

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ในกุ้งก้ามกราม (*Macbrachium rosenbergii*)

Toxicity of Glufosinate-Ammonium Herbicide in Giant Freshwater Prawn (*Macbrachium rosenbergii*)

บุษยมาศ วงศ์จันทร์¹, กัลยทิมา รักแก้ว², นันทการณ จันดี³, พงศ์ภัทร เกียรติประเสริฐ⁴,

สุกัญญา คำหล้า⁵ และ ชุตินา ถนอมสิทธิ์^{2*}

Butsayamat Wongchan¹, Kaltima Rakkaew², Nantakarn Jandee³, Pongpat Kiatprasert⁴,

Sugunya Kumla⁵ and Chutima Thanomsit^{2*}

¹หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประเทศไทย

² สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ประเทศไทย

³ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ประเทศไทย

⁴ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ ประเทศไทย

⁵ สาขาวิชาประมง คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร ประเทศไทย

¹School of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Thailand

²Department of Fisheries, Faculty of Agriculture and Technology,

Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Thailand

³Department of Animal science, Faculty of Agriculture and Technology,

Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Thailand

⁴Department of science and mathematics, Faculty of Agriculture and Technology,

Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus, Thailand

⁵Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources,

Rajamangala University of Technology Isan Sakon Nakhon Campus, Thailand

Received : 19 June 2025, Received in revised form : 21 August 2025, Accepted : 21 August 2025

Available online : 9 September 2025

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา : ในปัจจุบันมีการขยายตัวของกาส่งออกสินค้าทางการเกษตร ดังนั้นเกษตรกรจึงนำเทคโนโลยีต่าง ๆ มาช่วยเพิ่มผลผลิตทางด้านอาหารให้เพียงพอับความต้องการของผู้บริโภค โดยใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังจะเห็นได้จากปริมาณการนำเข้าปุ๋ยเคมีและสารป้องกันกำจัดวัชพืชที่เพิ่มขึ้นต่อเนื่อง อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชในทุกพื้นที่ถือว่าเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม การใช้สารกำจัดวัชพืชที่ปราศจากการควบคุมอย่างถูกวิธีมีความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายของสารกำจัดวัชพืชสู่สิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ปัญหาการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มากเกินไปยังทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีในดิน อากาศ และแหล่งน้ำ โดยการปนเปื้อนของสารดังกล่าวส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำและทำให้เกิดการสะสมสารพิษในสัตว์น้ำ แม้การปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชอาจอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อการบริโภค

ของมนุษย์ แต่ระดับการปนเปื้อนที่พบในแหล่งน้ำธรรมชาติอาจมีผลต่อสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากเกิดการปนเปื้อนในสัตว์น้ำที่มนุษย์ใช้บริโภคก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงผลกระทบแบบเฉียบพลันของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชที่ส่งผลกระทบต่อสัตว์น้ำ กุ้งก้ามกราม (*Macbrachium rosenbergii*) ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานไว้ในประเทศไทย โดยทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อเยื่อ การศึกษารูปแบบโปรตีนร่วมกับการใช้เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot) มาตรวจสอบการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช และยิ่งไปกว่านั้นในการศึกษานี้ยังได้ทำการประเมินถึงการเปลี่ยนแปลงของเมตabolicและกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วย เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านชีวเคมี การเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์และในระดับเนื้อเยื่อในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในเรื่องการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารดังกล่าวในสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมทางน้ำ และยิ่งไปกว่านั้นข้อมูลดังกล่าวจะช่วยลดความเสี่ยงของผู้บริโภคในเรื่องสุขภาพหากมีการนำกุ้งก้ามกรามมาบริโภค

วิธีดำเนินการวิจัย : ในการศึกษานี้ได้ประเมินถึงความเป็นพิษของกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมจากอัตราการตายสะสม การแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (AChE) และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมตabolic เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ และทางเดินอาหาร เมื่อได้รับสัมผัสสารที่ระดับความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ ได้แก่ 0, 250, 300, 350, 400 และ 450 $\mu\text{L/L}$ เป็นระยะเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังศึกษาถึงรูปแบบโปรตีนร่วมกับการใช้เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot) มาตรวจสอบการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช

ผลการวิจัย : จากการศึกษาพบว่าอัตราการตายสะสมของกุ้งก้ามกรามหลังจากได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่ได้รับการสัมผัส อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่ตรวจสอบได้ในฮีโมลิมฟ์มีน้ำหนักโมเลกุล 71 กิโลดัลตัน (kDa) โดยการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในฮีโมลิมฟ์จะลดลงเมื่อได้รับสัมผัสสารเป็นเวลานานขึ้น เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาของเซลล์เมตabolic พบว่า เซลล์ชนิด LGH, SGH และ H-type มีขอบเขตเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอและไซโทพลาสซึมถูกทำลาย ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อพบว่า เกิดการบวมของกล้ามเนื้อ (swelling of muscle) และเกิดอาการกล้ามเนื้อฝ่อ (degeneration of muscle) ในเนื้อเยื่อลำไส้ พบว่าจะเกิดช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และการรวมกันของไมโครวิลไล (fusion of micro villi) โดยการเปลี่ยนแปลงจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสเป็นเวลานาน

สรุปผลการวิจัย : สารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมมีความเป็นพิษต่อกุ้งก้ามกรามโดยก่อให้เกิดอัตราการตายสะสมซึ่งเพิ่มจำนวนขึ้นตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส และการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจะลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลงหลังจากการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชที่ระดับความเข้มข้นสูงและที่ระยะเวลานานขึ้น จากข้อมูลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมมีผลกระทบต่อกุ้งก้ามกรามทั้งในระดับชีวเคมี และเนื้อเยื่อ โดยกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส การเปลี่ยนแปลงของเซลล์เมตabolic และเนื้อเยื่อ สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการติดตามการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชในระบบนิเวศได้

คำสำคัญ : กุ้งก้ามกราม ; สารกำจัดวัชพืช ; กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ; อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

Abstract

Background and Objectives : Nowadays, the Thailand export agricultural product was intensively expanded. Therefore, Thailand agricultural sector expels the promotion in chemical using trends in agricultural system. By these economic forces, farmers have encountered large- scale farming production sufficiently for increase consumer demands such agrochemicals using such as chemical fertilizers and herbicides is an important factor for farmers relying on. Herbicides are widely used not only to increase crop yields but also to control weed growth and dissipation that hinders nutrient needs for crop. So far, high volume of herbicide imports value is an evidence reflecting the remains agrochemicals farming system in contribution to the environmental pollution and crisis via inappropriate and excessive usage. Thereby the improper chemicals practice and usage arising from overuse or runoff into nearby ecosystems leads to the herbicide accumulation in environments such as soil, water, and even the air that causes the long-term contamination. Aquatic animals Inevitably affects to this risk by exposure to herbicide-contaminated environments. Aquatic animal health is damaged by herbicide effect in either immediate toxicity or long-term accumulation in animal tissue. Although the concentration of herbicides detected in aquatic animals remains in safety range for consuming, the long-period exposure of such chemicals bring into health risk, especially the human diet made from these aquatic animals. Glufosinate ammonium is herbicide disrupting cell structure and function of plants, but has no effect in aquatic invertebrates. This study aimed to investigate the short-term toxicological effects of glufosinate ammonium on the giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), a commercially and ecologically important species in Thailand. However, limited data about the response to its glufosinate ammonium exposure in this species was little studied. Therefore, the objective of this research is to examine the physiological and biochemical effects of this herbicide on *M. rosenbergii*. The changes in tissues and blood cells were observed including characterizing the acetylcholinesterase (AChE) expression using the Western blot technique in the nervous system. This key enzyme acts as a valuable biomarker for neurotoxicity in aquatic organisms. Thereby determining the alteration in both cellular and molecular responses, this study provides better understanding pathophysiological effect on post- exposure herbicides of aquatic animals in contribution to threatening human health risk via the contaminated food consuming.

Methodology : Glufosinate ammonium toxicity was assessed in this study for determining its effect on cumulative mortality rate in relation to acetylcholinesterase (AChE) expression as well as the physiological response after glufosinate ammonium exposure was investigated by measuring the total hemocytes and histopathological alteration in muscular and intestinal tissue. After glufosinate ammonium exposure to healthy giant freshwater prawns at effective concentrations from 0 (control), 250, 300, 350, 400, and 450 $\mu\text{L/L}$, respectively. For simulating possible

duration time and exposure levels in nature this experimented duration time were performed at 24, 48, 72, and 96 hours. Moreover, the responsive biochemical function in protein expression profile and AChE expression by using western blot analysis was determined for neurotoxic damage AChE acting as a biomarker.

Main Results : The study for glufosinate ammonium toxicity revealed an increased mortality of post-exposure of *M. rosenbergii* in time and concentration dependent manner that evidenced on the increased cumulative mortality. Western blot analysis demonstrated the significantly decrease in AChE expression while increased exposure time. AChE was detected at molecular weight of approximately 71 kilodaltons (kDa) in hemolymph. The awkwardly decreased in AChE expression in glufosinate ammonium-exposed prawns revealed its neuronal disruptive effect on neuromuscular function. For histopathological examination, the exposed prawns displayed the structural damage of hemocytes in multiple cell types, including large granular hemocytes (LGH), small granular hemocytes (SGH), and hyaline-type cells (H-type). Evidence on irregular cell boundaries, disrupted cell membranes and cytoplasmic disintegration suggested the herbicide effect on to the immunity compromises. For histological study, swelling and degeneration of muscular tissue was shown, thereby its direct effect on muscle structure and function. Similarly, after exposure pathological changes was shown in prawn intestinal tissues such as lumen dilation and fusion of microvilli, thereby reducing nutrient absorption and hindering digestion efficiency. Therefore, much longer exposure time with an effective concentration of glufosinate-ammonium, the growth and health was retarded by the persistent changes at vital structure of the exposed prawns.

Conclusions : The health burden of giant freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) is caused by the toxic effect of glufosinate ammonium exposure, leading to a high morbidity rate in a concentration- and time exposure-dependent manner. At a high dose and with increased time of exposure, glufosinate ammonium exerted its effect by causing a decline in AChE activity in relation to decreased acetylcholinesterase (AChE) expression. At the biochemical and histological levels in glufosinate ammonium-exposed prawns, hemocyte morphological abnormalities and tissue structural damage caused by disturbed AChE activity were observed. From these results, AChE is determined as a sensitive biomarker for effectively patrolling herbicide contamination in aquatic ecosystems.

Keywords : *Macrobrachium rosenbergii* ; herbicide ; Glufosinate-ammonium ; acetylcholinesterase

*Corresponding author. E-mail : chutima.tn@rmuti.ac.th

Introduction

ในปัจจุบันมีการขยายตัวของ การส่งออกสินค้าทางด้านการเกษตรส่งผลให้ระบบเกษตรกรรมของประเทศไทยถูก ผลักดันเข้าสู่ระบบเกษตรกรรมกระแสหรือเกษตรกรรมเคมี ดังนั้นเกษตรกรจึงนำเทคโนโลยีต่าง ๆ มาช่วยเพิ่มผลผลิตทางด้าน

อาหารให้เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค โดยใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และการป้องกันกำจัดศัตรูพืช ดังนั้นจะเห็นได้จากปริมาณการนำเข้าปุ๋ยเคมีและสารป้องกันกำจัดวัชพืชที่เพิ่มขึ้นต่อเนื่อง ซึ่งสารเคมีทางการเกษตรที่มีการนำเข้ามากที่สุด คือ สารกำจัดวัชพืชจำนวน 90,465 ตัน ได้แก่ กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม (Glufosinate-ammonium), ไกลโฟเซต ไอโซโพรพิลแอมโมเนียม (Glyphosate- isopropylammonium) และ 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม (2,4-D dimethylammonium) ตามลำดับ (Pollution Control Department, 2024) Thanomsit *et al.* (2020) และ Thanomsit *et al.* (2021) รายงานว่าสารกำจัดแมลงศัตรูพืช เช่น สารกำจัดแมลงในกลุ่มออร์แกโนฟอสเฟตและสารกำจัดวัชพืชมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์โคลีนเอสเตอเรสในสิ่งมีชีวิต โดยเป็นที่ทราบกันดีว่าอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสเป็นเอ็นไซม์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนอะซิติลโคลีน (สารสื่อประสาท) ไปเป็นโคลีนและอะซีเตท เมื่อเอ็นไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสไม่สามารถทำหน้าที่ได้ จะทำให้เกิดการคั่งของอะซิติลโคลีนซึ่งการคั่งของสารดังกล่าวนี้จะมีผลต่อระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลายทำให้เกิดการกระตุกของกล้ามเนื้อ ด้วยเหตุนี้จึงมีการตรวจประเมินการรับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชด้วยการตรวจวัดการทำงานของเอ็นไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสโดยตรง การตรวจวัดการทำงานของเอ็นไซม์อะซิติลโคลีนเอสเตอเรสนี้ สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการสัมผัส จากการรับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังมีรายงานเพิ่มเติมว่าสารกำจัดวัชพืช กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม เป็นสารยับยั้งกลูตามีนซินเทสที่ไม่สามารถย้อนกลับได้ และจะปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระออกซิเจน (ROS) ที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต (Zhang *et al.*, 2023)

ในปัจจุบันการปนเปื้อนของสารกำจัดวัชพืชมีมากกว่าในอดีต เนื่องจากมีการใช้สารเคมีในการกำจัดวัชพืชเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามในกรณีที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชเกินความจำเป็นหรือไม่เหมาะสม อาจก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมได้ (Thanomsit *et al.*, 2020) ในประเทศไทยสารกำจัดวัชพืช กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม (Glufosinate-ammonium) ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายด้วยวัตถุประสงค์หลายอย่าง เช่น ใช้กำจัดวัชพืชหลังออก หรือใช้กำจัดวัชพืชใบกว้าง (broad-leaf weed) ด้วยคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีของสารดังกล่าว (solubility 500,000 mg/L) (Lewis *et al.*, 2016) อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมลงสู่แหล่งน้ำและทำให้เกิดการสะสมสารพิษในสัตว์น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากเกิดการปนเปื้อนในสัตว์น้ำที่มนุษย์บริโภคก็จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ด้วย จากความสำคัญข้างต้นงานวิจัยนี้มีเป้าหมายเพื่อศึกษาถึงระดับความเป็นพิษของกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในรูปแบบทางการค้า อัตราการตายสะสมในกุ้งก้ามกราม ลักษณะสัณฐานวิทยาเม็ดเลือด การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของกุ้งก้ามกราม ปริมาณโปรตีนของกุ้งก้ามกราม การแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสในกุ้งก้ามกราม และท้ายที่สุดการศึกษารูปแบบของโปรตีนในฮีโมลิฟของกุ้งก้ามกราม เพื่อป้องกันการได้รับสัมผัส เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค ซึ่งข้อมูลที่จะได้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการวางแผนการจัดการทางสิ่งแวดล้อมทางน้ำและทรัพยากรประมงต่อไป

กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์น้ำจืด ซึ่งในปัจจุบันกรมประมง เกษตรกร และฟาร์มเอกชนสามารถเพาะพันธุ์กุ้งก้ามกรามได้ จึงทำให้มีผู้เลี้ยงกุ้งชนิดนี้กันอย่างแพร่หลาย ยิ่งไปกว่านั้นกุ้งก้ามกรามมีรสชาติดี เป็นที่ต้องการของตลาด ทำให้เกษตรกรมีรายได้ค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงสัตว์น้ำจืดชนิดอื่น ๆ ในปี พ.ศ. 2562 กรมประมงได้ประมาณการผลผลิตกุ้งก้ามกรามจากการเพาะเลี้ยงซึ่งพบว่ามีประมาณ 22,509 ตัน และมูลค่า 5,609 ล้านบาท เมื่อเทียบกับปี พ.ศ. 2561 ซึ่งพบว่ามีปริมาณมูลค่าเพิ่มขึ้น 4.1 และ 5.0% ตามลำดับ เกษตรกรมีการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามเพิ่มขึ้นและส่วนใหญ่ใช้ลูกพันธุ์ที่มีการ

อนุบาลมาแล้ว 2-3 เดือน ทำให้ระยะเวลาเลี้ยงน้อยลงและอัตราการรอดสูงขึ้น โดยแหล่งเลี้ยงกึ่งกักขังที่สำคัญอยู่ในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี จะเขิงเทรา กาฬสินธุ์ และสุพรรณบุรี (Pianpol, 2019)

กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม (Glufosinate-ammonium) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่ใช้กันทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทยด้วย โดยจะนำไปใช้ในการควบคุมวัชพืชในแปลงปลูกพืช ดังนั้นจึงทำให้สารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมปนเปื้อนอยู่ในแหล่งน้ำและสะสมในสัตว์น้ำโดยเฉพาะอย่างยิ่งในปลาน้ำจืดชนิดต่าง ๆ ซึ่งหากมีการนำมารับประทานก็อาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ในปัจจุบันผลกระทบจากการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชชนิดต่าง ๆ ในสัตว์น้ำทั้งในระดับเซลล์และการเปลี่ยนแปลงสัณฐานวิทยาสามารถนำมาตรวจสอบได้หลายเทคนิค แต่ถึงอย่างไรก็ตามแต่ละเทคนิคก็มีความแตกต่างกันในเรื่องของการเก็บตัวอย่าง ขั้นตอนการดำเนินงานรวมทั้งความเชี่ยวชาญของนักวิจัย ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในกึ่งกักขังที่ยังไม่เคยมีรายงานไว้ในประเทศไทย ทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อเยื่อ การศึกษารูปแบบโปรตีนร่วมกับการใช้เทคนิคทางแอนติบอดีซึ่งได้แก่เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot) มาตรวจสอบการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช และยิ่งไปกว่านั้นในการศึกษานี้ได้ประเมินถึงการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดซึ่งการตรวจเลือดเป็นเทคนิคสำคัญในการประเมินสุขภาพทางสรีรวิทยาของปลา การศึกษาทางโลหิตวิทยาสามารถใช้เพื่อตรวจหาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเฉพาะที่เกินขีดจำกัดภาวะสมดุลปกติ (Barathinivas *et al.*, 2022) และยิ่งไปกว่านั้นมีการตรวจสอบถึงกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสด้วย เพื่อให้ทราบถึงผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านชีวเคมี การเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์และในระดับเนื้อเยื่อในระดับห้องปฏิบัติการซึ่งจะเป็นประโยชน์ในเรื่องการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของสารดังกล่าวในสัตว์น้ำและสิ่งแวดล้อมทางน้ำ

Methodology

สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

สารเคมีที่ใช้ทดสอบคือ กลูโฟซิเนต แอมโมเนียม (Glufosinate-ammonium) ในรูปแบบเชิงการค้า (glufosinate-ammonium, 15% W/V SL) สารเคมีทั่วไปที่ใช้ในการศึกษาเป็นชนิดเกรดวิเคราะห์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Bio-Rad

สัตว์ทดลองและการศึกษาอัตราการตายสะสม

ในการศึกษานี้ใช้น้ำกึ่งกักขังขนาดวัยอ่อน (juvenile) น้ำหนักเฉลี่ย 29.74 ± 2.1 กรัม ความยาว 19.02 ± 1.7 เซนติเมตร มาปรับสภาพในถังไฟเบอร์ขนาด 200 ลิตร เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นแบ่งตัวอย่างกึ่งกักขังออกเป็น 18 บ่อ (6 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ) ใส่กึ่งกักขังบ่อละ 20 ตัว เติมสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมลงไป ในบ่อ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 500, 550, 600, 650 และ 700 $\mu\text{L/L}$ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เก็บตัวอย่างกึ่งกักขังศึกษาระดับความเป็นพิษที่ก่อให้เกิดการตายที่เวลา 0, 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงตามลำดับ (OECD, 2019) หลังจากนั้นศึกษาที่ระดับความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดการตายซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดการตายคือ 0 (กลุ่มควบคุม), 250, 300, 350, 400 และ 450 $\mu\text{L/L}$ ตามลำดับ หลังจากนั้นศึกษาถึงระดับความเข้มข้นที่ไม่ก่อให้เกิดการตายที่เวลา 24, 48, 72

และ 96 ชั่วโมง เพื่อนำไปศึกษาถึงการศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เนื้อเยื่อ การศึกษารูปแบบโปรตีน การศึกษาการแสดงออกของอะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสโดยใช้เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot) ทำการประเมินถึงการเปลี่ยนแปลงของเมตเลียดและการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

การศึกษารูปแบบโปรตีน

การเก็บตัวอย่างฮีโมลิมฟ์กึ่งและการสกัดโปรตีน

การเก็บตัวอย่างฮีโมลิมฟ์กึ่งก้ามกรามในแต่ละความเข้มข้นจะใช้กระบอกฉีดขนาด 1 มิลลิลิตร ตัวอย่างฮีโมลิมฟ์ที่เก็บจะถูกผสมทันทีด้วยสารป้องกันการแข็งตัวของฮีโมลิมฟ์ (MAS: 27 mM sodium citrate, 336 Mm sodium chloride, 115 Mm glucose, 9 mM EDTA, pH 7.0) ในอัตราส่วน 1:1 เพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด นำไปปั่นที่ความเร็ว 4,500 เป็นเวลา 10 นาที เก็บ supernatant เพื่อใช้ในการศึกษารูปแบบโปรตีนโดยใช้เทคนิค เจล อิเล็กโตรโฟรีซิส (SPS-PAGE) และเวสเทิร์นบลอต

การวัดปริมาณโปรตีน

นำโปรตีนมาตรฐาน BSA มาเจือจางให้มีปริมาณโปรตีน 0.03125, 0.0625, 0.25, 0.5 และ 1 mg/ml ปริมาณ 0.5 ml จากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ต้องการวัดปริมาณโปรตีนมาเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 1:10 เท่า นำสารละลาย BSA และตัวอย่างโปรตีนที่สกัดได้จากลำไส้, กล้ามเนื้อ และเลือดของก้ามกราม ตัวอย่างละ 10 ไมโครลิตร 2 ขั้ว เติมน้ำสารละลาย dye reagent เจือจาง ที่ปริมาตร 200 μ L ทุกหลุมผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm บันทึกค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย BSA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำมาสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณ BSA กับค่าการดูดกลืนแสง และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาเปรียบเทียบกับโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน (ดัดแปลงจาก Cantawon *et al.*, 2024) การวิเคราะห์สถิติในการศึกษาปริมาณโปรตีนรวมในลำไส้ กล้ามเนื้อ และเลือดจะถูกนำมาวิเคราะห์สถิติแบบ t-test ใช้โปรแกรม SAS® OnDemand for Academics ในการวิเคราะห์โดยค่าที่ใช้คือค่าเฉลี่ยของชุดข้อมูลที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

การวัดกิจกรรมเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส

รวบรวมตัวอย่างที่ได้มาวิเคราะห์หาระดับการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรส โดยประยุกต์ใช้ตามวิธีการของ Ellman *et al.* (1961) ซึ่งอาศัยหลักในการวัดอัตราการผลิตสารไทโอโคลีน (thiocholine) จากการสลายตัวของอะซิทิลไทโอโคลีน (acetylthiocholine) ซึ่งทำปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่องกับสารไดไธโอบิสไนโตรเบนโซเอต (dithiobisnitrobenzoate) จะได้ 2-ไนโตร-5-เมอร์แคปโตเบนโซเอต (2-nitro-5-mercaptobenzoate) และเกิดสารสีเหลือง โดยมีการทำปฏิกิริยาในไมโครไทเทรเพลต 96 หลุม (96 well microtiter plate) สารสีเหลืองที่เกิดขึ้นจะนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 412 nm ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลต (microplate reader) และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาระดับการทำงานของเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเทอเรสในตัวอย่างที่ต้องการศึกษาในลำดับต่อไป มีหน่วยเป็นไมโครโมลของไทโอโคลีนต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายอยู่ในสารละลายโดยใช้ Bradford Reagent ตามวิธีการของ Bradford (1976) ดำเนินการไมโครไทเทรเพลต 96 หลุม เช่นเดียวกัน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 595 นาโนเมตร (Nittayachit *et al.*, 2009)

การศึกษาารูปแบบของโปรตีนที่พบในกิ้งก่ามกรามโดยใช้เทคนิค โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต เจล อิเล็กโทรโฟรีซิส (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis; SDS-PAGE)

เตรียมส่วนผสมของสารละลายอะคริลาไมด์ ให้ separating gel มีความเข้มข้น 10% (H_2O 4.85 ml, 30% acrylamide mix 3.35 ml, 1.5 M Tris (pH 8.8) 1.65 ml, 10% SDS 100 μ l, 10% APS 50 μ l, TEMED 3.5 μ l) เทสารละลายอะคริลาไมด์ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกของชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส ให้เหลือส่วนของ stacking gel ไว้ประมาณ 1 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่นบนเจลเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน แล้วทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวประมาณ 30 นาที เมื่อครบเวลา เทน้ำกลั่นด้านบนออก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 3-4 ครั้ง ใช้กระดาษชำระซับน้ำส่วนเกินออก

เตรียมส่วนผสม stacking gel 4% (H_2O 3.05 ml, 30% acrylamide mix 670 μ l, 1.5 M Tris (pH 6.8) 1.25 ml, 10% SDS 50 μ l, 10% APS 60 μ L, TEMED 5 μ l) วางซีวีลิ่งในช่องกระจก เพื่อให้เกิดเป็นช่องเติมตัวอย่าง เทส่วนผสมของ stacking gel ลงบน separating gel ทิ้งไว้ให้เจลแข็งตัวประมาณ 15 นาที แล้วประกอบเจลลงในชุดอิเล็กโทรโฟรีซิส เติมสารละลายอิเล็กโทรลิตบัพเฟอร์ให้ท่วมช่องเติมตัวอย่าง ตั้งหรือออก เติมตัวอย่างที่ผสมกับ sample buffer และเติมน้ำให้เดือด 5 นาทีแล้ว มาใส่ในช่องเติมตัวอย่างแต่ละช่อง ปริมาณ 10 μ l (ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 40 μ g) ต่ออุปกรณ์จ่ายไฟ ตั้งกระแสไฟฟ้าที่ 120 โวลต์ จนกระทั่งสังเกตเห็นว่าสีของ bromophenol blue เคลื่อนที่ถึงส่วนล่างของเจล จึงหยุดกระแสไฟฟ้า ค่อย ๆ นำเจลออกจากแผ่นกระจกแล้วนำมาย้อมด้วยสี Coomassie Brilliant Blue R-250 นานข้ามคืน จากนั้นล้างสีออกด้วย destaining solution จนกระทั่งเห็นแถบสีของโปรตีนชัดเจนแต่เนื้อเจลค่อนข้างใส (Khanchanasal *et al.*, 2022)

การศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเตอเรสโดยใช้เทคนิคเวสเทิร์นบลอต (Western blot)

นำโปรตีนที่สกัดได้จากฮีโมลิฟของกิ้งก่ามกรามแต่ละชุดการทดลองมาแยกใน 10% SDS-PAGE จากนั้นทำการถ่ายโปรตีนจากแผ่นเจลสู่กระดาษไนโตรเซลลูโลส นำไปบ่มใน PAb-AChE (1:50) ข้ามคืน ล้างด้วย 0.5% blotto บ่มใน GAM-HRP 3 ชั่วโมง ล้างด้วย 0.5% blotto และบ่มในสารละลาย 0.03% DAB, 0.006% H_2O_2 , 0.05% $CoCl_2$ 5 นาที ล้างด้วยน้ำหลาย ๆ ครั้ง ตรวจดูแถบโปรตีนที่ให้ผลบวกกับแอนติบอดีโดยปรากฏแถบสีน้ำตาลดำ (Thanomsit *et al.*, 2017)

การศึกษาลักษณะของสัณฐานวิทยาเม็ดเลือด

การวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของฮีโมลิฟ ดำเนินการตามขั้นตอนที่ดัดแปลงจาก Deyashi & Chakraborty (2022) โดยการสเมียร์ฮีโมลิฟลงบนสไลด์ แล้วปล่อยให้แห้งในอากาศ จากนั้นนำไปตรึงด้วยเมทานอลเป็นเวลา 5 นาที และย้อมด้วยสารละลาย Wright-Giemsa ที่เจือจาง 1:2 ในน้ำยาบัฟเฟอร์ฟอสเฟต (pH 7.2) เป็นเวลา 15 นาที หลังจากการย้อมสไลด์จะถูกล้างด้วยน้ำกลั่นและตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของกิ้งก่ามกราม

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของกิ้งก่ามกรามดัดแปลงจากวิธีการของ Kumla *et al.* (2025) โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างกิ้งก่ามกรามจากชุดควบคุมและชุดทดลองที่ได้รับสัมผัสสารในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดการตายหลังจาก ได้รับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ตามระยะเวลาช่วงที่กำหนดที่ 0, 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างกลุ่มละ 3 ตัว จากนั้นสลับกึ่งด้วยน้ำแข็ง แล้วนำเนื้อเยื่อลำไส้ และกล้ามเนื้อไปรักษาสภาพด้วย 10% phosphate buffer formalin เก็บรักษาตัวอย่าง 4 องค์เซลล์แช่แข็ง หลังจากนั้นตัดแต่งตัวอย่าง (trim) ให้มีขนาดเหมาะสม หลังจากนั้นนำตัวอย่างไปผ่านขั้นตอนการ

ดึงน้ำออกจากตัวอย่างแล้วนำไปฝังด้วยพาราฟลาสต์ จากนั้นนำบล็อก (block) ไปแช่ตู้เย็น ทำการตัดแต่งบล็อกตัวอย่างให้มีขนาดพอดีกับขนาดสไลด์และแผ่นปิดสไลด์ จากนั้นนำไปตัดด้วยเครื่องมือโครโตมให้มีความหนา 5 ไมครอน นำไปลอยในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส ใช้แผ่นสไลด์ซ้อนตัวอย่าง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เพื่อให้ตัวอย่างยึดติดแผ่นสไลด์ได้ดี หลังจากนั้นนำสไลด์ไปล้างพาราฟลาสต์ออกแล้วย้อมด้วยสีฮีมาทอกซิลินและอีโอซิน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าอัตราการตายสะสม ค่าปริมาณโปรตีน และค่าปริมาณการแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 ด้วยโปรแกรมการวิเคราะห์สถิติ SAS® OnDemand for Academics

Results

ผลการศึกษาอัตราการตายสะสมและการศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในกุ้งก้ามกราม

เมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน คือ 0 (ชุดควบคุม), 500, 550, 600, 650 และ 700 $\mu\text{L/L}$ เป็นเวลา 24, 48, 72, และ 96 ชั่วโมงพบว่าอัตราการตายสะสมจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัส กุ้งก้ามกรามที่ระดับความเข้มข้น 0 $\mu\text{L/L}$ (ชุดควบคุม) ไม่เกิดการตาย พบอัตราการตายเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเวลาเข้าสู่ 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 0, 500, 550, 600, 650 และ 700 $\mu\text{L/L}$ โดยมีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 5.00 ± 0.00 , 8.33 ± 2.89 , 13.33 ± 2.89 , 18.33 ± 2.89 , และ $23.33 \pm 2.89\%$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 8.33 ± 2.89 , 15.00 ± 0.00 , 20.00 ± 0.00 , 26.00 ± 2.89 และ $30.00 \pm 0.00\%$ ที่เวลา 72 ชั่วโมง มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 15.00 ± 0.00 , 20.00 ± 0.00 , 28.33 ± 2.89 , 33.33 ± 2.89 และ $43.33 \pm 2.89\%$ ที่เวลา 96 ชั่วโมง มีอัตราการตายสะสมเท่ากับ 0.00 ± 0.00 , 16.67 ± 2.89 , 26.67 ± 2.89 , 33.33 ± 2.89 , $41.67 \pm 2.89\%$ และ $48.33 \pm 2.89\%$ ตามลำดับ (Figure 1)

การศึกษาปริมาณโปรตีนและการแสดงออกของกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม

เมื่อทำการศึกษาปริมาณโปรตีนของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 300, 350, 400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าแนวโน้มของปริมาณโปรตีนจะลดลงเมื่อได้รับสัมผัสสารที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นโดยทุกระดับความเข้มข้นที่ทำการศึกษาก็จะแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 300, 350, 400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 19.10 ± 0.16 , 18.82 ± 0.22 , 18.01 ± 0.01 , 17.88 ± 0.16 , 17.75 ± 0.04 และ $17.11 \pm 0.13 \text{ mg/ml}$ ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 19.07 ± 0.08 , 18.18 ± 0.08 , 18.03 ± 0.04 , 17.83 ± 0.08 , 17.66 ± 0.06 และ $17.00 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ ที่เวลา 72 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 18.98 ± 0.04 , 18.10 ± 0.02 , 17.96 ± 0.04 , 17.45 ± 0.15 , 17.11 ± 0.13 และ $16.83 \pm 0.08 \text{ mg/ml}$

และเมื่อเข้าสู่เวลา 96 ชั่วโมง มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 18.81 ± 0.12 , 17.90 ± 0.16 , 17.60 ± 0.08 , 17.17 ± 0.22 , 16.78 ± 0.01 และ 16.42 ± 0.11 mg/ml ตามลำดับ (Figure 2A)

เมื่อทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสในฮีโมลิมพ์ของกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ที่ได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรส มีแนวโน้มจะลดลงเมื่อสัมผัสกับสารที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นโดยในกลุ่มควบคุมจะแตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับสัมผัสในทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น

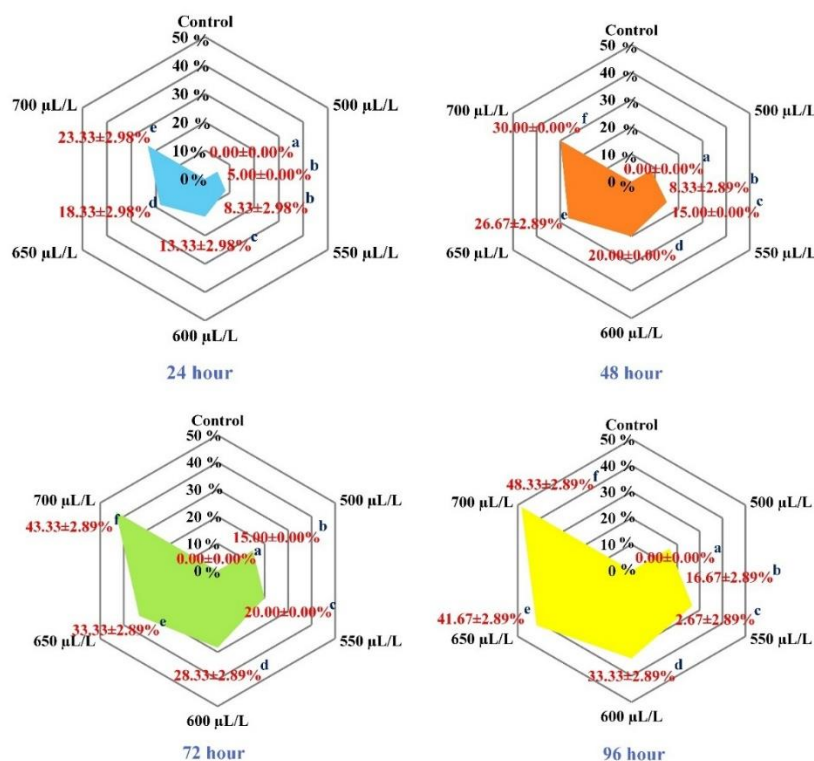


Figure 1 The Cumulative mortality percentage of giant freshwater prawns exposed to concentration of glufosinate ammonium herbicide (0, 500, 550, 600, 650, and 700 µL/L) for 24, 48, 72, and 96 hours)

Note: Superscript letters differ significantly from the control group ($p < 0.05$)

0, 250, 300, 350, 400 และ 450 µL/L มีค่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 18.39 ± 0.56 , 18.18 ± 0.23 , 17.82 ± 0.24 , 17.01 ± 0.02 , 16.67 ± 0.15 และ 16.29 ± 0.08 nmols/min/mg protein ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีค่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 18.17 ± 0.08 , 17.91 ± 0.11 , 17.39 ± 0.23 , 16.79 ± 0.32 , 16.29 ± 0.39 และ 15.84 ± 0.08 nmols/min/mg protein ที่เวลา 72 ชั่วโมง มีค่าการแสดงออกของอะซีทิลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 18.01 ± 0.01 , 17.56 ± 0.15 , 17.02 ± 0.01 , 16.29 ± 0.39 , 15.50 ± 0.40 และ 15.02 ± 0.01 nmols/min/mg protein เมื่อเข้าสู่ระยะเวลา 96 ชั่วโมง

มีค่าการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 18.00 ± 0.01 , 17.16 ± 0.07 , 16.73 ± 0.08 , 16.04 ± 0.40 , 15.05 ± 0.08 และ 14.82 ± 0.08 nmols/min/mg protein ตามลำดับ (Figure 2B)

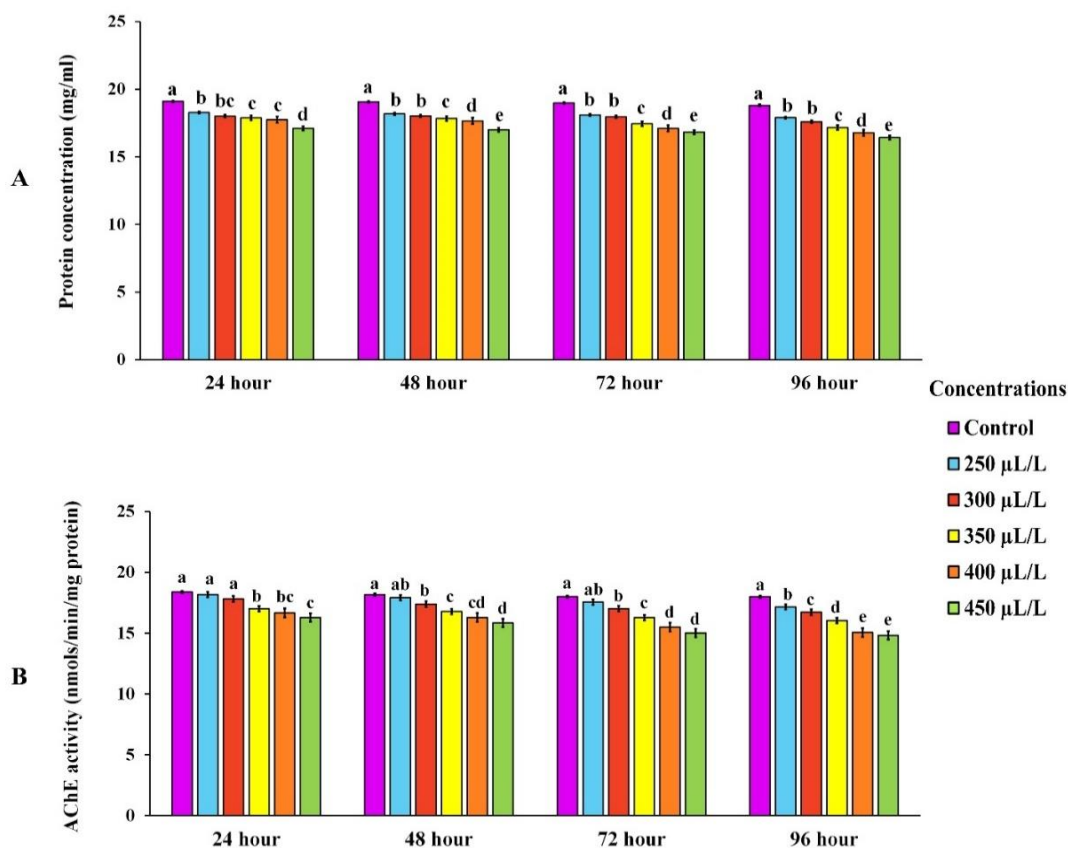


Figure 2 (A) Protein concentration (B) acetylcholinesterase (AChE) activity in giant freshwater prawns exposed to glufosinate ammonium herbicide at concentrations of 0, 250, 300, 350, 400, and 450 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours

Note : Superscript letters indicate significant differences compared to the control group ($p < 0.05$)

ผลการศึกษารูปแบบโปรตีนที่พบในกุ้งก้ามกรามโดยใช้เทคนิคโซเดียมโดดีลซัลเฟต เจล อิเล็กโทรโฟรีซิส (SDS-PAGE)

การศึกษารูปแบบโปรตีนในกุ้งก้ามกรามที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 300, 350, 400, และ 450 µL/L จะใช้เทคนิค 10% SDS-PAGE โดยทำการศึกษารูปแบบโปรตีนที่พบจากอีโมลิฟิ จากการศึกษพบว่าเมื่อเข้าสู่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสที่แยกได้มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 71 kDa โดยมีแนวโน้มจะลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช (Figure 3)

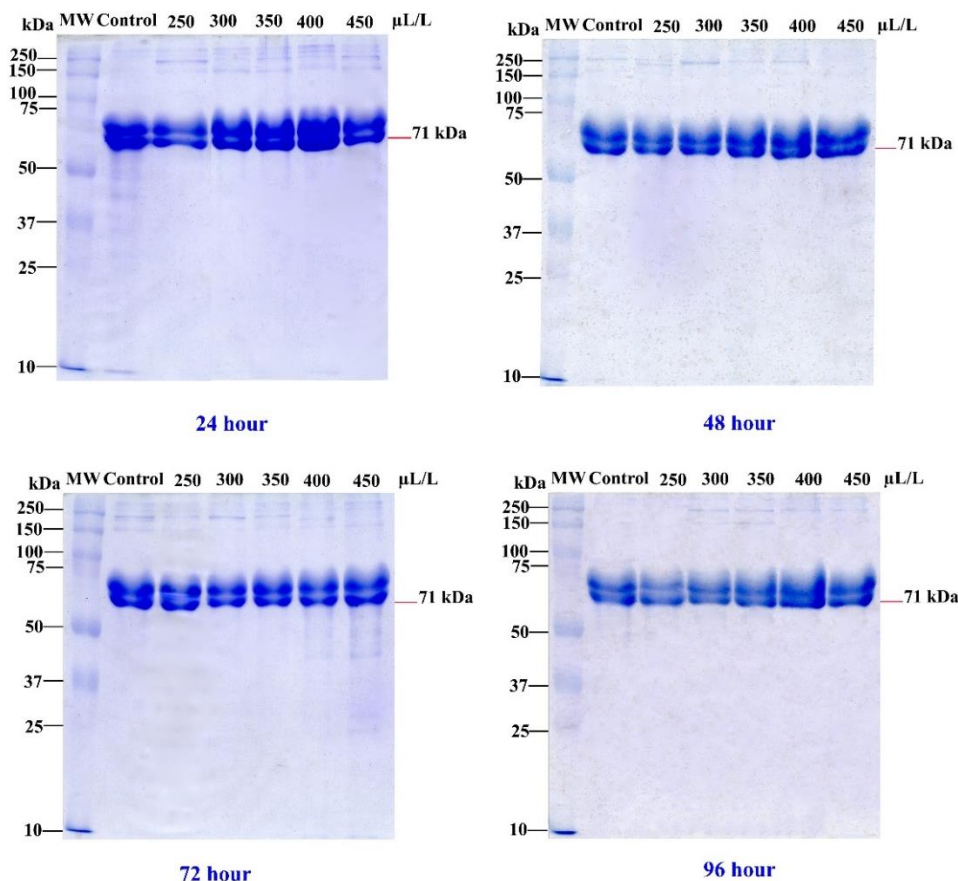


Figure 3 The protein profiles in the hemolymph of giant freshwater prawns exposed to glufosinate ammonium herbicide at 0, 250, 300, 350, 400, and 450 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours. Using the 10% SDS-PAGE technique

ผลการศึกษาารูปแบบของโปรตีนในกุ้งก้ามกรามเมื่อได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม และการศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสโดยใช้เทคนิค Western blot

หลังจากที่ทำการสกัดโปรตีนและวัดปริมาณโปรตีนในฮีโมลิมพ์ของกุ้งก้ามกราม ตัวอย่างจากการสกัดจะถูกนำมาศึกษาารูปแบบโปรตีนที่แยกได้ และศึกษาถึงการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสโดยทดสอบด้วยเทคนิค Western blot ซึ่งจากการศึกษาพบอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมีขนาด 71 kDa ในฮีโมลิมพ์ของกุ้งก้ามกราม โดยมีแนวโน้มจะลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช (Figure 4)

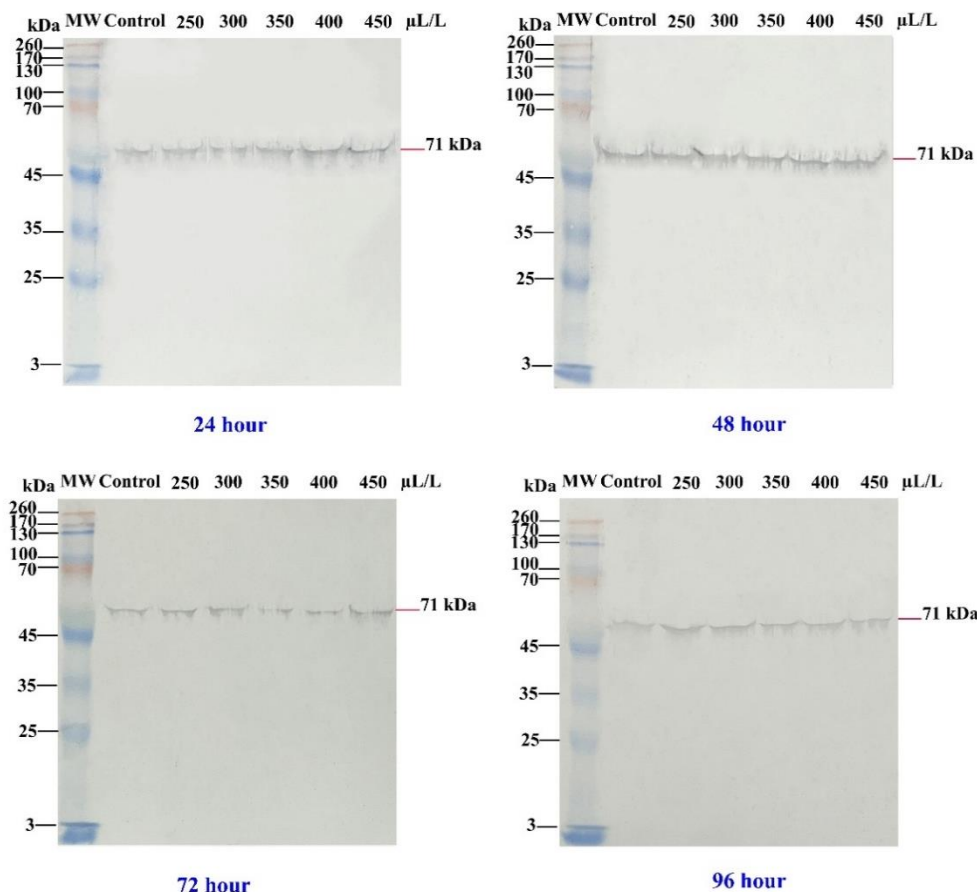


Figure 4 AChE expression by western blot technique in hemolymph of giant freshwater prawns exposed to glufosinate ammonium herbicide at 0, 250, 300, 350, 400, and 450 µL/L for 24, 48, 72, and 96 hours

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของฮีโมลิมฟ์เมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 250, 300, 350, 400, และ 450 µL/L ใช้การย้อมสี Wright-Giemsa เพื่อแสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือด ซึ่งพบเซลล์เม็ดเลือด 3 ชนิด ได้แก่ Large Granule Hemocytes (LGH), Small Granule Hemocytes (SGH) และ Hyalinocytes (H) พบว่าเซลล์เม็ดเลือดของชุดควบคุมยังคงมีรูปร่างสมบูรณ์ ในขณะที่เซลล์เม็ดเลือด Hyalinocytes (H)-type 1 ของกลุ่มที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชในระดับความเข้มข้นที่ 250, 300, 350, 400, และ 450 µL/L มีการเปลี่ยนแปลง ขอบเขตของเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอ และยิ่งไปกว่านั้นเซลล์เม็ดเลือด Large Granule Hemocytes (LGH), Small Granule Hemocytes (SGH) และ Hyalinocytes (H)-type 2-4 ของกลุ่มที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช เกิดการเปลี่ยนแปลงขอบเขตของเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอ และความเสียหายของไซโทพลาสซึม โดยที่ ลูกศรสีน้ำเงิน คือ ไซโทพลาสซึม ลูกศรสีเหลือง คือ นิวเคลียส (Figure 5)

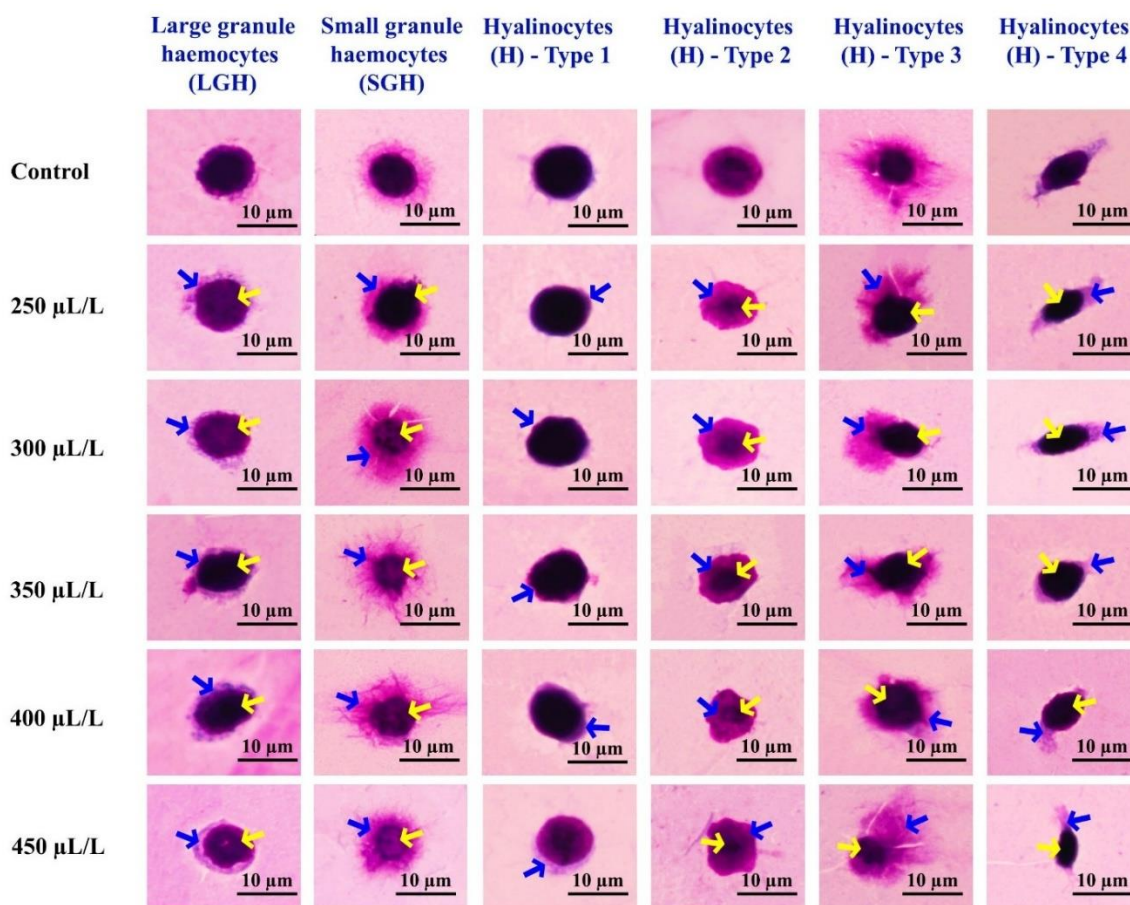


Figure 5 The example characteristics of hemocytes in giant freshwater prawns exposed to glufosinate ammonium herbicide at concentrations of 0, 250, 300, 350, 400, and 450 $\mu\text{L/L}$ for 24, 48, 72, and 96 hours compared to the control group

Note: Blue arrows indicate cytoplasm; yellow arrows indicate nucleus.

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อเมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม

ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของกุ้งก้ามกรามที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ในระดับความเข้มข้น 0, 250, 300, 350, 400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยประเมินการเปลี่ยนแปลงจากเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อและลำไส้ พบว่าการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อจะขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส ซึ่งจากการศึกษาพบว่าในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อการเปลี่ยนแปลงจะเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อกุ้งก้ามกรามได้รับสัมผัสกับสารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยการเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบได้คือ เมื่อเข้าสู่ระยะเวลา 24 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 250, 300, 350,

400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นคือ เกิดอาการกล้ามเนื้อบวม (swelling of muscle) และอาการกล้ามเนื้อฝ่อ (degeneration of muscle) หลายบริเวณ (Figure 6)

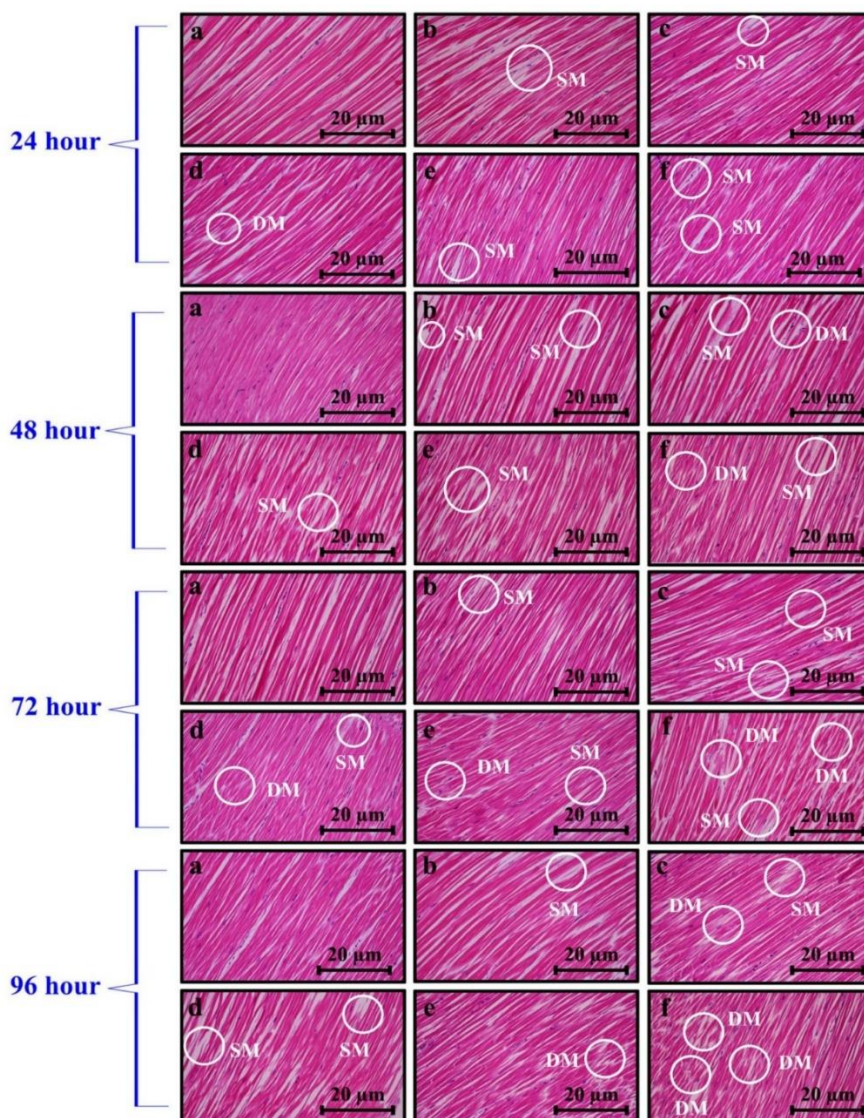


Figure 6 Histological alterations in the muscle tissue of giant freshwater prawns (exposed to glufosinate ammonium herbicide at concentrations of 0, 250, 300, 350, 400, and 450 $\mu\text{L/L}$ for 24, 48, 72, and 96 hours compared to the control group

Note: SM: swelling of muscle; DM: degeneration of muscle)

เมื่อทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อลำไส้พบว่า เมื่อกึ่งกำมกรามได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 300, 350, 400 และ 450 $\mu\text{L/L}$ การเปลี่ยนแปลงที่ตรวจพบได้ คือ เกิดช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และเมื่อกึ่งกำมกรามได้รับสัมผัสสารเป็นเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 250, 300, 350, 400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ พบว่าเกิดช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และการรวมกันของไมโครวิลไล (fusion of micro villi) และท้ายที่สุดเมื่อกึ่งกำมกรามได้รับสัมผัสสารเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 250, 300, 350, 400, และ 450 $\mu\text{L/L}$ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงมากที่สุดคือ เกิดช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และการรวมกันของไมโครวิลไล (fusion of micro villi) (Figure 7)

Discussion

เมื่อกึ่งกำมกรามได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม เบื้องต้นการศึกษาถึงอัตราการตายสะสมของกึ่งกำมกราม ในระดับความเข้มข้น 0, 500, 550, 600, 650 และ 700 $\mu\text{L/L}$ เป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าอัตราการตายสะสมจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารและระยะเวลาที่กึ่งกำมกรามได้รับสัมผัส สอดคล้องกับการศึกษาของ Thanomsit *et al.* (2025) ที่ทำการศึกษถึงผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมในกึ่งฝอย โดยทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 300, 350, 400 และ 450 $\mu\text{L/L}$ เป็นเวลา 96 ชั่วโมง พบว่า กึ่งฝอยเกิดการตายเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและความเข้มข้นที่ได้รับสัมผัสสาร และ Thanomsit *et al.* (2016) ศึกษาอัตราการตายของกึ่งกำมกรามที่ได้รับสัมผัสกับอะบาเม็กติน กึ่งกำมกรามมีอัตราการตายครั้งแรกที่เวลา 24 ชั่วโมง ในระดับความเข้มข้น 0.0021, 0.0042, 0.0063 และ 0.0083 $\mu\text{L/L}$

อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase: AChE) เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการส่งผ่านสัญญาณของระบบประสาทส่วนกลางและส่วนปลายของสัตว์น้ำ โดยหน้าที่หลักของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรส คือ การย่อยสลายสารสื่อประสาทอะซิติลโคลีน (acetylcholine) ให้กลายเป็นกรดอะซิติก และโคลีน ซึ่งช่วยหยุดการส่งกระแสประสาทอย่างรวดเร็วและแม่นยำ ในระบบประสาทของสัตว์น้ำเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสทำหน้าที่ในการยุติสัญญาณประสาทหลังการกระตุ้นอวัยวะรับความรู้สึก หากอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสถูกยับยั้งหรือทำงานผิดปกติจะส่งผลให้เกิดการสะสมของอะซิติลโคลีนที่ไซแนปส์ ทำให้เกิดการเกร็งของกล้ามเนื้อ ซึ่งในกรณีรุนแรงอาจส่งผลถึงการตายของสัตว์น้ำได้ (Anandhan *et al.*, 2012) จากการทดลองครั้งนี้พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ในกึ่งกำมกรามในทุกระดับความเข้มข้นที่ศึกษาจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) หลังการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ที่ระดับความเข้มข้นสูงและที่ระยะเวลานานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม เช่นเดียวกับ Kumla *et al.* (2025) ที่พบว่าอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกึ่งกำมกรามที่รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Khanchanasal *et al.* (2022) พบว่าเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในปลานิลลดลงทั้งในสมอง หัวใจ และกล้ามเนื้อ

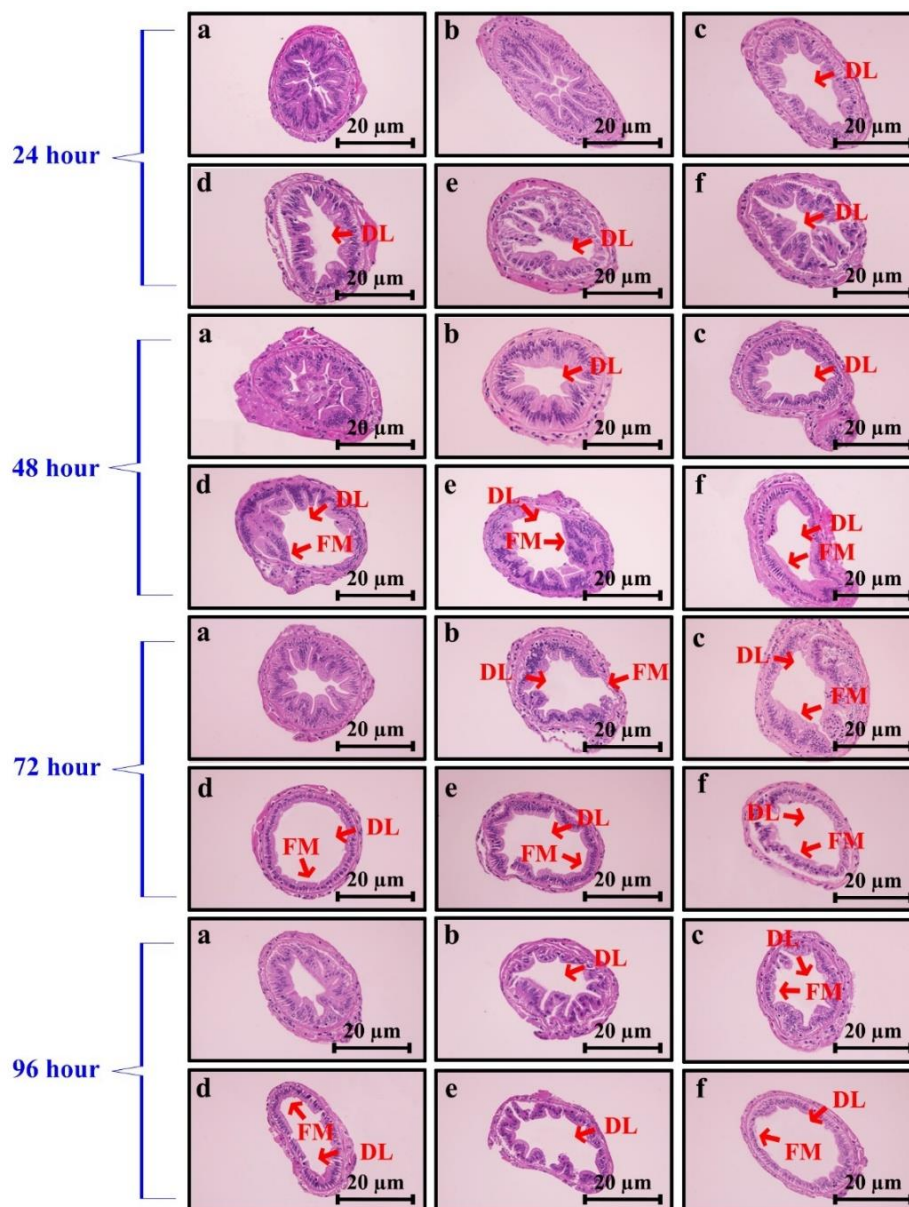


Figure 7 Histological alteration in the intestinal tissue of giant freshwater prawns exposed to glufosinate ammonium herbicide at concentrations of 0, 250, 300, 350, 400, and 450 $\mu\text{L/L}$ for 24, 48, 72, and 96 hours compared to the control group

Note: DL: dilation of lumen; FM: fusion of microvilli

เทคนิคที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสตามที่มีรายงานนั้นมีด้วยกันหลายวิธี เทคนิคทางแอนติบอดี เช่น เทคนิค Western blot และ dot blot เป็นต้น (Thanomsit *et al.*, 2021) งานวิจัยด้านพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมที่เกี่ยวข้องกับสัตว์น้ำได้นำเทคนิคทางชีวเคมีมาใช้ในการตรวจสอบผลกระทบจากสารพิษต่อระดับโปรตีน และการแสดงออกของเอนไซม์ในฮีโมลิมฟของสัตว์น้ำอย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้ได้เลือกใช้เทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสและเวสเทิร์นบลอต เพื่อศึกษาผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ต่อรูปแบบโปรตีนและการแสดงออกของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ผลการศึกษาโดยใช้เทคนิคเจลอิเล็กโทรโฟรีซิสพบว่า อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 71 kDa เมื่อได้รับสัมผัสสารในระยะเวลาสั้นขึ้นจะมีแนวโน้มที่ลดลง สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Kumla *et al.* (2025) ทำการศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกิ้งก่ามกที่รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมมีน้ำหนักโมเลกุล 71 kDa และ Buakhiao *et al.* (2022) ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชคลอร์ไพริฟอสผสมไซเปอร์เมทรินโดยอะซิติลโคลีนที่พบในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่มีน้ำหนักโมเลกุล 71 kDa

ผลการศึกษาการใช้เทคนิคเวสเทิร์นบลอตต่อการแสดงออกของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสพบว่า อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสมีขนาดน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 71 kDa เมื่อได้รับสัมผัสสารในระยะเวลาสั้นขึ้นจะมีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Kumla *et al.* (2025) และ Thanomsit *et al.* (2021) ทำการศึกษาการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกิ้งก่ามกที่รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม โดยพบว่า อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

เมื่อทำการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดของกิ้งก่ามกที่รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในระดับความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 250, 300, 350, 400, และ 450 µL/L ใช้การย้อมสี Wright-Giemsa เพื่อแสดงลักษณะของเซลล์เม็ดเลือด พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของขอบเขตของเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอ และความเสียหายของไซโทพลาสซึม เช่นเดียวกับ Kumla *et al.* (2025) ทำการศึกษาผลกระทบของสารกำจัดวัชพืช 2,4-D ไดเมทิลแอมโมเนียมในกิ้งก่ามก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือด เกิดการเสื่อมสภาพของเซลล์เม็ดเลือด การสลายตัวของนิวเคลียส และเกิดความเสียหายของไซโทพลาสซึม และคล้ายคลึงกับผลการศึกษาของ Maharajan *et al.* (2017) ศึกษาผลกระทบของสารกำจัดศัตรูพืชคลอร์ไพริฟอสและไซเปอร์เมทริน ในปูน้ำจืด พบการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดที่เสื่อมสภาพ เยื่อหุ้มเซลล์ขาด เกิดช่องว่างในไซโทพลาสซึมและนิวเคลียส

หลังจากที่ทำการศึกษาด้านวิทยาและการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสซึ่งเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่ได้รับสัมผัสแล้ว เทคนิคสุดท้ายที่นำมาใช้ในการศึกษาถึงผลกระทบของสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมในกิ้งก่ามกคือการศึกษารูปแบบการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของกิ้งก่ามก โดยในการศึกษารูปแบบนี้ทำการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ 2 ชนิด คือ เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อลำไส้ โดยเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อหลังจากกิ้งก่ามกได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม พบว่าเกิดการบวมของกล้ามเนื้อ (swelling of muscle) และเกิดอาการกล้ามเนื้อฝ่อ (degeneration of muscle) สอดคล้องกับการศึกษาของ Thanomsit *et al.* (2025) ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงบริเวณที่เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อที่ตรวจสอบได้เมื่อถูกฝอยได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืช 2, 4-D ไดเมทิลแอมโมเนียม เกิดภาวะการสะสมของเม็ดเลือด และเกิด

อาการกล้ามเนื้อบวม และคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Thanomsit *et al.* (2016) ที่ได้รายงานว่าในกล้ามเนื้อของกิ้งก่ามกรมที่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดแมลงอะบาเม็กติน มีการเปลี่ยนแปลงคือเกิดการบวมและมีการสะสมของเม็ดเลือดในเซลล์กล้ามเนื้อ ส่วนในเนื้อเยื่อลำไส้หลังจากกิ้งก่ามกรมได้รับสัมผัสกับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม พบว่าเกิดอาการช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และการรวมกันของไมโครวิลไล (fusion of micro villi)

Conclusions

สารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมมีความเป็นพิษต่อกิ้งก่ามกรมโดยก่อให้เกิดอัตราการตายสะสมซึ่งเพิ่มจำนวนขึ้นตามระดับความเข้มข้นและระยะเวลาที่ได้รับสัมผัส และการแสดงออกของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสจะลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม ส่งผลให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลงหลังจากการได้รับสัมผัสสารกำจัดวัชพืชที่ระดับความเข้มข้นสูงและที่ระยะเวลานานขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพของการได้รับสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียม โดยการวิเคราะห์ทางชีวเคมีในฮีโมลิพของกิ้งก่ามกรมด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสและเวสเทิร์นบลอต มีน้ำหนักโมเลกุลของอะซิติลโคลีนเอสเทอเรสเท่ากับ 71 kDa ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือดเกิดการเปลี่ยนแปลงของขอบเขตของเซลล์ที่ไม่สม่ำเสมอ และความเสียหายของไซโทพลาสซึม ผลของเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อลำไส้ที่พบการเปลี่ยนแปลงที่ตรวจสอบได้ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อคือเกิดการบวมของกล้ามเนื้อ (swelling of muscle) และเกิดอาการกล้ามเนื้อฝ่อ (degeneration of muscle) ในเนื้อเยื่อลำไส้พบว่าจะเกิดอาการช่องว่างของลำไส้กว้างขึ้น (dilation of lumen) และการรวมกันของไมโครวิลไล (fusion of micro villi) โดยเฉพาะกลุ่มที่ได้รับสัมผัสสารในความเข้มข้นสูงและระยะเวลานาน พบลักษณะเหล่านี้ได้เด่นชัดมากขึ้นซึ่งแสดงถึงผลกระทบที่รุนแรงต่อโครงสร้างและการทำงานของระบบทางเดินอาหารในกิ้งก่ามกรม

การศึกษานี้พบว่าสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต แอมโมเนียมมีผลกระทบต่อกิ้งก่ามกรมทั้งในระดับชีวเคมี และเนื้อเยื่อ โดยกิจกรรมของเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส และการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เม็ดเลือด และเนื้อเยื่อ สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพที่มีประสิทธิภาพในการติดตามการปนเปื้อนสารกำจัดวัชพืชในระบบนิเวศได้

Acknowledgments

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์

References

- Anandhan, R., Bhuyan, G., Kavitha, V., & Selvam, A. (2012). Studies on the Acetylcholinesterase (AChE) activity of two freshwater teleost *Channa striatus* and *Oreochromis massambicus* in reference to Kedilam river, cuddalore district, Tamil Nadu. *International Journal of toxicology and applied pharmacology*, 2(4), 52-56.

- Barathinivas, A., Ramya, S., Neethirajan, K., Jayakumararaj, R., Pothiraj, C., Balaji, P., & Faggio, C. (2022). Ecotoxicological Effects of Pesticides on Hematological Parameters and Oxidative Enzymes in Freshwater Catfish, *Mystus keletius*, *Sustainability*, 14, 1-21.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Buakhiao, P., Decharit, A., Somnuek, T., Prasatkaew, W., Phimchan, P., Piyadeatsoontorn, S., & Thanomsit, C. (2022). Effect of chlorpyrifos mixture with cypermethrin (pesticide) on morphological changes and Acetylcholinesterase expression in Golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *Koch Cha Sarn Journal of Science*, 44(1), 22-22. (in Thai)
- Cantawon, N., Kiatprasert, P., Prasatkaew, W., Mongkolvai, P., Nanthanawat, P., & Thanomsit, C. (2024). Effects of the herbicide 2, 4-D dimethylammonium on induction of vitellogenin synthesis in the plasma of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Agriculture & Technology RMUTI Journal*, 5(2), 83-98 (in Thai)
- Deyashi, M., & Chakraborty, S.B. (2022). Cytomorphological characterization, classification and counting of haemocytes in freshwater crab, *Varuna litterata* (Crustacea: Decapoda). *Invertebr Zool*, 19, 120–134.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V., & Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7, 88-95
- Khanchanasal, P., Nuankaew, C., Saowakoon, S., Nanuam, J., Nanthanawat, P., & Thanomsit, C. (2022). Toxicity Level of 2, 4-D Dimethylammonium in Nile tilapia and Acetylcholinesterase (AChE) Expression (Biomarker) to Identify Exposure in Sub-lethal Concentration. *Burapha science journal*, 27(2), 1278-1299. (in Thai)
- Kumla, S., Chartchumni, B., Nanthanawat, P., Nanuam, J., Ruttanakorn, S., Meemon, P., & Thanomsit, C. (2025). Morphological, biochemical, and histological alterations in juvenile giant freshwater prawns (*Macrobrachium rosenbergii*) exposed to sub-lethal concentrations of 2,4-D dimethylammonium. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 216, 1-14.

- Lewis, K.A., Tzilivakis, J., Warner, D.J., & Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and ecological risk assessment: An International Journal*, 22(4), 1050-1064.
- Maharajan, A., Narayanaswamy, Y., & Ganapiriy, V. (2017). Haematological changes of fresh water crab, *Paratelphusa jacquemontii* in response to the combination of chlorpyrifos and cypermethrin (Nurocombi) insecticide. *Annals of Aquaculture and Research*, 4(3), 1041.
- Nittayachit, P., Chanthai, S., & Petkam, R. (2009). Effects of Chlorpyrifos on Acetylcholinesterase Activity in the Brain, Plasma and Red Blood Cell of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *KKU Research Journal*, 14(1), 55-67. (in Thai)
- OECD. (2019). Test Guidelines for the Chemicals - OECD., 2019. Test guideline No.203 Fish, acute toxicity testing. 1–23.
- Pianpol, C. (2019). Giant Freshwater Prawn Situation in 2019 and Outlook for 2020. Department of Fisheries. 1-7p.
- Pollution Control Department. (2024). Statistics on the Importation of Hazardous Agricultural Substances. Chulaprint. Bangkok. 1 p.
- Thanomsit, C., Saowakoon, K., & Nanthanawat, P. (2016). Mortality rate and histological alterations of prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) exposed to abamectin. *Journal of Fisheries technology*, 10(2), 23-37.
- Thanomsit, C., Maprajuab, A., Prasartkaew, W., Ocharoen, Y., Wattakornsiri, A., Nanuam, J., & Nanthanawat, P. (2017). Application of Acetylcholinesterase as biomarker for pesticide exposure to reduce health risk in consuming Pond snail and Golden apple snail. In *Proceeding of 8th Innovation and Technology conferences* (pp. A221-A227). Surin: Rajamangala University of Technology Isan Surin Campus. (in Thai)
- Thanomsit, C., Sawakoon, S., Wattanakornsiri, A., Nanuam, J., Prasatkaew, W., Nanthanawate, P., Monkolvai, P., & Chalorchaoenyng, W. (2020). Glyphosate (Roundup): Fate, Toxicity Assessment and Adverse Effect on Aquatic Environment. *Naresuan University Journal: Science and Technology*, 28(1), 65-81.

- Thanomsit, C., Kiatprasert, P., Prasatkaew, W., Khongchareonporn, N., & Nanthanawat, P. (2021). Acetylcholinesterase (AChE) monoclonal antibody generation and validation for use as a biomarker of glyphosate-based herbicide exposure in commercial freshwater fish. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 241, 108956.
- Thanomsit, C., Kumla, S., Saetiew, J., Saenjae, J., Nanthanawat, P., Nanuam, J., & Meemon, P. (2025). Application of Optical Coherence Tomography (OCT) to evaluate the adverse effects of 2,4-D dimethylammonium on morphological changes in Riceland Prawn (*Macrobrachium lanchesteri*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 113, 104608.
- Zhang, Y., Dang, Y., Pei, F., Yuan, Y., Yuan, J., Gu, Z., & Wang, J. (2023). Sub-acute toxicity of the herbicide glufosinate-ammonium exposure in adult red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Environmental Pollution*, 337, 122605.