

การใช้การตอบสนองของปลาไนล์ (*Oreochromis niloticus*) เป็นดัชนีทางชีวภาพ
เพื่อประเมินผลกระทบและความเสี่ยงทางนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมของมลพิษ
ต่อระบบนิเวศทางน้ำในบริเวณลุ่มน้ำห้วยหลวง จังหวัดอุดรธานี

The use of Biological Responses in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* as
Biomarkers for Ecological Risk Assessment of Contaminants on
Aquatic Ecosystem in Huai Laung Basin, Udon Thani Province

อัจฉราพร สมภาร¹ ณัฐสิมา โทชน์² และนันทิยา สมภาร^{3*}
Atcharaporn Somparn¹, Natsima Tokun² and Nuntiya Somparn^{3*}

¹Office of General Education, Udon Thani Rajabhat University, UdonThani, Thailand, 41000

²Environment Science Division, Faculty of Science and Technology, Valay Alongkorn Rajabhat University

³Division of Pharmacology, Preclinical Science, Faculty of Medicine, Thammasat University.

*Corresponding author. Email:Nuntiya_tom@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ใช้การตอบสนองทางชีวภาพของปลาไนล์มาใช้ในการประเมินผลกระทบและความเสี่ยงทางด้านนิเวศวิทยาและสิ่งแวดล้อมของมลพิษทางน้ำที่เกิดจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จังหวัดอุดรธานีโดยเก็บตัวอย่างน้ำจาก 3 พื้นที่ คือพื้นที่อ้างอิงพื้นที่เกษตรกรรมและพื้นที่อุตสาหกรรมในฤดูน้ำน้อย (กุมภาพันธ์-เมษายน 2560) และฤดูน้ำหลาก(พฤษภาคม-กรกฎาคม 2560) ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำโดยรวมของลุ่มน้ำห้วยหลวงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำผิวดินประเภทที่ 3 แต่อย่างไรก็ตามพบปริมาณโลหะหนักในน้ำ (Zn, Cr, Cd, Cu, Pb, Mn และFe) ในพื้นที่อุตสาหกรรมและเกษตรกรรมมีปริมาณสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพน้ำ ส่วนผลการศึกษาทางพิษวิทยา(การรอดชีวิตและการทำงานของเอนไซม์ glutathione *S-transferase* (GST) จากผลการศึกษาพบว่าน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมมีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลาไนล์มากที่สุดโดยพบการรอดชีวิตของปลาไนล์ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง ($51.00 \pm 1.20 - 76.67 \pm 0.58$ %) รองลงมาพื้นที่เกษตรกรรม ($73.33 \pm 3.20 - 86.67 \pm 2.85$ %) และพื้นที่อ้างอิง ($76.67 \pm 1.50 - 86.70 \pm 1.58$ %) ตามลำดับ ($P < 0.05$) และผลการศึกษาพบว่าน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมมีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ GST ในตับปลาไนล์ที่เวลา 48 ชั่วโมงเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับจุดเก็บตัวอย่างอื่น ($P < 0.05$) จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการใช้ประโยชน์ที่ดินในลุ่มน้ำห้วยหลวงมีผลต่อคุณภาพน้ำและมีผลทำให้ปลาไนล์ในกลุ่มทดลองมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าชุดควบคุม และส่งผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ GST ในปลาไนล์เพิ่มขึ้น ดังนั้นการตอบสนองทางชีวภาพของปลาไนล์โดยเฉพาะการทำงานของ GST ควรนำมาใช้ในการประเมินความเสี่ยงและผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมควบคู่กับการวิเคราะห์ทางเคมีเพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพในการคาดการณ์การผลกระทบของมลพิษทางน้ำลุ่มน้ำห้วยหลวงและประเทศไทยต่อไป

คำสำคัญ: เอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานสเฟอเรส การตอบสนองทางชีวภาพ

Abstract

This study aimed to investigate the potential use of biological responses of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* biomarkers for ecological risk assessment of water pollution caused by different land uses in Huai Luang Basin areas (reference, industrial and agricultural area), Udon Thani province. The specimens from each areas were taken during the dry season (February - April 2017) and wet season (May -July 2017).The results of this study revealed that the overall water quality of Huai Luang Basin was in the standard value. However, heavy metals (Zn, Cr, Cd, Cu, Pb, Mn and Fe) in the water industrial and agricultural areas were higher than the water quality standard. For the ecotoxicity test (survival and glutathione *S-transferase* (GST) activity) on Nile tilapia, the study found that water from industrial areas had higher acute toxicity (96hr) effect on % survival of Nile tilapia ($51.00 \pm 1.20 - 76.67 \pm 0.58\%$) than agricultural areas ($73.33 \pm 3.20 - 86.67 \pm 2.85\%$) and reference area ($73.33 \pm 3.20 - 86.67 \pm 2.85\%$), respectively ($P < 0.05$). In addition, significant induction of GST activity was found in Nile tilapia exposed to water (48hr) from industrial areas compared with those exposed to water from others areas ($P < 0.05$). This study demonstrated that different land uses affected the water quality resulted in lower survival rate of treatment group compared with control and resulted in induction of GST activity. Therefore, the biological responses of Nile tilapia, especially GST activity could serve as potential biomarkers for ecological risk assessment of pollutant in concurrently with chemical analysis. These biomarkers may be used to predict contamination in Huai Luang Basin and freshwater ecosystems of Thailand.

Keywords: glutathione-*S-transferase*, biological response

คำนำ

ลุ่มน้ำห้วยหลวงเป็นลุ่มน้ำที่มีความสำคัญในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีเนื้อที่ประมาณ 2,588,724 ไร่ ก่อนไหลไปรวมกับแม่น้ำโขง และถูกนำไปใช้ประโยชน์ทั้งการผลิตน้ำประปาเพื่ออุปโภคบริโภค การประมง และการเกษตรกรรม แต่เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากรการขยายตัวของภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมที่เพิ่มสูงขึ้นในปัจจุบันส่งผลให้คุณภาพน้ำลุ่มน้ำห้วยหลวงเสื่อมโทรมลงและเกิดการสะสมของสารมลพิษในแหล่งน้ำซึ่งส่งผลทำให้สัตว์น้ำได้รับอันตราย (Regional environmental office 9, 2015) โดยเฉพาะปลาที่เป็นอาหารหลักที่สำคัญของมนุษย์หากมีการสะสมของมลพิษก็มีศักยภาพที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้ายในระบบห่วงโซ่อาหารได้ (Kim *et al.*, 2015) ดังนั้นการประเมินความเสี่ยงและผลกระทบของมลพิษในลุ่มน้ำห้วยหลวงจึงมีความสำคัญโดยการทดสอบทางนิเวศพิษวิทยา (Ecotoxicology test) เป็นแนวทางหนึ่งที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงและผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมในปัจจุบัน โดยทำการศึกษากิจกรรมของสารมลพิษลักษณะทางกายภาพและเคมีการแพร่กระจายของสารมลพิษ รวมถึงความสัมพันธ์ของสารมลพิษกับระบบนิเวศโดยวิธีการนำสารเหล่านั้นมาทดสอบความเป็นพิษต่อ

สัตว์ทดลองซึ่งวิธีนี้สามารถใช้ประเมินระดับสารมลพิษที่สิ่งมีชีวิตได้รับแล้วนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้และเป็นเครื่องมือที่ใช้เป็นวัฏการปนเปื้อนของมลพิษในระบบนิเวศ (Bae and Park, 2014) โดยปัจจุบันปลานิล (Nile tilapia) ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการประเมินผลกระทบในระบบนิเวศทางน้ำ เนื่องจากพบได้แพร่หลาย เพราะเลี้ยงได้ในห้องปฏิบัติการ ตอบสนองต่อสารมลพิษได้ดีและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจและเป็นแหล่งอาหารหลักของมนุษย์ (Figueiredo-Fernandes *et al.*, 2007) ซึ่ง Lasheen *et al.* (2012) รายงานว่า ปลานิลสามารถตอบสนองต่อสารมลพิษได้ดีในระดับที่แตกต่างกันตามชนิดและระดับความเข้มข้นของสารที่ได้รับจึงสามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้ทางชีวภาพในการติดตามผลกระทบทางสิ่งแวดล้อมได้ดี แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษามลพิษทางน้ำในประเทศไทยส่วนใหญ่ศึกษาข้อมูลเฉพาะทางด้านกายภาพและทางเคมีส่วนข้อมูลทางชีวภาพมีการศึกษาอยู่น้อย โดยเฉพาะข้อมูลด้านนิเวศพิษวิทยากับสิ่งมีชีวิตทำให้ข้อมูลและวิธีการที่อ้างอิงส่วนใหญ่เป็นข้อมูลที่ได้ต่างประเทศและเมื่อนำข้อมูลมาปรับใช้อาจไม่เหมาะสมเนื่องจากสภาพแวดล้อมรวมถึงชนิดสิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบแตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงนำปลานิลที่เป็นสัตว์น้ำในท้องถิ่นมาใช้ในการประเมินผลกระทบของมลพิษทางน้ำในกลุ่มน้ำห้วยหลวงควบคู่กับการศึกษาทางด้านกายภาพและเคมีซึ่งข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบการกำหนดมาตรฐานคุณภาพน้ำและใช้เป็นเครื่องมือในการค้นหาคาดการณ์ผลกระทบของมลพิษในน้ำรวมถึงใช้ในการติดตามเฝ้าระวัง และจัดการคุณภาพน้ำในกลุ่มน้ำห้วยหลวงและระบบนิเวศทางน้ำของประเทศไทยอย่างยั่งยืนต่อไปได้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อประเมินผลที่เกิดจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จังหวัดอุดรธานี ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำและการสะสมของโลหะหนักในระบบนิเวศทางน้ำ
2. เพื่อศึกษาความเป็นพิษของมลพิษทางน้ำที่เกิดจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จังหวัดอุดรธานี ที่ส่งผลต่อพิษต่อการรอดชีวิต และกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ glutathione S- transferase (GST)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พื้นที่ศึกษา สถานีเก็บตัวอย่างและช่วงเวลาเก็บข้อมูล

พื้นที่ศึกษาคือพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จ.อุดรธานี โดยแบ่งพื้นที่เก็บตัวอย่างตามกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างซึ่งแบ่งออกเป็น 3 พื้นที่ คือพื้นที่อ้างอิง พื้นที่เกษตรกรรมและพื้นที่อุตสาหกรรมโดยเก็บตัวอย่าง 2 ฤดูกาล คือ ในช่วงฤดูน้ำน้อย (กุมภาพันธ์ - เมษายน 2560) และในฤดูน้ำหลาก (พฤษภาคม - กรกฎาคม 2560) ทำการเก็บตัวอย่างฤดูกาลละ 3 ครั้งดังต่อไปนี้

1.1 สถานีที่ 1 (พื้นที่อ้างอิง) ตั้งอยู่บริเวณ $17^{\circ}22'30''N$ $102^{\circ}36'3''E$ ในพื้นที่ต้นน้ำลุ่มน้ำห้วยหลวง จ. อุดรธานี ซึ่งเป็นเขื่อนสร้างเพื่อการชลประทาน และเป็นแหล่งน้ำสำหรับใช้ผลิตน้ำประปาในจังหวัดอุดรธานี

1.2 สถานีที่ 2 (เกษตรกรรม) ตั้งอยู่บริเวณ $17^{\circ}22'54''N$ $102^{\circ}35'41''E$ มีเนื้อที่ประมาณ 30 ไร่ โดยมีการปลูกพืช เช่น ทำนา ปลูกอ้อย ถั่วฝักยาวมะนาว พริก ทำนา และมีฟาร์มเลี้ยงหมูและไก่

1.3 พื้นที่เก็บตัวอย่างที่ 3 (อุตสาหกรรม) ตั้งอยู่บริเวณ $17^{\circ}25'19''N$ $102^{\circ}36'54''E$ เป็นบริเวณจตุรรมรับน้ำจากโรงงานผลิตและแปรรูปยางพาราและโรงเลื่อยไม้ ในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง

2. การเก็บและวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการ

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำแบบจ้วง (Grab Sampling) พร้อมกับวิเคราะห์คุณภาพน้ำบางประการตามวิธีของ APHA (1996) ได้แก่ ค่าของแข็งทั้งหมด (Total solid) ของแข็งที่ละลายน้ำ (Total dissolved solid) ของแข็งแขวนลอยในน้ำ (Suspended solids) ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำ (BOD) ปริมาณออกซิเจนที่ใช้ออกซิไดซ์สารอินทรีย์ในน้ำ (COD) ออร์โธฟอสเฟต-ฟอสฟอรัส ไนเตรท-ไนโตรเจน ค่าการนำไฟฟ้า (Electrical conductivity) ค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) ความกระด้าง (Hardness) และโลหะหนัก (Zn, Cu, Cr, Cd, Pb, Mn และ Fe)

3. การทดสอบทางนิเวศพิษวิทยาของน้ำเกิดจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จ. อุตรดิตถ์ ที่มีผลต่อการรอดชีวิต และการทำงานของเอนไซม์ GST ในตับปลานิล

สิ่งมีชีวิตที่ใช้ทดสอบ คือปลานิล *Oreochromis niloticus* โดยนำปลานิลอายุ 10 วัน จากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงประมงน้ำจืด จ.อุตรดิตถ์ มาเพาะเลี้ยงที่ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ และเมื่ออายุครบ 1 เดือน ซึ่งมีขนาดลำตัวยาว 3 - 5 เซนติเมตรจึงนำมาทดสอบทางพิษวิทยา ซึ่งทดสอบโดยใช้วิธีวิเคราะห์แบบน้ำนิ่งไม่เปลี่ยนน้ำ (static bioassay) ตามวิธีของ US EPA (2002) แบ่งการทดสอบออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ในแต่ละชุดการทดลองแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม คือ น้ำจากพื้นที่อ้างอิงและกลุ่มทดลอง ได้แก่ ตัวอย่างน้ำที่ได้จากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่ต่างกัน 2 พื้นที่ ที่ระดับความเข้มข้น 100 % และใช้ปลานิลจำนวน 10 ตัวต่อซ้ำและทดลองทั้งหมด 6 ซ้ำ โดยชุดการทดลองที่ 1 ทดสอบการรอดชีวิตของปลานิลด้วยการสังเกตการตอบสนองของปลานิลและจุดบันทึกการตายที่ระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พร้อมวัดคุณภาพน้ำบางประการจนถึงสิ้นสุดการทำการทดลอง (APHA, 1996) จากนั้นนำผลที่ได้ไปคำนวณอัตราการรอดชีวิตของปลานิลที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง ส่วนการวิเคราะห์การทำงานของ GST ในปลานิลที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการทดสอบทำการตัดแยกปลานิลที่รอดชีวิตมาแยกเฉพาะส่วนตับและนำไปชั่งน้ำหนักสดหลังจากนั้นนำตัวอย่างไปวัดการทำงานของเอนไซม์ GST ซึ่งตัดแปลงตามวิธี Habig *et al.* (1974) โดยใช้ reduce GSH และ 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) เป็น substrate หลังทำปฏิกิริยานำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ช่วง 340 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader จากนั้นนำไปคำนวณการทำงานของ GST ($\Delta OD/min/mg$ protein) ส่วนการวิเคราะห์โปรตีนที่สกัดได้จากตับปลานิลตัดแปลงตามวิธี Bradford (1976) และนำตัวอย่างทั้งหมดไปวัดที่ค่าดูดกลืนแสงที่ช่วง 595 nm

4. สถิติที่ใช้ในการทดลอง

วิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพน้ำปริมาณโลหะหนักในน้ำ รวมถึงข้อมูลทางนิเวศพิษวิทยาเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มการทดลอง ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองจะทำการวิเคราะห์โดยใช้ (ANOVA) ด้วยโปรแกรม Statistical 8 software

ผลและวิจารณ์การศึกษา

1. สถานการณ์คุณภาพน้ำบางประการในกลุ่มน้ำห้วยหลวง จ. อุตรดิตถ์ โดยรวมยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำผิวดินประเภทที่ 3 ทั้งสามพื้นที่ยกเว้นบางพารามิเตอร์ ได้แก่ สารอินทรีย์ และปริมาณโลหะหนัก ในน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมและเกษตรกรรมมีค่าเกินเกณฑ์มาตรฐานน้ำผิวดินประเภทที่ 3 (Pollution Control Department, 1994) และพบว่าพื้นที่อุตสาหกรรมมีคุณภาพน้ำค่อนข้างเสียและมีปริมาณโลหะหนักในน้ำค่อนข้างสูงกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่น รองลงมา คือ พื้นที่เกษตรกรรม และพื้นที่อ้างอิงตามลำดับ (Table 1) ซึ่งการที่พื้นที่อุตสาหกรรมมีปริมาณสารอินทรีย์ และโลหะหนักในน้ำสูงกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่น อาจเนื่องจากเป็นจุดที่รับน้ำจากโรงงานที่มีการแปรรูปยางพาราซึ่งในกระบวนการผลิตมีการนำวัตถุดิบในการผลิต เช่น น้ำยางพาราและโลหะหนักเข้ามาใช้ในกระบวนการผลิต ซึ่งอาจทำให้น้ำเสียที่เกิดขึ้นมีความสกปรกในรูปสารอินทรีย์ และโลหะหนักน้ำสูงกว่าจุดอื่น (Massoudinejad *et al.*, 2015) (Table 1) ส่วนในพื้นที่เกษตรกรรมที่วัดค่า BOD ได้สูงอาจเนื่องจากมีฟาร์มเลี้ยงสัตว์บริเวณใกล้เคียงซึ่งอาจส่งผลทำให้วัดค่า BOD ได้สูงเกินมาตรฐานคุณภาพน้ำ ส่วนปริมาณโลหะหนักที่มีสูงอาจเนื่องจากการนำเอาสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ รวมถึงปุ๋ยเคมีเข้ามาใช้ซึ่งองค์ประกอบของทั้งสองอย่างอาจมีโลหะหนักปนเปื้อนอยู่ด้วย โดย Wu and Zhang (2010) รายงานว่าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์โดยทั่วไปจะมีองค์ประกอบของ Cd, Hg และ Pb โดยเฉพาะ Cu และ Zn ที่พบมากในพื้นที่เกษตรกรรมซึ่งจะพบว่า Cu เป็นองค์ประกอบของยาฆ่าหญ้าและสารกำจัดหอยหรือสาหร่าย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Zarcinas *et al.* (2004) ที่อธิบายว่าปุ๋ยฟอสเฟตเป็นแหล่งหลักที่มีการปนเปื้อนของ Cd มากที่สุด นอกจากนี้ยังพบ Cu, As และ Zn สูงด้วย ดังนั้นจึงอาจส่งผลทำให้พบโลหะหนักได้สูงในพื้นที่ทำเกษตรกรรม ส่วนผลของฤดูกาลที่แตกต่างกันพบว่าพารามิเตอร์น้ำที่ตรวจวัดส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกันยกเว้น COD ในฤดูน้ำน้อยมีค่าสูงในจุดพื้นที่อุตสาหกรรมและ EC ที่มีแนวโน้มสูงขึ้นในฤดูน้ำหลากเช่นเดียวกับโลหะหนักในน้ำที่มีเข้มข้นสูงในฤดูน้ำหลากมากกว่าฤดูน้ำน้อย ซึ่งอาจเกิดจากช่วงฤดูน้ำหลากเป็นช่วงที่มีฝนตกส่งผลทำให้น้ำฝนชะล้างสารต่าง ๆ ลงสู่แหล่งน้ำได้ง่าย จึงอาจส่งผลทำให้คุณภาพน้ำในฤดูน้ำหลากมีแนวโน้มต่ำและมีความเข้มข้นของโลหะหนักสูงกว่าในช่วงฤดูน้ำน้อย ซึ่งสอดคล้องกับ Offem *et al.* (2011) อธิบายว่าฝนที่ตกมีผลต่อการละลายและเคลื่อนย้ายโลหะหนักลงสู่แหล่งน้ำสูงขึ้น

Table 1 Water quality and concentration of heavy metal in water in Huai Luang Basin, Udon Thani Province in dry and wet seasons

Parameters	Reference area		Agricultural area		Industrial area	
	Dry	Wet	Dry	Wet	Dry	Wet
pH	6.40±0.20	6.59±0.12	6.26±0.12	6.35±0.01	6.60±0.04	7.86±0.21
EC (μ S/cm)	67.62±0.14 ^d	70.36±2.25 ^d	74.78±2.12 ^d	118.10±0.17 ^c	240.70±0.10 ^b	405.10±0.61 ^a
DO (mg/L)	6.52± 1.75	8.25±1.10	7.25±1.80	7.57±1.20	3.45± 1.27 ^a	5.92±1.51
BOD (mg/L)	3.34±2.11 ^d	5.33±1.88 ^d	6.67±1.35 ^d	10.21±2.67 ^c	95.66±9.24 ^a	17.45 ±4.56 ^b
COD (mg/L)	21.33±9.24 ^d	21.33±9.24 ^d	26.67±1.48 ^d	42.67±9.24 ^c	386.67±9.24 ^a	69.87±1.63 ^b
Hardness						
(mg/L as CaCO ₃)	55.33±3.06 ^c	65.33±3.06 ^b	65.33±5.77 ^b	70.00±4.00 ^b	69.33±10.37 ^b	150.67±3.06 ^a
Alkalinity (mg/L)	82.00±5.30 ^{cd}	76.00± 2.00 ^d	73.33±4.16 ^d	91.33±4.16 ^c	150.00±2.46 ^b	560.00±1.73 ^a
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0.09±0.04	0.12 ±0.10	0.10±0.25	0.14 ±0.01	0.18±0.10	0.22 ±0.10
PO ₄ ⁻ (mg/L)	0.05±0.13	0.04± 0.15	0.03±0.22	0.03± 0.07	0.06±0.04 ^a	0.03±0.00
Zn (mg/L)	0.17 ±0.04 ^c	1.81±0.20 ^b	0.29±0.08 ^c	4.65±0.04 ^a	1.84±0.04 ^b	2.07±0.04 ^b
Cr (mg/L)	<0.005±0.04 ^b	<0.005±0.04 ^b	0.30±0.020 ^a	<0.005±0.03 ^b	0.36±0.08 ^a	0.31±0.02 ^a
Cd (mg/L)	0.02±0.01 ^a	0.02± 0.00 ^a	0.24±0.10	0.20±0.03	0.22 ±0.00	0.22 ±0.00
Cu (mg/L)	0.01±0.01 ^b	0.51±0.01	0.56 ±0.00	0.74±0.01 ^a	0.51± 0.01	0.56 ±0.02
Pb (mg/L)	<0.001±0.07 ^f	0.28 ±0.01 ^c	0.15±0.02 ^e	0.51±0.02 ^b	0.24 ±0.00 ^d	6.97±0.28 ^a
Mn (mg/L)	1.52±0.04 ^d	1.11 ±0.10 ^e	7.73 ±1.50 ^b	12.18±1.56 ^a	2.03 ±0.20 ^c	1.90±0.01 ^c
Fe (mg/L)	10.54±0.04	10.05±0.86	12.17± 0.08	52.53±0.84 ^a	49.63±0.08 ^a	13.80±1.42

Values are mean±SD in the same row followed by the same letter are not significantly different at (P>0.05) and different letters in superscript indicate significant difference at (P<0.05)

2. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของน้ำจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวง จ.อุดรธานี ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของปลาชนิดที่พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตลดลงเมื่อเวลาผ่านไปและเมื่อครบระยะเวลา 96 ชั่วโมง ปลาชนิดที่ได้รับน้ำจากพื้นที่อ่างอิงเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ในช่วง 76.67±1.50 - 86.67±1.58 % ส่วนในฤดูน้ำหลากความเป็นปลาชนิดมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตอยู่ในช่วง 51±1.20 - 76.67±1.50 % โดยพบว่าน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมมีความเป็นพิษเฉียบพลันที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของปลาชนิดมากที่สุดรองลงมาคือพื้นที่เกษตรกรรมและอ่างอิงตามลำดับ ซึ่งการที่พื้นที่อุตสาหกรรมมีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลาชนิดมากที่สุดอาจเกิดจากคุณภาพน้ำในพื้นที่มีปริมาณของโลหะหนักในน้ำสูงรวมถึงพารามิเตอร์น้ำโดยเฉพาะความสกปรกในรูปของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ที่มีค่าสูงกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่นซึ่งสอดคล้องกับ Eissa *et al.* (2013) และ Massoudinejad

et al. (2015) ที่อธิบายว่าน้ำเสียที่เกิดจากพื้นที่อุตสาหกรรมโดยเฉพาะจากการผลิตยางพาราจะมีพวกสารอาหารรวมทั้งของเสียที่เป็นของแข็งและโลหะหนักสูงซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดหลักที่ทำให้โลหะหนักปนเปื้อนในระบบนิเวศทางน้ำและเป็นอันตรายต่อพวกปลาและสัตว์น้ำชนิดอื่นจากผลดังกล่าวจึงอาจทำให้น้ำที่มาจากพื้นที่อุตสาหกรรมมีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลานิลมากกว่าจุดเก็บตัวอย่างอื่น ส่วนพื้นที่อ้างอิงแม้ว่าคุณภาพน้ำและปริมาณโลหะหนักอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำผิวดิน แต่จากผลการวิจัยนี้ยังพบการตายของปลานิลในระยะเฉียบพลันมากกว่า 10 % (US EPA, 2002) อาจเกิดเนื่องจากมีสารมลพิษกลุ่มอื่นปนเปื้อนในแหล่งน้ำ เช่นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ เพราะจากผลการวิจัยนี้พบการทำงานของเอนไซม์ GST ในตับปลานิลเพิ่มสูงขึ้นหลังสัมผัสน้ำในพื้นที่อ้างอิง (Table 2) ซึ่ง GST เป็นเอนไซม์ที่ช่วยในการกำจัดสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย และตอบสนองได้ดีกับสารกลุ่มโลหะหนักและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ ดังนั้นจึงอาจเป็นสาเหตุทำให้ปลานิลที่ใช้ทดสอบตาย (Farombi et al., 2017) ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปผู้วิจัยจะทำการตรวจวัดสารมลพิษตัวอื่นเพิ่มเติมเพื่อที่สามารถวิเคราะห์คุณภาพน้ำครอบคลุมยิ่งขึ้น ส่วนปัจจัยของฤดูกาลพบว่าคุณภาพน้ำใน ฤดูแล้งมีแนวโน้มที่มีความเป็นพิษเฉียบพลันต่อปลานิลสูงกว่าในฤดูน้ำน้อยซึ่งอาจเกิดจากในฤดูน้ำหลากตรวจวัดปริมาณโลหะหนักรวมถึงความสกปรกในรูปของสารอินทรีย์และอนินทรีย์ได้สูงกว่าในฤดูน้ำน้อยซึ่งอาจส่งผลทำให้ ปลานิลมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำซึ่งสอดคล้องกับ Offem et al. (2011) และ El-Azim et al. (2017) ที่รายงานว่าในฤดูน้ำหลากน้ำฝนมีการชะล้างสารมลพิษลงสู่แหล่งน้ำได้สูงกว่าฤดูน้ำน้อยซึ่งทำให้ทั้งปริมาณและคุณภาพน้ำลดลง

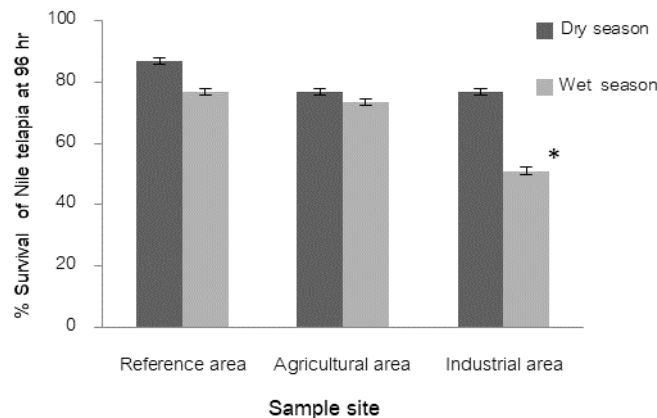


Figure 1 Acute effect of polluted water in Huai Luang Basin, Udon Thani Province on % survival of Nile tilapia at 96 hr, *indicate significant difference among different value as each area (LSD, <0.05).

3. ส่วนผลการศึกษาน้ำจากกิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินที่แตกต่างกันในพื้นที่ลุ่มน้ำห้วยหลวงที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ GST ในตับปลานิล ที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง (Table 2) พบว่าในฤดูน้ำน้อยและฤดูน้ำหลากการทำงานของเอนไซม์ GST ในตับปลานิลอยู่ในช่วง $0.018 \pm 0.01 - 0.038 \pm 0.02$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mgP}$ และ $0.021 \pm 0.03 - 0.045 \pm 0.02$ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mgP}$ ตามลำดับ โดยพบว่าปลานิลที่ได้รับน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมจะพบการทำงานของ GST ในตับสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับจุดเก็บ

ตัวอย่างอื่น ($P < 0.05$) รองลงมาคือพื้นที่เกษตรกรรมและพื้นที่อ้างอิงตามลำดับ ซึ่งการที่ปลาชนิดที่สัมผัสน้ำจากพื้นที่อุตสาหกรรมมีการทำงานของเอนไซม์ GST ในตับสูงกว่าพื้นที่อื่น อาจเนื่องจากปลาชนิดตัวอ่อนเอนไซม์ GST ซึ่งเป็น detoxification enzyme ซึ่งมีกลไกการทำงานป้องกันและกำจัดสารแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายสิ่งมีชีวิต โดย GST จะทำปฏิกิริยาเคมีในการกำจัดขจัดสารแปลกปลอมออกจากสิ่งมีชีวิตซึ่งจะตอบสนองได้ดีกับโลหะหนัก และสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (Farombi *et al.*, 2017) ดังนั้นเมื่อปลาชนิดสัมผัสน้ำในพื้นที่อุตสาหกรรมซึ่งมีความเข้มข้นของสารอินทรีย์อนินทรีย์และโลหะหนักในน้ำสูงสุดจึงตรวจวัดการทำงานของ GST ในตับปลาชนิดสูงเช่นกัน อีกทั้งจากการศึกษา ยังพบว่าการทำงานของ GST https://apds.mju.ac.th/Login_Check_Academic.aspx ยังเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสน้ำนานขึ้นเช่นกันซึ่งสอดคล้องกับ Joseph and Kafilat (2012) ที่อธิบายว่าปลา *Clarias gariepinus* สัมผัสกับน้ำที่มี Zn และ Pbปนเปื้อนจะพบ GST เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่สัมผัสน้ำที่เพิ่มขึ้น ส่วนผลของฤดูกาลพบว่าไม่มีผลต่อการทำงานของ GST ในตับปลาชนิด (Table 2) โดยจากการศึกษานี้พบว่าแม้ว่าคุณภาพน้ำลุ่มน้ำห้วยหลวงอยู่ในเกณฑ์คุณภาพน้ำผิวดินแต่ระดับความเข้มข้นสารมลพิษพิษดังกล่าวก็ยังคงส่งผลกระทบต่อการทำงานของ GST ในตับปลาชนิดได้ตั้งแต่ระยะเวลา 24 ชั่วโมงซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจส่งผลกระทบต่อเนื่องถึงการทำงานทางด้านสรีระหรือชีวเคมีในสิ่งมีชีวิตได้

Table 2 Effect of polluted water in Huai Luang Basin, Udon Thani Province on GST activity in liver of Nile tilapia at 24 and 48hr

Site sample	GST activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mgP}$)			
	24 hr		48 hr	
	Dry	wet	Dry	wet
Reference area	0.014 \pm 0.01 ^b	0.021 \pm 0.03 ^a	0.018 \pm 0.14 ^{ab}	0.021 \pm 0.07 ^{ac}
Agricultural area	0.021 \pm 0.02 ^a	0.021 \pm 0.04 ^a	0.031 \pm 0.07 ^{ac}	0.034 \pm 0.04 ^{bc}
Industrial area	0.025 \pm 0.08 ^a	0.025 \pm 0.07 ^a	0.038 \pm 0.02 ^a	0.045 \pm 0.02 ^b

Note: Value are mean of six replication \pm SD; different letters in superscript indicate significant difference among different value as each exposure ($P < 0.05$).

สรุปและข้อเสนอแนะ

กิจกรรมการใช้ประโยชน์ที่ดินแต่ละประเภทในลุ่มน้ำห้วยหลวงก่อให้เกิดของเสียที่มีคุณสมบัติที่ต่างกัันซึ่งของเสียที่เกิดจากการใช้ประโยชน์ในแต่ละกิจกรรมจะมีความสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำและและปริมาณโลหะหนักที่ตรวจพบ นอกจากนี้ฤดูกาลและสภาพที่ตั้งของพื้นที่ก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพน้ำและการสะสมของสารมลพิษ ดังนั้นในการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำจึงจำเป็นต้องนำปัจจัยของสภาพแวดล้อมมาประกอบพิจารณาด้วย อีกทั้งในการตรวจวัดคุณภาพน้ำทางเคมีอย่างเดียวยังไม่สามารถสะท้อนถึงผลกระทบของมลพิษในพื้นที่ได้ดีเพราะถึงแม้ว่าระดับคุณภาพน้ำโดยรวมของห้วยหลวงอยู่ในเกณฑ์

มาตรฐานคุณภาพน้ำ อย่างไรก็ตามคุณภาพน้ำดังกล่าวยังส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์ GST ตั้งแต่ระยะ 24 ชั่วโมง ดังนั้นการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้กิจกรรมทางด้านชีวเคมีในสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะการทำงานของเอนไซม์ GST ถือว่าเป็น biomarker ที่สำคัญที่สามารถใช้ประเมินการปนเปื้อนของสารมลพิษในแหล่งน้ำได้ดีเนื่องจากเป็นกลไกในการตอบสนองได้ไวตั้งแต่ปริมาณสารมลพิษระดับต่ำๆ ซึ่งดีกว่าการวิเคราะห์ทางเคมีเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ปลาไนล์เป็นสิ่งมีชีวิตในท้องถิ่นอีกชนิดหนึ่ง que ควรพัฒนาและนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดผลกระทบสิ่งแวดล้อม เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสัตว์ทดลอง มีความไวต่อสารมลพิษ และและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ จึงเหมาะสมที่ใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพในการติดตามและประเมินความเสี่ยงของมลพิษในระบบนิเวศทางน้ำในลุ่มน้ำห้วยหลวงและระบบนิเวศทางน้ำของประเทศไทยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- American Public Health Association (APHA). 1996. American Water Works Association and Federal Water Pollution Control Administration. Standard method for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Bae, M.J., and Park, Y.S. 2014. Biological early warning system based on the responses of aquatic organisms to disturbances: a review. *Science of the Total Environment*. 1(466-467): 635-49.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Eissa, A.E., Tharwat, N.A., and Zaki, M.M. 2013. Field assessment of the mid-winter mass kills of trophic fishes at Mariotteya stream, Egypt: chemical and biological pollution synergistic model. *Chemosphere*. 90: 1061-1068.
- El-Azim, H.A., Mehanna, S.F., and Belal, A.A. 2017. Impacts of water quality, fishing mortality and food availability on the striped piggy *Pomadasys stridens* production in Bitter lakes, Egypt. *Annals Marine Science*. 1(1): 019-027.
- Farombi, E.O., Adelowo, O.A., and Ajimoko, Y.R. 2007. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish from Nigeria Ogun River. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 4:158-165.
- Figueiredo - Fernandes, A., Ferreira-Cardoso, J.V., Garcia-Santos, S., Monteiro, SM., Carrola, J., and Matos, P. 2007. Histopathological changes in liver and gill epithelium of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, exposed to waterborne copper. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 27(3): 103-109.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., and Jakoby, W.B. 1974. Glutathione-S-transferase: The fish enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249: 7130-7139.

- Joseph, K. S., and Kafilat, A.B.A. 2012. Toxicological effects of lead and zinc on the antioxidant enzyme activities of Juvenile *Clarias gariepinus*. Resources and Environment. 2(1): 21-26.
- Kim, H.J., Koedrith, P., and Seo, Y. R. 2015. Ecotoxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of environmental chemical toxicity using aquatic invertebrate, *Daphnia* model organism. International Journal of Molecular Sciences. 29:16(6): 12261-12287.
- Lasheen, MR., Abdel-Gawad, FK, .Alaneny, AA., and Hassan, M.H.2012. Fish as bio indicators in aquatic environmental pollution assessment: A case study in Abu-Rawash area, Egypt. World Applied Sciences Journal.19 (2): 265-275.
- Massoudinejad, M., Mehdipour-Rabori, M., and Dehghani, M.H. 2015. Treatment of natural rubber industry wastewater through a combination of physicochemical and ozonation processes. Journal of Advances in Environmental Health Research. 3(4): 243-249.
- Offem, B.O., Ayotunde, E.O., Ikpi, G.U., Ochang, S.N., and Ada,F.B. 2011.Influence of seasons on water quality, abundance of fish and plankton species of Ikwori lake, South-Eastern Nigeria. Fisheries and Aquaculture Journal.FAJ-13.
- Regional environmental office 9. 2015. Full report water quality. 2015. The Mekong Basin (Udon Thani, Nong Khai, Sakon Nakhon, Nakhon Phanom Province). Ministry of Natural resources and Environment [in Thai].
- US.EPA.2002. Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. Document EPA-821-R-02-012. U.S. Environmental Protection Agency Office of Water, Washington, DC.
- Pollution control Department.1994. Water quality standard:Notification of the National Environmental Board, No. 8, B.E. Ministry of Natural Resources and Environment[in Thai]
- Wu, C.,and Zhang, L. 2010. Heavy metal concentrations and their possible sources in paddy soils of a modern agricultural zone, south eastern China. Environmental Earth Science. 60: 45-56.
- Zarcinas, B. A., Pongsakul, P., McLaughlin, M.J., and Cozens, G. 2004. Heavy metals in oils and crops in south-east Asia. Peninsular Malaysia. Environmental Geochemistry and Health. 26: 343-357.