บทที่ 3

ผลการวิจัย

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมของปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus* Bleeker) ที่เลี้ยงในสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ได้ผลการศึกษาทั้งในการสำรวจเบื้องต้นและการทดลองในความเข้มข้นที่ต่ำลงไป ดังนี้

1.การสำรวจเบื้องต้น

1.1 พีเอช

การวัดพีเอชเพื่อดูความสามารถในการละลายของโพแทสเซียมไดโครเมตเนื่องจากโพแทสเซียมไดโครเมตสามารถละลายได้ในน้ำที่พีเอชตั้งแต่ 8 ลงมา ก่อนเลี้ยงปลา วัดพีเอชได้ 7.1,7.0 และ7.0 ที่การทดลองควบคุม ความเข้มข้น 0.3 ppm และ0.7 ppm ตามลำดับ หลังการทดลองเมื่อเลี้ยงครบ 72 ชั่วโมง วัดพีเอชได้ 7.1,7.0 และ7.1 ที่การทดลองควบคุม ความเข้มข้น 0.3 ppm และ0.7 ppm ตามลำดับ

1.2 ไมโตติกอินเด็กซ์

การศึกษาไมโตติกอินเด็กซ์ ได้ค่าเฉลี่ยแต่ละการทดลอง(Mean $\pm$ SE) ดังนี้ การทดลองควบคุม 0.23 $\pm$ 0.01เปอร์เซนต์ , ความเข้มข้น 0.3 ppm 0.25 $\pm$ 0.04 เปอร์เซนต์ และ ความเข้มข้น 0.7 ppm 0.23 $\pm$ 0.02 เปอร์เซนต์ การตรวจสอบทางสถิติพบว่าไมโตติกอินเด็กซ์ในแต่ละความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ(รูปที่ 1)

1.3 การศึกษาโครโมโซม

1.3.1 จำนวนโครโมโซมในเซลล์ดิพลอยด์

การนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ในการทดลองควบคุมจำนวน 125 เซลล์จากปลา 5 ตัว พบจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 43-54 แท่ง โดยเซลล์ที่มีโครโมโซม 50 แท่ง พบมากที่สุดคิดเป็น 58.4 เปอร์เซนต์ (รูปที่ 2) ค่าเฉลี่ยจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์เท่ากับ49.27 โดยมีค่า

เบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.79 ดังนั้นเซลล์ดิพลอยด์ในการทดลองครั้งนี้มีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 47-51 แท่ง(รูปที่ 3)

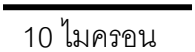
10 ไมครอน

รูปที่ 3 ชุดโครโมโซมที่เป็นดิพลอยด์ (จำนวนโครโมโซม 50 แท่ง)

1.3.2 ผลต่อจำนวนโครโมโซมของปลาตะเพียนขาว

การนับโครโมโซมจากเซลล์ปลาที่เลี้ยงในสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.3 ppm จำนวน 137เซลล์และความเข้มข้น 0.7 ppm จำนวน 144 เซลล์ พบว่าจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์มีช่วงการกระจายค่อนข้างกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีจำนวนโครโมโซมอยู่ระหว่าง 18-70 แท่ง ทั้งสองระดับความเข้มข้น (รูปที่ 4 และ 5) เมื่อจัดกลุ่มโครโมโซมตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ (ดูวิธีการข้อ5.1) เซลล์ไฮโปดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่า 47 แท่งและเซลล์ไฮเปอร์ดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 51 แท่ง (รูปที่ 6 และ 7)

รูปที่ 6 ชุดโครโมโซมที่เป็นไฮโปดิพลอยด์ (จำนวนโครโมโซม 41 แท่ง)



รูปที่ 7 ชุดโครโมโซมที่เป็นไฮเปอร์ดิพลอยด์ (จำนวนโครโมโซม 54 แท่ง)

นำเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมต่างกันในแต่ละการทดลองมาเปรียบเทียบกันโดยคิดเป็นเปอร์เซนต์(Mean ± SE) พบว่าการทดลองควบคุมมีเปอร์เซนต์ชุดโครโมโซมดิพลอยด์มากที่สุดคือ 81.60 ±5.37 เปอร์เซ็นต์ ชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์ 12.00±4.00 เปอร์เซนต์ และชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์ 6.40 ±3.58 เปอร์เซนต์ ขณะที่เซลล์จากสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมีชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์มากที่สุดคือ66.49 ± 10.59 เปอร์เซนต์ และ 71.58 ± 12.30 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm และ 0.7 ppm ตามลำดับ สำหรับเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์มี 23.98 ± 10.23 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm และ 14.67 ± 8.83 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.7 ppm และชุดดิพลอยด์มีน้อยที่สุดทั้งสองความเข้มข้นคือ 8.73 ± 3.97 เปอร์เซนต์และ 13.74 ± 5.67 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppmและ0.7 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 1และรูปที่ 8)

การเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเหมือนกันจากการทดลองแต่ละความเข้มข้นพบว่าเปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์จากการทดลองควบคุมมีมากกว่าที่พบในความเข้มข้น0.3 ppm และ 0.7 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm ไม่มีความแตกต่างกัน และเปอร์เซนต์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นไฮโปดิพลอยด์จากการทดลองควบคุมมีน้อยกว่าที่พบในความเข้มข้น0.3 และ 0.7 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm ไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับเปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมที่เป็นไฮเปอร์ดิพลอยด์ ที่การทดลองควบคุมมีน้อยกว่าที่พบในความเข้มข้น 0.3 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับที่พบในความเข้มข้น 0.7 ppm โดยที่ความเข้มข้น 0.7 ppm ไม่แตกต่างกับความเข้มข้น 0.3 ppm เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 1)

1.3.3 ผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

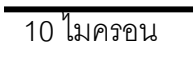
การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโครโมโซมที่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ชิ้นส่วนโครโมโซม (รูปที่ 9) การเกิดช่องว่างในโครมาติด (รูปที่ 10) และโครโมโซมเป็นวง (รูปที่ 11) โดยการเปลี่ยนแปลงที่พบมากที่สุดคือการเกิดช่องว่างในโครมาติด รองลงมาได้แก่ชิ้นส่วนโครโมโซมและโครโมโซมเป็นวง พบน้อยที่สุด(ตารางที่ 2)

จากเซลล์ที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซมในแต่ละความเข้มข้นคิดเป็นเปอร์เซนต์เซลล์ที่เสียหายเฉลี่ย (Mean $\pm$ SE) ได้ดังนี้ การทดลองควบคุม 4.00$\pm$ 1.78 เปอร์เซนต์ ความเข้มข้น 0.3 ppm 81.03$\pm$ 2.82เปอร์เซนต์ และ ความเข้มข้น 0.7 ppm 80.74 $\pm$ 2.91 เปอร์เซนต์ ผลการทดสอบทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm มีเปอร์เซนต์เซลล์เสียหายมากกว่าที่พบในการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p< 0.05$) ขณะที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm เปอร์เซนต์เซลล์เสียหายไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 12 และตารางที่ 2)

10 ไมครอน

รูปที่ 9 ชิ้นส่วนโครโมโซม

รูปที่ 10 ช่องว่างในโครมาติด



รูปที่ 11 โครโมโซมเป็นวง

2. การทดลองในความเข้มข้นที่ต่ำลงไป

จากการสำรวจเบื้องต้นพบว่าการใช้สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตที่ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 ppm มีผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครโมโซม จึงทำการทดลองต่อไปโดยใช้ความเข้มข้น 0.3 ppm และความเข้มข้นต่ำกว่า0.3 ppm ได้แก่การทดลองที่ความเข้มข้น 0.05 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่กฎหมายกำหนดไม่ให้มีเกินในแหล่งน้ำธรรมชาติ(กองจัดการคุณภาพน้ำ,2540)และ 0.15 ppm รวมทั้งทำการทดลองควบคุมด้วย

2.1 พีเอช

การวัดพีเอชเพื่อดูความสามารถในการละลายของโพแทสเซียมไดโครเมตในน้ำ ก่อนเลี้ยงปลา วัดพีเอชได้ 7.0 ทุกการทดลอง หลังการทดลองเมื่อเลี้ยงครบ 72 ชั่วโมง วัดพีเอชได้ 6.9 ที่การทดลองควบคุม และวัดได้ 7.0 ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm,0.15 ppm และ0.3 ppm

2.2 ไมโตติกอินเด็กซ์

การศึกษาไมโตติกอินเด็กซ์ ได้ค่าเฉลี่ยแต่ละการทดลอง(Mean $\pm$ SE) ดังนี้ การทดลองควบคุม 0.18 $\pm$ 0.01 เปอร์เซนต์ , ความเข้มข้น 0.05 ppm 0.21 $\pm$ 0.01 เปอร์เซนต์,ความเข้มข้น 0.15 ppm 0.17 $\pm$ 0.01 เปอร์เซนต์ และ ความเข้มข้น 0.3 ppm 0.19 $\pm$ 0.02 เปอร์เซนต์ การตรวจสอบทางสถิติพบว่าไมโตติกอินเด็กซ์ในแต่ละความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่13)

2.3 การศึกษาโครโมโซม

2.3.1 จำนวนโครโมโซมในเซลล์ดิพลอยด์

การนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ในการทดลองควบคุมจำนวน 129 เซลล์ พบจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 42-59 แท่ง โดยเซลล์ที่มีโครโมโซม 50 แท่ง พบมากที่สุดคิดเป็น 49.61 เปอร์เซนต์ (รูปที่ 14) ค่าเฉลี่ยจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์เท่ากับ48.98 โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.48 ดังนั้นเซลล์ดิพลอยด์ในการทดลองครั้งนี้มีจำนวนโครโมโซมอยู่ในช่วง 47-51 แท่ง

2.3.2 ผลต่อจำนวนโครโมโซมของปลาตะเพียนขาว

การนับโครโมโซมจากเซลล์ปลาที่เลี้ยงในสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตเข้มข้น 0.05 ppm จำนวน 140เซลล์,ความเข้มข้น 0.15 ppm จำนวน 145 เซลล์และความเข้มข้น 0.3 ppm จำนวน 138 เซลล์ พบว่าจำนวนโครโมโซมต่อเซลล์มีช่วงการกระจายค่อนข้างกว้างเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมโดยมีจำนวนโครโมโซมในความเข้มข้น 0.05 ppm อยู่ระหว่าง 18-70 แท่ง (รูปที่ 15) ,ความเข้มข้น 0.15 ppm อยู่ระหว่าง 19-70 แท่ง (รูปที่ 16) และความเข้มข้น 0.3 ppm อยู่ระหว่าง 20-70 แท่ง (รูปที่ 17) เมื่อจัดกลุ่มโครโมโซมตามเกณฑ์ เซลล์ไฮเปอร์ดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมมากกว่า 51 แท่ง และไฮโปดิพลอยด์มีจำนวนโครโมโซมน้อยกว่า 47 แท่ง

นำเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมต่างกันในแต่ละการทดลองมาเปรียบเทียบกันโดยคิดเป็นเปอร์เซนต์(Mean $\pm$ SE) พบว่าการทดลองควบคุมมีเปอร์เซนต์ชุดโครโมโซมดิพลอยด์มากที่สุดคือ 72.80 $\pm$12.45 เปอร์เซ็นต์ ชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์ 21.60$\pm$8.76 เปอร์เซ็นต์ และชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์ 8.50 $\pm$7.62 เปอร์เซนต์ ขณะที่เซลล์จากสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตมีชุดโครโมโซมไฮโปดิพลอยด์มากที่สุดคือ 79.08 $\pm$ 9.74 เปอร์เซนต์ ,78.67$\pm$5.79 เปอร์เซนต์ และ 64.97 $\pm$ 7.82เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm,0.15 ppm และ 0.3 ppm ตามลำดับ สำหรับเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์มี 11.63 $\pm$ 8.25 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm,17.20 $\pm$5.21เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.15 ppm และ 23.91 $\pm$ 5.19 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm และชุดดิพลอยด์มีน้อยที่สุดคือ 8.87 $\pm$ 4.09 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.05 ppm,4.13 $\pm$4.33เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.15 ppm และ 11.11 $\pm$ 5.30 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้น 0.3 ppm (ตารางที่ 3และรูปที่18)

เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างเซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเหมือนกันจากการทดลองในแต่ละความเข้มข้นพบว่า เปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นดิพลอยด์ในการทดลองควบคุมมากกว่าที่พบในความเข้มข้นอื่นทุกความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่ทุกความเข้มข้น ของสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมเป็นไฮโปดิพลอยด์ จากการทดลองควบคุมมีน้อยกว่าที่พบในสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตทุกความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ขณะที่ความเข้มข้น 0.05 และ 0.15 ppm ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติแต่น้อยกว่าที่พบในความเข้มข้น0.3 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุดโครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์ ที่การทดลองควบคุมและความเข้มข้น 0.05 ppm ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับที่พบในความเข้มข้น0.3 ppm พบว่ามีจำนวนน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) สำหรับการเปรียบเทียบเปอร์เซนต์เซลล์ที่มีชุด

โครโมโซมไฮเปอร์ดิพลอยด์ในระหว่างการทดลองที่มีสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมตความเข้มข้นต่างกันพบว่าความเข้มข้น 0.05 และความเข้มข้น 0.15 ppm ไม่มีความแตกต่างทางสถิติแต่มีเปอร์เซนต์เซลล์น้อยกว่าที่พบในความเข้มข้น0.3 ppm อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างความเข้มข้น0.15 ppm และ 0.3 ppm

2.3.3 ผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโครโมโซม

การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างโครโมโซมที่ตรวจพบในการศึกษาครั้งนี้ได้แก่ชิ้นส่วนโครโมโซม การเกิดช่องว่างในโครมาติด และโครโมโซมเป็นวง โดยการเปลี่ยนแปลงที่พบมากที่สุดคือการเกิดช่องว่างในโครมาติด รองลงมาได้แก่ชิ้นส่วนโครโมโซมและโครโมโซมเป็นวงพบน้อยที่สุด(ตารางที่ 4)

การเปลี่ยนแปลงของโครโมโซมในแต่ละความเข้มข้นพบว่ามีเปอร์เซนต์เซลล์ที่เปลี่ยนแปลงเฉลี่ย (Mean $\pm$ SE) ตามลำดับ ดังนี้ การทดลองควบคุม 3.76 $\pm$ 1.65 เปอร์เซนต์, ความเข้มข้น 0.05 ppm 16.00 $\pm$ 2.52 เปอร์เซนต์ ความเข้มข้น 0.15 ppm 58.23 $\pm$ 2.73เปอร์เซนต์ และความเข้มข้น 0.3 ppm 77.26 $\pm$ 4.14เปอร์เซนต์

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์เซลล์เสียหายจากแต่ละการทดลองทางสถิติพบว่าที่ความเข้มข้น 0.05 ppm, 0.15 ppm และ 0.3 ppm มีเปอร์เซนต์เซลล์เสียหายมากกว่าการทดลองควบคุมและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทุกการทดลอง ($p<0.05$) (รูปที่ 19 และตารางที่ 4)