

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างปลาตามแนวแม่น้ำโขง โดยปลาที่เก็บต้องไม่มีบาดแผลตามลำตัว ครีบก้นไม่เปื่อย และไม่มีการตกเลือดหรือลักษณะพิการ เริ่มตั้งแต่จังหวัดเชียงราย จนถึงจังหวัดอุบลราชธานี เพื่อเป็นตัวแทนศึกษา ตัวอย่างปลาได้จากการทำประมงของชาวประมงในพื้นที่ โดยกำหนดสถานีเก็บตัวอย่าง 5 สถานี (ภาพผนวกที่ 2) ดังนี้

สถานีที่ 1 อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย เป็นท่าเรือขนส่งสินค้าและสำหรับนักท่องเที่ยวลงเรือเพื่อชมลำน้ำโขงบริเวณสามเหลี่ยมทองคำ และเป็นจุดเริ่มต้นของแม่น้ำโขงที่ไหลเข้าสู่ประเทศไทย ตัวอย่างปลาจากสถานีนี้เป็นปลาจากธรรมชาติ

สถานีที่ 2 อำเภอเชียงคาน จังหวัดเลย เป็นท่าเรือสำหรับขนส่งสินค้าและโดยสารระหว่างไทย-ลาว เป็นจุดเริ่มต้นของแม่น้ำโขงที่ไหลวกกลับมายังประเทศไทยอีกครั้งในช่วงภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตัวอย่างปลาจากสถานีนี้เลี้ยงในบ่อซีเมนต์ โดยใช้น้ำจากแม่น้ำโขง อาหารที่ได้รับเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูป และได้รับอากาศจากเครื่องอัดอากาศตลอดเวลา

สถานีที่ 3 อำเภอบึงกาฬ จังหวัดหนองคาย เป็นบริเวณที่ลึกที่สุดของแม่น้ำโขง มีหาดหินยื่นออกไปในแม่น้ำโขง และมีการไหลวนของกระแสน้ำ ทำให้เกิดการสะสมของสารปนเปื้อนในน้ำ และดินตะกอน ตัวอย่างปลาจากสถานีนี้เป็นปลาจากธรรมชาติ

สถานีที่ 4 อำเภอเมือง จังหวัดนครพนม เป็นท่าเรือขนาดใหญ่ที่มีการเลี้ยงปลาในกระชัง ปลาที่เลี้ยงเป็นพันธุ์ปลาวัยอ่อนที่จับจากธรรมชาติ แล้วนำมาเลี้ยงในกระชังเพื่อให้ได้ขนาด ปลาบางชนิดมีอายุ 2-3 ปี เช่น ปลาเทโพ ปลาเทพา และปลาคัง เป็นต้น บริเวณริมตลิ่งฝั่งไทย ยังเป็นที่ปลูกผักเพื่อบริโภค ตัวอย่างปลาจากสถานีนี้ได้รับน้ำเสียจากแหล่งชุมชน อาหารที่ได้รับเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูป และตัวอ่อนของแมลงชีปะขาวในช่วงเดือนเมษายนถึงพฤษภาคม

สถานีที่ 5 อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี เป็นตำแหน่งที่แม่น้ำโขงไหลออกจากประเทศไทยเข้าสู่ประเทศกัมพูชา มีแม่น้ำมูลซึ่งเป็นแม่น้ำสาขาของแม่น้ำโขงเปิดออกสู่แม่น้ำโขง ตัวอย่างปลาจากสถานีนี้เป็นปลาจากธรรมชาติ

1. การเก็บตัวอย่าง

1.1 เก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณหาง (caudal vein) ของตัวอย่างปลารวมทั้งหมด 117 ตัว แบ่งเป็นปลาไม่มีเกล็ด 65 ตัว และปลามีเกล็ด 52 ตัว เพื่อศึกษาดังต่อไปนี้

1.1.1 ค่าฮีมาโตคริต

วิธีการหาค่าฮีมาโตคริตทำโดยใช้ microcapillary tube เก็บเลือดประมาณสามในสี่ของหลอด และนำไปปั่นด้วยเครื่อง centrifuge 3,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เพื่อแยกเม็ดเลือดและพลาสมา อ่านค่าโดยใช้ PCV reading chart หาค่าปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่นออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ การหาค่าฮีมาโตคริต ไม่สามารถหาได้จากปลาทุกตัว เนื่องจากตัวอย่างเลือดที่เก็บได้ของปลาบางตัว เกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตก (hemolysis) จึงได้ตัวอย่างเลือดจากปลาเพียง 80 ตัว แบ่งเป็นปลาไม่มีเกล็ด 50 ตัว และปลามีเกล็ด 30 ตัว

1.1.2 การศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์ GOT และ GPT ในซีรัม

นำซีรัมที่มีสีเหลืองใสที่ได้จากการเก็บตัวอย่างเลือด มาวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ GOT ตามวิธีของ IFCC (1986a) และ GPT ตามวิธีของ IFCC (1986b) (ภาคผนวก) สำหรับซีรัมที่มีสีแดงไม่สามารถนำมาวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ได้ ตัวอย่างซีรัมของปลาที่นำมาวิเคราะห์ได้จากปลาทั้งหมด 35 ตัว แบ่งเป็นปลาไม่มีเกล็ด 13 ตัว และปลามีเกล็ด 32 ตัว นำซีรัมไปอ่านค่าด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

1.2 การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ

เก็บตัวอย่างอวัยวะ คือ ตับ ตับอ่อน ไต และม้าม ล้างด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อ ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ แล้วคงสภาพใน neutral buffered formalin ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ อย่างน้อย 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ให้มีความหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร ล้างด้วยน้ำประปา จนกระทั่งน้ำยาคงสภาพหมดไป นำเนื้อเยื่อมาผ่านกระบวนการพาราฟินเทคนิค ตามวิธีของ Humason (1979) (ภาคผนวก) ตั้งแต่กระบวนการดึงน้ำออกจนถึงการแทรกซึมด้วย พาราฟลาสทำในเครื่อง automatic tissue processor จากนั้นนำเนื้อเยื่อที่ได้ไปฝังในพาราฟลาส ตัด section ด้วย rotary microtome ความหนา 5 ไมโครเมตร นำเนื้อเยื่อที่ตัดได้มาติดบนสไลด์ ย้อมด้วยสี Hematoxylin & Eosin (ภาคผนวก) เพื่อนำไปศึกษาพยาธิสภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. การวิเคราะห์ผล

2.1 นำค่าฮีมาโตคริต และแอคติวิตีของเอนไซม์ GOT และ GPT ในเลือดมาวิเคราะห์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น

2.2 นำสไลด์ที่ย้อมสีแล้วมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ

2.3 วิเคราะห์ผลการศึกษาประกอบกับค่าปัจจัยในสภาวะแวดล้อมที่ได้จากโครงการย่อยอื่น

3. สถานที่ดำเนินการศึกษา

1. แม่น้ำโขง สถานที่ที่กำหนดรวม 5 สถานี ตั้งแต่ จังหวัดเชียงราย จนถึง จังหวัดอุบลราชธานี
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

4. ระยะเวลาทำการวิจัย

การศึกษานี้เริ่มตั้งแต่ เดือนธันวาคม พ.ศ. 2544 ถึง เดือนมีนาคม พ.ศ. 2547

5. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงสุขภาพของปลาอันเนื่องมาจากสิ่งปนเปื้อนในน้ำและดินตะกอน สามารถนำข้อมูล ที่ได้ใช้เป็นดัชนีบอกคุณภาพของแม่น้ำโขง เพื่อประโยชน์ในการควบคุม ป้องกันการเกิดมลภาวะของแม่น้ำโขงได้