



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj>



ระดับความเป็นพิษ การแสดงออกของอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส และการเปลี่ยนแปลง
ของเนื้อเยื่อทางเดินอาหารในหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช
2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม

Investigation of toxicity, acetylcholinesterase expression, and digestive tract
histopathology in golden apple snails (*Pomacea canaliculata*) exposed to
2,4-D dimethylammonium herbicide

กัลย์ทิมา รักแก้ว¹, จิรกาล กิ่งเกตุ¹, นันทการณ จันดี², เกลิงเกียรติ สมนึก¹, พวงเพชร พิมพ์จันทร์³,
กอบกุล นงนุช⁴ และ ชุตินา ถนอมสิทธิ์^{1*}

Kaltima Rakkaew¹, Jirakan Kingket¹, Nantakarn Jandee², Talerngkiet Somneuk¹,
Paongpetch Phimchan³, Khobkul Nongnutch⁴ and Chutima Thanomsit^{1*}

¹สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

¹Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus

²สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus

³สาขาพืชศาสตร์ สิ่งทอและการออกแบบ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

³Department of Plant Science, Faculty of Agriculture and Technology, Rajamangala University of Technology Isan, Surin Campus

⁴คณะอุตสาหกรรมและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

⁴Faculty of Industry and Technology Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมในหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) โดยประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของสัณฐานวิทยา การตอบสนองทางชีวเคมี และการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อ โดยพิจารณาจากอัตราการตายสะสม การทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) และการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของทางเดินอาหาร เมื่อได้รับสัมผัสกับสารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าอัตราการตายสะสมเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นและระยะเวลาที่สัมผัส โดยมีค่า LC₅₀ ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 2,821.95 2,218.20 1,651.24 และ 1,218.98 µg/L ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อได้รับสารในระยะเวลาสั้น และตรวจพบการลดลงของการแสดงออกของโปรตีนอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสขนาด 71 kDa จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสและเวสต์เทิร์นบลอต (Western blot) ขณะเดียวกันเมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อพบการเปลี่ยนแปลงอย่างหลายอย่าง เช่น เม็ดสีชนิด c ที่สีจางลง (c corpuscles - c cps), เม็ดสีชนิด k ที่สีเข้ม (k corpuscles - k cps), การขยายตัวของลูเมน (distention of lumen - DL), การยุบตัวของเยื่อแผ่นบุ (lamellar collapse - LC), การลดลงและผิดรูปของเม็ดสี (reduction & deformation of corpuscles - RDC), และสีเม็ดสีที่จางลง (faded pigmentation - FP) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นทั้งในระดับโมเลกุลและโครงสร้างทางเนื้อเยื่อเมื่อหอยเชอรี่สัมผัสกับสารนี้ในระยะยาวและความเข้มข้นสูง จากข้อมูลทั้งหมดสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมส่งผลกระทบต่อหอยเชอรี่ได้ ดังนั้นจึงควรมีการเฝ้าระวังในการใช้เพื่อลดการปนเปื้อนในแหล่งน้ำและการสะสมในหอยเชอรี่ซึ่งหากมนุษย์นำมาบริโภคอาจก่อให้เกิดปัญหาทางสุขภาพได้

คำสำคัญ: หอยเชอรี่; 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม; ความเป็นพิษ; อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส; เนื้อเยื่อทางเดินอาหาร

* Corresponding author: chutima.tn@rmuti.ac.th

Received: date; May 13, 2025 Revised: date; March 17, 2026

Accepted: date; March 20, 2026 Published: date; June 24, 2026

ABSTRACT: This study aimed to investigate the morphological, biochemical, and histological effects of the herbicide 2,4-D dimethylammonium on the golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). The assessment was based on mortality rates, acetylcholinesterase (AChE) enzyme activity, and histological changes in the digestive tract following exposure to different concentrations of the chemical for 24, 48, 72, and 96 hours. The results revealed that cumulative mortality increased with both concentration and duration of exposure. The LC₅₀ values at 24, 48, 72, and 96 hours were 2,821.95, 2,218.20, 1,651.24, and 1,218.98 $\mu\text{L/L}$, respectively. A significant reduction in AChE enzyme activity was observed with prolonged exposure, and a decrease in the expression of the 71 kDa AChE protein was detected through SDS-PAGE and Western blot analysis. Furthermore, histological examination revealed various alterations including faded C corpuscles (C cps), darkened K corpuscles (K cps), lumen distention (DL), lamellar collapse (LC), reduction and deformation of corpuscles (RDC), and faded pigmentation (FP). These findings indicate the effects of prolonged and high-concentration exposure to the herbicide at both the molecular and tissue structural levels. From all the data, it is obvious that herbicide 2,4-D dimethylammonium affects golden apple snails. Therefore, application of this herbicide should be carefully monitored to prevent contamination in aquatic environments and bioaccumulation in golden apple snails, which may pose potential health risks to humans through consumption of the snails.

Keywords: apple snail; 2,4-D dimethylammonium; toxicity; acetylcholinesterase; digestive tract tissue

บทนำ

การใช้สารเคมีในการเกษตร โดยเฉพาะสารกำจัดศัตรูพืชทำให้เกิดการตกค้างของสารพิษในสิ่งแวดล้อม ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศทำให้เกิดการสะสมของสารพิษต่าง ๆ ในห่วงโซ่อาหาร โดยสารบางชนิดอาจมีการเพิ่มขยายทางชีวภาพ (Biomagnification) ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อมนุษย์ที่ถือเป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้ายในระบบนิเวศ (ชุดิมา และคณะ, 2560)

หอยเชอรี่ (golden apple snail) มีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า หอยโข่งอเมริกาใต้ หรือเป่าฮื้อน้ำจืด จัดเป็นสัตว์ต่างถิ่นที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกาใต้ และเข้ามาในประเทศไทยผ่านเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่นและประเทศฟิลิปปินส์ (Chankao, 2004) ในปี พ.ศ. 2553 มีรายงานว่าหอยเชอรี่ถูกจัดเป็นสัตว์ต่างถิ่นในลำดับที่ 11 ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับสัตว์พื้นเมืองต่าง ๆ เนื่องจากหอยเชอรี่มีอัตราการขยายพันธุ์ที่รวดเร็ว เติบโตเร็ว สามารถกินอาหารได้หลากหลายประเภท และมีความสามารถในการปรับสิ่งแวดล้อมได้ดีมาก ทำให้พบหอยเชอรี่ได้ตามสิ่งแวดล้อมทั่วไป (Chalermchutipapha, 2010) หอยเชอรี่เพศเมียสามารถวางไข่ได้ตลอดทั้งปี โดยเฉพาะในฤดูฝนจะวางไข่ได้ 10-14 ครั้งต่อเดือน ลักษณะของไข่หอยเชอรี่ คือไข่จะเป็นเม็ดเล็ก ๆ เกาะติดกันเป็นกลุ่ม ๆ ละประมาณ 300-3,000 ฟอง และสามารถฟักเป็นตัวหอยได้ภายใน 7-12 วัน (Chooprateep, 2014) มีรายงานว่าหอยเชอรี่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะโปรตีนในเนื้อหอยแห้งที่มีประมาณ 50.16% และไขมัน 11.25% ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นแหล่งโปรตีนที่ดีและมีศักยภาพในการนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากสามารถจัดหาได้ในท้องถิ่น และยังช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงสัตว์น้ำได้ ยิ่งไปกว่านั้นในปัจจุบันหอยเชอรี่กลายเป็นอาหารที่มนุษย์นำมาบริโภคทำให้กลายเป็นสัตว์น้ำที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ (สมิง และคณะ, 2561)

สารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย สามารถตรวจพบได้ในสิ่งแวดล้อมทั้งอากาศ น้ำ ดิน ผักและผลไม้ สำหรับประเทศไทยนั้นพบว่าการศึกษาการปนเปื้อนในหอยเชอรี่ยังมีอยู่น้อยมาก ซึ่งต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป นอกจากนี้ Castro Marcato et al. (2006) รายงานว่าสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมสามารถสะสมในห่วงโซ่อาหารและสามารถสะสมในแหล่งน้ำได้ และที่สำคัญก่อให้เกิดการตายในสัตว์น้ำ 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมมีพิษเฉียบพลันที่ระดับต่าง ๆ ของสิ่งมีชีวิตในน้ำ ทั้งในกุ้ง หอย และปลาชนิดต่าง ๆ แต่ระดับความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิด ขนาด อายุ และระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส ส่วนใหญ่มีพิษเฉียบพลันน้อย (LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง มีค่า 10 -100 mg/L) LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง ในปลา banded killifish (*Fundulus diaphanus*), ปลา white perch (*Morone americana*), ปลา striped bass (*Morone saxatilis*), ปลา guppy (*Poecilia reticulata*), ปลา pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*) และปลา carp (*Cyprinus carpio*) มีค่าเท่ากับ 26.7, 40, 70.1, 70.7, 94.6 และ 96.5 mg/L ตามลำดับ และไม่มีพิษเฉียบพลัน (LC₅₀ ที่ 96 ชั่วโมง มีค่ามากกว่า 100 mg/L) ในหอย bay mussel (*Mytilus trossulus*), ปลา American eel (*Anguilla rostrata*) และปลา rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) โดยมีค่า LC₅₀ เท่ากับ 259, 300.6 และ 494 mg/L ตามลำดับ (Pollution control Department, 2010; ปราง และคณะ, 2565)

อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase: AChE) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการส่งผ่านสัญญาณของระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลายของสัตว์น้ำ โดยหน้าที่หลักของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส คือ การย่อยสลายสารสื่อประสาทอะซิติลโคลีน (acetylcholine) ให้กลายเป็นกรดอะซิติกและโคลีน ณ บริเวณช่องว่างไซแนปส์ (synaptic cleft) ซึ่งช่วยยุติการส่งกระแสประสาทอย่างรวดเร็วและแม่นยำ ในระบบประสาทของสัตว์น้ำเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสทำหน้าที่ในการยุติสัญญาณประสาทหลังการกระตุ้นกล้ามเนื้อหรืออวัยวะรับรู้ความรู้สึก หากอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสถูกยับยั้งหรือทำงานผิดปกติจะส่งผลให้เกิดการสะสมของอะซิติลโคลีนที่ไซแนปส์ ทำให้เกิดอาการเกร็งของกล้ามเนื้อ สั่น หรืออัมพาต ซึ่งในกรณีรุนแรงอาจส่งผลถึงการตายของสัตว์น้ำได้ (Anandhan et al., 2012) อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมักถูกใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) ในงานวิจัยด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อม เนื่องจากเอนไซม์นี้มีความไวต่อการยับยั้งโดยสารเคมีจำพวกสารกำจัดศัตรูพืช เช่น organophosphates และ carbamates รวมถึงสารกำจัดวัชพืชบางชนิด เช่น 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม (ปรางและคณะ, 2565; Thanomsit et al., 2022)

เมื่อสิ่งมีชีวิตได้รับสารกำจัดศัตรูพืชเอนไซม์โคลีนเอสเทอเรส (Cholinesterase) จะถูกยับยั้งการทำงาน ทำให้ระดับอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase; AChE) ในเนื้อเยื่อบริเวณต่าง ๆ เช่น สมอง กล้ามเนื้อหรือเลือดมีการเปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจึงถูกนำมาใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด (Anandhan et al., 2012; Menendez - Helman et al., 2012) ซึ่งการประยุกต์ใช้อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นตัวชี้วัดการสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชในหอยเชอรี่จึงอาจเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถลดความเสี่ยงในการบริโภคหอยเชอรี่ให้กับผู้บริโภคได้ ในปัจจุบันมีรายงานว่าหอยเชอรี่เป็นที่นิยมรับประทานมากในพื้นที่ภาคอีสาน และได้รับการส่งเสริมให้นำเนื้อหอยเชอรี่ไปใช้ประโยชน์อย่างอื่นมากมาย ดังนั้นการศึกษาถึงการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชในหอยเชอรี่จึงกลายเป็นประเด็นที่น่าสนใจ (ชุดิมา และคณะ, 2560) ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมในหอยเชอรี่ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในแต่ละระยะเวลา โดยเบื้องต้นจะทำการประเมินถึงอัตราการตายสะสม การเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานวิทยา การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อ และตรวจสอบการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสของสารดังกล่าว

วิธีการศึกษา

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมีทางการเกษตร (สารกำจัดศัตรูพืช) ที่นำมาใช้ในการศึกษาจะเป็นสารเคมีที่อยู่ในรูปแบบทางการค้าคือ สารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม (dimethylammonium (2,4-dichlorophenoxy) acetate 84% W/V SL) สารเคมีทั่วไปที่ใช้ในการศึกษาเป็นเกรดวิเคราะห์ และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษารูปแบบโปรตีน และการศึกษาอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท BIO-RAD

สัตว์ทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้ทำการสุ่มเก็บหอยเชอรี่ จากบริเวณอ่างเก็บน้ำห้วยเสนง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ ในช่วงเดือนพฤษภาคม ปี พ.ศ. 2567 โดยนำหอยเชอรี่ขนาดปานกลางมีความยาวเฉลี่ย 3.9 ± 1.2 cm น้ำหนักเฉลี่ย $12.8 - 2.1$ g มาปรับสภาพในโหลแก้วทดลองขนาด 8 L อยู่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 7 วันก่อนทำการศึกษา เติมสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม ลงไปใน โหลแก้ว ระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการศึกษาคือ 600, 650, 700, 750 และ 800 $\mu\text{L/L}$ เทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสารกำจัดวัชพืช โดยทำทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 อย่าง หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ

การศึกษาสัณฐานวิทยาของหอยเชอรี่

ทำการศึกษาสัณฐานวิทยาภายนอกของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชข้างต้นนั้น ตรวจสอบสีของเปลือกหรือสีของเนื้อ และสัณฐานวิทยาภายในทำการศึกษาจากเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่ เมื่อได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชข้างต้นที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 600, 650, 700, 750 และ 800 $\mu\text{L/L}$ ในเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การสกัดการสกัดโปรตีนหอย

หอยเชอรี่จะถูกทำความสะอาดด้วยน้ำประปาหลังจากนั้นทำการแยกเปลือกออกโดยใช้เครื่องมือผ่าตัด และนำเฉพาะบริเวณส่วนหัวมาบดให้ละเอียดและเติมทริสไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.02 M pH 7.2 และมีสารละลาย phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF) เป็นส่วนประกอบโดยอัตราส่วนที่ใช้คือเนื้อเยื่อ 1 g/บัฟเฟอร์ 1 mL หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,500 rpm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำส่วนใสมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในการศึกษาหอยเชอรี่จากอ่างเก็บน้ำห้วยเสนงเป็นชุดควบคุม

การวัดปริมาณโปรตีน

นำตัวอย่างที่สกัดได้จากข้อ 4 มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยเทคนิค Bradford (Bradford, 1976) โดยเติมตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ ปริมาตร 8 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมของไมโครไตเตอร์เพลทแบบ 96 หลุม แล้วเติมสารละลาย 20% Bradford Reagent Protein Assay (BIO-RAD) ปริมาตร 200 μ L จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm ด้วยเครื่อง microplate reader (Versamax, U.S.A.) เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin (BSA)

การตรวจสอบโปรตีนอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ เวสเทิร์น บลอต (western blot)

แยกโปรตีนใน 10% SDS-PAGE จากนั้นนำเจลไปย้อมด้วยสีย้อมโปรตีน (0.1% Coomassie brilliant blue R-250) ตรวจสอบอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วยเทคนิค western blot โดยย้ายโปรตีนจากเจลลงสู่เมมเบรน (nitrocellulose membrane) โดยใช้เครื่อง Trans-Blot® SD semi-dry transfer (BIO-RAD) จากนั้นนำเมมเบรนแช่ในสารละลาย blocking solution (5% skim milk ใน PBS) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างเมมเบรนด้วยสารละลาย Tween 20 0.1% ใน PBS แล้วนำมาแช่ในแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (rabbit anti fish acetylcholinesterase: PAb) จากบริษัท BIO-RAD ที่ระดับความเข้มข้น 1: 50 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างแอนติบอดีส่วนเกิน แล้วแช่เมมเบรนในแอนติบอดีต่ออีโนโกลบูลินของกระต่ายที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ (goat anti-rabbit (GAR) conjugate horseradish peroxidase (GAR-HRP) ระดับความเข้มข้น 1: 1,000 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างแอนติบอดีส่วนเกิน แล้วนำไปแช่ในสารละลายสับสเตรท (diaminobenzidine (DAB) (0.03 %), hydrogen peroxide (H_2O_2) 0.03 %, และ cobalt chloride ($CoCl_2$) 0.05 % ใน PBS 20 มิลลิลิตร สังเกตและบันทึกผลการเกิดปฏิกิริยาของแอนติบอดีกับตัวอย่างจะปรากฏแถบสีน้ำตาลดำ (ชุดีมา และคณะ, 2560)

การวัดกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

รวบรวมตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาระดับการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส โดยประยุกต์ใช้ตามวิธีการของ Ellman et al. (1961) ซึ่งอาศัยหลักในการวัดอัตราการผลิตสารไทโอโคลีน (thiocholine) จากการสลายตัวของอะซิติลไทโอโคลีน (acetylthiocholine) ซึ่งทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับสารไดไธโอไบสไนโตรเบนโซเอต (dithiobisnitrobenzoate) จะได้ 2-ไนโตร-5-เมอร์แคปโตเบนโซเอต (2-nitro-5-mercaptobenzoate) และเกิดสารสีเหลือง โดยมีการทำปฏิกิริยาในไมโครไตเตอร์เพลทแบบ 96 หลุม (96 well microtiter plate) สารสีเหลืองที่เกิดขึ้นจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (microplate reader) และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาระดับการทำงานของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในตัวอย่างที่ต้องการศึกษาในลำดับต่อไป มีหน่วยเป็น (nmols/min/mg protein) (พิทยา และคณะ, 2009)

การศึกษาจุลกายวิภาคระบบทางเดินอาหาร

สุ่มเก็บตัวอย่างหอยเชอรี่จากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่ได้รับสัมผัสสารในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดการตายหลังจากได้รับสารกำจัดวัชพืช 2-4,D ไดเมทิลแอมโมเนียม ตามระยะช่วงเวลาที่กำหนด 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างกลุ่มละ 2 ตัว นำหอยเชอรี่มาล้างให้สะอาด หลังจากนั้นแกะเปลือกและนำเฉพาะส่วนบริเวณทางเดินอาหารไปรักษาสภาพด้วย 10% phosphate buffer formalin เก็บรักษาตัวอย่าง 4 องศาเซลเซียส ทำการดิงน้ำออกจากตัวอย่างแล้วนำไปฝังด้วยพาราฟาสต์ นำไปตัดด้วยเครื่องมือโครโตมให้มีความหนา 5 μ m ย้อมเนื้อเยื่อตามวิธี Hematoxylin and Eosin (H&E staining) ปิดผนึกเป็นสไลด์ถาวร โดยใช้หน้ายาเปอร์มาท์ (Permount®) นำตัวอย่างไปศึกษาพยาธิสภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์บันทึกภาพการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของปลานิล รายงานผลโดยอ้างอิงจากวิธีการของวันวิภา (2557)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าอัตราการตายสะสม ค่าปริมาณโปรตีน และค่าปริมาณการแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์อะซิetylโคลีนเอสเทอเรส ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์สถิติ SAS® OnDemand for Academics”

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาอัตราการตายสะสมและระดับความเป็นพิษของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม

เมื่อทำการศึกษ้อัตราการตายสะสมพบว่า การตายจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส โดยอัตราการตายครั้งแรกจะเกิดขึ้นเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม ที่ระดับความเข้มข้น 600, 650, 700, 750 และ 800 µL/L เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยหอยเชอรี่ที่ตายสังเกตได้จากแผ่นฝาเปลือกที่เปิดและหอยเชอรี่จะลอยตัวขึ้นสู่ผิวน้ำ พบว่าอัตราการตายสะสมของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัส โดยตลอดช่วงเวลาที่ศึกษา คือ 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง หอยเชอรี่ในชุดควบคุมไม่เกิดการตาย แต่พบการตายครั้งแรกเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารเมื่อเวลาเข้าสู่ 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600, 650, 700, 750 และ 800 µL/L มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00±0.00%, 6.67±2.89%, 15.00±5.00%, 20.00±0.00%, 28.33±5.77% และ 33.33±2.89% ที่เวลา 48 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600, 650, 700, 750 และ 800 µL/L มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00±0.00%, 10.00±0.00%, 18.33±2.89%, 25.00±0.00%, 30.00±5.00% และ 35.00±0.00% ที่เวลา 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600, 650, 700, 750 และ 800 µL/L มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00±0.00%, 13.33±2.89%, 21.67±2.89%, 31.67±2.89%, 36.67±2.89 และ 46.67±2.89% และที่เวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600, 650, 700, 750 และ 800 µL/L มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00±0.00%, 16.67±2.89%, 26.67±2.89%, 38.33±2.89%, 43.33±2.89% และ 55.00±5.00% ตามลำดับ (Figure 1) และเมื่อทำการวิเคราะห์โปรบิทคำนวณค่า LC₅₀ ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง มีค่าประมาณ 2,821.95 2,218.20 1,651.24 และ 1,218.98 µL/L ตามลำดับ

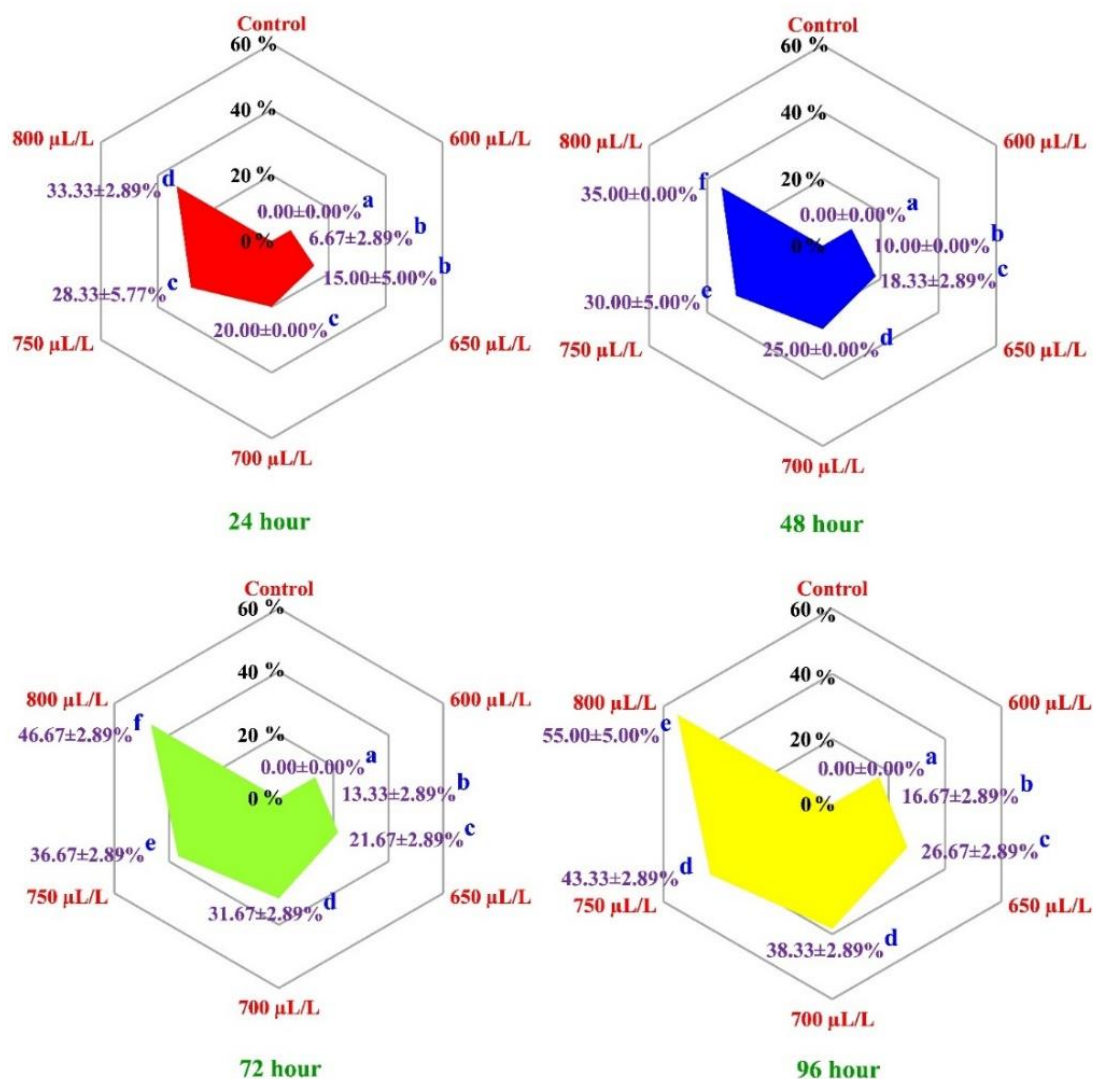


Figure 1 The cumulative mortality percentage of golden apple snail exposed to 2,4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 µL/L for 24-96 hours

ผลการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของหอยเชอรี่

พบว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาของหอยเชอรี่ไม่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้งสีของเปลือก รูปร่าง และสภาพผิว โดยหอยเชอรี่ทุกกลุ่มยังคงมีเปลือกสีน้ำตาลดำตามปกติ ในขณะที่การศึกษาเนื้อเยื่อพบว่าหอยเชอรี่เริ่มมีความเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับสัมผัสสารที่ความเข้มข้น 750 µL/L ที่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง โดยพบลักษณะเนื้อเยื่อภายในที่เปื่อยยุ่ย และเสื่อมสภาพ ซึ่งเป็นสัญญาณของการทำลายโครงสร้างภายในจากผลกระทบของสารเคมี (Figure 2)

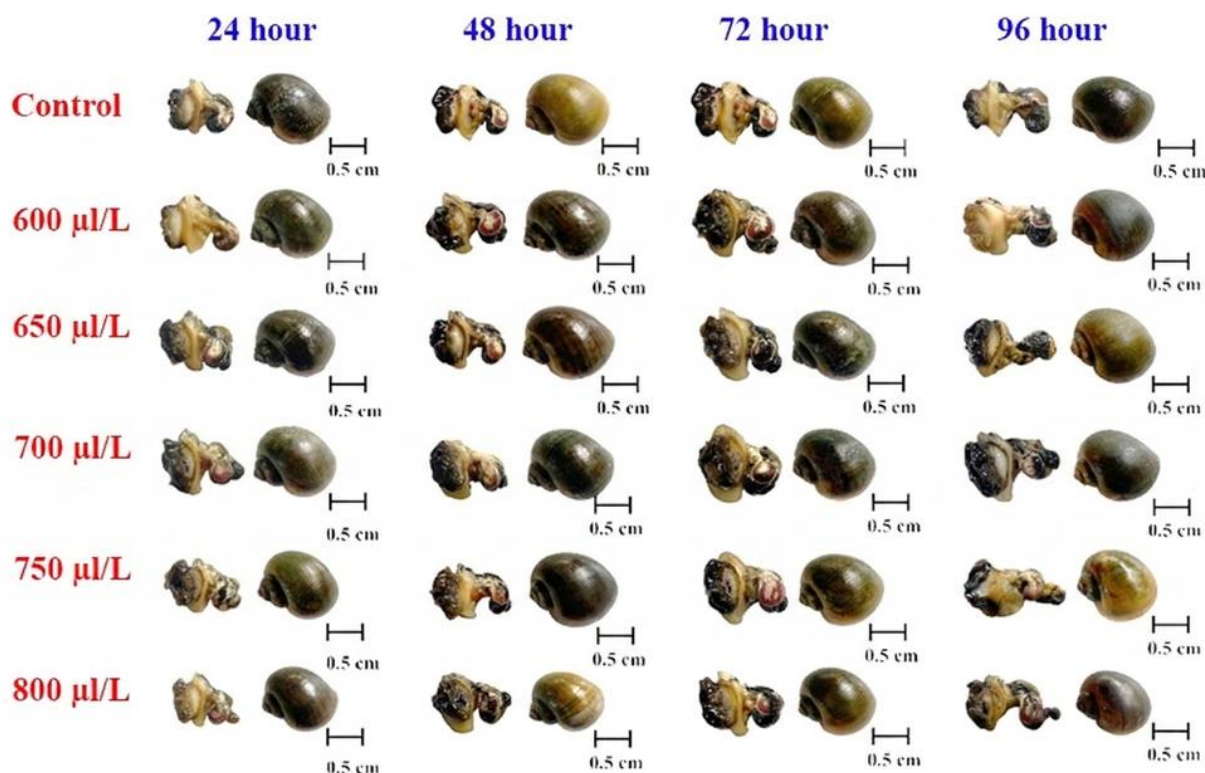


Figure 2 External and internal morphological characteristics of golden apple snail exposed to 2, 4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours

การศึกษาปริมาณโปรตีนทั้งหมดและกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่

เมื่อทำการศึกษาปริมาณโปรตีนรวมที่สกัดได้จากเนื้อเยื่อส่วนหัวของหอยเชอรี่ พบว่าแนวโน้มของปริมาณโปรตีนจะลดลงเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสารนานขึ้น เมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่ตรวจสอบได้จะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ที่เวลา 24 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 28.38 mg/ml และค่าต่ำสุดอยู่ที่ความเข้มข้น 800 µL/L เท่ากับ 25.76 mg/ml เช่นเดียวกับที่เวลา 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุดคือกลุ่มควบคุม เท่ากับ 28.80 mg/ml และ 27.95 mg/ml และมีค่าต่ำสุดในกลุ่มความเข้มข้น 800 µL/L เท่ากับ 25.12 mg/ml และ 24.80 mg/ml ในขณะที่เวลา 96 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มที่มีค่าโปรตีนสูงสุดคือกลุ่มควบคุม เท่ากับ 27.78 mg/ml และมีค่าต่ำสุดที่ความเข้มข้น 750 µL/L เท่ากับ 14.89 mg/ml (**Figure 3A**)

เมื่อทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่สกัดได้จากเนื้อเยื่อส่วนหัวของหอยเชอรี่ ที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม พบว่าแนวโน้มของปริมาณกิจกรรมเอนไซม์จะลดลงเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสารเป็นเวลานานและที่ระดับความเข้มข้นสูง โดยเมื่อหอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มควบคุมมีค่าของเอนไซม์สูงสุด เท่ากับ 21.56 nmols/min/mg protein และค่าต่ำสุดอยู่ที่ความเข้มข้น 800 µL/L เท่ากับ 19.13 nmols/min/mg protein เช่นเดียวกับที่เวลา 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่ากลุ่มที่มีเอนไซม์สูงสุดคือกลุ่มควบคุม เท่ากับ 20.84, 20.73 และ 20.18 nmols/min/mg protein ตามลำดับ และมีค่าต่ำสุดในกลุ่มความเข้มข้น 800 µL/L เท่ากับ 18.18, 16.94 และ 16.05 nmols/min/mg protein ตามลำดับ (**Figure 3B**)

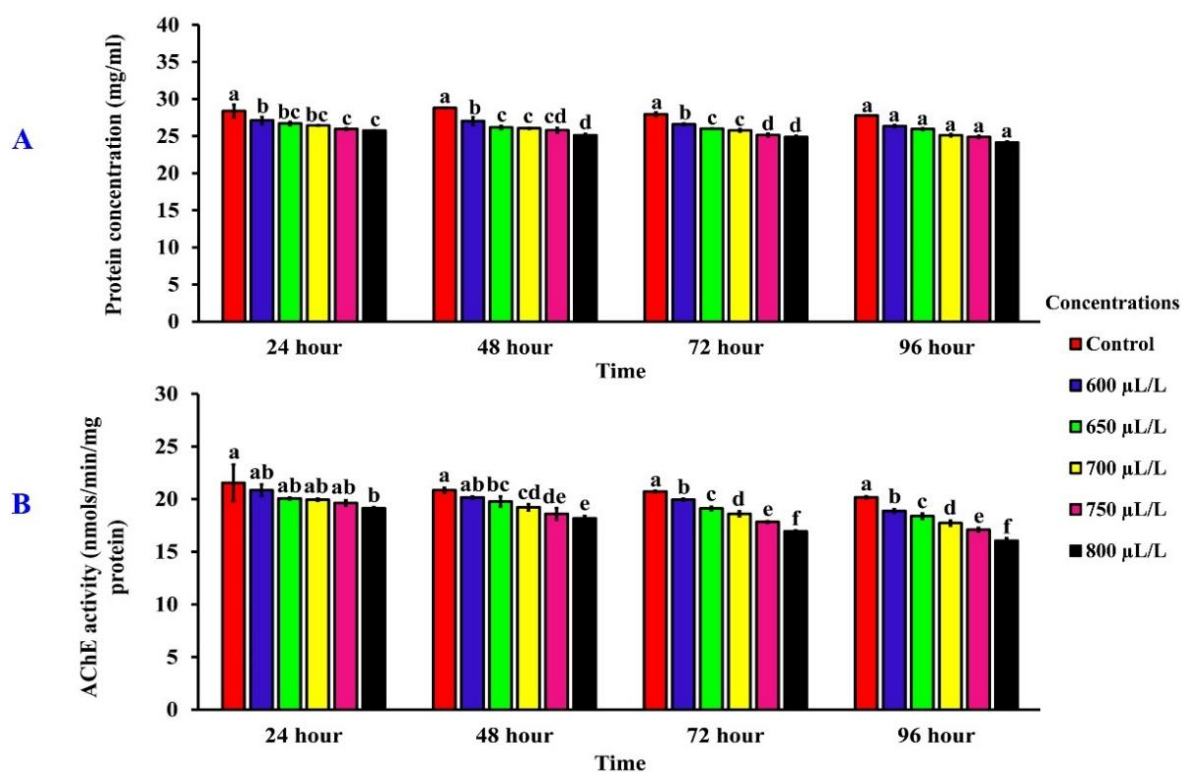


Figure 3 (A) Protein concentration (mg/ml) and (B) AChE activity (nmols/min/mg protein) in golden apple snail exposed to 2, 4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 $\mu\text{L/L}$ for 24, 48, 72, and 96 hours

รูปแบบโปรตีนและการแสดงออกของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

โปรตีนในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ส่วนหัว ถูกนำมาศึกษารูปแบบโปรตีนโดยใช้เทคนิค SDS-PAGE (Figure 4) และทำการศึกษาถึงการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสโดยทดสอบด้วยเทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Figure 5) อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมีขนาด 71 kDa และแสดงให้เห็นชัดเจนว่าเมื่อหอยเชอรี่ได้สัมผัสสารเป็น เวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 700, 750 และ 800 $\mu\text{L/L}$ จะไม่พบการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

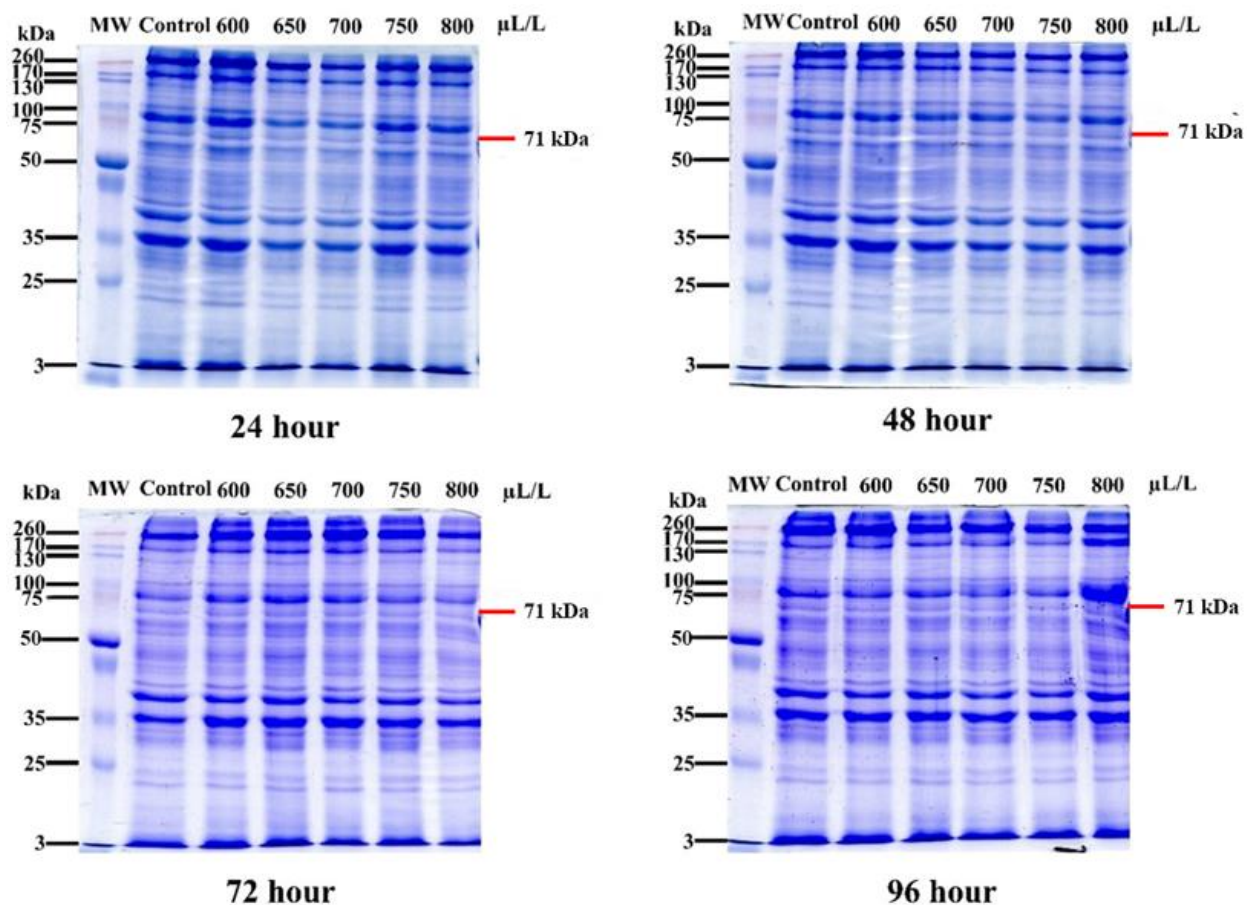


Figure 4 The protein profiles of head of golden apple snail exposed to the herbicide 2, 4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours using the 10% SDS-PAGE technique

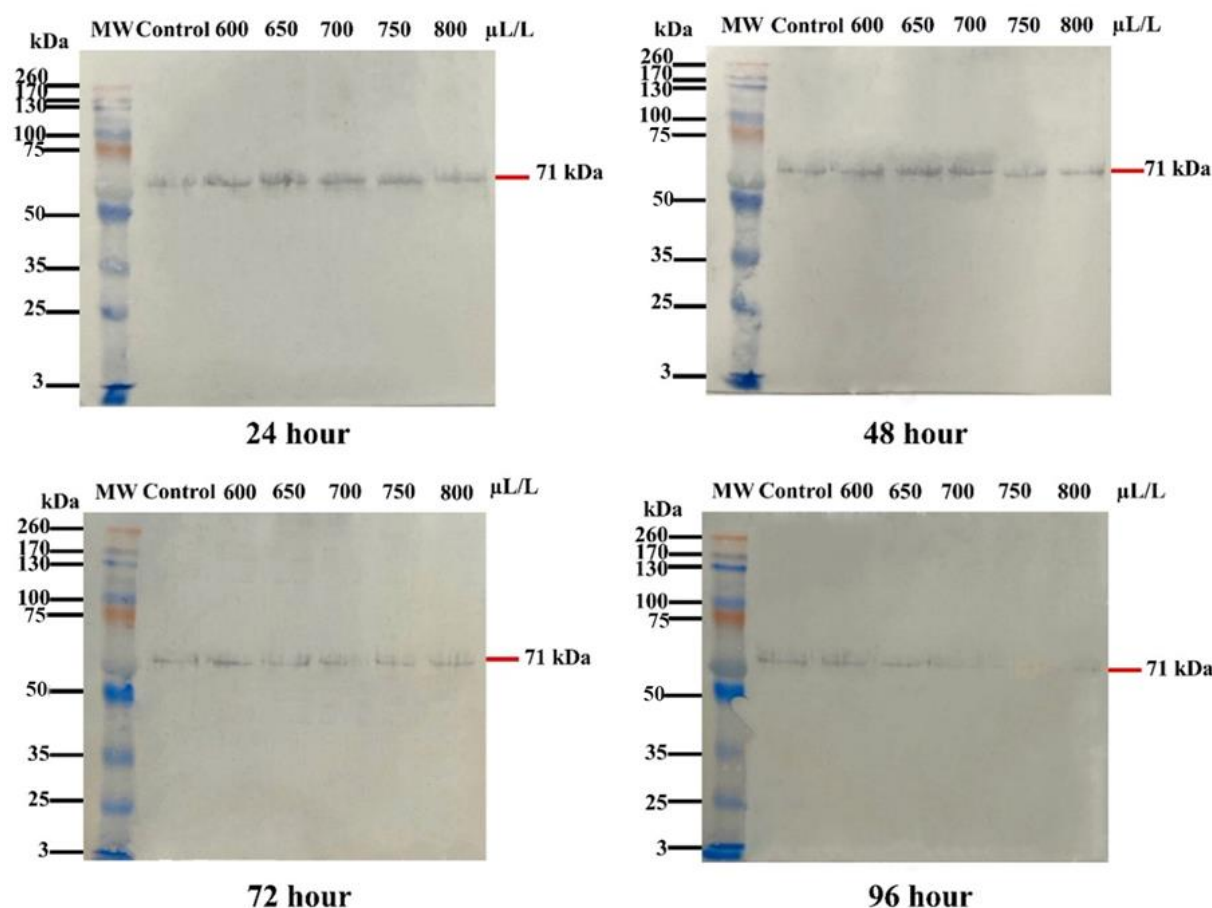


Figure 5 Acetylcholinesterase expression by western blot technique in golden apple snails exposed to the herbicide 2, 4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours.

ผลการศึกษากายวิภาคระบบทางเดินอาหาร

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม พบว่าการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อโดยขึ้นอยู่กับระยะเวลาการสัมผัสและระดับความเข้มข้นของสาร โดยในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงยังไม่พบความผิดปกติของโครงสร้าง พบเม็ดสี C corpuscles และ K corpuscles อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม เมื่อเข้าสู่ช่วงเวลา 48 ชั่วโมง เริ่มพบความผิดปกติของเนื้อเยื่อ ได้แก่ การลดลงของเม็ดสีบางส่วน และการขยายตัวของช่องลูเมน (distention of lumen: DL) อย่างเด่นชัด สำหรับช่วงเวลา 72 ชั่วโมง การเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อมีความชัดเจนมากขึ้น โดยพบการขยายตัวของช่องลูเมนที่รุนแรงขึ้น เม็ดสี C และ K เริ่มจางลง (faded pigmentation: FP) และมีการยุบตัวของเยื่อแผ่นบุ (lamellar collapse: LC) เมื่อเข้าสู่ช่วงเวลา 96 ชั่วโมง พบการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้น โดยพบลักษณะของ DL และ LC อย่างชัดเจนร่วมกับการลดจำนวนและการผิดรูปของเม็ดสี (reduction and deformation of corpuscles: RDC) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ความผิดปกติของเนื้อเยื่อ ได้แก่ FP, DL, LC และ RDC มีความสัมพันธ์กับทั้งระยะเวลาและระดับความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม โดยกลุ่มที่ได้รับสารในความเข้มข้นสูงและเป็นเวลานานจะแสดงความเสียหายของเนื้อเยื่ออย่างรุนแรงที่สุด ซึ่งบ่งชี้ว่าสารดังกล่าวมีผลกระทบโดยตรงต่อโครงสร้างและหน้าที่ของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอร์รี่

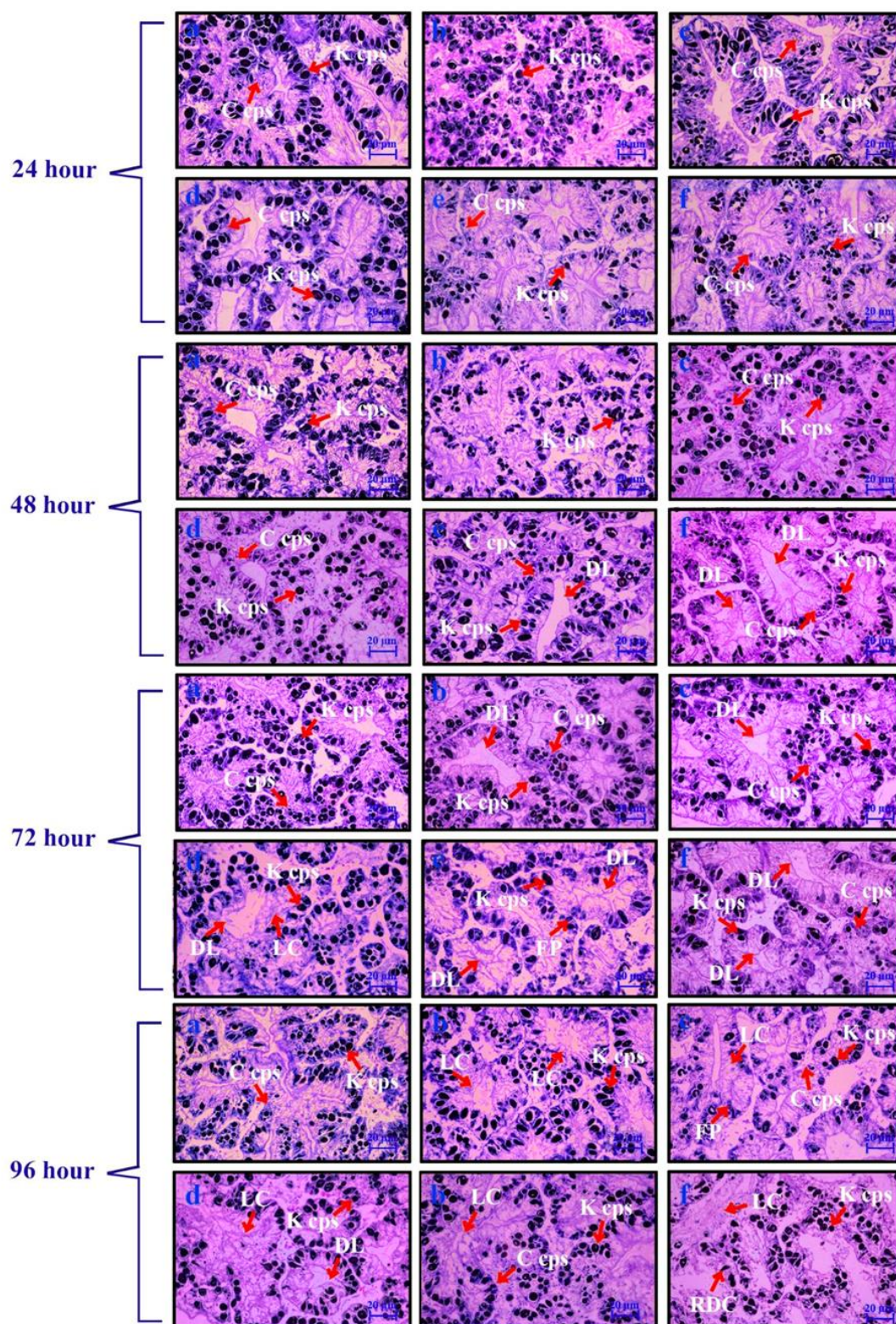


Figure 6 Histopathology in the digestive tract of golden apple snail exposed to 2,4-D dimethylammonium at concentrations of 0, 600, 650, 700, 750, and 800 $\mu\text{L/L}$ for 24, 48, 72, and 96 hours.

Note: C corpuscles (C cps), K corpuscles (K cps), distention of lumen (DL), lamellar collapse (LC), faded pigmentation (FP), reduction and deformation of corpuscles (RDC).

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาอัตราการตายสะสมของหอยเชอรี่ พบว่าอัตราการตายสะสมของหอยเชอรี่จะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส สอดคล้องกับการศึกษาความเป็นพิษของหอยเชอรี่ของ Thanomsit et al. (2022) ได้รายงานว่าการตายสะสมจะขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส และเมื่อทำการศึกษาค่า LC_{50} พบว่าเมื่อระยะเวลานานขึ้นค่า LC_{50} จะลดลง ซึ่งการที่ค่า LC_{50} ลดลงตามเวลา บ่งบอกถึงการสะสมของพิษในสิ่งมีชีวิต (time-dependent toxicity) ซึ่งเป็นลักษณะทั่วไปของสารเคมีที่สามารถซึมเข้าสู่ร่างกายสัตว์น้ำได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ ข้อมูลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานจากกรมควบคุมมลพิษ (Pollution Control Department, 2010) ได้ระบุว่าสาร 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม มีพิษเฉียบพลันต่ำถึงปานกลางในสัตว์น้ำหลายชนิด โดยมีค่า LC_{50} ที่ใกล้เคียงกันกับที่รายงานในงานวิจัยนี้

เมื่อทำการศึกษากการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาในหอยเชอรี่ พบว่าลักษณะสัณฐานวิทยาภายในของหอยเชอรี่ โดยตรวจสอบจากเนื้อเยื่อ พบว่าเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารมีการเปลี่ยนแปลงไปจากกลุ่มควบคุม หอยเชอรี่ได้รับสัมผัสสารมีลักษณะเนื้อเยื่อเยื่อเยื่อ มีความสอดคล้องกับ ประจักษ์ และคณะ (2065) ได้รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของหอยเชอรี่จะเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชจะมีลักษณะเนื้อเยื่อเยื่อเยื่อ และการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส ส่วนการศึกษาของ Thanomsit et al. (2022) ที่ได้ทำการประเมินผลกระทบเชิงลบของสารกำจัดวัชพืช (คลอร์ไพริฟอส) ในหอยเชอรี่พบว่า หอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารดังกล่าวจะมีสีเข้มขึ้นบริเวณหัวและทางเดินอาหารและจะมีเนื้อเยื่อที่เยื่อเยื่อเยื่อเมื่อได้รับสัมผัสสารเป็นเวลานาน

จากงานทดลองในครั้งนี้พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ในหอยเชอรี่จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายหลังสัมผัสสาร 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมที่ระดับความเข้มข้นสูงและที่ระยะเวลานานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับงานของ ประจักษ์ และคณะ (2565) รายงานว่าเอนไซม์อะซิetylโคลีนเอสเตอเรสในปลานิลลดลงทั้งในสมอง หัวใจ และกล้ามเนื้อ แสดงให้เห็นว่าสารดังกล่าวรบกวนการทำงานของระบบประสาทของสัตว์น้ำอย่างชัดเจน และ ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Atamaniuk et al. (2013) ที่ทำการศึกษถึงการแสดงออกของอะซิetylโคลีนเอสเตอเรสในปลาทอง *Carassius auratus* (Linn.) ที่ได้รับสัมผัสกับสาร 2, 4-D โดยพบว่าอะซิetylโคลีนเอสเตอเรสในเนื้อเยื่อลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

การศึกษาโดยใช้เทคนิค SDS-PAGE พบว่า อะซิetylโคลีนเอสเตอเรสที่แยกได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 71 kDa เมื่อเวลาผ่านไปจะมีแนวโน้มที่ลดลง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Thanomsit et al. (2022) และประจักษ์ และคณะ (2565) ที่ได้ทำการศึกษากการแสดงออกของอะซิetylโคลีนเอสเตอเรสในหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชโดยอะซิetylโคลีนเอสเตอเรสที่พบในเนื้อเยื่อหอยมีน้ำหนักโมเลกุล 71 kDa เมื่อทำการศึกษาโดยใช้เทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสและเวสเทิร์นบลอต

การศึกษากการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของหอยเชอรี่เมื่อได้รับสาร 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม พบว่าโครงสร้างเนื้อเยื่อเกิดความเสียหายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการสัมผัสและระดับความเข้มข้นของสาร โดยในช่วง 24 ชั่วโมงยังไม่พบความผิดปกติ C และ K corpuscles ยังคงปรากฏชัดเจน แต่ที่ 48 ชั่วโมง เริ่มพบการขยายตัวของช่องลูเมน (distention of lumen: DL) และการลดลงของเม็ดสีเล็กน้อย ที่ 72 ชั่วโมง พบการจางของเม็ดสี (faded pigmentation: FP) การยุบตัวของเยื่อบุผิว (lamellar collapse: LC) และ DL ชัดเจนมากขึ้น จนถึง 96 ชั่วโมง พบความเสียหายรุนแรง ทั้ง LC และ DL เด่นชัด และพบการลดลงและผิดรูปของเม็ดสี (reduction & deformation of corpuscles: RDC) อย่างชัดเจน ความเสียหายที่พบนี้ สอดคล้องกับข้อมูลของ Dellagnola et al. (2019) ซึ่งรายงานว่าการย่อยอาหารของหอยเชอรี่ประกอบด้วยเซลล์หลักสองชนิด ได้แก่ เซลล์ columnar และเซลล์ pyramidal ที่มีหน้าที่ดูดซึมและสะสม endosymbionts ได้แก่ C และ K corpuscles โครงสร้างเหล่านี้มีบทบาทสำคัญต่อการย่อยอาหารและอาจสะท้อนถึงสุขภาพของหอยโดยรวม ดังนั้นผลจากการศึกษานี้พบความเสื่อมสภาพของ corpuscles และโครงสร้างย่อยอาหารที่พบในการศึกษานี้ จึงเป็นสัญญาณของผลกระทบร้ายแรงจากสาร 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม แม้งานของ Lobo-da-Cunha et al. (2022) จะศึกษาลินททะเลซึ่งอยู่ในกลุ่มสัตว์ที่แตกต่างจากหอยเชอรี่ แต่ให้ข้อมูลเชิงเปรียบเทียบที่เป็นประโยชน์ โดยชี้ว่าเซลล์ดูดซึมในทางเดินอาหารที่ปกติควรมี microvilli หนาแน่น พร้อม mitochondria และ lysosome จำนวนมาก เพื่อรองรับหน้าที่ในการดูดซึมและย่อยอาหาร หากโครงสร้างเหล่านี้ถูกทำลาย เช่น การยุบตัวของเยื่อบุผิว และการขยายของลูเมน ก็ย่อมส่งผลต่อหน้าที่พื้นฐานดังกล่าว

การนำเทคนิคทางจุลพยาธิวิทยาาร่วมกับเวสเทิร์นบลอตในการวิเคราะห์การแสดงออกของโปรตีนอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสควบคู่กับการตรวจสอบการเสื่อมสภาพของโครงสร้างเนื้อเยื่อสามารถยืนยันผลกระทบของสาร 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม ทั้งในระดับชีวเคมีและระดับเนื้อเยื่อ นอกจากนี้การติดตามลักษณะของ C และ K corpuscles ยังสามารถใช้ในการประเมินผลกระทบต่อ endosymbionts ซึ่งอาจมีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของระบบย่อยอาหารและอาจส่งผลต่อสุขภาพโดยรวมของหอยเชอรี่อีกด้วย

สรุป

เมื่อทำการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมต่อหอยเชอรี่ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 600–800 $\mu\text{L/L}$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่าอัตราการตายสะสมของหอยเชอรี่เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส โดยมีค่า LC_{50} ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 2,821.95 2,218.20 1,651.24 และ 1,218.98 $\mu\text{L/L}$ ตามลำดับ เมื่อทำการศึกษาปฏิกิริยาของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสพบว่าลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส เมื่อทำการศึกษาการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสโดยใช้เทคนิค SDS-PAGE และเวสเทิร์นบลอต พบว่า อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสนี้มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณประมาณ 71 kDa และมีการแสดงออกลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อสัมผัสกับสารเป็นเวลานาน ในส่วนของการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมมีการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อในระบบทางเดินอาหารอย่างชัดเจน โดยมีลักษณะความผิดปกติที่สัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของสารและระยะเวลาการสัมผัส ได้แก่ การจางของเม็ดสี c และ k corpuscles การลดจำนวนและการผิดปกติของ corpuscles การยุบตัวของเยื่อแผ่นบุ และการขยายตัวของช่องลูเมน โดยเฉพาะในกลุ่มที่ได้รับสารในความเข้มข้นสูงและระยะเวลานาน พบลักษณะเหล่านี้ได้เด่นชัดมากขึ้น ซึ่งแสดงถึงผลกระทบที่รุนแรงต่อโครงสร้างและการทำงานของระบบทางเดินอาหารในหอยเชอรี่จากผลสำคัญดังกล่าวข้างต้นหอยเชอรี่สามารถนำมาใช้ในการบ่งชี้ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมได้

การอนุญาตวิจัยในสัตว์

การทดลองนี้ได้รับอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ตามเอกสารอนุญาตที่ U1-03405-2559

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์

เอกสารอ้างอิง

- ชุตินาถ อนุเมธิตี, อรุณี มาประจวบ, วิชชุดา ประสาทแก้ว, หยาตเพชร โอเจริญ, อำนาจ วัฒนกรศิริ, จักรพันธ์ นาน่วม และพอลจิต นันทนาวัฒน์. 2560. การประยุกต์ใช้อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพการได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชเพื่อลดความเสี่ยงในหอยเชอรี่และหอยเชอรี่. น. 221-227. ใน: การประชุมวิชาการระดับชาติ “นวัตกรรมและเทคโนโลยีวิชาการ 2017” “วิจัยจากองค์ความรู้สู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน”. 25-26 ธันวาคม 2560. คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์, สุรินทร์.
- ประจักษ์ บัวเขียว, อภิสิทธิ์ เดชฤทธิ์, เกลิงเกียรติ สมนึก, วิชชุดา ประสาทแก้ว, พวงเพชร พิมพ์จันทร์, สุทธิดิล ปิยะเดชสุนทร และชุตินาถ อนุเมธิตี. 2565. ผลกระทบของคลอรีนฟอสเฟตผสมไซเปอร์เมทริน (สารกำจัดแมลง) ต่อการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาและการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*). วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาร. 44: 24-33.

- ปราง กาญจนสาร, ไชยวัฒน์ นวลขาว, สำเนาวิ เสาวกุล, จักรพันธ์ นาน่วม, พอลิต นันทนาวัฒน์ และชุติมา ถนอมสิทธิ์. 2565. ระดับความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมในปลานิลและการตรวจสอบการแสดงออกของอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส (ตัวชี้วัดทางชีวภาพ) เพื่อบ่งชี้การได้รับสัมผัสในระดับความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดการตาย. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 27: 1278-1299.
- พิทยา นิตยาชิต, ศักดิ์สิทธิ์จันทร์ไทย และรักพงษ์ เพชรคำ. 2552. ผลของสารคลอรีไพโรฟอสต่อการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในสมอง ปลาสมุท และเม็ดเลือดแดงของปลานิล. วารสารวิจัย มข. 14: 55-67.
- วันวิภา หนูมา. 2557. รายงานการวิจัย เรื่อง พัฒนาการคัพพะปลาตุกร้าพัน (*Clarias nieuhofii*) โดยใช้เทคนิคเนื้อเยื่อวิทยา. มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. รายงานการวิจัย.
- สมิง จำปาศรี, จิราพร กุลคำ, กิตติมา วานิชกุล, ปณิตตา สุขสมัย และพนิดา วินัยปรีชา. 2561. ผลของการใช้หอยเชอรี่ ทดแทนปลาข้างเหลืองในการเลี้ยงปลากะพงขาว. แก่นเกษตร. 46: 1055-1058.
- Anandhan, R., G. Bhuyan, V. Kavitha, and A. Selvam. 2012. Studies on the acetylcholinesterase (AChE) activity of two freshwater teleost *Channa striatus* and *Oreochromis mossambicus* in reference to Kedilam river, Cuddalore district, Tamil Nadu. International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology. 2: 52–56.
- Atamaniuk, T. M., R. Stetina, and J. Blahova. 2013. Goldfish can recover after short-term exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetate: Use of blood parameters as vital biomarkers. Neuro Endocrinology Letters. 34: 250–254.
- Castro Marcato, A. C., C. Pereira de Souza, and C. S. Fontanetti. 2017. Herbicide 2,4-D: A review of toxicity on non-target organisms. Water, Air and Soil Pollution. 228: 120.
- Chalermchutipapha, N. 2010. Alien species raids to destroy biodiversity. UPDATE.
- Chankao, S. 2004. Study of biodiversity of golden apple snail in central part of Thailand by polymerase chain reaction. M.Ed. Thesis, Chemistry, Faculty of Science, Srinakharinwirot University, Bangkok.
- Chooprateep, S. 2014. Duration against wetting-drying cycles of lateritic soil block using crushed golden apple snail shell and cement as a binder. School of Civil Engineering, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima.
- Dellagnola, F. A., A. Rumi, and C. Rodríguez. 2019. A multiple comparative study of putative endosymbionts in three coexisting apple snail species. BMC Microbiology. 19: 40.
- Lobo-da-Cunha, A., C. Batista-Pinto, and A. Ribeiro. 2022. Functional histology and ultrastructure of the digestive tract in two species of chitons (Mollusca, Polyplacophora). Zoological Journal of the Linnean Society. 194: 789–807.
- Pollution Control Department. 2010. 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). Chulaprint, Bangkok.
- Thanomsit, C., A. Wattanakornsiri, J. Nanuam, W. Prasatkaew, S. Saowakoon, and P. Nanthanawat. 2022. Toxicological effect and acetylcholinesterase (AChE) expression in golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) after exposure to chlorpyrifos. AACL Bioflux. 15: 2582–2596.