รายงานฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัย
ประจำปีงบประมาณ 2536

เรื่อง

วินิจฉัยความเป็นพิษของยาฆ่าแมลงชนิดออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในสัตว์น้ำ

ผู้วิจัยหลัก รศ.ภญ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
ผู้วิจัยร่วม รศ.น.สพ.ดร.จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

วันที่ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ : 15 มิถุนายน 2541

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานผลโครงการวิจัย
ประจำปีงบประมาณ 2536

เรื่อง

วินิจฉัยความเป็นพิษของ
ยาฆ่าแมลงชนิด
ออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในสัตว์น้ำ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้วิจัยหลัก รศ.ภญ.ดร.สุพัตรา ศรีไชยรัตน์
ผู้วิจัยร่วม รศ.น.สพ.ดร.จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์

วันที่ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ : 15 มิถุนายน 2541

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
บทนำ	1
วิธีการวิจัย	2-3
ผลการศึกษา	3
พิษเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในกุ้งกุลาดำ	3-4
พิษเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในปลากะพงขาว	4-5
พิษเฉียบพลันของคาร์บาริลในปลากะพงขาว	5-6
เปรียบเทียบความเป็นพิษของเมททิลพาราไธออนกับคาร์บาริลในปลากะพงขาว	6
อภิปรายผล	6-7
สรุปผล	8-9
กิตติกรรมประกาศ	9
เอกสารอ้างอิง	10
ตารางที่ 1-10	11-15
รูปที่ 1-13	16-27

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

ทดลองหาค่า LC50 (median lethal concentration) ภายใน 96 ชั่วโมงเพื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษเฉียบพลันของสารฆ่าแมลงสองกลุ่ม (กลุ่มออแกโนฟอสเฟต= เมททิลพาราไธออน และกลุ่มคาร์บาเมต= คาร์บาริล) ในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาว ค่า LC50,96 ชม. ของเมททิลพาราไธออนในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาวเท่ากับ 54 มค.ก./ลิตร และ 1.48 มก./ลิตร ตามลำดับ และค่า LC50 ภายใน 96 ชั่วโมงของคาร์บาริล ในปลากะพงขาวเท่ากับ 2.95 มก./ลิตร อัตราการตายและความรุนแรงของอาการเป็นพิษของกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาวเพิ่มขึ้นตามขนาดความเข้มข้นของสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิด จากค่า LC50ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำมีความไวจากความเป็นพิษของเมททิลพาราไธออน มากกว่าปลากะพงขาวประมาณ 30 เท่า และในปลากะพงขาวนั้น เมททิลพาราไธออนมีความเป็นพิษมากกว่าคาร์บาริลสองเท่าโดยประมาณ นอกจากนี้สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในสมอง (สำหรับกุ้งเป็นเส้นประสาท) และกล้ามเนื้อของปลาและกุ้งทุกกลุ่มที่ได้รับสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สมรรถนะของเอนไซม์ที่ลดลงยังขึ้นกับความเข้มข้นของสารฆ่าแมลงทั้งสองชนิดที่ได้รับ ส่วนผลการตรวจทางจุลพยาธิสภาพนั้นกลับไม่พบว่ามีการผิดปกติอย่างมีนัยสำคัญทั้งในกุ้งและปลาที่สัมผัสสารฆ่าแมลงในขนาดสูงและตายในทันที (ภายใน 6 ชั่วโมง) ดังนั้นผลการตรวจจุลพยาธิสภาพไม่ได้แสดงถึงความสัมพันธ์ของขนาดความเข้มข้นและความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพได้ในความเป็นพิษแบบเฉียบพลัน อย่างไรก็ตามผลการตรวจจุลพยาธิสภาพของกุ้งและปลาที่รอดตายเกิน 24 ชั่วโมงแสดงให้เห็นว่ามีการเสียหายของเหงือก ตับ (ในกุ้งเป็นตับและตับอ่อน) และกล้ามเนื้อเกิดขึ้นเนื่องจากสารฆ่าแมลง ดังนั้นระยะเวลาที่สัมผัสกับสารพิษเหล่านี้น่าจะเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดความรุนแรงของการเปลี่ยนสภาพ จากผลการศึกษาทั้งหมดโดยรวมทำให้ได้ข้อเสนอแนะว่าการยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสอย่างรุนแรงทั้งในกล้ามเนื้อและสมองเนื่องจากสารฆ่าแมลงที่มีฤทธิ์ต้านเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสทั้งสองกลุ่ม (ออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต) เป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงเหล่านี้เป็นอย่างดี วิธีการนี้มีความจำเพาะ สามารถตรวจได้โดยง่าย รวดเร็ว และเป็นที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง

Abstract

The 96 hours LC50 (concentration lethal to half the test animals) were determined to compare the acute toxicity of two insecticide groups (organophosphate; methylparathion and carbamate; carbaryl) in tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and giant perch (*Lates calcalifer*). The LC50,96 hr of methylparathion in tiger shrimp and fish were found to be 54 mcg/litre and 1.48 mg/litre repectively and the 96 hours LC50 of carbaryl in giant perch was 2.95 mg/litre. Both the mortality rate and severity of intoxication sign showed a direct relationship between the dosage of the two insecticides. The LC50 values investigated in the present study showed that , in comparison to the giant perch, tiger shrimp was about 30 folds sensitive to methyl parathion intoxication and in giant perch, methyl parathion was about 2 folds more toxic than carbaryl. Moreover, brain (nerve tissue for shrimp) and muscle cholinesterase activities of all treated fish and shrimp decreased significantly ($p<0.05$). The decreasing of enzyme activities was also depended on exposed concentration of the two insecticides. There was no significant histopathological abnormalities in tiger shrimp and giant perch which exposed to high concentration of the insecticides and dried immediately (within 6 hours). Thus,the histological study show no relationship between the dosage and the severity of pathological alterations for acute toxicity. However, the histopathological study of the survivors over 24 hours showed damages in gill, liver (hepato-pancrease for shrimp) and muscle. The duration of exposure to these toxic compounds should be the main factor of the severity of these alterations. All of the results suggested that the strong inhibition of cholinesterase activities both in muscle and brain (nerve tissue for shrimp) due to anticholinesterase insecticides (organophosphates and carbamates) is a good indicator of their poisoning. It is more specific,simple, rapid and generously used.

1. บทนำ

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่ายาหรือสารเคมีกำจัดแมลงชนิดออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตเป็นสารเคมีที่ใช้กำจัดศัตรูพืชอย่างกว้างขวางในประเทศไทยและประเทศกสิกรรมอื่นๆ โดยเข้ามาแทนที่สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มออแกโนคลอรีน เช่น ดีดีที ที่ทำให้เกิดปัญหาต่อสภาวะแวดล้อมเนื่องจากมีความคงตัวสูงและทำให้ตกค้างอยู่ได้นาน โดยเหตุที่สารฆ่าแมลงในกลุ่มออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตมีความคงตัวต่ำในสภาพแวดล้อม จึงไม่ทำให้เกิดปัญหาดังกล่าวขึ้น อย่างไรก็ตามสารเคมีดังกล่าวมีความเป็นพิษสูง ปัญหาที่เกิดขึ้นจากสารเคมีเหล่านี้จึงเป็นที่ความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันที่อาจเกิดขึ้น นอกจากนี้สารเคมีชนิดคาร์บาเมตยังเป็นที่นิยมใช้เป็นสารเคมีกำจัดแมลงภายในครัวเรือนทั่วไป อุบัติการการเป็นพิษจากสารเคมีกำจัดแมลงเหล่านี้จึงมีอยู่มาก โดยที่ไม่เพียงแต่จะเกิดขึ้นกับเกษตรกรและผู้ใช้สารเคมีโดยตรงแล้วยังมีผลต่อเนื่องถึงสภาวะแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในสัตว์น้ำที่ได้รับผลกระทบทันทีที่มีการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงเหล่านี้ในแหล่งน้ำ

สารฆ่าแมลงเหล่านี้มีผลทำให้สมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดและเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติกลดลง โดยมีผลไปขัดขวางการทำงานของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารฆ่าแมลงในกลุ่มออแกโนฟอสเฟตมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อย่างถาวร เอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ลดลงทำให้สารสื่อประสาทอะเซททิลโฆลีนมีมากขึ้น จนเกิดการกระตุ้นของระบบประสาทโฆลิเนอร์จิกอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแสดงออกด้วยอาการหดรัดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ กล้ามเนื้อลายอ่อนกำลัง เป็นอัมพาตโดยเฉพาะอย่างยิ่งกล้ามเนื้อที่ใช้ในการหายใจ การเคลื่อนไหวที่ผิดปกติ สับสน ชักเกร็ง เป็นต้น ความเป็นพิษที่รุนแรงอาจมีผลทำให้ตายได้ในช่วงเวลาอันสั้นเนื่องจากระบบหายใจล้มเหลว เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าสารฆ่าแมลงเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อแมลงรวมถึงกุ้งซึ่งเป็นสัตว์ในไฟลัมเดียวกับแมลงมากกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานไว้ว่าแมลงและปลาขาดเอนไซม์ที่จะไฮโดรไลส์สารฆ่าแมลงเหล่านี้ให้กลายเป็นสารที่หมดฤทธิ์ไปเช่นเดียวกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Krueger et al., 1960)

โดยทั่วไปการวินิจฉัยความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงทั้งสองกลุ่มทำได้ด้วยการวัดสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในเลือดหรือในซีรั่มที่ลดลง ในสัตว์น้ำก็เช่นกันสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ลดลงจะเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงความเป็นพิษของสารฆ่าแมลงทั้งสองกลุ่มได้เช่นกัน (Bocquene' et al., 1990; Bocquene' and Galgani, 1991;) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ตั้งวัตถุประสงค์ที่จะหาแนวทางที่เหมาะสมมาใช้ในการวินิจฉัยความเป็นพิษจากสารฆ่าแมลงชนิดออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในกุ้งและปลาซึ่งเป็นตัวแทนของสัตว์น้ำที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของประเทศ

2. วิธีการวิจัย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ spectrophotometer (UV-160A, Shimadzu), standard pH meter (EA 920, Orion research), tissue homogeniser (Thomas NS1-12) or tissue grinder, automatic micropipette

สารเคมี acetylcholine bromide, acetylthiocholine iodide, 5:5 dithiobis-(2-nitrobenzoic) acid (DTNB), bovine erythrocyte cholinesterase, disodium hydrogen phosphate, monopotassium hydrogen phosphate, methyl parathion, carbaryl, sodium bicarbonate,

สัตว์ทดลอง กุ้งกุลาดำ ปลากะพงขาว ซีรั่มปลาดุก

วิธีการ

1. ศึกษาวิธีการวัดสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรส ในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาว โดยดัดแปลงจากวิธีของ Ellman และคณะ (1961) และได้บรรยายวิธีโดยละเอียดใน สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ (2538) ตีพิมพ์ในเวชชสารสัตวแพทย์ ปีที่ 25 ฉบับที่ 3 กันยายน 2538 หน้า 197-200
2. ศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในกุ้งกุลาดำ
   ใช้กุ้งกุลาดำ ขนาด 10.9 $\pm$ 0.5 ซม. 7 กลุ่มกลุ่มละ 50 ตัว โดยแบ่งออกเป็นกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่แช่น้ำผสมเมททิลพาราไธออนในขนาดความเข้มข้น 1, 20, 40, 50, 75 และ 90 ไมโครกรัม/ลิตร สังเกตุอาการจนครบ 96 ชั่วโมง บันทึกอัตราการตายและนำไปหาค่า median lethal concentration (LC_{50},96 hr) นำกุ้งจากแต่ละกลุ่มมาวัดสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและเส้นประสาท แบ่งกล้ามเนื้อ และ ตับกับตับอ่อน (hepato-pancrease) มาดองใน Davidson's fixative เพื่อตรวจดูจุลพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลง
3. ศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในปลากะพงขาว
   ใช้ปลากะพงขาว ขนาด 8-10 ซม. ที่เลี้ยงเพื่อปรับสภาพในน้ำสะอาดนาน 5 วัน แบ่งปลาออกเป็น 8 กลุ่ม กลุ่มละ 50 ตัว เลี้ยงแยกในอ่างไฟเบอร์กลาสขนาด 59 x 58 x 59 ลบ.ซม. บรรจุน้ำสะอาด 100 ลิตร กำหนดให้กลุ่มควบคุมเป็นกลุ่มที่ไม่ได้รับสารเคมีกำจัดแมลงและอีก 7 กลุ่มเป็นกลุ่มที่สัมผัสกับสารเคมีโดยการแช่ในน้ำที่ผสมเมททิลพาราไธออนที่ความเข้มข้น 0.5, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ สังเกตุอาการปลาทุกกลุ่มจนครบ 96 ชั่วโมงบันทึกอัตราการตายและเก็บปลาที่ตายระหว่างนั้นทันที แยกสมองและกล้ามเนื้อท้องบริเวณครีบหลัง นำไปแช่แข็ง

ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียสเพื่อทำการตรวจวัดสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสต่อไป แยกตัดตับและกล้ามเนื้อบางส่วนดลอดจนเหงือกมาดองในน้ำยาฟอร์มาลีน 10 % เพื่อไปศึกษาลักษณะทางจุลพยาธิสภาพ ทำการหาค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงของเมททิลพาราไธออนในปลากะพงขาวตามวิธีในข้อ 2

4. **ศึกษาความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันของคาร์บาริล** (สารเคมีกำจัดแมลงในกลุ่มคาร์บาเมท) **ในปลากะพงขาว**
   ทำการศึกษาแบบข้อ 3 แต่ใช้คาร์บาริลที่ขนาดความเข้มข้น 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5 และ 5.0 มิลลิกรัม/ลิตร แทนเมททิลพาราไธออน
5. ทำการพัฒนาวิธีการที่สามารถนำไปใช้ได้นอกสถานที่ โดยเปรียบเทียบกับวิธีในข้อ 1 ดูรายละเอียดใน Srichairat, 1996 (เวชชสารสัตวแพทย์ ปีที่ 26 ฉบับที่ 2 มิถุนายน 2539 หน้า 113-115) ซึ่งได้ทำการทดสอบในซีรั่มปลาดุก วิธีนี้ไม่สามารถใช้กับตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อได้เนื่องจากมีบัฟเฟอร์อยู่ในตัวอย่าง ทำให้ผลสังเกตุการเปลี่ยนแปลง pH เป็นไปได้ยาก

การวิเคราะห์ข้อมูล

หาค่า LC_{50},96 ชั่วโมงโดยวิธีของ Litchfield และ Wilcoxon (1949) ทำการทดสอบค่าที่ได้จากการทดลองและค่าที่ควรจะเป็นด้วย Chi-Square test หาความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วย Anova ชนิดทางเดียว และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ด้วย Duncan's new multiple range test กำหนดค่าความมีนัยสำคัญที่ $p < 0.05$

3. ผลการศึกษา

3.1 พิษเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในกุ้งกุลาดำ

กุ้งทุกกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนกินอาหารได้ลดลง แสดงอาการตื่นเต้น กระวนกระวาย ไม่มีทิศทางการเคลื่อนไหวได้แน่นอน ว่ายวนบริเวณขอบอ่างและมีการดีดตัวอย่างรวดเร็วซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัด อัตราการตายของกุ้งเพิ่มขึ้นตามขนาดของเมททิลพาราไธออนที่ได้รับดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 ค่า median lethal concentration ภายใน 96 ชั่วโมงมีค่าเท่ากับ 54 ไมโครกรัม / ลิตร

ผลการวัดสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกุ้งกุลาดำ

ผลของสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและเส้นประสาทของกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุมเปรียบเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสสารเคมีกำจัดแมลงเมททิลพาราไธออนที่ขนาดต่าง ๆกันแสดงไว้ในตารางที่ 2

พบว่าเมททิลพาราไธออนทุกความเข้มข้นที่ทดลองมีผลลดสมรรถนะเอนไซม์ โฆลีนเอสเทอเรสทั้งในกล้ามเนื้อและเส้นประสาทอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามขนาดเมททิลพาราไธออนที่กุ้งสัมผัสดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 1 ที่ความเข้มข้นสูงตั้งแต่ 40 มค.ก/ลิตรมีกุ้งที่ตายทันทีภายใน 6 ชั่วโมงแรกโดยกุ้งดังกล่าวมีเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและเส้นประสาทเท่ากับ 70-75 % และ 80-89% ตามลำดับ มีความสัมพันธ์ของสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ลดลงในกล้ามเนื้อและเส้นประสาทโดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.7

ผลการตรวจจุลพยาธิสภาพ

จุลพยาธิสภาพของเซลล์ตับ ตับอ่อนและกล้ามเนื้อในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนในขนาดตั้งแต่ 1 ไมโครกรัม/ ลิตร มีลักษณะการตายของเซลล์กล้ามเนื้อโดยทั่วไปเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติในกลุ่มควบคุม (รูปที่ 2) ส่วนเซลล์ของตับและตับอ่อนมีการตายของเซลล์เกิดขึ้นด้วยเช่นกัน (แสดงไว้ในรูปที่ 3) ความรุนแรงของพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปไม่เป็นไปตามความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนที่กุ้งได้รับเพียงอย่างเดียวแต่ขึ้นกับระยะเวลาที่กุ้งสัมผัสสารฆ่าแมลงด้วยโดยที่ กลุ่มที่ได้สัมผัสเมททิลพาราไธออนในขนาดสูงมากถึง 90 ไมโครกรัม/ลิตรและมีการตายของกุ้งเกือบทั้งหมดภายใน 24 ชั่วโมงกลับไม่ปรากฏลักษณะของเซลล์ตายเช่นเดียวกับกลุ่มที่ได้รับปริมาณต่ำแต่มีลักษณะของ hyperemia ในเซลล์กล้ามเนื้อ ตับ และตับอ่อนดังที่แสดงผลไว้ในรูปที่ 4 และ 5 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามกุ้งที่สัมผัสสารเคมีในขนาดสูงและรอดชีวิตหลัง 96 ชั่วโมงมีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพโดยทั่วไปรุนแรงกว่ากุ้งในกลุ่มที่สัมผัสสารฆ่าแมลงต่ำกว่า

3.2 พิษเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนในปลากะพงขาว

ปลาในกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนในขนาดสูงตั้งแต่ 2 มก./ลิตร ขึ้นไปแสดงอาการผิดปกติเกือบทันที ในขณะที่ปลากลุ่มที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนขนาดต่ำกว่าแสดงอาการผิดปกติหลังจากนั้น ปลาแสดงอาการกระวนกระวาย กินอาหารน้อยลง มีการเคลื่อนไหวอย่างไร้ทิศทาง ว่ายตัวเอียงชนขอบอ่างและวนเวียนบริเวณขอบอ่างและรวมตัวบริเวณหัวทรายที่ให้ออกซิเจน บางตัวว่ายหงายท้อง และกระโดดลอยตัวขึ้นเหนือน้ำบ่อยครั้งและชักกระตุก แต่ก็มีปลาบางตัวแสดงอาการซึม ไม่เคลื่อนไหว ปลาทุกตัวมีลำตัวซีดขาว และมีเมือกตามลำตัวมากกว่าปกติ เหงือกกางอ้าซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มที่ได้รับเมททิลพาราไธออนในขนาดสูงจะแสดงอาการชักกระตุกรุนแรงก่อนตาย ความรุนแรงของอาการและปริมาณปลาที่ตายมีมากขึ้นตามขนาดความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนและระยะเวลาที่ปลาสัมผัสดังแสดงไว้ในตารางที่ 3 ค่า median lethal concentration ภายใน 96 ชั่วโมงของเมททิลพาราไธออนในปลากะพงขาวเท่ากับ 1.48 มก. / ลิตร

ผลของเมททิลพาราไธออนต่อสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในปลากะพงขาว

ผลของสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและสมองของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม เปรียบเทียบกับกลุ่มที่สัมผัสสารเคมีกำจัดแมลงเมททิลพาราไธออนที่ขนาดต่างๆกัน แสดงไว้ในตารางที่ 4 พบว่าเมททิลพาราไธออนมีผลทำให้สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสทั้งในกล้ามเนื้อและสมองลดลงอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($p<0.05$) ทุกความเข้มข้นที่ทดลอง โดยที่เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามขนาดเมททิลพาราไธออนที่ปลาสัมผัสดังแสดงไว้ในรูปที่ 6 พบว่าปลาที่ตายทันทีภายใน 6 ชั่วโมงแรกมีสมรรถนะเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและสมองลดลง 98 %และ 95-97% ตามลำดับ แม้ว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ทดลองไม่ทำให้ปลาตายก็ยังมีผลทำให้สมรรถนะเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและสมองลดลงไป 43.7 และ 51.4 เปอร์เซนต์ตามลำดับ เช่นเดียวกับผลในข้อที่ 3.1 ที่พบว่ามีความสัมพันธ์กันระหว่างสมรรถนะของเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและสมองที่ลดลงโดยที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.77

ผลการตรวจจุลพยาธิสภาพ

ไม่พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยาของเซลล์ตับ กล้ามเนื้อและเหงือกของปลาที่ได้รับเมททิลพาราไธออนแล้วตายในทันที แต่ในปลาที่รอดตายหลังจากสัมผัสเกิน 48 ชั่วโมง พบว่ามีการตายของเซลล์ตับและเซลล์กล้ามเนื้อโดยทั่วไปเปรียบเทียบกับเซลล์ปกติของกลุ่มควบคุม (ดูรูปที่ 7 และ 8) ที่ซี่เหงือกมีการทำลายของเซลล์เกิดขึ้นทั่วไป มีการรวมตัวของลาเมลลาและหลุดออกของซี่เหงือกในกลุ่มที่ได้รับสารฆ่าแมลงเป็นเวลานาน เมื่อเปรียบเทียบกับซี่เหงือกปกติของกลุ่มควบคุม (รูปที่ 9)

3.3 ความเป็นพิษเฉียบพลันของคาร์บาริล ในปลากะพงขาว

ปลาทุกกลุ่มที่สัมผัสกับคาร์บาริลแสดงอาการกระวนกระวาย มีการว่ายน้ำช้าลง บางตัวสูญเสียการทรงตัว ตัวงอขณะว่ายน้ำ กินอาหารน้อยลงหรือไม่กินอาหารเลย ความรุนแรงของอาการมีมากขึ้นตามขนาดของสารฆ่าแมลงที่ได้รับ และเริ่มมีตายบ้างในช่วง 6-24 ชั่วโมงแรกในกลุ่มที่ได้ 3.5-5.0 มก./ลิตร ในขนาดสูงมีปลาตายมากขึ้นตามความเข้มข้นที่ได้รับดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 ปลาตายในลักษณะที่ขากรรไกรล่างอ้าออก ลำตัวซีดขาว เหงือกมีสีแดงคล้ำ และมีเมือกตามตัวมากกว่าปกติ ค่า median lethal concentration ภายใน 96 ชั่วโมง (LC_{50}, 96 hr) เท่ากับ 2.95 มก./ลิตร

ผลของคาร์บาริลต่อสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในปลากะพงขาว

สมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและสมองปลากะพงที่สัมผัส กับคาร์บาริลทุกกลุ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงไว้ในตารางที่6 เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์สูงขึ้นตามความเข้มข้นของคาร์บาริลที่ได้รับ (รูปที่ 10) พบว่าสมรรถนะเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและสมองที่ลดลงมีความสัมพันธ์กัน ($r= 0.93$) ปลาที่ตายในวันแรกมีสมรรถนะเอนไซม์ในกล้ามเนื้อและสมองลดลงไปประมาณ 48-80 % และ 54-84 % ตามลำดับ

ผลการตรวจจุลพยาธิสภาพ

ไม่เห็นการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์กล้ามเนื้อได้อย่างชัดเจนในปลาที่ตายในวันแรก แต่พบว่ามีการตายของเซลล์ตับเกิดขึ้น ที่นิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงไปหลายลักษณะได้แก่ pyknosis และ karyolysis นอกจากนี้ยังเห็น vacuole อย่างชัดเจนและมีมากขึ้นตามความเข้มข้นที่ได้สัมผัสคาร์บาริล (รูปที่ 11) ที่เซลล์เหงือกมีการเชื่อมกันของซี่เหงือกและมีการตายของเซลล์ร่วมกับการหนาตัวของเซลล์ (ดูรูปที่ 12) ซึ่งความรุนแรงของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพเป็นไปตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่ปลาสัมผัสกับคาร์บาริลด้วยเช่นกัน การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพแบบเดียวกันนี้ยังเห็นได้ในกล้ามเนื้อของปลาที่ได้รับคาร์บาริลในขนาดเดียวกันแต่สัมผัสนาน 48 ชั่วโมงขึ้นไป (รูปที่ 13)

3.4 เปรียบเทียบความเป็นพิษของเมททิลพาราไธออนกับคาร์บาริลในปลากะพงขาว

เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของเมททิลพาราไธออนกับคาร์บาริลแล้วจะเห็นได้ว่าเมททิลพาราไธออนมีความเป็นพิษมากกว่าเมื่อดูจากค่า LC_{50}, 96 ชม. โดยที่ สมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในปลาที่สัมผัสกับเมททิลพาราไธออนลดลงกว่าคาร์บาริล เป็นอย่างมาก และมีการฟื้นตัวช้ากว่า เมื่อเปรียบเทียบจากตารางที่ 7 และ 8 แสดงให้เห็นว่าจำนวนปลาที่ตายภายใน 6 ชั่วโมงแรกของกลุ่มที่มีความเข้มข้นสูงในสารเมททิลพาราไธออนมีมากกว่าด้วย กลุ่มที่สัมผัสกับคาร์บาริลจะมีแนวโน้มว่ามีการฟื้นตัวเร็วกว่าเมททิลพารา-ไธออนโดยดูจากเปอร์เซนต์การยับยั้งของสมรรถนะเอนไซม์ของปลาที่ตายในวันสุดท้ายของการทดลองลดลงกว่าในวันแรก นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งเมททิลพาราไธออนและคาร์บาริลในความเข้มข้นที่ทดลองไม่มีผลเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำที่ทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 9 และ 10

4. อภิปรายผล

อาการแสดงความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมทที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวทั้งในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาวนั้นแสดงถึงความเป็นพิษที่มีต่อระบบประสาทที่กล้ามเนื้อ (neuromuscular) และระบบประสาทส่วนกลาง ผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Reddy และ Rao (1990) ที่ทำการทดลองในกุ้ง การที่สัตว์น้ำทั้งสองชนิดแสดงอาการกระวนกระวายและว่ายวนบริเวณขอบอ่างหรือบริเวณหัวทรายนั้นน่าเป็นผลจากการหายใจที่ติดขัด (respiratory distress) นอกจากนี้ลักษณะการตายของปลาที่ขากรรไกรล่างอ้าออก ลำตัวซีดขาวและมีเมือกตามลำตัวมากกว่าปกตินั้นเกิดจากการขาดออกซิเจน ประกอบกับเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสทั้งในกล้ามเนื้อและสมองเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากตามขนาดความเข้มข้นของสารเคมีที่ได้รับ จึงคาดว่าการลดลงของสมรรถนะของเอนไซม์ดังกล่าวทำให้ปริมาณของสารสื่อประสาทอะเซทิลโฆลีนเพิ่มมากขึ้นและแสดงฤทธิ์กระตุ้นทั้งที่ตัวรับมัสคารินิคและนิโคตินิคตลอดจนระบบประสาทส่วนกลาง ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ปลาแสดงอาการทุรนทุราย มีการเปลี่ยนแปลงธรรมชาติการเคลื่อนไหวซึ่ง

บ่งบอกผลที่มีต่อระบบกล้ามเนื้อหรือประสาทที่มาควบคุม นอกจากนี้ยังมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลาง ระบบประสาทอัตโนมัติ อาการชักของปลาที่เห็นได้ในขนาดความเข้มข้นสูงน่าจะเป็นผลจากการกระตุ้นที่ระบบประสาทส่วนกลาง การหายใจล้มเหลว เนื่องจากการหดตัวของกล้ามเนื้อหลอดลมในระยะแรกแล้วตามด้วยการเป็นอัมพาตของกล้ามเนื้อที่เกี่ยวกับการหายใจและศูนย์กลางการหายใจของปลาถูกกดไว้ (Coppage, 1976) นอกจากนี้สารเคมีกำจัดแมลงเมททิลพาราไธออนยังมีผลทำให้ความต้องการใช้ออกซิเจนในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นในช่วงแรก ต่อมาร่างกายปรับตัวให้มีการใช้ออกซิเจนน้อยลง เซลล์มีการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้เกิดการสะสมแลคติกภายในเซลล์มากขึ้น (Rao et al., 1985) พบว่าเมททิลพาราไธออน (Nagarathnamma, 1982) และคาร์บาริล (Hassan et al., 1966) ยังมีผลต่อไนโตรเจนเมตาบอลิซึม เกิดการสะสมแอมโมเนียและ ยูเรียซึ่งเป็นของเสียภายในเซลล์มากขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าสารออแกโนฟอสเฟตยังเกาะบริเวณหลอดเลือดและมีการทำลายชั้นมิวโคซ่า ทำให้การแลกเปลี่ยนออกซิเจนกับคาร์บอนไดออกไซด์ที่ซี่เหงือกลดลง เป็นสาเหตุสำคัญที่ทั้งกุ้งและปลาตายในช่วงแรกอย่างรวดเร็วเมื่อสัมผัสสารเคมีกำจัดแมลง อย่างไรก็ตามการตายของกุ้งและปลาในช่วงเวลาต่อมาน่าจะเป็นผลที่ต่อเนื่องจากผลดังกล่าวโดยรวม

เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารเคมีเมททิลพาราไธออนในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาวแล้ว จะเห็นได้ว่ากุ้งมีความไวต่อความเป็นพิษมากกว่าปลากะพงขาวเมื่อเปรียบเทียบจากค่า LC_{50} เกือบ 30 เท่า และเมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารเคมีทั้งสองชนิดคือเมททิลพาราไธออน (ออแกโนฟอสเฟต) กับคาร์บาริล (คาร์บาเมต) ในปลากะพงขาวก็พบว่าเมททิลพาราไธออนมีความเป็นพิษต่อปลากะพงขาวเมื่อดูจากค่า LC_{50} มากกว่าคาร์บาริลเกือบสองเท่า โดยที่เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสยังรุนแรงกว่าเช่นกัน

ผลการตรวจจุลพยาธิสภาพทั้งในกุ้งและปลาที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนเป็นไปแบบเดียวกัน คือสัตว์ที่ตายในทันทีในช่วงแรกๆ (ภายใน 6 ชั่วโมง) ไม่แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิอย่างเด่นชัดเหมือนในกลุ่มที่ตายในช่วงหลัง (ภายใน 96 ชั่วโมง) แสดงให้เห็นว่าผลทางจุลพยาธิสภาพจะไม่ได้บอกอะไรมากนักถึงความเป็นพิษอย่างเฉียบพลันของสารเคมีกำจัดแมลง ซึ่งแตกต่างจากผลการวัดสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสที่ลดลงอย่างชัดเจน สำหรับปลากะพงขาวที่สัมผัสกับคาร์บาริลนั้นไม่มีการตายในช่วง 6 ชั่วโมงแรกเลย แสดงว่าพิษนั้นไม่รุนแรงเท่าเมททิลพาราไธออน อย่างไรก็ตามปลาที่ตายในช่วง 24 ชั่วโมงแรกนั้นแสดงผลทางจุลพยาธิสภาพที่เปลี่ยนแปลงไปบ้างในเซลล์ตับและซี่เหงือกซึ่งเป็นอวัยวะด่านแรกๆที่ต้องเจอสารพิษ เนื่องจากก่อนที่ปลาจะตายนั้นได้สัมผัสกับคาร์บาริลนานกว่าเมททิลพาราไธออน แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงจนเห็นได้ชัดด้วยกล้องจุลทรรศน์ในเซลล์กล้ามเนื้อ สภาพการตายของเซลล์ที่ตรวจพบในกลุ่มที่สัมผัสสารฆ่าแมลงเป็นระยะเวลานานก่อนตายนั้นน่าจะเป็นผลการทำลายเซลล์โดยตรงของเมททิลพาราไธออน (สถาพร สุวรรณรักษ์ , 2535 ; ภัทรา หาญจริยากูล, 2536) และคาร์บาริล (สุภัทรดรา เจียมศักดิ์, 2537) โดยอาจเกิดจากการรบกวนเมตะโบลิซึมภายในเซลล์ที่ทำให้เกิดการสร้างตัวของเซลล์มากผิดปกติ ดังที่พบในเซลล์ซี่เหงือกที่มีการหนาตัวขึ้น (hyperplasia) ซึ่งอาจเป็นผลเกิดจากการปรับตัวเพื่อลดจำนวนพื้นที่ในการสัมผัสสารพิษในน้ำ พื้นที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซออกซิเจนลดลง จึงเป็นสาเหตุให้มีการตายของเซลล์ขึ้น

ทั้งสารเคมีกำจัดแมลงเมททิลพาราไธออนและคาร์บาเมทมีผลทำให้สมรรถนะเอนไซม์โฆลีน-เอสเทอเรสลดลงทุกกลุ่มที่ได้สัมผัสสาร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสารเคมีทั้งสองกลุ่มจะเห็นได้ว่า เมททิลพารา-ไธออนมีผลทำให้สมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสลดลงรุนแรงกว่าคาร์บาเมต โดยที่สมรรถนะของเอนไซม์ที่ลดลงกว่า 90 % ทำให้ปลาตายได้ทันทีในกลุ่มที่สัมผัสเมททิลพาราไธออนในขนาดสูง แม้ว่าปลากะพงขาวในกลุ่มที่สัมผัสคาร์บาริลในขนาดสูงก็มีผลทำให้สมรรถนะ เอนไซม์ลดลงน้อยกว่าโดยมีเปอร์เซนต์ยับยั้งโดยประมาณเพียง 50 % แต่ก็มีผลทำให้ปลาตายได้เช่นเดียวกันเมื่อสัมผัสกับสารเคมีนานขึ้น นอกจากนี้การฟื้นตัวของปลาที่สัมผัสกับคาร์บาริล เป็นไปได้เร็วกว่าปลาที่สัมผัสเมททิลพาราไธออน ซึ่งสอดคล้องกับคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของสารคาร์บาเมต ที่มีการยับยั้งเอนไซม์แบบย้อนกลับแตกต่างจากสารเมททิลพาราไธออนที่ยับยั้งแบบถาวรจึงมีการฟื้นตัวได้ช้ากว่า เอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ค่อยๆสูงขึ้นในวันถัดไปนั้นเป็นเอนไซม์ที่ปลาสร้างขึ้นมาใหม่เท่านั้น จากการศึกษาที่ทำในห้องปฏิบัติการเดียวกันนี้ยังพบว่าสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอ-เรสที่ลดลงนี้จะยังคงอยู่หลายวันแม้ว่าระดับเมททิลพาราไธออนในน้ำลดลงจากเดิมจนแทบตรวจไม่พบแล้วก็ตาม (ภัทรา หาญจริยากูล, 2536)

5.สรุปผล

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ลดลงเป็นดัชนีบ่งบอกถึงความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออแกโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตได้เป็นอย่างดี อีกทั้งยังมีความจำเพาะเจาะจงมากกว่าผลทางจุลพยาธิสภาพ ถึงแม้ว่าสมรรถนะเอนไซม์ในสมองมีสูงกว่าสมรรถนะเอนไซม์ที่กล้ามเนื้อเป็นอย่างมาก แต่การที่การลดลงของเอนไซม์ทั้งในสมอง (เส้นประสาท สำหรับกุ้ง) และกล้ามเนื้อมีความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกัน การวัดสมรรถนะเอนไซม์จึงทำได้ในตัวอย่างอย่างใดอย่างหนึ่งแล้วแต่ความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง การศึกษาครั้งนี้จึงไม่นำเสนอวิธีตรวจในเลือดหรือซีรั่มซึ่งมีปัญหาการเก็บตัวอย่างถ้าขนาดสัตว์ทดลองเล็กเกินไปเช่นปลากะพงขาว และค่าที่ได้ยังมีความคลาดเคลื่อนสูงเช่นในกุ้งกุลาดำ ดังนั้นการวินิจฉัยความเป็นพิษของสารเคมีกำจัดแมลงในสัตว์เศรษฐกิจด้วยการวัดหาสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในสมองและกล้ามเนื้อจึงมีความเหมาะสม และ สามารถทำได้ง่ายในห้องปฏิบัติการขนาดกลางที่ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือที่มีราคาแพงและต้องการความสามารถในการปฏิบัติการสูงกว่า เช่นแก๊ซโครมาโตกราฟฟี่ที่ใช้หาปริมาณสารเคมีกำจัดแมลงในสภาพแวดล้อมที่สัตว์อาศัยอยู่ได้โดยตรง ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าจะให้ผลที่คลาดเคลื่อนเนื่องจากปริมาณสารฆ่าแมลงที่ไม่คงตัวในสภาพแวดล้อมจะต่ำกว่าที่เป็นจริง ในขณะที่สัตว์ยังคงแสดงอาการเป็นพิษอยู่จากการลดลงของสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสเนื่องจากสารฆ่าแมลงนั้นยังคงแสดงให้เห็นอยู่หลายวัน นอกจากนี้การวัดสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสยังช่วยให้ประเมินอาการความเป็นพิษและการฟื้นตัวของสัตว์ได้ด้วย

สำหรับการพัฒนาการตรวจหาสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสที่ใช้ในภาคสนาม (Srichairat, 1996) นั้นวิธีการที่อาศัยหลักการการเปลี่ยนสีของกระดาษกรองชุบอินดิเคเดอร์ อะซิทิลโฆลีน และต่างที่เปลี่ยนจากสีน้ำเงินไปเป็นสีเหลืองภายในเวลาที่กำหนด สีที่เปลี่ยนไปเกิดจากกรดอะซิติดที่เกิดขึ้นจากปฏิกริยาของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอ เรสในซีรั่มกับสับเสตรท (อะซิทิลโฆลีน) ในกระดาษกรอง การที่เลือกใช้ซีรั่มเป็นตัวอย่างแทนที่ใช้ตัวอย่างจากสมองหรือกล้ามเนื้อเนื่องจากซีรั่มเป็นของเหลวอยู่แล้วและมีการรบกวนจากสีของตัวอย่างน้อยมาก นอกจากนี้ ตัวอย่างที่เป็นเนื้อเยื่อเช่น สมองและกล้ามเนื้อต้องแขวนตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ ซึ่งมีผลรบกวนการเปลี่ยนสีดังกล่าว วิธีการในภาคสนามเหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการที่ไม่มีเครื่องมือเช่นเสปรคโตโฟโตมิเตอร์ และสัตว์ที่มีขนาดใหญ่พอที่จะเจาะเลือดแยกซีรั่มออกมาได้ แต่มีความถูกต้องและแม่นยำไม่ดีเท่าวิธีที่นิยมใช้กันดังกล่าวที่สามารถตรวจได้ในตัวอย่างทุกชนิด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ อ. สพ.ญ. อรัญญา พลพรพิสิษฐ อดีตสัตวแพทย์ประจำศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่กรุณาให้คำแนะนำการทำไสลด์ และวินิจฉัยความผิดปกติทางจุลพยาธิสภาพ ขอขอบคุณคุณ สถาพร สุวรรณรักษ์ คุณภัทรา หาญจริยากูล และ คุณสุภัทตรา เจียมศักดิ์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านในศูนย์วิจัยโรคสัตว์น้ำ ที่ให้ความร่วมมือในการทดลองเป็นอย่างดี

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

ภัทรา หาญจริยากูล. การศึกษาพิษเฉียบพลันและพิษในขนาดที่ไม่ทำให้ปลาตายของเมททิลพาราไธออนต่อปลากะพงขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.

สถาพร สุวรรณรักษ์. การศึกษาพิษเฉียบพลันของเมททิลพาราไธออนต่อกุ้งกุลาดำ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2535.

สุภัทตรา เจียมศักดิ์. การศึกษาพิษเฉียบพลัน และพิษในขนาดที่ไม่ทำให้ตายของคาร์บาริลต่อปลากะพงขาว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537.

สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ การวิเคราะห์หาสมรรถนะของเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในกุ้งกุลาดำและปลากะพงขาว 2538 (1995) เวชชสารสัตวแพทย์ 25(3): 195-207.

Bocquene',G., Galgani, F. and Truquet, P. 1990. Characterization and assay conditions for use of AChE activity from several marine species in pollution monitoring. Marine Environ. Res. 30: 75-89.

Bocquene'G. and Galgani, F. 1991. Acetylcholinesterase activity in the common prawn (*Palaemon serratus*) contaminated by carbaryl and phosalone: Choice of a method for detection of effects. Ecotoxicol. Environ.Safety.22 :337-344.

Coppage, D.L. 1976. River pollution by anticholinesterase agent. Water Res. 10 : 19-24.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. 1961. A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem.Pharmacol. 7: 88-95.

Hassen, A., Zayed, S.M.A.D. and Abdel-Hamid, F.M. 1966. Metabolism of carbamate drug-I metabolism of l-napthyl-n-methyl carbamate (Savin) in the rat. Biochem.Pharmacol.15: 2045-2055.

Krueger,H.R., O'Brien, R.D. and Dauterman, W.C. 1960. Relationship between metabolism and differential toxicity in insect and mice of diazinon, dimethoate, parathion and acetion. Econ.Entomol. 53: 25-31.

Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Therap. 96:99-113.

Nagarathnamma, R. 1982. Effect of organophosphate pesticide on the physiology of fresh water fish *Prinus carpio* exposed to an organophosphate. Pesticide Curr. Sci. 51:668-669.

Rao, K.S.P., Sahip, I.K.A. and Rao K.V.R. 1985. Methyl parathion (o-o-dimethyl 0-4-nitrophenyl thiophosphate) effect on whole body and tissue respiration in teleost, *Tilapia mossambica* (Peters). Ecotoxicol. Environ.Safety. 9: 339-345.

Reddy, P. and Rao, K.V.R. 1990. Effect of sublethal concentration of phosphamidon, methylparathion, DDT and lindane on tissue nitrogen metabolism in the penaeid prawn, *Metapenaeus monoceros* (Fabricius). Ecotoxicol. Environ.Safety. 19: 47+54.

Srichairat,S. 1996. A rapid screening test for serum cholinesterase activity. Thai. J. Vet.Med. 26(2):113 -120.

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนที่มีผลต่ออัตราการตายของกุ้ง

กลุ่มที่	ความเข้มข้นของ เมททิลพาราไธออน มคก./ลิตร	จำนวนกุ้งที่ตาย (%)
1	0	0
2	1	0
3	20	20
4	40	36
5	50	40
6	75	80
7	90	100

ตารางที่ 2 สมรรถนะเอ็นไซม์โซลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและเส้นประสาทกุ้งกุลาดำที่สัมผัสเมททิล-พารา ไธออน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (มคก./ลิตร)	สมรรถนะของเอนไซม์โซลีนเอสเทอเรส (μM substrate hydrolysed/min/g of tissue)	
	ในกล้ามเนื้อ	ในเส้นประสาท
ควบคุม	3.18 ± 0.67	983.39 ± 178.12
1	2.95 ± 0.55	884.96 ± 154.96*
20	2.55 ± 0.621*	762.64 ± 206.96*
40	1.64 ± 0.74*	436.64 ± 256.45**
50	1.36 ± 0.58**	315.28 ± 184.00**
75	1.07 ± 0.34**	126.72 ± 65.92**
90	0.07 ± 0.19**	101.20 ± 61.28**

* $P<0.05$, $P< 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นของเมททิลพาราไธออนที่มีผลต่ออัตราการตายของปลากะพงขาว

กลุ่มที่	ความเข้มข้น เมททิลพาราไธออน (มก./ลิตร)	จำนวนปลาที่ตาย (%)
1	0	0
2	0.5 0	0
3	0.75	20
4	1.00	32
5	1.50	52
6	2.00	74
7	2.25	90
8	2.50	100

ตารางที่ 4 สมรรถนะเอ็นไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและสมองปลากะพงขาวที่สัมผัสเมททิล-พารา ไธออน ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (มก./ลิตร)	สมรรถนะของเอ็นไซม์โมลีนเอสเทอเรส (μM substrate hydrolysed/min/g of tissue)	
	ในกล้ามเนื้อ	ในสมอง
0	26.94 $\pm$ 0.27	81.18 $\pm$ 0.36
0.50	15.17 $\pm$ 0.24*	39.40 $\pm$ 0.54*
0.75	10.47 $\pm$ 0.37*	31.28 $\pm$ 1.18**
1.00	6.16 $\pm$ 0.33**	25.39 $\pm$ 1.10**
1.50	4.01 $\pm$ 0.38**	11.68 $\pm$ 0.66**
2.00	1.93 $\pm$ 0.30**	7.23 $\pm$ 0.39**
2.25	1.31 $\pm$ 0.24**	5.18 $\pm$ 0.30**
2.50	0.64 $\pm$ 0.08**	3.38 $\pm$ 0.20**

* $P<0.05$; ** $P< 0.01$ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 5 ความเข้มข้นของคาร์บาริลที่มีผลต่ออัตราการตายของปลากะพงขาว

กลุ่มที่	ความเข้มข้น คาร์บาริล (มก./ลิตร)	จำนวนปลาที่ตาย (%)
1	0	0
2	2.0	18
3	2.5	38
4	3.0	56
5	3.5	76
6	4.0	90
7	4.5	100
8	5.0	100

ตารางที่ 6 สมรรถนะเอ็นไซม์โมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อและสมองปลากะพงขาวที่สัมผัสคาร์บาริล ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความเข้มข้น (มก./ลิตร)	สมรรถนะของเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรส (μM substrate hydrolysed/min/g of tissue)	
	ในกล้ามเนื้อ	ในสมอง
0	17.33 ± 0.73	103.29 ± 1.298
2.0	14.97 ± 0.60*	88.55 ± 2.07*
2.5	13.34 ± 0.45*	76.24 ± 0.99*
3.0	12.09 ± 0.13*	72.27 ± 1.08*
3.5	10.09 ± 0.093**	57.95 ± 0.63**
4.0	9.08 ± 0.07 **	48.40 ± 2.80**
4.5	6.54 ± 0.05**	35.81 ± 0.53**
5.0	3.94 ± 0.05**	28.84 ± 1.48**

* P< 0.05, ** P< 0.01 เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

ตารางที่ 7 ผลของเมทิลพาราไธออนที่มีต่อเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะโมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อของปลากะพงขาวโดยเฉลี่ยที่ตายในแต่ละช่วง เวลาของการทดลอง ในวงเล็บหมายถึงจำนวนปลาที่ตายในแต่ละช่วงเวลาของการทดลองจากจำนวน 50 ตัว/กลุ่ม

ความเข้มข้น (มก./ลิตร)	ช่วงระยะเวลา (ชั่วโมง)				
	0-6	6-24	24-48	48-72	72-96
ควบคุม	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
0.50	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
0.75	- (0)	83.51 (4)	81.43 (2)	75.29 (2)	67.22 (2)
1.00	- (0)	87.62 (8)	83.22 (5)	78.18 (2)	86.44 (1)
1.50	- (0)	96.96 (10)	95.28 (7)	91.99 (5)	84.96 (4)
2.00	98.52 (10)	97.64 (11)	97.54 (8)	92.48 (4)	93.25 (4)
2.25	98.68 (15)	98.02 (13)	95.80 (7)	93.69 (6)	94.18 (4)
2.50	98.64 (20)	97.83 (16)	96.15 (10)	94.41 (4)	- (0)

ตารางที่ 8 ผลของคาร์บาริลที่มีต่อเปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะโมลีนเอสเทอเรสในกล้ามเนื้อของปลากะพงขาวโดยเฉลี่ยที่ตายในแต่ละช่วง เวลาของการทดลอง ในวงเล็บหมายถึงจำนวนปลาที่ตายในแต่ละช่วงเวลาระหว่างการทดลองจากจำนวน 50 ตัว/กลุ่ม

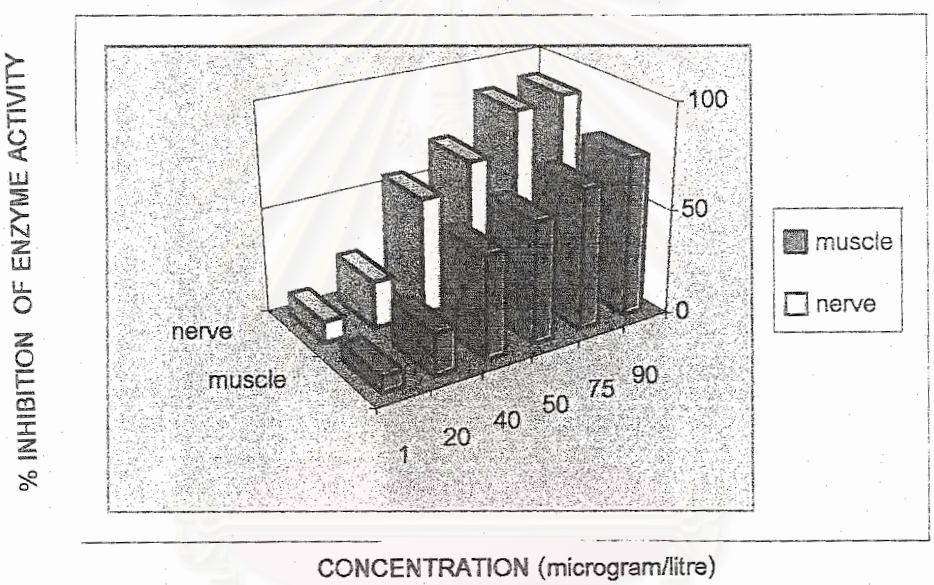
ความเข้มข้น มก./ลิตร	ระยะช่วงเวลา (ชั่วโมง)				
	0-6	6-24	24-48	48-72	72-96
ควบคุม	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)	- (0)
2.0	- (0)	- (0)	- (0)	50.43 (1)	17.20 (8)
2.5	- (0)	- (0)	- (0)	38.43 (3)	27.06 (16)
3.0	- (0)	- (0)	42.64 (5)	38.20 (12)	30.81 (11)
3.5	- (0)	48.30 (7)	45.70 (17)	40.42 (6)	41.71 (8)
4.0	- (0)	63.65 (4)	59.72 (19)	55.91 (13)	53.57 (9)
4.5	- (0)	66.65 (8)	67.92 (19)	60.74 (16)	56.38 (7)
5.0	- (0)	80.32 (12)	77.84 (21)	74.50 (17)	- (0)

ตารางที่ 9 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างและปริมาณออกซิเจนในน้ำ

ความเข้มข้นของเมททิล-พาราไรออน มก./ลิตร	ค่าที่วัดได้ในแต่ละเวลา														
	0			1-24			24-48			48-72			72-96		
	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O
control	27	6	7.3	27	6.5	7.1	27	6	7.1	27	6.5	7	27	6.5	7.2
0.5	27	6.5	7	27	6	7	27	6.5	7.1	27	6.5	7.3	27	6	7
0.75	27	7	7.3	27	6	7.3	27	7	7.4	27	6	7.2	27	6.5	7.1
1	27	6.5	7.2	27	6.5	7.2	27	6.5	7	27	6.5	7	27	6	7.2
1.25	27	6	7.3	27	6	7.6	27	6.5	7.2	27	7	7.1	27	6.5	7
1.5	27	6.5	7.1	27	6.5	7.5	27	6.5	7.3	27	6.5	7.2	27	6.5	7
1.75	27	6.5	7.6	27	6.5	7	27	6.5	7	27	6.5	7.2	27	6	7
2	27	6	7.2	27	6.5	7.3	27	6.5	7	27	6	7.3	27	6.5	7
2.25	27	6.5	7	27	6.5	7.2	27	6.5	7	27	6.5	7	27	6.5	7
2.5	27	6.5	7	27	6	7	27	6.5	7.3	27	6.5	7	27	6	7.3

ตารางที่ 10 แสดงลักษณะการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ความเป็นกรดด่างและปริมาณออกซิเจนในน้ำ

ความเข้มข้นของคาร์บา-ริล มก./ลิตร	ค่าที่วัดได้ในแต่ละเวลา (ชม.)														
	0			1-24			24-48			48-72			72-96		
	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O	T (°C)	pH	O
control	27	7	7	27	6.5	7.1	27	6.5	7.2	27	6.5	7.3	27	6.5	7.1
2	27	7	7	27	6	7.2	27	6	7.1	27	6	7.1	27	6	7
2.5	27	6	7.4	27	7	7	27	6	7	27	6	7.2	27	6	7
3	27	6.5	7	27	7.4	7	27	7	7	27	7	7	27	7	7.2
3.5	27	6	7.1	27	7.4	7.1	27	6.5	7	27	6.5	7.1	27	6	7.2
4	27	6.8	7	27	7.1	7.1	27	6.5	7.2	27	6	7.1	27	6	7
4.5	27	7.2	7	27	7.1	7.1	27	6	7.2	27	6	7.2	27	6	7
5	27	7	7	27	7.2	7.1	27	6	7	27	6	7.4	27	6.5	7.1

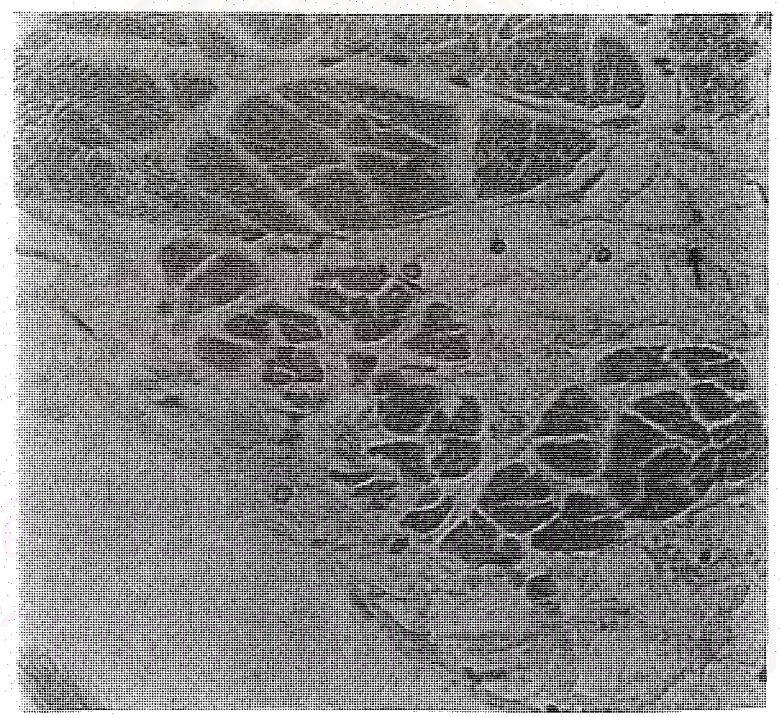


รูปที่ 1 เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โฆลีนเอสเทอเรสในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสเมทิลพาราไธออน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)

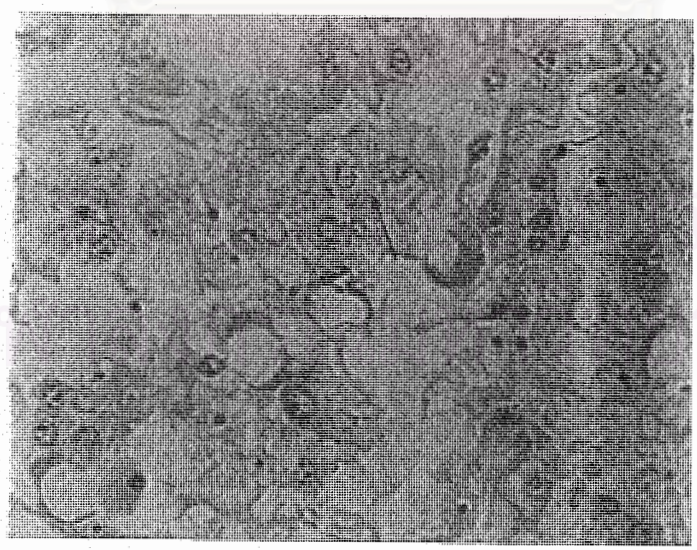
(ข)



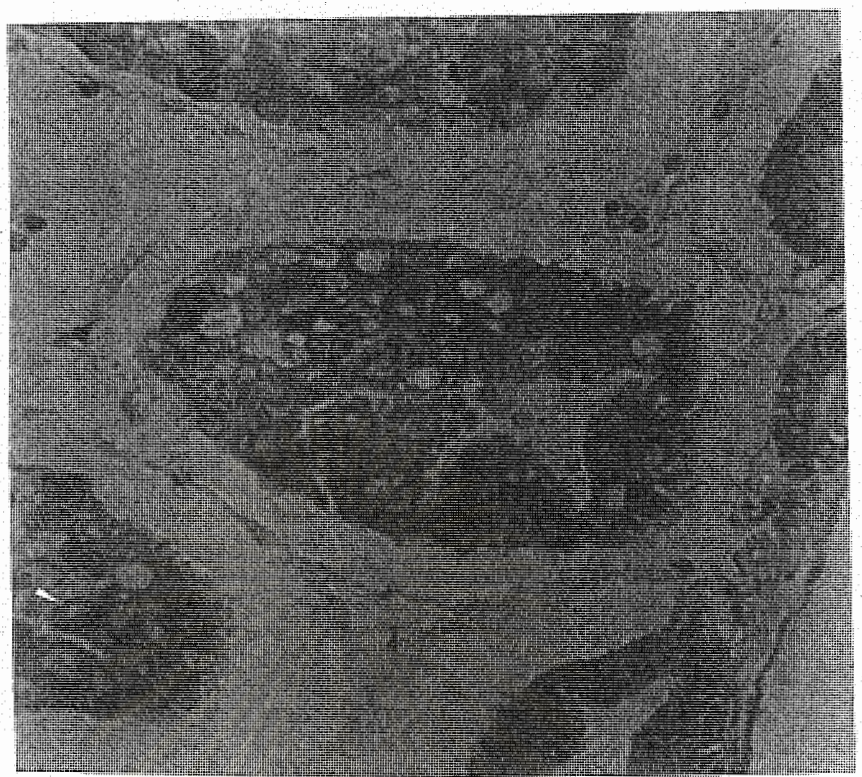
รูปที่ 2 เซลล์กล้ามเนื้อปกติของกุ้งกุลาดำในกลุ่มควบคุม (ก) และเซลล์กล้ามเนื้อเมื่อกุ้งสัมผัสกับเมททิลพารา ไธออน 1 มค.ก/ลิตร นาน 96 ชั่วโมง (ข) (Davidson's fixative; H&E; 10 x 45)

(ก)

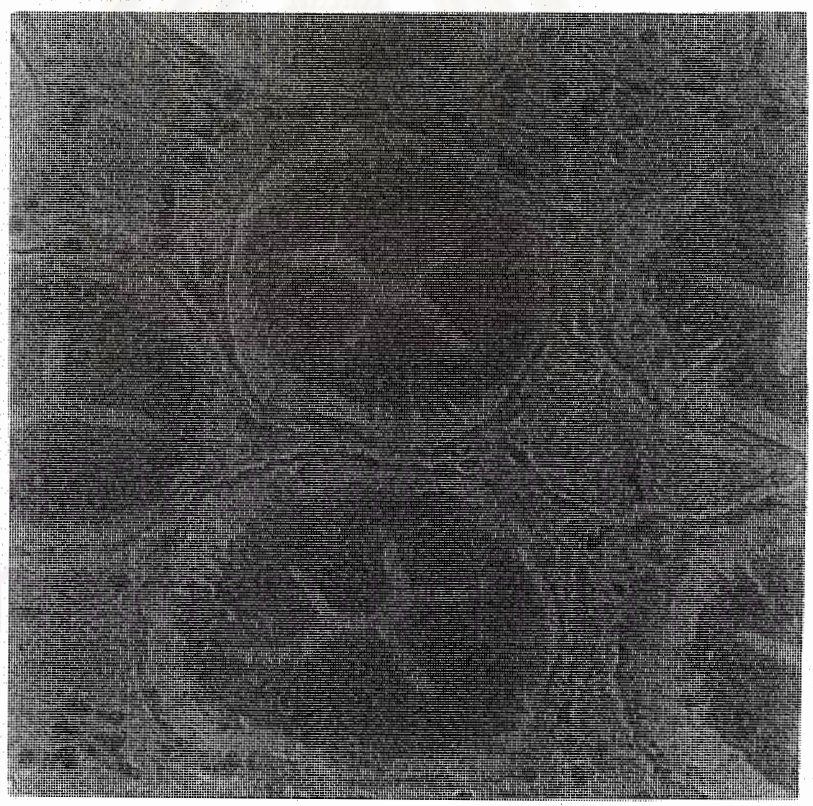
(ข)



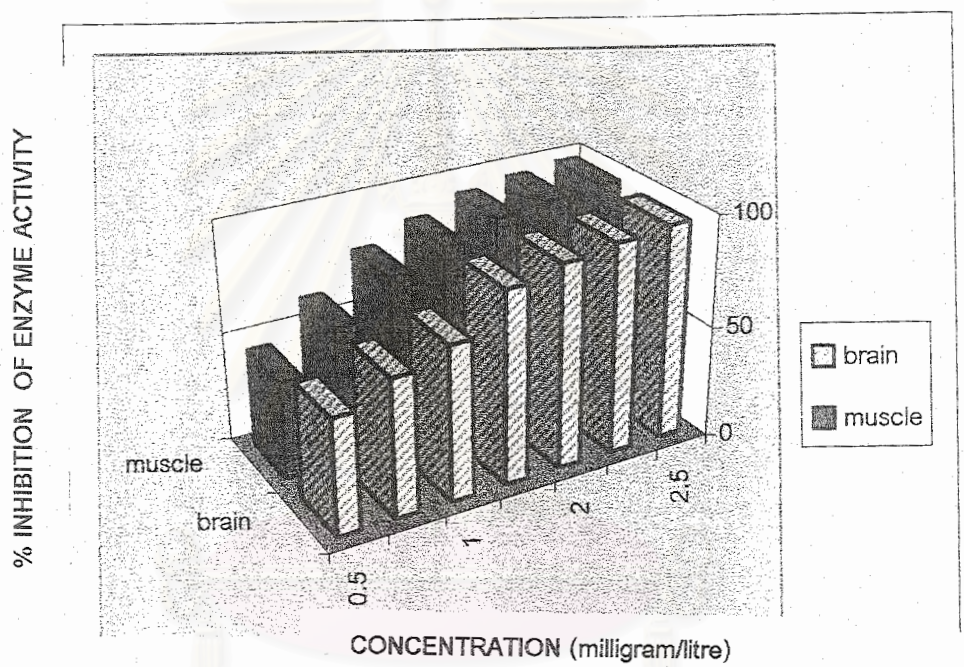
รูปที่ 3 สภาพเซลล์ตับและตับอ่อนปกติในกุ้งกุลาดำกลุ่มควบคุม (ก) และกลุ่มที่สัมผัสกับเมททิลพาราไธออน 1 มค.ก/ลิตร นาน 96 ชั่วโมง (ข) (Davidson's fixative; H&E; 10 x 45)



รูปที่ 4 สภาพเซลล์ตับและตับอ่อนของกุ้งกุลาดำที่สัมผัสเมททิลพาราไธออน 40 มค.ก /ลิตรนาน 96 ชั่วโมง



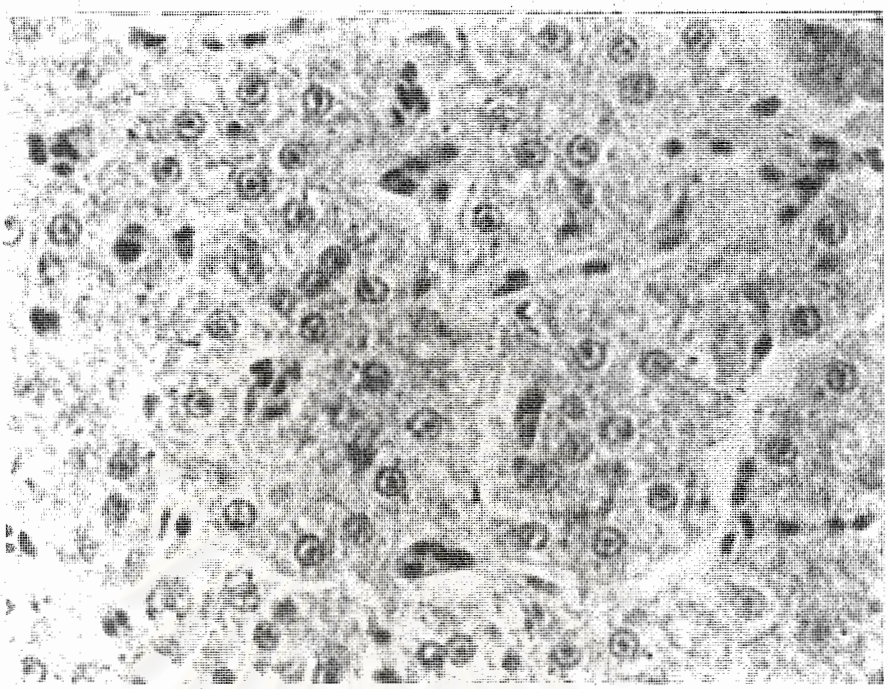
รูปที่ 5 แสดง hyperemia ในตับและตับอ่อนในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสเมททิลพาราไธออน 90 มค.ก/ลิตร (Davidson's fixative; H&E; 10 x 45)



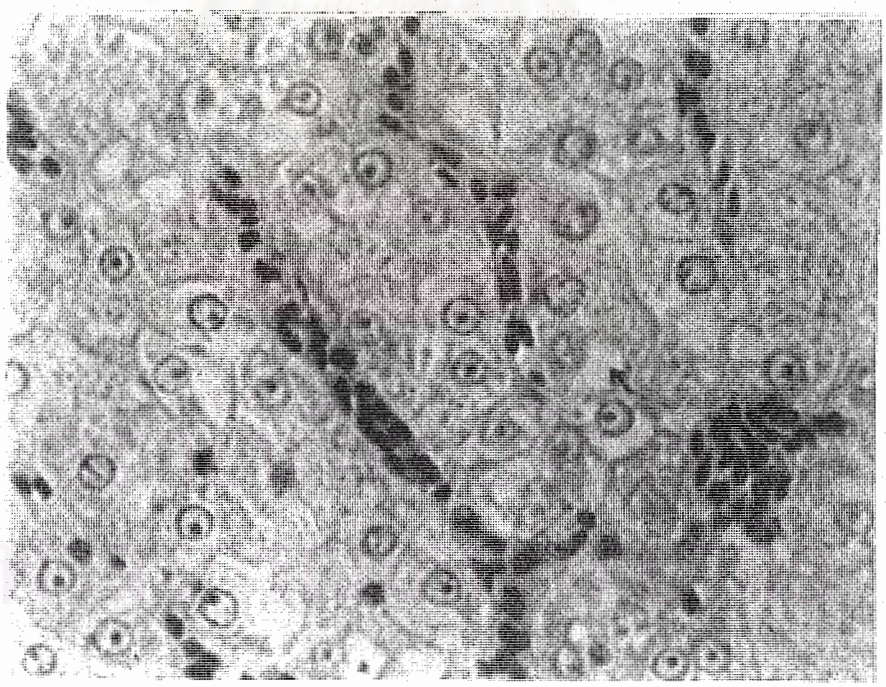
รูปที่ 6 เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โมลีนเอสเทอเรสในปลากะพงขาวที่สัมผัสเมทธิลพาราไธออน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)

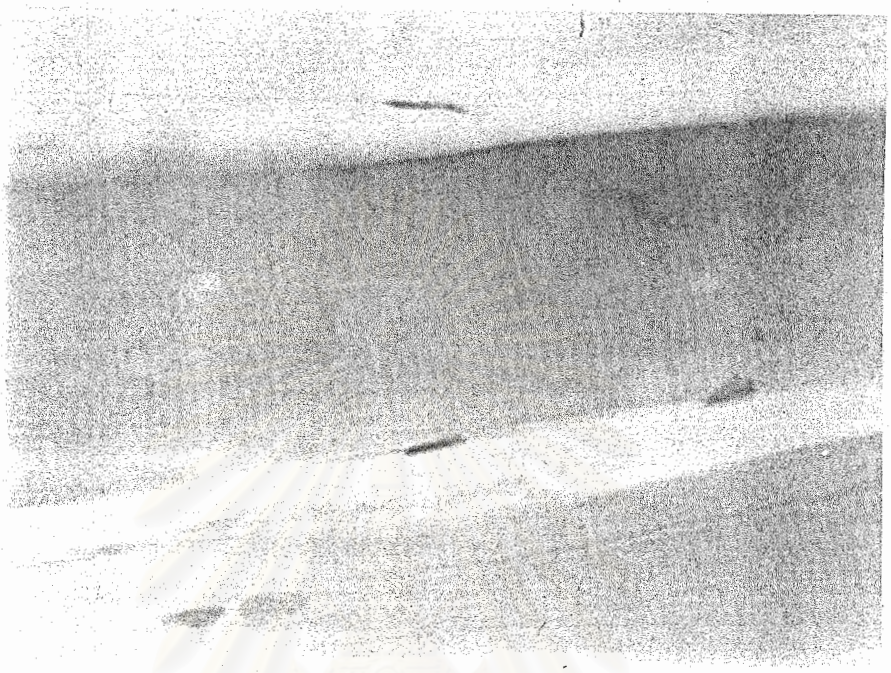


(ข)

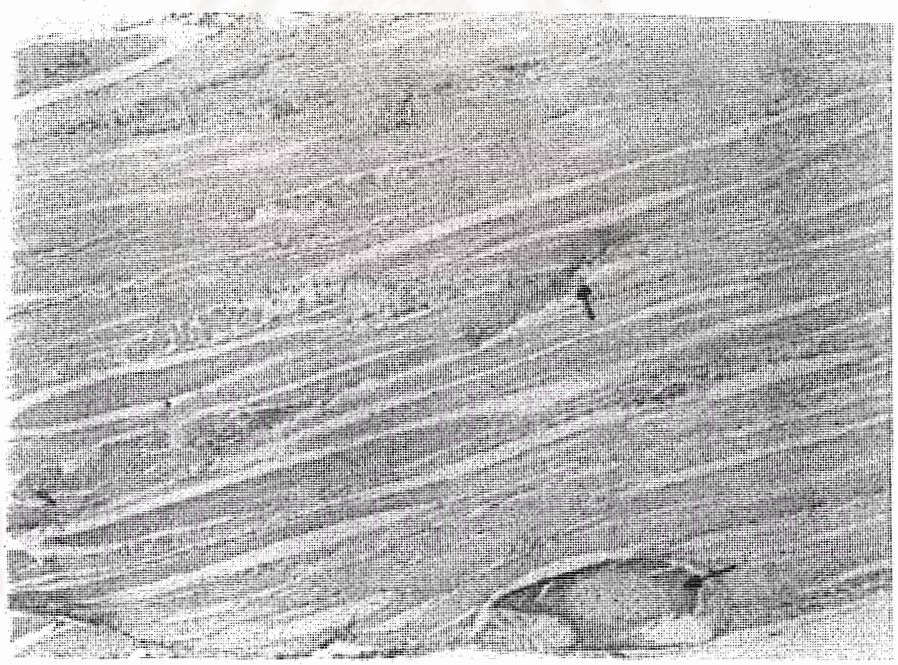


รูปที่ 7 เซลล์ตับปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และเซลล์ตับของปลาที่สัมผัสเมททิลพาราไธออน 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)

(ก)

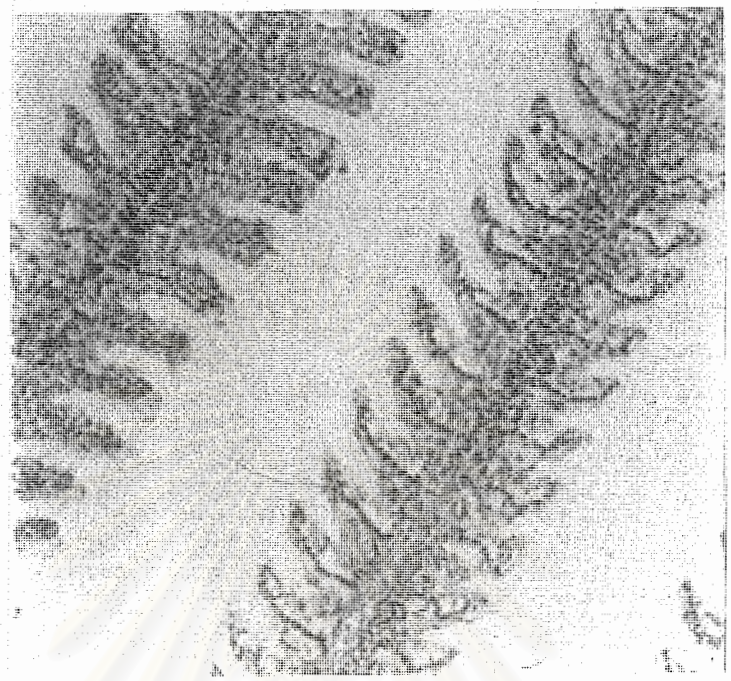


(ข)

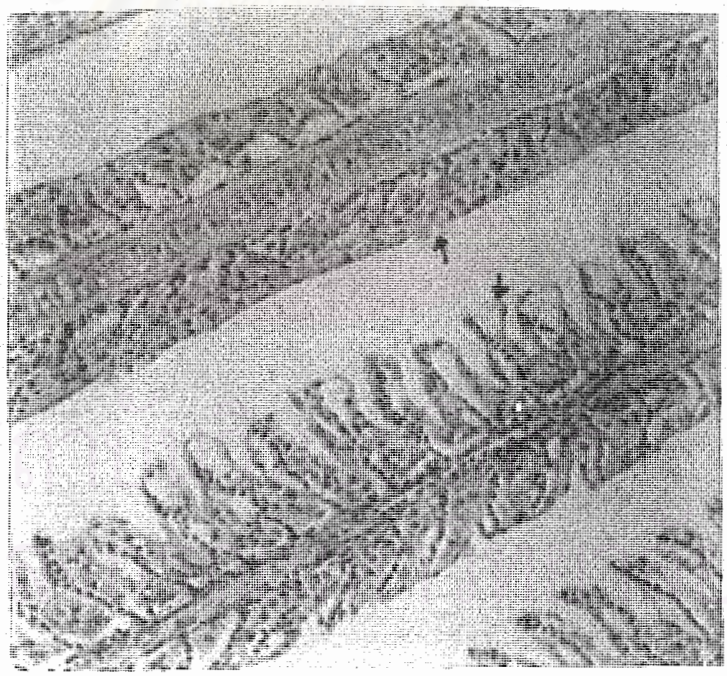


รูปที่ 8 เซลล์กล้ามเนื้อปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และกลุ่มที่สัมผัสเมททิลพาราไธออน 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)

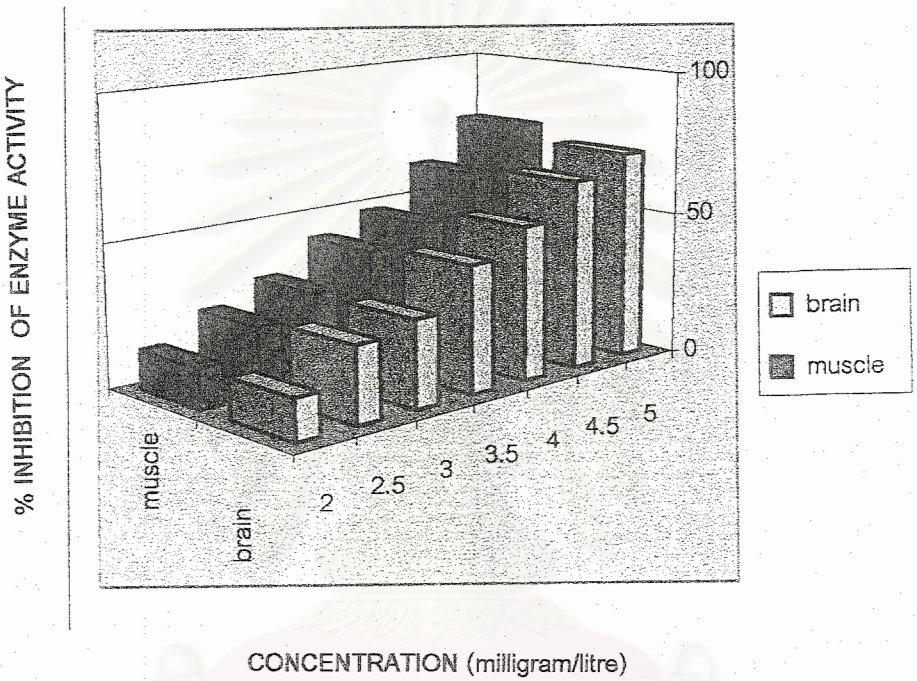
(ก)



(ข)



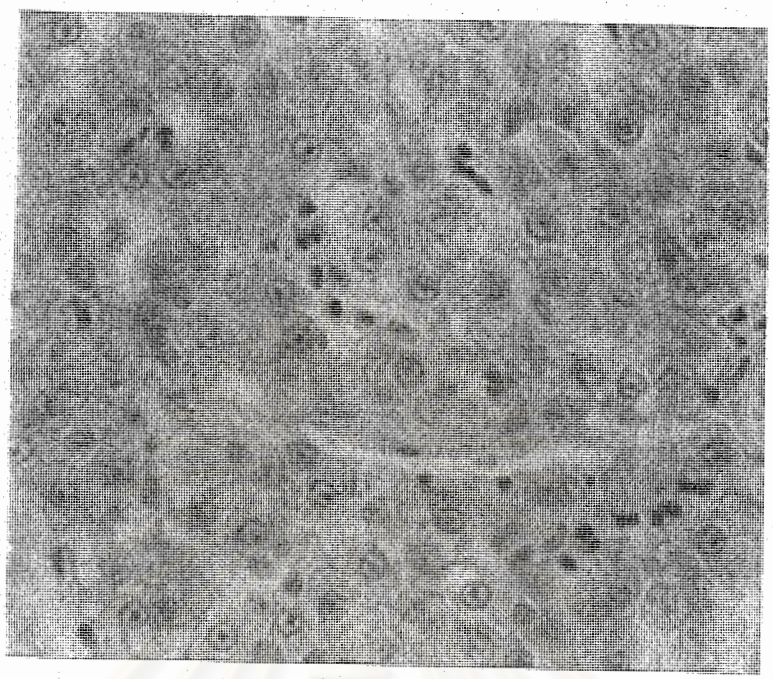
รูปที่ 9 เซลล์ซี่เหงือกปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และเซลล์ซี่เหงือกของปลาที่สัมผัสเมททิล พาราไธออน 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)



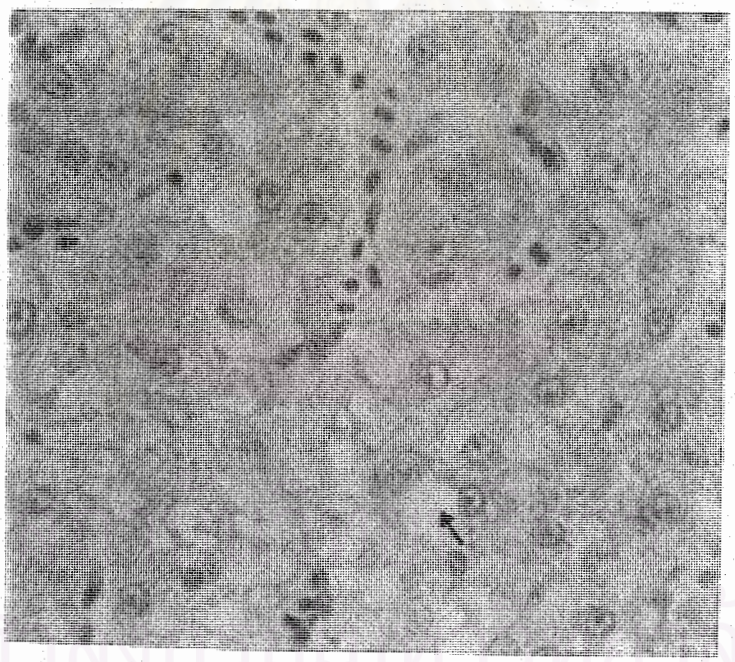
รูปที่ 10 เปอร์เซนต์การยับยั้งสมรรถนะเอนไซม์โซลีนเอสเทอเรสในปลากะพงขาวที่สัมผัสคาร์บาริล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(ก)



(ข)



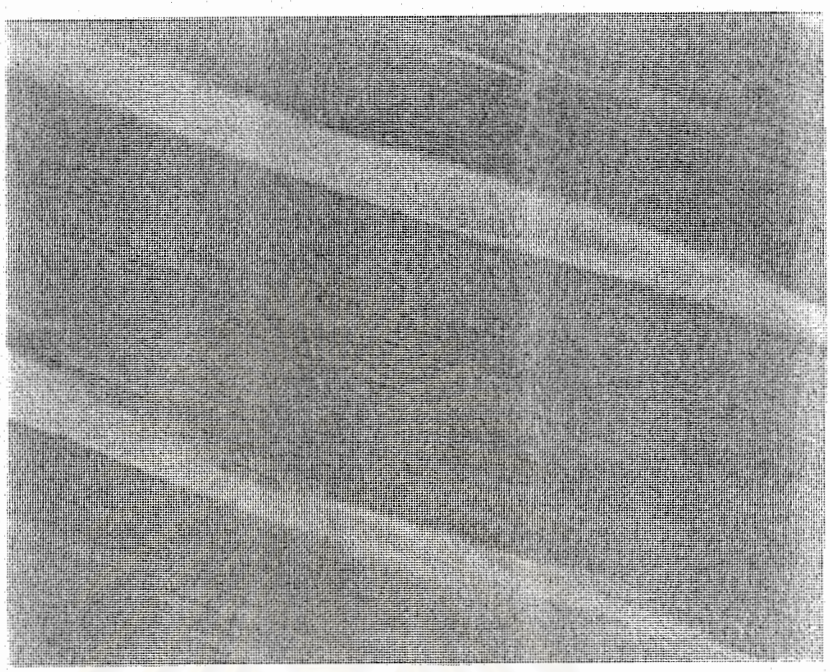
รูปที่ 11 เซลล์ตับปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และเซลล์ตับของปลาที่สัมผัสคาร์บาริล 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)

(ก)

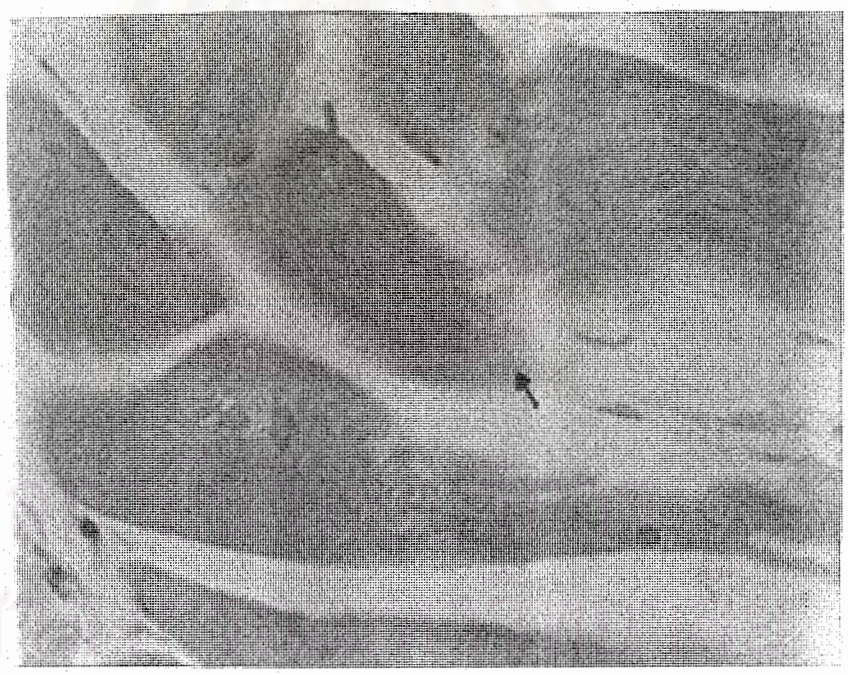
(ข)

รูปที่ 12 เซลล์ซี่เหงือกปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และเซลล์ซี่เหงือกของปลาที่สัมผัสคาร์บาริล 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)

(ก)



(ข)



รูปที่ 13 เซลล์กล้ามเนื้อปกติของปลากะพงขาวในกลุ่มควบคุม (ก) และกลุ่มที่สัมผัสคาร์บาริล 2 มก./ลิตร นาน 48 ชั่วโมง (ข) (Formalin's fixative;H&E; 10x40)