

3-1-2004

## ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY AND TOTAL HAEMOCYTE COUNT IN BLACK TIGER SHRIMPS (PENAEUS MONODON) EXPOSED TO TRIFLURALIN AT THERAPEUTIC LEVELS FOR ECTOPARASITIC TREATMENT

Phanupong Chaowanit

Apirak Pleanplak

Rujira Sangarun

Lila Ruangpan

Janenuj Wongtavatchai

*See next page for additional authors*

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### Recommended Citation

Chaowanit, Phanupong; Pleanplak, Apirak; Sangarun, Rujira; Ruangpan, Lila; Wongtavatchai, Janenuj; and Chansiripornchai, Piyarat (2004) "ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY AND TOTAL HAEMOCYTE COUNT IN BLACK TIGER SHRIMPS (PENAEUS MONODON) EXPOSED TO TRIFLURALIN AT THERAPEUTIC LEVELS FOR ECTOPARASITIC TREATMENT," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 34: Iss. 1, Article 14. Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol34/iss1/14>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

---

# ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY AND TOTAL HAEMOCYTE COUNT IN BLACK TIGER SHRIMPS (*PENAEUS MONODON*) EXPOSED TO TRIFLURALIN AT THERAPEUTIC LEVELS FOR ECTOPARASITIC TREATMENT

## Authors

Phanupong Chaowanit, Apirak Pleanplak, Rujira Sangarun, Lila Ruangpan, Janenuj Wongtavatchai, and Piyarat Chansiripornchai

ค่าการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส  
และจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสไตรฟลูราลิน  
ในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอก

ภาณุพงศ์ ชาวนิช<sup>1</sup> อภิรักษ์ เปลี่ยนแปลก<sup>1</sup> รุจิรา แสงอรุณ<sup>1</sup>  
ลิตา เรืองแป้น<sup>2</sup> เจนนุช ว่องธวัชชัย<sup>1</sup> ปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย<sup>1,\*</sup>

Abstract

Phanupong Chaowanit<sup>1</sup> Apirak Pleanplak<sup>1</sup> Rujira Sangarun<sup>1</sup> Lila Ruangpan<sup>2</sup> Janenuj Wongtavatchai<sup>1</sup>  
Piyarat Chansiripornchai<sup>1\*</sup>

**ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY AND TOTAL HAEMOCYTE  
COUNT IN BLACK TIGER SHRIMPS (*PENAEUS MONODON*) EXPOSED  
TO TRIFLURALIN AT THERAPEUTIC LEVELS FOR ECTOPARASITIC  
TREATMENT**

Trifluralin, a herbicide, was observed for its side effects when used, extralabel, as an ectoparasiticide in shrimp farming. Black tiger shrimp were exposed to trifluralin at a therapeutic level, commonly employed in shrimp farming, 0.1 or 0.2 ppm, for up to 96 hrs. Shrimp were examined 96 hrs after the primary dosage of trifluralin. The total haemocyte count in the exposed shrimp was not different from the control, unexposed shrimp. A significant reduction of muscle acetylcholinesterase was found in all exposed shrimp ( $p < 0.05$ ). Some of the exposed shrimp also demonstrated clinical signs of cholinergic overload characterized as abnormal movement. This study suggests sublethal effects when trifluralin is used for the treatment of shrimp ectoparasitic disease.

**Keywords :** trifluralin, black tiger shrimp, acetylcholinesterase, haemocyte count, toxicity

---

<sup>1</sup>Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330

<sup>2</sup>Samutsakorn Coastal Aquaculture Development Center, Samutsakorn 74000

\*Corresponding author

---

<sup>1</sup>คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

<sup>2</sup>ศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร สมุทรสาคร 74000

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

## บทคัดย่อ

ภานุพงศ์ เชาวนิช<sup>1</sup> อภิรักษ์ เปลี่ยนแปลก<sup>1</sup> รุจิรา แสงอรัญญา<sup>1</sup> ลีลา เรืองแป้น<sup>2</sup> เจนนุช ว่องธวัชชัย<sup>1</sup> ปิยะรัตน์ จันทร์ศิริพรชัย<sup>1\*</sup>

### ค่าการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสและจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้งกุลาดำที่สัมผัสไตรฟลูราลินในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอก

ศึกษาผลของไตรฟลูราลินในขนาดที่ใช้รักษาโรคปรสิตภายนอก โดยตรวจวัดค่าการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสในกล้ามเนื้อและการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) อายุ 45 วัน ผลการศึกษาพบว่ากุ้งกลุ่มทดลองที่สัมผัสไตรฟลูราลินความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 พีพีเอ็มในวันที่ 2 และ 4 ของการทดลองตามลำดับมีจำนวนเม็ดเลือดไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่พบว่าการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสของกุ้งแต่ละตัวในกลุ่มทดลองมีค่าลดลง ( $p < 0.05$ ) เมื่อเก็บตัวอย่างเลือดและกล้ามเนื้อที่ 96 ชม. หลังการให้สารในครั้งแรก นอกจากนี้ยังพบอาการผิดปกติในพฤติกรรม การเคลื่อนไหวของกุ้งกลุ่มทดลองซึ่งแสดงถึงภาวะการทำงานที่มากเกินไปของระบบประสาทโคลิเนอร์จิก ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของไตรฟลูราลินต่อค่าการทำงานของเอนไซม์อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรสในระดับของการเกิดพิษที่ไม่ทำให้ตาย

คำสำคัญ : ไตรฟลูราลิน กุ้งกุลาดำ อะซีทิลโคลีนเอสเตอเรส จำนวนเม็ดเลือด ความเป็นพิษ

## บทนำ

trifluralin ( $\alpha, \alpha, \alpha$ -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropyl-p-toluidine) เป็นสารกำจัดวัชพืชที่จัดอยู่ในกลุ่ม nitroanilines ใช้ในการป้องกันการงอกของวัชพืชชนิดใบแคบ และใบกว้าง เช่น ผักโขม หญ้าตีนนก หญ้าตีนกา และหญ้านกส้มพู ออกฤทธิ์โดยยับยั้งการสร้างรากแขนงของวัชพืช นอกจากนี้ยังใช้ในการกำจัดเชื้อราและควบคุมวัชพืชในน้ำ (Ware, 1991) trifluralin มีสูตรโมเลกุล คือ  $C_{13}H_{16}F_3N_3O$  น้ำหนักโมเลกุล 335.3 ความหนาแน่น 0.62 ก./มล. pH 7-8 รูปแบบผลิตภัณฑ์ trifluralin ที่มีใช้คือ ผลึกใสสีเหลืองส้ม และ แกรนูล ละลายได้ในน้ำ มีค่าครึ่งชีวิต 25-36 วันเมื่ออยู่ในดินและทนต่อการชะล้าง (Nomix-Chipman, 1999) trifluralin เป็นเคมีภัณฑ์หนึ่งในจำนวน 215 ชนิดที่ได้รับการคัดเลือกจากกรมประมง มาทดสอบเพื่อใช้ในการควบคุมเชื้อราที่ก่อโรคในสัตว์น้ำทดแทนการใช้ malachite green ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง ปัจจุบันเกษตรกรได้นำ trifluralin มาใช้ป้องกันการเกิดโรคเชื้อราในการเพาะเลี้ยงและอนุบาลกุ้ง ปู และปลาสวยงามอย่างแพร่หลาย (ลีลาและคณะ, 2546) กลไกการออกฤทธิ์ของ trifluralin ยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีรายงานว่า trifluralin มีผลต่อ microtubule ในปรสิตโดยไม่มีผลอันตรายต่อโฮสต์ (Chan and Fong, 1990; Chan et al., 1993)

ในด้านความเป็นพิษของ trifluralin พบว่าทำให้คนที่ได้รับสารชนิดนี้เกิดอาการ คลื่นเหียน อาเจียน และท้องเสียได้จากการทดลองในสัตว์ต่างๆ พบว่า สุนัขที่ได้รับอาหารปนเปื้อนสาร trifluralin เป็นระยะเวลานาน น้ำหนักจะลดลง ค่าทางโลหิตวิทยาเปลี่ยนแปลง และน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังได้มีการทดลองในสัตว์ฟันแทะ 3 ชนิด โดยให้สาร trifluralin ระดับ 3 ppm เข้าทางกระเพาะอาหาร ผลการศึกษาพบว่า trifluralin ทำให้กระดูกผิดปกติในหนูถีบจักร และน้ำหนักตัวลูกที่คลอดน้อยกว่าปกติในหนูขาว และกระต่าย (Lee, 2002) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ trifluralin จะมี N-nitroso-di-n propylamine (NDPA) ปนเปื้อนมาด้วย ซึ่ง NDPA เป็นสารก่อมะเร็งได้ในสัตว์ฟันแทะ โดยในหนูขาวที่ได้รับอาหารปนเปื้อน trifluralin จะมีอุบัติการณ์ในการเกิดมะเร็งของทางเดินปัสสาวะ และมะเร็งที่ต่อมธัยรอยด์มากขึ้น ค่า lethal concentration ( $LC_{50}$ ) ในหนูโดยวิธีกิน มีค่ามากกว่า 2000 ppm ค่า  $LC_{50}$  ในกระต่ายโดยการสัมผัสที่ผิวหนัง มีค่ามากกว่า 2000 ppm มีการศึกษาพบว่า trifluralin มีความเป็นพิษต่อปลา และสัตว์น้ำที่ไม่มีกระดูกสันหลัง โดยมีค่า  $LC_{50}$  น้อยกว่า 0.1 ppm และระหว่าง 0.1-1 ppm ตามลำดับ (Lee, 2002) นอกจากนี้ยังพบว่า trifluralin มีผลทำให้กระดูกสันหลังในปลา Sheephead minnow เกิดการเจริญเติบโตอย่างผิดปกติ (Couch et al., 1979)

และมีผลทำให้ต่อมใต้สมองของปลาดังกล่าวขยายใหญ่และบวมน้ำ (Couch, 1984) มีรายงานการใช้ trifluralin ในการกำจัดโปรโตซัวหลายชนิดได้ผลดี เช่น โปรโตซัวใน family *Trypanosomatidae* (Bogitsh, Middleton and Ribeiro-Rodrigues, 1999) และใช้กำจัดเชื้อราในปลาได้ผลดีเช่นกัน (Gardne and Northam, 1997) ในปัจจุบันพบว่ามีเกษตรกรทดลองนำ trifluralin มาใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อโปรโตซัว *Zoothamnium spp.* ในกึ่งฤดูปลาโดยใช้ในขนาดความเข้มข้น 0.1-0.2 ppm เช่กึ่งวันเว้นวันติดต่อกัน 2 ครั้งพบว่าให้ผลการรักษาที่ดี (สุปราณี และคณะ, 2002) อย่างไรก็ตามการใช้ trifluralin ของเกษตรกรเพื่อฆ่า *Zoothamnium spp.* ในลักษณะนี้เป็นการใช้ยาแบบ extralabel use ซึ่งยังไม่มีข้อมูลทางวิชาการที่เพียงพอเกี่ยวกับประสิทธิภาพการป้องกันและรักษาโรคระยะเวลาการใช้และสารออกฤทธิ์ที่เหลือตกค้างในสัตว์น้ำ ตลอดจนผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการตกค้างของสารในน้ำที่ปล่อยลงสู่แหล่งน้ำภายนอก (สิริ และคณะ, 2002)

เป็นที่ทราบกันดีว่าตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) ของการปนเปื้อนของสารกำจัดแมลงกลุ่มต่างๆ คือ organophosphates (OP) carbamates และ pyrethroids คือ การวัดค่าการทำงานของเอนไซม์ cholinesterase (ChE) ที่ลดลงเนื่องจากสารกำจัดแมลงกลุ่มต่างๆ เหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ChE (Balint et al., 1995; Halbrook et al, 1992) นอกจากสารกำจัดแมลงกลุ่มต่างๆ จะมีผลต่อการทำงานของ ChE แล้ว ยังมีการศึกษาถึงผลของสารกำจัดวัชพืชต่อการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase (AChE) ในสัตว์น้ำด้วย เช่น Fernandez-Vega และคณะ (2002) ศึกษาถึงผลของ thiobencarb ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม thiocarbamate ในปลาไหลยุโรป พบว่า thiobencarb ทำให้ค่าการทำงานของเอนไซม์ AChE ในสมอง กล้ามเนื้อ และเหงือกของปลาลดลง อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงผลของ trifluralin ต่อค่าการทำงานของ AChE

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ trifluralin ต่อค่าการทำงานของ AChE และ ค่าทางโลหิตวิทยาคือจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกึ่งฤดูปลาภายหลังได้รับสารชนิดนี้ในขนาดที่ใช้รักษาโรคติดเชื้อโปรโตซัว

### วัสดุและวิธีการ

สัตว์ทดลองที่ใช้คือ กึ่งฤดูปลาอายุ 45 วัน ที่มีสุขภาพดี น้ำหนักเฉลี่ย 10 ก./ตัว จำนวน 70 ตัว จากศูนย์พัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งสมุทรสาคร แบ่งกึ่งฤดูปลาออกเป็น 3

กลุ่ม แยกเลี้ยงแต่ละกลุ่มไว้ในถังไฟเบอร์กลาสที่บรรจุน้ำทะเลสะอาด 400 ล. มีความเค็ม 25 ppt เลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป และตรวจคุณภาพน้ำทุกวันในเวลา ประมาณ 7.00 และ 17.00 น. ซึ่งทั้ง 3 กลุ่มการทดลองให้ค่าใกล้เคียงกันคือ ปริมาณออกซิเจนในน้ำอยู่ในช่วง 5-7 มก./ล. อุณหภูมิในน้ำ 30.5°C. ค่าความเป็นด่างประมาณ 160 ppm pH 7.8-8.5 ค่าแอมโมเนีย 1.5-1.8 ppm และค่าไนไตรท์ 0.2-0.5 ppm

กึ่งฤดูปลาค่ากลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสสาร trifluralin จำนวน 30 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดและกล้ามเนื้อกึ่งฤดูควบคุมในวันที่ 1 จำนวน 15 ตัว และเก็บตัวอย่างเช่นเดียวกันนี้จำนวน 15 ตัวอย่างอีกครั้งที่ 96 ชั่วโมงหลังเริ่มการทดลอง กึ่งฤดูปลาค่ากลุ่มที่ 2 และ 3 เป็นกลุ่มทดลองซึ่งมีกึ่งฤดูละ 20 ตัว ให้กึ่งฤดูที่ 2 และ 3 สัมผัสสาร trifluralin 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm และ 0.2 ppm. ตามลำดับให้สารแก่กึ่งฤดูในวันที่ 2 และ 4 ของการทดลองโดยวิธีการแช่ (bath exposure) จากนั้นเมื่อครบ 96 ชม. นับจากการแช่กึ่งฤดูในครั้งแรกจึงเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไปนับจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดและเก็บกล้ามเนื้อกึ่งฤดูไปเตรียมตัวอย่างเพื่อการวัดค่าการทำงานของ AChE โดยประยุกต์ใช้วิธีการของ Ellman และคณะ (1961) เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าการทำงานของ AChE ทางสถิติระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองโดยใช้ ANOVA ที่  $p < 0.05$

### ผล

**ผลของ Trifluralin ต่อจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกึ่งฤดูปลา**  
จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดของกึ่งฤดูปลาค่ากลุ่มทดลองที่ได้สัมผัส trifluralin เป็นเวลา 96 ชม. ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm และ 0.2 ppm ไม่แตกต่างจากจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดของกึ่งฤดูในกลุ่มควบคุม ( $p > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกึ่งกุลาดำ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมกับกลุ่มทดลองที่สัมผัสสาร trifluralin เป็นเวลา 96 ชม.

กลุ่ม	จำนวนตัวอย่าง (ตัว)*	ค่าเฉลี่ยจำนวนเม็ดเลือด ( $\times 10^6$ เซลล์/มล.) (Mean $\pm$ SD)
ควบคุม ที่ 0 ชม.	11	187.32 $\pm$ 56.79
ควบคุม ที่ 96 ชม.	15	176.48 $\pm$ 51.27
สัมผัสสาร 0.1 ppm	19	217.25 $\pm$ 55.37
สัมผัสสาร 0.2 ppm	20	199.39 $\pm$ 57.24

\*ตรวจนับเม็ดเลือดเฉพาะตัวอย่างเลือดที่ไม่แข็งตัว

ค่าการทำงานของ AChE ในกล้ามเนื้อกึ่งกุลาดำกลุ่มควบคุม เมื่อเปรียบเทียบกับค่าการทำงานของ AChE ในกล้ามเนื้อกึ่งกุลาดำกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัส trifluralin เมื่อเก็บตัวอย่างที่หนึ่งวันก่อนการทดลองและในวันที่ 4 ของการทดลอง พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าการทำงานของ AChE ในกล้ามเนื้อกึ่งกุลาดำกลุ่มควบคุมเมื่อเก็บตัวอย่างในหนึ่งวันก่อนการทดลอง ( $D_0$ ) และวันที่ 4 ( $D_4$ ) ของการทดลอง

วันที่เก็บตัวอย่าง	ค่าการทำงานของ AChE* (Mean $\pm$ SD)
$D_0$	2.96 $\pm$ 0.54**
$D_4$	3.38 $\pm$ 0.75**

\*หน่วยเป็น micromole of substrate hydrolyzed min-1mg-1

\*\*n = 15

ผลของ trifluralin ต่อค่าการทำงานของเอนไซม์ AChE ในกล้ามเนื้อกึ่งกุลาดำ

ค่าการทำงานของเอนไซม์ AChE ในกล้ามเนื้อกึ่งกุลาดำหลังการสัมผัสสาร trifluralin ระดับความเข้มข้น 0.1 ppm

และ 0.2 ppm เป็นเวลา 96 ชม. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้สัมผัสสาร (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3** ค่าการทำงานของเอนไซม์ AChE ในกล้ามเนื้อของกุ้งกุลาดำของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองที่สัมผัสสาร trifluralin เป็นเวลา 96 ชม.

กลุ่ม	ค่าการทำงานของ AChE* (Mean ± SD)
ควบคุม ที่ 0 ชม.*	2.98 ± 0.54 <sup>(a)</sup>
ควบคุม ที่ 96 ชม.*	3.20 ± 0.62 <sup>(a)</sup>
สัมผัสสาร 0.1 ppm**	2.54 ± 0.48 <sup>(b)</sup>
สัมผัสสาร 0.2 ppm**	2.62 ± 0.39 <sup>(b)</sup>

\*หน่วยเป็น micromole of substrate hydrolyzed min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup>

\*n = 15, \*\* n = 20

(a) แตกต่างจาก (b) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

### วิจารณ์

ในการศึกษาครั้งนี้ไม่สามารถนับจำนวนเม็ดเลือดจากตัวอย่างเลือดกุ้งทุกตัวได้เนื่องจากสัตว์ใน Class Crustacea เช่นกุ้งมีขบวนการแข็งตัวของเลือดที่รวดเร็วมากถึงแม้จะมีการใช้สารป้องกันการแข็งตัวของเลือดแล้วก็ตามทำให้มีตัวอย่างเลือดจำนวนหนึ่งเกิดการแข็งตัวก่อนที่จะนำมาตรวจนับจำนวนเม็ดเลือด ในการทดลองครั้งนี้จึงตรวจนับเม็ดเลือดเฉพาะตัวอย่างเลือดที่ไม่แข็งตัวเท่านั้นดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อศึกษาถึงผลของ trifluralin ต่อจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้งกุลาดำพบว่า การสัมผัส trifluralin ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 ppm เป็นเวลา 96 ชม. ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้งซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Ebert และคณะ (1992) ที่พบภาวะโลหิตจางในสุนัขที่ได้รับ trifluralin ขนาด 2500 ppm ผสมในอาหารกินติดต่อกัน 6 เดือนซึ่งอาจเป็นเพราะขนาดความเข้มข้นของ trifluralin ที่ใช้มีความแตกต่างกันรวมทั้งระยะเวลาที่สัตว์สัมผัสสารที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าขนาดความเข้มข้นของสารที่ใช้คือ 0.1 และ 0.2 ppm เป็นขนาดความเข้มข้นต่ำที่เพียงพอจะใช้เป็นยารักษาโรคติดเชื้อ โปรโตซัวในกุ้งกุลาดำ โดยไม่มีผลต่อจำนวนเม็ดเลือดทั้งหมดในกุ้ง

การตรวจวัดค่าการทำงานของ AChE ในการศึกษาขึ้นเป็นการตรวจวัดในกล้ามเนื้อซึ่งพบว่ามีความเหมาะสมทั้งในด้านการเก็บตัวอย่างและการนำมาเตรียมตัวอย่างเพื่อการตรวจวัดค่าการทำงานของ AChE ตามที่ได้มีผู้รายงานไว้แล้ว (สถาพร และคณะ, 1992; Wongtavatchai et al., 2000) เมื่อตรวจวัดค่าการทำงานของ AChE พบว่า trifluralin มีผลต่อค่าการทำงานของ AChE กล่าวคือ กุ้งกุลาดำในกลุ่มทดลอง

ที่ได้สัมผัส trifluralin ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 ppm เป็นเวลา 96 ชม. มีค่าการทำงานของ AChE ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่า trifluralin ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีผลต่อค่าการทำงานของ AChE ได้เช่นเดียวกับสารกำจัดแมลง ซึ่งสอดคล้องกับที่มีรายงานว่าสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม diphenyl ethers คือ oxyfluofen ทำให้ค่าการทำงานของ AChE ในสมองปลาลดลงได้เมื่อสัมผัสสารชนิดนี้ (Hassanein, 2002) อย่างไรก็ตามยังไม่มีผู้รายงานถึงกลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืชกลุ่มต่างๆ ที่มีผลต่อการทำงานของ AChE นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งในกลุ่มทดลองที่ได้สัมผัส trifluralin แสดงอาการกระวนกระวาย ลำตัวเกร็งและเคลื่อนไหวแบบไม่มีทิศทางแสดงให้เห็นว่า trifluralin มีผลกระทบต่อระบบประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนไหวและการทรงตัวของกุ้งซึ่งอาการลำตัวเกร็งและเคลื่อนไหวแบบไม่มีทิศทางที่พบนี้คล้ายคลึงกับอาการที่พบในกุ้ง *Metapenaeus monoceros* ที่สัมผัสสารกำจัดแมลง methylparathion ซึ่งแสดงให้เห็นถึงภาวะการทำงานของระบบประสาทโกลิเออร์จิกที่มากเกินไปอันเป็นผลมาจากการทำงานของ ChE ที่ลดลง (Reddy and Rao, 1990)

จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ากุ้งกุลาดำที่ได้สัมผัส trifluralin ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 ppm เป็นเวลา 96 ชม. ไม่แสดงอาการของการเกิดพิษเฉียบพลันที่ทำให้กุ้งตายในขณะที่ทำการทดลองและไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนเม็ดเลือดในกุ้งทดลอง อย่างไรก็ตามการสัมผัสสารในระดับความเข้มข้นดังกล่าวนี้มีผลทำให้กุ้งแสดงอาการผิดปกติทางพฤติกรรมเคลื่อนไหวซึ่งเป็นผลจากค่าการทำงานของ AChE ที่ลดลง ดังนั้นการใช้ trifluralin ใน

ระดับความเข้มข้น 0.1-0.2 ppm แช่กึ่งกลาดำเป็นเวลาานาน 96 ชม. เพื่อการรักษาหรือป้องกันโรคที่เกิดจากปรสิตภายนอกตามที่ปฏิบัติในปัจจุบันจึงเป็นระดับความเข้มข้นที่มีผลข้างเคียงในลักษณะการเกิดพิษที่ไม่ทำให้กุ้งตาย (sublethal toxicity) แต่ทำให้เกิดความผิดปกติต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย เช่น ผลต่อระบบประสาทของกุ้ง อย่างไรก็ตามผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นอาจส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโตของกุ้งซึ่งควรจะได้มีการศึกษาและประเมินผลต่อไปในอนาคต ดังนั้นก่อนที่จะมีการใช้ยาหรือเคมีภัณฑ์ทุกชนิดในสัตว์จำเป็นต้องมีการทดสอบเพื่อพิจารณาถึงผลข้างเคียงในลักษณะต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นได้โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่เป็นสัตว์ซึ่งเพาะเลี้ยงเพื่อการบริโภค ควรปฏิบัติด้วยความรอบคอบและระมัดระวังความปลอดภัยของผู้บริโภค

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โครงการเสริมทักษะการวิจัย ปีการศึกษา 2546 คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สนับสนุนทุนวิจัย และ รศ.อัญญา ชวีชสิน ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ช่วยวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

### เอกสารอ้างอิง

ลีลา เรื่องแป้น ชัยวุฒิ สุดทองคง และวุฒิชัย ทองล้ำ. 2003(2546). ประสิทธิภาพของไตรฟลูราลินในการบำบัดเชื้อราในน้ำ ระยะการสลายตัวของสาร และพิษเฉียบพลันต่อลูกกุ้งแชบ๊วย. วารสารการประมง 56 (4): 307-314.

สถาพร สุวรรณรักษ์ สุพัตรา ศรีไชยรัตน์ และจิรศักดิ์ ตั้งตรงไพโรจน์. 1992 (2535). พิษเฉียบพลันของเมทิลพาราไธออนในกึ่งกลาดำ. เวชสารสัตวแพทย์ 22(4): 189-201.

สิริ ทุกขวินาศ วราภรณ์ พรหมพจน์ พุทธ ส่องแสงจินดา และสมบุญ หลาวประเสริฐ. 2002 (2545). แนวทางการจัดการสิ่งแวดล้อม ในฟาร์มกุ้งทะเลตามแนวจรรยาบรรณการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำอย่างมีความรับผิดชอบ. วารสารการประมง 55(1): 21-25.

สุปราณี ชินบุตร เต็มดวง สมศิริ และพรเลิศ จันทรรักษ์กุล. 2002(2545). ยาและสารเคมีเพื่อการป้องกันและรักษาโรคสัตว์น้ำ สถาบันวิจัยสุขภาพสัตว์ กรมประมง: 10.

Balint, T., Szeglets, T., Szeglets, Z., Halasy, K. and Nemcsok, J. 1995. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorus methidathion and the pyrethroids deltamethrin. *Aquatic Toxicol.* 33: 279-295.

Bogitsh, B.J., Middleton, O.L. and Ribeiro-Rodrigues, R. 1999. Effects of the antitubulin drug trifluralin on the proliferation and metacyclogenesis of *Trypanosoma cruzi* epimastigotes. *Parasitol. Res.* 85: 475-480.

Chan, M.M.Y. and Fong, D. 1990. Inhibition of leishmania but not host macrophages by the antitubulin herbicide trifluralin. *Science.* 249: 924-926.

Chan, M.M.Y., Groggl, M., Chen, C.C., Bienen, E.J. and Fong, D. 1993. Herbicides to curb human parasitic infections: in vitro and in vivo effects of trifluralin on the trypanosomid protozoans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 5657-5661.

Couch, J. A. 1984. Histopathology and enlargement of pituitary of a teleost exposed to the herbicide trifluralin. *J. Fish Dis.* 7: 157-163.

Couch, J.A., Winstead, J.T., Hansen, D.J. and Goodman, L.R. 1979. Vertebral dysplasia in young fish exposed to the herbicide trifluralin. *J. Fish Dis.* 2: 35-42.

Ebert, E., Leist, K.H., Hack, R. and Ehling, G. 1992. Toxicology and hazard potential of trifluralin. *Food Chem. Toxicol.* 30(12): 1031-1044.

Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* 7: 88-95.

Fernandez-Vega, C., Sancho, E., Ferrando, M.D. and Andreu-Moliner, E. 2002. Thiobencarb induced changes in acetylcholinesterase activity of fish *Anguilla anguilla*. *Pestic. Biochem. Physio.* 72(1): 55-63.

Gerdner, C., and Northam, M. 1997. Use of prophylactic treatments for larval rearing of giant crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture.* 158: 203-214.



- Halbrook, R.S., Sh L.R., Watson. A.P., Munro, N.B. and Linnabary, R.D. 1992. Characterizing biological variability in livestock blood cholinesterase activity to biomonitoring organophosphate nerve agent exposure. J. Vet. Med. Assoc. 201: 714-725.
- Hassanein, H.M.A. 2002. Toxicological effects of herbicide oxyfluofen on acetylcholinesterase in two fish species: *Oreochromis niloticus* and *Gambusia affinis*. J. Environ. Sci. Health. Part A, Toxic/Hazardous substances and environment engineering. 37(4): 521-527.
- Lee, R. 2002. Trifluralin. Lakes Environmental Software. [Online], Available: <http://www.weblakes.com/toxic/TRIFLURALIN.HTML>
- Nomix-Chipman. 1999. Nomix-Chipman Material Safety Data Sheet-Premiere Granules. Nomix Chipman. [Online], Available : [http://www.nomix.co.uk/profess/material/MSDS/premiere\\_granule.html](http://www.nomix.co.uk/profess/material/MSDS/premiere_granule.html)
- Reddy, P.S. and Rao, K.V.R. 1990. Methylparathion induced alterations in the acetylcholinesterase and phosphatases in a Penaeid prawn, *Metapenaeus monoceros*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 19: 47-54.
- Ware, W.G. 1991. Fundamental of pesticide. 3<sup>rd</sup> ed, USA. Thompson. 115-116.
- Wongtavatchai, J., Subhachalat, P., Panichkriangkrai, W., and Tangtrongpiroj, J. 2000. Acetylcholinesterase activity as a biomarker for organophosphate pesticide contamination in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Proceeding of the Regional Conference on Consumer Safety and Residues in Animal Products. Chiangmai, July 26-28: 118-122.