การประเมินความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อน (*Channa striata*) ในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย

Chromosomal Aberration Assessment of Snakehead Fish (*Channa striata*) in Reservoir Affected by Leachate

พิมลพร พรมสิทธิ์[1] ลำใย ณีรัตนพันธุ์[2*] และอลงกลด แทนออมทอง[3]

Pimonporn Promsid[1] Lamyai Neeratanaphan[2*] Alongklod Tanomtong[3]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อน (*C. striata*) ในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยบริเวณพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย เปรียบเทียบกับแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย โดยแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีระยะห่างจากพื้นที่ฝังกลบมูลฝอย 100 เมตร เตรียมโครโมโซมจากเนื้อเยื่อไตโดยวิธีทางตรง ผลการศึกษาพบว่าปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำ มีโครโมโซมดิพลอยด์ 42 แท่ง ($2n = 42$) และร้อยละของการแตกหักของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมากกว่ากลุ่มของปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย โดยมีลักษณะการแตกหักของโครโมโซม 4 แบบ คือ single chromatid gap (SG), isochromatid gap (ISCG), single chromatid breaks (SB) และ isochromatid breaks (ISCB) เมื่อนำจำนวนร้อยละของการแตกหักต่อเซลล์ของโครโมโซมปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี One Way ANOVA พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

คำสำคัญ: ความผิดปกติโครโมโซม พื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย น้ำชะมูลฝอย ปลาช่อน

Abstract

The study aims to determine the chromosomal aberrations of snakehead fish (*C. striata*) in reservoirs where were affected and not affected by leachate form municipal landfill. The study site has been affected by leachate from landfill distance of 100 meters. Chromosomes were prepared directly from kidney tissues. The results showed that the diploid chromosome number ($2n$) of the snakehead fish in both reservoirs were 42 chromosomes. The percentage chromosomal breakages of snakehead fish in reservoirs affected by leachate had more than the snakehead fish in non

[1] *บัณฑิตศึกษา, [2]อาจารย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, [3]รองศาสตร์ตราจารย์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

[1] *Graduate, [2] Lecturer Department of Environmental Science, Faculty of Science, Khon Kaen University*

** Correspondent author: hlamya@kku.ac.th*

[3] *AssociateProfessor, Department of Biology, Faculty of Science, Khon Kaen University*

affected reservoirs. Chromosomal break can be classified into four types including of characteristics to single chromatid gap (SG), isochromatid gap (ISCG), single chromatid breaks (SB) and isochromatid breaks (ISCB). The result also revealed that the percentage of breaks per cell of chromosomes in snakehead fish from reservoirs affected by leachate was significantly higher than that snakehead fish from not reservoirs affected by leachate. Using One Way ANOVA was statistic significantly (p<0.05).

Keywords: chromosomal aberration, municipal landfill, leachate, *Channa striata*

บทนำ

พื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยของเทศบาลนครขอนแก่น มีปริมาณมูลฝอยที่นำเข้ามากำจัด 153.86 ตันต่อวัน ซึ่งถือได้ว่าเป็นพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย ขนาดใหญ่ และในปัจจุบันมีปริมาณมูลฝอยที่ไม่สามารถฝังกลบได้ทับถมกันเป็นกองจำนวนมาก จึงมีความเป็นไปได้ที่พื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยดังกล่าวจะเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษและแพร่กระจายออกสู่พื้นที่บริเวณใกล้เคียงโดยปะปนมากับน้ำชะมูลฝอย อันเนื่องมาจากความชื้นของขยะมูลฝอย และน้ำฝนที่ตกในบริเวณพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย โดยน้ำชะมูลฝอยจะประกอบไปด้วยสารมลพิษชนิดต่างๆ เช่น อินทรียสาร ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส เชื้อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารโลหะหนัก เช่น ตะกั่ว (Pb), สารหนู (As), ปรอท (Hg) และแคดเมียม (Cd) ซึ่งแม้ว่าในการออกแบบพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยของเทศบาลนครขอนแก่นจะมีการออกแบบให้มีระบบบำบัดน้ำชะมูลฝอยก็ตาม แต่องค์กรส่วนท้องถิ่นยังขาดงบประมาณ และบุคลากรที่มีความชำนาญในการดูแลระบบ ทำให้มีปัญหาด้านการจัดการน้ำชะมูลฝอยตามมา อาจส่งผลทำให้เกิดปัญหาของการไหลซึมของน้ำชะมูลฝอยออกไปนอกบริเวณฝังกลบและลงสู่แหล่งน้ำผิวดินบริเวณใกล้เคียง เช่น อ่างซำจาน ห้วยคำบอน ห้วยหมากงอ เป็นต้น จากการสุ่มตัวอย่างแหล่งน้ำผิวดินบริเวณพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยเทศบาลนครขอนแก่น พบร่องรอยการปนเปื้อนของอินทรีย์จากน้ำชะมูลฝอย ลักษณะตัวอย่างน้ำมีสีน้ำตาลอ่อน ผลการศึกษาคุณลักษณะของน้ำผิวดินพบว่า pH มีค่า 8.3 และ 6.6 BOD มีค่า 4.6 และ 2.7 mg/l ตรวจพบโลหะหนัก เช่น แมงกานีส นิกเกิล แคดเมียม สูงกว่าค่ามาตรฐานน้ำผิวดิน[1] ก่อให้เกิดผลกระทบจากการปนเปื้อน เป็นอันตรายต่อมนุษย์ที่ใช้น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภคและสิ่งมีชีวิตที่ใช้ประโยชน์ หรืออาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติเหล่านั้นได้ รวมทั้งยังทำลายระบบนิเวศทางน้ำ ซึ่งหลายการศึกษาระบุว่าน้ำชะมูลฝอยทำให้คุณภาพของแหล่งน้ำธรรมชาติเปลี่ยนแปลงไป รวมทั้งมีผลต่อการเจริญเติบโต การแบ่งเซลล์ และลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่อยู่ในแหล่งน้ำ ซึ่งสารเคมีที่อยู่ในน้ำชะมูลฝอยเป็นสารพิษ และล้วนเป็นสารก่อให้เกิดมะเร็งทั้งสิ้น[2] นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นสารที่ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ โดยสารดังกล่าวอาจแสดงในรูปของการเปลี่ยนแปลงของยีนหรือการแตกหักของโครโมโซม หรือแสดงในรูปของการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ[3] สารพิษดังกล่าวยังสามารถสะสมในสิ่งมีชีวิตผ่านทางระบบห่วงโซ่อาหาร และก่อให้เกิดการเพิ่มขยายทางชีวภาพเมื่อมีการสัมผัสในระยะเวลาที่ยาวนาน โดยปลาช่อนเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำ เป็นแหล่งอาหารของชุมชน มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจ และ สามารถเป็นตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของระบบพันธุกรรมที่มีผลมาจากการปนเปื้อนของน้ำชะมูลฝอยได้

เนื่องจากตลอดช่วงชีวิตมีการเจริญเติบโตอยู่ในแหล่งน้ำ เมื่อมีสิ่งเจือปนลงสู่แหล่งน้ำ สิ่งมีชีวิตเหล่านี้ก็จะเกิดการตอบสนองต่อความเปลี่ยนแปลง ในอดีตมีการศึกษาผลกระทบของน้ำชะมูลฝอยต่อความเป็นพิษต่อระบบพันธุกรรมของพืชจำนวนมาก แต่การศึกษาในสิ่งมีชีวิตจำพวกปลายังมีจำนวนน้อย ดังนั้นการศึกษาผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยต่อปลาจึงเป็นเรื่องที่มีความสำคัญเป็นอย่างมาก จากรายงานที่ผ่านมาได้สรุปวิธีในการทดสอบทางพันธุกรรม เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติของสารต่อความเป็นสารก่อมะเร็ง และสารก่อการกลายพันธุ์ [4] งานวิจัยนี้จึงได้นำเอาวิธีการดังกล่าวมาตรวจสอบความเป็นพิษของน้ำชะมูลฝอยที่สร้างความเสียหายในระดับพันธุกรรม โดยเน้นประเด็นการประเมินความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยบริเวณพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยของเทศบาลนครขอนแก่น เปรียบเทียบกับโครโมโซมของปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย เพื่อใช้เป็นข้อมูลการจัดการสิ่งแวดล้อมในอนาคต

ขั้นตอนและวิธีการศึกษาวิจัย

พื้นที่ศึกษาวิจัย

พื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยของเทศบาลนครขอนแก่นมีพื้นที่ 98 ไร่ ตั้งอยู่ที่หมู่บ้านคำบอน ตำบลโนนท่อนอำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ซึ่งเปิดใช้งานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2511 และมีการก่อสร้างปรับปรุงต่อมาเมื่อปี 2542 ปัจจุบันมีการใช้งานเต็มพื้นที่แล้ว โดยตัวอย่างปลาช่อนจะถูกเก็บจาก 2 พื้นที่ คือ แหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ไม่อยู่ในทิศทางการไหลของน้ำชะมูลฝอย อยู่นอกรัศมี 5 กิโลเมตรจากพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย และแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีระยะห่างจากพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอย 100 เมตร (Figure 1.)

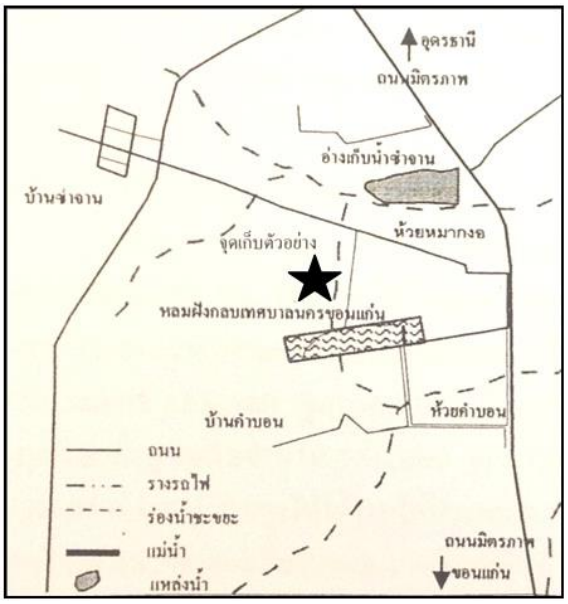

Figure 1 The sampling sites of *C. striata* in reservoirs where were affected by leachate.

วิธีการวิจัย

การประเมินความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยบริเวณพื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยของเทศบาลนครขอนแก่น ใช้แนวทางในการคาดการณ์แนวโน้มการแพร่กระจายสารมลพิษ การสะสมสารพิษที่นำไปสู่ผลกระทบระดับพันธุกรรม โดยการศึกษาครั้งนี้ดำเนินการเตรียมโครโมโซมจากเนื้อเยื่อไตของปลาช่อน ซึ่งดำเนินการศึกษา ดังขั้นตอนต่อไปนี้

1. การเตรียมโครโมโซม

ขั้นตอนเตรียมโครโมโซมโดยวิธีทางตรง อวัยวะที่ใช้ คือ ไต เนื่องจากเป็นอวัยวะที่มีการแบ่งเซลล์ตลอดเวลา โดยเตรียมจากในตัวปลาช่อน (*in vivo*) [5,6] ดังต่อไปนี้

ฉีดโคลซีซิน (Colchicine) 0.05% ขนาด 1 มิลลิลิตร ต่อน้ำหนักตัว 100 กรัม เข้าไปในกล้ามเนื้อ ของปลา ปล่อยให้ปลาว่ายในตู้เลี้ยงปลาที่พ่นออกซิเจนอย่างแรง เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำปลาไปแช่น้ำแข็ง ประมาณ 5 นาที จากนั้นผ่าตัดเปิดช่องท้องและนำเฉพาะส่วนของไตมา ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ในจานเพาะเชื้อ และเติม

สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride หรือ KCl) เข้มข้น 0.075 โมลาร์ 6-8 มิลลิลิตร บ่มในอุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที นำตะกอนเซลล์ไปปั่นที่ความเร็ว 1,200-1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง และเติมน้ำยาตรึงสภาพ (fixative) ที่มีส่วนผสมของเมทานอล 3 ส่วนต่อกรดอะซิติก 1 ส่วน (Methanol: Acetic acid; 3:1) ที่เตรียมใหม่และเย็นจัดทีละหยดพร้อมกับเขย่าหลอดไปด้วย เติมจนครบ 7 มิลลิลิตร นำสารละลายไปปั่นที่ความเร็ว 1,200-1,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสด้านบนทิ้ง เติมน้ำยาตรึงสภาพ 7-8 มิลลิลิตร ปั่นอีกครั้ง ทำซ้ำเพื่อล้างตะกอนเซลล์ให้สะอาด 3-4 ครั้ง เก็บตะกอนเซลล์ในสารละลายตรึงเซลล์ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

2. การเตรียมสไลด์เพื่อศึกษาโครโมโซม

นำสไลด์ไปล้างด้วยน้ำเปล่าเพื่อทำการขจัดคราบไขมันและสิ่งสกปรกออกจากสไลด์ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นล้างสไลด์อีกรอบด้วยน้ำยาคงสภาพก่อนการหยด

การหยดเซลล์ ทำโดยดูดน้ำยาคงสภาพออกจากหลอดจนเหลือประมาณ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นดูดเซลล์หยดลงบนสไลด์ที่เตรียมไว้ 1 หยด ถ้าสไลด์สะอาดดีจะพบว่า เซลล์ที่หยดจะกระจายตัวออกเป็นวงกลมอย่างรวดเร็ว จากนั้นหยดน้ำยาคงสภาพที่เตรียมใหม่และเย็นจัดตามลงไปอีก 1-2 หยด เพื่อช่วยให้เซลล์กระจายตัวดียิ่งขึ้นแล้วตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

3. การย้อมสีโครโมโซมด้วยเทคนิคการย้อมแบบธรรมดา

ย้อมสไลด์ด้วยสีจิมซ่า (Giemsa) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (phosphate buffer) ที่มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.8 เป็นเวลา 30-45 นาที แล้วล้างสไลด์ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง นำไปตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง กำลังขยาย 100X

4. การเลือกเซลล์เพื่อตรวจนับและรายงานผลการศึกษาโครโมโซม

นำสไลด์ตัวอย่างที่ย้อมสีแล้วไปศึกษาโครโมโซมภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยตรวจนับและบันทึกภาพความผิดปกติของโครโมโซมเปรียบเทียบกับลักษณะโครงสร้างของโครโมโซมปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำ ศึกษาจากเซลล์ระยะเมทาเฟสที่มีโครโมโซมกระจายดี และแต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมครบ นับจำนวนตามลักษณะการแตกหักของโครโมโซม ดังนี้

4.1 Single chromatid gap (SG) ความผิดปกติจากการมีช่องว่างเกิดขึ้นในโครมาทิด (chromatid) แท่งใดแท่งหนึ่ง แต่ไม่ถึงกับขาดออกจากกัน และแนวปลายหักทั้งสองของโครมาทิดยังอยู่ในแนวเดียวกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะยังมีเส้นใยโครมาทิน (chromatin) ยึดให้เห็นเป็นเส้นบางๆ การนับจำนวนการแตกหักจะนับ 1 การแตกหักต่อ 1 SG

4.2 Isochromatid gap (ISCG) เป็นความผิดปกติที่เกิดจากการมีช่องว่างขึ้นในส่วน ของโครมาทิดทั้งสองแท่งของโครโมโซมเดียวกัน แต่ไม่ถึงกับขาดออกจากกัน และแนวปลายหักทั้งสองของโครมาติดยังอยู่ในแนวเดียวกัน ทั้งนี้ อาจเป็นเพราะยังมีเส้นใยโครมาตินยึดให้เห็นบางๆ การนับจำนวนการแตกหักจะนับ 2 การแตกหักต่อ 1 ISCG

4.3 Single chromatid breaks (SB) เป็นความผิดปกติที่มีโครมาทิดแท่งหนึ่งเกิดการหักหรือขาดออกจากกันโดยสิ้นเชิงและแนวของปลายที่หักไม่อยู่ในแนวเดียวกัน การนับจำนวนการแตกหักจะนับ 1 การแตกหักต่อ 1 SB

4.4 Isochromatid breaks (ISCB) เป็นความผิดปกติที่จะมีโครมาทิดทั้งสองแท่งเกิดการหัก หรือขาดออกจากกันโดยสิ้นเชิงและแนวของปลายที่หักไม่อยู่ในแนวเดียวกัน การนับจำนวนการแตกหักจะนับ 2 การแตกหักต่อ 1 ISCB

4.5 Translocation เป็นความผิดปกติที่มีการหักและต่อสลับของโครโมโซมต่างคู่กัน นับจำนวนหักเป็น 4 หักต่อ 1 translocation

4.6 Deletion คือการที่มีเนื้อโครโมโซมขาดหายไปจากแขนข้างใดข้างหนึ่ง ซึ่งจะนับเป็น 1 หักต่อ 1 deletion

การคำนวณการแตกหักของโครโมโซม (break per cell หรือ b/c) โดยศึกษาจำนวน 150 เมทาเฟสต่อปลาช่อน 1 ตัว และนับจำนวนการแตกหัก ของโครโมโซมที่เกิดขึ้นทั้งหมด นำผลการแตกหักที่นับได้มาหารด้วยจำนวนเมทาเฟสทั้งหมด

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการศึกษาพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาช่อน

พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำ จำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แท่ง ประกอบไปด้วยโครโมโซม 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดเมทาเซนทริก อะโครเซนทริก และเทโลเซนทริก โดยโครโมโซมมี 3 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ 8 แท่ง ขนาดกลาง 26 แท่ง และขนาดเล็ก 8 แท่ง โครโมโซมขนาดใหญ่พบโครโมโซมเมทาเซนทริก และอะโครเซนทริก โครโมโซมขนาดกลาง และขนาดเล็กพบเฉพาะชนิดเทโลเซนทริกเท่านั้น (Table 1.) สอดคล้องกับรายงานที่ผ่านมาพบว่าพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาช่อน (*Channa striata*) ภาคะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 42 แท่ง[7] ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาโครโมโซมของปลาช่อนบริเวณภาคกลางของประเทศไทย[8,9] และการศึกษาโครโมโซมของปลาช่อนในประเทศจีน ซึ่งพบว่ามีจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 44 แท่ง[10] นอกจากนี้ยังแตกต่างจากผลการศึกษาโครโมโซมของปลาช่อนในประเทศอินเดีย[11,12] ที่พบว่าจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์เท่ากับ 40 แท่ง

จากการรายงานพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาช่อนในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกันจะพบจำนวนโครโมโซมดิพลอยด์ไม่เท่ากัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความผันแปรระหว่างพันธุกรรมของประชากรและ/หรือปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจรวมถึงมลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่

Table 1 Cytogenetics of snakehead fish (*C. striata*, 2*n* = 42)

Species	2n	Type and characteristics of chromosome							
		L				M			S
		m	sm	a	t	sm	a	t	t
Snakehead fish (*C. striata*)	42	6	-	2	-	-	-	26	8

Note: (2n = diploid number; L = large chromosome; M = medium chromosome; S = small chromosome; m = metacentric chromosome; sm = submetacentric chromosome; a = acrocentric chromosome และ t = telocentric chromosome)

ผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยต่อการแตกหักของโครโมโซม

ร้อยละของการแตกหักของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีมากกว่าปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย การแตกหักของโครโมโซมเป็นแบบ structural chromosome aberration ตามลักษณะการหักเป็น 4 แบบ คือ SG, ISCG, SB และ ISCB (Figure 2.) โดยการแตกหักของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีค่าร้อยละของการแตกหักระหว่าง 0.093 - 0.187 และมีจำนวน

การแตกหักต่อเซลล์ระหว่าง 14 - 28 ส่วนปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีค่าร้อยละของการแตกหักระหว่าง 0 ถึง 3 และมีจำนวนการแตกหักต่อเซลล์อยู่ระหว่าง 0.000 - 0.020 (Table 2.)

เมื่อนำจำนวนร้อยละการแตกหักต่อเซลล์ของโครโมโซมปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ (One Way ANOVA) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

พื้นที่ฝังกลบขยะมูลฝอยเป็นแหล่งกำเนิดและแพร่กระจายมลพิษ เช่น สารกลุ่มโลหะหนักปะปนมากับน้ำชะมูลฝอย สารมลพิษดังกล่าวจึงอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมได้ โดยจากการศึกษาผลกระทบจากโลหะหนักต่อความเป็นพิษทางพันธุศาสตร์เซลล์ของปลาช่อนอินเดีย (*Channa unctata*) รายงานว่าโลหะหนักสามารถชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อนอินเดียได้[13] นอกจากนั้นยังตรวจพบความเสียหายของโครโมโซมปลาทองเนื่องจากน้ำชะมูลฝอย ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี Comet assay และ Micronucleus test[14] สอดคล้องกับการศึกษาพิษของปรอทที่มีต่อพันธุศาสตร์เซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวของคน พบว่าถึงแม้ว่าปรอทไม่ก่อให้เกิดการหักโครโมโซม แต่ปรอทเป็นสารที่ก่อให้เกิดความผิดปกติของการแบ่งเซลล์ และส่งผลให้โครโมโซมหดสั้น[15] ซึ่งความผิดปกติดังกล่าวเป็นผลมาจากการที่เซลล์ได้รับสิ่งแปลกปลอมที่ทำให้เกิดความผิดปกติ ถ้าเกิดขึ้นในช่วง G 1 ของวัฏจักรเซลล์อันเป็นระยะก่อนที่จะมีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ โครโมโซมในช่วงนี้ยังเป็นเส้นเดี่ยว จะเกิดความผิดปกติของโครโมโซมแบบ chromosome type aberrations แต่ถ้าเซลล์ได้รับสิ่งแปลกปลอมในช่วง S และ G 2 จะเกิดความผิดปกติของโครโมโซมแบบ Chromatid type aberrations[16] โดยสารบางชนิดไม่สามารถทำให้ DNA หรือโครโมโซมหักได้ แต่จะก่อให้เกิดการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติ เรียกสารเหล่านี้ว่า Mitotic poison[17]

Table 2. The percentage of breaks per cell of chromosomes snakehead fish (*C. striata*) from reservoirs affected and not affected by leachate.

Sample		Quantity breaks of chromosomes			Percentage of breaks	Quantity breaks per cell (Average)
		Replication				
		1	2	3		
C. striata from reservoirs not affected by leachate	1st	2	0	1	3	0.020
	2nd	0	1	0	1	0.007
	3rd	0	0	0	0	0.000
C. striata from reservoirs affected by leachate	1st	4	6	6	16	0.107
	2nd	4	5	5	14	0.093
	3rd	10	9	9	28	0.187
Total		20	21	21	62	

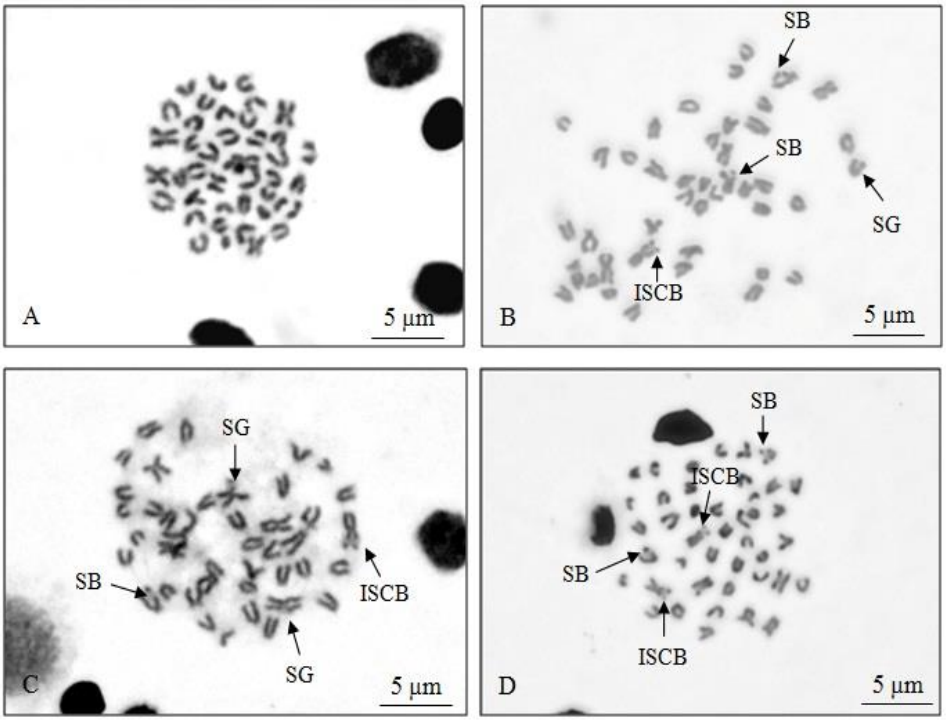

Figure 2 Characteristics metaphase chromosome of *C. striata* that show chromosomes breakage (SG = Single chromatid gap; ISCG = Isochromatid gap; SB = Single chromatid breaks; ISCB = Isochromatid breaks) (A) Metaphase Chromosome of *C. striata* from reservoirs not affected by leachate. (B-D) Metaphase Chromosome of *C. striata* from reservoirs affected by leachate.

สรุปผลการศึกษา

ความผิดปกติของโครโมโซมปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอยมีมากกว่าปลาช่อนในแหล่งน้ำที่ไม่ได้รับผลกระทบจากน้ำชะมูลฝอย โดยความผิดปกติดังกล่าวมีลักษณะการแตกหักของโครโมโซม 4 แบบ คือ SG, ISCG, SB และ ISCB จำนวนร้อยละการแตกหักต่อเซลล์ของโครโมโซมปลาช่อนทั้ง 2 แหล่งน้ำ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความผันแปรระหว่างพันธุกรรมของประชากร และ/หรือปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจรวมถึงมลพิษทางสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นปลาช่อนจึงเป็นตัวอย่างของสิ่งมีชีวิตที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของระบบพันธุกรรมที่มีผลมาจากการปนเปื้อนของน้ำชะมูลฝอยได้ เนื่องจากตลอดช่วงชีวิตมีเจริญเติบโตอยู่ในแหล่งน้ำ รวมถึงเป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในระบบนิเวศแหล่งน้ำและเป็นแหล่งอาหารของมนุษย์ ความผิดปกติทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นจึงอาจส่งผลต่อสุขภาพอนามัยของมนุษย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุน และส่งเสริมการทำวิทยานิพนธ์สำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ปีการศึกษา 2556

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมมลพิษ. กรณีความสำเร็จของการจัดการมลพิษ. กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ; 2543.

2. Schrab GE, Brown KW. Donnelly KC. Acute and genetic toxicity of municipal landfill leachate. Water Air Soil Pollut 1993; 69: 99-112.
3. Hsu TC. Cytogenetic Assays of Environment Mutagens. N.J. Allanheld, Osmun & Co., Otawa 1982; 430.
4. Liang JC. Cytogenetics and Public Health-Assay for Enviromental Mutagens. The Cancer Bulletin 1983; 35: 138-143.
5. Chen TR, Ebeling AW. Karyological evidence of female heterogamety in the mosquito fish, *Gambusia affinis*. Copeia 1968; 1: 70-75.
6. Nanda I, Schartl M, Feichtinger W, Schlupp I, Parzefall J, Schmid M. Chromosomalevidence for laboratory synthesis of triploid hybrid between the gynogenetic teleost Poecilia Formosa and its host species. J mar boil Ass India 1995; 8(2): 267-269.
7. Supiwong W, Jearranaiprepame P, Tanomtong A. A New Report of Karyotype in the Chevron Snakehead Fish, *Channa striata* (Channidae, Pisces) from Northeast Thailand. Cytologia 2009; 74(3): 317-322.
8. ธวัช ดอนสกุล และวิเชียร มากตุ่น. การศึกษาโครโมโซมปลาช่อน ช่อนงูเห่า ชะโด กะสง และปลาก้างที่พบในประเทศไทย. ใน: เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ: 2534. หน้า 561-574.
9. สุมิตรา วัฒโนดร, วิวัฒน์ ชวนใช้, วัฒนา วัฒนวิจารณ์. เซลล์เลี้ยงของปลาช่อน. เวชชสารสัตวแพทย์ 2528; 15(4): 305-312.
10. Wu G, Ma J, Hu H, Lou J, Chen K, Lin G. The Karyotype of *Channa striatus* and *Channa micropeltes*. Freshwater Fish Danshui Yuye 1994; 24(4): 3-5.
11. Nyyar RP. Karyotype studies in thirteen species of fishes. Genetica 1966; 37: 78-92.
12. Banerjee SK, Misra KK, Banerjee S,Chaudhuri SP. Chromosome number, genome size, cell volumes and evolution of snakehead fish (family Channidae). J. Fish Biol 1988; 33: 781-789.
13. Yadav KY, Trivedi SP. Chromosomal aberrations in a fish, *Channapunctata* after in vivo exposure to three heavy metals. Mutation Research 2009; 678: 7-12.
14. Yuya D, Tomoyasu T, Shuichi M, Akio Y, Shino M, Masato Y, Yuzo I, Naohide K.Evaluation of mutagenic activities of leachates in landfill sites by micronucleus test and comet assay using goldfish. Mutation Research 2008; 627: 78-185.
15. สุพัตรา โพธิ์เอี่ยม, อมรา คัมภิรานนท์. พิษของโลหะหนักต่อสารพันธุกรรม. ใน: เอกสารการประชุมสัมมนาทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2541. หน้า 1-14.
16. Andersson HC, Kihlman BK. Carcinogenesis. Oxford Journal 1989; 10: 123-130.
17. อมรา คัมภิรานนท์. พันธุศาสตร์ของเซลล์. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2546.