ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF PESTICIDES AND HEAVY METALS IN NILE TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*)

PIYANUT PEEBUA

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY (BIOLOGY)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2005**

ISBN 974-04-6157-3
COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การประเมินผลกระทบทางนิเวศพิษวิทยาของสารกำจัดศัตรูพืชและโลหะหนักในปลานิล (ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF PESTICIDES AND HEAVY METALS IN NILE TILAPIA, *OREOCHROMIS NILOTICUS*)

ปิยะนุช ปี่บัว 4436035 SCBI/D

ปร.ด. (ชีววิทยา)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: มาลียา เครือตราชู Ph.D., ประหยัด โภคฐิติยุกต์ Ph.D., พหล โกสิยะจินดา Ph.D.,

บทคัดย่อ

การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ และ การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์มิได้เป็นเพียงเครื่องมือที่ใช้ในการบ่งบอกความผิดปกติทางสิ่งแวดล้อมเท่านั้น แต่ยังเป็นตัวช่วยในการประเมินความเสี่ยงทางนิเวศวิทยาอีกด้วย ในการศึกษาครั้งนี้ใช้การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพและการเปลี่ยนแปลงของระดับเอ็นไซม์เป็นเครื่องมือในการประเมินสถานะของปลาที่ได้รับสารปนเปื้อนทั้งจากธรรมชาติ เช่น แม่น้ำ และจากการทดลองให้สัมผัสสารเคมีในห้องปฏิบัติการ การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในอวัยวะต่างๆของปลา เกิดได้จากการปนเปื้อนด้วยสารหลายกลุ่ม โดยในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาปลานิลที่สัมผัสตะกอนดินที่ปนเปื้อนด้วย เอนโดซัลแฟน และ โลหะหนัก เช่น ตะกั่ว และ โครเมียม จากแม่น้ำแม่กลอง เป็นเวลา 1 เดือน และศึกษาปลานิลที่สัมผัสสารอะลาคลอร์ที่ระดับความเป็นพิษเฉียบพลัน คือ 381.91 ไมโครกรัม/ลิตร และที่ร้อยละสิบของค่าเอ็มเอทีซี คือ 35 ไมโครกรัม/ลิตร เป็นเวลา 3 เดือน จากการศึกษาพบว่า ค่ามัธยฐานความเป็นพิษเฉียบพลันที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 963.62, 563.02, 447.99, 381.91 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ และพบการเปลี่ยนแปลงในเหงือกคือ เซลล์ฟิลาเมนต์มีจำนวนเพิ่มขึ้นผิดปกติ มีการรวมตัวกันของเซกันดารีลาเมลลา ในตับพบการเปลี่ยนแปลงคือ การเกิดช่องว่างหรือแวคิวโอลในไซโทพลาสซึมของเซลล์ และการหดตัวของโครมาตินในนิวเคลียส ในไตพบการเปลี่ยนแปลงคือ การขยายตัวของช่องบาวแมน การสะสมของเม็ดไฮยาลินในท่อไต ความผิดปกติขึ้นรุนแรงพบมากในปลาที่สัมผัสสารในระดับความเข้มข้นสูง และเวลาในการสัมผัสนาน ในที่นี้ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณโลหะหนักในตะกอนดินและโลหะหนักในเนื้อเยื่อของปลา การปนเปื้อนของเอนโดซัลแฟนในเนื้อเยื่อปลาอยู่ในระดับที่ต่ำกว่าที่เครื่องสามารถวัดได้

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอ็นไซม์ ในปลาที่สัมผัสสารอะลาคลอร์ในระดับพิษเฉียบพลัน คือ 381.91 ไมโครกรัม/ลิตร เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้ปลาสัมผัสน้ำสะอาดเป็นเวลา 96 ชั่วโมง โดยทำการศึกษาระดับเอ็นไซม์กลูตาไทโอนและเอ็นไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส ในสมอง ซีรัม ไต ตับ เหงือก และกล้ามเนื้อ ในเวลา 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมง หลังสัมผัสสารอะลาคลอร์ และหลังสัมผัสน้ำสะอาด และได้ทำการทดลองในพิษกึ่งเรื้อรัง คือ 175 ไมโครกรัม/ลิตร จากการศึกษาพิษเฉียบพลันไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับเอ็นไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในอวัยวะต่างๆ แต่พบการเพิ่มขึ้นของระดับเอ็นไซม์ในกล้ามเนื้ออย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ระดับเอ็นไซม์กลูตาไทโอนเพิ่มขึ้นในทุกอวัยวะที่ทำการศึกษา ยกเว้นในกล้ามเนื้อที่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาพิษกึ่งเรื้อรังในปลาพบว่าระดับของเอ็นไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสใน สมอง และ ไต มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และระดับเอ็นไซม์กลูตาไทโอนในอวัยวะต่างๆเพิ่มขึ้น ยกเว้นในกล้ามเนื้อที่พบการลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ทำการทดลองพบความผิดปกติทางพฤติกรรมของปลา เช่น สูญเสียการทรงตัว ไม่สามารถควบคุมการเคลื่อนไหวได้ และมีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น

235 หน้า ISBN 974-04-6157-3

ECOTOXICOLOGICAL ASSESSMENT OF PESTICIDES AND HEAVY METALS IN NILE TILAPIA, *OREOCHROMIS NILOTICUS*

PIYANUT PEEBUA 4436035 SCBI/D

Ph.D. (BIOLOGY)

THESIS ADVISORS: MALEEYA KRUATRACHUE, Ph.D., PRAYAD POKETHITIYOOK, Ph.D., PAHOL KOSIYACHINDA, Ph.D.

ABSTRACT

Biomarkers and histo-cytological responses have been used not only as effective tools for environmental monitoring, but also as early warning sentinels in ecological risk assessment. The present study used histopathological biomarker and enzyme activity as tools to characterize the health status of fish in contaminated rivers and laboratory exposure to contaminants.

Histopathological alterations in various organs of fish have been shown to be responsive and sensitive to a wide range of contaminants. In the present study, the fish, *Oreochromis niloticus* or Nile tilapia were exposed to contaminated sediments from Mae Klong River tributaries, which contained elevated levels of heavy metals (e.g. lead, chromium) and endosulfan for one month. In addition, fish were exposed to alachlor, at 96-h LC_{50} value (381.91 μg/L) and at 10% of MATC (35 μg/L) for 3 months. The acute toxicity study showed that the LC_{50} values of alachlor for 24-h, 48-h, 72-h, and 96-h were 963.62, 563.02, 447.99, 381.91 μg/L, respectively. *O. niloticus* has developed abnormalities of the gills, liver and kidney in acute, sublethal toxicity and sediment exposure studies. In the gill filaments, cell proliferation, lamellar cell hyperplasia, and lamellar fusion were observed. In the liver, there was vacuolation of hepatocytes and nuclear pyknosis. Kidney lesions consisted of dilation of Bowman's space and accumulation of hyaline droplets in the tubular epithelial cell. No recognizable changes were observed in muscle tissue. The most severe damage occurred in the longest exposure and in the higher dose. No firm correlation between levels of heavy metals in sediments and those in fish could be established. The endosulfan residues in fish tissues were below the detectable limit.

In the enzyme biomarker study fish were exposed to 96-h LC_{50} concentration (381.91 μg/L) of alachlor for 96 h, and allowed a period of recovery in pesticide-free water for 96 h. Glutathione-S-transferase (GST) and acetylcholinesterase (AChE) activities in brain, serum, kidney, liver, gills, and muscle were measured after 24, 48, 72, and 96 h after alachlor exposure and in the recovery period. In addition, fish were exposed to sublethal concentration of alachlor (175 μg/L) for one month. Acute toxicity study showed that AChE activity in several organs after 96-h exposure to alachlor was not affected. Nevertheless, significant increase in the AChE activity was detected in the muscle. In addition, the GST activities in most samples of the treated fish were either increased or remained unchanged, compared to those of control; however, the GST activity in muscle was decreased. The reduction of GST activity appeared to diminish significantly in liver and muscle and the activity resumed in 96 h of the recovery period. Sublethal toxicity study showed that the AChE activity was significantly induced in brain and kidney. In addition, the GST activities were increased in all tissue samples except in muscle. Many behavioral changes such as lowering of motility with loss of equilibrium, uncoordinated movement, and increase in the levels of respiratory rhythm were observed during exposure to the herbicide.

KEY WORDS: ENDOSULFAN/ HEAVY METAL/ SEDIMENT/ NILE TILAPIA/ ALACHLOR/ HISTOLOGY/ TOXICITY/ GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE/ ACETYLCHOLINESTERASE

235 P. ISBN 974-04-6157-3