

พิษเฉียบพลันของมัลลาไคท์กรีนต่อปลาน้ำจืด 5 ชนิด

Acute Toxicity of Malachite Green to Five Species of Freshwater Fish

ชลอ ลิ้มสุวรรณ¹
Chalor Limsuwan

ABSTRACT

Static bioassays were conducted to determine the acute toxicity of malachite green to silver barb (*Puntius gonionotus*), Nile tilapia (*Tilapia nilotica*), Gunther's walking catfish (*Clarias macrocephalus*), carp (*Cyprinus carpio*) and snakehead fish (*Ophicephalus striatus*). Gunther's walking catfish was the most sensitive to malachite green (96-h LC₅₀, 0.066 mg/l), and Nile tilapia was the most resistant (96-h LC₅₀, 0.425 mg/l.) The results indicate that malachite green is highly toxic to fish. Uses of malachite green at 0.10-0.15 mg/l for therapeutic treatment of fungal infections and external parasites of fish could be toxic to some species.

บทคัดย่อ

การทดลองหาความเป็นพิษเฉียบพลันของมัลลาไคท์กรีนโดยใช้วิธีชีววิเคราะห์ในน้ำนิ่งต่อปลาตะเพียน (*Puntius gonionotus*), ปลานิล (*Tilapia nilotica*), ปลาอุกอุย (*Clarias macrocephalus*), ปลาไน (*Cyprinus carpio*) และปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*) พบว่าปลาอุกอุยทนทานต่อมัลลาไคท์กรีนได้น้อยที่สุด ค่า 96 ชั่วโมง LC₅₀ เท่ากับ 0.066 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปลานิลทนทานต่อมัลลาไคท์กรีนได้ดีที่สุด ค่า 96 ชั่วโมง LC₅₀ เท่ากับ 0.425 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า มัลลาไคท์กรีนเป็นพิษต่อปลามาก การใช้มัลลาไคท์กรีนในระดับความเข้มข้น 0.10-0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับกำจัดเชื้อราและปรสิตภายนอกของปลา อาจจะเป็นอันตรายต่อปลาบางชนิด

คำนำ

มัลลาไคท์กรีนเป็นสารเคมีที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงปลาเพื่อกำจัดเชื้อรา และปรสิตต่าง ๆ เป็นเวลานานประมาณ 50 ปี ในปี ค.ศ.1936 Foster and Woodbury นำมาใช้ครั้งแรกเพื่อกำจัดเชื้อราจากปลาเทรา 4 ชนิด และปลา largemouth bass (*Micropterus salmoides*) โดยวิธีการจุ่ม (dip treatment) แต่ที่นิยมใช้กันมากในระยะหลัง ๆ นี้ก็คือ นำมาใช้ร่วมกับฟอร์มาลินเพื่อกำจัดโปรโตซัว Ichthyophthirius ซึ่งทำให้เกิดโรคจุดขาว (white spot disease) กับปลาน้ำจืดแทบทุกชนิด

มัลลาไคท์กรีนมีข้อพ้องหลายข้อ ได้แก่ nox-ich, victoria green B, evergreen B และ bright green เป็นต้น มัลลาไคท์กรีนที่ใช้กำจัดปรสิตของปลาเป็นชนิด zinc-free oxalate แม้ว่าการใช้มัลลาไคท์กรีน

1 ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Dept. of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart Univ.

ในการรักษาโรคปลาจะมีข้อดีหลายประการก็ตาม แต่สารเคมีชนิดนี้ก็สร้างปัญหาหลายอย่างเช่นกัน (Nelson, 1974) เช่น เกี่ยวกับความเป็นพิษต่อปลา (Willford, 1967) อาจจะทำให้การเจริญพัฒนาของกัพพะผิดปกติ และเกิดการเปลี่ยนแปลงการถ่ายทอดทางกรรมพันธุ์ (Lieder, 1961; Nelson, 1974) และความเครียดที่เกิดขึ้นกับปลาในขณะที่ใช้และหลังจากการใช้สารเคมีชนิดนี้ในการรักษาปลาขนาดเล็ก (Glagoleva and Malikova, 1968; Bills and Hunn, 1976) มาลาโคทรีกรินไม่ได้ผ่านการจดทะเบียนสำหรับใช้กับสัตว์น้ำ จากองค์การอาหารและยา หรือหน่วยงานป้องกันสิ่งแวดล้อมของประเทศสหรัฐอเมริกา เพราะว่าข้อมูลที่ใช้เพื่อประกอบในการพิจารณาจดทะเบียนเกี่ยวกับความเป็นพิษ ประสิทธิภาพ การตกค้าง และผลกระทบอื่น ๆ ยังไม่สมบูรณ์ Bills et al. (1977) รายงานว่า ความกระด้างและพีเอชของน้ำไม่มีผลต่อความเป็นพิษของมาลาโคทรีกริน ส่วนอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะทำให้ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

ในประเทศไทยได้มีการนำมาลาโคทรีกรินมากำจัดโรคจุดขาว ซึ่งพบทั่วไปกับปลาสวยงามแทบทุกชนิด และปลาที่เพาะเลี้ยงกันในโรงเพาะฟัก นอกจากนั้นยังใช้ในการกำจัดเชื้อราบนตัวปลา และบนไข่ปลา ปริมาณความเข้มข้นของมาลาโคทรีกรินที่ใช้ในการกำจัดปรสิตคือ 0.10–0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ppm โดยวิธีแช่ตลอดไป แต่ความเป็นพิษของมาลาโคทรีกรินต่อปลาค่อนข้างจะสูง ซึ่งระดับความเข้มข้นที่ทำให้ปลาบางชนิดตายจะต่ำกว่าระดับที่ให้ผลในการรักษาโรค ดังนั้นการศึกษาความเป็นพิษของมาลาโคทรีกรินโดยหาความเข้มข้นที่ทำให้ปลาทดลองตายครั้งหนึ่งในระยะเวลา 96 ชั่วโมง (96 ชั่วโมง LC_{50}) จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการตัดสินใจใช้สารเคมีชนิดนี้เพื่อกำจัดปรสิตภายนอกชนิดต่าง ๆ ให้สัตว์น้ำมีความปลอดภัยมากที่สุด การศึกษาครั้งนี้เลือกปลาน้ำจืดที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ 5 ชนิด คือ ปลาตะเพียน (*Puntius gonionotus*), ปลานิล (*Tilapia nilotica*), ปลาอุกอูย (*Clarias macrocephalus*) ปลาน้ำ (*Cypri-*

nus carpio) และปลาช่อน (*Ophicephalus striatus*)

อุปกรณ์และวิธีการ

ดำเนินการทดลองตามวิธีของ Sprague (1969) เป็นส่วนใหญ่ โดยใช้วิธีชีววิเคราะหีนานนิ่ง (static bioassay) ซึ่งจะทำให้การเติมมาลาโคทรีกรินในระดับความเข้มข้นที่ต้องการเมื่อเริ่มต้นการทดลองเพียงครั้งเดียวเท่านั้น ปลาที่ใช้ทดลองมี 5 ชนิด ความยาวและน้ำหนักเฉลี่ยของปลาแต่ละชนิดมีดังนี้ ปลาตะเพียน ความยาว 3.8 เซนติเมตร น้ำหนัก 1.3 กรัม ปลานิล ขนาด 2.0 เซนติเมตร 0.2 กรัม ปลาอุกอูย 1.8 เซนติเมตร 0.12 กรัม ปลาน้ำ 1.7 เซนติเมตร น้ำหนัก 0.2 กรัม และปลาช่อนขนาดความยาว 2.0 ซม. น้ำหนัก 0.12 กรัม

นำปลาทดลองมาเลี้ยงเพื่อให้คุ้นเคยกับสภาพห้องทดลองนาน 7 วัน ก่อนที่จะนำมาทดลองในโถแก้วทรงกระบอกบรรจุน้ำบาดาล 10 ลิตร น้ำบาดาลที่ใช้ผ่านการพักและเติมอากาศประมาณ 7 วัน คุณสมบัติของน้ำมีดังนี้ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ 8.0–8.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ความกระด้าง 280–300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต ความเป็นด่าง (alkalinity) 160–180 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต พีเอช 7.9–8.2 และอุณหภูมิของน้ำ 28 ± 1 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำตามวิธีของ American Public Health Association (1975) ก่อนการทดลองงดให้อาหารปลา 1 วัน นำสารละลายมาลาโคทรีกรินชนิด zinc-free oxalate ใส่ลงไปในโถทดลองให้ได้ความเข้มข้นตามที่ต้องการ ก่อนที่จะใส่ลูกปลาลงไปโถละ 10 ตัว

การทดลองประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดยขั้นแรกจะเป็นการทดลองในช่วงกว้างเพื่อหาระดับความเข้มข้นต่ำสุดของมาลาโคทรีกรินที่ทำให้ปลาทดลองแต่ละชนิดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ และความเข้มข้นสูงสุดที่ไม่ทำให้ปลาตาย หลังจากนั้นจึงนำไปทดลองอย่างละเอียด โดยจัดระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทดลอง 5–6 ระดับ แต่ละชุดที่ทดลองจะมีกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้

มาลาไคท์กรีน จะให้อาหารตลอดระยะเวลาที่ทดลอง สังเกตและบันทึกอัตราการตาย รวมทั้งพฤติกรรมอื่น ๆ ในช่วงเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ปลาที่ตายจะถูกนำออกจากโหลทดลองทันทีที่สังเกตเห็น จากข้อมูลที่ได้นำไปคำนวณหาค่า 96 ชั่วโมง LC_{50} และค่าฟังก์ชันของความเอียง (slope function) ที่ช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ ตามวิธีของ Litchfield and Wilcoxon (1949)

ผลและวิจารณ์

เปอร์เซ็นต์การตายสะสมของปลาทดลองทั้ง 5 ชนิด แสดงไว้ใน Table 1 ปลาที่สัมผัสกับมาลาไคท์กรีนในระดับความเข้มข้นสูง ๆ จะว่ายน้ำไปมาอย่างรวดเร็ว ประมาณ 15–20 นาที ต่อมาจะเสียการทรงตัว ไม่มีทิศทางแน่นอน ก่อนที่จะจมตัวอยู่บนพื้นโหลทดลองและตายไปในที่สุด ค่า 96 ชั่วโมง LC_{50} และฟังก์ชันของความเอียงพร้อมด้วยช่วงแห่งความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงไว้ใน Table 2

จากผลการทดลองจะพบว่าค่า 96 ชั่วโมง LC_{50} ของปลาดุกอุย ปลาช่อน ปลาไน ปลาดะเพียนและปลานิล มีค่าเท่ากับ 0.066, 0.069, 0.135, 0.210 และ 0.425 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า LC_{50} กับปลาชนิดอื่น ๆ ที่เคยมีรายงานการศึกษาไว้จะพบว่าใกล้เคียงกับที่ Bills et al. (1977) ศึกษา กับปลา 10 ชนิด ซึ่งค่า LC_{50} มีค่าระหว่าง 0.0305–0.383 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นอยู่กับชนิดของปลาทดลอง สำหรับค่า LC_{50} ของปลาดุกอุยและปลาช่อนครั้งนี้จะใกล้เคียงกับปลา largemouth bass ซึ่งมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.728 มิลลิกรัมต่อลิตร ปลาไนจะมีค่า LC_{50} ใกล้เคียงกับปลา channel catfish เท่ากับ 0.112 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนปลาดะเพียนจะมีค่า LC_{50} ใกล้เคียงกับปลาหลายชนิด คือ ปลา Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.224 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) LC_{50} เท่ากับ 0.283 มิลลิกรัมต่อลิตร, ปลา brown trout (*S. trutta*) LC_{50} เท่ากับ 0.237 มิลลิกรัมต่อลิตร และ

ปลา rainbow trout (*S. gairdneri*) มีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.220 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับปลานิลทนทานต่อมาลาไคท์กรีนได้มากที่สุด จากการศึกษาครั้งนี้คือมีค่า LC_{50} เท่ากับ 0.425 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีค่า LC_{50} สูงกว่า coho salmon (*O. kisutch*) เพียงเล็กน้อย

เมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้มาลาไคท์กรีนกำจัดปรสิตภายนอกโดยเฉพาะโรคจุดขาว โดยใช้ในระดับความเข้มข้น 0.10–0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเห็นได้ว่าสูงกว่าค่า LC_{50} ของปลาดุกอุยและปลาช่อน ดังนั้นจึงไม่ควรใช้มาลาไคท์กรีนในการกำจัดปรสิตภายนอกต่าง ๆ กับปลาดุกอุย และปลาช่อน เนื่องจากมาลาไคท์กรีนอาจจะทำให้ปลาตายได้ ควรจะเลือกใช้สารเคมีชนิดอื่นที่มีความปลอดภัยมากกว่า ในการกำจัดปรสิตกับปลาทองทั้ง 2 ชนิดนี้ เช่นใช้ฟอร์มาลินในระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวิธีแช่ตลอดไป น่าจะปลอดภัยแก่ปลามากกว่า การใช้มาลาไคท์กรีน 0.10–0.15 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนค่า LC_{50} ของปลาตะเพียนสูงกว่าระดับที่ให้ผลในการรักษาเพียงเล็กน้อย การใช้มาลาไคท์กรีนเพื่อกำจัดปรสิตภายนอกอาจจะทำให้ปลาตายได้เช่นกัน เพราะในระดับความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เวลา 96 ชั่วโมง จะมีปลาตายสะสมถึง 20 เปอร์เซนต์ ส่วนปลานิลมีค่า LC_{50} 0.425 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปลาเพียงชนิดเดียวในการศึกษาครั้งนี้ที่ทนทานต่อมาลาไคท์กรีนได้ดี การใช้สารเคมีชนิดนี้กับปลานิลนับว่ามีความปลอดภัยมากกว่าปลา 4 ชนิดที่กล่าวมาแล้ว

จากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่า มาลาไคท์กรีนเป็นพิษต่อปลามากการใช้สารเคมีชนิดนี้ โดยไม่รู้ค่า LC_{50} ของปลาชนิดต่าง ๆ อาจจะทำให้เกิดปัญหาปลาตายได้ ดังนั้นควรจะต้องทำการศึกษาค่า LC_{50} กับปลาชนิดอื่น ๆ เพิ่มขึ้นอีก แต่ในกรณีที่ปลา มีขนาดใหญ่ ความทนทานต่อมาลาไคท์กรีนอาจจะมากกว่าปลานขนาดเล็ก ซึ่งอาจจะไม่เป็นอันตรายมากนัก แต่อย่างไรก็ตาม สำหรับปลานขนาดเล็กถ้าหากไม่ทราบค่า LC_{50} เพื่อ

Table 1. Accumulative mortality of fishes exposed to malachite green

Species	concentrations (mg/l)	accumulative % mortality			
		24	48	72	96 hrs
silver barb	0.00	0	0	0	0
	0.05	0	0	0	0
	0.10	0	20	20	20
	0.20	20	50	50	50
	0.40	20	80	90	90
	0.80	100	100	100	100
Genther's walking catfish	0.00	0	0	0	0
	0.02	0	0	0	0
	0.032	0	20	20	20
	0.050	0	20	40	40
	0.079	10	30	40	60
	0.126	20	30	70	70
Snakehead fish	0.20	50	70	90	90
	0.00	0	0	0	0
	0.04	0	0	0	0
	0.058	0	0	40	40
	0.083	0	30	50	70
	0.012	0	50	70	70
Nile tilapia	0.173	50	70	90	90
	0.25	100	100	100	100
	0.00	0	0	0	0
	0.35	0	10	20	20
	0.40	0	30	40	40
	0.45	20	50	50	50
Carp	0.50	20	80	90	90
	0.55	60	90	100	100
	0.00	0	0	0	0
	0.050	0	0	0	0
	0.079	0	10	20	20
	0.136	20	30	40	40
	0.199	60	60	60	80

Table 2. The 96 hour LC₅₀ and slope function with 95-percent confidence interval of malachite green to fishes

Species	96-hr LC ₅₀ (mg/l)	slope function
Gunther's walking catfish	0.066 (0.045-0.096)	2.353 (1.953-2.834)
snakehead fish	0.069 (0.050-0.095)	2.06 (1.731-2.412)
carp	0.135 (0.097-0.188)	1.928 (1.521-2.313)
silver barb	0.210 (0.139-0.317)	1.60 (1.281-1.998)
Nile tilapia	0.425 (0.415-0.435)	1.178 (1.048-1.326)

ความปลอดภัยควรจะหลีกเลี่ยงการใช้มาลาไคท์กรีน
อาจจะใช้ฟอร์มาลินแทนความปลอดภัยน่าจะมีมาก
กว่า

เอกสารอ้างอิง

- American Public Health Association. 1975. Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 14 th ed. American Public Health Association, Washington D.C. 1193 p.
- Bills, T.D. and J.B. Hunn. 1976 Changes in the blood chemistry of coho salmon exposed to malachite green. Prog. Fish-Cult. 38 (4): 214-216.
- Bills, T.D., L.L. Marking and H. Chandler, Jr. 1977. Malachite green: its toxicity to aquatic organisms, persistence, and removal with activated carbon. U.S. Fish Wildl. Serv. Invest. Fish Control 75. 6 p.
- Foster, F.J. and L. Woodbury. 1936. The use of malachite green as a fish fungicide and antiseptic. Prog. Fish-Cult. 18 (4): 7-9.
- Glagoleva, T.P. and E.M. Malikova. 1968. The effect of malachite green on the blood composition of young Baltic salmon. Rybn. (USSR) 44 (5) : 15-18.
- Lieder, U. 1961. Zur Wirkung des Cancerogens and Mutagens Malachitgreen Ip-dimethylamino-fuchson-dimethyliminino-oxalat (sulfat) auf Mitosen bei Fischen und Fischeier. (On the effect of the carcinogen and mutagen malachite green on mitosis in fish and fish eggs.) Naturwissenschaften 48 (11) : 437-438.
- Litchfield, J.T., Jr. and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exp. Ther. 96 (2) : 99-113.
- Nelson, N.C. 1974. A review of the literature on the use of malachite green in fisheries. U.S. Fish Wildl. Serv. Lit. Rev. 74-11. Natl. Tech. Inf. Serv. No. PB-235 450/AS. 79 p.
- Sprague, J.B. 1969. Measurement of pollutant toxicity to fish I. Bioassay methods for acute toxicity. Water Res. 3:793-821.
- Willford, W.A. 1967. Toxicity of 22 therapeutic compounds to six fishes. U.S. Fish Wildl. Serv. Invest. Fish Control 18. 10 p.