191352

46303205: สาขาวิชาชีววิทยา
คำสำคัญ : แคดเมียม/ปลาดุกอุย/ความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรม/ไมโครนิวเคลียส

สุเนตร กุกสันเทียะ : เทคนิคการประเมินความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของแคดเมียมคลอไรด์และสารสกัดสะเดาในปลาดุกอุย (*Clarias mcrocephalus*) อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. เรณู เวชรัชต์พิมล. 126 หน้า.

การศึกษาการใช้เทคนิค Micronucleus test ประเมินความเป็นพิษของ $CdCl_2$ และสะเดาไทย 111 ซึ่งเป็นสารสกัดสะเดาที่มี 0.1% Azadirachtin ต่อสารพันธุกรรมของปลาดุกอุย (*Clarias macrocephalus*) พบว่าปลากลุ่มที่ถูกชักนำให้มีค่า micronucleus frequencies (MNFs) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) คือ ปลากลุ่มที่แช่ $CdCl_2$ 0.02-0.05 mg/L (n=20) เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อตรวจจากเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เยื่อบุผิวเหงือก และพบว่าค่า MNFs มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ $CdCl_2$ สูง คือ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.8916 และ 0.9443 ในกลุ่มที่แช่ปลา 24 ชั่วโมง และเท่ากับ 0.9056 และ 0.7880 ในกลุ่มที่แช่ปลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วนค่า MNFs จากเซลล์ตับพบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมเฉพาะกลุ่มที่แช่ปลาใน $CdCl_2$ 0.01-0.05 mg/L เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9325 ส่วนกลุ่มที่แช่ปลา 24 ชั่วโมง นั้นไม่พบว่าค่า MNFs มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ $CdCl_2$ ($P<0.05$) เมื่อตรวจความผิดปกติของนิวเคลียส 5 ลักษณะพบว่ามี lobed nucleus และ vacuolated nucleus สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยพบว่าค่า lobed nucleus frequencies (LNFs) ในเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เยื่อบุผิวเหงือกของปลากลุ่มที่แช่ $CdCl_2$ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของ $CdCl_2$ สูง คือ มีค่า R^2 เท่ากับ 0.8749 และ 0.8235 ตามลำดับ ส่วนปลากลุ่มที่แช่ 48 ชั่วโมง มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9508 และ 0.8060 เมื่อตรวจจากเซลล์เยื่อบุผิวเหงือกและเซลล์ตับตามลำดับ สำหรับความผิดปกติด้าน vacuolated nucleus frequencies (VNFs) นั้น พบว่ามีค่า R^2 เท่ากับ 0.8324, 0.9347 และ 0.8991 เมื่อตรวจจากเซลล์เยื่อบุผิวเหงือกของปลาที่แช่ $CdCl_2$ เป็นเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง และจากเซลล์ตับของปลาที่แช่เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ($P>0.05$)

การใช้เทคนิค Micronucleus test ประเมินความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาจากเซลล์เม็ดเลือดแดงของปลาดุกอุย พบว่าปลากลุ่มที่แช่ในสารสกัดสะเดาที่มี Azadirachtin เข้มข้น 0.7-0.9 mg/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 0.6-1.1 mg/L เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า MNFs สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่วนกลุ่มที่แช่ปลาดุกอุยเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสารสกัดสะเดาที่มี Azadirachtin เข้มข้น 0.6 mg/L ซึ่งผ่านการผึ่งแดดแล้ว 7 วัน พบค่า MNFs ในเซลล์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่แตกต่างจากค่า MNFs จากกลุ่มที่แช่สารสกัดสะเดาที่มีความเข้มข้นเท่ากันซึ่งไม่ได้นำไปผึ่งแดด ($P<0.05$) เมื่อทดลองใช้เทคนิค Comet assay ตรวจความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมในเซลล์เม็ดเลือดแดงของปลาที่แช่ใน $CdCl_2$ 0.03 และ 0.05 mg/L และแช่ในสารสกัดสะเดาที่มี Azadirachtin เข้มข้น 0.6 mg/L ทั้งก่อนและหลังจากผึ่งแดด พบว่ามีสารพันธุกรรมถูกทำลายในระดับที่มีค่าเฉลี่ยของ tail length สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยปลากลุ่มที่แช่ Azadirachtin เข้มข้น 0.6 mg/L ในสารสกัดสะเดาก่อนและหลังจากผึ่งแดดเป็นเวลา 7 วัน มีค่าเฉลี่ย (%) tail DNA, tail moment, olive moment และ tail area สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$)

ผลการทดลองนี้จึงชี้ให้เห็นว่าการใช้เทคนิค Micronucleus test ตรวจเซลล์เม็ดเลือดแดงและเซลล์เยื่อบุผิวเหงือกของปลาดุกอุยมีความไวในการใช้ประเมินความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของ $CdCl_2$ และ Azadirachtin โดยสามารถประเมินความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของ $CdCl_2$ ได้ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำกว่าค่าการปนเปื้อนที่กำหนดไว้ในมาตรฐานน้ำทิ้งของประเทศ ส่วนผลการประเมินความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมของ Azadirachtin ในสารสกัดสะเดานั้น พบว่าจะแสดงความเป็นพิษเมื่อใช้ความเข้มข้นสูงและแสงแดดสามารถลดความเป็นพิษของสารสกัดสะเดาลง ดังนั้นปลาดุกอุยจึงเป็นปลาที่ใช้ตรวจสอบการปนเปื้อนของสารที่มีพิษต่อสารพันธุกรรมในแหล่งน้ำจืดได้ดี

191352

46303205: MAJOR: BIOLOGY

KEY WORD: CADMIUM/*Clarias macrocephalus*/GENOTOXICITY/MICRONUCLEUS

SUNATE GOOGSANTEA: TECHNIQUE FOR ASSESSING GENOTOXICITY OF CADMIUM CHLORIDE AND NEEM EXTRACTS ON CATFISH (*Clarias mcrocephalus*). THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. RENU VEJARATPIMOL. 126 pp.

In this study, the Micronucleus test was evaluated for assessing the genotoxicity of $CdCl_2$ and neem extracts containing 0.1% Azadirachtin (Aza) on the red blood cells (RBCs), the gill epithelial cells (GECs) and the liver cells (LCs) of *Clarias macrocephalus* (n=20). The micronucleus frequencies (MNFs) in the RBCs and GECs of $CdCl_2$-treated fish at 0.02-0.05 mg/L for 24 and 48 h were higher than that of the control group ($P<0.05$). The MNFs was highly correlated to the $CdCl_2$ concentrations and the correlation coefficients (R^2) were 0.8916 and 0.9443 in $CdCl_2$-treated fish for 24 h and 0.9056 and 0.7860 for 48 h, respectively. While the MNFs in the LCs of $CdCl_2$-treated fish at 0.01-0.05 mg/L for 48 h were higher than that of the control group ($P<0.05$) and showed a high correlation with the $CdCl_2$ concentrations (R^2 =0.9325). But the MNFs in the LCs of $CdCl_2$-treated fish for 24 h were not correlated to the $CdCl_2$ concentrations ($P<0.05$). The five nuclear abnormalities were observed indicating that the lobed nucleus frequencies (LNFs) and vacuolated nucleus frequencies (VNFs) in the RBCs and GECs of $CdCl_2$-treated fish for 24 h were higher than that of the control group and were highly correlated to the $CdCl_2$ concentrations and the R^2 were 0.8749 and 0.8235, respectively. While the $CdCl_2$-treated fish for 48 h had R^2 equal to 0.9508 and 0.8060 when observed from the GECs and LCs, respectively, the R^2 of VNFs were 0.8324, 0.9347 and 0.8991 when observed from the GECs of $CdCl_2$-treated fish for 24 and 48 h, and from the LCs of 48 h treated fish, respectively ($P>0.05$).

The fish were exposed to neem extract at the concentrations of Aza 0.7-0.9 mg/L for 24 h and 0.6-1.1 mg/L for 48 h and the MNFs were higher than that the control were observed ($P<0.05$). The fish placed in 0.6 mg/L of Aza and exposed to sunlight for 7 days (SL-Aza) had MNFs in the RBCs lower than that of the control group but these were not significantly different from the 0.6 mg/L unexposed Aza group. The Comet assay was used to detect the DNA damage in fish RBCs. The level of DNA damage of fish treated with $CdCl_2$ 0.03, 0.05 mg/L and 0.6 mg/L of Aza and SL-Aza for 24 h was observed and the mean tail lengths were greater than that of the control group. Fish placed in 0.6 mg/L of Aza and SL-Aza had greater (%) tail DNA, tail moment, olive moment and tail area than those of the control group ($P<0.05$).

This study revealed that the Micronucleus test in the RBCs and GECs of fish were sensitive in detecting the genotoxic levels of $CdCl_2$ and Aza contamination in water, since it can detect $CdCl_2$ contaminations lower than the Thai waste water standard level of cadmium concentration. The results also indicated that the genotoxicity of neem extracts can be detected when fish exposed to high concentration of Aza and the sunlight can reduce the genotoxicity of Aza. The *C. macrocephalus* is therefore a good indicator for the detection of genotoxicants in a freshwater environment.