

ผลของเมทิลพาราไรออนต่อภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์
ของปลากะพงขาว *Lates calcarifer*



นางสาวอรรณฎา พลพรพิสิฐ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2538

ISBN 974-631-528-5

ลิขสิทธิ์บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**EFFECTS OF METHYL PARATHION ON CELLULAR IMMUNITY
OF SEA BASS (*Lates calcarifer*)**



MISS ARANYA PONPORNPIST

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Marine Science

Graduate School

Chulalongkorn University

1995

ISBN 974-631-528-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของเมทิลพาราไรออนต่อภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ของปลากะพงขาว

Lates calcarifer

โดย นางสาวอรัญญา พลพรพิสิฐ

ภาควิชา วิทยาศาสตร์ทางทะเล

อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวรกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สัตวแพทย์หญิง ดร.นันทริกา ชันช้อย



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น
ส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

สนธิ บุญธรรม

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร. สนธิ บุญธรรม)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ดร. มนูดี หังสพฤกษ์ ประธานกรรมการ

(ศาสตราจารย์ ดร.มนูดี หังสพฤกษ์)

สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวรกุล อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรธิตวรกุล)

สัตวแพทย์หญิง ดร. นันทริกา ชันช้อย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.นันทริกา ชันช้อย)

ดร. สุมลยา กาญจนพังคะ กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ สพ.ญ.ดร.สุมลยา กาญจนพังคะ)

ดร. วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิไลลักษณ์ อิ่มอุดม)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

อัญญา พลพรพิสิฐ : ผลของเมทิลพาราไธออนต่อภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ของปลา
กะพงขาว *Lates calcarifer* (EFFECTS OF METHYL PARATHION
ON CELLULAR IMMUNITY OF SEA BASS (*Lates calcarifer*.)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.สมเกียรติ ปิยะธีรวิฑูรกุล อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม:
ผศ.สพ.ญ.ดร.นันทริกา ชันช้อย, 101หน้า ISBN 974-631-528-5

ศึกษาผลของเมทิลพาราไธออนต่อปลากระพงขาว ความยาวเฉลี่ย 10 เซนติเมตร
น้ำหนักเฉลี่ย 150 กรัม โดยหาค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมง ได้เท่ากับ 0.85 mg/l
(laboratory grade) และ 1.84 mg/l (technical grade) การทดสอบผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน
ชนิดเซลล์โดยการวัด percent chemotaxis และ percent phagocytosis ของ phagocyte จากไต
ส่วนต้นของปลากระพงขาวเปรียบเทียบผลระหว่างกลุ่มที่ได้รับสัมผัสเมทิลพาราไธออนที่ความ
เข้มข้น 0.0 (กลุ่มควบคุม) 0.6, 1.2, 1.8 และ 2.4 mg/l พบว่า ปลาในกลุ่มทดสอบที่
ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.6 mg/l ขึ้นไป มีเปอร์เซ็นต์ chemotaxis และเปอร์เซ็นต์ phagocytosis
ลดลง ปลาที่สัมผัสสารแสดงอาการผิดปกติโดยลอยตัวนิ่งไม่ตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น นอน
ตะแคง ก่อนตายแสดงอาการกล้ามเนื้อเกร็ง อ้าปาก และแผ่นปิดเหงือกกางออกจนสุด ผลการ
ศึกษาทางจุลพยาธิวิทยา พบความผิดปกติที่เหงือกโดยเกิดการเรียงตัวผิดปกติของ primary gill
lamellae และการเชื่อมกันของ secondary gill lamellae นอกจากนี้ยังเกิดสภาพ gill
epithelium cell inflammation, mucous cell hypertrophy และ epithelial cell hyperplasia ส่วน
ความผิดปกติในเนื้อเยื่อตับพบการเสื่อมของเซลล์ตับและเกิด vacuolation ใน cytoplasm ของ
เซลล์ตับ

ภาควิชา วิทยาศาสตร์การประมง
สาขาวิชา วิชาวิทยาศาสตร์การประมง
ปีการศึกษา 2539

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม



C525790 : MAJOR MARINE BIOLOGY

KEY WORD: METHYL PARATHION / CELLULAR IMMUNITY / Lates calcarifer

ARANYA PONPORNPIKIT : EFFECTS OF METHYL PARATHION ON
CELLULAR IMMUNITY OF SEA BASS *Lates calcarifer*. THESIS

ADVISOR : ASSIS. PROF. DR. SOMKIAT PIYATHERATHITIVORAKUL.,

THESIS CO-ADVISOR : ASSIS. PROF. DR. NANTARIKA CHANSUE,

101 pp. ISBN 974-631-528-5

Effects of methyl parathion (MPT) on sea bass were carried out on fish approximately the size of 10 cm in length and 150 grams in weight. The median lethal concentration (LC₅₀) at 96 hours of methyl parathion on sea bass was 0.85 mg/l (laboratory grade) and 1.84 mg/l (technical grade). The cellular immune response was measured by investigation of the percentage of chemotaxis and phagocytosis. Phagocytes were isolated from head kidney of the fish using discontinuous gradient centrifugation method. Results were compared among the methyl parathion exposed groups (0.6, 1.2, 1.8, 2.4 mg/l) to those of the non-exposed group. There were a significant reduction in both chemotactic and phagocytic activities in the exposed groups. Clinical signs of the MPT exposed fish showed a dramatic reduction in movement with no response to external stimulation and lateral recumbency with spastic movement at the bottom of the tank prior to death. Operculum were stretched and widely open. Histopathology of gill revealed fusion of the secondary gill lamellae, gill epithelial cell hyperplasia, mucous cell hypertrophy and generalized inflammation through the gill filaments. The necrosed hepatocytes had swollen nuclei with high degree of vacuolation in hepatocyte cytoplasm.

ภาควิชา..... วิทยาศาสตร์ทางทะเล.....

ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา..... ชีววิทยาทางทะเล.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา..... 2537.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



กิตติกรรมประกาศ

การทดลองครั้งนี้สำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีด้วยความอนุเคราะห์อย่างยิ่ง ในด้าน
สัตว์ทดลอง อุปกรณ์ต่างๆ และสถานที่ดำเนินการทดลองจากผู้อำนวยการศูนย์วิจัยโรคจิตเวช
รศ.น.สพ.ดร. จิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรจิตวิกรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษาแนะนำตลอดจนช่วยเหลือในด้านการวิเคราะห์ผล
ทางสถิติ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในการเขียนทุกขั้นตอน ผศ.สพ.ญ.ดร. นันทริกา ชันช้อย
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมที่ให้ความรู้ในการศึกษาระบบภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ ขอกราบ
ขอบพระคุณ ศ.ดร. มนุช หังสพฤกษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. วิไลลักษณ์
อิมอุตม และรศ.สพ.ญ.ดร. สุมลยา กาญจนพังคะ ที่เสียสละเวลาอันมีค่าร่วมเป็นคณะกรรมการ
สอบวิทยานิพนธ์ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ ผศ.น.สพ.ดร. คณิศศักดิ์ อรวีระกุล อ.สพ.ญ.ดร. มีนา สาริกะภูติและ
สพ.ญ.ดร. เจนนุช ว่องวัชชัย ที่ให้ความรู้เพิ่มเติมในเรื่องระบบภูมิคุ้มกัน น.สพ. เสริมพันธ์
สุนทรชาติ ที่สนับสนุนข้อมูลบางส่วนและช่วยวิเคราะห์ค่า LC_{50} คุณศิริรัตน์ พูลเอม ช่วย
พิมพ์ต้นฉบับ คุณวีณา เคยพุดชา และ คุณสุวรรณ ภาคีพันธ์ ตลอดจนบุคลากรใน
ศูนย์วิจัยโรคจิตเวชที่ให้ความร่วมมือในการศึกษาครั้งนี้เป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยที่อนุเคราะห์ทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์

อรัญญา พลพรพิสิฐ



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฐ
สารบัญภาพ.....	ณ

บทที่

1. บทนำ.....	1
2. การสำรวจเอกสาร.....	5
เมทิลพาราไรออน.....	5
ปลากะพงขาว.....	20
ระบบภูมิคุ้มกัน.....	24
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ.....	33
การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (LC50ที่ 96 ชั่วโมง).....	33
ผลของเมทิลพาราไรออนต่อ phagocytic activity และ chemotactic activity.....	35
การศึกษาจุลพยาธิสภาพของตับและเหงือก.....	41
4. ผลการทดลอง.....	43

บทที่	หน้า
5. วิจารณ์และอภิปรายผลการทดลอง.....	54
6. สรุปการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	60
รายการอ้างอิง	63
ภาคผนวก.....	74
ประวัติผู้เขียน.....	95



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณเมทิลพาราไรออน(MPT)ที่ตรวจพบจากตัวอย่างน้ำในแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย.....	3
2 ความสัมพันธ์ของค่าครึ่งชีวิตกับอุณหภูมิของสารกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟต ในน้ำ ที่ pH 7.4.....	11
3 ผลกระทบของ pH ต่อการสลายตัวของมาลาไรออนในแหล่งน้ำ.....	11
4 ค่าครึ่งชีวิตของเมทิลพาราไรออนในน้ำ.....	12
5 ค่า LC ₅₀ ของสารในกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟตต่อสัตว์น้ำชนิดต่าง ๆ.....	16
6 อัตราส่วน Percoll, HBSS และน้ำกลั่นที่ความถ่วงจำเพาะต่าง ๆ.....	38
7 อัตราตายสะสมของปลากระพงขาวเมื่อได้รับเมทิลพาราไรออนในระยะ เวลา 96 ชั่วโมง(laboratory grade).....	44
8 อัตราตายสะสมของปลากระพงขาวเมื่อได้รับเมทิลพาราไรออนในระยะ เวลา 96 ชั่วโมง(technical grade).....	44
9 %chemotaxis และ %phagocytosis ของ phagocyte ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ของเมทิลพาราไรออน.....	47
10 ผลการวัด DO, pH และอุณหภูมิของน้ำในตู้ทดลอง ในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4 (ชุดที่ 1).....	48
11 จำนวนปลาตายสะสมที่ 4 วัน ของการทดลองชุดที่ 1.....	48
12 ผลการวัด DO, pH และอุณหภูมิของน้ำในตู้ทดลอง ในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4 (ชุดที่ 2).....	49
13 จำนวนปลาตายสะสมที่ 4 วันของการทดลองชุดที่ 2.....	49

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	การยับยั้ง AChE โดยสารกลุ่มอินทรีย์ฟอสเฟต.....	8
2	ขบวนการเมตาบอลิซึมของเมทิลพาราไรออนในร่างกาย.....	9
3	การเคลื่อนที่ของ monocyte ในกระแสเลือดออกมาอยู่ในเนื้อเยื่อ.....	27
4	ตำแหน่งของไตส่วนต้นและอวัยวะภายในของปลากะพงขาว.....	28
5	ส่วนประกอบของ Boyden's double chamber.....	36
6	band ของเซลล์ที่แยกได้จากเนื้อเยื่อไตส่วนต้น.....	45
7	จุลพยาธิสภาพของเซลล์ตับปลากะพงขาวที่ความเข้มข้นของ เมทิลพาราไรออนต่าง ๆ กัน.....	51
8	จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกปลากะพงขาวที่ความเข้มข้นของ เมทิลพาราไรออนต่าง ๆ กัน.....	52
9	จุลพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อเหงือกปลากะพงขาวที่ความเข้มข้นของ เมทิลพาราไรออนต่าง ๆ กัน x 400.....	53

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย