บทที่ 5

วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของเมทิลพาราไธออนต่อปลากะพงขาว

ค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ของเมทิลพาราไธออนชนิด 98% (lab grade) ต่อปลากะพงขาวมีค่า 0.85 mg/l และชนิด 92.4%(technical grade) มีค่า 1.83 mg/l ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการทดลองของภัทรา หาญจริยากูล(2535) ที่ทดลองด้วยเมทิลพาราไธออนชนิด 50% กับปลากะพงขาวเช่นเดียวกัน และพบว่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 1.48 mg/l การเปรียบเทียบผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า เมทิลพาราไธออนชนิด laboratory grade มีความเป็นพิษต่อปลากะพงขาวมากกว่าเมทิลพาราไธออนชนิด technical grade เนื่องจากมีค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงต่ำกว่า จากการที่ LC_{50} มีค่าต่ำแสดงว่าเมทิลพาราไธออนมีความเป็นพิษต่อปลาอย่างมาก การได้รับสารดังกล่าวในปริมาณน้อยก็ทำให้ปลาเกิดอาการผิดปกติและตายได้ แต่อย่างไรก็ดีความเป็นพิษของเมทิลพาราไธออนขึ้นกับชนิดของปลาด้วย โดยพบว่าปลากะพงขาวที่ทดลองในครั้งนี้มีความไวต่อสารชนิดนี้มากเมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงที่ต่ำกว่าค่าที่ได้รายงานไว้ในปลาชนิดอื่นๆ เช่น LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงของเมทิลพาราไธออนต่อปลาจีดเท่ากับ 7.5 mg/l (Srivastava ,1987) มากกว่าปลาทองที่เท่ากับ 6.9 mg/l (EPA,1994) และมากกว่าปลา trout (2.75mg/l) (Pigmental, 1971) นอกจากชนิดของปลาแล้ว เมทิลพาราไธออนยังมีความเป็นพิษรุนแรงแตกต่างไปตามชนิดของสัตว์น้ำและระยะเวลาที่ทดสอบ การทดลองในหอย *Thiara lineata* พบว่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 8 mg/l และที่ 24 ชั่วโมงเท่ากับ 14 mg/l (Ray et al, 1988) ส่วนในกุ้ง *Metapenaeus monoceros* มี LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 1.2 mg/l

(Reddy et al., 1989) *Penaeus indicus* มี LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงเท่ากับ 0.95 mg/l (Finney, 1964) ส่วนในกุ้งกุลาดำวัยรุ่น (*Penaeus monodon*) เท่ากับ 0.003 mg/l (Bodhipaksha, 1994)

การทดลองในครั้งนี้พบว่าเมทิลพาราไธออนในรูปเกล็ดที่มีความบริสุทธิ์ 98% มีความเป็นพิษมากกว่าชนิดที่อยู่ในรูปสารละลายที่มีความเข้มข้น 92.4% ปัจจัยอื่นที่สำคัญและอาจมีผลต่อ LC_{50} ในการศึกษาครั้งนี้ด้วย คือ ความหนาแน่นของปลาในการทดสอบ โดยการทดสอบเมทิลพาราไธออนชนิด laboratory grade ใช้ความหนาแน่นเท่ากับ 10 ตัวต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งหนาแน่นมากกว่าการทดสอบเมทิลพาราไธออนชนิด technical grade ที่ใช้ปลากะพงขาว10 ตัวต่อน้ำ 25 ลิตร การทดลองกลุ่มที่ใช้ความหนาแน่นมากกว่าปลาอาจจะมีความเครียดสูงกว่าจึงทำให้มีความไวต่อการสัมผัสสารพิษมากกว่า อย่างไรก็ดี การทดลองวัด LC_{50} ของเมทิลพาราไธออนทั้ง 2 ชนิดในครั้งนี้ได้พยาพยามควบคุมปัจจัยต่างๆ ให้ใกล้เคียงกัน คือ ระดับความเข้มข้นที่ใช้ทดลองเท่ากัน ปลากะพงขาวที่ได้เป็นปลาจากแหล่งเดียวกัน ขนาด และอายุใกล้เคียงกัน น้ำที่ใช้เลี้ยงเป็นน้ำที่ได้จากที่เดียวกัน อาหารและการจัดการดูแลปลาในแต่ละวันเหมือนกัน แม้ว่าปลากะพงขาวที่ใช้ในการทดลองนี้จะได้จากแหล่งเดียวกัน แต่ก็เป็นปลาที่เลี้ยงคนละชุดกัน อาจมีผลต่อสุขภาพและความสมบูรณ์แข็งแรงของปลา ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้จึงเป็นผลทดสอบในเบื้องต้น ซึ่งการเปรียบเทียบความเป็นพิษของสารทั้งสองจำเป็นต้องทำการทดสอบโดยใช้ปลากลุ่มเดียวกัน ที่ความหนาแน่นเท่ากัน สภาพการทดลองที่เหมือนกัน และทำการทดลองในช่วงเวลาเดียวกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาพิษของเมทิลพาราไธออนต่อกระบวนการ chemotaxis และ phagocytosis

การศึกษาผลกระทบของเมทิลพาราไธออนต่อภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะชนิดเซลล์ของปลากะพงขาว พบว่าเมทิลพาราไธออนมีผลทำให้ %chemotaxis และ % phagocytosis มีค่าลดลง โดยเซลล์ที่เกิดความผิดปกติในการทดลองนี้ คือ phagocyte ที่แยกได้จากไตส่วนต้น ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Bodhipaksha และ Weeks-Perkins (1994) ที่ทดลองในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) ที่พบว่าอัตราการเกิด chemotaxis และ phagocytosis ของ hemocyte และ fixed phagocyte ลดลง เมื่อกุ้งได้รับสัมผัสเมทิลพาราไธออน การที่ประสิทธิภาพของ phagocyte ในกระบวนการ phagocytosis ในปลาลดลงนั้น น่าจะเกี่ยวข้องกับสาเหตุสำคัญหลายประการ เช่น การขาดสารอาหาร ปริมาณไอออนต่าง ๆ ในกระแสเลือดลดลง ภาวะกดภูมิคุ้มกันรวมถึงการเกิดความเครียดเพิ่มมากขึ้น

การที่ร่างกายขาดสารอาหารที่จำเป็นในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ทำให้เกิดสภาวะกดภูมิคุ้มกัน (immunosuppression) (Bryant, 1992) เนื่องจากปลากะพงขาวกลุ่มควบคุมมีการกินอาหารตามปกติแต่กลุ่มที่ได้รับเมทิลพาราไธออนไม่กินอาหารตลอดการทดลอง จึงมีผลทำให้ไกลโคเจนในตับ กล้ามเนื้อ และปริมาณคาร์โบไฮเดรททั้งหมดลดต่ำลง เกิด catabolism ของกรดอะมิโนต่างๆ มีการลดลงของปริมาณลิปิดและกลีเซอรอลในกระแสเลือด มีความผิดปกติของ carbohydrate, protein และ lipid metabolism ซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์ intermediate metabolite ของ nutrient ที่เป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันจึงทำให้การทำหน้าที่ของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติไป

เมทิลพาราไธออนทำให้ไอออนต่างๆ ในกระแสเลือดมีปริมาณลดลง เกิดภาวะโลหิตจางที่มีจำนวนเม็ดเลือดน้อยลง (Dutta et al., 1992) ภาวะดังกล่าวอาจมีผลโดยตรงต่อการทำงานของ macrophage หรืออาจเป็นเพราะเมทิลพาราไธออนมีผลทำลายเม็ดเลือดจึงทำให้ปริมาณเม็ดเลือดลดลง อวัยวะสร้างเม็ดเลือดเร่งผลิตเซลล์เพิ่มมากขึ้นเพื่อทดแทนเซลล์ที่ตายไปจึงทำให้มีแต่เซลล์ที่ยังเจริญไม่เต็มที่ และทำหน้าที่ไม่สมบูรณ์อยู่ในอวัยวะนั้น

เมื่อแยกมาทำการทดลองจึงทำให้ % chemotaxis และ % phagocytosis ลดลง

เมทิลพาราไธออนมีผลทำให้ปลากะพงขาวเกิดความเครียด เนื่องจากระบบซิมพาเธติกและพาราซิมพาเธติกถูกกระตุ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ และกล้ามเนื้อลายในอวัยวะต่างๆ ผิดปกติ นอกจากนี้ผลกระทบจากการยับยั้งการทำงานของ AChE ต่อระบบประสาทส่วนกลางยังเสริมให้ปลาเกิดความเครียดอย่างมาก จากการเปลี่ยนแปลงทางพฤติกรรม มีการหลั่งสาร glucocorticoids ที่มีผลต่อ monocyte และ macrophage โดยทำให้จำนวน monocyte ในเลือดน้อยลง (monocytopenia) และลดการหลั่งสารบางชนิดจาก macrophage เช่น elastase, collagenase, non-specific neutral proteases, endogenous pyrogen และ prostaglandin ซึ่งสารต่างๆ เหล่านี้มีผลลดการทำหน้าที่ของ macrophage การลดลงอาจเกิดโดยการกระตุ้น corticosteroid receptors บน macrophage โดยตรง หรืออาจเกิดจากผลโดยอ้อมจากการทำหน้าที่ผิดปกติของเซลล์ตับ หรือการกระตุ้นการหลั่ง α-2 macroglobulins (Ellis, 1981) สาร glucocorticoids ยังมีผลยับยั้งการหลั่ง lysosomal enzyme จาก macrophage ที่จะออกมาทำลายสิ่งแปลกปลอม และมีผลทำให้ macrophage ตอบสนองต่อ migration inhibition factor ลดลงด้วย (Ellis, 1981) นอกจากนี้ในสภาวะดังกล่าว ร่างกายปลาอาจสร้าง macrophage inhibiting factor เพิ่มขึ้นจึงทำให้ประสิทธิภาพการทำหน้าที่ของ macrophage ลดลง

อาการของปลากะพงขาวที่ได้รับสัมผัสเมทิลพาราไธออนมีลำดับขั้นของความผิดปกติที่แสดงออกเริ่มจากการไวต่อสิ่งกระตุ้นในช่วงแรก ซึ่งไม่สามารถแยกความแตกต่างได้จากปลาปกติ ต่อมาจะลอยตัวนิ่งไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น เนื่องจากระบบประสาทส่วนกลางถูกทำลาย การลอยตัวนิ่งใกล้ ๆ ผิวน้ำเกิดจากความต้องการออกซิเจนมากขึ้น เนื่องจากบริเวณผิวน้ำเป็นผิวต่อระหว่างอากาศ และน้ำ เป็นบริเวณที่มีออกซิเจนละลายน้ำมากกว่าพื้นตู้ ปลาที่ลอยอยู่บริเวณข้างตู้ในลักษณะหัวตั้งอาจเกิดจากการที่กล้ามเนื้อที่ใช้ควบคุมการเคลื่อนไหวของครีบหางและครีบอกอ่อนกำลังจนไม่สามารถควบคุมการว่ายน้ำและการทรงตัวให้เป็นปกติได้ เช่นเดียวกับปลาที่นอนตะแคงอยู่ที่พื้นตู้ ซึ่งเป็นความผิดปกติ

ที่แสดงออกมากขึ้นกว่าภาวะที่ปลาลอยตัวนิ่ง ๆ ทั้ง 2 กรณี ปลาที่นอนตะแคงอยู่พยายามที่จะเคลื่อนไหวไปมา แต่ไม่สามารถทรงตัวอยู่ในท่าว่ายปกติได้ เนื่องจากการกระตุ้นที่ N-cholinergic receptor ซึ่งมีผลต่อกล้ามเนื้อลายที่ใช้ควบคุมการเคลื่อนที่ของปลา และเมื่อปลาถูกกระตุ้นด้วย ACh ตลอดเวลาจนไม่สามารถทนต่อไปได้อีกก็จะแสดงอาการในขั้นสุดท้ายก่อนตาย โดยเกิดการชักเกร็งของกล้ามเนื้อทั่วร่างกาย และแผ่นปิดเหงือกกางอ้าจนสุด โดยที่ระดับความเข้มข้นสูงจะมีปลาตายมากกว่าความเข้มข้นต่ำ และไม่มีปลาตายเลยในกลุ่มควบคุม ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Heath et al. (1993) ในปลา striped bass วัยอ่อน ที่ได้รับเมทิลพาราไธออนเข้มข้นครึ่งหนึ่งของ LC_{50} จะสังเกตอาการผิดปกติได้ชัดเจนในระยะเวลา 24 ชั่วโมงหลังการทดสอบ โดยปลาจะลอยตัวนิ่งๆ แต่จะว่ายน้ำรวดเร็วเมื่อมีสิ่งรบกวน และที่เวลา 96 ชั่วโมงจะมีประสิทธิภาพการว่ายน้ำลดลง การที่ปลาลอยตัวนิ่งไม่เคลื่อนไหว ยังเกี่ยวข้องกับการใช้พลังงานของกล้ามเนื้ออย่างไม่สมดุลย์ รวมถึงความผิดปกติของระบบหายใจ และระบบไหลเวียนโลหิต

ในส่วนของคุณภาพน้ำระหว่างการทดลองนี้ เมื่อวัดปริมาณ ออกซิเจน pH และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในแต่ละการทดลองไม่พบความแตกต่างนั้น เป็นข้อยืนยันว่าผลที่เกิดขึ้นกับปลากะพงขาวทั้งหมดน่าจะเกิดเนื่องจากผลโดยตรงของเมทิลพาราไธออน ไม่มีผลจากปัจจัยอื่นที่กล่าวมาทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง อย่างไรก็ดี จากการสังเกตพบว่า น้ำในตู้ปลากลุ่มทดสอบทุกกลุ่มที่เติมเมทิลพาราไธออนมีความขุ่นมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างเด่นชัด ลักษณะดังกล่าวน่าจะเกิดจากการขับเมือกที่ผิวหนังปลาออกมาอย่างมากอันเป็นผลกระทบที่เกิดจากระบบประสาทพาราซิมพาเธติคถูกกระตุ้น และการขับเมือกออกของปลาก็เป็นกลไกต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่พยามปกคลุมร่างกายให้ได้รับสัมผัสสารพิษน้อยลง เป็นปฏิกริยาต่อต้านสิ่งแปลกปลอมขั้นต้นจากระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะที่บริเวณผิวหนังภายนอกของปลา (Kennedy and Stoskopt, 1993)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพ พบว่าเนื้อเยื่อ ตับ และเหงือกแสดงการเปลี่ยนแปลงในกลุ่มที่สัมผัสเมทิลพาราไธออนที่ความเข้มข้นสูง เนื่องจากตับเป็นอวัยวะที่มีหน้าที่ในการกำจัดสารพิษในสัตว์ต่างๆ แต่ในปลาอวัยวะที่ทำหน้าที่หลักในการเก็บกินและทำลายสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย คือ ไตส่วนต้น (Imagawa et al., 1990) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิสภาพที่ตับจึงไม่เด่นชัด นอกจากนี้ การทดลองนี้เป็นการทดลองแบบเฉียบพลัน ระยะเวลาวัดผลเพียง 96 ชั่วโมง ไม่มากพอที่จะเห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน อย่างไรก็ดี ถ้าเปรียบเทียบเนื้อเยื่อดังกล่าวกับกลุ่มควบคุมจะพบว่ามีความแตกต่างที่สังเกตได้ แต่จากการทดลองของภัทรา หาญจริยากูล (2536) พบว่า การให้ปลากะพงขาววัยรุ่นได้สัมผัสกับเมทิลพาราไธออนเข้มข้น 0.5-2.5 mg/l ทำให้เซลล์ตับและกล้ามเนื้อตาย เซลล์เหงือกมีความผิดปกติในลักษณะการรวมกันของซี่เหงือก และทำให้เกิดการลอกหลุด ของเซลล์เยื่อบุผิวเหงือกของปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) (Ramamurthy et al., 1987) นอกจากนี้ การที่เซลล์เมือกที่เหงือกมีขนาดใหญ่ขึ้น น่าจะเกิดจากการหลั่งเมือกมากขึ้นทำให้เซลล์ดังกล่าวเกิดภาวะ hyperactive จึงมีขนาดใหญ่ขึ้น สอดคล้องกับผลการสังเกตคุณภาพน้ำ ที่พบว่าน้ำในตู้ปลากลุ่มที่เติมเมทิลพาราไธออนมีความขุ่นมากกว่ากลุ่มควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย