

ส่วนที่ ๑ รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ ผลของยาฆ่าหอยและสารสกัดจากพืชต่อเนื้อเยื่อและเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ระบบหายใจ และระบบประสาทของหอยคั่น (*Indoplanorbis exustus*)

Structural Changes in Digestive, Reproductive, Respiratory and Nervous Systems of *Indoplanorbis exustus* (Mollusca : Gastropoda) Induced by Molluscicides

ชื่อผู้วิจัย นายพินิจ หวังสมนึก

สถาบันอุดมศึกษาที่สังกัด ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พระราม ๖ พญาไท กรุงเทพฯ ๑๐๔๔๐

หมายเลขโทรศัพท์ ๒๔๖๑๓๕๘-๖๔ ต่อ ๔๔๐๐

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา ประจำปี พ.ศ. ๒๕๓๕ จำนวนเงิน ๓๖,๕๐๐ บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย ๑ ๑/๒ ปี ตั้งแต่ เมษายน พ.ศ. ๒๕๓๕ ถึง สิงหาคม ๒๕๔๐

## ส่วนที่ ๒ บทคัดย่อ

หอยคันเป็นหอยที่ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของพยาธิใบไม้เลือดในโคและกระบือ เนื่องจากเป็นโฮสต์ตัวกลางของตัวอ่อนพยาธิ ดังนั้นการใช้สารที่สกัดจากพืชซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าหอยจึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าจะเป็นประโยชน์ในการทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่มีราคาแพงและมีระยะเวลาการตกค้างนานกว่า จึงได้มีการตรวจสอบคุณสมบัติของสารเคมีที่สกัดจากพืชจำนวน ๕๐ ชนิด จาก ๒๒ วงศ์ พบพืชจำนวน ๓๒ ชนิด (ร้อยละ ๖๔) ที่มีคุณสมบัติในการฆ่าหอย มีสามชนิด (ร้อยละ ๖) ที่มีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน พืชที่มีคุณสมบัติสูงสุดในการฆ่าหอยคือ ต้นหนวดปลาหมึก (*Brassaia actinophylla*) สารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกด้วยวิธีการละลายน้ำสามารถฆ่าหอยได้ ร้อยละ ๕๐ ( $LC_{50}$ ) และ ร้อยละ ๙๐ ( $LC_{90}$ ) ภายใน ๒๔ ชั่วโมงด้วยความเข้มข้น ๒๒.๗๓ และ ๓๒.๑๑ มก/ล ตามลำดับ  $LC_{50}$  และ  $LC_{90}$  ของสารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกด้วยวิธีการละลายในแอลกอฮอล์สามารถฆ่าหอยได้ภายใน ๒๔ ชั่วโมง คือ ๒๓.๔๐ และ ๓๕.๔๘ มก/ล ตามลำดับ ในขณะที่  $LC_{50}$  และ  $LC_{90}$  ของสารเคมีสังเคราะห์นิโคลซาไมด์คือ ๐.๐๐๕ และ ๐.๐๑ มก/ล ตามลำดับ จากการศึกษาความเป็นพิษของต้นหนวดปลาหมึกที่มีต่อสัตว์ชนิดอื่นๆที่อาศัยในแหล่งน้ำได้แก่ ลูกปลาตะเพียนขาว (*Puntius gonionotus*) ปลาหางนกยูง (*Poecilia reticulata*) ไรแดง (*Moina macrocopa*) และ ลูกกุ้ง (*Macrobrachium rosenbergii*) พบว่า  $LC_{50}$  และ  $LC_{90}$  ของสารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกที่ละลายด้วยน้ำนาน ๒๔ ชั่วโมง คือ ๔๗ และ ๕๕, ๘๕ และ ๑๑๑, ๒๕๘ และ ๘๖๑, ๑๔๑ และ ๑๘๑ มก/ล ตามลำดับ ส่วน  $LC_{50}$  และ  $LC_{90}$  ของสารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกที่ละลายด้วยแอลกอฮอล์คือ ๓๘ และ ๔๖, ๖๕ และ ๘๖, ๑๐๖ และ ๒๑๑, ๑๐๑ และ ๑๓๒ มก/ล ตามลำดับ

จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ถึงผลของนิโคลซาไมด์และสารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหาร ระบบ

สืบพันธุ์ ระบบหายใจและระบบประสาทไม่แตกต่างกันมากนัก แต่หอยที่ทดสอบกับสารสกัดจากใบหนวดปลาหมึกมีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์และเนื้อเยื่อที่รุนแรงกว่าที่ทดสอบกับนิโคตินาไมด์เล็กน้อย การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะเริ่มเห็นได้ชัดหลังจากหอยถูกแช่อยู่ในสารเคมีทั้งสองชนิดเป็นเวลา ๑๒-๒๔ ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิซึ่งใช้หายใจของหอยพบว่า มีการเพิ่มปริมาตรของช่องบรรจุอากาศภายใน ผันของช่องมีการยืดขยายออก ในอวัยวะสร้างเซลล์สืบพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์สืบพันธุ์ระยะต่างๆ เช่น การสลายตัวของสเปอร์มาโทไซต์และไข่ ส่วนในปมประสาทที่รับรลพบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ประสาทโดยมีการเพิ่มขนาดของเซลล์และนิวเคลียส

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เยื่อบุทางเดินอาหารหลังจากทดสอบกับสารเคมีเป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลงในหลอดอาหารและลำไส้ส่วนต้นเล็กน้อย และจะมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากภายหลัง ๑๒-๒๔ ชั่วโมง ซึ่งพบตลอดทุกส่วนของระบบทางเดินอาหาร การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวได้แก่ การเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่สร้างมิวคัส การเพิ่มขนาดของเซลล์ตามความสูง การเพิ่มขนาดของมิวคัสแวกิวโอล ซิเลียบนขอบเซลล์ด้านบนมีจำนวนลดลง มีการหลั่งของไซโทพลาสซึมออกมาในช่องทางเดินอาหาร เนื้อเยื่อกล้ามเนื้ออกขาด ส่วนการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ของต่อมย่อยอาหารพบว่าการเพิ่มขนาดของเซลล์และแวกิวโอล การสลายตัวของนิวเคลียส

การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ในระบบต่างๆเมื่อตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่พบเห็นทั่วไปคือ กวบรวมตัวของแวกิวโอลขนาดเล็ก เยื่อบุฐานเซลล์หนาขึ้นและแตกแขนงมากขึ้น การลดลงของไกลโคเจนในไซโทพลาสซึม การพองตัวของไมโทคอนเดรีย และการพองตัวและสลายตัวของ RER

Screening for molluscicidal activity of 50 different plant species of 22 families was done by exposing the snails, *Indoplanorbis exustus* to the crude-water extract of powdered leaves of plants for 24 h. Thirty-two species (64%) of the extracted assay demonstrated molluscicidal activity. The crude-water extract of *Brassaia actinophylla* showed the best result with the LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values of 22.73 and 32.11 mg/l; while in methanol extract, they were 23.40 and 35.48 mg/l, respectively. For niclosamide (Bayluscide<sup>®</sup>), the LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values were 0.009 and 0.01 mg/l, respectively. The LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values of the crude-water extract of *B. actinophylla* on two species of fish, *Puntius gonionotus* and *Poecilia reticulata* were 47 and 55 mg/l, and 85 and 111 mg/l, respectively. Concerning the crustacea, *Moina macrocopa* and *Macrobrachium rosenbergii*, the LC<sub>50</sub> and LC<sub>90</sub> values of the crude-water extract of *B. actinophylla* were 258 and 861 mg/l, and 141 and 181 mg/l, respectively.

Toxicity studies were conducted with the crude-water of powdered leaves of *B. actinophylla* and niclosamide. The mature snails, *I. exustus* were exposed to niclosamide and *B. actinophylla* at the LC<sub>50</sub> concentrations. After 1h, 6h, 12h and 24 h, organs of digestive, reproductive, respiratory and nervous systems were dissected out and prepared for light microscopic observation. Histological alterations of cells in different organs of digestive tract, ovotestis, cerebral ganglia and respiratory sac of snails intoxicated with niclosamide and *B. actinophylla* were relatively similar at different periods of intoxication, but more severe in snails intoxicated with *B. actinophylla*. Conspicuous alterations occurred during 12-24 h after intoxication. In the respiratory sac, there was an increase

in volume of blood sinuses and the walls had become smooth in outline. In the ovotestis, there was a degeneration of spermatozoa and oocytes. In the cerebral ganglia, there was a lysis of neuropile and deformation of neurosecretory cells with the increase in size of cells and nuclei.

Histological alteration of the epithelial cells of the alimentary tract was noticeable from 1h after intoxication with molluscicides, especially in the postesophagus and prointestine. The epithelia of esophagus and intestine were severely damaged after 12 and 24 h of intoxication. The alterations of the epithelium were dilatation of cells with increase of mucous vacuoles, reduction of cilia, and secretion of cell content into the gut lumen. Alterations of the cells in digestive gland were extrusion of cell content, increase of large vacuoles, and karyolysis.

Ultrastructural changes that occurred in the epithelium of digestive tract of *I. exustus* exposed to the LC<sub>50</sub> concentrations of niclosamide and *B. actinophylla* for 12 h were the formation of blebs, increase fusion of vacuoles, increase in infoldings of basal lamina, formation of myelin-like figures, degranulation and dilatation of RER, swelling of mitochondria and cristae, and an increase in mucous production.