Journal of Science and Technology Vol. 2, No. 1, 2013 วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 2556

ผลของจุนสีต่อเหงือกและกล้ามเนื้อของกุ้งฝอย

Effect of Copper Sulfate on Gill and Muscle of *Macrobrachium lanchesteri* (De Man,1911)

วิยะดา สีหบุตร,[1] วัฒนา สร้อยสังวาล[1] และ ภัคธิดา สัจศรีสกุล[1]*

Viyada Seehabutr,[1*] Watthana Sroysongwan [1] and Pakthida Satsrisakul[1]

ABSTRACT

The effect of copper sulfate on the fresh waterprawn, *Macrobrachium lanchesteri*, was investigated. Live prawns weighed 0.21±0.07 g/ each were collected from a rice field in Bang Khen district, Bangkok, Thailand, and maintained in an aquarium for 7 days prior to experimentation. The prawns were exposed to 4.8 mg/l and 6.0 mg/l (copper sulphate) in water. After 24 h of exposure, both concentrations caused the same 100 % mortality. Histological examination of both copper sulphate exposed and non-exposed prawn tissues revealed that the gill cells of exposed prawns were severely damaged. Furthermore, there were blue concretions in the muscle mass. Therefore, it was concluded that copper accumulating in the gills and muscles damaged the open circulatory system of the freshwater prawn.

Keywords: freshwater prawn, copper sulphate, *Macrobrachium lanchesteri*, gill, open circulatory system

บทคัดย่อ

ในการทดลองผลของจุนสีต่อกุ้งฝอยในห้องปฏิบัติการ ได้เก็บรวบรวมกุ้งฝอยที่มีน้ำหนัก 0.21±0.07 กรัมจากนาข้าวในเขตบางเขน กรุงเทพฯนำมาเลี้ยงในห้องทดลองเป็นเวลา 7 วันก่อนทดสอบผลของจุนสี กุ้งได้รับจุนสีสองความเข้มข้น คือ 4.8 มก./ลิตรและ 6.0 มก./ลิตร ตรวจนับจำนวนกุ้งที่ตายหลังจากใส่ผลึกจุนสีลงในน้ำของกลุ่มทดสอบเป็นเวลา 24 ชม. ผลการทดลองแสดงว่าจุนสีทั้งสองความเข้มข้นทำให้กุ้งตาย 100% เหมือนกัน จากการตรวจสภาพทางมิญชวิทยาของเนื้อเยื่อกุ้งที่ตายเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อกุ้งกลุ่มควบคุมภายใต้กล้องจุลทรรศน์แสง แสดงให้เห็นว่าเซลล์ของเหงือกของกุ้งที่ได้รับจุนสีถูกทำลายโดยสิ้นเชิง ยิ่งกว่านั้นยังพบสิ่งแปลกปลอมในมวลของกล้ามเนื้อด้วยจึงสรุปว่าผลึกจุนสีที่ถูกสะสมในเหงือกและในมวลของกล้ามเนื้อเป็นตัวทำลายระบบหมุนเวียนเลือดแบบเปิดของกุ้ง

คำสำคัญ: กุ้งน้ำจืด คอปเปอร์ซัลเฟต กุ้งฝอย เหงือก ระบบหมุนเวียนแบบเปิด

[1*]ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

*Corresponding author: Tel. 0-2562-5555 ext. 3260, Fax.0-2562-5555 ext. 3202, E-mail address: fscibpp@hotmail.com

คำนำ

ในประเทศไทยจะพบกุ้งฝอยในแหล่งน้ำจืดทั่วไปรวมทั้งในนาข้าว โดยกุ้งฝอยมักอาศัยอยู่ตามขอบบ่อหรือขอบคันนาที่มีน้ำตื้นและมักดีดตัวเหนือผิวน้ำ จึงง่ายแก่การถูกจับกินโดยคนและสัตว์ที่อาศัยอยู่บริเวณนั้น เช่น ปูนา ในบริเวณดังกล่าวยังพบหอยเชอรี่ หอยโข่ง หอยขม หอยเชอรี่เป็นสัตว์ศัตรูพืชชนิดหนึ่งของประเทศไทย อาหารหลักของหอยเชอรี่คือพืชที่เติบโตในน้ำ เช่น ต้นข้าว ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ชาวนาไทยกำจัดหอยเชอรี่ทั้งทางวิธีกลและวิธีการใช้สารเคมี สารเคมีที่ชาวนานิยมใช้ในปัจจุบัน คือผลึกจุนสี (copper sulfate pentahydrate) ซึ่งเป็นผงสีฟ้าละลายน้ำ เนื่องจากมีรายงานว่าจุนสีมีผลในการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase ในสมอง หัวใจ กล้ามเนื้อและไต ของสัตว์น้ำหลายชนิด (Olson and Christensen, 1980; Nemcsok *et al*., 1984) acetylcholinesterase เป็นเอ็นไซม์ที่ย่อยสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ที่มีชื่อว่า acetylcholine ได้ผลผลิตเป็น choline และ acetate ส่วนใหญ่พบที่บริเวณที่อยู่ระหว่างเซลล์ประสาทกับเซลล์กล้ามเนื้อ (Hasselmo, 1995) การที่จุนสีทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ acetylcholinesterase (AchE inhibitors) ทำให้มีการสะสม acetylcholine จำนวนมากมายในบริเวณระหว่างปลายประสาทกับเซลล์กล้ามเนื้อ (synaptic cleft) ทำให้เกิดการหดตัวของกล้ามเนื้อเป็นเวลานานตลอดทั่วร่างกาย จนทำให้ตายได้ (Pakaski and Kasa, 2003) นอกจากนี้ผลึกจุนสียังใช้กำจัดสาหร่ายและวัชพืชในแหล่งน้ำได้ (Riagu, 1979) จากสมบัติดังกล่าวของจุนสีกอปรกับมีราคาถูกจึงเป็นที่นิยมใช้กำจัดศัตรูพืชในนาข้าว และจากการศึกษาของ Viyada (2008) พบว่าจุนสีทำลายเนื้อเยื่อของเหงือกหอยเชอรี่ ซึ่งมีผลทำให้หอยเชอรี่ตาย ในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาผลของจุนสีต่อกุ้งฝอยซึ่งอาศัยอยู่ในนาข้าวเช่นกัน จุนสีอาจมีผลให้กุ้งฝอยตายหรือมีการสะสมในตัวกุ้งฝอย ซึ่งจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค การทดลองครั้งนี้ได้ตรวจสอบผลของจุนสีต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับเนื้อเยื่อของกุ้งฝอย โดยเฉพาะเนื้อเยื่อเหงือกและกล้ามเนื้อ ความรู้ที่ได้จากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค รวมทั้งเกษตรกรให้ตระหนักถึงอันตรายและผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีในการป้องกันหรือกำจัดสัตว์ศัตรูพืช และเป็นประโยชน์ทางวิชาการในการศึกษาผลของจุนสีต่อสัตว์น้ำชนิดอื่น

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลอง

เก็บตัวอย่างกุ้งฝอยจากนาข้าวในบริเวณรอบมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ นำมาพักไว้ในถังน้ำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 80 ซม. เป็นเวลาเจ็ดวันก่อนการทดลอง โดยให้อาหารทุกวัน ยกเว้นก่อนการทดลองหนึ่งวัน และในช่วงการทดลอง

การวางแผนการทดลอง

แบ่งกุ้งฝอยที่มีขนาดน้ำหนัก 0.21±0.07 กรัม ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 10 ตัว ใส่ในตู้ทดลองสี่เหลี่ยมขนาด 16x8 นิ้วบรรจุน้ำสูงจากพื้นตู้ 10 ซม (ในนาข้าวทั่วไปมักมีน้ำสูงจากพื้นดินประมาณ 10 ซม.) ภายใต้อุณหภูมิ 29-30 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วย 3 กลุ่มทดลอง

กลุ่มที่หนึ่งให้เป็นกลุ่มควบคุม ที่กุ้งฝอยไม่ได้รับสารจุนสี

กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มทดลอง ที่กุ้งฝอยได้รับจุนสีหรือผลึกคอปเปอร์ซัลเฟต 4.8 มก./ลิตร (ใช้อัตรา 800 กรัมต่อไร่) เป็นเวลา 24 ชม โดยปล่อยกุ้งฝอยลงในตู้ทดลองที่มีน้ำก่อน แล้วจึงใส่จุนสีลงในน้ำ

กลุ่มที่สามเป็นกลุ่มทดลอง ที่กุ้งฝอยได้รับจุนสีหรือผลึกคอปเปอร์ซัลเฟต 6.0 มก./ลิตร (ใช้อัตรา 1,000 กรัมต่อไร่) เป็นเวลา 24 ชม โดย

ปล่อยกุ้งฝอยลงในตู้ทดลองที่มีน้ำก่อน แล้วจึงใส่จุนสีลงในน้ำ

การตรวจสอบการตายของกุ้งฝอย

ใช้เข็มปลายแหลม ทิ่มเบาๆที่ตัวกุ้งฝอย 3-4 ครั้ง ถ้าไม่มีการตอบสนอง แสดงว่ากุ้งนั้นตายแล้ว นับจำนวนกุ้งฝอยที่ตายหลังจากที่ได้รับจุนสีเป็นเวลา 24 ชม

การศึกษาทางมิญชวิทยา

ล้างกุ้งฝอยที่เอาเปลือกออกแล้วทั้งจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ตายและจากกลุ่มทดลองที่ตายด้วยน้ำเกลือ แยกเอาเฉพาะส่วนหัวที่มีเหงือกและกล้ามเนื้อลำตัวที่ถูกตัดออกเป็นชิ้นเล็กๆ เก็บเนื้อเยื่อทั้งหมดในสารฟอร์มาลิน 10% เป็นเวลา 24 ชม ดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อด้วยเอธิลอัลกอฮอล (50 %, 70 %, 80 %, 95% and 100 % ตามลำดับ) ฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่องไมโครโตม ยี่ห้อ Leica RM 2145 Germany ย้อมสีเนื้อเยื่อตัวอย่างที่มีความหนา 6 ไมโครเมตรด้วยสี hematoxylin และ eosin ตรวจพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus Japan

ผลและวิจารณ์

ผลึกจุนสี และสารที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ นิยมนำมาใช้เป็นสารฆ่าหอย (Rogevich *et al*., 2008) ในประเทศไทย มีการใช้จุนสีในนาข้าวกันแพร่หลาย เนื่องจากมีราคาถูกและมีผลทำให้หอยเชอรี่ตาย จุนสีในอัตรา 4.8 มก./ลิตร และ 6.0 มก./ลิตร มีผลให้กุ้งฝอยขนาดน้ำหนัก 0.21±0.07 กรัม ตายหมดภายใน 24 ชม. ขณะที่กลุ่มควบคุมไม่มีการตาย และจากการย้อมสีเนื้อเยื่อของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยสีฮีมาท็อกซิลิน อีโอซิน สามารถพบความแตกต่างของเนื้อเยื่อได้ดังนี้

เมื่อนำเอาเนื้อเยื่อเหงือกของกลุ่มควบคุมมาตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า เซลล์ของเหงือกไม่พบสิ่งแปลกปลอม เนื้อเยื่อของเหงือกเป็นแบบ branching form มีการเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ และยึดกันแน่น (Figure 1) ในขณะที่เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลอง เซลล์ของเหงือกถูกทำลาย และพบการโป่งพองของ secondary lamellae ทั้งหมด รวมถึงการหลุดลอกออกไปของชั้น epithelium ทำให้เหงือกถูกทำลายทั้งหมด (Figure 2) ส่งผลให้กุ้งฝอยขาดออกซิเจน และตายในที่สุด การบวมของ gill lamellae และการยกตัวขึ้นของ lamellar epithelium สามารถพบได้ในเหงือกของกุ้ง *Macrobrachium rosenbergii* ที่ได้รับคอปเปอร์ (Li *et.al*., 2007) เช่นเดียวกับเหงือกของหอยเชอรี่ที่ได้รับสารคอปเปอร์ซัลเฟต จะส่งผลต่อการตอบสนองทางกายภาพของหอย นำไปสู่การสะสมของคอปเปอร์ในเนื้อเยื่อของเหงือก ทำให้เซลล์เหงือกถูกทำลาย (Viyada, 2008)

เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกุ้งกลุ่มควบคุม มีการเรียงตัวของเส้นใยกล้ามเนื้อ (muscle fibers) อย่างเป็นระเบียบ (Figure 3 A) ในเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อของกุ้งที่ได้รับจุนสี พบสิ่งแปลกปลอมลักษณะเป็นผลึก (concretion) ติดสีน้ำเงินกระจายอยู่ทั่วไป (Figure 3 B) เมื่อกุ้งได้รับจุนสีเข้าไปในร่างกาย จุนสีอาจจะเข้าไปแทรกอยู่ในมวลกล้ามเนื้อในลักษณะเป็นผลึกสีน้ำเงิน (Figure 3 B) ซึ่งอาจขัดขวางการทำงานของกล้ามเนื้อ อันมีผลต่อเนื่องกับอวัยวะอื่น จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้กุ้งตายในที่สุด ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Lodhi *et al*. (2006) พบว่ากุ้ง *Macrobrachium lamarrei* และ *Macrobrachium dayanum* มีการเคลื่อนที่ผิดปกติ เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงในเซลล์กล้ามเนื้อหลังจากได้รับคอปเปอร์ ซัลเฟต ในอัตรา 0.304 และ 0.418 มก./ลิตรตามลำดับเป็นเวลา 96 ชม. นอกจากนี้ Cheng and Sullivan (1973) พบว่าคอปเปอร์ในปริมาณมากสามารถทำให้หอยน้ำจืด *Biomphalaria glabrata* เกิดอาการที่เรียกว่า distress syndrome มีผลทำให้อัตราการเต้นของหัวใจลดลง และทำให้หอยตาย อาการที่เรียกว่า distress syndrome นี้ สามารถพบได้ในหอยน้ำจืด *Australorbis glabratus* หลังจากได้รับสารจุนสีในอัตราความเข้มข้น 0.05-0.1 ppm (Harry and Aldrich, 1963)

จากผลการทดลองในครั้งนี้เปรียบเทียบกับผลการทดลองของนักวิจัยในอดีต ทำให้สามารถสรุปได้ว่าสารจุนสีมีความเป็นพิษกับกุ้งฝอยเช่นกัน

เอกสารอ้างอิง

Cheng, T. C. and J. T. Sullivan. 1973. The effect of copper on the heart-rate of *Biomphalaria glabrata* (mollusca: pulmonata). Comp. Gen. Pharmacol. 4: 37-41.

Harry, H. W. and D. V. Aldrich. 1963. The distress syndrome in *Australorbis glabratus* (Say) as a reaction to toxic concentrations of inorganic ions. Malacologia 1: 283-289.

Hasselmo, M. E. 1995. Neuromodulation and cortical function: Modeling the physiological basis of behavior. Behav. Brain Res. 67: 1-27.

Li, N., Y. L. Zhao and J. Yang. 2007. Impact of waterborne copper on the structure of gills and hepatopancreas and its impact on the content of metallothionein in juvenile giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea:Decapoda). Arch. Environ. Contam. Toxicol. 52: 73-79.

Lodhi, H. S., M. A. Khan, R. S. Verma and U. D. Shama. 2006. Acute toxicity of copper sulfate to freshwater prawns. J. Environ. Biol. 27: 585-588.

Nemcsok, J., A. Nemeth, Z.S. Buzas and L. Boross. 1984. Effects of copper, zinc and paraquat on acetylcholinesterase activity in carp (*Cyprinus carpio* L.). Aqua. Toxicol. 5: 23-31.

Olson, D. L. and G. M. Christensen. 1980. Effects of water pollutants and other chemicals on fish acetylcholinesterase in vitro. Environ. Res. 21: 327-335.

Pakaski, M. and P. Kasa. 2003. Role of acetylcholinesterase inhibitors in the metabolism of amyloid precursor protein. Current drug targets. CNS and neurological disorders 2: 163-71.

Riagu, J. O. 1979. Copper in the environment. Part2: health effects. New York: John Wiley, 489 pp.

Rogevich, E., T. Hoang and G. Rand. 2008. The Effects of water quality and age on the acute toxicity of copper to the Florida apple snail, *Pomacea paludosa*. Arch. Environ. Contam. Toxicol.54: 690-696.

Viyada, S. 2008. Lethal effect of copper sulfate on golden apple snail *Pomacea* sp. Kamphaengsaen Acad. J. 6:47-54.

Received 6 June 2012

Accepted 29 May 2013

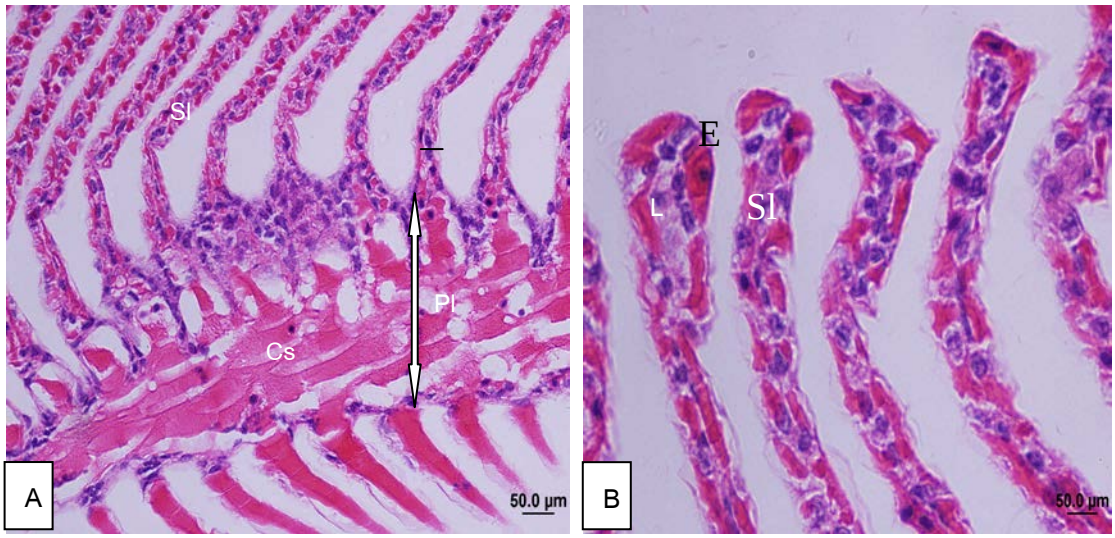

Figure 1 Gill filaments of *Macrobrachium lanchesteri*,
(A) showing primary lamella (Pl), secondary lamella (Sl) and central sinus (Cs);
(B) showing epithelial cell (E), lacuna (capillary lumen, L) of secondary lamella (Sl).

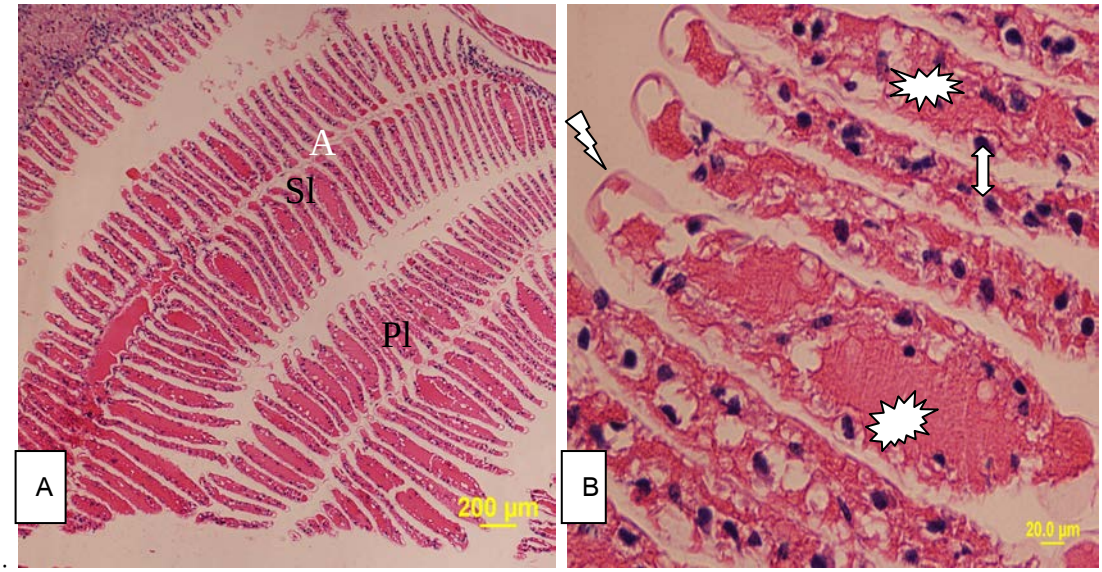

Figure 2 The gill lamellae of *Macrobrachium lanchesteri* exposed to copper sulfate
(A) showing primary lamella (Pl), secondary lamellae (Sl);
(B) showing epithelial lifting ( ), lamellae swelling ( ) and pyknotic nuclei ( )
of damaged cells

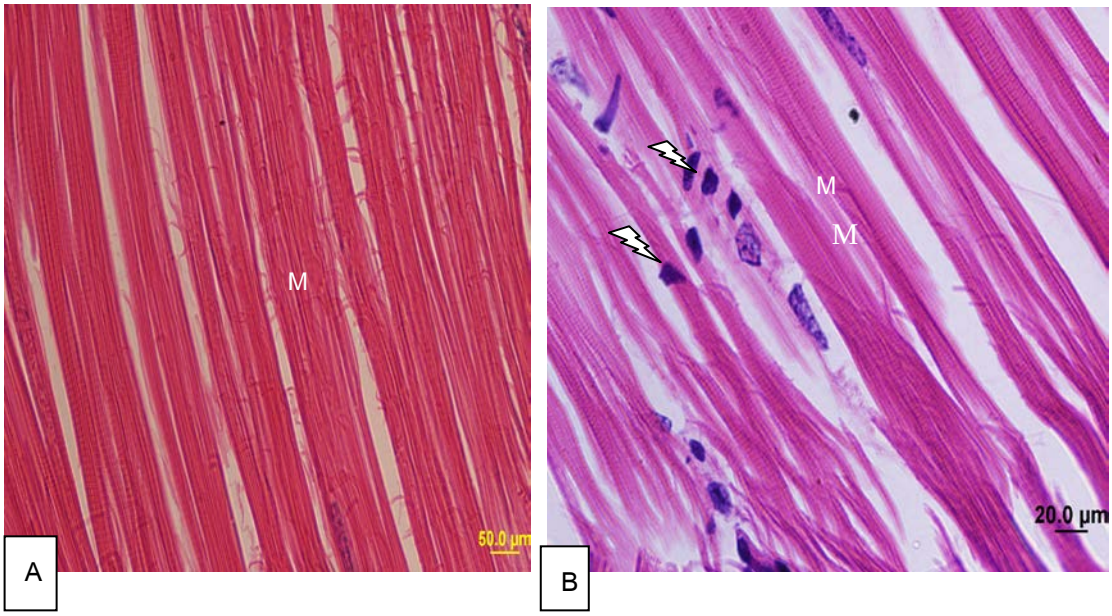

Figure 3 Skeletal muscle of *Macrobrachium lanchester*

(A) showing normal skeletal muscle (M);

(B) showing skeletal muscle of exposed prawn (M), and some concretions ( )