



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลกระทบของยากำจัดศัตรูพืชที่อาจก่อให้เกิด
โรคพาร์คินสัน ต่อสิ่งมีชีวิตที่พบในระบบนิเวศน์ทางน้ำ โดยใช้สิ่ง
มีชีวิตเป็นเครื่องมือทดสอบ

โดย สพ.ญ. ดร. นลินา ประไพรักษ์สิทธิ์ และคณะ

มิถุนายน 2547

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลกระทบของยากำจัดศัตรูพืชที่อาจก่อให้เกิดโรคพาร์คินสัน ต่อสิ่งมีชีวิตที่พบในระบบนิเวศน์ทางน้ำ โดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นเครื่องมือทดสอบ

สพ.ญ. ดร. นลินา ประไพรัชสิทธิ์	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ศ. พญ. ท่านผู้หญิง เพ็ญศรี ภูตระกูล	มหาวิทยาลัยมหิดล

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยความช่วยเหลือของหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ท่านผู้หญิง เพ็ญศรี ภูตระกูลที่กรุณาเสียสละเวลา รับเป็นนักวิจัยพี่เลี้ยง ให้คำแนะนำ ในขั้นตอนต่างๆของการทำวิจัยตลอดระยะเวลาของโครงการนี้ ขอขอบคุณ Professor Dr. Charles D. Drewes ที่กรุณาให้คำปรึกษาทางเทคนิค และเชื้อเพื่อภาพประกอบขอบคุณภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรที่เชื้อเพื่อเครื่องมือวิจัย ขอขอบคุณ ดร.ณรงค์ ประไพรัชสิทธิ์ ที่เป็นกำลังใจและคอยอย่างแนะนำสม่ำเสมอ ขอขอบคุณผู้ร่วมงานทั้งที่ภาควิชาสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่เป็นกำลังใจและช่วยเหลือในการทำงาน

งานวิจัยนี้จะดำเนินไปไม่ได้ถ้าปราศจากทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย ผู้วิจัยจึงขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายวิชาการและการเงิน ที่แนะนำ และช่วยเหลือมาโดยตลอด

สพ.ญ ดร. นลินา ประไพรัชสิทธิ์

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : TRG4580029

ชื่อโครงการ : โครงการ ผลกระทบของยากำจัดศัตรูพืชที่อาจก่อให้เกิดโรคพาร์คินสัน ต่อสิ่งมีชีวิตที่พบในระบบนิเวศทางน้ำ โดยใช้สิ่งมีชีวิตเป็นเครื่องมือทดสอบ

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: สพ.ญ. ดร. นลินา ประไพรัชสิทธิ์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

นักวิจัยพี่เลี้ยง : ศ. พญ. ท่านผู้หญิง เพ็ญศรี ภูตระกูล มหาวิทยาลัยมหิดล

นักวิจัยที่ปรึกษา (ต่างประเทศ) : Prof. Dr. Charles D. Drewes Iowa State University

E-mail address : nalena@swu.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : กรกฎาคม 2545 – มิถุนายน 2547

วัตถุประสงค์วิธีทดลองผลการทดลองสรุปและวิจารณ์และข้อเสนอแนะ

บทคัดย่อ : งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของยากำจัดศัตรูพืช Rotenone Paraquat Dieldrin และ Nicotine ต่อระบบประสาท ระบบไหลเวียนและพฤติกรรมของไส้เดือนน้ำ วิธีการทดลองทำโดยให้ไส้เดือนน้ำสัมผัสกับสารเป็นเวลา 10 นาทีและ 24 ชั่วโมง การทดสอบทำทั้งก่อนและหลังสัมผัสกับสาร ผลการทดลองพบว่าพฤติกรรมตอบสนองของไส้เดือนน้ำต่อการกระตุ้นโดยการสัมผัสเบาๆ คือ เมื่อสัมผัสกับ Rotenone Paraquat และ Dieldrin เป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง มีการคลานที่เป็นปกติ แต่มีการว่ายน้ำและการกลับตัวลดลง อัตราการบีบตัวของเส้นเลือด Dorsal blood vessel เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารละลายทั้งสามเพิ่มขึ้น ยกเว้นเมื่อสัมผัสกับ Dieldrin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบการบีบตัวของเส้นเลือดเลย เมื่อสัมผัสกับ Nicotine ไส้เดือนน้ำหยุดพฤติกรรมเคลื่อนไหวทั้งหมด อัตราการบีบตัวของเส้นเลือดเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารละลายเพิ่มขึ้นแต่การบีบตัวลดลงเมื่อความเข้มข้นขึ้นถึง 0.1 และ 0.2 มล./ล และที่ 24 ชั่วโมงไม่พบการบีบตัวของเส้นเลือด ความเร็วในการนำกระแสประสาทเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นสารละลายทั้งสี่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อให้สัมผัสกับ Rotenone ความเข้มข้น 0.02 ppm Dieldrin 1 ppm และ Nicotine 0.1 มล./ล พบว่าไม่มีการนำกระแสประสาท

คำหลัก : ไส้เดือนน้ำ โรติโนน ดีลดริน พาราควอท นิโคติน ความเป็นพิษ

Abstract

Project code : TRG4580029

Project title : The effects of probable Parkinson' s disease-causing pesticides on a freshwater oligochaete: the use of a living organism as a bioassay

Investigator : Dr. Nalena Praphairaksit Srinakarinwirot University

Mentor : Prof. Dr. Pensri Pootrakool Mahidol University

Co-mentor : Prof. Dr. Charles D. Drewes Iowa State University

E-mail address : nalena@swu.ac.th

Project period : July 2002 – June 2004 :

Abstract: Neurotoxicity, vasculotoxicity and behavioral responses of 4 insecticides (rotenone paraquat dieldrin and nicotine) in the freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus*, after 10 min and 24 hours exposure were studied **Methodology:** Uniform *Lumbriculus sp.* were selected for testing. LC50 were measured to select the optimal doses range of rotenone paraquat dieldrin and nicotine. *Lumbriculus sp* were tested (behavior, blood pulsation and nerve conduction) before immersing in each chemicals and the same worms in each group were immersed in 4 chemicals and subsequently tested **Result, Discussion and Conclusion:**. The resulting touch-evoked behavior responses included normal crawling and reduced swimming and reversal behavior after immersion in rotenone, paraquat and dieldrin. The dorsal blood vessel pulsation rate increased as the concentration increased except for exposing to dieldrin for 24 hr showed no pulsation. Immersion in nicotine resulted in paralyzation of the worm with increase in pulsation rate at low concentration and decrease in the rate at high concentration. The giant fiber conduction velocity increased following the exposure to all chemicals statistically except for 0.02 ppm rotenone 1 ppm of dieldrin and 0.1 ml/l of nicotine which showed no conduction of nerve impulse. Our results show that increasing sublethal concentration of all 4 chemicals effect some locomotion behaviors such as swimming and reversal, dorsal blood vessel pulsation and nerve conduction in *Lumbriculus sp.* The differences in the changed pulsation rate and conduction time may be due to the variation of the sites of action of each chemical and mechanisms of toxicants action..

Keywords: *Lumbriculus sp.* rotenone, paraquat, dieldrin, nicotine sublethal toxicity

เนื้อหางานวิจัย

บทนำ

โรคพาร์กินสันเป็นโรคที่เกิดจากการเสื่อมของเซลล์ประสาทที่พบมากทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย โดยทั่วไปโรคนี้มักจะพบในกลุ่มคนอายุมากกว่า 60 ปี ผู้ป่วยจะมีอาการแข็งเกร็ง มีการสั่นร้าวของอวัยวะเช่นแขนและมือ และมีการเคลื่อนไหวที่ช้ามาก อาการเหล่านี้เกิดจากการตายของเซลล์ประสาทกลุ่มที่ผลิตสารสื่อประสาทโดปามีน ในสมองส่วน substantia nigra เกิดเป็นโปรตีน inclusion เรียกว่า Lewy bodies ในไซโตพลาสซึมของเซลล์ การศึกษาวิจัยในเรื่องผลของสิ่งแวดล้อมต่อการเกิดโรคพาร์กินสันในมนุษย์นั้น ได้มีการวิจัยกันอย่างแพร่หลายในทางระบาดวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลของยากำจัดศัตรูพืชต่างๆต่อการเกิดโรคดังกล่าว รวมถึงผลของการใช้ยากำจัดศัตรูพืชติดต่อกันเป็นเวลานานในกลุ่มคนที่ทำงานกับสารเหล่านี้ งานวิจัยบางเรื่องสามารถเชื่อมโยงความถี่ของการเกิดโรคพาร์กินสันที่เพิ่มขึ้นต่อพื้นที่ที่มีการใช้ยากำจัดศัตรูพืช และปริมาณการใช้ยากำจัดศัตรูพืชต่อปริมาณการเกิดโรคพาร์กินสัน ในประเทศต่างๆ เช่น แคนาดา และอิสราเอล²⁻⁷

ผลของการศึกษาดังกล่าวนำไปสู่ความพยายามเชื่อมโยงการเกิดโรคพาร์กินสัน กับการรับยากำจัดศัตรูพืชโดยตรง รวมทั้งมีการศึกษาผลของยากำจัดศัตรูพืชต่อการเกิดโรคพาร์กินสันในสัตว์ทดลองเช่นหนู⁸⁻⁹ ในปี 2543 ได้มีงานวิจัยโดย Thiffault และคณะ ที่ศึกษาผลของการให้ rotenone ในปริมาณมากอย่างรวดเร็วในหนู และพบว่าทำให้ DA metabolites 3,4-dihydroxyphenylacetic acid และ homovanillic acid (HVA) ในสมองของหนูมีปริมาณเพิ่มขึ้น¹⁰ นอกจากนั้นการศึกษาของ Betarbet และคณะ ซึ่งตีพิมพ์ในปลายปี 2543 ยังพบว่า เมื่อให้ rotenone ติดต่อกันเป็นเวลานาน สามารถก่อให้เกิด โปรตีน inclusion ที่มีลักษณะเหมือน Lewy bodies ในสมองของหนูทดลอง¹¹

นอกจากงานวิจัยเกี่ยวกับ rotenone ที่กล่าวข้างต้นแล้ว Bagetta และคณะ ได้ทำงานวิจัยเกี่ยวกับ paraquat ที่เป็นสารที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับ MPP⁺ ซึ่งเป็น active component ของ MPTP ซึ่งพิสูจน์แล้วว่าสามารถทำให้ผู้ที่รับเข้าไป มีอาการคล้ายโรคพาร์กินสัน paraquat สามารถทำลายสมอง และทำให้เกิด อาการชักในหนู¹² มีการศึกษาวิจัยแล้วพบว่ายากำจัดศัตรูพืชที่งานวิจัยนี้เลือกทดสอบได้แก่โรติโนน ดีลตริน พาราควอท ยกเว้น nicotine อาจมีผลต่อการเกิดโรคพาร์กินสันในมนุษย์⁵⁻⁹

งานวิจัยทางด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมซึ่งทำการศึกษาค้นคว้าของสารเคมีต่างๆต่อสิ่งมีชีวิตที่พบได้ในสภาวะแวดล้อม โดยเฉพาะ *Lumbriculus variegatus* หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่าไส้เดือนน้ำ *Lumbriculus* sp. เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังในกลุ่ม Oligochaete, Phylum Annelida มีความ

เหมาะสมในการนำมาใช้ในการศึกษาทางพิษวิทยาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากพบได้ในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ นอกจากนี้ *Lumbriculus* sp. ยังมีลักษณะทางชีวเคมี และสรีรวิทยาที่พิสูจน์แล้วว่าพบได้ในสิ่งมีชีวิตชั้นสูงและมนุษย์หลายอย่าง ตัวอย่างเช่น เส้นประสาทจะถูกหุ้มด้วยเยื่อคล้ายไมอีลิน และมีการหลั่งสารสื่อประสาทกลุ่มโคลิเนอร์จิก (cholinergic) เช่นเดียวกับที่บริเวณรอยต่อของเส้นประสาทและกล้ามเนื้อ (Neuromuscular junction) ในมนุษย์ เป็นต้น¹³ การนำ *Lumbriculus* sp. มาใช้ในการศึกษาวิจัยทางพิษวิทยานั้น มีข้อได้เปรียบหลายประการเนื่องจากสามารถทดสอบได้ง่ายด้วยวิธีการที่ไม่รุกราน (invasive) สิ่งมีชีวิต ทำให้สามารถทดสอบสัตว์ตัวเดียวกันทั้งก่อนและหลังการสัมผัสกับสารพิษ นอกจากนี้ยังสามารถสังเกตการเปลี่ยนแปลงของการทำงานของหลอดเลือดได้ง่ายจากการที่ผิวของ *Lumbriculus* sp. นั้นมีลักษณะโปร่งใสสามารถมองเห็นทะลุได้ง่าย ตัวอย่างงานวิจัยที่นำ *Lumbriculus* sp. มาใช้คืองานที่ทำโดย Rogge และ Drewes ซึ่งได้ทำการวิจัยผลของ 4-Aminopyridine Chloroform Cadmium Carbofuran และ Diazinon ต่อสรีรวิทยาระบบประสาท และพฤติกรรม ใน *Lumbriculus variegatus*¹⁴

นอกจากนี้การวิจัยนี้ได้มีการพัฒนาอุปกรณ์และวิธีทดสอบสารเคมี และยากำจัดศัตรูพืช โดยใช้ *Lumbriculus* sp. นี้ ซึ่งนำไปสู่การทดสอบการตกค้างของสารเคมีที่เป็นอันตรายที่รวดเร็ว สะดวก และประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกปฏิบัติการภาคสนามได้ง่าย และสะดวก ทำให้การประยุกต์ใช้งานเป็นไปได้กว้างขวางขึ้น

วิธีการทดลอง

การคัดเลือกสัตว์ทดลองและการดูแล

Lumbriculus sp. ชุดแรกได้ซื้อจากตลาดนัดสนามหลวง 2 และนำมาคัดเลือกโดยจะเลือกที่มีลักษณะสม่ำเสมอ ไม่มีรอยการแบ่งตัว หรือซ้ำบริเวณลำตัว เมื่อได้สัตว์ที่มีลักษณะดีมาแล้วจะนำมาเลี้ยงในห้องทดลองโดยจะเลี้ยงในอ่างปลาที่เปลี่ยนขนาดใหญ่ ใช้กระดาษที่ไม่ได้ฟอกสีทำเป็นสิ่งที่นอนกันเพื่อให้ ไข่เดือนน้ำสามารถฝังตัวอยู่ได้ ภาชนะจะต้องมีการผ่านอากาศเข้าไปโดยปั๊มอย่างสม่ำเสมอ และน้ำที่ใส่จะต้องเป็นน้ำที่ปราศจากคลอรีน การให้อาหารจะให้ อาหารลูกกุ้งสับดาห์ละ 2 ครั้ง และทำความสะอาดภาชนะสับดาห์ละครั้งเพื่อไม่ให้เกิดการหมักหมมของตะกอน

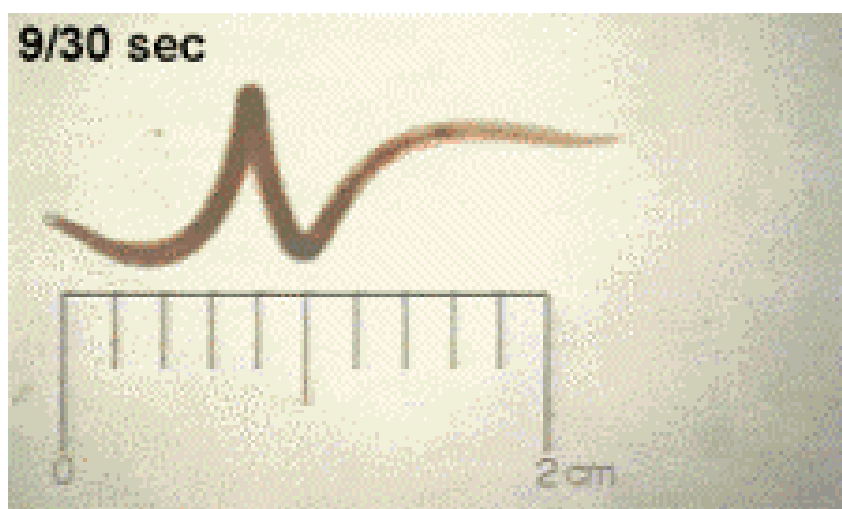
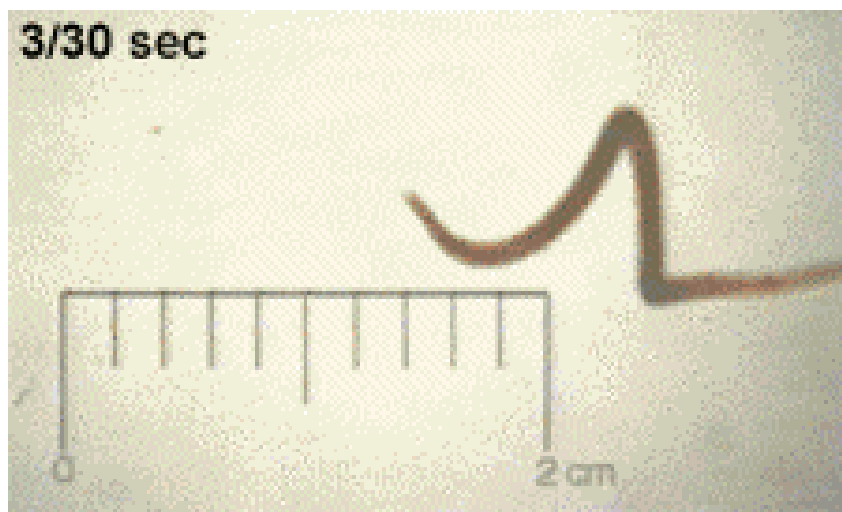
ก่อนนำมาทดลองไข่เดือนน้ำที่มีขนาดใกล้เคียงกันจะถูกแยกออกมาใส่ในภาชนะใหม่ ได้แก่ petri dish ที่ปราศจากสิ่งนอนกัน ทั้งไว้ข้ามคืนเพื่อให้ไม่มีอาหารในทางเดินอาหาร ไข่เดือนน้ำที่มีลักษณะบอบช้ำหรือเพิ่งแบ่งตัวจะถูกคัดทิ้งอีกครั้งในขั้นตอนนี้

ในการทดสอบจะทำการทดสอบทั้งก่อนและหลังการแช่ไส้เดือนน้ำในสารละลายสารเคมีเป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง เพื่อเปรียบเทียบผลก่อนและหลังการสัมผัสสาร โดยการที่แช่ไส้เดือนน้ำในสารละลายนั้น ไส้เดือนน้ำจะดูดซึมสารผ่านทางผิวหนังเข้าสู่ร่างกาย

การทดสอบพฤติกรรม

เมื่อจะทดสอบการคลาน ไส้เดือนจะถูกนำมาใส่ใน petri dish ที่มีกระดาษกรองรองอยู่ก้น น้ำในภาชนะใหม่จะถูกถ่ายออกให้เหลือน้อยที่สุดด้วยปิเปตพลาสติก จากนั้นทำการทดสอบพฤติกรรมการคลานด้วยการใช้ไม้ที่มีขนบางๆติดอยู่ตรงปลาย (ทำขึ้นเฉพาะการทดสอบ) สัมผัสเบาๆที่บริเวณส่วนต้น ซึ่งมีลักษณะสีเข้มกว่า และสังเกตการคลานถอยหลัง และสัมผัสบริเวณท้าย และสังเกตการคลานไปข้างหน้า ไส้เดือนน้ำจะใช้พฤติกรรมนี้ในการหนีจากสิ่งรบกวนในภาวะที่อยู่พื้นดินนอนก้นในน้ำ

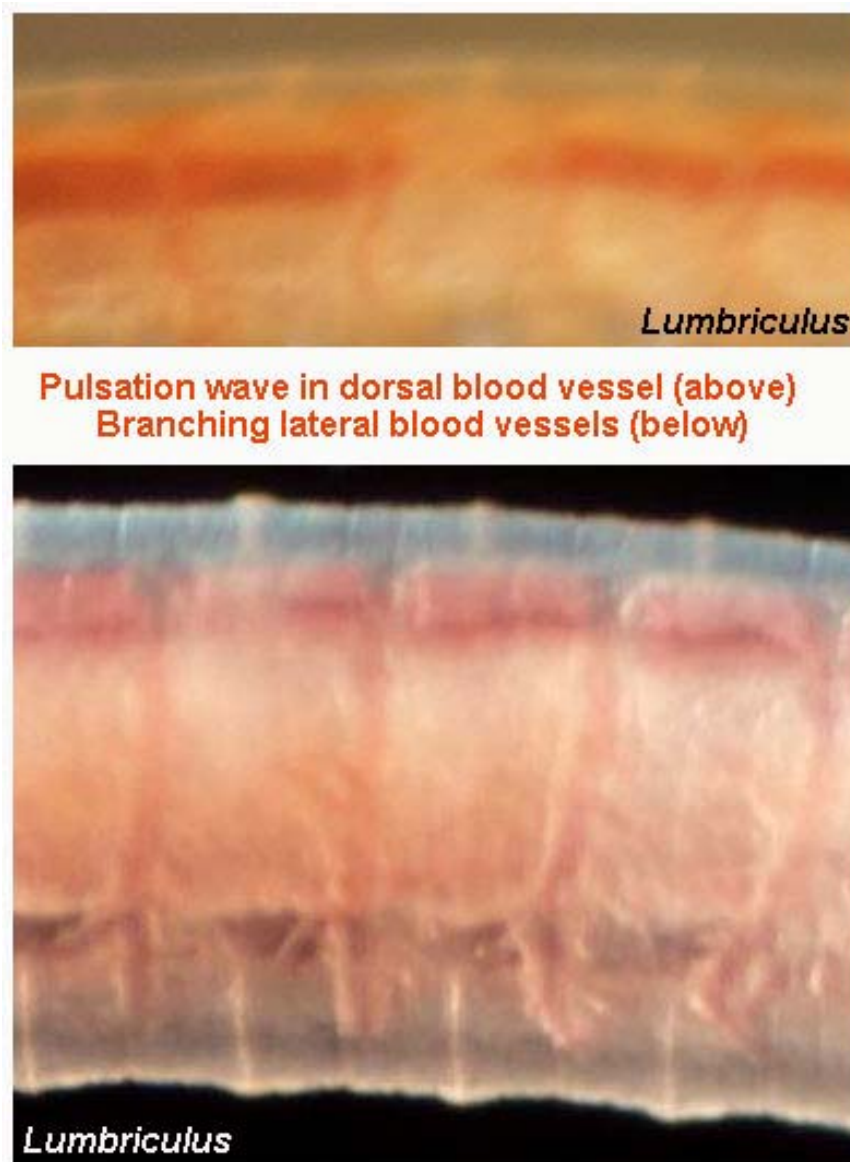
เมื่อจะทดสอบการว่ายน้ำหรือการกลับตัวจะต้องทำในภาชนะที่มีน้ำเพียงพอ การทดสอบพฤติกรรมการว่ายน้ำทำได้โดยการสัมผัสเบาๆที่บริเวณส่วนท้าย ในภาวะปกติไส้เดือนน้ำจะตอบสนองด้วยการบิดตัวเป็นเกลียวแล้วพุ่งไปข้างหน้า และเมื่อสัมผัสส่วนหัวไส้เดือนน้ำจะหดหัวกลับพร้อมทั้งกลับตัว 180 องศา



รูปที่ 1 แสดง Swimming reflex (ภาพถ่ายโดย CD. Drewes, ที่ปรึกษาโครงการ)

การศึกษาการบีบตัวของหลอดเลือด

การศึกษาการบีบตัวของหลอดเลือด dorsal blood vessel ทำได้โดยการนำไส้เดือนน้ำมาใส่ในอุปกรณ์ที่ทำขึ้น (ดังภาคผนวก ก) และนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์หรือกล้องสเตอริโอ ทำการนับการบีบตัวของหลอดเลือดในปล้องหนึ่งปล้องใดเป็นเวลา 1 นาทีบันทึกค่าที่ได้ ทำการนับซ้ำอีก 3 ครั้ง และนำค่ามาเฉลี่ย การนับนั้นทำทั้งก่อนและหลังสัมผัสสาร



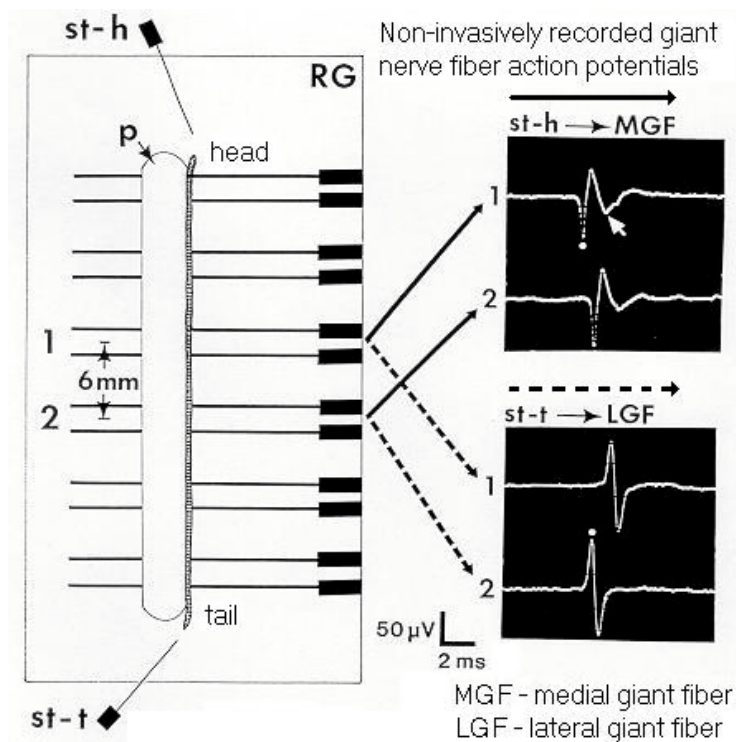
รูปที่ 2 แสดงการบีบตัวของ Dorsal blood vessel (ภาพถ่ายโดย CD. Drewes, ที่ปรึกษาโครงการ)

การศึกษาการนำกระแสประสาท

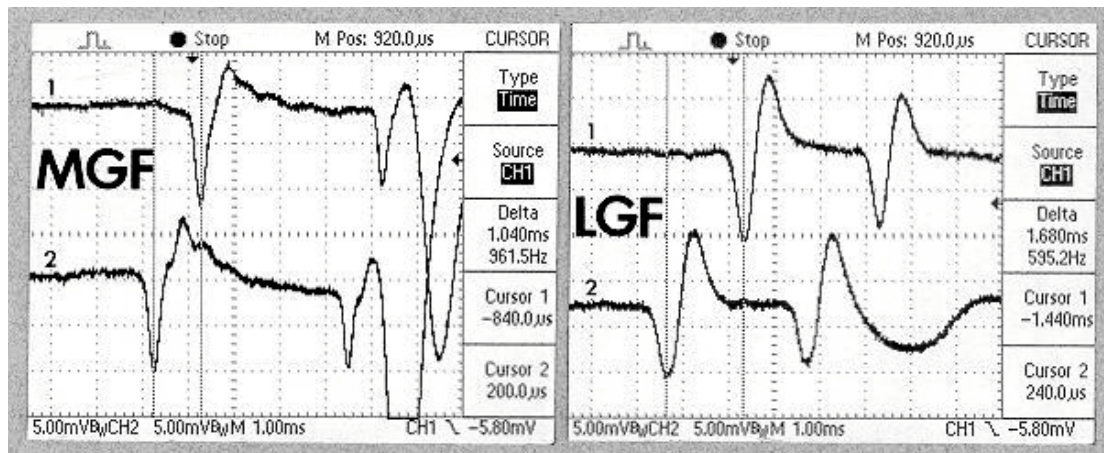
เส้นประสาท giant fiber ในไส้เดือนน้ำมีความสามารถในการตอบสนองต่อการสัมผัสโดยการส่งกระแสประสาทกระตุ้นการหดตัวของไส้เดือนน้ำ การนำกระแสประสาทนี้สามารถบันทึกได้โดยการศึกษาแบบไม่รุกรานหรือ non-invasive คือไม่มีการผ่าตัดเพื่อนำเอาเส้นประสาทมาทดสอบ วิธีการทดสอบทำโดยการนำไส้เดือนน้ำมาวางบนแผ่นอิเล็กโทรดซึ่งต่อกับเครื่องบันทึก (รูปที่ 3) น้ำที่ค้างอยู่บนแผ่นอิเล็กโทรดจะถูกดูดออกด้วยปิเปต

พลาสติกเพื่อให้เหลือน้ำน้อยที่สุด จากนั้นทำการกระตุ้นการนำกระแสประสาททั้ง medial giant fiber spike และ lateral giant fiber spike ด้วยการสัมผัสเบาๆ ที่ส่วนหัวหรือส่วนท้ายด้วยไม้กระตุ้นที่บริเวณปลายมีขนบางๆ ติดอยู่เพื่อหลีกเลี่ยงการทำอันตรายกับไส้เดือนน้ำ (ดังรูปที่ 4) บันทึกระยะเวลาในการนำกระแสประสาทจากอิเล็กโทรดที่บันทึกคู่ที่หนึ่งไปคู่ที่สอง ในการทดสอบแต่ละครั้งจะทำซ้ำ 3 ครั้งในไส้เดือนน้ำตัวหนึ่ง ก่อนและหลังการสัมผัสสาร ในแต่ละความเข้มข้นของสารละลายจะใช้ไส้เดือนน้ำ 20 ตัว วิธีการทดลองโดยละเอียดทำตามวิธีของ Rogge และ Drewes (1993)

ลักษณะของ spike ที่ได้จะเป็นแบบ all-or-none การกระตุ้นที่ส่วนหัวจะได้ MGF spike ในขณะที่การกระตุ้นที่ส่วนท้ายจะได้ LGF spike ลักษณะ spike ทั้งสองจะมีความแตกต่างกัน และมีความเร็วในการนำกระแสประสาทไม่เท่ากัน



รูปที่ 3 แสดงการบันทึกแบบ non-invasive method



รูปที่ 4 แสดงภาพบันทึกการนำกระแสประสาทใน lateral giant fiber ของไส้เดือนน้ำ MGF = Medial Giant Fiber spike และ LGF = Lateral Giant Fiber spike

การศึกษาทางจุลกายวิภาค

ไส้เดือนน้ำที่สัมผัสกับสารละลายของสารเคมีแต่ละชนิดได้ผ่านกระบวนการเตรียมเนื้อเยื่อเพื่อศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตามวิธีที่ได้บรรยายไว้ใน Lesiuk and Drewes (2001)

การสัมผัสสารเคมี

สารเคมีที่เลือกใช้ในการวิจัยนี้ได้แก่ rotenone dieldrin paraquat และ nicotine สารทั้งสี่ชนิดมีการใช้ในการกำจัดศัตรูพืชและเชื่อว่าเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและเป็พิษต่ำกว่ายากำจัดศัตรูพืชสังเคราะห์

สารละลายของสารเคมีจะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และจะผสมใหม่ในวันที่ทำการทดลอง การสัมผัสกับสารละลายของไส้เดือนจะทำโดยการแช่ไส้เดือนน้ำในสารละลายที่กำหนดตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ จากนั้นจะนำไส้เดือนน้ำมาล้างในน้ำที่ปราศจากคลอรีนสองครั้งก่อนนำไปทดสอบ ความเข้มข้นของสารที่เลือกใช้นั้นได้จากการศึกษาหา LC 50 ซึ่งได้กล่าวถึงในส่วนของการทดลอง

ในการวัดผลทางสถิติใช้วิธี paired-difference t test

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ไส้เดือนน้ำเป็นสิ่งมีชีวิตที่พบได้ตามธรรมชาติในน้ำจืดและสามารถใช้เป็นตัวชี้วัด (indicator) ของการปนเปื้อนสารเคมีได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะสารกำจัดศัตรูพืชธรรมชาติที่เชื่อกันว่าไม่มีผลกระทบมากนักก็แสดงให้เห็นว่ามีผลต่อทั้งระบบไหลเวียนและระบบประสาทของสิ่งมีชีวิตกลุ่มนี้ จากงานวิจัยที่รายงานโดย Betarbet และคณะ เสนอว่าสารพิษในสิ่งแวดล้อมเช่นยา

กำจัดศัตรูพืชในกลุ่มของ rotenone เมื่อใช้ติดต่อกันนานอาจทำให้หนูทดลองแสดงอาการของโรคพาร์คินสันซึ่งนับว่าเป็นโรคทางระบบประสาทที่สำคัญมากโรคหนึ่ง และสารกำจัดศัตรูพืชอื่นที่เลือกมาใช้ในการวิจัยนี้ได้มีรายงานว่าอาจก่อให้เกิดโรคนี้ได้เช่นเดียวกัน จากผลการวิจัยนี้ ซึ่งทำการศึกษาค้นคว้าของสารกำจัดศัตรูพืชเหล่านี้ว่ามีผลต่อการทำงานของระบบประสาท และระบบไหลเวียนในไส้เดือนน้ำ แสดงให้เห็นว่า สารกำจัดศัตรูพืชทั้งสี่ (รวมทั้ง nicotine ซึ่งมีอยู่ในยาสูบซึ่งชาวบ้านนำมาใช้เป็นสารกำจัดศัตรูพืชได้ด้วย) นั้นมีผลกระทบโดยตรงต่อความเร็วในการนำกระแสประสาทในเส้นประสาทขนาดใหญ่ giant fiber ของไส้เดือนน้ำ แม้จะสัมผัสเพียงไม่มากนักก็ตาม ดังนั้นจึงอาจใช้ไส้เดือนน้ำนี้เป็นตัวชี้วัดการรบกวนระบบประสาทของสิ่งมีชีวิตของสารนี้ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าสารแต่ละชนิดมีความจำเพาะในการรบกวนกลไกต่างๆ โดยเฉพาะที่ควบคุมโดยระบบประสาทเช่นอาจจำเพาะต่อระบบประสาทที่ควบคุมพฤติกรรมการว่ายน้ำแต่ไม่รบกวนพฤติกรรมคลานเป็นต้น ความจำเพาะนี้อาจมีกลไกที่ควบคุมที่ระดับของสารสื่อประสาทหรือปลายประสาทที่ใดที่หนึ่งในไส้เดือนน้ำ

ในการทดลองนี้เราได้ทำการศึกษาค้นคว้าค่า LC50 ของสารเคมี 4 ตัว ได้แก่ Rotenone, Paraquat, Dieldrin และ Nicotine เพื่อใช้ในการคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารเคมีที่จะใช้ในการทดสอบผลต่อไส้เดือนน้ำ จากการศึกษาพบว่า สารเคมีทั้ง 4 มีค่า LC50 ที่แตกต่างกัน หลังจากทำการทดลองโดยการให้ไส้เดือนน้ำดูดซึมสารเคมีผ่านทางผิวหนังเป็นเวลา 24 ชั่วโมงโดยการแช่ในสารละลายของสารเคมีที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่า ค่า LC50 ของ Rotenone มีค่าเท่ากับ 0.05 ppm ค่า LC50 ของ Paraquat เท่ากับ 0.5 ppm ค่า LC50 ของ Dieldrin เท่ากับ 2 ppm และค่า LC50 ของ Nicotine เท่ากับ 0.3 ml/L หลังจากที่ได้ค่า LC50 เรียบร้อยแล้ว จึงสามารถเลือกความเข้มข้นของสารละลายเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป ดังนี้ Rotenone ใช้สารละลายความเข้มข้น 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02 ppm Paraquat ใช้สารละลายความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 ppm Dieldrin ใช้สารละลายความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1 ppm และ Nicotine ใช้สารละลายความเข้มข้น 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 ml/L

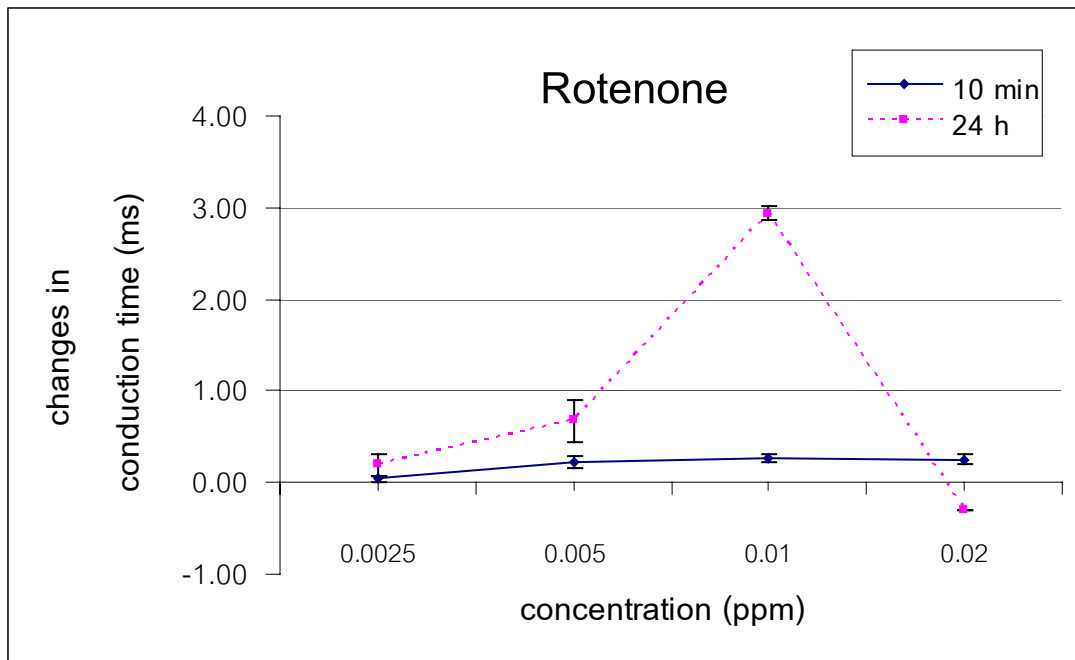
Rotenone

ไส้เดือนน้ำมีลักษณะพฤติกรรมเมื่อสัมผัสกับสารเคมี rotenone ที่ความเข้มข้น 0.0025, 0.005, 0.01, 0.02 ppm เป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง โดยยังคงตอบสนองต่อการกระตุ้นโดยการสัมผัสเบาๆ (tactile stimulation) เมื่ออยู่ในที่ที่มีน้ำน้อย ด้วยการคลานไปข้างหน้า (forward crawling) เมื่อสัมผัสบริเวณส่วนท้าย (posterior end) และคลานถอยหลัง (rearward crawling) เมื่อสัมผัสบริเวณส่วนต้น (anterior end) อย่างไรก็ดี พฤติกรรมการว่ายน้ำ (Swimming behavior) ซึ่งเป็นปฏิกิริยารีเฟล็กซ์ที่มีลักษณะเฉพาะเรียกว่าแบบ Corkscrew swimming ดังรูปที่

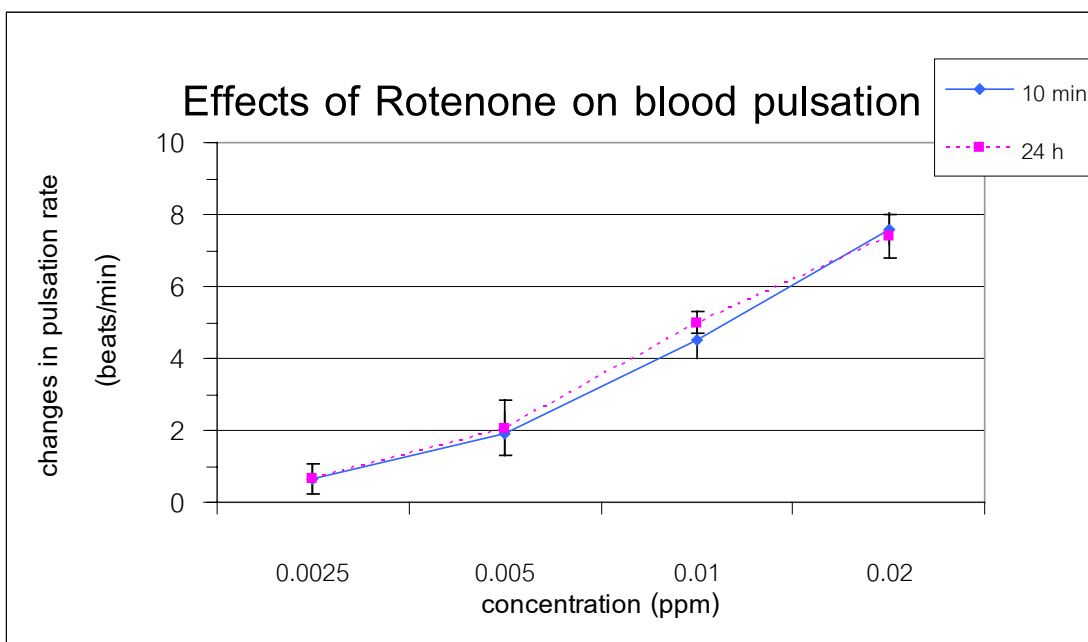
1 และการกลับตัวในน้ำ (reversal behavior) ซึ่งเป็นปฏิกริยารีเฟล็กซ์เช่นกันนั้นสูญเสียไปทั้ง 100%

ในภาวะปกติเส้นเลือด Dorsal blood vessel ของไส้เดือนน้ำจะมีการบีบตัวเพื่อนำเลือดจากส่วนท้ายสุดของร่างกายซึ่งเป็นบริเวณที่มีการแลกเปลี่ยนก๊าซ ไปยังsegment ต่างๆถึงบริเวณส่วนหัว (รูปที่ 2) ในขณะที่เส้นเลือด ventral blood vessel ที่นำเลือดจากบริเวณส่วนหัวกลับไปส่วนท้ายจะไม่มี การบีบตัว การศึกษาอัตราการบีบตัวของเส้นเลือดจึงทำใน dorsal blood vessel เมื่อไส้เดือนน้ำได้รับ rotenone ผลที่เกิดขึ้นคือการบีบตัวของเส้นเลือด Dorsal blood vessel ยังคงมีอยู่และมีอัตราการบีบตัว หรือค่า pulsation rate เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย ทั้งกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายเป็นเวลา 10 นาที และกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดังรูปที่ 3) ลักษณะโครงสร้างของเส้นเลือดทั้งทางมหากายวิภาคและจุลกายวิภาคยังคงปกติไม่มีการบวมหรือแตกออกหรือมีลักษณะที่แตกต่างจากในกลุ่มควบคุมแต่อย่างใด

เมื่อทดสอบการนำของกระแสประสาทโดยวิธีทางสรีรวิทยาไฟฟ้า โดยเปรียบเทียบลักษณะของคลื่นการนำกระแสประสาท (spike) ก่อนการสัมผัสกับสารละลายและหลังการสัมผัสกับสารละลายอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง ในไส้เดือนน้ำตัวเดียวโดยทำการทดสอบก่อนการสัมผัสกับสารเคมี 3 ครั้ง และหลังจากสัมผัสสารเคมี 3 ครั้ง ในแต่ละสารละลายจะใช้ไส้เดือนน้ำ 20 ตัวต่อกลุ่ม พบว่า ลักษณะรูปร่างของ spike ไม่มีความผิดปกติทั้ง medial giant fiber spike และ lateral giant fiber spike (ดังรูปที่ 5) แต่เมื่อทำการวัดความเร็วในการนำกระแสประสาท (conduction time) พบว่า หลังการสัมผัสกับสารเคมีการนำกระแสประสาทใช้เวลาเพิ่มขึ้นจากก่อนทำการทดลอง (ในสัตว์ทดลองตัวเดียวกัน) และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้น 0.02 ppm พบว่าไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดการนำกระแสประสาทได้ (ดังรูปที่ 6) การที่สัตว์ทดลองได้รับสารละลาย Rotenone เป็นระยะเวลานานขึ้น (24 ชั่วโมง) จะแสดงผลการเปลี่ยนแปลงของการนำกระแสประสาทที่ชัดเจนขึ้น ลักษณะทางมหากายวิภาคและจุลกายวิภาคไม่มีความแตกต่างที่ชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 5 แสดงผลของ rotenone ต่อ การเปลี่ยนแปลงอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด



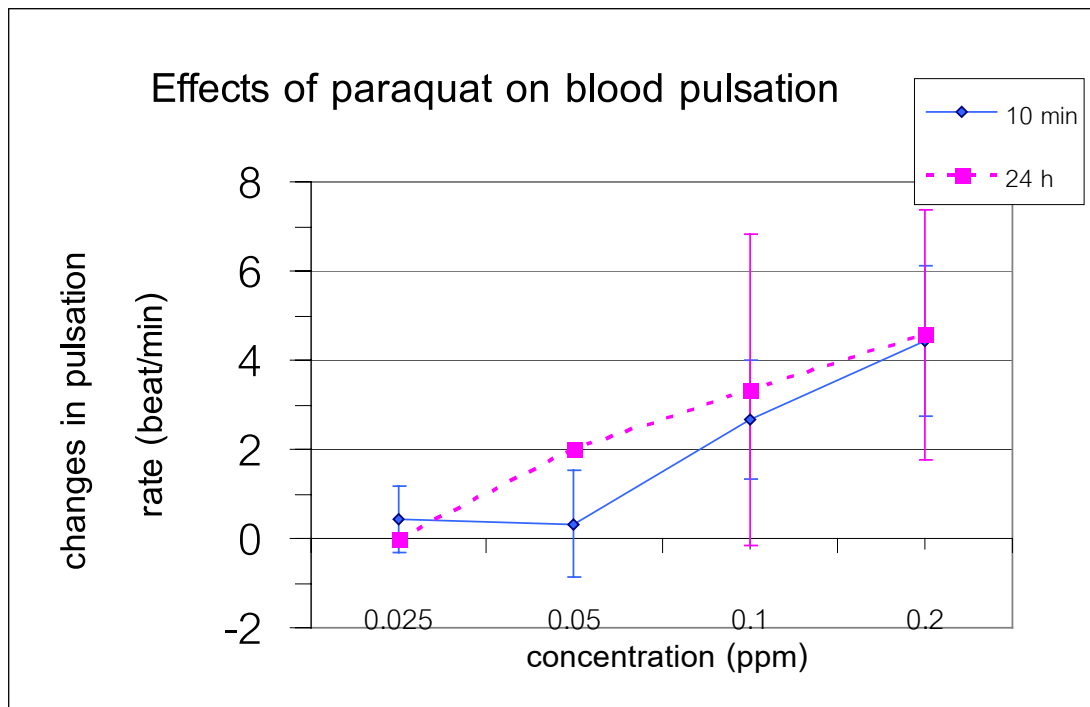
รูปที่ 6 แสดงผลของ rotenone ต่อ การเปลี่ยนแปลงเวลาในการนำกระแสประสาท

Paraquat

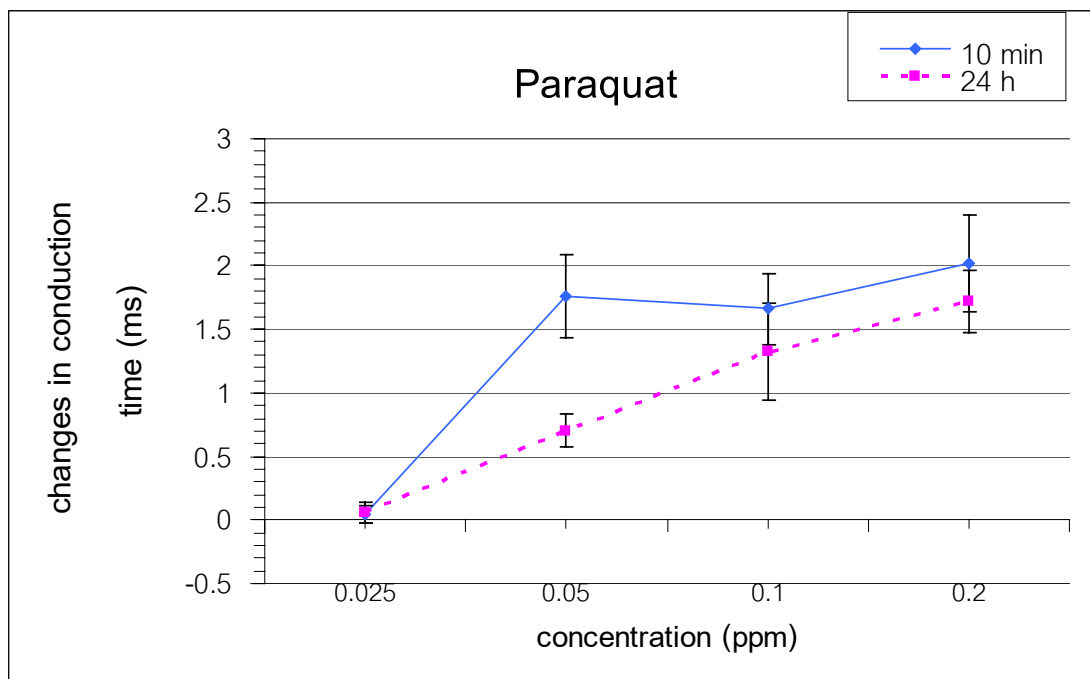
พฤติกรรมของไส้เดือนน้ำเมื่อสัมผัสกับสารเคมี paraquat ที่ความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 ppm ที่แสดงโดยทันทีคือการหดตัวเป็นวง นอกจากนี้ยังคงตอบสนองต่อการกระตุ้นโดยการสัมผัสเบาๆ ด้วยการคลานไปข้างหน้าเมื่อสัมผัสบริเวณส่วนท้าย และคลานถอยหลังเมื่อสัมผัสบริเวณส่วนต้น อย่างไรก็ตาม พฤติกรรมการว่ายน้ำและการกลับตัวในน้ำนั้นสูญเสียไปทั้ง 100% ซึ่งบ่งชี้ว่าสาร paraquat นั้นมีผลในการยับยั้งการนำกระแสประสาทในบางกลไก (pathway) พฤติกรรมได้แก่การว่ายน้ำและกลับตัว ซึ่งอาจมีกลไกการควบคุมที่ซับซ้อนกว่าพฤติกรรมการคลาน

การบีบตัวของเส้นเลือด Dorsal blood vessel ยังคงพบได้และมีค่า pulsation rate เพิ่มขึ้นเมื่อเราเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย เมื่อสัมผัสกับสารละลายความเข้มข้นสูงจะมีการบีบตัวที่เร็วแต่แผ่วเบา ทั้งกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายเป็นเวลา 10 นาที และกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ดังรูปที่ 7) ลักษณะโครงสร้างของเส้นเลือดมีการบวมขยายขนาด

เมื่อทดสอบการนำของกระแสประสาทโดยวิธีทางสรีรวิทยาไฟฟ้า โดยเปรียบเทียบลักษณะของคลื่นการนำกระแสประสาท (spike) ก่อนการสัมผัสกับสารละลายและหลังการสัมผัสกับสารละลายอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง พบว่า ลักษณะรูปร่างของ spike ไม่มีความผิดปกติ แต่เมื่อทำการวัดความเร็วในการนำกระแสประสาท (conduction time) พบว่า ใช้เวลาเพิ่มขึ้นจากก่อนทำการทดลอง (ในสัตว์ทดลองตัวเดียวกัน) และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังรูปที่ 8) ลักษณะทางจุลกายภาพของเส้นประสาทไม่มีความแตกต่างที่ชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 7 แสดงผลของ paraquat ต่อ การเปลี่ยนแปลงอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด



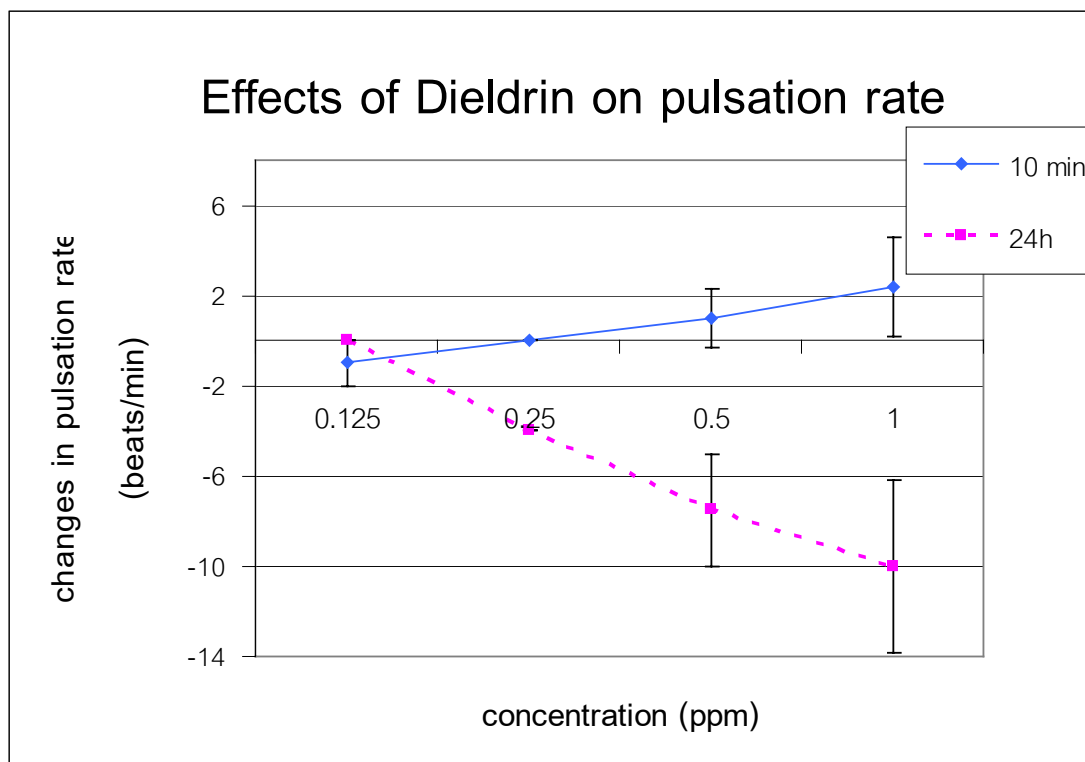
รูปที่ 8 แสดงผลของ paraquat ต่อ การเปลี่ยนแปลงเวลาในการนำกระแสประสาท

Dieldrin

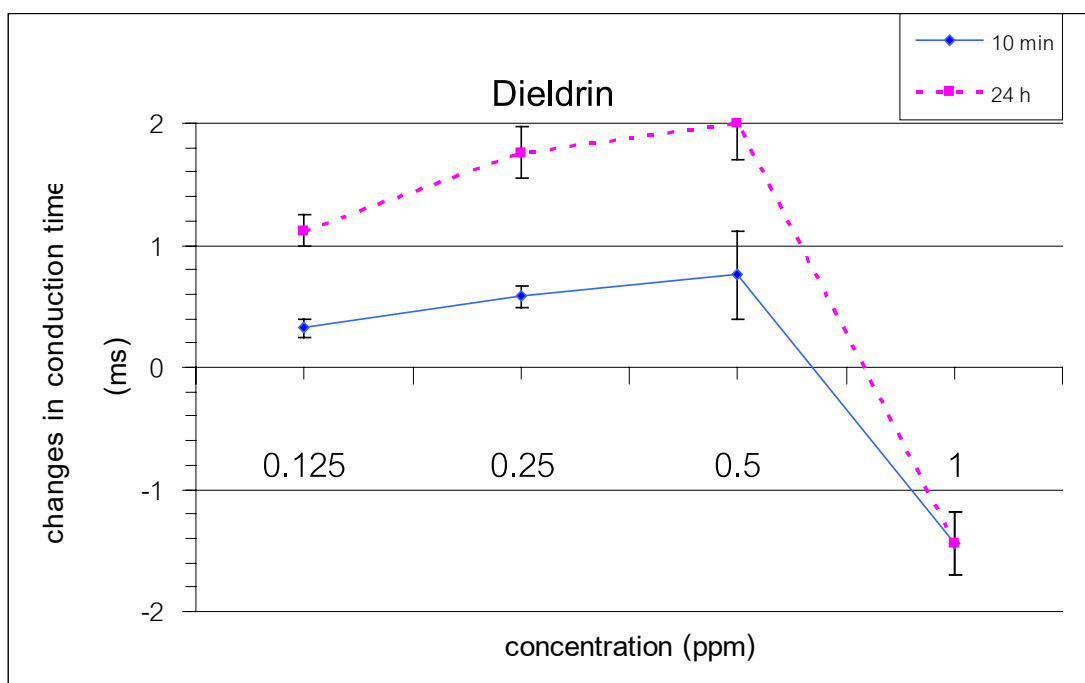
พฤติกรรมการณ์เคลื่อนที่ของไส้เดือนน้ำเมื่อสัมผัสกับสารเคมี dieldrin ที่ความเข้มข้น 0.125, 0.25, 0.5, 1 ppm เปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยที่ 10 นาที โดยพบการตอบสนองต่อการกระตุ้นโดยการสัมผัสเบาๆ ด้วยการคลานไปข้างหน้าเมื่อสัมผัสบริเวณส่วนต้น และคลานถอยหลังเมื่อสัมผัสบริเวณส่วนท้าย แต่ที่ 24 ชั่วโมง พบการเคลื่อนที่น้อยมากหลังได้รับการกระตุ้น พฤติกรรมการว่ายน้ำและการกลับตัวในน้ำนั้นสูญเสียไปทั้ง 100% แสดงให้เห็นถึงการรบกวนกลไกการว่ายน้ำและการกลับตัวตั้งแต่สัมผัสสารเป็นเวลา 10 นาที แต่กระทบต่อกิจกรรมการคลานน้อยเมื่อสัมผัสกับสารนี้เป็นเวลาสั้น

เมื่อศึกษาการบีบตัวของเส้นเลือด Dorsal blood vessel พบว่ายังมีการบีบตัวตามปกติ และมีค่า pulsation rate เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยหลังทำการทดลอง 10 นาที ต่อเมื่อเราเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย หรือในกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงพบว่าอัตราการบีบตัวของเส้นเลือดลดลง ทำให้อัตราการบีบตัวที่วัดได้น้อยลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มความเข้มข้น (ดังรูปที่ 9) ที่ความเข้มข้น 2 ppm เส้นเลือดหยุดการบีบตัวในตำแหน่งการขยาย (dilate) และมีเลือดค้างอยู่ภายใน

เมื่อทดสอบการนำของกระแสประสาทโดยวิธีทางสรีรวิทยาไฟฟ้า โดยเปรียบเทียบลักษณะของคลื่นการนำกระแสประสาท (spike) ก่อนการสัมผัสกับสารละลายและหลังการสัมผัสกับสารละลายอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง ไม่พบว่ามีลักษณะรูปร่างของ spike ที่ผิดปกติ แต่เมื่อทำการวัดความเร็วในการนำกระแสประสาท (conduction time) พบว่า ใช้เวลาเพิ่มขึ้นจากก่อนทำการทดลอง (ในสัตว์ทดลองตัวเดียวกัน) และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังรูปที่ 10) อย่างไรก็ตาม ที่ความเข้มข้น 1 ppm พบว่า ระยะเวลาในการนำกระแสประสาทลดลง ทั้งที่ระยะเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง ลักษณะทางจุลกายภาพไม่มีความแตกต่างที่ชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 9 แสดงผลของ dieldrin ต่อ การเปลี่ยนแปลงอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด



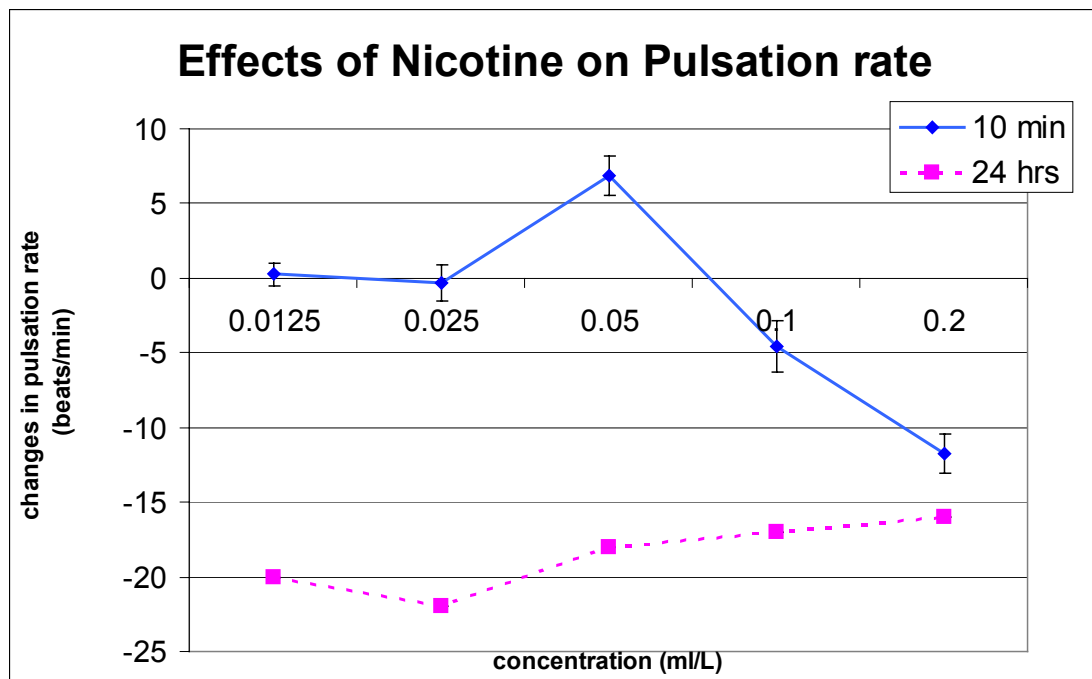
รูปที่ 10 แสดงผลของ dieldrin ต่อ การเปลี่ยนแปลงเวลาในการนำกระแสประสาท

Nicotine

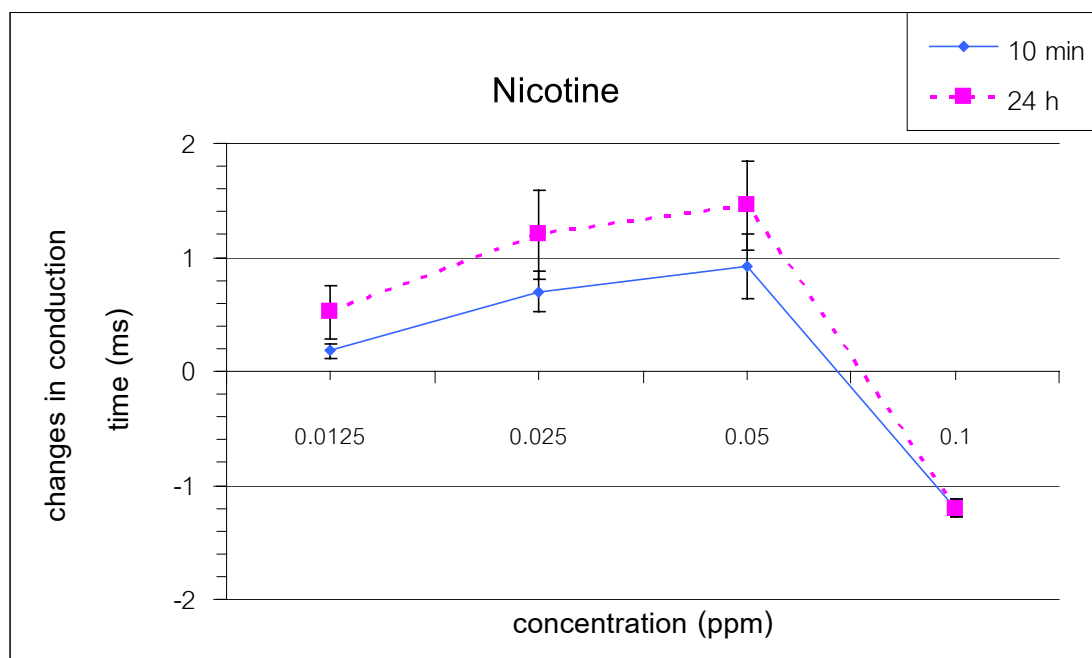
พฤติกรรมการณ์เคลื่อนที่ของไส้เดือนน้ำเมื่อสัมผัสกับสารเคมีที่มีความเข้มข้น 0.0125, 0.025, 0.05, 0.1 ml/l เป็นเวลา 10 นาที มีความแตกต่างกันชัดเจน เมื่อสัมผัสกับสารเคมีเข้มข้น 0.0125 0.025 และ 0.05 ml/l การเคลื่อนไหวลดลงและสามารถพบการชักและขดงอของลำตัวเป็นระยะๆ ไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นให้คลาน วายน้ำหรือกลับตัว เมื่อสัมผัสกับสารเคมีเข้มข้น 0.1 ml/l พบว่าการเคลื่อนไหวยุติลงโดยสิ้นเชิงไม่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นให้เกิดการวายน้ำหรือกลับตัว หรือแม้แต่การคลาน ที่ 24 ชั่วโมง พบว่าลำตัวของไส้เดือนบวมขึ้นและมีการเสียหายของส่วนต่างๆของเนื้อเยื่อ

การบีบตัวของเส้นเลือด Dorsal blood vessel หลังสัมผัสสารเป็นเวลา 10 นาที มีค่า pulsation rate เพิ่มขึ้นอย่างมากที่ความเข้มข้น 0.05 ml/l แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 0.1 ml/l พบว่าการบีบตัวของเส้นเลือดไม่สม่ำเสมอและมี pulsation rate ที่ลดลงกว่าก่อนสัมผัสกับสารเคมี และกลุ่มที่สัมผัสกับสารละลายทุกความเข้มข้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ไม่พบการบีบตัวของเส้นเลือดเลย (ดังรูปที่ 11) เส้นเลือดทั้ง dorsal blood vessel และเส้นเลือดแขนงย่อยอื่นๆมีเส้นอยู่ภายในจนเต็ม รวมทั้งพบเลือดคั่งที่บริเวณผิวหนัง

เมื่อทดสอบการนำของกระแสประสาทโดยวิธีทางสรีรวิทยาไฟฟ้า โดยเปรียบเทียบลักษณะของคลื่นการนำกระแสประสาท (spike) ก่อนการสัมผัสกับสารละลายและหลังการสัมผัสกับสารละลายอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง พบว่า ลักษณะรูปร่างของ spike ไม่มีความผิดปกติ แต่เมื่อทำการวัดความเร็วในการนำกระแสประสาท (conduction time) พบว่า ใช้เวลาเพิ่มขึ้นจากก่อนทำการทดลอง (ในสัตว์ทดลองตัวเดียวกัน) และมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ดังรูปที่ 12) อย่างไรก็ดี ที่ความเข้มข้น 0.1 ml/l พบว่า ระยะเวลาในการนำกระแสประสาทลดลง ทั้งที่ระยะเวลา 10 นาที และ 24 ชั่วโมง ลักษณะทางจุลกายภาคไม่มีความแตกต่างที่ชัดเจนเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



รูปที่ 11 แสดงผลของ dieldrin ต่อ การเปลี่ยนแปลงอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด



รูปที่ 12 แสดงผลของ nicotine ต่อ การเปลี่ยนแปลงเวลาในการนำกระแสประสาท

การเลือกใช้ไส้เดือนน้ำในการคัดเลือก หรือ screen ความเป็นพิษของแหล่งน้ำสามารถทำได้โดยไม่ยากโดยบุคคลที่ไม่จำเป็นต้องมีความชำนาญเป็นพิเศษ ด้วยการเปรียบเทียบการทำงานของระบบไหลเวียนซึ่งได้แก่การบีบตัวของเส้นเลือด dorsal blood vessel ซึ่งสามารถมองเห็นได้ชัดเจนผ่านผิวหนังซึ่งไม่มีเม็ดสี โดยอาจประดิษฐ์วัสดุที่ใช้ในการใส่ (chamber) ดังที่เสนอไว้ในภาคผนวกเพื่อช่วยในการศึกษาให้สะดวกและง่ายดาย และอาจใช้แว่นขยายธรรมดา กล้องจุลทรรศน์ หรือกล้องสเตอริโอไมโครสโคปขนาดเล็ก ที่สามารถนำไปใช้ได้ถึงบริเวณที่ต้องการทดสอบเช่นแหล่งน้ำต่างๆ ช่วยในการมองเห็นให้ชัดเจนขึ้นได้ วิธีที่ได้พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปสู่การทดสอบการตกค้างของสารเคมีที่เป็นอันตรายที่รวดเร็ว สะดวก และประหยัดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการออกปฏิบัติการภาคสนามได้ง่าย และสะดวกขึ้นอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Bonnet AM, Houeto JL. 1999. Pathophysiology of Parkinson's disease. *Biomed & Pharmacother.* 53 : 117-121.
2. Barbeau A, Roy M, Bernier G, Campanella G, Paris S, 1985. Ecogenetics of Parkinson's disease: prevalence and environmental aspects in rural areas. *Can J Neurol Sci.* 14 : 36-41.
3. Kuopio AM, Marttila RJ, Helenius H, Rinne UK, 1999. Environmental risk factors in Parkinson's disease. *Movement Disorders.* 14(6): 928-939.
4. Liou HH, Tsai MC, Chen CJ, Jeng JS, Chang YS, Chen SY, Chen RC. 1997. Environmental risk factors and Parkinson's disease: A case control study in Taiwan. *Neurology.* 48: 1583-1588.
5. Le Couteur DG, McLean AJ, Taylor MC, et al., 1999. Pesticides and Parkinson's disease. *Biomed Pharmacother.* 53:122-130.
6. Bocchetta A, Corsini GU. 1986. Parkinson's disease and pesticides. *Lancet.* ii : 1163.
7. Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA, et al., 1998. The risk of Parkinson's disease with exposure to pesticides, farming, well water, and rural living. *Neurology.* 50:1346-1350.

8. Helmuth L, 2000. Neuroscience. Pesticide causes Parkinson's in rats. Science. 10: 290(5494):1068.
9. Gaisson BI, Lee VM, 2000. A new link between pesticides and Parkinson's disease. Nat Neurosci. 3 (12): 1227-1228.
10. Thiffault C, Langston JW, Di Monte DA, 2000. Increased striatal dopamine turnover following acute administration of rotenone to mice. Brain Res. 885(2):283-8.
11. Betarbet R, Sherer TB, MacKenzie G, Garcia-Osuna M, Panov AV, Greenamyre JT, 2000. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. Nat Neurosci. 3(12):1301-6.
12. Bagetta G, Corasaniti M, Iannone M, Nistico G, Stephenson JD. 1992. Production of Limbic motor seizures and brain damage by systemic and intracerebral injections of paraquat in rats. Pharmacol Toxicol. 71 : 443-448.
13. Stephenson J. 1930. The Oligochaeta. London: Oxford University Press.
14. Rogge R, Drewes CD. 1993. Assessing sublethal neurotoxicity effects in the Freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. Aquatic Toxicol. 26: 73-90.
15. Lesiuk NM, Drewes CD. 2001. Behavioral plasticity and central regeneration of locomotor reflexes in the freshwater oligochaete, *Lumbriculus variegatus*. I: Transection studies

Output ที่ได้จากโครงการ

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

ยังไม่มี ขณะนี้อยู่ในระหว่างการเขียนต้นฉบับ

คาดว่าจะตีพิมพ์เมื่อโครงการสิ้นสุด ในวารสารวิชาการต่างประเทศ เช่น วารสาร

Aquatic Toxicology (impact factor 1.619) หรือ Archives of Environmental Contamination and Toxicology (impact factor 1.173) ในหัวข้อ The effects of probable Parkinson's disease-causing pesticides on a freshwater oligochaete *Lumbriculus variegatus*

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

สามารถนำไปใช้พัฒนาการเรียนการสอนในรายวิชาที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. รายวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับ Invertebrate biology : เพิ่มเติมข้อมูลของไส้เดือนน้ำโดยเฉพาะในแง่ของการตอบสนองต่อสารพิษในสิ่งแวดล้อม
2. รายวิชาที่ศึกษาเกี่ยวกับ Neurophysiology โดยเป็นแบบให้ศึกษาการนำกระแสประสาทในเส้นประสาทแบบ non-invasive study
3. เป็นการพัฒนาความสามารถในการวิจัยของนักวิจัยรุ่นใหม่

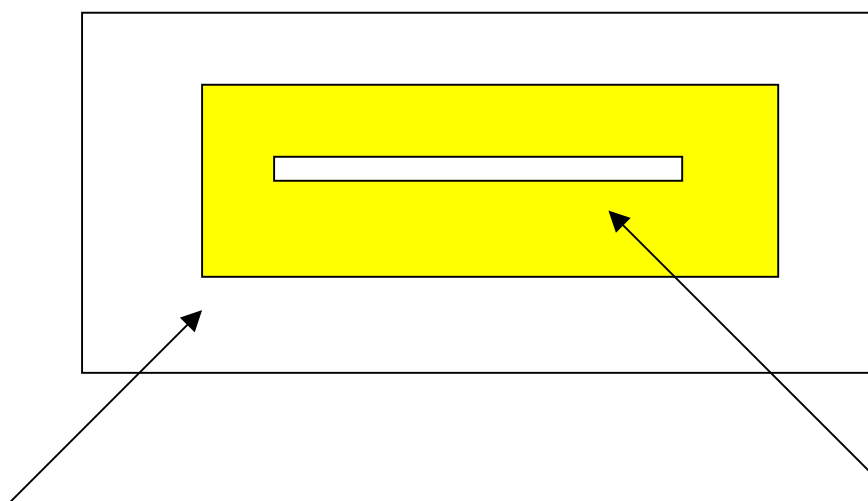
3. อื่นๆ

ได้นำเสนอผลงานในที่ประชุมของ สกว. ที่จังหวัดกาญจนบุรี

ภาคผนวก ก

วิธีการประดิษฐ์อุปกรณ์ Worm Chamber

1. นำแผ่นพลาสติกใสชนิดแข็งมาตัดเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 3 x 6 ซม. (หรืออาจใช้แผ่นสไลด์แก้วก็ได้)
2. นำเทปขาวสองหน้าชนิดหนา มาตัดเป็นสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 2 x 4 ซม.
3. เจาะช่องตรงกลางของเทปสองหน้าที่เตรียมไว้ให้มีขนาดยาวประมาณ 3 ซม. และกว้างประมาณ 2 มม. เพื่อใช้เป็นบริเวณที่ไส้เดือนสามารถลอดเข้าออกได้
4. ลอกแผ่นกระดาษติดแผ่นขาวด้านหนึ่งออกและติดแผ่นเทปสองหน้าที่เตรียมตามข้อ 2 และ 3 เรียบร้อยแล้วนั้น ลงบนแผ่นพลาสติกใสตามข้อ 1
5. สามารถนำไปใช้ได้ทันที โดยการย้ายไส้เดือนจากภาชนะอื่นมาใส่ที่อุปกรณ์นี้สามารถทำได้โดยใช้ plastic dropper และพยายามให้น้ำหลงเหลือค้างอยู่ใน chamber น้อยที่สุด เพื่อลดการเคลื่อนไหวของไส้เดือนน้ำ



แผ่นสไลด์แก้ว (glass slide) หรือแผ่นพลาสติกใสชนิดแข็ง

เทปขาว 2 หน้าแบบหนา ใช้มีดคัตเตอร์ เจาะช่องตรงกลางเป็นแนวยาวประมาณ 3 ซม.