่งชีวิตของเมทิลพาราไธออนในน้ำกร่อยในสภาพที่ได้รับแสงแดด ที่อุณหภูมิประมาณ 25-45 °C มีค่าครึ่งชีวิตนาน 6.3 วัน เปรียบเทียบกับสภาพที่ได้รับแสงจากหลอดฟูออเรสเซนต์เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25 °C มีค่าครึ่งชีวิตนานกว่า 28 วัน แต่ถ้าอยู่ในดินตะกอนที่เติมสารอินทรีย์ 46 เปอร์เซนต์ จะมีค่าครึ่งชีวิตเพียง 1.2 วัน (มะลิวรรณ แสงจันทร์ ม.ป.ป.) ในแหล่งน้ำธรรมชาติที่มีสารอินทรีย์ในปริมาณมาก เมทิลพาราไธออนจะสลายตัวได้เร็วขึ้น (Holm et al., 1983) ความเป็นพิษของสารกลุ่มนี้บางตัวจะเพิ่มสูงขึ้น ถ้าเกิดการกระตุ้นขณะเก็บรักษา โดยเฉพาะได้รับความร้อนที่พอเหมาะและสารอยู่ในตัวทำละลายที่มีประจุ เช่น ในน้ำ โดยจะเกิดการเปลี่ยนแปลงส่วนของโมเลกุลได้เป็นสารที่มีพิษสูงกว่าสารเดิม เช่น การเปลี่ยนแปลงจาก phosphorothionates และ phosphorothiolothionates ไปเป็น thiolates และ dithiloates เป็นต้น สารกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟตที่อาจเกิดการเปลี่ยนแปลงในโมเลกุลให้ได้สารที่มีพิษสูงขณะเก็บรักษาในตัวทำลายที่มีประจุหรือในน้ำ เช่น พาราไธออน มาลาไธออน และ เฟไนโตรไธออน

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ของค่าครึ่งชีวิตกับอุณหภูมิของสารกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟตในน้ำที่ pH 7.4 (Virgil et al., 1979)

สารเคมี	20 °C	37.5 °C
phosmet	7.1 ชั่วโมง	1.1 ชั่วโมง
dialifor	14 ชั่วโมง	1.8 ชั่วโมง
malathion	11 วัน	1.3 วัน
methyl chlopyrifos	13 วัน	2.6 วัน
dicapthon	29 วัน	5.5 วัน
chlorpyrifors	53 วัน	18 วัน
parathion	130 วัน	27 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 ผลกระทบของ pH ต่อการสลายตัวของมาลาไธออนในแหล่งน้ำ (Konrad et al., 1969)

pH	การสลายตัวของมาลาไธออนใน 7 วัน(%)
2.0	0
4.0	0
6.0	0
9.0	25
11.0	100

ตารางที่ 4 ค่าครึ่งชีวิตของเมทิลพาราไธออนในน้ำ (สถาพร สุวรรณรักษ์, 2535)

ชนิดของน้ำ	ค่าครึ่งชีวิต (วัน)		
	pH 5	pH 7	pH 8.5
น้ำทะเล (sea water)	301.3	231.0	38.5
น้ำกร่อย(brackish water)	277.0	184.8	23.1
น้ำจืด (fresh water)	154.0	135.8	15.7

ปัจจัยที่มีผลต่อความเป็นพิษของสารอินทรีย์ฟอสเฟต

1. ความแตกต่างของชนิดสัตว์ (species)เนื่องจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดจะกระตุ้นหรือทำลายเอนไซม์ในสัตว์แต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ปลาต่างชนิดกันจะไวต่อสารพิษชนิดเดียวกันไม่เท่ากัน เช่น ปลา bluegill จะไวต่อมาลาไธออนมากกว่าปลาชิว และปลาทอง ตามลำดับ (Richmonds and Dutta , 1989)

2. อายุ สารที่สามารถออกฤทธิ์ได้โดยไม่ต้องถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ก่อน จะมีพิษสูงต่อสัตว์อายุน้อยเพราะสัตว์เหล่านี้มีเอนไซม์ที่ใช้ในการทำลายพิษของสารกำจัดศัตรูพืชน้อย แต่สารที่ต้องถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ก่อนจะออกฤทธิ์จะมีพิษต่อสัตว์ที่มีอายุน้อยไม่

มากนักเมื่อเทียบกับในสัตว์โตที่มีปริมาณเอนไซม์สูงกว่า สำหรับสารอินทรีย์ฟอสเฟตนั้น ในสัตว์อายุน้อยจะแสดงอาการเป็นพิษเร็วกว่าสัตว์ที่มีอายุมาก (Osweiler et al.,1973)

3. เพศ แตกต่างไปตามชนิดสัตว์ พันธุ์ และชนิดของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช เกี่ยวข้องกับระดับฮอร์โมนในกระแสเลือดที่แตกต่างกันที่ช่วยเสริมให้เกิดความเป็นพิษมากขึ้น

4. การได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่นร่วมด้วย รวมทั้งสารที่มีฤทธิ์ทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว ยากดประสาท สารที่เพิ่มระดับเอนไซม์ในตับ และภาวะของการเป็นโรคในขณะที่ได้รับสารเคมีกำจัดศัตรูพืช

5. ทางที่ได้รับสาร ในสัตว์บกจะมีความสำคัญมาก เนื่องจากการได้รับสารแต่ละทางทำให้การเกิดพิษรุนแรงและรวดเร็วแตกต่างกัน แต่ในปลาได้รับสารพร้อมกันหลายทาง การแสดงความเป็นพิษจึงไม่แตกต่างกันนัก ปลาได้รับพิษโดยสัมผัสทางผิวหนังภายนอก เหงือก เยื่อบุตา และเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารได้โดยการกิน

ผลกระทบของเมทิลพาราไธออนต่อสัตว์น้ำ

สารอินทรีย์ฟอสเฟตมีผลกระทบต่อการดำรงชีพของสัตว์น้ำหลายประการ การได้รับสารในปริมาณน้อยในระยะเวลาสั้น อาจไม่พบอาการผิดปกติที่สังเกตได้ที่ภายนอก แต่เมื่อได้รับในปริมาณมากขึ้น ระยะเวลานานขึ้น จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรม และการเปลี่ยนแปลงทางสรีระวิทยาโดยมีผลต่อระบบต่างๆ ได้แก่ ระบบเลือด ระบบหายใจ ระบบภูมิคุ้มกัน ระบบสืบพันธุ์ และเมื่อได้รับในปริมาณที่ไม่ทำให้ถึงตายแต่ได้รับเป็นเวลานานอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม

เมทิลพาราไธออนมีผลต่อปลา *Macropodus cupanus* โดยทำให้อัตราการกินอาหาร และ feed conversion efficiency ลดลง เมื่อได้รับในความเข้มข้น 0.0075-0.0063 mg/l นาน 27 วัน ที่อุณหภูมิ 28 °C (Muniandy, 1987) เช่นเดียวกับใน ปลาหมอเทศ (*Tilapia mossambica*) ที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.15 mg/l

มีอัตราการกินอาหารลดลง (Pal and Konar , 1987)

การใช้เมทิลพาราไธออนในระดับความเข้มข้น 0.1 mg/l เพื่อกำจัดปลาน้ำจืดชนิด *Channa punctatus* และ ปลาดุก (*Clarius batrachus*) ทำให้ปลาตายภายในเวลา 210-1620 นาที แต่ถ้าใช้ 1 mg/l ปลาจะตายในเวลา 60-200 นาที โดยไม่พบสารตกค้างในสิ่งแวดล้อมหลังการใช้นาน 2 สัปดาห์ (Chakraborty et al.,1989)

Apperson และคณะ (1976) ทดลองให้เมทิลพาราไธออนในปริมาณ 0.0027 mg/l ในปลาน้ำจืด *Lepomis macrochirus* พบว่าหลังระยะเวลา 12 ชั่วโมงผ่านไป อัตราการสะสมของทั้งตัวปลาเท่ากับ 30 (อัตราการสะสมเป็นอัตราส่วนระหว่างความเข้มข้น ของเมทิลพาราไธออนในสิ่งมีชีวิต(น้ำหนักเปียก)หารด้วยความเข้มข้นของเมทิลพาราไธออน ในน้ำ)

เมทิลพาราไธออนมีผลต่อระบบหายใจของปลาโดยทำให้ปลามีการใช้ออกซิเจนมากขึ้น เพื่อพยายามเพิ่ม oxidative metabolism ตอบสนองต่อสารพิษ (Rao et al., 1985) มีผลทำให้หายใจลำบาก และเกิดภาวะขาดออกซิเจน

ในปลาช่อน (*Channa striatus*) ที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.88 mg/l ซึ่งเท่ากับ LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง พบว่าอัตราการหายใจของ mitochondria ในตับลดลงจาก 2.6 เป็น 1.78 นอกจากนี้ยังลดเอนไซม์ succinate dehydrogenase ในกล้ามเนื้อและในตับด้วย (Bhaskaran, 1988)

การทดลองของ Srivastava (1987) ในปลาจีด (*Heteropneustes fossilis*) พบการเพิ่มขึ้นของคลอไรด์ในกระแสเลือดปลาที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.5 mg/l

ผลของสารอินทรีย์ฟอสเฟตต่อการเปลี่ยนแปลงในระบบเลือดของปลา พบว่าปลาจีด (*Heteropneustes fossilis*) ที่ได้รับมาลาไธออนจะมีจำนวนเม็ดเลือดแดงลดลง เกิดภาวะโลหิตจางชนิด microcytic และ normocytic และ มีจำนวนเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้นที่เวลา 24 ชั่วโมง แต่จำนวนจะลดลงเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง (Dutta et al., 1992) การทดลองในปลาน้ำจืด *Channa punctatus* โดยการให้เมทิลพาราไธออน 0.05 mg/l เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้อัตราการแข็งตัวของเลือดเพิ่มขึ้น 90% จำนวนเม็ดเลือดแดง

ลดลง 14% ส่วนการให้ในระดับความเข้มข้น 0.025 mg/l เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ทำให้เม็ดเลือดแดงลดลงถึง 19% (Lonek and Javaidm ,1976)

ในปลาหางนกยูง (*Gambusia affinis*) ที่ได้รับคลอไพริฟอส (Hughes et al., 1991) จะมี gene frequencies เปลี่ยนแปลง แต่ไม่พบความผิดปกติที่สังเกตได้ เมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน 0.1 mg/l เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Johnson and Wallace,1987)

การศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดแมลงในสัตว์น้ำ เนื่องจากสัตว์น้ำแต่ละชนิดมีความต้านทานต่อระดับความเป็นพิษของสารไม่เท่ากัน แตกต่างกันไปตามชนิดสัตว์ อายุ ชนิดสารเคมี ระยะเวลาที่สัมผัส จึงนิยมทำการเปรียบเทียบความเป็นพิษรุนแรงของสารแต่ละชนิด โดยวัดความเข้มข้นของสารที่ทำให้สัตว์น้ำตายร้อยละ 50 ที่เวลาต่างๆ กัน (ตารางที่ 5)

ผลกระทบต่อระบบภูมิคุ้มกัน

สารเคมีกำจัดแมลง ทั้งชนิดที่เป็นอินทรีย์คลอรีน และอินทรีย์ฟอสเฟต มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยสารในกลุ่มอินทรีย์คลอรีนทำให้เกิดการ proliferation ของเม็ดเลือดขาวชนิด B-lymphocyte และ T-lymphocyte และทำให้อัตราการ phagocytosis ในปลา rainbow trout เปลี่ยนแปลง (Dunier et al., 1991) สารอินทรีย์ฟอสเฟตมีความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน (immunotoxic) ทำให้เกิดภาวะ lymphopenia, cytopenia, thymic atrophy และกดการสร้าง antibody ในหนู murine (Dean et al.,1989) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมทิลพาราไธออนมีความเป็นพิษต่อระบบภูมิคุ้มกันในคนและสัตว์หลายชนิด พบว่าคนที่ได้รับสัมผัสเมทิลพาราไธออนมีประสิทธิภาพในการ chemotaxis ของ polymorphonuclear leucocyte ลดลง(Descotes,1988) ในสัตว์น้ำ เมทิลพาราไธออนมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) โดยทำให้ phagocyte ที่แยกจากเนื้อเยื่อ หัวใจ และที่อยู่ใน hemolymph มีอัตราการเกิด chemotaxis และ phagocytosis ลดลง เมื่อกุ้งได้รับสารดังกล่าว

ตารางที่ 5 ค่า LC_{50} ของสารในกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟตต่อสัตว์น้ำชนิดต่างๆ

สาร	สัตว์น้ำ	ค่า LC_{50} ที่ระยะเวลา (ชั่วโมง) 24	48	96	เอกสารอ้างอิง
Gusathion A	black tiger prawn(*Penaeus monodon*)	-	-	120 ppb	Baticados and Tendencia,1991
Trichlorfon	*Cichlasoma urophthalmus*	26 ppm	23 ppm	-	Flores and Vizcarra, 1989
Diazenon	zebra fish(*Brachydanio rerio*)	2.3 ppm	-	2.12 ppm	Ansali et al., 1987 European
	eel(*Anguilla anguilla*)	0.16 ppm	0.11 ppm	0.08 ppm	Sancho et al., 1992
Fonofos	bluegill (*Lepomis macrochirus*)	-	-	5.3 ppb	Fairchild et al., 1992
	dapnia (*Dapnia magna*)	-	-	5.6 ppb	Fairchild et al., 1992
	midge (*Chiromonous riparius*)	-	-	5.1 ppb	Fairchild et al., 1992
Dichlorvos	herring (*Clupea harengus*)	-	-	122 ppb	Mchenry et al., 1991
Malathion	fathead minnow	-	-	9000 ppb	Kenaga, 1979
	bluegill minnow	-	-	108 ppb	Kenaga, 1979
	sheaphead minnow	-	-	51 ppb	Kenaga, 1979
Methyl parathion	*Penaeus Indicus*	-	0.95 ppm	-	Finney, 1964
	Penaeus monodon	-	-	3 ppb	Bodhipaksha, 1994
	Metapenaeses monoceros	-	1.2 ppm	-	Reddy and Rao, 1989
	gastropod(*Thiara Lineata*)	14 ppm	8 ppm	-	Ray et al., 1988
	Cyprinus carpio	-	1 ppm	-	Nagarathnama, 1982
	Cyprinus carpio	-	12 ppm	-	Ramamurthy et al, 1987
	rainbow trout	-	-	2.7 ppm	EPA , 1994
	Golden orfe	-	-	6.9 ppm	EPA , 1994
	Channa striatus	-	-	0.88ppm	Bhaskaran, 1988
	Channa orientalis	6.36 ppm	4.78 ppm	2.5 ppm	Sherekar and Kalkani,1988
	Channa orientalis	6.58 ppm	4.33 ppm	2.5 ppm	Sherekar and Kalkani,1988
	Indian catfish(*Heteropneustes fossilis*)	-	-	7.5 ppm	Srivastava, 1987
	sea bass(*Lates calcarifer*)	-	-	1.48ppm	ภัทรา หาญจริยากูล, 2536

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่ระดับความเข้มข้น 0.001-0.006 mg/l (Bodhipaksha, 1994) นอกจากสารเคมีกำจัดแมลงจะมีผลต่อ chemotaxis และ phagocytosis แล้ว สารชนิดอื่นๆ ที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำก็อาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันดังกล่าวได้เช่นเดียวกัน ปลา spot (*Leiostomus xanthurus*) และ hogchoker (*Trinectes maculatus*) ที่อยู่ในแหล่งน้ำที่มีสาร polynuclear aromatic hydrocarbon และ tributyltin ปนเปื้อน มี chemotactic และ phagocytic activity ลดลง (Weeks and Warinner,1984 ; Weeks et al., 1990)

วิธีการศึกษาระดับความเป็นพิษของสารเคมี

การศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีต่อสัตว์น้ำจำแนกได้เป็น 2 ระดับ คือ

1. ระดับพิษเฉียบพลัน (acute toxicity) คือ ระดับความเป็นพิษของสารเคมีที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพสัตว์ที่ได้รับสารเคมีเข้าในร่างกาย 1 ครั้ง สัตว์น้ำจะได้รับสารทดสอบในความเข้มข้นสูงในระยะเวลาสั้น โดยปกติในปลาจะทดสอบที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง การศึกษาพิษในระดับนี้จะวัดความผิดปกติในลักษณะของ lethal concentration นับจำนวนปลาที่ตายเมื่อสัมผัสสารครบตามระยะเวลาทดสอบร่วมกับการสังเกตอาการ และพฤติกรรมเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Ecobichon,1992) ระยะเวลานี้อาจเป็นการทดสอบในระดับเรื้อรังสำหรับสัตว์ที่มีวงจรชีวิตสั้นมาก เช่น สัตว์น้ำวัยอ่อนหรือแมลง

2. ระดับพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) เป็นการวัดความเป็นพิษของสารที่ได้รับในระดับที่ไม่ทำให้สัตว์น้ำตาย (sublethal) อาจวัดในระยะสั้นหรือระยะยาว ถ้าทำการทดสอบในระยะสั้นจะวัดความเข้มข้นของสารทดสอบที่ระดับต่ำกว่าความเป็นพิษเฉียบพลัน (subacute) ซึ่งนิยมศึกษาในระยะเวลา 21-90 วัน แต่ถ้าเป็นการศึกษาในระดับเรื้อรังในระยะยาวจะใช้เวลาศึกษา 1-2 ปี วัดผลความเป็นพิษต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยาในระดับเนื้อเยื่อ และระดับเซลล์ (Ecobichon,1992) ในบางกรณีอาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับวัดผลในการเป็นสารที่ก่อให้เกิดเนื้องอก และการกลายพันธุ์ ค่าความเข้มข้นที่ศึกษา

ขึ้นกับชนิดของสาร ปริมาณที่ได้รับ ช่วงเวลาที่สัมผัส สภาพแวดล้อม ความไวต่อสารสาร ประกอบอินทรีย์ฟอสเฟต ชนิด และอายุของสัตว์ สารประกอบอินทรีย์ฟอสเฟตต่างชนิดกัน มีผลต่อสัตว์ในระดับที่แตกต่างกัน (Galgani and Bocquene, 1990)

พฤติกรรมผิดปกติของสัตว์ที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดแมลง

เมื่อสัตว์น้ำสัมผัสสารกำจัดแมลงที่ปนเปื้อนในน้ำในระดับความเข้มข้นต่ำ สัตว์จะไม่ตายในทันที แต่จะมีพฤติกรรมเปลี่ยนแปลงไปโดยแสดงอาการผิดปกติของการทรงตัว การว่ายน้ำผิดปกติ การแสดงออกถึงภาวะที่ร่างกายต้องการออกซิเจนเพิ่มขึ้น ในระยะเริ่มแรกที่ปลา bluegill (*Lepomis macrochirus*) ได้รับมาลาไธออน 0.016-0.048 mg/l ปลาจะตื่นตัวมาก (hyperactive) แต่ต่อมาจะลอยตัวนิ่ง (lethargic) บางตัวจะว่ายน้ำอย่างรวดเร็ว ชัก กระตุก และกางครีบจนสุดก่อนตาย(Richmonds and Dutta,1992) ปลาหมอ (*Anabas testudineus*) แสดงอาการตื่นกระวนกระวายในระยะแรกที่ได้รับมาลาไธออน ต่อมาจะนอนตะแคงนิ่ง (Dutta et al., 1994) ปลา Japanese medaka (*Oryzias latipes*) ว่ายน้ำไม่มีทิศทางตลอดเวลาเมื่อได้รับโมลิเนทและคาร์โบฟูแรนร่วมกับเมทิลพาราไธออน แต่ไม่แสดงอาการผิดปกติเมื่อได้รับเมทิลพาราไธออนเพียงอย่างเดียว (Heath et al., 1993) กุ้งกุลาดำจะพยายามตีดตัวขึ้นเหนือน้ำเมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน (สถาพร สุวรรณรักษ์, 2535; Bodhipaksha, 1994)ปลาหมอเทศ(*Tilapia mossambica*)ที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.15-3 mg/l เกิดการกระตุกของกล้ามเนื้อและครีบ บางตัวอ้าปากและหุบปากตลอดเวลา (Pal and Konar, 1987) และเมื่อได้รับเมทิลพาราไธออน 2 mg/l นานเกิน 15 วันจะกดการเคลื่อนไหวของแผ่นปิดเหงือก (Bashamohideen et al., 1987) ปลา striped bass (*Morone sexatilis*) จะเสียการทรงตัวทันทีที่ได้รับเมทิลพาราไธออน (Heath et al, 1993) และปลากะพงขาวที่ได้รับเมทิลพาราไธออน 0.5-2.5 mg/l จะมีอาการกระวนกระวาย กระโดดตัวขึ้นเหนือน้ำ เคลื่อนไหวอย่างไม่มีทิศทางแน่นอน (ภัทรา หาญจริยากูล, 2535)

จุลพยาธิสภาพของอวัยวะปลาเมื่อได้รับสารกำจัดแมลง

พยาธิสภาพของอวัยวะต่าง ๆของปลาที่ได้รับเมทิลพาราไธออน และสารเคมีในกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟต มีรายงานในปลา blue gill ที่ได้รับมาลาไธออน 0.05 mg/l นาน 24 ชั่วโมง เกิดการขยายออกของกลุ่มเส้นเลือดฝอยในท่อไต (dilatation of glomerular capillary) และมีเซลล์เมือกที่ผิวหนังเพิ่มมากขึ้น (Dutta and Marcelino, 1990) เซลล์ตับของ ปลาจีด (*Heteropneustes fossilis*) ที่ได้รับมาลาไธออนภายในเวลา 48 ชั่วโมงเกิดการหดตัว เกิด degeneration ของเยื่อหุ้มเซลล์ มี vacuolation ในไซโตพลาสซึม นิวเคลียส มีลักษณะ pyknosis ความเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นที่เวลา 96 ชั่วโมง โดยเกิดความผิดปกติของรูปร่างเซลล์ตับมากขึ้น เยื่อหุ้มเซลล์ฉีกขาด และเซลล์รวมต่อกันดูเหมือนเซลล์ที่มีนิวเคลียสหลายอัน (Dutta et al.,1993) นอกจากนี้มาลาไธออนยังทำลายเซลล์เยื่อบุผิวชั้น thick mucosa เยื่อบุผิวเหงือก เซลล์เหงือก และหลอดเลือดบริเวณซี่เหงือกของปลา และทำให้เนื้อเยื่อตับของปลาเกิดการตายเป็นบริเวณกว้าง (Nagarathnama, 1982) และเมื่อปลาคาร์พได้รับเมทิลพาราไธออน 12 mg/l เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เซลล์เยื่อบุผิวเหงือกจะเกิดการลอกหลุด และซี่เหงือกถูกอุดตัน (Ramamurthy et al., 1987) ในปลา *Channa punctatus* ที่สัมผัสเมทิลพาราไธออนในความเข้มข้นที่ต่ำกว่าระดับที่ทำให้ปลาตายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เกิด vacuolation และมี dark granular cytoplasmic inclusion ในเซลล์ตับ ภายหลังจากสัมผัสสารนาน 14 วัน พบ cytoplasmic vacuolation เพิ่มสูงขึ้น แต่ dark granulation ลดลง ในตับของปลาดุกมี vacuolation ส่วนตับของปลาทองมี cytoplasmic granulation สูงขึ้น หลังจากสัมผัสเมทิลพาราไธออน 0.2 mg/l (Kenney and Eller, 1969)

ปลากะพงขาว

อนุกรมวิธานของปลากะพงขาว

Phylum	Chordata
Class	Pisces
Subclass	Teleostome
Order	Perciformes
Suborder	Percoidei
Family	Latidae
Genus	Lates
Species	*Lates Calcarifer* Bloch.
ชื่อสามัญ	Sea bass, Giant perch

ลักษณะโดยทั่วไปของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาว มีลักษณะลำตัวค่อนข้างยาว และหนาแบนข้าง ขากรรไกรล่างยื่นยาวเล็กน้อย ปากกว้าง ช่องปากเฉียงลงมีฟันเล็กละเอียดที่ขากรรไกรและที่เพดานปาก แผ่นแก้มมีขนาดใหญ่ มีขอบหลังเป็นหนามแหลม 4 ชี่ และเรียงต่อด้วยชี่เล็ก ๆ จัดตามแนวหลัง ด้านหลังมีสีเทาเงิน ส่วนท้องจะมีสีเงินแกมเหลือง บริเวณด้านข้างของลำตัวมีสีเงินครีบหลัง ครีบก้น ครีบหาง จะมีสีเทาปนดำบางๆ มีครีบหลังสองตอน เชื่อมต่อกันด้วยเยื่อบางๆ ครีบก้นมีตำแหน่งใกล้เคียงกับครีบหลังตอนที่สอง ข้อหางสั้น ครีบหางค่อนข้างกลม เส้นข้างตัวโค้งไปตามแนวสันหลัง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การแพร่กระจาย

ปลากะพงขาว เป็นปลาที่มีถิ่นอาศัยอยู่ในแหล่งน้ำที่ไม่ห่างจากฝั่งมากนัก มักอยู่ชุกชุมอยู่ตามบริเวณปากแม่น้ำ ลำคลอง และทะเลสาบ สามารถอพยพย้ายถิ่นขึ้นไปอาศัยและเจริญเติบโตในแหล่งน้ำจืดได้ ปลากะพงขาวจัดเป็นปลาเขตร้อน ที่มีการแพร่กระจายอยู่ในอาณาเขตค่อนข้างกว้างมาก สามารถพบปลากะพงขาวตามแนวชายฝั่งทะเลบริเวณหมู่เกาะของประเทศในภูมิภาคอินโดแปซิฟิค และในภูมิภาคอินโดออสเตรเลีย ปัจจัยที่จำกัดการแพร่กระจายของปลาชนิดนี้ไปตามแถบต่างๆ ของโลก ได้แก่ ความเค็มของน้ำทะเล อุณหภูมิของน้ำ แหล่งอาหาร ซึ่งมีผลต่อการฟักตัวของไข่ และการมีชีวิตอยู่รอดของลูกปลาวัยอ่อน (มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะประมง, 2531)

การผสมพันธุ์และการวางไข่

ปลากะพงขาวจะผสมพันธุ์และวางไข่ในทะเลลึก มีความเค็มประมาณ 28-32 ส่วนในพันส่วน จากนั้นไข่จะถูกน้ำพัดพาเข้าสู่บริเวณชายฝั่ง และฟักออกเป็นตัว ลูกปลากะพงขาวที่ฟักออกเป็นตัว จะดำรงชีวิตอยู่ในน้ำกร่อยและน้ำจืด จนมีอายุได้ 2-3 ปี มีน้ำหนักประมาณ 3-5 กิโลกรัม จะเคลื่อนตัวออกสู่ทะเลเพื่อทำการผสมพันธุ์และวางไข่ต่อไป

การกินอาหารและการให้อาหาร

ปลากะพงขาวจัดเป็นปลากินเนื้อ เมื่อถูกนำมาเลี้ยงในเชิงการค้าจึงนิยมใช้ปลาเป็ดสดเป็นอาหาร โดยนำปลาเป็ดมาบดให้มีขนาดเท่ากับ ปากของปลาเพื่อให้ปลาสามารถฮุบกินได้ การให้อาหารปลาในแต่ละวันนั้น จะให้อาหารประมาณ 10 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักตัวปลา หรือประมาณโดยการสุ่มทดลอง และสังเกตโดยหว่านอาหารให้ทีละน้อยเมื่อเห็นว่าปลากินหมดแล้วจึงหว่านอาหารให้ใหม่ จนปลาไม่ขึ้นมาฮุบกินอาหารอีก

จึงหยุดให้อาหาร อัตราการกินอาหารของปลาในแต่ละวันจะไม่แน่นอน อัตราการกินอาหารจะลดลงในกรณีที่ได้รับการกระทบกระเทือน และตกใจจากกิจกรรมต่างๆ ในบริเวณกระชัง

ลักษณะเนื้อเยื่อที่ศึกษา

ตับ (liver)

ตับเป็นอวัยวะที่ผลิตน้ำย่อยเพื่อช่วยในการย่อยอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ ปลากะพงขาวมีตับค่อนข้างใหญ่เนื่องจากเป็นปลากินเนื้อ ตับมีสีเหลืองน้ำตาล รูปร่างยาวรีอยู่ติดกับกระเพาะอาหาร ตับของปลากะพงขาวจะไม่เหมือนกับตับของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม กล่าวคือ ตับของปลากะพงขาวมี fibroconnective tissue เป็นเกราะหุ้มและจะไม่เห็นเป็น lobe ชัดเจน ไม่มี typical portal triad ลักษณะสำคัญที่แตกต่างไปจากสัตว์อื่นของปลากะพงขาว คือ เนื้อเยื่อตับจะมีตับอ่อนแทรกอยู่ทั่วไป และจะอยู่ล้อมรอบส่วนของ portal vein แม้ว่าส่วนของ portal triad จะไม่มีในปลากะพงขาว แต่มักพบท่อน้ำดี ซึ่งจะอยู่ร่วมกับตับอ่อนที่ล้อมรอบ portal vein และพบ hepatic arteries แทรกอยู่ใน hepatic parenchyma แต่จะพบอยู่ร่วมกับท่อน้ำดีและตับอ่อนน้อยมาก

โดยทั่วไปในทางเนื้อเยื่อวิทยา เซลล์ตับมีรูปร่างแบบ polyhedral มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง เซลล์ตับเหล่านี้จะเป็นที่สะสมไขมันและไกลโคเจน ลักษณะของเซลล์ที่มีการสะสมของไขมันและไกลโคเจนมาก นิวเคลียสจะติดสีเข้ม และไซโตพลาสซึมแน่นทึบ

ภาพตัดขวางของเนื้อเยื่อตับ พบว่า liver sinusoid ถูกล้อมรอบด้วยเซลล์ตับ 5-6 เซลล์ และอยู่ห่างระหว่างกันอย่างน้อย 2 เซลล์ ซึ่งช่องว่างเหล่านี้จะล้อมรอบด้วย reticuloendothelial cells และพบว่าเส้นเลือดดำที่แทรกในเนื้อเยื่อตับ จะผ่านไปยัง portal vein ซึ่งจะไหลไปยัง sinusoid เหล่านี้ และจะเก็บรวบรวมที่ central vein ก่อนที่จะผ่านไปยัง hepatic vein ซึ่งจะไหลเข้าสู่ sinus venosus ของหัวใจต่อไป

ในปลากะพงขาวไม่มี tubular lumina สำหรับเก็บน้ำดี ท่อน้ำดีขนาดเล็ก (bile canaliculi) อยู่ติดต่อระหว่างเซลล์ตับและเชื่อมติดกับท่อน้ำดีใหญ่ (bile duct) ท่อเหล่านี้มักพบ อยู่ร่วมกับตับอ่อนหรือใน hepatic parenchyma จะถูกล้อมรอบด้วย low cuboidal epithelium และมีเยื่อชั้นบางๆ ของ fibroconnective tissue หุ้ม ท่อน้ำดีเล็กจะเชื่อมต่อกับท่อน้ำดีใหญ่ในส่วนที่จะออกจากเนื้อเยื่อตับ

เหงือก (gill lamellae)

เหงือกเป็นอวัยวะสำคัญที่ใช้ในการหายใจของปลา โดยน้ำเข้าทางปากผ่านเหงือกและขับออกทางช่องเปิดเหงือก ทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ระหว่างน้ำและเม็ดเลือดแดงในหลอดเลือดฝอยที่ซี่เหงือก โดยออกซิเจนจะแพร่ช้าๆ จากน้ำเข้าสู่กระแสเลือด เม็ดเลือดแดงมีความสามารถในการนำออกซิเจน 15 - 25 เท่าของน้ำในปริมาตรเดียวกัน

ปลากระดูกแข็ง มีแกนเหงือกแต่ไม่มีเยื่อกั้นแยกช่องเหงือกออกจากกัน ทำให้กระดูกแกนเหงือกอยู่ภายในช่องว่างช่องเดียวกัน แกนเหงือกของปลามี 4 คู่ และมีการคอดลึกระหว่างแผงเหงือกของเหงือกแต่ละอัน เมื่อกล้ามเนื้อที่ส่วนฐานของแผงเหงือกเคลื่อนไหวจะทำให้เกิดความดันเข้าไปข้างในจึงทำให้น้ำถูกดันเข้าไปด้วย การหุบของแผงเหงือกแต่ละอันจะทำให้เกิดกระแสน้ำแรงพอที่จะกวาดเอาเศษที่ไม่ต้องการออกจากเส้นเหงือกฝอย

เหงือกปลา แบ่งได้ 2 ส่วน คือ

1. Primary lamellae ทำหน้าที่ค้ำจุน secondary lamellae มากกว่าจะทำหน้าที่ในการหายใจ primary lamellae ประกอบด้วยเซลล์หลายชนิด คือ melanocytes, lymphocytes, macrophages, coarse eosinophilic granular leukocytes, endothelial cells และ epithelial cells

2. Secondary lamellae ทำหน้าที่ในการหายใจ ประกอบด้วย mucous cells rodlet cells และ chloride cells ซึ่งมักพบอยู่ส่วนใต้ หรือแทรกอยู่ภายใน stratified squamous epithelium โดยถัดจากเยื่อบุผิวนี้ออกมาจะเป็น basement membrane และชั้นบาง ๆ ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

mucous cells พบในบริเวณช่องระหว่าง respiratory epithelium และ pillar cell เซลล์เหล่านี้นิวเคลียสมักไม่อยู่ตรงกลางเซลล์ และมี cytoplasmic mucous vacuole ขนาดใหญ่

chloride cells เป็น osmoregulatory cells ของปลา ปลากะพงขาวที่อยู่ในน้ำเค็มพบว่า chloride cells ประกอบด้วยนิวเคลียสขนาดใหญ่ในไมโตครอนเดรียมี cytoplasmic vesicle มาก

rodlet cells จะพบได้ที่ฐานของ secondary lamellae และ อยู่ตั้งฉากกับ lamellar epithelium ภายในเซลล์ประกอบด้วย นิวเคลียส fibrous capsule หนา มี membrane bound vesicle และ cytoplasmic vesicle ภายในถุง (vesicle) เหล่านี้ จะพบผลึกของ rodlet cells ในปลากะพงขาว rodlet cells พบได้ใน gill lamellae, olfactory epithelium, intestinal mucosa, liver และ gall blader mucosa , gall blader epithilium, mesenteries, kidney tubule, urinary blader epithelium และ lateral line organ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ระบบภูมิคุ้มกัน

ระบบภูมิคุ้มกันในปลาช่วยในการต่อต้านเชื้อโรค และสิ่งแปลกปลอม ในระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะนั้น การป้องกันขั้นแรกสุดของร่างกาย ได้แก่ ผิวหนังที่ปกคลุมร่างกาย เมือก เกล็ด เอนไซม์ทำลายเชื้อโรค ไลโซไซม์ และความหนืดของสารมิวโคโพลีแซคคาไรด์ที่จำกัดการเคลื่อนที่ของเชื้อโรค เมื่อสิ่งแปลกปลอมสามารถผ่านชั้นการป้องกันนี้ได้ จะพบกับการต่อต้านของเซลล์หลายชนิด ได้แก่ phagocyte , neutrophil และเม็ดเลือดขาวชนิดต่าง ๆ ที่จะช่วยกันทำลายสิ่งแปลกปลอมนั้น และทำให้เกิดการอักเสบ

เฉพาะบริเวณได้ (Anderson , 1990)

ปลาเป็นสัตว์ที่มีวิวัฒนาการเชื่อมต่อระหว่างสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูง และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชนิดแรกที่มีระบบภูมิคุ้มกันครบสองชนิด คือ ภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ และภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (cell mediated and humoral immunity) ในสัตว์มีกระดูกสันหลังที่เลี้ยงลูกด้วยนมระบบภูมิคุ้มกันทั้งสองจะเป็นการ ตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมแบบจำเพาะ (specific immune response) โดยมี B-lymphocyte และ T-lymphocyte ในการรับสัญญาณ แต่ในปลาระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ (cellular immunity) ยังอาจหมายถึงการตอบสนองของภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (nonspecific immune response) ของขบวนการ phagocytosis ด้วย (Wester et al., 1994)

กระบวนการ phagocytosis

เซลล์ที่มีหน้าที่ในกระบวนการดังกล่าว มี 2 กลุ่ม คือ mononuclear cell และ granulocytic cell

1. mononuclear cell ประกอบด้วย monocyte ที่พบในกระแสเลือด และ macrophage ที่พบอยู่ในเนื้อเยื่อ เซลล์สองชนิดนี้เป็นเซลล์ที่มีนิวเคลียสเดียว มีความสามารถในการกลืนทำลายสูง การจับกิน และทำลายสิ่งแปลกปลอมอาศัยเอนไซม์ชนิด lysozyme ที่มีในเซลล์ เนื่องจากเซลล์ชนิดนี้มีความสามารถในการยื่นไซโตพลาสซึมออกมาได้จึงสามารถเกาะพื้นผิวแก้วและพลาสติกได้ดี การที่เซลล์ชนิดนี้มีคุณสมบัติดังกล่าว จึงใช้ในการศึกษา chemotaxis และ phagocytosisได้

2. granular leukocyte พบได้ในกระแสเลือดปลา ได้แก่ heterophils, eosinophils, basophils โดย heterophil มีจำนวนมากที่สุด แม้การกลืนทำลายจะไม่มากเท่ากับ monocyte แต่ก็มีวิธีทำลายสิ่งแปลกปลอมโดยการปลดปล่อยเอนไซม์ชนิด hydrolytic หรือ oxidizing enzyme ได้

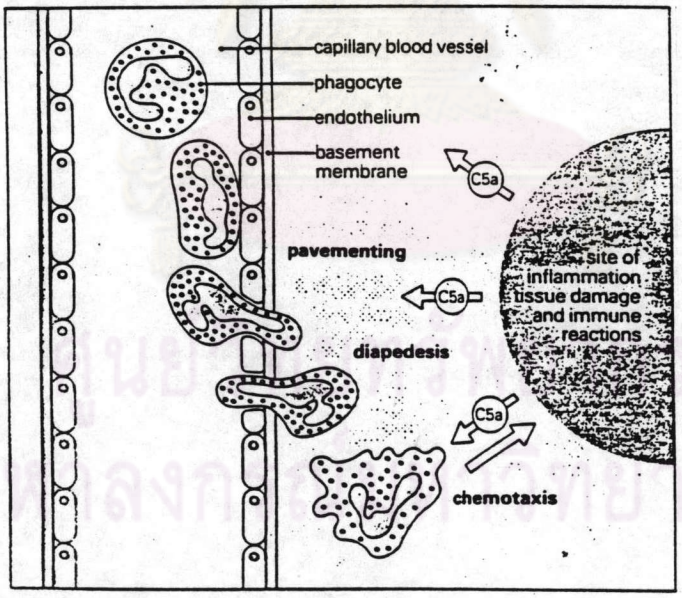
phagocytosis เป็นกระบวนการสำคัญของ phagocyte ในการทำหน้าที่เก็บกิน และทำลายสิ่งแปลกปลอม โดยมีขั้นตอนการเกิด phagocytosis 4 ขั้น ได้แก่

1. initiation
2. chemotaxis
3. engulfment
4. digestion

initiation เป็นลำดับขั้นแรกสุดในกระบวนการ เกิดขึ้นเมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลาย ไม่ว่าจะเกิดเนื่องจากการมีบาดแผล มีการติดเชื้อแบคทีเรีย หรือได้รับสิ่งแปลกปลอม phagocyte จะถูกกระตุ้นด้วยตัวรับที่ผิวเซลล์ของสิ่งแปลกปลอม (antigen) แล้วเกิดการทำงานในขั้นต่อไป คือ การเกิด chemotaxis เป็นขั้นตอนการเคลื่อนที่ของเซลล์ไปยังบริเวณต่างๆ ภายใต้สภาวะที่มีสารเคมีกระตุ้น สารเคมีหรือสิ่งที่มีผลกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนที่ของ phagocyte ได้ มีหลายชนิด ตัวอย่างเช่น สารคาร์โบไฮเดรต เนื้อเยื่อที่ตาย แบคทีเรีย หรือ antigen-antibody complexes ร่างกายมีสารที่ทำหน้าที่สื่อให้ phagocyte รับสัญญาณได้เร็วขึ้น เรียกว่า opsonin อาจเป็น complement หรือ antibody ก็ได้ โดยทั่วไปการเกิด chemotaxis มี 2 ลักษณะ คือ การเคลื่อนเข้าหาสิ่งกระตุ้น หรือการเคลื่อนออกจากสิ่งกระตุ้น แต่สำหรับ phagocyte แล้ว จะเป็นการเคลื่อนเข้าหาสิ่งกระตุ้นเท่านั้น เมื่อ phagocyte ได้รับสัญญาณจะเกิดการเคลื่อนที่แบบ amoeboid movement เข้าหา antigen แล้วจะยื่นไซโตพลาสซึมห่อหุ้ม antigen ไว้ภายในเซลล์เป็นขั้นตอนการ engulfment ถ้ามีสาร opsonin ไป opsonize ที่ผิว bacteria ก่อนจะกระตุ้นให้ phagocyte มากิน bacteria ได้ดีขึ้น จากนั้นจึงเกิดการ digestion โดยมี hydrolytic และ peroxidase enzyme ทำการย่อยสลายสิ่งที่เซลล์จับไว้ภายใน และจะปลดปล่อยของเสียที่เกิดขึ้นออกมาหลังการย่อยทำลายสิ่งแปลกปลอมแล้ว ถ้าเป็น phagocyte ชนิด neutrophil เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการนี้แล้ว เซลล์จะตายและถูกร่างกายกำจัดไป แต่ถ้าเป็น macrophage เซลล์จะยังไม่ตายและสามารถทำหน้าที่ได้อีก นอกเสียจากสิ่งที่เก็นกิบจะมีสารพิษภายในหรือทำลาย lysosomal membrane ของ macrophage ไป

อวัยวะที่เกี่ยวข้องในระบบภูมิคุ้มกัน

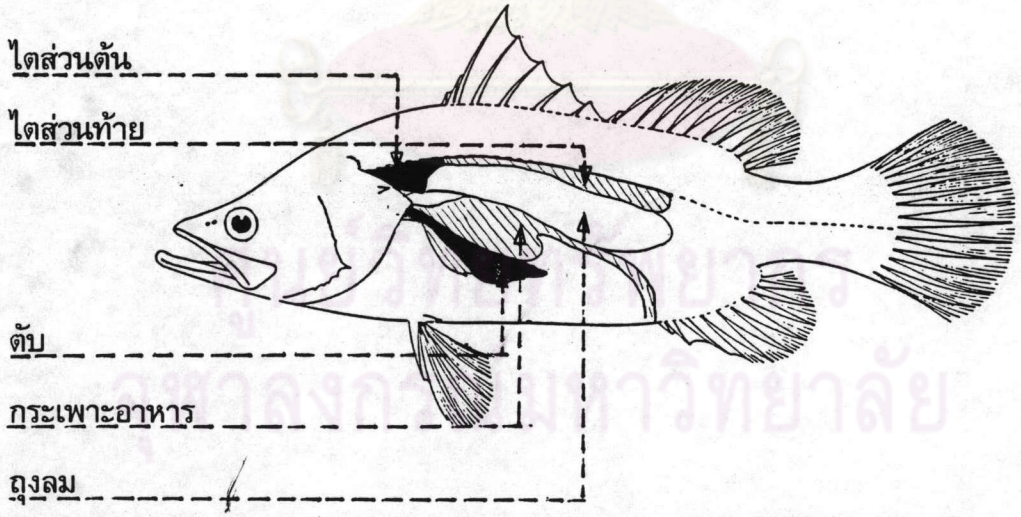
เนื่องจากปลาเป็นสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นต่ำ ระบบภูมิคุ้มกันจึงแตกต่างไปจากสัตว์มีกระดูกสันหลังชั้นสูง myeloid tissue และ lymphoid tissue ไม่ได้แยกจากกันอย่างสมบูรณ์ คงรวมกันอยู่ในรูปของ lymphomyeloid tissue ปลาไม่มี bone marrow และ lymphnode อย่างไรก็ดี ปลามีเนื้อเยื่อตับและไตที่เป็น lymphomyeloid tissue ซึ่งเป็นแหล่งสร้าง phagocytic cell โดยเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็น phagocyte ในปลา ได้แก่ neutrophil และ monocyte (Horton and Lackie, 1989; Kennedy and Stoskopt, 1993) neutrophil และ monocyte เป็น phagocyte ที่พบอยู่ในกระแสเลือดสร้างและผลิตจาก myeloid tissue ส่วน macrophage เป็น phagocyte ที่เปลี่ยนแปลงมาจาก monocyte ในกระแสเลือดและเคลื่อนตัวออกมาอยู่ในเนื้อเยื่อ (Roitt et al., 1989)(รูปที่ 3)



รูปที่ 3 การเคลื่อนที่ของ monocyte ในกระแสเลือดออกมาอยู่ในเนื้อเยื่อ (Roitt et al., 1989)

อวัยวะสร้างเม็ดเลือดขาวที่เป็นตัวทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ (cellular immune response) แบบไม่จำเพาะในปลา ได้แก่ ต่อมไทมัส ม้าม ไตส่วนต้น และบางส่วนของตับ โดยมี melanomacrophage center เป็นแหล่งรวมการสังเคราะห์ ในแต่ละอวัยวะ มีเซลล์ชนิดต่างๆ ได้แก่ reticular cell, lymphocytes, macrophages และ plasma cell เซลล์เหล่านี้จะมีหน้าที่แตกต่างกันไป เซลล์ที่มีหน้าที่กินทำลายสิ่งแปลกปลอม คือ phagocyte โดยร้อยละ 96 ของเซลล์ในไตส่วนต้นเป็นเม็ดเลือดขาว (Quentel and Obach, 1992)

ไตของปลามีลักษณะเป็นคู่ยาวเรียงตัวอยู่เหนือช่องว่างในลำตัว ทางด้านล่างของกระดูกสันหลังอยู่นอกเยื่อบุช่องท้อง (รูปที่4) มีสีน้ำตาลปนแดง แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ไตส่วนต้น (anterior kidney) และไตส่วนท้าย (posterior kidney) ไตส่วนต้นเป็นส่วนที่มีหน้าที่ ในการสร้างเม็ดเลือดขาว โดยที่ไตส่วนท้ายจะทำหน้าที่หลักในการกรองของเสียและปรับสมดุลย์น้ำในร่างกาย (Ellis and Munroe, 1976)



รูปที่ 4 ตำแหน่งของไตส่วนต้นและอวัยวะภายในของปลากะพงขาว

การแยกเม็ดเลือดขาว

การแยกเม็ดเลือดขาว สามารถแยกได้จากแหล่งต่าง ๆ คือ เลือด อวัยวะสร้างเม็ดเลือดขาว (lymphomyeloid organ) หรือแยกจากเนื้อเยื่อที่ทำการกระตุ้นให้เกิดการอักเสบ การแยกเม็ดเลือดขาวจากเลือดเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย แต่มีข้อจำกัดในปลาขนาดเล็กซึ่งจะเจาะเลือดได้ในปริมาณน้อยทำให้ได้เซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนน้อย ในกรณีนี้จำเป็นต้องแยกจากแหล่งอื่น เช่น ของเหลวในช่องท้อง ม้าม หรือ ไตส่วนต้น ซึ่งมีรายงานว่าเป็นอวัยวะที่มี macrophage เป็นจำนวนมากถึง 80-90% (Secombes, 1990; Quentel and Obach, 1992) แต่เนื่องจากไตส่วนต้นเป็นอวัยวะที่มีหน้าที่สร้างเม็ดเลือดขาวจึงมีเซลล์หลายระยะอยู่ภายใน ทำให้เซลล์ที่แยกได้ มี ชนิด จำนวน อายุ รูปร่าง และ ประสิทธิภาพการทำหน้าที่แตกต่างกัน

การศึกษาระบบภูมิคุ้มกัน

การศึกษาระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะสามารถศึกษาได้หลายวิธี โดยมีความยากง่าย และการตอบสนองทางภูมิคุ้มที่แตกต่างกันหลายอย่าง เช่น การชั่งน้ำหนักอวัยวะ การนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว การศึกษาพยาธิสภาพของอวัยวะสร้างเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งผลการตอบสนองต่อการทดสอบจะไม่ชัดเจนและมีความแปรปรวนทางสถิติอยู่มาก ในขณะที่การทดสอบการทำงานของ phagocyte โดยการวัด phagocytic index, phagocytic activity และ chemiluminescence จะมีการตอบสนองทางระบบภูมิคุ้มกันชัดเจนมากกว่า แต่วิธีการศึกษาจะยุ่งยากกว่าและมีค่าความแปรปรวนทางสถิติเช่นกัน (Anderson, 1990)อย่างไรก็ดีการตรวจสอบประสิทธิภาพการทำงานของ phagocyteโดยดูประสิทธิภาพการกลืนทำลายนั้นเป็นวิธีที่ได้รับความนิยม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์ซึ่งยังไม่พัฒนาระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะมากนัก ถึงแม้การศึกษาด้วยวิธีการนี้จะให้ผลการตอบสนองที่ดีก็ตาม แต่เนื่องจาก phagocyte เป็นเซลล์ที่ต่อต้านสิ่งแปลกปลอมแบบไม่จำเพาะ ดังนั้นการทำงาน

ลดลงก็อาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยอื่นๆหลายประการเช่น ภาวะเครียดจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ pH หรือปริมาณออกซิเจนละลายน้ำไม่พอเพียง (Anderson, 1990; Ellis, 1981) ปลา rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ที่อยู่ในภาวะเครียดจากการจัดการ และมีออกซิเจนในน้ำน้อยจะมี phagocytic activity ลดลงและมีโอกาสติดเชื้อง่ายกว่าปลาปกติ (Angelidis et al., 1987)

ปัจจัยที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน

การทำงานของระบบภูมิคุ้มกันทั้งสองระบบนี้อาจมีประสิทธิภาพลดลงในภาวะที่มีสารปนเปื้อนในน้ำ โดยสารนั้นอาจมีผลโดยตรงต่อระบบชีวเคมีของร่างกาย กระบวนการสร้างภูมิคุ้มกัน หรือการทำงานของเซลล์ ผลกระทบที่เกิดจากสารปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมต่อระบบภูมิคุ้มกันมีหลายประการ เช่น การยับยั้งระบบภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) การขยายตัวผิดปกติของอวัยวะต่างๆ (uncontrolled proliferation) การไม่สามารถตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอม การเกิดสภาพภูมิแพ้ และการสร้างแอนติบอดีต่อต้านต่อเนื้อเยื่อตนเอง (Dean and Murray, 1991) ปัจจัยที่มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ได้แก่

1. α-2 macroglobulins

α-2 macroglobulins เชื่อว่าถูกสร้างขึ้นที่ตับ และมีผลทำให้ขบวนการอักเสบ และขบวนการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคลดลง

2. macrophage inhibiting factor

สารที่คาดว่าจะทำให้เกิดผลการกดภูมิคุ้มกันโรคมีหลายชนิด เช่น thymidine, prostaglandins,arginase,interferon เป็นต้น มีโรคติดเชื้อหลายโรคเกิดร่วมกับการกดภูมิคุ้มกันโรค ซึ่งเป็นผลมาจากการปล่อยสารที่มีความเป็นพิษต่อ T-lymphocyte ของ macrophage

3. หนอนพยาธิ์

หนอนพยาธิ์ต่างๆ ที่เข้าสู่ร่างกายปลาจะมีวิธีที่จะป้องกันตัวจากกลไกการต่อต้านสิ่งแปลกปลอมของปลาซึ่งจะมีผลกดการสร้างภูมิคุ้มโรคในปลา

4. ชีววิทยา และสภาพแวดล้อม

ปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 °C เฉพาะปลาตัวที่มีความแข็งแรงกว่าตัวอื่นๆ ในฝูงเท่านั้นที่สร้าง antibody ต่อพยาธิ์ Trypanosomes ปลาตัวที่อ่อนแอกว่าจะมีการทำงานของ Interrenal tissue ที่สูงกว่าปกติ มีการเพิ่มระดับของ corticosteroid ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดการกดภูมิคุ้มกันโรค นอกจากนี้อาจเกี่ยวข้องกับ stress pheromones ซึ่งมักตรวจพบได้จากน้ำและเนื้อปลาที่เลี้ยงอย่างหนาแน่น เมื่อนำไปใส่ให้ปลาที่ไม่ได้เลี้ยงอย่างหนาแน่นจะมีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจช้าลง อัตราการเจริญเติบโตและการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง (Scott and Currie, 1980; Faisal et al., 1989)

5. อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีความสำคัญต่อการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์เลือดเย็น อุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างภูมิคุ้มโรคในปลาจะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมของปลาแต่ละชนิด การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน (Pickering and Pottinger, 1985; Corbel, 1975) phagocytic activity จาก cell culture ของปลา rainbow trout ที่ทดลองที่ 4 °C จะต่ำกว่าที่ 19 °C(Thuvander et al., 1987)

6. ฤดูกาล

สัตว์เลือดเย็นจะมีการตอบสนองต่อการสร้างภูมิคุ้มโรคต่ำลงในช่วงฤดูหนาว ปลา rainbow trout จะสร้าง antibody ต่อต้าน antigen ที่ให้เข้าไปในช่วงก่อนฤดูใบไม้ผลิได้สูงกว่าให้ก่อนช่วงฤดูหนาวแม้ว่าจะปรับสภาพอุณหภูมิน้ำให้คงที่ 18 °C ตลอดการทดลอง นอกจากนี้คุณสมบัติของ antibody ที่สร้างขึ้นในฤดูต่างกันก็จะแตกต่างกัน (Ellis,1981)

7. ชนิดของ antigen

การได้รับ antigen ที่แตกต่างกันอาจเหนี่ยวนำหรือกดการตอบสนองต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรค หรืออาจกระตุ้นการตอบสนองที่ต่างไป

8. ยาปฏิชีวนะ

ปลาที่ได้รับยาปฏิชีวนะบางอย่างจะพบว่ามีจำนวน granulocyte ในม้ามเพิ่มขึ้น ในปลาคาร์พ พบว่า oxytetracycline มีผลกดการสร้างภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (Ellis, 1981)

9. สารเคมี

การตอบสนองของ phagocyte ในปลา spot (*Leiostomus kanthurus*) และปลา hog choker (*Trinectes maculatus*) ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนของสารเคมี เปรียบเทียบกับปลาที่อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่มีการปนเปื้อน พบว่าประสิทธิภาพการทำงานของ phagocyte ลดลง (Weeks and Warrinner, 1984; Weeks et al., 1990)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย