

บทที่ 5

สรุปและอภิปรายผล

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเพื่อเปรียบเทียบผลของการยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรส โดยสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล ที่มีเพศ ขนาด อุณหภูมิ และความเข้มข้นที่ต่างกัน ในหอยเชอรี่และระยะเวลาในการยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่โดยสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล และผลของอะซิติล โคลีนเอสเทอเรสหลังจากนำมาแช่ในน้ำสะอาด โดยสารคลอไพริฟอสและไคคลอวอสเป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาริลเป็นสารกลุ่มคาร์บาเมต โดยจะใช้เวลาสัมผัสสารทั้งหมด 96 ชั่วโมง ซึ่งทำการทดลองภายในห้องปฏิบัติการในโครงการบัณฑิตศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ และหอยเชอรี่ที่ใช้ในการทดลองเป็นหอยเชอรี่ที่เก็บจากบ่อน้ำ บริเวณภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีตะวันออก จ. ชลบุรี ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงความเป็นพิษของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตต่อระดับอะซิติล โคลีนเอสเทอเรสในสัตว์ทดลองและสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการใช้อะซิติล โคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อ บ่งบอกการปนเปื้อนของสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตในสิ่งแวดล้อม

ก่อนการทดลอง ทำการทดสอบเบื้องต้น เพื่อหา ค่าความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ที่จะใช้ในการทดลอง โดยเลือกใช้สารคลอไพริฟอสที่ความเข้มข้น $3.7\ \mu\text{M}$ ไคคลอวอส เข้มข้น $4.5\ \mu\text{M}$ และคาร์บาริล $50\ \mu\text{M}$ ซึ่งความเข้มข้นดังกล่าวเป็นค่าความเข้มข้นที่ไม่ทำให้หอยเชอรี่ตายเมื่อสัมผัสเป็นเวลา 96 ชั่วโมง และคัดเลือกเนื้อเยื่อที่จะใช้ในการทดลอง ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เลือกใช้อวัยวะส่วนเหงือกของหอยเชอรี่ ในทุก ๆ การทดลอง

1. ผลของเพศ ขนาด อุณหภูมิ และความเข้มข้นที่ต่างกันในหอยเชอรี่เมื่อสัมผัสสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล

1.1 ผลของเพศ ของหอยเชอรี่ต่อการยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรส

พบว่า เพศไม่มีผลในการยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรส โดยเมื่อสัมผัสกับสารทั้งสามชนิด คือ คลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรสของหอยเชอรี่เพศผู้และหอยเชอรี่เพศเมีย ที่ได้รับสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

1.2 ผลของขนาดของหอยเชอรี่ต่อการยับยั้งอะซิติล โคลีนเอสเทอเรส

พบว่าขนาดมีผลในการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยพบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสของหอยเชอรี่ขนาดใหญ่และหอยเชอรี่ขนาดเล็ก ที่ได้รับสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ซึ่งชี้ให้เห็นว่า ขนาดของหอยเชอรี่มีผลต่อการศึกษากการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยหอยเชอรี่ขนาดใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าในหอยขนาดเล็ก

1.3 ผลของอุณหภูมิของน้ำ ต่อการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่

พบว่า อุณหภูมิมีผลในการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยเมื่อสัมผัสกับสารทั้งสามชนิด คือ คลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล ที่อุณหภูมิ 27 และ 32 องศาเซลเซียส พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่ ที่อุณหภูมิ 27 และ 32 องศาเซลเซียส ในสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล มีค่าแตกต่างกัน ($p < 0.05$) โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จะสูงกว่าที่ อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

1.4 ความเข้มข้นของคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล ต่อการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่

พบว่า ในสารคลอไพริฟอส ไคคลอวอสและคาร์บาริลที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ จะมีความสัมพันธ์ต่อการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่ โดยเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนก็จะสูงขึ้นด้วย นอกจากนั้นพบว่า ค่าที่ทำให้ระดับอะซิทิลเอสเทอเรส ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ของคลอไพริฟอส (ED_{50}) มีค่า $0.37 \mu M$, ไคคลอวอส มีค่า $0.22 \mu M$, และคาร์บาริลมีค่า $14 \mu M$ แสดงในภาคผนวก ก

2. การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในระยะเวลาต่าง ๆ ที่สัมผัสสาร คลอไพริฟอส ไคคลอวอสและคาร์บาริล และภายหลังจากนำมาแช่ในน้ำสะอาด

โดยนำหอยเชอรี่ที่สัมผัสกับสารต่าง ๆ มาเลี้ยงค่อน้ำสะอาด เป็นเวลา 30 วัน

2.1 การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในระยะเวลาต่าง ๆ ที่สัมผัสสารคลอไพริฟอส $3.7 \mu M$ และภายหลังจากการนำมาแช่ในน้ำสะอาด

พบว่า เมื่อหอยเชอรี่สัมผัสสารคลอไพริฟอสจะทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 นาที และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 96 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย $92.31 \pm 0.25\%$ และภายหลังจากนำไปแช่ในน้ำสะอาด พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ไม่แตกต่างจากเมื่อแช่ในสารคลอไพริฟอส 96 ชั่วโมง โดยการยับยั้งต่ำสุดมีค่าเฉลี่ย $85.57 \pm 2.34\%$

2.2 การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในระยะเวลาต่าง ๆ ที่สัมผัสสารไคคลอวอส $4.5 \mu M$ และภายหลังจากการนำมาแช่ในน้ำสะอาด

พบว่า เมื่อหอยเชอรี่สัมผัสสารไดคลอวอสจะทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 10 นาที และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 96 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 88.74 ± 2.01 % และภายหลังจากนำไปแช่ในน้ำสะอาด พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สยังคงเดิม ไม่แตกต่างจากเมื่อแช่อยู่ในสารคลอไพริฟอส 96 ชั่วโมง โดยพบการยับยั้งเฉลี่ยต่ำสุดที่ 84.83 ± 1.97 %

2.3 การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สในระยะเวลาต่าง ๆ ที่สัมผัสสารคาร์บาริล 50 μ M และภายหลังจากการนำมาแช่ในน้ำสะอาด

พบว่า เมื่อหอยเชอรี่สัมผัสสารคาร์บาริล ทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สค่อย ๆ เพิ่มขึ้นภายในเวลา 6 ชั่วโมง และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึง 96 ชั่วโมง มีค่าเฉลี่ย 87.18 ± 1.84 % และภายหลังจากนำไปแช่ในน้ำสะอาด พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์ส เริ่มลดลงเรื่อย ๆ จนเวลาผ่านไป 72 ชั่วโมง พบว่า เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และที่เวลา 96 ชั่วโมง มีการยับยั้งอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สต่ำสุดมีค่าเฉลี่ย 57.54 ± 4.01 %

หอยเชอรี่ที่สัมผัสกับสารคลอไพริฟอส และไดคลอวอส ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์ส ซึ่งเอนไซม์ ไม่สามารถกลับมาทำงานได้เช่นเดิม ส่วนสารกลุ่มคาร์บาริลนั้น เอนไซม์ยังสามารถกลับมาทำงานได้เพียงเล็กน้อย

อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า อวัยวะที่เหมาะสมในการทดสอบเพื่อหาระดับอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สในครั้งนี้ คือ ส่วนเหงือกของหอยเชอรี่ เนื่องจากเมื่อหอยเชอรี่อยู่ในน้ำอวัยวะที่ใช้ในการหายใจคือ เหงือก ซึ่งจะทำให้เหงือกมีการสัมผัสสารพิษตลอดเวลา และเมื่อทดสอบหาระดับอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์ส พบว่า เหงือก มีระดับอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สสูงสุด เนื่องจากหอยเชอรี่ ไม่มีสมองส่วนกลางเหมือนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ระบบประสาทของหอยเชอรี่กระจายอยู่ทั่วร่างกายโดยเฉพาะส่วนหัว (Ghesquiere, 2005) นอกจากนั้น Peretz and Estes (2004) ได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อและสภาพทางเคมี ของระบบประสาทในเหงือกของหอยทาก *Aplysia* พบว่า ในเหงือกของหอยทาก *Aplysia* เป็นส่วนที่มีปมประสาทใหญ่ที่สุดโดยพบอะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สอยู่ ซึ่งในปมประสาทนี้จะแสดงผลคล้ายกับในระบบเซลล์ประสาทส่วนกลาง Mora and Narbonne (1999) กล่าวว่าในสัตว์แต่ละชนิดนั้นอาจจะมีอวัยวะที่จำเพาะต่ออะซิทิลโคลีน เอสเทอร์สไม่เหมือนกัน แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 11 ระดับการทำงานของโคลีนเอสเทอเรส ในเนื้อเยื่อของสัตว์น้ำบางชนิด

Species	ChE Aactivity (nmol/ mn per mg P)	Tissue (Fraction)
Fish		
<i>Serranus cabrilla</i>		Gills
(Marine Teleost)	281±28	(S 9000 x g)
<i>Oncorhynchus mykiss</i>		Muscle
(Fresh Water Teleost)	261±41	(S 9000 x g)
<i>Perca fluviatilis</i>		Brain
(Fresh Water Teleost)	155±11	(Homogenate)
Crustacea		
<i>Metapenaeus monoceros</i>		Thoracic ganglion
(Marine Decapod)	122±8	(Homogenate)
<i>Paratya australiensis</i>		Whole
(Fresh Water Decapod)	33.7 ± 2.3	(Homogenate)
Mollusc		
<i>Aplysiacalifornica</i>		Hemolymph
(Marine Gastropod)	10	(S 11000 x g)
<i>Mytilus galloprovincialis</i>		Gills
(Marine Bivalve)	25.3 ± 7.7	(S 9000 x g)
<i>Lymnaea acuminata</i>		
Nervous tissue		
(Fresh Watwr Gastropod)	74.04	(S 1000 x g)
<i>Cornicula fluminea</i>		Whole
(Fresh Water Bivalve)	6.4 ± 2.2	(S 9000 x g)

ผลของเพศ ของหอยเชอรี่ต่อการยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

พบว่า เพศไม่มีผลในการยับยั้งอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส Kopecka, Rybakowas, Baršienė and Pempkowiaw (2004) กล่าวว่า เพศของปลาขนาดเล็ก ไม่มีผลต่อระดับอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส เมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ที่มีขนาดใหญ่ดังเช่นการศึกษาของ Yi, Liu, Shi, Liang, and Gao (2006) ที่ ได้ทำการศึกษาผลของเพศต่อระดับอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ในส่วนสมองของปลาทอง

Carassius auratus พบว่า เมื่อปลาทั้งสองเพศสัมผัสกับสารกลุ่มคาร์บาเมท พบว่าปลาเพศเมียมีความอ่อนไหวต่อระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสมากกว่าปลาเพศผู้

นอกจากนั้น การที่จะแยกเพศของหอยเชอรี่ในสิ่งแวดล้อมนั้นเป็นเรื่องที่ค่อนข้างยาก เพราะมองลักษณะเพศค่อนข้างลำบาก และจากผลการทดลองข้างต้น แสดงให้เห็นว่าไม่มี ความจำเป็นต้องแยกชนิดของเพศในการศึกษาการยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในส่วนเหงือกของหอยเชอรี่

ผลของขนาด ของหอยเชอรี่ต่อการยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส

จากงานวิจัยส่วนใหญ่ที่ใช้สัตว์จำพวกหอยในการเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ มักใช้หอยขนาดเดียวกัน จึงไม่พบการศึกษาในเรื่องของขนาดที่มีผลต่อการยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่า หอยเชอรี่ขนาดใหญ่ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงกว่าหอยเชอรี่ขนาดเล็ก และระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในหอยขนาดเล็กสูงกว่าระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในหอยขนาดใหญ่ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ จุฑารัตน์ แสงกุล (2549) ได้ทำการศึกษากการยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในปลาอุกบึกอยู่ พบว่า ปลาขนาดใหญ่มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าในปลาขนาดเล็ก และ Beauvais, Jones, Parris, Brewer, and Coffey (2002) พบว่า ขนาดของปลา Blue Gill ขนาดเล็กมีระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสสูงกว่าปลาขนาดใหญ่ หรืออาจอธิบายได้ว่า ในหอยเชอรี่ขนาดใหญ่มีพื้นที่ผิวมากกว่าหอยเชอรี่ขนาดเล็ก จึงมีโอกาสสัมผัสกับสารมากกว่า

ผลของอุณหภูมิของน้ำ ต่อการยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่

หากเปรียบเทียบอุณหภูมิของน้ำกับการทดลองในสภาวะแวดล้อม อุณหภูมิของน้ำจะสัมพันธ์กับฤดูกาล จากการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส จะสูงขึ้นด้วย (โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะพบว่า ระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสลดลง) ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Pfeifer, Schiedex, and Dippner (2005) ที่ได้ศึกษาในเหงือก ของหอยแมลงภู่ พบว่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ระดับการทำงานของ อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสเพิ่มขึ้น แต่ Demiens, Quiniou and Roméo (2004) ศึกษาในระดับอะซิทีลโคลีนเอสเทอเรสในหอยนางรมวัยอ่อน พบว่า อุณหภูมิ 20,25°C ไม่มีผลต่อการลดลงของ อะซิทีลโคลีนเอสเทอเรส แต่ Mora et al.(1999) ทำการวัดในช่วงอุณหภูมิ 0-60 องศาเซลเซียส พบว่า มีค่าสูงสุดที่ อุณหภูมิ 38 และ 45 องศาเซลเซียส และลดลงอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จากการศึกษาของ Mora et al. (1999) จะเห็นได้ว่า ในช่วง 0 องศาเซลเซียส 60 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับสิ่งมีชีวิตที่จะอาศัยอยู่ได้ โดย ไมตรี ดวงสวัสดิ์ และ จารุวรรณ สมศิริ (2528) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำในเขตร้อน ควรอยู่ระหว่าง 25-32°C อุณหภูมิของแหล่งน้ำในประเทศไทยจะมี

ความดันแปรอยู่ในช่วง 23-35 °C ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิจะค่อย ๆ เป็นไปอย่างช้า ๆ โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์น้ำ (ณรงค์ รุ่งรัตน์ชัชวาลย์, 2542) เช่น ถ้าอุณหภูมิสูงเกินอาจส่งผลให้ปลามีอาการกระวนกระวาย ลอยหัว อ่อนเพลีย จนตายได้ (สุภาพร สุกสีเหลือง, 2538) นอกจากนั้นนอชิบายได้ว่า อุณหภูมิที่สูงขึ้น การดูดซึมสารฆ่าศัตรูพืชมักเกิดได้เร็วกว่า (พาลาสสิงห์เสนีย์, 2540) เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะเป็นการเร่งขบวนการต่าง ๆ ภายในร่างกาย สิ่งมีชีวิตให้เร็วขึ้น (นิตยา เลาหะจินดา, 2528) กระบวนการเมแทบอลิซึมจะเพิ่มขึ้นทำให้มีการดูดซึมสารพิษได้ดียิ่งขึ้น จึงทำให้เกิดการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสได้มากขึ้น นอกจากนั้นการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง ซึ่งอวัยวะส่วนเหงือกของหอยเชอร์รี่นั้น ก็ใช้ในการหายใจของหอยเชอร์รี่โดยตรง ซึ่งปริมาณออกซิเจนที่ลดลงอาจมีผลในการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษาต่อไป

ความเข้มข้นของคลอไพริฟอส ไคคลอวอส และคาร์บาริล ต่อการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอร์รี่

จากการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอะซิทิลโคลีนจะสูงขึ้นด้วย (ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสลดลง) ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ McHenery et al. (1997) ศึกษาผลกระทบของไคคลอวอส ต่อระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ในเหงือกของ Mussel (*Mytilus edulis* L.) พบว่า ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของไคคลอวอส เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส จะลดลง และ Doran et al. (2001) ศึกษาในหอย น้ำจืด (*Amblema plicata*) โดย คลอไพริฟอส เข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.6, และ 1.2 mg/l ที่ 96 ชั่วโมง พบว่า ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ค่อย ๆ ลดลงตามลำดับ เช่นเดียวกับ Rickwood and Galloway (2003) ที่ศึกษาในหอยแมลงภู่ ที่สัมผัสกับคลอเฟนิวินฟอส ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสจะลดลง เช่นเดียวกัน Callaghan et al. (2001) ได้ศึกษาใน *Chironomus riparius* Meigen ที่สัมผัสกับพิริมีนิฟอสเมทิล (Pirimiphos Methyl) ซึ่งเป็นสารประกอบพวกออร์กาโนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่อุณหภูมิ 3, 12 และ 22 องศาเซลเซียส พบว่า ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสลดลง ทั้ง 3 สภาวะ โดย GST ยังคงไม่เปลี่ยนแปลง

ส่วนการศึกษากการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ในตัวอ่อนของลูกอี๊ด (*Xenopus laevis*) พบว่า เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ระดับการทำงานของอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสที่ลดลงส่งผลให้เนื้อเยื่อของตัวอ่อนของลูกอี๊ดถูกทำลายโดยเกิดการบวม และทำให้เนื้อเยื่อเสียหาย (Colombo et al., 2005) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารฆ่าแมลงที่ความเข้มข้นสูงจะมีโอกาสการเกิดอันตรายได้มาก

การยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ในระยะเวลาต่าง ๆ ที่สัมผัสสาร คลอไพริฟอส ไคคลอวอสและคาร์บาริล และภายหลังจากรับมาแช่ในน้ำสะอาด

เมื่อหอยเชอรี่สัมผัสกับสารคลอไพริฟอส และไคคลอวอส ทำให้ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ลดลงอย่างรวดเร็ว และเมื่อนำมาแช่ในน้ำสะอาด พบว่าการยับยั้งอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ยังคงมีค่าสูง ซึ่งไม่แตกต่างจากเดิม ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์อย่างถาวร ซึ่งเอนไซม์ไม่สามารถกลับมาทำงานได้เช่นเดิม เช่นเดียวกับ Bris et al. (1995) ทำการศึกษาผลของไคคลอวอส ต่อหอยเชอรี่ *Japanese Oyster* โดยเลี้ยงในน้ำที่มีไคคลอวอส เข้มข้น 1 mg/l เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และหลังจากนั้นนำมาเลี้ยงในน้ำสะอาดต่อจนครบเวลา 48 ชั่วโมง *Japanese Oyster* ที่เลี้ยงในน้ำที่มี ไคคลอวอส 1 mg/l มีการลดลงของระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์อย่างรวดเร็ว โดยต่ำสุดที่ 24 ชั่วโมง มีการยับยั้งถึง 87 เปอร์เซ็นต์ และมีการยับยั้งคงที่ ที่ 68 เปอร์เซ็นต์ จนสิ้นสุดการทดลอง

เมื่อหอยเชอรี่สัมผัสกับสารคาร์บาริล พบว่า ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ส่ก้อย ๆ ลดลงเมื่อนำมาแช่ในน้ำสะอาด พบว่า ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์สูงขึ้นกว่าเดิมเพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Mora et al. (2000) ที่ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเป็นพิษของคาร์บาริล และผลต่ออะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ ในหอย *Pomacea patula* ซึ่งเป็นหอยฝาเดียวน้ำจืด โดยใช้ คาร์บาริล $1.46 \text{ } \mu\text{g/ml}$ ในเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า มีการยับยั้ง อะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ ที่ Digestive Gland ถึง 76% เมื่อนำมาแช่ในน้ำสะอาด พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 7 วัน ระดับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ยังไม่กลับสู่สภาพเดิมกลับกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นผลจากความเป็นพิษของคาร์บาริล นอกจากนั้น Ferrari et al. (2004) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์ โคลีนเอสเทอร์ และการฟื้นตัวของเอนไซม์หลังจากที่ได้รับพิษจากอะซินฟอสเมทิล (Azinphosmethyl) พาราไรออน ซึ่งเป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาริล ในปลาทอง (*Carassius auratus*) ระยะเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า อะซินฟอสเมทิล ที่ 24 ชั่วโมงแรกยับยั้ง 77% และที่ 96 ชั่วโมงต่อมา มีการยับยั้งถึง 90% โดยพาราไรออนที่ 24 ชั่วโมงแรก ยับยั้ง 90% และที่ 96 ชั่วโมงต่อมา มีการยับยั้งถึง 95% ส่วนคาร์บาริลมีการยับยั้งประมาณ 72%-73% ระหว่าง 24 และ 96 ชั่วโมง เมื่อนำมาทดสอบระยะการฟื้นตัวของอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์ พบว่า คาร์บาริล ใช้ระยะเวลา การฟื้นตัวประมาณ 1 สัปดาห์ โดยที่อะซินฟอสเมทิล พาราไรออน ใช้เวลามากกว่า 5 สัปดาห์

อธิบายได้ว่าเนื่องจากคลอไพริฟอสและไคคลอวอสเป็นสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า เองจิง (Aging) คือ เมื่อจับกับอะซิทิลโคลีนเอสเทอร์แล้ว จะจับอย่างถาวร ไม่สามารถไฮโดรไลซิสให้อะซิทิลโคลีนเอสเทอร์กลับมาเป็นปกติ ทำให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งยังสูงอยู่ ส่วนคาร์บาริลเป็นสารกลุ่มคาร์บาเมท ซึ่งไม่ก่อให้เกิดสภาวะเอนจิง

(Non-Aging) เมื่อจับกับอะซิทิล โคลีนเอสเทอร์แล้ว สามารถไฮโดรไลซ์ให้อะซิทิล โคลีน เอสเทอร์สกลับมาทำงานได้เหมือนเดิม (สมิง เก้าเจริญ และ ยุพา ถิลาพฤทธิ์, 2538) แต่ในการทดลองครั้งนี้ได้อะซิทิล โคลีนเอสเทอร์สกลับมาเพียงเล็กน้อยเท่านั้นทั้งนี้อาจเป็นผลจากความเปื้อนพิษของคาร์บาริล

ข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันการนำเอาสัตว์ทดลองจำพวกไม่มีกระดูกสันหลัง จำพวกหอยฝาเดียว มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพนั้นยังมีการศึกษากันน้อยมาก ซึ่งในการศึกษาในสัตว์จำพวกนี้ก็ยังสามารถแสดงผลที่ชัดเจนต่อการสัมผัสกับสารพิษ อีกทั้งยังสามารถพบได้ทั่วไปในแต่ละท้องถิ่นของประเทศไทย จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าเราอาจใช้ข้อมูลจากการศึกษาข้างต้นสามารถเป็นแนวทางในการนำการศึกษาการยับยั้งเอนไซม์อะซิทิล โคลีนเอสเทอร์ส ในหอยเชอร์รี่มาใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพของระบบนิเวศได้ นอกจากนี้จึงควรศึกษาสภาพแวดล้อมทางภูมิศาสตร์หรือฤดูกาลทำการเกษตรในประเทศไทยร่วมด้วย แต่ทั้งนี้ทั้งนั้นยังควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านอื่นก่อนที่จะนำไปใช้ในสภาพจริง เช่น

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลกระทบจากสารกลุ่มอื่น ๆ ที่อาจมีผลต่อการยับยั้งอะซิทิล โคลีนเอสเทอร์ส
2. ควรมีการศึกษาถึงปัจจัยอื่น ๆ ที่เป็นผลกระทบจากการยับยั้งอะซิทิล โคลีนเอสเทอร์ส เช่น ลักษณะทางพยาธิสภาพ
3. ควรมีการศึกษาระดับสารพิษที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อควบคู่ไปด้วย
4. ควรมีการเก็บตัวอย่างจากที่ต่าง ๆ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบ หากนำหอยเชอร์รี่ไปใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพในธรรมชาติต่อไป