

อภิปรายผลการทดลองและเสนอแนะ

5.1 ความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ ชนิดไซเพอร์เมทรินในปลานิล

5.1.1 ค่า Median lethal concentration ที่ 96 ชั่วโมง

สารไพรีทรอยด์เป็นสารกำจัดศัตรูพืช ที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดแมลงได้ดีและมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลื้อยคลานด้วยนมต่ำ Elliott และคณะ (1989) รายงานพิษของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดต่างๆ ในแมลงและในหนูทดลอง โดยการเปรียบเทียบ ค่า lethal concentration dose (LC50) ของสารกำจัดศัตรูพืช 4 ชนิด ได้แก่ สารไพรีทรอยด์ ชนิด Deltamethrin มีค่า LC50 ในแมลงเท่ากับ 0.008 ในหนูเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ค่า LC50 ของออร์แกโนฟอสเฟต ชนิด parathion ในแมลงเท่ากับ 1 ในหนูเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว ค่า LC50 ของออร์แกโนคลอรีน ชนิด Dieldin ในแมลงเท่ากับ 10 ในหนูเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว และค่า LC50 ของคาร์บาเมต ในแมลงเท่ากับ 10 ในหนูเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว จากรายงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารไพรีทรอยด์ เมื่อเปรียบเทียบกับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มอื่นมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลื้อยคลานด้วยนมต่ำ แต่มีรายงานว่า สารไพรีทรอยด์มีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำมาก เช่น งานวิจัยของ Hill (1985) ทำการศึกษาเปรียบเทียบพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ในปลา กับสิ่งมีชีวิตชนิดอื่นในแหล่งน้ำ พบว่า สารไพรีทรอยด์มีความเป็นพิษต่อปลาและสัตว์ในกลุ่ม Crustacea มากกว่าสัตว์ในกลุ่ม Mollusca เนื่องจากพบว่า ค่า LC50 96 ชั่วโมง ในปลาและสัตว์ในกลุ่ม Crustacea แต่ต่ำกว่าในกลุ่ม Mollusca คือ ค่า LC50 96 ชั่วโมง ของสัตว์ในกลุ่ม Crustacea อยู่ในช่วง 0.008-2 ไมโครกรัมต่อลิตร และสัตว์ในกลุ่ม Mollusca อยู่ในช่วง 5000-10000 ไมโครกรัมต่อลิตร นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังสรุปว่าแม้สารไพรีทรอยด์จะมีความเป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ แต่สัตว์กลุ่มแมลงยังคงมีความไวต่อสารไพรีทรอยด์มากกว่าปลาเนื่องจากพบว่าค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ของสัตว์กลุ่ม Insecta อยู่ในช่วง 0.006-6 ไมโครกรัมต่อลิตร

งานวิจัยนี้ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ ชนิด Cypermethrin ในปลานิล พบว่า ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 59.41 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าผลการทดลองในปลาชนิดอื่นๆ เมื่อได้รับสารกำจัดศัตรูพืชในกลุ่มไพรีทรอยด์ เช่น Paul และ Simonia (1996) ทำการทดลองพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ ชนิด synergized resmethrin และ non-synergized resmethrin ในปลา brook trout พบว่า ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ของสารไพรีทรอยด์ชนิด synergized resmethrin เท่ากับ 1.83 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่า LC50 96 ชั่วโมง ของสารไพรี

ทรอยด์ชนิด non-synergized resmethrin เท่ากับ 1.69 ไมโครกรัมต่อลิตร Stay และ Javinen (1995) ทำการทดลองพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ชนิด Esfenvalerate ในระบบนิเวศแหล่งน้ำจืด พบว่า ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ในปลา bluegills เท่ากับ 0.48 ไมโครกรัมต่อลิตร และค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ในปลา fathead minnow อายุ 1 วัน 7-10 วัน และ 36 วัน เท่ากับ 0.32, 0.23, 0.22 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และงานวิจัยของ Clark และคณะ (1989) ที่รวบรวมผลการทดลองพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ 4 ชนิด คือ Permethrin, Fenvalerate, Cypermethrin และ Flucythrinate พบว่า ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ของสาร Permethrin, Fenvalerate, Cypermethrin และ Flucythrinate ในปลา *Cyprinodon variegatus* เท่ากับ 7.8, 5.0, 1.0 และ 1.1 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ของสาร Permethrin, Cypermethrin และ Flucythrinate ในปลา *Salmo salar* เท่ากับ 12.0, 1.2 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อลิตรตามลำดับ ค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ของสาร Permethrin และ Fenvalerate ในปลา *Menidia menidia* เท่ากับ 2.2 และ 3.0 ไมโครกรัมต่อลิตร

จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น พบว่า ปลานิลจัดเป็น biomonitor ที่มีความทนทานต่อสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มไพรีทรอยด์ เมื่อเทียบกับปลาชนิดอื่นๆ การใช้ปลานิลเป็น biomonitor ในการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารกำจัดศัตรูพืช โดยการทดสอบหาค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง ผลการทดลองของแต่ละงานวิจัยแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ ชนิดของสัตว์ทดลอง สรีระของสัตว์ทดลอง เช่น อายุ และรูปแบบของการทดลอง

5.1.2 ลักษณะอาการ

ปลานิลที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในระดับความเป็นพิษเฉียบพลัน (ความเข้มข้น 100, 125 และ 150 ไมโครกรัมต่อลิตร) แสดงความผิดปกติของระบบประสาทที่ควบคุมการทรงตัวของปลา คือ มีอาการกระวนกระวาย ว่ายน้ำไม่มีทิศทางที่แน่นอน และแสดงอาการติดขัดของระบบทางเดินหายใจ มีการขับเมือกออกมาที่เหงือกเป็นจำนวนมาก ว่ายน้ำขึ้นมาริเวณขอบตู้ เหงือกกางค้าง มีอาการสำลักน้ำมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamaragura และ Beamish (1981) และ Hill (1985) ที่รายงานว่าสารไพรีทรอยด์มีพิษต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ปลาสูญเสียการทรงตัว มีอาการกระตุก ว่ายน้ำไม่มีทิศทาง Bradbury และ Coats (1987) ทดลองพิษเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ชนิด Fenvalerate ในปลา rainbow trout พบว่า สารไพรีทรอยด์ชนิด Fenvalerate ทำให้อัตราการเต้นของหัวใจเพิ่มมากขึ้น และแสดงอาการสำลักน้ำมากขึ้น

ลักษณะอาการดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับกลไกการออกฤทธิ์ของสารไพรีทรอยด์ ซึ่งขัดขวางการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system) และ เส้นประสาทส่วน peripheral nerves ทำให้ขัดขวางการส่งกระแสประสาท (Miller and Salgado., 1985)

5.1.3 การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิ

Balint และคณะ (1995) ทำการศึกษาผลของสารไพรีทรอยด์ชนิด Deltamethrin ในปลาคาร์พ *Cyprinus carpio* L. พบว่าสารไพรีทรอยด์ชนิด Deltamethrin มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ตับ (hepatic cell) คือ นิวเคลียสถูกทำลาย เกิดการหดตัวของนิวเคลียสและการขมวดกันของ heterochromatin ใน karyoplasm และในที่สุดเกิดการแตกของนิวเคลียส (karyorexis and karyolysis) ในงานวิจัยนี้พบว่าพิษของสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในปลานิล ไม่ทำให้เกิดจุลพยาธิสภาพของเซลล์กล้ามเนื้อ เซลล์เม็ดเลือดขาว แต่พบจุลพยาธิสภาพในเซลล์เหงือกตับ และ ม้าม (รูปที่ 17-23) ในทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลอง (50, 75, 100, 125, 150 ไมโครกรัมต่อลิตร) อย่างไรก็ตามความรุนแรงของรอยโรคที่เกิดขึ้นไม่มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร Cypermethrin ที่ปลาได้รับ

5.2 ความเป็นพิษรองเฉียบพลันของสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในปลานิล

5.2.1 ลักษณะอาการ

ปลานิลที่สัมผัสสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในระดับความเป็นพิษรองเฉียบพลัน (7.5, 15, 30 ไมโครกรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 30 วัน ไม่แสดงอาการผิดปกติใดๆที่สังเกตได้จากภายนอก และค่าฮีมาโตคริตโดยเฉลี่ยไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าปลานิลสามารถสัมผัสกับสาร cypermethrin ในระดับน้อยกว่าหรือเท่ากับ 30 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน โดยไม่มีผลต่อปริมาณเม็ดเลือดแดง แม้ว่าในปลากลุ่มทดลองที่ 2 ซึ่งทำการตรวจวัดค่าฮีมาโตคริตในวันที่ 14 และ 30 หลังจากสัมผัสสาร cypermethrin พบว่า มีค่าฮีมาโตคริตต่ำลง เมื่อวัดในวันที่ 30 (ตารางที่ 14) การลดลงของค่าฮีมาโตคริต น่าจะเป็นสาเหตุมาจากการเจาะเลือดซ้ำกัน 2 ครั้ง ในปลาตัวเดียวกัน (คือในวันที่ 14 และ 30 ของการทดลอง) ทำให้ปริมาณของเม็ดเลือดแดงในวันที่ 30 ลดลง ซึ่งไม่ได้เป็นผลโดยตรงจากสารไพรีทรอยด์

5.2.2 การเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิ

การศึกษาผลของสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ต่อพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อต่างๆ ไม่พบความผิดปกติของเซลล์กล้ามเนื้อ หรือ เม็ดเลือดขาว พบพยาธิสภาพชัดเจนที่เหงือก ม้าม และ บริเวณท่อตับ (รูปที่ 17-23) เช่นเดียวกับผลการศึกษาความเป็นพิษระดับเฉียบพลันของ Cypermethrin คือ ผลทางจุลพยาธิสภาพไม่พบความรุนแรงของรอยโรคที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร Cypermethrin ที่ปลาได้รับ

5.2.3 ผลต่อสมรรถนะของเอนไซม์โกลีเอสเทอเรส

ปลาชนิดที่ได้รับ Cypermethrin ในทุกระดับความเข้มข้น (7.5, 15, 30 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีสมรรถนะของเอนไซม์โกลีเอสเทอเรสในซีรัมลดลง (ตารางที่ 13 และ 14) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Balint และคณะ (1995) ที่ทำการศึกษาพิษของสารไพรีทรอยด์ชนิด Deltamethrin ในปลาคาร์พ พบว่า สารไพรีทรอยด์ชนิด Deltamethrin มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์อะซิetylโกลีเอสเทอเรสในสมอง หัวใจ กล้ามเนื้อ ตับ และซีรัม ลดลง และการทดลองของ Ibrahim และคณะ (1998) ที่ทำการศึกษาพิษของสารไพรีทรอยด์ชนิด Permethrin ใน *Chironomus riparius* ซึ่งเป็นตัวอ่อนแมลงที่อาศัยในน้ำชนิดหนึ่ง โดยทำการทดลองทั้ง *In vivo* และ *In vitro* ผลการทดลอง พบว่าสารไพรีทรอยด์ชนิด Permethrin มีผลทำให้สมรรถนะของซีรัมเอนไซม์อะซิetylโกลีเอสเทอเรสลดลง

การลดลงของสมรรถนะของซีรัมโกลีเอสเทอเรสคงเป็นผลมาจากการทำงานของเอนไซม์นี้ในลักษณะไม่จำเพาะ (nonspecific esterase) สามารถเกิดปฏิกิริยา hydrolysis กับสารใดๆที่มีพันธะเอสเทอร์ ในสูตรโครงสร้าง เช่น สารกลุ่ม acetylcholine ที่เป็นสื่อในระบบประสาท หรือสารกลุ่มไพรีทรอยด์ ซึ่งมีพันธะเอสเทอร์ในโครงสร้าง ปฏิกิริยา hydrolysis โดย serum esterase เป็นขบวนการของร่างกายในการทำให้ สารกลุ่มไพรีทรอยด์มีความเป็นพิษน้อยลง และถูกขับออกจากร่างกาย (detoxification) (Osweiler, 1996) งานวิจัยนี้พบว่าปลาที่ได้รับสาร cypermethrin มีสมรรถนะของซีรัมโกลีเอสเทอเรสลดลงและการลดลงของสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีเอสเทอเรสของปลานิลมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสาร Cypermethrin ที่ปลาได้รับซึ่งน่าจะเป็นผลจากการที่ซีรัมเอสเทอเรสถูกใช้ในการขจัดสารพิษออกจากร่างกาย นอกจากนี้พบว่าปลานิลที่สัมผัสสาร Cypermethrin ในระดับพิษรองเฉียบพลันที่ 7.5 และ 15 ไมโครกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 30 วัน สามารถปรับตัวและดำรงชีวิตอยู่ได้ในระดับสมรรถนะของเอนไซม์โกลีเอสเทอเรสที่ลดลงระดับหนึ่ง จึงไม่พบความแตกต่างของสมรรถนะของเอนไซม์โกลีเอสเทอเรสในวันที่ 14 และ 30 หลังจากสัมผัสสาร อย่างไรก็ตามพบว่าความสามารถในการปรับตัวต่อความเป็นพิษของ cypermethrin จำกัดอยู่ในระดับหนึ่งเท่านั้น ดังจะเห็นได้จากปลากลุ่มที่ได้รับ Cypermethrin ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าสมรรถนะของซีรัมโกลีเอสเทอเรสลดลงตามระยะเวลาที่สัมผัสสาร คือ สมรรถนะของเอนไซม์โกลีเอสเทอเรสในวันที่ 30 ต่ำกว่าในวันที่ 14 ของการสัมผัสสาร

5.3 การประเมินความเป็นพิษของสารไพรีทรอยด์ในแหล่งน้ำโดยการใช้ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ

จากการทดลองพบว่า ปลานิลมีความเหมาะสมในการเป็นสัตว์ทดลองทางด้านพิษวิทยา เนื่องจาก เลี้ยงง่าย สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพห้องทดลองได้ดี และมีความทนทาน เมื่อทดสอบพิษของสารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin (7.5-30 ไมโครกรัมต่อลิตร) ต่อปลานิลพบว่า ความเป็นพิษของสารไพรีทรอยด์ ชนิดCypermethrin ทำให้เกิดจุลพยาธิสภาพของ เหงือก ตับ และม้าม แม้ว่าอาจไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างความรุนแรงของรอยโรคและความเข้มข้นของ Cypermethrin ที่ปลาได้รับ นอกจากนี้พบว่าความเป็นพิษของ Cypermethrin ทำให้สมรรถนะของ เอนไซม์โกลตาไมนเอสเทอเรสในซีรัมของปลานิลที่ได้รับสาร Cypermethrin ลดลงอย่างชัดเจน ดังนั้น การตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โกลตาไมนเอสเทอเรสในซีรัมปลาจึงสามารถเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดไพรีทรอยด์ในแหล่งน้ำนั้นได้และเป็นวิธีการที่สามารถตรวจวัดในขณะที่ สัตว์มีชีวิต ซึ่งจากการทดลองนี้สามารถตรวจพบการลดลงของซีรัมโกลตาไมนเอสเทอเรสในปลานิลที่ สัมผัสกับสาร Cypermethrin ในระดับต่ำถึง 7.5 ไมโครกรัมต่อลิตร

สรุปผล

1. สารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin มีค่า LC50 ที่ 96 ชั่วโมง เท่ากับ 59.41 ไมโครกรัมต่อลิตร ต่อปลานิลขนาดน้ำหนักตัว 35-40 กรัม โดยทำการศึกษาในระบบน้ำนิ่งแบบเปลี่ยนน้ำทุกวัน
2. สารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในขนาดพิษรองเฉียบพลัน (7.5, 15, 30 ไมโครกรัมต่อลิตร) มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์โกลีตอสเทอเรสในซีรัมปลานิลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)
3. สารไพรีทรอยด์ชนิด Cypermethrin ในขนาดพิษรองเฉียบพลันมีผลทำให้เกิดจุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือก ตับ และม้าม แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในเซลล์กล้ามเนื้อ หรือ เม็ดเลือดขาว
4. สามารถใช้วิธีการตรวจวัดสมรรถนะของซีรัมเอนไซม์โกลีตอสเทอเรสในปลาเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomonitor) ของการปนเปื้อนของสารพิษชนิด Cypermethrin ในแหล่งน้ำได้
5. การวัดสมรรถนะของเอนไซม์โกลีตอสเทอเรสในซีรัมปลานิล
 - 5.1 สามารถบ่งชี้การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชในแหล่งน้ำ ในขณะที่สัตว์ในแหล่งน้ำนั้นยังดำรงชีวิตอยู่ได้ หรือ ไม่แสดงความผิดปกติที่สังเกตได้จากภายนอก
 - 5.2 สามารถบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษปริมาณน้อยๆ แต่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ หรือในกรณีที่มีการปนเปื้อนในระดับต่ำและไม่สามารถวัดปริมาณสารพิษนั้นได้ด้วยเครื่องมือทางเคมี
 - 5.3 เป็นเทคนิคที่ไม่ต้องใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการในประเทศไทย

ข้อเสนอแนะ

1. การวัดสมรรถนะของเอนไซม์โกลีตอสเทอเรสด้วยวิธีนี้ อาจยึดหลักการดูกลิ่นคลื่นแสงของสารที่ได้จากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์และซับสเตรท หากซีรัมที่ใช้วัดมีการปนเปื้อนจากเม็ดเลือด หรือ มีการแตกของเม็ดเลือดแดง อาจทำให้ค่าดูกลิ่นแสงต่างจากความเป็นจริง ดังนั้นในขั้นตอนการเจาะและการเก็บเลือดตัวอย่างควรทำด้วยความระมัดระวัง เพื่อป้องกันการแตกตัวของเม็ดเลือด
2. การวัดสมรรถนะของเอนไซม์โกลีตอสเทอเรสด้วยวิธีนี้ สามารถเก็บตัวอย่างซีรัมไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส ได้นาน 2 สัปดาห์โดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสมรรถนะของเอนไซม์
3. ตัวทำละลายในสารกำจัดศัตรูพืช อาจเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง จึงควรตรวจสอบเฉพาะความเป็นพิษของตัวทำละลายก่อนการศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดศัตรูพืช