



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิวชวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila* spp.) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย (Distribution and effects of heavy metals on feeding behavior and histology of digestive system in *Pomacea canaliculata*) and *Pila* spp. in the Eastern region of Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

นางศศิธร มั่นเจริญ

นางจิรารัช กิตนะ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 256101A1080020

สัญญาเลขที่ 114/2561

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila* spp.) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกของประเทศไทย (Distribution and effects of heavy metals on feeding behavior and histology of digestive system in *Pomacea canaliculata*) and *Pila* spp. in the Eastern region of Thailand)

นางสาวจันทิมา ปิยะพงษ์

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

นางศศิธร มั่นเจริญ

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

นางจิรารัช กิตนะ

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

หอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) ถูกจัดเป็นชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานในประเทศไทย และมีผลต่อการลดลงของจำนวนประชากรหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila spp*) โดยหอยเชอรี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ความเป็นพิษของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมอาจส่งผลกระทบต่อการทำงานของพฤติกรรมต่าง ๆ และพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหอย ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*P. pesmei*) ที่ได้รับตะกั่วซึ่งเป็นโลหะหนักที่ใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาครั้งนี้ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (0.05 0.5 และ 5 ppm) จากผลการศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่าหอยเชอรี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ผลการศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารพบว่าหอยเชอรี่มีการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวน้อยกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองแต่มีจำนวนเซลล์เบซิฟิลิกและแกรนูโลสิซึมมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ส่วนเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอรี่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวคัสมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ผลการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดพบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน อย่างไรก็ตามผลการศึกษาพบว่าหอยเชอรี่มีความทนทานต่อสารละลายตะกั่ว ในขณะที่หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองสะสมสารละลายตะกั่วในเนื้อเยื่อได้สูง ดังนั้นหอยทั้ง 2 ชนิดนี้อาจถูกใช้เป็นแนวทางในการศึกษาหอยฝาเดียวน้ำจืดทั้ง 2 ชนิดเพื่อใช้เป็นสัตว์ต้นแบบในการติดตามและเฝ้าระวังผลกระทบจากการปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมได้

Abstract

The golden apple snails (*Pomacea canaliculata*) are invasive alien species in Thailand. They have an effect on population decline in the native apple snails (*Pila* spp.). *P. canaliculata* show feeding behavior and environmental tolerance more than *Pila* spp. The toxicity of heavy metals in the environment could be affected by behavioral response and histopathology of snail tissues. Therefore, this study aimed to compare the relationship between feeding behavior and histopathology of digestive system in *P. canaliculata* and *P. pesmei* exposed to different lead (as a model heavy metal) concentrations (0.05, 0.5, and 5 ppm). The results in the laboratory revealed that *P. canaliculata* fed significantly more than *P. pesmei*. The results of histopathology of digestive gland showed that there was epithelial degeneration in *P. canaliculata* significantly less than in *P. pesmei* but there was increase in the number of basophilic cell and dark granule in *P. canaliculata* more than in *P. pesmei*. The results of esophagus showed that there was increase in the number of mucous cell in *P. canaliculata* significantly more than in *P. pesmei*. When comparing the relationship between feeding behavior and histopathology of digestive system in each species, they were not related to each other. However, the results showed that *P. canaliculata* were tolerant to lead while there was high accumulation of lead in tissues of *P. pesmei*. Therefore, both species could be used as a guideline for freshwater gastropods as models for monitoring the impact of lead contamination in the environment.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 มหาวิทยาลัยบูรพา ผ่านสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ เลขที่สัญญา 114/2561

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บุคลากร เจ้าหน้าที่ และนิสิต ภาควิชาชีววิทยาและภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยเฉพาะนางสาวกรองทอง ตั้งสิทธิ ที่มีส่วนร่วมในการเก็บข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และจัดพิมพ์รายงาน รวมทั้ง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี ที่วิเคราะห์โลหะหนัก

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณผู้มีพระคุณที่ไม่ได้เอ่ยนามที่มีส่วนร่วมให้ความช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญเรื่อง

| เนื้อหา | หน้า |
|--|------|
| บทคัดย่อ..... | ข |
| Abstract | ค |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ง |
| สารบัญเรื่อง..... | จ |
| สารบัญตาราง..... | ฉ |
| สารบัญภาพ..... | ช |
| บทนำ..... | 1 |
| ความสำคัญและที่มาของปัญหา..... | 1 |
| วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... | 2 |
| ขอบเขตของการวิจัย..... | 2 |
| แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย..... | 3 |
| ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... | 3 |
| อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย..... | 5 |
| ผลการศึกษา..... | 16 |
| สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา..... | 37 |
| บรรณานุกรม..... | 48 |

สารบัญตาราง

| ตารางที่ | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 1 ขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อหลอดอาหารด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและกรดเพอริโอไดคซิฟฟ์ | 12 |
| ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 25 |
| ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 32 |
| ตารางที่ 4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 34 |
| ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยปริมาณตะกั่วในตัวอย่างสารละลายตะกั่ว เนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วแต่ละระดับความเข้มข้นในห้องปฏิบัติการ (Mean ± SE) (n=2) | 35 |
| ตารางที่ 6 อัตราการสะสมทางชีวภาพและปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพของเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ (n=2) | 36 |

สารบัญญภาพ

| ภาพที่ | หน้า |
|--|------|
| ภาพที่ 1 แผนที่แสดงพิกัดพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ต.อิงออง อ.จตุรพักตรพิมาน จ.ร้อยเอ็ด (Google Maps, 2019) | 8 |
| ภาพที่ 2 ตู้ทดลองพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับ ตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 9 |
| ภาพที่ 3 แผนภูมิบ็อกซ์พลอทค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันกิน | 17 |
| ภาพที่ 4 แผนภูมิบ็อกซ์พลอทค่าเฉลี่ยน้ำหนักเฉพาะเนื้อหอย (ก) ความสูงเปลือกและความกว้างเปลือก (ข) หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน | 18 |
| ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ย้อมด้วยสี H&E | 21 |
| ภาพที่ 6 แผนภูมิบ็อกซ์พลอท (ก) การเสียหายเนื้อเยื่อบุผิว (ข) จำนวนเซลล์เบโซฟิลิคต่อพื้นที่ (ค) จำนวนแกรนูโลสิซึมต่อพื้นที่ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 24 |
| ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ย้อมด้วยสี H&PAS | 28 |
| ภาพที่ 8 แผนภูมิบ็อกซ์พลอท (ก) การเสียหายเนื้อเยื่อบุผิว (ข) การเพิ่มจำนวนเซลล์มิวคัส (ค) การสูญเสียซิเลีย (ง) การเสียหายเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ | 31 |

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันโลกกำลังถูกทำลายด้วยปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม อันเป็นผลมาจากจำนวนประชากรที่เพิ่มสูงขึ้นและเทคโนโลยีที่ก้าวหน้า จึงทำให้เกิดการสูญเสียทรัพยากรธรรมชาติและเกิดปัญหามลพิษของสิ่งแวดล้อมอย่างมาก โดยปัญหาที่โลกกำลังเผชิญอยู่เช่น ความเสื่อมโทรมของทรัพยากรธรรมชาติ การเกิดมลพิษทั้งในระบบนิเวศน้ำจืดและทะเล การสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพและการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศโลก จากที่กล่าวแล้วข้างต้น มลพิษนี้ยังรวมถึงโลหะหนักที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมด้วย การเฝ้าระวังและติดตามปัญหามลพิษนี้เช่น การศึกษาทางชีววิทยาเช่นมิวชีววิทยาหรือพฤติกรรมจึงมีความจำเป็น

เป็นที่ทราบทั่วกันว่าภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยเฉพาะในเขตจังหวัดระยอง ชลบุรี และฉะเชิงเทรา จัดเป็นพื้นที่ที่มีทั้งแหล่งอุตสาหกรรม เกษตรกรรมและท่องเที่ยวทางธรรมชาติอยู่ร่วมกัน ซึ่งเป็นพื้นที่ที่เป็นแหล่งเศรษฐกิจสำคัญในลำดับต้นๆ ของประเทศไทย สามารถนำเม็ดเงินจำนวนมากมายังประเทศ อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อพื้นที่ใดที่มีความเจริญไม่ว่าจะเป็นทางด้านเศรษฐกิจ หรืออุตสาหกรรม พื้นที่เหล่านี้มักจะพบปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมตามมา ซึ่งในพื้นที่บริเวณเขตจังหวัดระยอง ชลบุรีและฉะเชิงเทราก็เช่นเดียวกัน

การศึกษาที่ผ่านมาในอดีตเกี่ยวกับการปนเปื้อนหรือการสะสมของมลพิษ พบว่าการศึกษาการปนเปื้อน หรือการสะสมของมลพิษ โดยเฉพาะโลหะหนักในสิ่งมีชีวิตต่างๆ สามารถถูกใช้เพื่อเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำ หรือที่รู้จักกันในชื่อ “Bio-monitoring” ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของโลหะในแหล่งน้ำ และที่สะสมในเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิตเหล่านี้สามารถใช้เป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำ เพื่อเป็นแนวทางในการติดตามและเฝ้าระวังปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อมได้ นอกจากการใช้เนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตบางชนิดเป็นดัชนีชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้แล้ว พฤติกรรมสามารถถูกใช้เป็นตัวชี้วัดได้เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามพบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับพฤติกรรมของสัตว์เพื่อใช้ในเรื่องนี้น้อยมากในประเทศไทย ทั้ง ๆ ที่การทดสอบความเป็นพิษทางพฤติกรรมนั้นมีต้นทุนที่ต่ำและเป็นวิธีการที่สามารถตรวจพบผลความเป็นพิษร่องรอยพลันของของโลหะหนักและสามารถพัฒนาเป็นตัวชี้วัดคุณภาพของแหล่งน้ำได้ (Døving, 1991; Scott & Sloman, 2004)

หอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) เป็นชนิดพันธุ์หนึ่งซึ่งถูกจัดเป็น ชนิดพันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานแล้วในประเทศไทย (ชวลิต วิทยานนท์, 2549) จากข้อมูลของทีมผู้วิจัยที่ทำการศึกษานี้เมื่อไม่นานมานี้ในห้องปฏิบัติการพบว่า หอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) และในการสำรวจภาคสนามเบื้องต้นในพื้นที่ภาคตะวันออกไม่ค่อยพบหอยโข่งพันธุ์

พื้นเมืองในขณะที่หอยเชอรี่ถูกพบได้ทั่วไปรวมทั้งในแหล่งน้ำที่มีปัญหามลพิษ เป็นไปได้ว่าหอยเชอรี่อาจมีแนวโน้มที่มีความทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่าง ๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง จึงทำให้หอยเชอรี่ประสบความสำเร็จในการรุกรานชนิดพันธุ์พื้นเมือง (Chapple et al., 2012)

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักบางชนิดต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งซึ่งเป็นสัตว์ต้นแบบ จากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้หอยเชอรี่และหอยโข่งเป็นสัตว์ต้นแบบเพื่อเฝ้าระวังผลกระทบจากโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมผ่านการศึกษากายวิภาคศาสตร์ซึ่งมีต้นทุนในการวิจัยต่ำและสอดคล้องกับแนวคิดปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียงเพื่อสร้างองค์ความรู้ในการดูแลรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมและควบคุมปัญหาพิษอย่าง เป็นรูปธรรมที่เหมาะสมตามศักยภาพของท้องถิ่นด้วยหลักการทางวิทยาศาสตร์

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- เพื่อศึกษาการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila* spp.) ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงของประเทศไทย (ปีงบประมาณ 2560-2561)
- เพื่อวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิด ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม เหล็ก สังกะสี นิกเกิล และทองแดง ในพื้นที่ศึกษาและในห้องปฏิบัติการ โดยใช้เทคนิคที่อาศัยหลักการวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้า (ปีงบประมาณ 2560)
- เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila* spp.) ที่ได้รับโลหะหนัก (ปีงบประมาณ 2561)

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีขอบเขตในการศึกษา 2 ประเด็น คือ

ขอบเขตเชิงเนื้อหา แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ

- 1) การศึกษาภาคสนาม ซึ่งจะทำการศึกษาข้อมูลพื้นฐานพื้นที่ที่ทำการเก็บตัวอย่างหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอรี่เพื่อประเมินสถานภาพการกระจายของหอยดังกล่าวในจังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยองแบ่งออกเป็น 4 พื้นที่คือ พื้นที่ธรรมชาติ พื้นที่เกษตรกรรม พื้นที่ชุมชนและพื้นที่อุตสาหกรรม หลังจากนั้นทำการเก็บตัวอย่าง น้ำ ดินและหอยเพื่อมาทำการ

วิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยเทคนิคทางเคมีไฟฟ้าและศึกษามิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของตัวอย่างหอยที่ได้จากภาคสนาม

2) การศึกษาในห้องปฏิบัติการ เป็นการศึกษาความเป็นพิษรองเฉียบพลันของโลหะหนักต่อการศึกษาพฤติกรรมการกิน รวมทั้งการวิเคราะห์พยาธิสภาพของเซลล์หอยและปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อหอย

2. ขอบเขตเชิงพื้นที่ พื้นที่ที่ใช้ในการศึกษา คือ 3 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงใต้แก่ ฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยอง

แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

ความทนทานต่อสารมลพิษในสิ่งแวดล้อมของชนิดพันธุ์ต่างถิ่นน่าจะมีความทนทานมากกว่า ดังนั้นหอยเชอรี่ทนทานต่อสารมลพิษ เช่น โลหะหนักต่างๆ ในสิ่งแวดล้อมได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองโดยคาดการณ์ว่ามีความแตกต่างระหว่างมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารและพฤติกรรมการกินระหว่างหอยโข่งและหอยเชอรี่ นอกจากนี้แนวคิดของโครงการวิจัยนี้คือต้องการสร้างองค์ความรู้ในการใช้การศึกษาทางพฤติกรรมซึ่งมีต้นทุนต่ำเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพ โดยการสำรวจพื้นที่การแพร่กระจายของหอยโข่งและหอยเชอรี่ในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงใต้ครอบคลุมพื้นที่ธรรมชาติ เกษตรกรรม ชุมชนและอุตสาหกรรม ทำการเก็บตัวอย่าง น้ำ ดินและหอยเพื่อนำมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของโลหะหนักด้วยเทคนิคทางไฟฟ้าและนำหอยจากภาคสนามมาศึกษามิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหาร ในห้องปฏิบัติการทำการศึกษาพิษรองเฉียบพลันของโลหะหนักที่มีผลต่อพฤติกรรมการกินของหอยตามด้วยการศึกษาถึงพยาธิสภาพของเซลล์และวิเคราะห์หาโลหะหนักที่ตกค้างในเนื้อเยื่อหอย วิเคราะห์ผลและเปรียบเทียบเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้หอยโข่งและหอยเชอรี่เป็นสัตว์ต้นแบบเพื่อเฝ้าระวังผลกระทบจากโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมต่อพฤติกรรมการกิน รวมทั้งเผยแพร่และถ่ายทอดองค์ความรู้ โ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ทราบการแพร่กระจายและผลของโลหะหนักต่อพฤติกรรมการกินและมิถุนวิทยาของระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่ง (*Pila spp.*) ในเขตพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา ชลบุรีและระยอง
- ทราบความสัมพันธ์ของปริมาณโลหะหนักในเนื้อเยื่อระหว่างหอยโข่งและหอยเชอรี่

- ทราบเทคนิคการวิเคราะห์ห้ปริมาณโลหะหนักโดยเทคนิคเคมีไฟฟ้าที่อาจจะพัฒนาเป็นชุดทดสอบภาคสนาม (Portable kit) ได้
- ทราบการตอบสนองทางพฤติกรรมต่อปริมาณโลหะหนักของหอยโข่งและหอยเชอรี่
- ทราบการทดสอบความเป็นพิษทางพฤติกรรมในหอยที่อาจจะพัฒนาเป็นเครื่องมือเพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพในแหล่งน้ำได้
- นำผลการวิจัยเผยแพร่ต่อชุมชนและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป
- ได้ผลงานตีพิมพ์ในวารสารทางวิชาการระดับนานาชาติซึ่งอยู่ในฐานข้อมูล ISI อย่างน้อย 1 เรื่อง และอยู่ในฐาน TCI อย่างน้อย 1 เรื่อง
- สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่มีสติปัญญาโท 1 คน คือ นางสาวกรองทอง ตั้งสิทธิ

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์

1. ตู้อบ (Hot air oven)
2. เครื่องควบคุมความร้อน (Hot plate)
3. เครื่องตัดเนื้อเยื่อ (Rotary microtome, HM 360, Kinetics corporation., LTD)
4. เครื่องเตรียมชิ้นเนื้อเยื่ออัตโนมัติ (Automatic tissue processor)
5. เครื่องอุ่นแผ่นสไลด์ (Slide warmer)
6. กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscopy, Olympus; BX51)
7. เครื่องตรวจวัดคุณภาพน้ำแบบหลายพารามิเตอร์ (Multi-parameter YSI 81)
8. เครื่องตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH Metter Toledo)
9. กล้องถ่ายภาพดิจิทัล (Digital camera, Olympus; Series DP22)
10. ตู้ทดสอบขนาด 30x30x30 เซนติเมตร
11. บ่อซีเมนต์ขนาด 70x70x35 เซนติเมตร
12. ขวดใส่ตัวอย่าง
13. แม่พิมพ์ (Embedding mold)
14. Embedding ring
15. สไลด์ (Microscope slide)
16. กระจกปิดสไลด์ (Cover slip)
17. ภาชนะใส่สีย้อม (Staining jar)

สารเคมี

1. เกล็ดไนเตรต (Lead nitrate; $Pb(NO_3)_2$)
2. กรดพิคริก (Picric acid; $C_6H_2(NO_3)_3OH$)
3. ฟอรัมาลดีไฮด์ (Formaldehyde; CH_2O)
4. ไชลีน (Xylene; $C_6H_4(CH_3)_2$)
5. เอทานอล (Ethanol; C_2H_6O)
6. น้ำกลั่น (Distilled water; H_2O)
7. ไดออกเซน (Dioxane; $C_4H_8O_2$)
8. พาราพลาสต์ (Paraplast)

9. กลีเซอรอล (Glycerol; $C_3H_8O_3$)
10. ผงถ่าน (Activated charcoal; C)
11. เจลาติน (Gelatin)
12. อะลูมิเนียมโพแทสเซียมซัลเฟต (Aluminum potassium sulfate; $AlK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$)
13. โซเดียมไอโอเดท (Sodium iodate; $NaIO_3$)
14. โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium metabisulfite; $Na_2S_2O_5$)
15. กรดอะซิติก (Acetic acid; $C_2H_4O_2$)
16. กรดไนตริก (Nitric acid; HNO_3)
17. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl)
18. สีฮีมาทอกไซลิน (Hematoxylin; $C_{16}H_{14}O_6$)
19. สีอีโอซินวาย (Eosin Y; $C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$)
20. กรดเพอริโอดิก (Periodic acid; H_5IO_6)
21. เบสิกฟูซิน (Basic fuchsin; $C_{19}H_{17}N_3 \cdot HCl$)
22. เอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ (N-Butyl alcohol; $CH_3(CH_2)_2CH_2OH$)
23. เพอร์เม้าท์ (Permout)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1 การเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

1.1 การกำหนดค่าความเข้มข้นของตะกั่วเพื่อใช้ในการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารและการศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในห้องปฏิบัติการ ค่าความเข้มข้นของตะกั่วในการศึกษาครั้งนี้กำหนดจากการทบทวนเอกสารงานวิจัยก่อนหน้าที่ทำการศึกษาค่าความเข้มข้นของตะกั่วที่ทำให้หอยตายจำนวนครึ่งหนึ่ง (LC_{50}) ซึ่งอ้างอิงงานวิจัยที่ศึกษาในกลุ่มหอยฝาเดียว (Gastropod) จากงานวิจัยของ Shuhaimi-Othman et al. (2012) ที่ศึกษาพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity) ของตะกั่ว ระยะเวลา 96 ชั่วโมงในหอยฝาเดียวน้ำจืด (Freshwater snails) ชนิด *Melanoides tuberculata* ที่เก็บจากแหล่งน้ำ งานวิจัยของ Pyatt et al. (2002) ที่ศึกษาพิษเฉียบพลันของตะกั่ว ระยะเวลา 72 ชั่วโมงต่อพฤติกรรมการกินอาหารในหอย

ฝาดิยวน้ำจืดชนิด *Lymnaea stagnalis* ที่เก็บจากแหล่งน้ำปนเปื้อนและไม่ปนเปื้อนตะกั่วและงานวิจัยของ Amusan et al. (2002) ที่ศึกษาผลของตะกั่วต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทากบกชนิด *Limicolaria flammea* ที่เก็บจากพื้นที่ธรรมชาติ รวมถึงค่ามาตรฐานที่กรมควบคุมมลพิษกำหนดเกณฑ์ไว้เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามการแบ่งประเภทคุณภาพน้ำในการใช้ประโยชน์ (กรมควบคุมมลพิษ, 2553) รวมถึงจากการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างน้ำและตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ที่พบในธรรมชาติ

1.2 การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

1.2.1 เก็บตัวอย่างหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจากพื้นที่นาข้าว โครงการ 60 พรรษาสยามบรมราชกุมารี 60 เขตปฐพี พัฒนาการอย่างยั่งยืน ต.อีง่อง อ.จตุรพักตรพิมาน จ.ร้อยเอ็ด (15°47'24.6"N 103°32'35.1"E) ซึ่งเป็นพื้นที่ที่พบหอยทั้ง 2 ชนิดอยู่ร่วมกัน (ภาพที่ 1) ในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2560

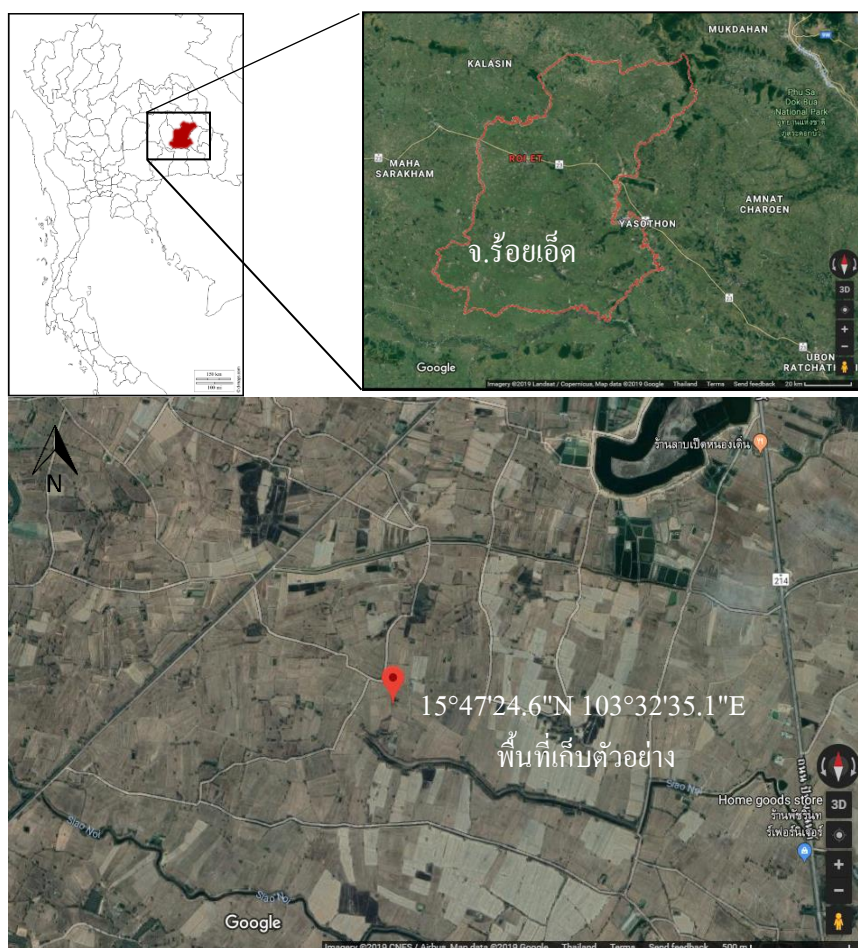
1.2.2 จากนั้นนำหอยทั้ง 2 ชนิดมาเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ขนาด 70x70x35 เซนติเมตร เพื่อปรับสภาพก่อนการทดลองเป็นเวลา 2 เดือน ณ บริเวณภายนอกอาคารวิทยาศาสตร์ชีวภาพ มหาวิทยาลัยบูรพา โดยที่เลี้ยงหอยทั้ง 2 ชนิดรวมในบ่อเดียวกัน ซึ่งเลี้ยงหอย 22 ตัวต่อชนิด รวมจำนวนหอยทั้งหมด 44 ตัวต่อบ่อ ระหว่างการปรับสภาพทำการให้ผักกาดหอม (*Lactuca sativa*) เพื่อเป็นอาหารสำหรับหอย วันละ 1 ครั้ง ในเวลาประมาณ 17.00 นาฬิกา ทำการคัดเลือกหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 40 ตัวต่อชนิด ที่มีความสูงของเปลือกอยู่ระหว่าง 35.3-51.9 มิลลิเมตร

1.2.3 เตรียมสารละลายตะกั่วจากเลดไนเตรต ($Pb(NO_3)_2$) ความเข้มข้นตะกั่ว 1,000 ppm และเจือจางสารละลายตะกั่วเป็น 3 ความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่น ได้แก่ 0.05 0.5 และ 5 ppm สำหรับกลุ่มควบคุมใช้เฉพาะน้ำกลั่น โดยใส่สารละลายตะกั่วความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 3,000 มิลลิกรัม ในตู้ทดลองขนาด 30x30x30 เซนติเมตร ทำการทดลองความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ซึ่งการออกแบบการทดลองเป็นแบบแฟคทอเรียล 2 ปัจจัย คือ สมมติฐานของการวิจัยนี้สนใจศึกษาความแตกต่างของปัจจัย 2 ปัจจัย ได้แก่ ชนิดของหอย ความเข้มข้นของตะกั่วต่อพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด

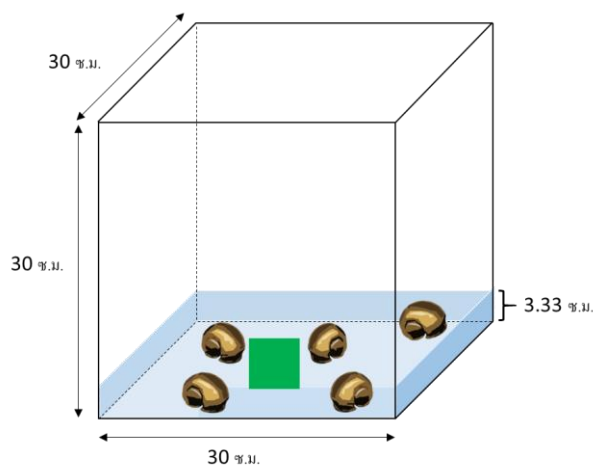
1.2.4 นำหอยทั้ง 2 ชนิดใส่ในตู้ทดลองชนิดละ 5 ตัวต่อความเข้มข้น โดยเลือกหอยที่มีความสูงและความกว้างของเปลือกใกล้เคียงกันในทุกความเข้มข้น งดให้อาหารหอยก่อนเริ่มการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเริ่มการทดลองเพื่อศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยในเวลา 17.00 นาฬิกา โดยใส่ผักกาดหอม (Bae & Park, 2015) ขนาด 5x5 เซนติเมตร

จำนวน 1 ใบ ที่ทำการชั่งและจดบันทึกน้ำหนักสดไว้ก่อนให้หอยกินในแต่ละตู้ทดลอง ตู้ทดลอง แสดงดังภาพที่ 2 ทำการสังเกตและจดบันทึกพฤติกรรมการกินอาหารของหอยในเวลา 1 ชั่วโมงแรก ที่ให้หอยกินอาหาร ต่อมาทำการตรวจสอบปริมาณอาหารที่หอยกินในเวลา 7.00 นาฬิกา สังเกตและ จดบันทึกพฤติกรรมของหอยอีกครั้ง ทำการชั่งและจดบันทึกน้ำหนักสดของอาหารที่หอยกินเหลือ สุดท้ายคำนวณร้อยละการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ได้ดังสมการข้างล่างนี้ โดยทำการสังเกต พฤติกรรมการกินอาหารของหอยซ้ำตามที่กล่าวมาอีก 3 ครั้งรวมเป็นเวลาทั้งหมด 96 ชั่วโมง

$$\text{ร้อยละการกินอาหารของหอย} = \frac{100 \times (\text{น้ำหนักอาหารก่อนกิน} - \text{น้ำหนักอาหารหลังกิน})}{\text{น้ำหนักอาหารก่อนกิน}}$$



ภาพที่ 1 แผนที่แสดงพิกัดพื้นที่ที่เก็บตัวอย่างหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ต.อีงอง อ.จตุรพักตรพิมาน จ.ร้อยเอ็ด (Google Maps, 2019)



ภาพที่ 2 ตู้ทดลองพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

1.3 การศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

1.3.1 หลังจากการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างหอยจากสารละลายตะกั่วแต่ละความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ตัวอย่าง มาศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อระบบทางเดินอาหาร (ดูข้อ 1.3.3 ประกอบ) โดยทำการผ่าเพื่อแยกเนื้อเยื่อหอยออกจากเปลือกและล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วทำการผ่าแยกเนื้อเยื่อ 2 เนื้อเยื่อ ได้แก่ เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหาร

1.3.2 ตัดเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารที่อยู่ในวงเปลือก (Whorl) 2 ส่วน คือ ส่วนต้นที่ติดกับกระเพาะอาหารและส่วนปลายที่มีต่อมสร้างเซลล์สืบพันธุ์ (Gonad) ติดอยู่ ให้ชิ้นเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารมีขนาดไม่เกิน 5 มิลลิเมตร และตัดเนื้อเยื่อหลอดอาหารที่อยู่ใน Buccal mass 2 ส่วน คือ ส่วนต้นที่มีต่อมน้ำลาย (Salivary gland) ติดอยู่และส่วนปลายที่ติดกับกระเพาะอาหารตามขวาง ให้ชิ้นเนื้อเยื่อหลอดอาหารมีขนาดไม่เกิน 5 มิลลิเมตร นำชิ้นเนื้อเยื่อทั้งหมดแช่ในน้ำยารักษาสภาพ Davidson's fixative เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ต่อมาล้างน้ำยารักษาสภาพออกด้วยแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% เป็นจำนวน 3-5 ครั้ง จากนั้นเก็บรักษาเนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 70% ก่อนทำขั้นตอนต่อไป

1.3.3 ทำการคิ่งน้ำออกจากเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารด้วยวิธีแอลกอฮอล์ซีรีส์ส์ (เอทานอลความเข้มข้น 90%, 95% และ 95% ขึ้นตอนละ 1 ชั่วโมง) ต่อจากนั้น

นำเนื้อเยื่อแช่ในสารละลายเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเนื้อเยื่อแช่ในสารละลายไซลีนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สารละลายไซลีนต่อพาราฟลาสต์อัตราส่วนหนึ่งต่อหนึ่งเป็นเวลา 1 ชั่วโมงและแช่เนื้อเยื่อลงในพาราฟลาสต์ 2 ครั้ง (ครั้งที่ 1 แช่เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ครั้งที่ 2 แช่เป็นเวลา 30 นาที) ขั้นตอนที่กำลังมาข้างต้นทำในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วนำเนื้อเยื่อมาฝังลงในพาราฟลาสต์ ในขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อเกิดความผิดพลาดในการหาสภาวะที่เหมาะสมในการฝังเนื้อเยื่อลงพาราฟลาสต์ ทำให้เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารหอยทั้ง 2 ชนิดจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดสอบเกิดความเสียหายความเข้มข้นละ 1 ตัวอย่าง ดังนั้นจำนวนตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยจากสารละลายตะกั่วแต่ละความเข้มข้นที่ใช้ศึกษาจึงเหลือความเข้มข้นละ 9 ตัวอย่าง

1.3.4 ทำการตัดเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารให้เนื้อเยื่อมีความหนา 7 ไมโครเมตรด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ แล้วย้อมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและอีโอซินวาย (Hematoxylin and Eosin Y; H&E) (Kruatrachue et al., 2011) เพื่อศึกษาองค์ประกอบเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร

1.3.5 ศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและสไลด์ที่ย้อมสีแล้วของหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้นเนื้อเยื่อละ 3 สไลด์ จากเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร 2 ส่วน (n=6) เพื่อถ่ายภาพเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร จากนั้นทำการสั่มภาพที่มีกำลังขยาย 400 เท่า จำนวน 5 ภาพจากแต่ละสไลด์ ทั้งหมด 6 สไลด์ (n=30) เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร (Arrighetti, Ambrosio, Astiz, Capítulo, & Lavarías, 2018)

1.3.6 ทำการนับจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและแกรนูโลสิเข้มในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารในพื้นที่เนื้อเยื่อบุผิวทั้งหมดเท่ากับ 0.095 ตารางมิลลิเมตร จากภาพเนื้อเยื่อทั้งหมดที่กำลังมาข้างต้นด้วยโปรแกรม ImageJ (Papadopoulos et al., 2007) ต่อมาทำการคำนวณค่าเฉลี่ยจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและแกรนูโลสิเข้มต่อพื้นที่เนื้อเยื่อบุผิว 1 ตารางมิลลิเมตร (Klobucar et al., 2001)

1.3.7 ทำการศึกษาการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารที่พบการเกิดช่องว่างของเซลล์ย่อยอาหารจากตัวอย่างหอยชนิดละ 9 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 6 สไลด์ (n = 54) จุดบันทึกจำนวนสไลด์ที่พบการเกิดช่องว่างของเซลล์ย่อยอาหาร โดยการระบุระดับการเสียหายของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร โดยการให้คะแนนทำได้ดังนี้ 0 คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (พบการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนที่จำนวนสไลด์น้อยกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) ++ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงปานกลาง (พบการเปลี่ยนแปลง

อย่างชัดเจนที่จำนวนสไลด์ระหว่างร้อยละ 25 ถึง 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) + + + คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก (พบการเปลี่ยนแปลงชัดเจนที่จำนวนสไลด์มากกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) การระบุระดับการเสียดทานของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร โดยการให้คะแนนตัดแปลงจากงานวิจัยของ Arrighetti et al. (2018)

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการเตรียมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

| ขั้นตอน | เวลา |
|--|------------|
| 1. แช่เนื้อเยื่อในสารละลาย Davidson's fixative | 24 ชั่วโมง |
| 2. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 70% | 3-5 ครั้ง |
| 3. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 90% | 1 ชั่วโมง |
| 4. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 95% I | 1 ชั่วโมง |
| 5. แช่เนื้อเยื่อในเอทานอลความเข้มข้น 95% II | 1 ชั่วโมง |
| 6. แช่เนื้อเยื่อในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ | 1 ชั่วโมง |
| 7. แช่เนื้อเยื่อในไซลีน | 1 ชั่วโมง |
| 8. แช่เนื้อเยื่อในไซลีนต่อพาราพลาสติก (1:1) | 1 ชั่วโมง |
| 9. แช่เนื้อเยื่อในพาราพลาสติก I | 1 ชั่วโมง |
| 10. แช่เนื้อเยื่อในพาราพลาสติก II | 30 นาที |
| 11. ผึ่งเนื้อเยื่อลงในพาราพลาสติก | |
| 12. ตัดเนื้อเยื่อตามขวางให้มีความหนา 7 ไมโครเมตร | |
| 13. ติดเนื้อเยื่อบนสไลด์ด้วยสารละลายเจลาติน | |
| 14. วางสไลด์เนื้อเยื่อบนเครื่องอุ่นสไลด์ | 24 ชั่วโมง |

ตารางที่ 1 ขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อหลอดอาหารด้วยสีฮีมาทอกไซลินและกรดเพอริโอติกซึฟฟ์

| ขั้นตอน | เวลา |
|--|------------|
| 1. แช่สไลด์ในไซลีน I | 5 นาที |
| 2. แช่สไลด์ในไซลีน II | 5 นาที |
| 3. แช่สไลด์ในเอทานอล 100% I | 5 นาที |
| 4. แช่สไลด์ในเอทานอล 90% | 5 นาที |
| 5. แช่สไลด์ในเอทานอล 70% I | 5 นาที |
| 6. แช่สไลด์ในน้ำกลั่น | 5 นาที |
| 7. แช่สไลด์ในกรดเพอริโอติก | 5 นาที |
| 8. แช่สไลด์ในน้ำกลั่น | 10 วินาที |
| 9. แช่สไลด์ในสารละลายซึฟฟ์ | |
| 10. แช่สไลด์ในน้ำปะปาที่ไหลผ่านตลอด | 10 นาที |
| 11. ย้อมเนื้อเยื่อด้วยสีฮีมาทอกไซลิน | |
| 12. แช่สไลด์ในน้ำปะปาที่ไหลผ่านตลอด | 10 นาที |
| 11. แช่สไลด์ในเอทานอล 95% | 5 นาที |
| 12. แช่สไลด์ในเอทานอล 100% II | 5 นาที |
| 13. แช่สไลด์ในเอทานอล 100% III | 10 นาที |
| 14. แช่สไลด์ในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ I | 5 นาที |
| 15. แช่สไลด์ในเอ็น-บิวทิลแอลกอฮอล์ II | 10 นาที |
| 16. แช่สไลด์ในไซลีน III | 5 นาที |
| 17. แช่สไลด์ในไซลีน IV | 5 นาที |
| 18. หยอดเปอร์เม้าท์บนสไลด์แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ | |
| 19. นำแผ่นสไลด์วางบนเครื่องอุ่นสไลด์ | 24 ชั่วโมง |
| 20. นำสไลด์ไปศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง | |

1.3.8 ทำการตัดเนื้อเยื่อหลอดอาหารตามขวางให้เนื้อเยื่อมีความหนา 7 ไมโครเมตรด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อ และทำการย้อมเนื้อเยื่อหลอดอาหารด้วยสีอีมีมาทอกไปซาลินกับกรดเพอริโอดิกชิฟฟ์ (Periodic acid - Schiff; PAS) (Dumme et al., 2012) เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเซลล์ในเนื้อเยื่อ โดยขั้นตอนการย้อมสีเนื้อเยื่อหลอดอาหารแสดงดังตารางที่ 1

1.3.9 ศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงและถ่ายภาพเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ตามหัวข้อ 1.3.5

1.3.10 ศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารทำการวิเคราะห์การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว การเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยสังเกตจากการพบช่องว่างในเนื้อเยื่อบุผิวและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ทำการจดบันทึกจำนวนสไลด์ที่พบการเสียหายดังกล่าว การสุ่มจำนวนภาพและการระบุระดับคะแนนการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารทำเช่นเดียวกันกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อบุผิวในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารที่กล่าวมาข้างต้นในหัวข้อ 1.3.7

1.3.11 การวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ในการวิจัยครั้งนี้ไม่สามารถนับจำนวนเซลล์มีวักส์ได้เนื่องจากไม่สามารถกำหนดพื้นที่ของเนื้อเยื่อหลอดอาหารให้มีขนาดหรือความยาวที่เท่ากันทั้งหมดได้ จึงทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ในเชิงคุณภาพ ทำการสุ่มจำนวนภาพที่มีกำลังขยายเท่ากัน คือ 400 เท่าและระบุระดับคะแนนการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ของเนื้อเยื่อหลอดอาหารตามหัวข้อ 4.3.7 โดยจดบันทึกว่ามีการเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนของจำนวนเซลล์มีวักส์เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์มีวักส์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยในกลุ่มควบคุม (Tanhan, Sretarugsa, Pokethitiyook, Kruatrachue, & Upatham, 2005)

1.3.12 การสูญเสียเซลล์ทำได้โดยการสังเกตบริเวณปลายอิสระของเนื้อเยื่อบุผิวทั้งหมดของท่อหลอดอาหารว่าพบหรือไม่พบเซลล์ และทำการจดบันทึกจำนวนสไลด์เนื้อเยื่อหลอดอาหารที่ไม่พบเซลล์ การสุ่มจำนวนภาพและการระบุระดับคะแนนการสูญเสียเซลล์ของเนื้อเยื่อหลอดอาหารตามหัวข้อ 1.3.7

2. หลังจากการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันทำการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างผลการศึกษาของทั้ง 2 การศึกษาข้างต้น

3. การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างเป็นสารละลายตะกั่ว ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

3.1 ตัวอย่างสารละลายตะกั่ว

หลังจากการศึกษาพฤติกรรมกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ วัดคุณภาพตัวอย่างสารละลายตะกั่ว แล้วนำตัวอย่างสารละลายตะกั่วปริมาณ 1,000 มิลลิลิตร แต่ละความเข้มข้น (0.05, 0.5 และ 5 ppm) และสารละลายในกลุ่มควบคุม ความเข้มข้นละ 2 ตัวอย่าง จากการทดลอง 2 ซ้ำ ใส่ขวดพลาสติกชนิดหนา (HDPE) เก็บตัวอย่างสารละลายตะกั่ว

ในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำตัวอย่างสารละลายตะกั่ววิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี

3.2 ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอย

หลังจากการนำตัวอย่างเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ ไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์แล้ว นำเนื้อเยื่อที่เหลือทั้งหมดของหอยทั้ง 2 ชนิด ความเข้มข้นละ 2 ตัวอย่าง จากการทดลอง 2 ซ้ำล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วชับน้ำกลั่นออกจากเนื้อเยื่อให้มากที่สุด จากนั้นชั่งน้ำหนักเปียกของเนื้อเยื่อหอย แล้วบรรจุเนื้อเยื่อหอยในถุงพลาสติกชนิดมีแถบล็อค สูดท้ายเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยดังกล่าวไปวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี

4. การศึกษาประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของตะกั่วในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

ประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของตะกั่วในหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ ประเมินได้จากค่าอัตราการสะสมทางชีวภาพ (Bioaccumulation capacity, BAC) และปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bio-concentration factor, BCF) คำนวณจากสมการดังต่อไปนี้ (Dumme et al., 2015)

$$(1) \quad \text{อัตราการสะสมทางชีวภาพ (BAC)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของตะกั่วในหอยทดสอบ}}{\text{ความเข้มข้นของตะกั่วในหอยควบคุม}}$$

$$(2) \quad \text{ปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพ (BCF)} = \frac{\text{ความเข้มข้นของตะกั่วในหอย}}{\text{ความเข้มข้นของตะกั่วในน้ำ}}$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการวิจัยด้วยการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Minitab เวอร์ชัน 18 ใช้สถิติดังนี้

5.1 เปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นต่างกันในห้องปฏิบัติการ จากร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยกิน โดยสถิติทดสอบ โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป (Generalized Linear Model: GLM) มีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของหอยและความเข้มข้นของตะกั่ว ตัวแปรร่วมที่ศึกษา ได้แก่ น้ำหนักเฉพาะเนื้อหอย ความสูงและความกว้างของเปลือกหอย

5.2 เปรียบเทียบพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

5.2.1 เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารวิเคราะห์ข้อมูลจากจำนวนสไลด์ ($n = 6$) ที่พบการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) และจากการแปลงข้อมูลจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและจำนวนแกรนูโลสิซึมเป็น 1 หากรจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและจำนวนแกรนูโลสิซึมที่พบต่อพื้นที่เนื้อเยื่อบุผิว 1 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ เนื่องจากข้อมูลข้างต้นเมื่อทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลแล้วพบว่าข้อมูลมีการกระจายไม่ปกติ ดังนั้นจึงต้องทำการแปลงข้อมูลและทดสอบความแปรปรวนคงที่ของข้อมูลก่อนวิเคราะห์ข้อมูลที่ถูกแปลงไป โดยสถิติทดสอบ โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป มีปัจจัยที่ศึกษา ได้แก่ ชนิดของหอยและความเข้มข้นของตะกั่ว สุดท้ายเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละทริทเมนต์โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons

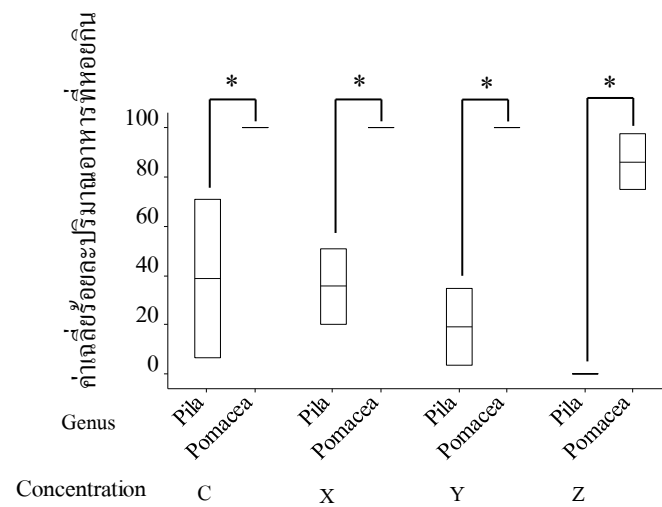
5.2.2 เนื้อเยื่อหลอดอาหารวิเคราะห์ข้อมูลจากการแปลงข้อมูลจำนวนสไลด์ที่พบการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว การเพิ่มจำนวนเซลล์มิวคัสและการสูญเสียเซลล์เป็นจำนวนสไลด์ที่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวหารจำนวนสไลด์ทั้งหมด ($n = 6$) ที่ศึกษาจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) เนื่องจากข้อมูลข้างต้นเมื่อทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลแล้วพบว่าข้อมูลมีการกระจายไม่ปกติ ดังนั้นจึงต้องทำการแปลงข้อมูลและทดสอบความแปรปรวนคงที่ของข้อมูลก่อนทำการวิเคราะห์ข้อมูลที่ถูกแปลงไป โดยสถิติทดสอบตามหัวข้อ 5.2.1

ผลการศึกษา

การเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

1. การศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ ด้วยการใส่สถิติทดสอบแบบโมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป จากค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยกิน พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 9$ และ $P\text{-value} = 0.030$ จากค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยกินพบว่าหอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm ($P < 0.05$) ค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันแสดงดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แผนภูมิบ็อกซ์พลอทค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักรื้อและของน้ำหนักอาหารที่หอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

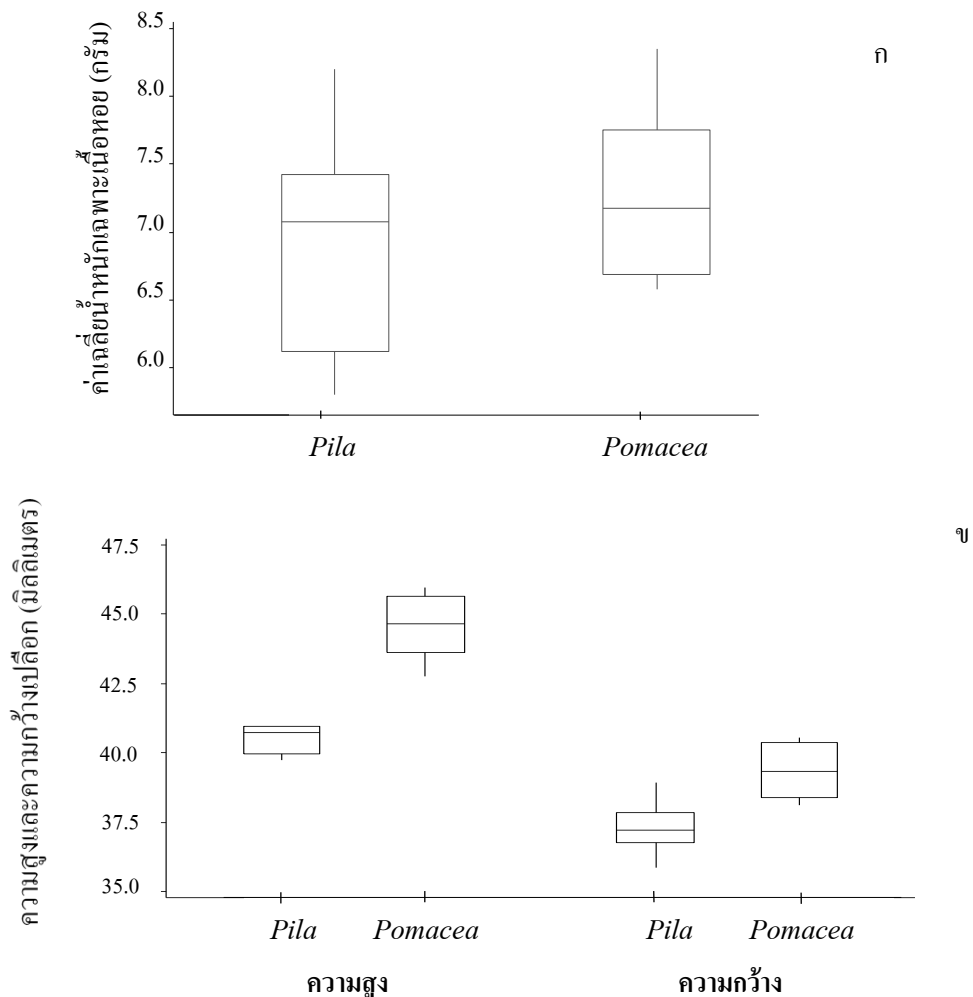
หมายเหตุ สัญลักษณ์ * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Genus คือ ชนิดหอย Concentration คือ ความเข้มข้นตะกั่ว *Pomacea* คือ หอยเชอรี่

Pila คือ หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง C X Y และ Z คือ ตะกั่วความเข้มข้น 0.00 0.05 0.5

และ 5 ppm ตามลำดับ

พิจารณาความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน จากตาราง ANOVA ได้ค่าค่าสถิติทดสอบ F-value = 0.80 และ P-value = 0.544 ดังนั้นความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด และเมื่อพิจารณาน้ำหนักเฉพาะเนื้อหอย ความสูงเปลือกและความกว้างเปลือกของหอยจากตาราง ANOVA (ตารางภาคผนวกที่ ข-1) ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 0.57 และ 0.85 P-value = 0.985 0.485 และ 0.400 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าตัวแปรทั้งหมดไม่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ค่าเฉลี่ยน้ำหนักเฉพาะเนื้อหอย ความสูงเปลือกและความกว้างเปลือกของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วแต่ละระดับความเข้มข้น แสดงดังภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แผนภูมิบ็อกซ์พลอตค่าเฉลี่ยน้ำหนักเฉพาะเนื้อหอย (ก) ความสูงเปลือกและความกว้างเปลือก (ข) หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองและหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน
หมายเหตุ *Pila* คือ หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง *Pomacea* คือ หอยเชอร์รี่

2 การศึกษาพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

2.1 เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร

เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารตัดตามขวางมีลักษณะเป็นท่อ มีช่องว่างตรงกลางท่อ

ต่อมย่อยอาหาร (L) เมื่อย้อมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารด้วยสีฮีมาทอกไซลีนและอีโอซินพบว่า

เนื้อเยื่อบุผิวของต่อมย่อยอาหารประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์ย่อยอาหาร (DC) และ

เซลล์เบโซฟิลิก (➡) เซลล์ย่อยอาหารมีลักษณะเป็นเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงสูงชั้นเดียว

ไซโทพลาสซึมย้อมติดสีชมพู นิวเคลียสอยู่บริเวณฐานเซลล์ย้อมติดสีม่วง และเซลล์เบโซฟิลิกย้อม

ติดสีม่วง มีรูปร่างคล้ายพีระมิดหรือสามเหลี่ยม (➤) นอกจากนี้ยังพบแกรนูโลสิซึม (DG) กระจาย

อยู่ทั่วบริเวณเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อ

ต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น

แตกต่างกัน ได้แก่ การเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวในเซลล์ย่อยอาหาร การเพิ่มจำนวนเซลล์เบโซฟิลิก

และแกรนูโลสิซึม แสดงดังภาพที่ 5

จากการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 5 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวในเซลล์ย่อยอาหารปานกลาง

(พบระหว่างร้อยละ 25 ถึง 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) โดยสังเกตเห็นว่าเซลล์ย่อยอาหารเป็น

ช่องว่าง (V) ดังภาพที่ 5C และ 5D ในขณะที่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่ว

ความเข้มข้น 0.05 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวในเซลล์ย่อยอาหารเล็กน้อย (พบน้อยกว่า

ร้อยละ 25 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) แสดงดังภาพที่ 5B เมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่ม

ควบคุม (ตะกั่วความเข้มข้น 0.00 ppm) หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm

มีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิก 40 ± 21 63 ± 31 และ 64 ± 2 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 5B

5C และ 5D; ➡) มากกว่าหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม 14 ± 5 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร แสดงดัง

ภาพที่ 5A เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm

มีจำนวนแกรนูโลสิซึม 851 ± 143 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร แสดงดังภาพที่ 5D; DG มากกว่า

หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.00 0.05 และ 0.5 ppm (637 ± 269 637 ± 259 และ 679 ± 380

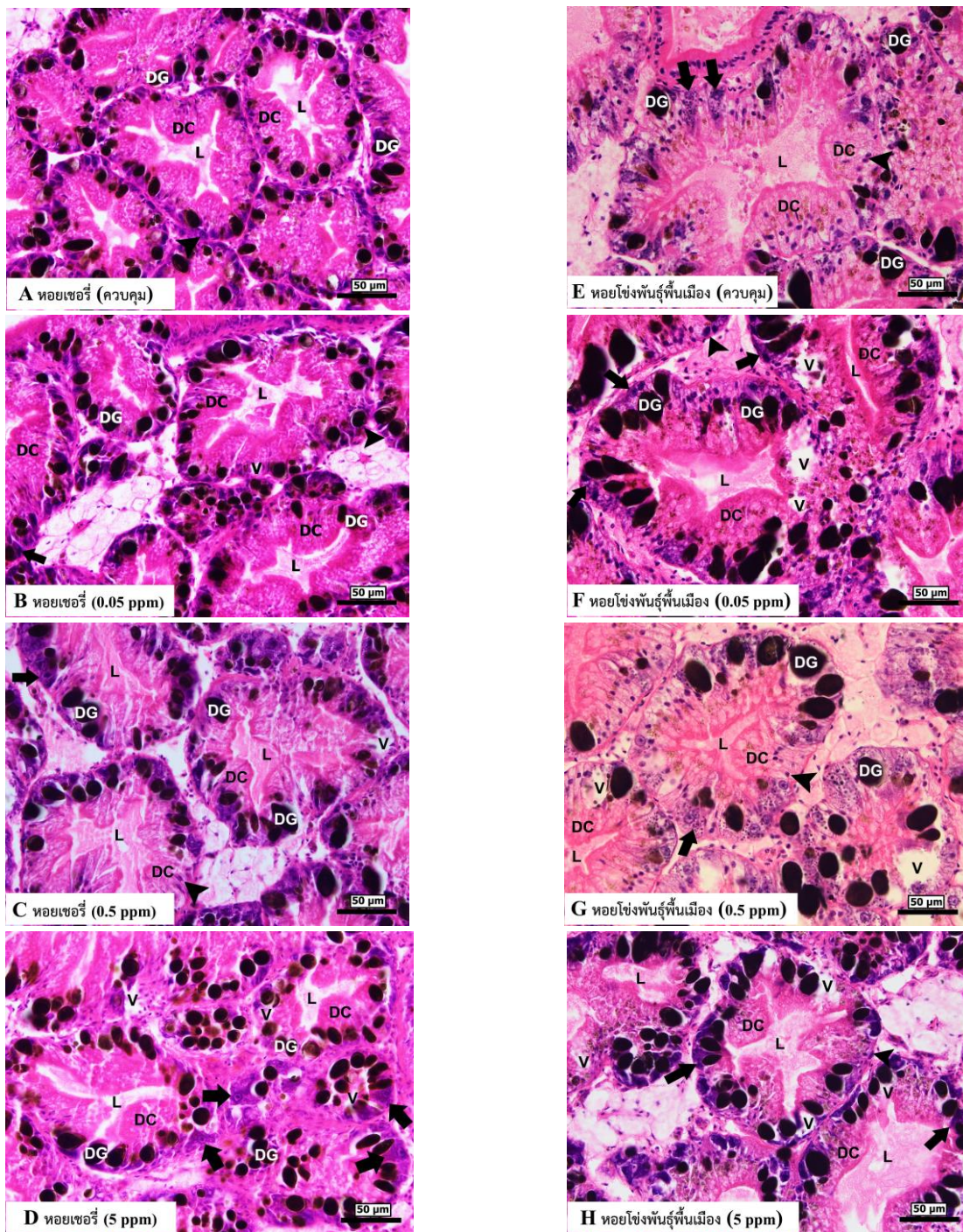
เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร) ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น

0.05 0.5 และ 5 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวในเซลล์ย่อยอาหารปานกลาง (ภาพที่ 5F 5G

และ 5H) ทำให้สังเกตเห็นช่องว่าง (V) บริเวณเซลล์ย่อยอาหาร

เมื่อเปรียบเทียบกับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 5E) หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 และ 5 ppm มีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิก 46 ± 29 และ 35 ± 23 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตรมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 ppm (26 ± 5 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร) แต่ไม่แตกต่างกับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม (32 ± 14 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร) แสดงดังภาพที่ 5E 5F 5G และ 5H; ➡ และเมื่อพิจารณาจำนวนแกรนูโลตีเอ็มในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm มีแกรนูโลตีเอ็ม 470 ± 123 519 ± 145 และ 576 ± 314 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 5E 5F 5G และ 5H; DG มากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม (324 ± 141 เซลล์ต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในห้องปฏิบัติการ แสดงดังภาพที่ 5 และตารางที่ 2



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ย้อมด้วยสี H&E

หมายเหตุ DC คือ เซลล์ย่อยอาหาร (Digestive cell) DG คือ แกรนูลสีเข้ม (Dark granule) V คือ ช่องว่างภายในเซลล์ย่อยอาหาร (Vacuolization) L คือ ช่องว่างตรงกลางท่อต่อมย่อยอาหาร (Lumen) ➡ คือ เซลล์เบโซฟิลิก ➤ คือ นิวเคลียสเซลล์ย่อยอาหาร

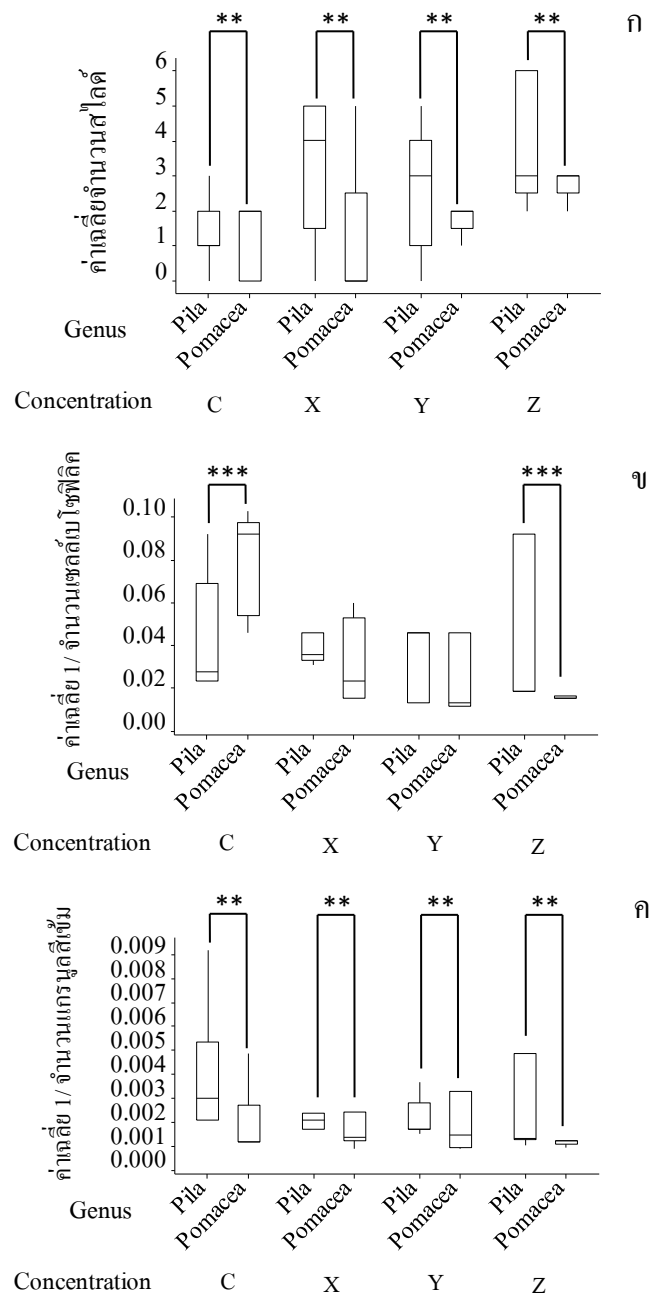
การวิเคราะห์การเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จากค่าเฉลี่ยจำนวนสไลด์ที่พบการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร ($n = 6$) โดยสถิติทดสอบ

โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 7.59$ และ $P\text{-value} = 0.008$ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนสไลด์เนื้อเยื่อที่พบการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่เกิดการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังน้อยกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ภาพที่ 6ก) และเมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 5.97$ และ $P\text{-value} = 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนสไลด์เนื้อเยื่อที่พบการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 ppm เกิดการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุม แต่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm เกิดการเสีสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แสดงดังตารางที่ 2

การวิเคราะห์จำนวนเซลล์เบโซฟิลิกในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร โดยสถิติทดสอบ

โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกเป็น 1 ฮาร์จำนวนเซลล์เบโซฟิลิก พิจารณาจากชนิดหอยและระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 7.80$ และ $P\text{-value} < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละทริทเมนต์ โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุมพบจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกน้อยกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง แต่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm พบจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกเมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm แต่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 ppm พบจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกไม่แตกต่างกับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้นเดียวกัน แสดงดังภาพที่ 6ข เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่เมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm มีการเพิ่มจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกมากกว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม แต่เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกไม่แตกต่างกับเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 2

การวิเคราะห์จำนวนแกรนูโลสีย่อมในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร โดยสถิติทดสอบ โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนแกรนูโลสีย่อมเป็น 1 หารจำนวนแกรนูโลสีย่อม พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 10.72$ และ $P\text{-value} = 0.002$ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนแกรนูโลสีย่อมของหอยแต่ละชนิด โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอริมีค่าเฉลี่ยจำนวนแกรนูโลสีย่อมมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แสดงดังภาพที่ 6c และ พิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 2.27$ และ $P\text{-value} = 0.089$ แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่ว ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันมีจำนวนแกรนูโลสีย่อมไม่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 2



ภาพที่ 6 แผนภูมิบ็อกซ์พลอท (ก) การเสียดสภาพเนื้อเยื่อบุผิว (ข) จำนวนเซลล์ใบไซฟิติกต่อพื้นที่ (ค) จำนวนแกรนูโลซิซึมต่อพื้นที่ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

หมายเหตุ สัญลักษณ์ ** แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) *** แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) Genus คือ ชนิดหอย Concentration คือ ความเข้มข้น ตะกั่ว *Pomacea* คือ หอยเชอร์รี่ *Pila* คือ หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง C X Y และ Z คือ ตะกั่วความเข้มข้น 0.00 0.05 0.5 และ 5 ppm ตามลำดับ

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอรี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน
ในห้องปฏิบัติการ

| พยาธิสภาพ | ความเข้มข้นตะกั่ว (ppm) | | | |
|-------------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
| | 0.00 | 0.05 | 0.5 | 5 |
| หอยเชอรี่ | | | | |
| การเสียสภาพเนื้อเยื่อบุผิว | + ^b | + ^{ab} | + + ^{ab} | + + ^{**} , a |
| จำนวนเซลล์เบโซฟิลิก/ พื้นที่ | 14±5 ^a | 40±21 ^{***, bc} | 63±31 ^{***, bc} | 64±2 ^{***, c} |
| จำนวนแกรนูโลซิซึม/ พื้นที่ | 637±269 | 637±259 | 679±380 | 851±143 |
| หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง | | | | |
| การเสียสภาพเนื้อเยื่อบุผิว | + ^b | + + ^{ab} | + + ^{ab} | + + ^{**} , a |
| จำนวนเซลล์เบโซฟิลิก/ พื้นที่ | 32±14 ^{bc} | 26±5 ^{bc} | 46±29 ^{bc} | 35±23 ^{ab} |
| จำนวนแกรนูโลซิซึม/ พื้นที่ | 324±141 | 470±123 | 519±145 | 576±314 |

หมายเหตุ

- ระดับคะแนนการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวในเซลล์ย่อยอาหารของเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร
ระบุดังนี้

0 คือ ไม่เกิดพยาธิสภาพ

+ คือ เกิดพยาธิเล็กน้อย (พบน้อยกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

+ + คือ เกิดพยาธิสภาพปานกลาง (พบระหว่างร้อยละ 25 ถึง 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

+ + + คือ เกิดพยาธิสภาพอย่างมาก (พบมากกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

จำนวนสไลด์ที่ศึกษา 54 สไลด์ต่อความเข้มข้น (จำนวนตัวอย่างหอย 9 ตัวอย่างต่อความเข้มข้น)

- จำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและแกรนูโลซิซึมต่อพื้นที่ 1 ตารางมิลลิเมตร

- ** คือ ความเข้มข้นตะกั่วแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

- *** คือ ความเข้มข้นตะกั่วแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$)

- a, b, c คือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นตะกั่ว

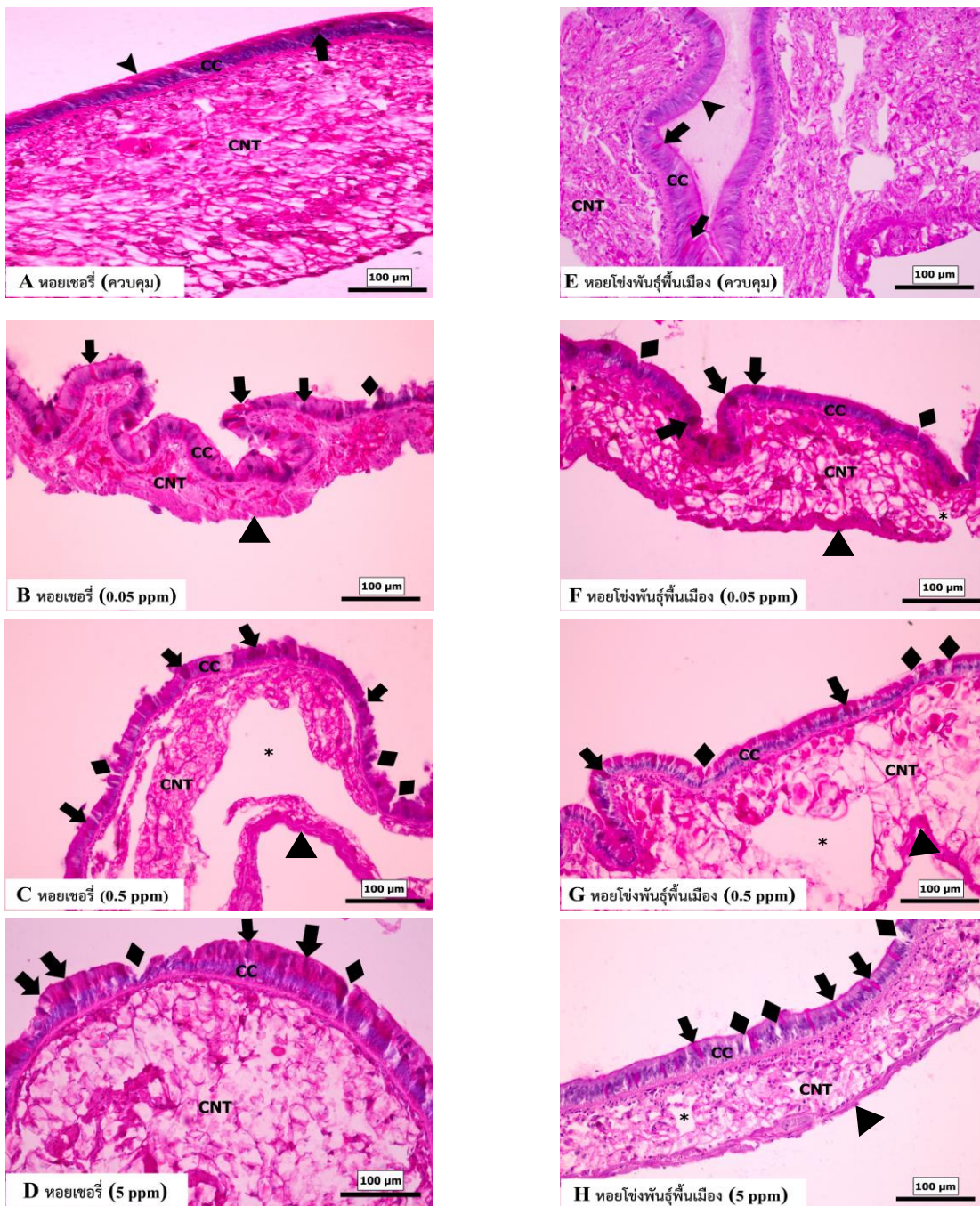
2.2 เนื้อเยื่อหลอดอาหาร

เนื้อเยื่อหลอดอาหารตัดตามขวางข้อมด้วยสีฮีมาทอกไซลินและกรดเพอริโอดีคิฟฟ์ ประกอบด้วย เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงสูง (CC) เรียงตัวกันเป็นเนื้อเยื่อบุผิวชั้นเดียว ด้านปลายอิสระพบซิเลีย (►) ตลอดท่อเนื้อเยื่อหลอดอาหาร ชั้นเนื้อเยื่อบุผิวดังกล่าวพบเซลล์มีวักสแทรกอยู่ระหว่างเซลล์เนื้อเยื่อบุผิว เซลล์มีวักสบางเซลล์ย้อมติดสีชมพูและบางเซลล์ย้อมติดสีม่วง (►) ถัดจากชั้นเนื้อเยื่อบุผิว เป็นชั้นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (CNT) และเนื้อเยื่อชั้นนอกสุด คือ ชั้นเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (▲) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ได้แก่ การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส การสูญเสียซิเลียและการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน แสดงดังภาพที่ 7

จากการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวอย่างมาก (พบมากกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) สังเกตเป็นช่องว่างแสดงดังภาพที่ 7C; ♦ ในขณะที่หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวปานกลาง (พบระหว่างร้อยละ 25 ถึง 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด) แสดงดังภาพที่ 7B และ 7D เมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 7A) ในส่วนของเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 ppm พบการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักสอย่างมาก (ภาพที่ 7B; ►) แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 และ 5 ppm พบการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักสปานกลางแสดงดังภาพที่ 7C, 7D นอกจากนี้เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm เกิดการสูญเสียซิเลีย (7B 7C และ 7D; ►) อย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม และเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอย่างมาก แสดงดังภาพที่ 7C; * แต่หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันปานกลาง แสดงดังภาพที่ 7D; * เมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม

จากการศึกษาพบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวปานกลาง ในขณะที่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 และ 5 ppm เกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวอย่างมาก (ภาพที่ 7G และ 7H; ♦) เมื่อเปรียบเทียบกับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม ในส่วนของเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 ppm พบการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักสปานกลาง (ภาพที่ 7F และ 7G; ►) เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm พบการเพิ่มจำนวน

เซลล์มีวักส์อย่างมากแสดงดังภาพที่ 7H นอกจากนี้เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 ppm เกิดการสูญเสียซิวเลีย (▶) ปานกลาง ในขณะที่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 และ 5 ppm เกิดการสูญเสียซิวเลียอย่างมาก (ภาพที่ 7G และ 4-6H) เมื่อเปรียบเทียบกับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มควบคุม และเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอย่างมาก แสดงดังภาพที่ 7G แต่ความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันปานกลาง (ภาพที่ 7F และ 7H) เมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในห้องปฏิบัติการแสดงดังภาพที่ 7 และตารางที่ 3



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ย้อมด้วยสี H&E และ PAS

หมายเหตุ CNT คือ เนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (Connective tissue) CC คือ เซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงสูง (Columnar epithelium cell) ◆ คือ การเสียหายของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิว

➡ คือ เซลล์มีวาคัส (Mucous cell) ➤ คือ ซิเลีย (Cilia) ▲ คือ เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ (Muscle tissue) * คือ การเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน

การวิเคราะห์การเสียดสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวในเนื้อเยื่อหลอดอาหาร โดยการใช้สถิติทดสอบแบบโมเดลเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนสไลด์ที่พบการเสียดสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวเป็นจำนวนสไลด์ที่พบหารจำนวนสไลด์ ($n = 6$) ที่ศึกษาจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 1.62 และ P-value = 0.208 ดังนั้นเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีการเสียดสภาพของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 8ก) และเมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 3.71 และ P-value = 0.016 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละความเข้มข้นตะกั่ว โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm มีการเสียดสภาพของเซลล์เยื่อบุผิวมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm มีการเสียดสภาพของเซลล์เยื่อบุผิวไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 3

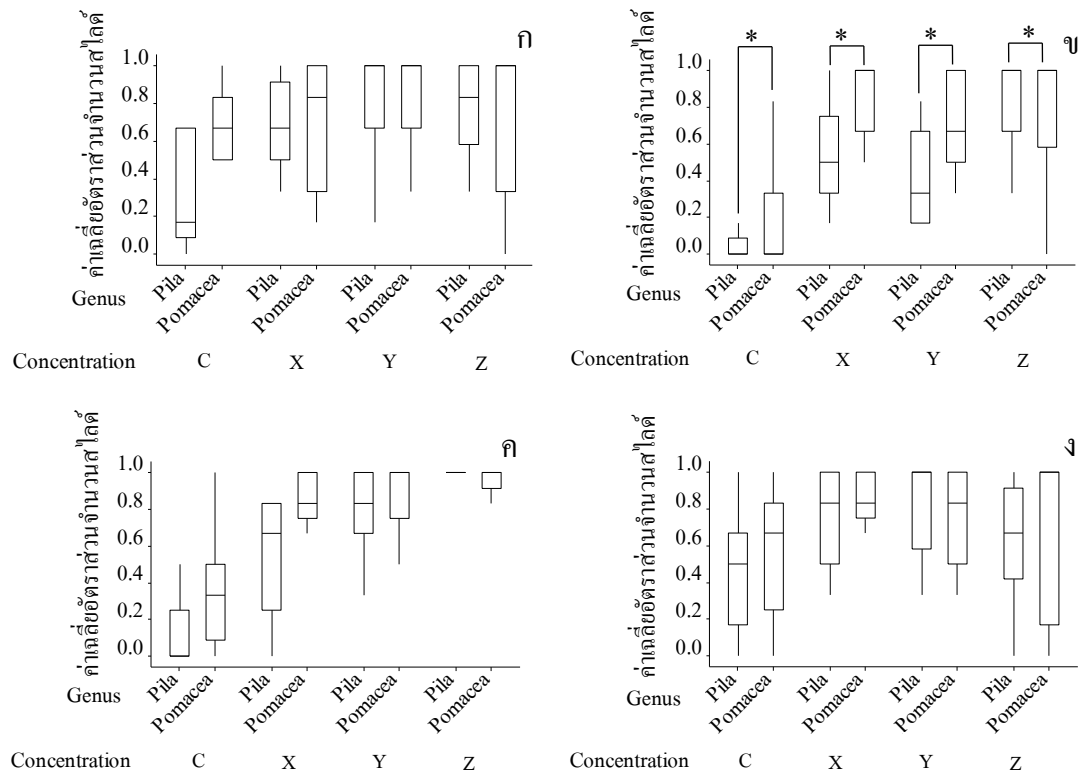
การวิเคราะห์การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหาร โดยการใช้สถิติทดสอบแบบโมเดลเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนสไลด์ที่พบการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์เป็นจำนวนสไลด์ที่พบหารจำนวนสไลด์ ($n = 6$) ที่ศึกษาจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 6.84 และ P-value = 0.011 เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ของหอยแต่ละชนิด โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์มากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงดังภาพที่ 8ข และเมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 20.67 และ P-value < 0.001 และจากตารางภาคผนวกที่ ข-18 พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm มีการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์มากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แสดงดังตารางที่ 3

การวิเคราะห์การสูญเสียซิวเลียในเนื้อเยื่อหลอดอาหาร โดยการใช้สถิติทดสอบแบบโมเดลเชิงเส้นโดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนสไลด์ที่พบการสูญเสียซิวเลียเป็นจำนวนสไลด์ที่พบหารจำนวนสไลด์ ($n = 6$) ที่ศึกษาจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ F-value = 3.75 และ P-value = 0.057 ดังนั้นเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีการสูญเสีย

ซีเลียไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 8ค) และเมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA (ตารางภาคผนวกที่ ข-20) ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 23.62$ และ $P\text{-value} < 0.001$ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละความเข้มข้นตะกั่ว โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 0.5 และ 5 ppm มีการสูญเสียซีเลียมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แสดงดังตารางที่ 3

การวิเคราะห์การเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในเนื้อเยื่อหลอดอาหาร

โดยการใช้สถิติทดสอบแบบ โมเดลเชิงเส้น โดยนัยทั่วไป จากการแปลงข้อมูลจำนวนสไลด์ที่พบการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเป็นจำนวนสไลด์ที่พบหารจำนวนสไลด์ ($n = 6$) ที่ศึกษาจากหอยแต่ละตัว (แต่ละความเข้มข้น) พิจารณาจากชนิดหอยในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 0.39$ และ $P\text{-value} = 0.537$ ดังนั้นเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 8ง) และเมื่อพิจารณาจากระดับความเข้มข้นของตะกั่วในตาราง ANOVA ได้ค่าสถิติทดสอบ $F\text{-value} = 3.39$ และ $P\text{-value} = 0.023$ เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างแต่ละความเข้มข้นตะกั่ว โดยสถิติทดสอบ Tukey Pairwise Comparisons พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 3



ภาพที่ 8 แผนภูมิบ็อกซ์พลอต (ก) การเสียสภาพเนื้อเยื่อปูฝิว (ข) การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวคัส (ค) การสูญเสียซิเลีย (ง) การเสียสภาพเนื้อเยื่อเกี่ยวพันในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

หมายเหตุ สัญลักษณ์ * แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Genus คือ ชนิดหอย Concentration คือ ความเข้มข้นตะกั่ว *Pomacea* คือ หอยเชอร์รี่ *Pila* คือ หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง C X Y และ Z คือ ตะกั่วความเข้มข้น 0.00 0.05 0.5 และ 5 ppm ตามลำดับ

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอรี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

| พยาธิสภาพ | ความเข้มข้นตะกั่ว (ppm) | | | |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | 0.00 | 0.05 | 0.50 | 5.00 |
| หอยเชอรี่ | | | | |
| การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว | ++ ^b | ++ ^{ab} | +++ ^{*, a} | +++ ^{ab} |
| การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ | + ^b | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} |
| การสูญเสียเซลล์ | ++ ^b | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} |
| การเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน | ++ ^b | +++ ^{ab} | +++ ^{*, a} | +++ ^{ab} |
| หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง | | | | |
| การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว | ++ ^b | ++ ^{ab} | +++ ^{*, a} | +++ ^{ab} |
| การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ | + ^b | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} |
| การสูญเสียเซลล์ | + ^b | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} | +++ ^{**, a} |
| การเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน | ++ ^b | ++ ^{ab} | +++ ^{*, a} | +++ ^{ab} |

หมายเหตุ

- ระดับคะแนนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อหลอดอาหารระบุดังนี้

0 คือ ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง

+ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย (พบน้อยกว่าร้อยละ 25 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

++ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงปานกลาง (พบระหว่างร้อยละ 25 ถึง 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

+++ คือ เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมาก (พบมากกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนสไลด์ทั้งหมด)

จำนวนสไลด์ที่ศึกษา 54 สไลด์ต่อความเข้มข้น (จำนวนตัวอย่างหอย 9 ตัวอย่างต่อความเข้มข้น)

- * คือ ความเข้มข้นตะกั่วแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

- *** คือ ความเข้มข้นตะกั่วแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$)

- a, b คือ ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นตะกั่ว

**การเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบ
ทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น
แตกต่างกัน**

หอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วแสดงพฤติกรรมการกินอาหารไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุมเมื่อทดสอบทางสถิติ เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุม และเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 2 เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันกับเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมและเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์กับการสูญเสียเกล็ดมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุม แสดงดังตารางที่ 3 ดังนั้นการเปรียบเทียบระหว่างผลการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วแต่ละความเข้มข้นจึงไม่มีความสัมพันธ์กัน แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเมื่อได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

| ชนิดหอย | ความเข้มข้นตะกั่ว (ppm) | ค่าเฉลี่ยร้อยละน้ำหนักอาหารที่หอยกิน | พยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหาร | |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------------|---|--|
| | | | เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร | เนื้อเยื่อหลอดอาหาร |
| หอยเชอร์รี่ | 0.00 | กินอาหาร 100% | หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่ว 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมและ | หอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่ว 0.5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมและหอยเชอร์รี่ |
| | 0.05 | กินอาหาร 100% | หอยเชอร์รี่ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวน | ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีการ |
| | 0.50 | กินอาหาร 100% | เซลล์เบซิฟิลิคมากกว่า | เพิ่มจำนวนเซลล์มีวคัส |
| | 5.00 | กินอาหาร 74.76% | หอยในกลุ่มควบคุม | และการสูญเสียเซลล์มากกว่าหอยในกลุ่มควบคุม |
| หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง | 0.00 | กินอาหาร 70.96% | หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่ว 5 ppm มีการ | หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่ว 0.5 ppm มีการ |
| | 0.05 | กินอาหาร 20.13% | เสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าหอยในกลุ่ม | เสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวกับเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน |
| | 0.50 | กินอาหาร 34.76% | ควบคุม | มากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมและหอยโข่งพันธุ์ |
| | 5.00 | ไม่กินอาหาร | พื้นเมืองในกลุ่มที่ได้รับ | พื้นเมืองในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีการเพิ่มจำนวน |
| | | | เซลล์มีวคัสและการ | สูญเสียเซลล์มากกว่าหอย |
| | | | | ในกลุ่มควบคุม |

การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างสารละลายตะกั่ว ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในตัวอย่างสารละลายตะกั่ว ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ในแต่ละความเข้มข้น (0 0.05
0.5 และ 5 ppm) ความเข้มข้นละ 2 ตัวอย่าง จากการทดลอง 2 ซ้ำ ปริมาณตะกั่วในตัวอย่าง
สารละลายตะกั่วหลังจากการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดมีแนวโน้มสูงขึ้น
ตามระดับความเข้มข้นของสารละลายตะกั่วที่เตรียมก่อนการศึกษา ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยทั้ง 2 ชนิด
จากกลุ่มทดสอบมีการสะสมปริมาณตะกั่วมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่ได้รับสัมผัส
ระยะเวลา 96 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 5 ตัวอย่างเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจาก
กลุ่มที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm มีการสะสมปริมาณตะกั่วสูงที่สุด คือ 22.09 มิลลิกรัมต่อ
กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และ 36.73 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ค่าเฉลี่ยปริมาณตะกั่วในตัวอย่างสารละลายตะกั่ว เนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์
พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วแต่ละระดับความเข้มข้นในห้องปฏิบัติการ (Mean \pm SE) (n=2)

| ชนิดหอย | ความเข้มข้น สารละลายตะกั่ว (ppm) | ปริมาณตะกั่ว ในสารละลายตะกั่ว (mg/l) * | ปริมาณตะกั่ว ในเนื้อเยื่อหอย (mg/kg) * |
|----------------------------|-------------------------------------|--|---|
| หอยเชอร์รี่ | 0.00 | 0.000 | 0.025 \pm 0.025 |
| | 0.05 | 0.005 \pm 0.001 | 1.185 \pm 0.155 |
| | 0.50 | 0.053 \pm 0.026 | 8.58 \pm 1.43 |
| | 5.00 | 1.314 \pm 0.735 | 22.09 \pm 2.11 |
| หอยโข่งพันธุ์ พื้นเมือง | 0.00 | 0.000 | 0.04 \pm 0.04 |
| | 0.05 | 0.003 \pm 0.001 | 1.295 \pm 0.305 |
| | 0.50 | 0.036 \pm 0.002 | 24.03 \pm 8.17 |
| | 5.00 | 1.494 \pm 0.104 | 36.73 \pm 0.13 |

หมายเหตุ สัญลักษณ์ * คือ วิเคราะห์ปริมาณตะกั่วที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 6 จังหวัดชลบุรี

**การศึกษาประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของตะกั่วในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ**

การประเมินประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของตะกั่วในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน จากปริมาณการสะสมตะกั่ว
ในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจากกลุ่มทดสอบตะกั่วความเข้มข้น 0.05 0.5 และ
5 ppm ค่า BAC ของหอยเชอรี่เท่ากับ 47.40 343.20 และ 883.60 เท่า ตามลำดับ และค่า BAC ของ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเท่ากับ 32.38 600.75 และ 918.25 เท่า ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับหอยใน
กลุ่มควบคุม ในส่วนของค่า BCF ของหอยเชอรี่เท่ากับ 237.00 161.89 และ 16.86 ตามลำดับ และ
ของหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเท่ากับ 431.67 667.50 และ 24.65 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 6
ค่า BCF มีความสอดคล้องกับการสะสมตะกั่วในเนื้อเยื่อของหอยทั้ง 2 ชนิด คือ ในเนื้อเยื่อของหอย
ทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มทดสอบตะกั่วทุกความเข้มข้นมีการสะสมปริมาณตะกั่วมากกว่าในสารละลาย
ตะกั่วจากความเข้มข้นเดียวกัน จากการประเมินประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของตะกั่วใน
หอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ
ชี้ให้เห็นว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีประสิทธิภาพในการสะสมตะกั่วในเนื้อเยื่อสูงกว่าหอยเชอรี่
ดังนั้นหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจึงมีแนวโน้มที่อาจใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) สำหรับการ
ปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้เหมาะสมกว่าหอยเชอรี่

ตารางที่ 6 อัตราการสะสมทางชีวภาพและปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพของเนื้อเยื่อหอยเชอรี่และ
หอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ (n=2)

| ความเข้มข้นตะกั่ว (ppm) | หอยเชอรี่ | | หอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง | |
|-------------------------|-----------|--------|------------------------|--------|
| | BAC | BCF | BAC | BCF |
| 0.05 | 47.40 | 237.00 | 32.38 | 431.67 |
| 0.50 | 343.20 | 161.89 | 600.75 | 667.50 |
| 5.00 | 883.60 | 16.80 | 918.25 | 24.59 |

หมายเหตุ BAC คือ อัตราการสะสมทางชีวภาพ (Bioaccumulation capacity)
BCF คือ ปัจจัยความเข้มข้นทางชีวภาพ (Bio-concentration factor)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการและ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยทั้ง 2 ชนิดกินพบว่าหอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง แต่ระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ส่วนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการพบว่าระดับความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกันมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการพบว่าผลการศึกษาดังกล่าวไม่มีความสัมพันธ์กัน

จากผลการศึกษาการเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารของหอยเชอร์รี่ (*Pomacea canaliculata*) และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง (*Pila pesmei*) ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการข้างต้นพบว่าหอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองซึ่งเป็นไปได้ตามสมมติฐานของการวิจัยนี้ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaichana and Sumpan (2014) ที่ศึกษาการเปรียบเทียบการกินอาหาร อัตราการเจริญเติบโต เวลาที่หอยใช้ในเข้าถึงอาหารและการเลือกกินชนิดอาหารในหอยเชอร์รี่ชนิด *P. canaliculata* กับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองชนิด *Pila scutata* และพบว่าหอยเชอร์รี่ชนิด *P. canaliculata* กินอาหารปริมาณมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองชนิด *P. scutata* รวมถึงผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Pradabphetrat et al. (2018) ที่ศึกษาการเปรียบเทียบพฤติกรรมการกินอาหารในหอยเชอร์รี่ชนิด *P. canaliculata* กับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองชนิด *P. angelica* และการเลือกกินชนิดอาหาร (สาหร่ายหางกระรอกและข้าว) ในหอยเชอร์รี่ชนิด *P. canaliculata* กับหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองชนิด *P. pesmei* โดยพบว่าหอยเชอร์รี่กินอาหารปริมาณมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว และหอยเชอร์รี่เลือกกินสาหร่ายหางกระรอกมากกว่าข้าว โดยผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าหอยเชอร์รี่ประสบความสำเร็จในการรุกรานหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองเพราะหอยเชอร์รี่แสดงพฤติกรรมการกินอาหารได้ดีกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหารที่หอยทั้ง 2 ชนิดกินพบว่าระดับ

ความเข้มข้นของตะกั่วที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิด ผลการศึกษาพฤติกรรมการกินอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวจึงไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Peña and Pocsidio (2007) ที่ทำการศึกษาผลของทองแดงต่ออัตราการกินอาหาร การเจริญเติบโต และการสืบพันธุ์ของหอยเชอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ โดยการให้ใบมันหวานชนิด *Ipomoea batatas* เป็นอาหาร โดยพบว่าหอยเชอร์รี่ที่ได้รับทองแดงที่ระดับความเข้มข้น 0.0675 ppm เป็นเวลา 10 วัน มีอัตราการกินอาหารลดลง (วัดค่าเฉลี่ยร้อยละของน้ำหนักอาหาร) และชะลออัตราการเจริญเติบโตของหอยเชอร์รี่ (วัดความสูงเปลือกหอย) แต่ทองแดงไม่มีผลต่อการสืบพันธุ์ของหอยเชอร์รี่ รวมทั้งผลการศึกษารุ่นนี้ ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Amusan et al. (2002) ที่ทำการศึกษาผลของตะกั่วต่อพฤติกรรมการกินอาหารในหอยทากบก (Terrestrial gastropod) ชนิด *Limicolaria flammea* ที่เก็บจากพื้นที่ธรรมชาติ ซึ่งพบว่าหอยทากบกชนิดดังกล่าวที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 6 ppm เป็นระยะเวลา 21 วัน กินอาหารปริมาณน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม รวมถึงการศึกษาของ Pyatt et al. (2002) ที่ศึกษาในหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *Lymnaea stagnalis* ที่เก็บจากคลองที่ไม่มีกรปนเปื้อนตะกั่วและบ่อน้ำที่มีการปนเปื้อนตะกั่ว เมื่อหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิดดังกล่าวได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm และ 10 ppm เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ตะกั่วมีผลยับยั้งพฤติกรรมการกินอาหารของหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิดนี้ ทำให้หอยฝาเดียวน้ำจืดชนิดนี้ไม่สามารถเข้าไปถึงอาหารได้ในเวลา 1 ชั่วโมงระหว่างการทดลองและมีพฤติกรรมการกินอาหารน้อยลง ในขณะที่การศึกษารุ่นนี้พบว่าหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm ยังสามารถกินอาหารได้และกินอาหารได้ปริมาณมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ดังนั้นผลการศึกษารุ่นนี้ชี้ให้เห็นว่าหอยเชอร์รี่มีความทนทานต่อสารละลายตะกั่วที่ได้รับในระดับความเข้มข้นดังกล่าวมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง เนื่องจากหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ในการศึกษารุ่นนี้เก็บจากนาข้าวที่อาจมีการปนเปื้อนโลหะหนักที่เป็นส่วนประกอบของสารกำจัดศัตรูพืช (Dumme et al., 2012; Dumme et al., 2015) จึงทำให้หอยทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวอาจมีความทนทานต่อสารละลายตะกั่วที่ได้รับ

ผลการศึกษาภูมิวิทย์ของต่อมย่อยอาหารในหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการพบว่าเนื้อเยื่อผิวของต่อมย่อยอาหารประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ได้แก่ เซลล์ย่อยอาหารและเซลล์เบโซฟิลิก นอกจากนี้

ยังพบแกรนูลสีเขียวกระจายอยู่ทั่วบริเวณเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารด้วย ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษามิณูชีววิทยาของต่อมย่อยอาหารในหอยเชอร์รี่ที่เก็บจากแม่น้ำแม่กลอง จ.สมุทรสงคราม (Kruatrachue et al., 2011) บึงบอระเพ็ด จ.นครสวรรค์ (Dumme et al., 2012) และหอยเชอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (Dumme et al., 2015) แต่จากการศึกษาครั้งนี้ไม่พบเซลล์กำจัดสารในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดนี้เหมือนในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทะเลฝาดเดียว ชนิด *Oxychilus atlanticus* (Lopes et al., 2001) และหอยทากบกชนิด *Cantareus apertus* (Mleiki et al., 2018) จากผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิว การเพิ่มจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกและการเพิ่มจำนวนแกรนูลสีเขียว เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm เกิดการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวมากกว่าต่อมย่อยอาหารของหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิวหรือเซลล์ย่อยอาหารที่พบในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารเป็นการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์เมื่อได้รับสัมผัสกับสารปนเปื้อนหรืออยู่ในสภาวะเครียดต่าง ๆ ผลการศึกษากการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ย่อยอาหารนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Osterauer, Köhler, and Triebkorn (2010) ที่รายงานว่าหอยฝาดเดียวน้ำจืดชนิด *Marisa cornuarietis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการสถาบันสัตววิทยา เมือง Frankfurt ประเทศเยอรมนี เมื่อได้รับสารแพลตตินั่มคลอไรด์ (PtCl₂) พบการเกิดความเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวของต่อมย่อยอาหาร โดยเป็นกระบวนการเริ่มต้นของการเสียสภาพของเนื้อเยื่อบุผิว และสุดท้ายเซลล์ย่อยอาหารของเนื้อเยื่อบุผิวจะตายลง ซึ่งให้เห็นถึงกระบวนการของความเสียหายที่เป็นผลทำให้เกิดช่องว่างภายในเนื้อเยื่อบุผิวและผลการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ย่อยอาหารนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Arrighetti et al. (2018) ที่รายงานว่าหอยเชอร์รี่ที่เก็บจากลำธาร Zapata ประเทศอาร์เจนตินา เมื่อได้รับสารกำจัดแมลงไซเปอร์เมทริน (Cypermethrin) ซึ่งมีผลต่อเซลล์ย่อยอาหารภายในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารทำให้เกิดความเสียหาย แสดงให้เห็นเป็นช่องว่างภายในเนื้อเยื่อบุผิว ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ย่อยอาหารนี้อาจมีสาเหตุมาจากสภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) เช่น สภาวะเครียดที่เกิดจากการได้รับสัมผัสโลหะหนักต่าง ๆ (Radwan, El-Gendy, & Gad, 2010; El-Shenawy, Mohammadden, & Al-Fahmie, 2012; Abdel-Halim, El-Saad, Talha, Hussein, & Bakry, 2013) ซึ่งทำให้เกิดความเสียหายกับโมเลกุลขนาดใหญ่ในเซลล์ ประกอบด้วย ดีเอ็นเอ โปรตีนและไขมัน (Bhagat, Ingole, & Singh, 2016) ตัวอย่างกลไกการกระตุ้นของโลหะที่นำมาสู่ความเป็นพิษหรือความทนทานของสิ่งมีชีวิตนั้น

มีลำดับของเหตุการณ์ดังนี้ เริ่มต้นด้วยการที่โลหะเข้าสู่เซลล์ทางโปรตีนขนส่งที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ หรือด้วยการแพร่เข้าทางเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นโลหะเข้าไปทำปฏิกิริยาต่อเอนไซม์ NADPH oxidase โดยตรง ทำให้มีการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เพิ่มขึ้นอย่างมาก จากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ดังกล่าวทำให้เกิดการผลิตสารอนุมูลอิสระ (Free radical) เพิ่มขึ้น จากนั้นภายในนิวเคลียสจะมีการกระตุ้นการถอดรหัสดีเอ็นเอโดยเอนไซม์ไคเนส (Kinase) สุดท้ายมีการผลิตโปรตีนความเครียด (Stress protein) ซึ่งเป็นสาเหตุของความเสียหาย (ความเป็นพิษ) และความทนทาน (ซ่อมแซม) ของสิ่งมีชีวิตเมื่อได้รับโลหะ (Shanker, 2008) นอกจากนี้ Arrighetti et al. (2018) กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ย่อยอาหารดังกล่าวอาจส่งผลต่อวิถีทางชีวเคมีซึ่งนำมาสู่การทำงานที่ไม่สมบูรณ์ของต่อมย่อยอาหาร โดยการเปลี่ยนแปลงของการเสียดสภาพที่พบในต่อมย่อยอาหารนี้ เซลล์ไม่สามารถกลับมาสู่สภาพปกติได้อีกและการเกิดช่องว่างภายในเนื้อเยื่อผิวหนังเป็นการผลัดเซลล์ (Cell peeling) หรือการหลุดออกของเซลล์ย่อยอาหารอาจเกิดขึ้นเนื่องจากหลาย ๆ ปัจจัย เช่น โลหะหนักและสารกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น (Auffret 1988; Usheva, Vaschenko, & Durkina, 2006; Osterauer et al., 2010)

เนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm มีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนเซลล์เบโซฟิลิกมากกว่าหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั่วไปแล้วในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารมีเซลล์ย่อยอาหารมากกว่าเซลล์เบโซฟิลิกแต่ในสภาวะเครียดเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยจะมีเซลล์เบโซฟิลิกเพิ่มจำนวนมากขึ้น (Arrighetti et al., 2018) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์เบโซฟิลิกนี้สอดคล้องกับการรายงานการศึกษาเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *M. cornuarietis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเมื่อได้รับสัมผัสแพลตตินั่มคอลลอยด์ (Osterauer et al., 2010) และที่ได้รับสัมผัสทองแดงกับลิเทียม (Sawasdee, Köhler, & Triebskorn, 2011) พบว่ามีการเพิ่มจำนวนของเซลล์เบโซฟิลิกในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยชนิดดังกล่าวเมื่อได้รับสารปนเปื้อน และผลการศึกษาในครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Arrighetti et al. (2018) ที่ศึกษาเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสารกำจัดแมลงไซเพอร์เมทริน โดยพบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสารกำจัดแมลงดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตร มีเซลล์เบโซฟิลิกเพิ่มจำนวนมากขึ้นอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม ทั้งนี้เซลล์เบโซฟิลิกมีบทบาทสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมสมดุลของน้ำและสมดุลของกรด-เบสภายในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยฝาเดียว (Gastropod) ดังนั้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์เบโซฟิลิ

ลึคนี้อาจเกิดจากการที่หอยได้รับสัมผัสกับมลพิษทางสิ่งแวดล้อม (Dittebrenner et al., 2008; Scheil, Köhler, & Triebkorn, 2011) จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง

ทางพยาธิสภาพของเซลล์เบโซฟิลิกในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยฝาเดียวผลการศึกษานี้จำนวนแกรนูโลซิซึมในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารพบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนแกรนูโลซิซึมมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนแกรนูโลซิซึมไม่แตกต่างกัน ผลการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับการรายงานที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *M. cornuarietis* ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเมื่อได้รับทองแดงกับลิเทียม (Sawasdee et al., 2011) และหอยเชอร์รี่ที่ได้รับทองแดง (Dumme et al., 2015) โดยพบว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยฝาเดียวน้ำจืดชนิด *M. cornuarietis* (Sawasdee et al., 2011) และหอยเชอร์รี่ (Dumme et al., 2015) ที่ได้รับสารดังกล่าวมีจำนวนแกรนูโลซิซึมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม และผลการศึกษานี้จำนวนแกรนูโลซิซึมครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับการรายงานการศึกษาผลของสารกำจัดแมลงไซเพอร์เมทรินต่อเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ Arrighetti et al. (2018) รายงานว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสารกำจัดแมลงไซเพอร์เมทรินมีการเพิ่มจำนวนแกรนูโลซิซึมมากกว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม และเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสารกำจัดแมลงที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรมีจำนวนแกรนูโลซิซึมเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มทดสอบอื่น ๆ (10 และ 25 ไมโครกรัมต่อลิตร) และแกรนูโลซิซึมจะมีจำนวนลดลงเมื่อหอยเชอร์รี่อยู่ในระยะฟักตัว การที่แกรนูโลซิซึมมีจำนวนลดลง เกิดจากแกรนูโลซิซึมถูกกำจัดออกมากับมูลของหอย จากรายงานของ Mason and Simkiss (1982) กล่าวว่า การเพิ่มขึ้นของจำนวนแกรนูโลซิซึมอาจเป็นกลไกในการกำจัดสารในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร และจากการรายงานของ Dumme et al. (2012) กล่าวว่าในกลุ่มหอยฝาเดียวเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารเป็นอวัยวะที่มีการผลิตแกรนูโลที่ไมใช่แร่ธาตุ (Non-mineralized) ซึ่งอยู่ในรูปของสารตกค้างที่มีองค์ประกอบของซิลิเฟออยู่ภายในไลโซโซม และเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารในกลุ่มหอยฝาเดียวยังมีบทบาทสำคัญในการดูดซับ การสะสมสารปนเปื้อนและการสลายสารเคมีอินทรีย์กับสารเคมีอินทรีย์ (Marigómez, Soto, Cajaraville, Angulo, & Giamberini, 2002; Usheva et al., 2006) ถ้าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารเกิดความเสียหายอาจมีผลทำให้ความสามารถในการย่อยอาหารของหอยลดลงได้ (Osterauer et al., 2010) ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 0.5 ppm ไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุมอาจเป็นเพราะระดับความเข้มข้นของตะกั่วและระยะเวลาที่หอยได้สัมผัสกับสารละลาย

ตะกั่วไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยในกลุ่มทดสอบแตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน อย่างเช่น Mleiki et al., (2018) รายงานผลของตะกั่วต่อเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทากบกชนิด *Cantarus apertus* ที่เก็บจากพื้นที่ที่ไม่ปนเปื้อนตะกั่วและเลี้ยงหอยเพื่อปรับสภาพในห้องปฏิบัติการก่อนทำการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อให้หอยทากบกชนิดดังกล่าวกินอาหารที่ปนเปื้อนตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 25 ppm เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ คณะผู้วิจัยรายงานว่าเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทากบกชนิดนี้ มีการหลุดของเศษเซลล์ย่อยอาหารออกมาอยู่บริเวณช่องว่างตรงกลางต่อมเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหาร เซลล์กำจัดสาร (Excretory cell) มีขนาดใหญ่ขึ้น และพบช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยในกลุ่มควบคุม จากการรายงานที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าหอยทากบกชนิด *C. apertus* ได้สัมผัสตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นมากกว่าหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในการศึกษาครั้งนี้ 5 เท่า และได้รับตะกั่วเป็นระยะเวลานานกว่าการศึกษาครั้งนี้ จึงทำให้หอยทากบกชนิดดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารอย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม

ผลการศึกษามิถุนวิทยาของหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในครั้งนี้พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดประกอบด้วย เนื้อเยื่อบุผิวชั้นเดียว เกิดจากการเรียงตัวของเซลล์เนื้อเยื่อบุผิวทรงสูงที่ด้านปลายอิสระพบซิเลียตลอดต่อเนื้อเยื่อหลอดอาหารและพบเซลล์มีคัสแทรกอยู่ระหว่างชั้นเนื้อเยื่อบุผิว แต่ไม่พบเซลล์มีคัสแทรกอยู่ใต้ชั้นเนื้อเยื่อบุผิวเหมือนกับเนื้อเยื่อหลอดอาหารส่วนต้นของหอยทะเลฝาดเดียวชนิด *Bulla striata* ที่พบเซลล์หลังสารบริเวณใต้ชั้นเนื้อเยื่อบุผิว ถัดจากชั้นเนื้อเยื่อบุผิวเป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษามิถุนวิทยาของหลอดอาหารส่วนต้นของหอยทะเลฝาดเดียวชนิด *B. striata* (Lobo-da-Cunha et al., 2010a) แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารส่วนปลายของหอยทะเลฝาดเดียวชนิดนี้ไม่พบซิเลียที่ปลายอิสระของชั้นเนื้อเยื่อบุผิว (Lobo-da-Cunha et al., 2010b) ในขณะที่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองในการศึกษาครั้งนี้พบซิเลียที่ปลายอิสระของเนื้อเยื่อบุผิวตลอดต่อเนื้อเยื่อหลอดอาหารทั้งเนื้อเยื่อหลอดอาหารส่วนต้นและส่วนปลาย โดยผลการศึกษารูปการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ การเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิว การเพิ่มจำนวนเซลล์มีคัสแทรก การสูญเสียซิเลียและการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวทางสถิติแสดงให้เห็นว่าหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีการเสียหายของเนื้อเยื่อบุผิวไม่แตกต่างกัน แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm มีการ

เสี่ยงสภาพของเนื้อเยื่อผิวหนังมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Dumme et al. (2015) ที่ศึกษาผลของคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่ที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ หอยเชอร์รี่ที่ได้รับคอปเปอร์ซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 146 ไมโครกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง เนื้อเยื่อหลอดอาหารเกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อผิวหนัง ทำให้เห็นเป็นช่องว่างที่เนื้อเยื่อผิวหนังและการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Kruatrachue et al. (2011) และ Dumme et al. (2012) ที่ศึกษาในหอยเชอร์รี่ที่ได้รับสัมผัสดินตะกอนที่ปนเปื้อนโลหะหนัก (ตะกั่ว โครเมียม นิกเกิล แคลเซียม สังกะสี เหล็ก และทองแดง) จากแม่น้ำแม่กลอง จ.สมุทรสงคราม และ (ทองแดง แมงกานีส เหล็ก ตะกั่ว และแคลเซียม) จากบึงบอระเพ็ด จ.นครสวรรค์ ตามลำดับ ซึ่งหอยเชอร์รี่ที่สัมผัสกับตะกอนดินที่ปนเปื้อนโลหะหนักดังกล่าวพบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารเกิดการเสียหายของเนื้อเยื่อผิวหนังเช่นกัน แต่ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อผิวหนังไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุม และจากการวิเคราะห์ข้อมูลการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันทางสถิติแสดงให้เห็นว่าหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่แตกต่างกัน แต่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วความเข้มข้น 0.5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับการรายงานของ Tanhan et al. (2005) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยหวานชนิด *Babylonia areolata* ที่ได้รับมาจากสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา แล้วเลี้ยงปรับสภาพก่อนการทดลองเป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่อได้รับแคลเซียมที่ระดับความเข้มข้น 0.08 ppm ระยะเวลา 3 เดือน (พิษกึ่งเรื้อรัง) พบการแยกของชั้นเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อออกจากรูปร่างเนื้อเยื่อผิวหนังอย่างมาก สังเกตเห็นเป็นช่องว่าง แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุม การที่เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้น 0.05 และ 5 ppm มีการเสียหายของเนื้อเยื่อผิวหนังและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันไม่แตกต่างกับหอยในกลุ่มควบคุมอาจเป็นเพราะหอยทั้ง 2 ชนิดมีโอกาสได้รับสารละลายตะกั่วทางเนื้อเยื่อหลอดอาหารได้เล็กน้อย โดยทางเดินอาหารส่วนต้นของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีเรอูล่า หรือฟันของหอยพบอยู่ในช่องปากซึ่งทำหน้าที่ในการบดกินอาหาร (Jordan & Verma, 1983 cited in Thaewnon-ngiw, 2003) และอาจเป็นเพราะอาหารที่ให้อหอย

ทั้ง 2 ชนิดกินไม่ได้ทำการทรีทส์สารละลายตะกั่วก่อนทำการทดลอง แต่ทำการทรีทส์สารละลายตะกั่วในน้ำที่ทำการทดลองเพียงอย่างเดียว จากรายงานของ Mleiki et al. (2018) ที่ศึกษาผลของตะกั่วต่อเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยทากบกชนิด *Cantareus apertus* เมื่อให้หอยกินอาหารที่ปนเปื้อนตะกั่วความเข้มข้น 25 ppm โดยผลการศึกษาคือเป็นตามที่กล่าวมาข้างต้น

เนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอรี่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนเซลล์มีวักส์เพิ่มขึ้นมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีจำนวนเซลล์มีวักส์เพิ่มขึ้นมากกว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Tanhan et al. (2005) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยหวานชนิด *B. areolata* ที่ได้รับสัมผัสแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้น 3.35 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง (พิษแบบเฉียบพลัน) การเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยหวานในกลุ่มทดสอบ คือ การเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ และการรายงานของ Dumme et al. (2012) รายงานว่าหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสตะกั่วชนิดที่ปนเปื้อนโลหะหนัก (เหล็ก แมงกานีส ทองแดงและสังกะสี) พบจำนวนเซลล์มีวักส์เพิ่มมากขึ้นในเนื้อเยื่อหลอดอาหาร และ Dumme et al. (2015) รายงานว่าคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) มีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์ในเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร (หลอดอาหารและลำไส้เล็ก) ของหอยเชอรี่เมื่อหอยเชอรี่ได้รับคอปเปอร์ซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้น 146 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเซลล์มีวักส์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยในกลุ่มควบคุม สาเหตุของการเพิ่มจำนวนเซลล์มีวักส์อาจเป็นเพราะเนื้อเยื่อหลอดอาหารผลิตเมือก (Mucous) มากขึ้น เพื่อลดพิษของสารที่หอยได้รับ (Dumme et al., 2012; Dumme et al., 2015) จากรายงานของ Sze and Lee (1995) กล่าวว่าหอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ *Perna viridis* ที่เก็บจากธรรมชาติ เมื่อได้รับสัมผัสทองแดงความเข้มข้น 0.5 ppm ระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการวัดปริมาณไอออนของทองแดงในเมือกที่หอยปล่อยออกมาได้เท่ากับ 18 เท่า และในเนื้อเยื่อของหอยแมลงภู่นิวซีแลนด์ดังกล่าวเท่ากับ 6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่ามีไอออนของทองแดงในเมือกมากกว่าในเนื้อเยื่อของหอย ดังนั้นจากกลไกการลดพิษของสารในหอย อธิบายได้ว่าหอยจะผลิตเมือกเพื่อจับกับไอออนของโลหะก่อนที่ไอออนของโลหะเหล่านั้นจะถูกขนส่งไปอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของหอย เมื่อหอยได้รับสัมผัสกับโลหะหนักจึงพบว่าการปล่อยเมือกจำนวนเพิ่มมากขึ้นและในเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยมีการผลิตเซลล์มีวักส์เพิ่มมากขึ้นด้วย (Sze & Lee, 1995)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการสูญเสียเซลล์ของเนื้อเยื่อหลอดอาหารทางสถิติแสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีการสูญเสียเซลล์ไม่แตกต่างกัน

อย่างไรก็ตามเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยทั้ง 2 ชนิดในกลุ่มที่ได้รับตะกั่วมีการสูญเสียซีลีเนียมมากกว่าหอยในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Dumme et al. (2012) พบว่าเนื้อเยื่อทางเดินอาหาร (หลอดอาหารและลำไส้เล็ก) ของหอยเชอรี่ที่ได้รับสัมผัสตะกอนดินที่ปนเปื้อนโลหะหนัก (เหล็ก แมงกานีส ทองแดงและสังกะสี) มีการสูญเสียซีลีเนียมเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม และผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Tanhan et al. (2005) พบว่าพิษแบบเฉียบพลันของแคดเมียมที่ระดับความเข้มข้น 3.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 96 ชั่วโมง มีผลต่อเนื้อเยื่อหลอดอาหารของหอยหวานชนิด *B. areolata* ทำให้ความยาวของซีลีเนียมที่บริเวณเนื้อเยื่อบุผิวในหลอดอาหารสั้นลงเล็กน้อย และมีผลเพิ่มมากขึ้นเมื่อหอยหวานชนิดดังกล่าวได้รับสัมผัสแคดเมียมความเข้มข้น 0.08 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน (พิษกึ่งเรื้อรัง) พบว่าซีลีเนียมบริเวณเนื้อเยื่อบุผิวในหลอดอาหารมีความยาวสั้นลงปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับหอยในกลุ่มควบคุม ซึ่งผลของการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของเซลล์ในเนื้อเยื่อหลอดอาหารทั้งหมดที่กล่าวมานี้อาจทำให้การทำงานของหลอดอาหารผิดปกติไป เช่น มีผลต่อการเคลื่อนที่ของอาหารจากหลอดอาหารไปยังระบบทางเดินอาหารส่วนอื่น ๆ ต่อไป สุดท้ายอาจส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมการกินอาหารของหอยที่อาจเปลี่ยนแปลงไปได้

จากผลการศึกษาการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างพฤติกรรมการกินอาหารและพยาธิสภาพของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอรี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการพบว่าผลการศึกษาทั้ง 2 การศึกษาไม่มีความสัมพันธ์กัน นอกจากนี้ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหอยเชอรี่มีความทนทานต่อสารละลายตะกั่วมากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมือง ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Bielen et al. (2016) ที่ศึกษาในหอยแมลงภู่ 2 ชนิด ได้แก่ หอยแมลงภู่พันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานชนิด *Sinanodonta woodiana* และหอยแมลงภู่พันธุ์พื้นเมืองชนิด *Anodonta anatina* ที่ทำการเปรียบเทียบความทนทานต่อสถานะเครียดที่เกิดจากอุณหภูมิที่ต่ำสุดและสูงสุดกับการปนเปื้อนโลหะสังกะสี และทำการวัดการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความเครียดของเซลล์เพื่อเป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) โดยคณะผู้วิจัยรายงานว่าหอยแมลงภู่พันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานมีความทนทานต่อสถานะเครียดจากอุณหภูมิและโลหะสังกะสีได้สูงกว่าหอยแมลงภู่พันธุ์พื้นเมือง โดยหอยแมลงภู่พันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานมีการสะสมเอนไซม์ข้างต้นลดลงแตกต่างกับหอยแมลงภู่พันธุ์พื้นเมือง อีกนัยหนึ่งคือความสามารถในการทนทานต่อสถานะเครียดทั้ง 2 สถานะข้างต้นของหอยแมลงภู่พันธุ์ต่างถิ่นที่รุกรานอาจทำให้หอยแมลงภู่ดังกล่าวสามารถอยู่รอดได้ในสภาพภูมิอากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงไป

ผลการศึกษาศรีการสะสมสารละลายตะกั่วในเนื้อเยื่อหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองที่ได้รับตะกั่วที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในห้องปฏิบัติการพบว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองสามารถสะสมสารละลายตะกั่วในเนื้อเยื่อได้ปริมาณมากกว่าหอยเชอร์รี่ (ตารางที่ 5) ดังนั้นผลการศึกษาคั้งนี้แสดงให้เห็นว่าหอยแต่ละชนิดมีความสามารถในการสะสม โลหะหนักแตกต่างกันและหอยมีความสามารถในการสะสม โลหะหนักแต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย เช่น การศึกษาของ Lau et al. (1998) ที่ทำการศึกษาการสะสมปริมาณสารหนู ทองแดง เหล็กและสังกะสีในเนื้อเยื่อและเปลือกของหอย 3 ชนิด ได้แก่ หอย *Brotia costula* หอย *Melanoides tuberculata* และหอย *Clithon sp. nr retropictus* โดยพบว่าสารหนูในเนื้อเยื่อของหอย *B. costula* และหอย *Clithon sp.* มีปริมาณที่สูงกว่าระดับที่ยอมรับได้สำหรับการบริโภคของมนุษย์และพบว่าหอยทั้ง 3 ชนิดสามารถสะสม โลหะหนักที่ระดับแตกต่างกัน และ Usero et al. (2005) รายงานการวิเคราะห์ปริมาณ โลหะหนักในหอยสองฝา ได้แก่ หอย *Donax trunculus* และหอย *Chanelea gallina* จากผลการศึกษาพบปริมาณ โครเมียม ทองแดง ตะกั่ว สังกะสี สารหนูและปรอทสะสมอยู่ในหอย *D. trunculus* สูงกว่าในหอย *C. gallina* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่หอย *C. gallina* มีการสะสมปริมาณนิกเกิลและแคดเมียมสูงกว่าหอย *D. trunculus* ผลการศึกษาของงานวิจัยดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าปริมาณ โลหะหนักที่วิเคราะห์ได้นั้นอาจขึ้นอยู่กับชนิดของหอยและชนิดของโลหะหนักที่นำมาศึกษาด้วย ในขณะที่งานวิจัยบางงานที่ทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณ โลหะหนัก 6 ชนิดจากแต่ละเนื้อเยื่อของหอย เช่น การศึกษาของ Kruatrachue et al. (2011) และ Dumme et al. (2012) ที่รายงานว่าเนื้อเยื่อทางเดินอาหารและเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่สามารถสะสม โลหะหนักได้หลายชนิดและสะสมได้ปริมาณมากกว่าเนื้อเยื่อส่วนอื่นของหอย รวมถึงจากงานวิจัยของ Pyatt et al. (2002) รายงานว่าพบสารละลายตะกั่วปริมาณสูงที่สุดในเนื้อเยื่อ Buccal mass (ที่มีเนื้อเยื่อหลอดอาหารอยู่ภายใน) ของหอยฝาดเดียวน้ำจืดชนิด *Lymnaea stagnalis* หลังจากหอยสัมผัสกับสารละลายตะกั่วความเข้มข้น 5 ppm และ 10 ppm เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง ดังนั้นการศึกษาผลของตะกั่วต่อมิถุนวิทยาในระบบทางเดินอาหารของหอยเชอร์รี่และหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองครั้งนี้ที่เลือกศึกษาเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารและเนื้อเยื่อหลอดอาหารเป็นเนื้อเยื่อที่เหมาะสมเพราะเป็นเนื้อเยื่อที่มีการสะสม โลหะหนักปริมาณมากกว่าเนื้อเยื่ออื่นในหอย และผลการประเมินประสิทธิภาพในการสะสมทางชีวภาพของสารละลายตะกั่วในเนื้อเยื่อหอยทั้ง 2 ชนิดครั้งนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Dumme et al. (2015) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการสะสมทองแดงในเนื้อเยื่อของหอยเชอร์รี่ พบว่าเนื้อเยื่อเหงือก เนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเนื้อเท้า เนื้อเยื่อทางเดินอาหารและเนื้อเยื่อต่อมย่อยอาหารของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มทดสอบมีการสะสมปริมาณทองแดงมากกว่าเนื้อเยื่อดังกล่าวของหอยเชอร์รี่ในกลุ่มควบคุม ค่า BAC คือ 2.23 1.95 1.39 และ 1.02 เท่า ตามลำดับ และค่า BCF คือ 50.8 27.6 33.7 และ 20.0 ตามลำดับ ซึ่ง

ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองมีประสิทธิภาพในการสะสมสารละลายตะกั่วในเนื้อเยื่อสูงกว่าในเนื้อเยื่อหอยเชอรี่ (ตารางที่ 6) ดังนั้นหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองจึงอาจมีแอนโตนิมที่ใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพ (Biomarker) สำหรับการปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้ ในขณะที่หอยเชอรี่อาจมีแอนโตนิมที่ใช้เป็นตัวชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการปนเปื้อนตะกั่วในสิ่งแวดล้อมทางน้ำได้เช่นกัน ด้วยเหตุผลที่ว่ามีความทนทานต่อสารละลายตะกั่วและสามารถพบในธรรมชาติได้มากกว่าหอยโข่งพันธุ์พื้นเมืองนั่นเอง

บรรณานุกรม

- กรมควบคุมมลพิษ. (2553). *คู่มือวิธีปฏิบัติสำหรับการเก็บตัวอย่างน้ำจากแหล่งน้ำ*. เข้าถึงได้จาก http://infofile.pcd.go.th/water/Water_CollNat_Manual.pdf
- ชวลิต วิทยานนท์. (2549). ชนิดพันธุ์สัตว์น้ำต่างถิ่นที่รุกรานที่สุดในประเทศไทย. ในรายงานการประชุมวิชาการ เรื่องชนิดพันธุ์ต่างถิ่น วันที่ 31 สิงหาคม 2549 (หน้า 67-74). กรุงเทพฯ: สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม.
- Abdel-Halim, K. Y., El-Saad, A. A., Talha, M. M., Hussein, A. A., & Bakry, N. M. (2013). Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*, 93(6), 1131-1138.
- Amusan, A. A. S., Anyaele, O. O., & Lasisi, A. A. (2002). Effects of copper and lead on growth, feeding and mortality of terrestrial gastropod *Limicolaria flammea* (Muller, 1774). *African Journal of Biomedical Research*, 5(1-2), 47-50.
- Arrighetti, F., Ambrosio, E., Astiz, M., Capitulo, A. R., & Lavarías, S. (2018). Differential response between histological and biochemical biomarkers in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gasteropoda: Amullariidae) exposed to cypermethrin. *Aquatic Toxicology*, 194, 140-151.
- Auffret, M. (1988). Histopathological changes related to chemical contamination in *Mytilus edulis* from field and experimental conditions. *Marine Ecology Progress Series*, 46, 101-107.
- Bae, M. J., & Park, Y. S. (2015). Characterizing the effects of temperature on behavioral periodicity in golden apple snails (*Pomacea canaliculata*). *Ecological Informatics*, 29, 130-138.
- Bhagat, J., Ingole, B. S., & Singh, N. (2016). Glutathione S-transferase, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and lipid peroxidation as biomarkers of oxidative stress in snails: A review. *Invertebrate Survival Journal*, 13, 336-349.

- Bielen, A., Bošnjak, I., Sepčić, K., Jaklič, M., Cvitanić, M., Lušić, J., & Hudina, S. (2016). Differences in tolerance to anthropogenic stress between invasive and native bivalves. *Science of the Total Environment*, 543, 449-459.
- Chaichana, R., & Sumpan, T. (2014). The potential ecological impact of the exotic snail *Pomacea canaliculata* on the Thai native snail *Pila scutata*. *Science Asia*, 40, 11-15.
- Chapple, D.G., Simmonds, S.M., & Wong, B. (2012). Can behavioral and personality traits influence the success of unintentional species introductions?. *Trends in ecology & evolution*, 27(1), 57-64.
- Dittbrenner, N., Lazzara, R., Köhler, H. R., Mazzia, C., Capowiez, Y., & Triebkorn, R. (2008). Heat tolerance in Mediterranean land snails: histopathology after exposure to different temperature regimes. *Journal of Molluscan Studies*, 75(1), 9-18.
- Døving, K.B. (1991). Assessment of animal behaviour as a method to indicate environmental toxicity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1), 247-252.
- Dumree, V., Kruatrachue, M., Trinachartvanit, W., Tanhan, P., Pokethitiyook, P., & Damrongphol, P. (2012). Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, aquatic plant and histopathological effects on the golden apple snail in Beung Boraphet reservoir, Thailand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 86, 20412.
- Dumree, V., Tanhan, P., Kruatrachue, M., Damrongphol, P., & Pokethitiyook, P. (2015). Histopathological changes in snail, *Pomacea canaliculata*, exposed to sub-lethal copper sulfate concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 290-295.
- El-Shenawy N. S., Mohammadden, A., & Al-Fahmie, Z. H. (2012). Using the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system of the land snail *Eobania vermiculata* as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution. *Ecotoxicology Environment Safety*, 84, 347-354.
- Jordan, E. L. & P. S. Verma. 1983. *Invertebrate Zoology*. S. Chand and Company Ltd., New Delhi.
- Klobucar, G. I., Lajtner, J., & Erben, R. (2001). Increase in number and size of kidney concretions as a result of PCP exposure in the freshwater snail *Planorbarius corneus* (Gastropoda, Pulmonata). *Diseases of Aquatic Organisms*, 44(2), 149-154.

- Kruatrachue, M., Sumritdee, C., Pokethitiyook, P., & Singhakaew, S. (2011). Histopathological effects of contaminated sediments on golden apple snail (*Pomacea canaliculata*, Lamarck 1822). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 86(6), 610-614.
- Lobo-da-Cunha, A., Oliveira, E., Alves, Â., Coelho, R., & Calado, G. (2010a). Light and electron microscopic study of the anterior oesophagus of *Bulla striata* (Mollusca, Opisthobranchia). *Acta Zoologica*, 91(2), 125-138.
- Lobo-da-Cunha, A., Oliveira, E., Ferreira, Í., Coelho, R., & Calado, G. (2010b). Histochemical and ultrastructural characterization of the posterior esophagus of *Bulla striata* (Mollusca, Opisthobranchia). *Microscopy and Microanalysis*, 16(6), 688-698.
- Lopes, M., Rodrigues, A., & Marigomez, I. (2001). Morphology and histology of the digestive gland of *Oxychilus atlanticus*. *Fauna and Flora of the Atlantic Islands*, 2(Part B), 71-76.
- Lau, S., Mohamed, M., Yen, A. T. C., & Su'Ut, S. (1998). Accumulation of heavy metals in freshwater molluscs. *Science of the Total Environment*, 214(1), 113-121.
- Marigómez, I., Soto, M., Cajaraville, M. P., Angulo, E., & Giamberini, L. (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique*, 56(5), 358-392.
- Mason, A. Z., & Simkiss, K. (1982). Sites of mineral deposition in metal-accumulating cells. *Experimental Cell Research*, 139(2), 383-391.
- Mleiki, A., Zaldibar, B., Izagirre, U., El Menif, N. T., & Marigómez, I. (2018). Effects of dietary Pb and Cd and their combination on lysosomal and tissue-level biomarkers and histopathology in digestive gland of the land snail, *Cantareus apertus* (Born, 1778). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 156, 301-310.
- Osterauer, R., Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2010). Histopathological alterations and induction of hsp70 in ramshorn snail (*Marisa cornuarietis*) and zebrafish (*Danio rerio*) embryos after exposure to PtCl₂. *Aquatic Toxicology*, 99(1), 100-107.
- Peña, S. C., & Pocsidio, G. N. (2007). Influence of copper on the feeding rate, growth and reproduction of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* Lamarck. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79(6), 606-608.

- Pradabphetrat, P., Aroonsrimorakot, S., Fureder, L., Tosh, C., & Piyapong, C. (2018). A comparison of feeding behaviour and preferences of native and non-native Invasive Apple Snail in Thailand. *Chiang Mai Journal of Science*, 45(6), 2294-2302.
- Pyatt, A., Pyatt, F., & Pentreath, V. (2002). Lead toxicity, locomotion and feeding in the freshwater snail, *Lymnaea stagnalis* (L.). *Invertebrate Neuroscience*, 4(3), 135-140
- Radwan, M. A., El-Gendy, K. S., & Gad, A. F. (2010). Oxidative stress biomarkers in the digestive gland of *Theba pisana* exposed to heavy metals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58(3), 828-835.
- Sawasdee, B., Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2011). Histopathological effects of copper and lithium in the ramshorn snail, *Marisa cornuarietis* (Gastropoda, Prosobranchia). *Chemosphere*, 85(6), 1033-1039.
- Scheil, A. E., Köhler, H. R., & Triebkorn, R. (2011). Heat tolerance and recovery in Mediterranean land snails after pre-exposure in the field. *Journal of Molluscan Studies*, 77(2), 165-174.
- Scott, G.R., & Sloman, K.A. (2004). The effects of Rainbow, P.S. (1995). Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31, 183-192.
- Shanker, A. K. (2008). 21 Mode of Action and Toxicity of Trace Elements. In M. N. V. Prasan (Ed.), *Trace elements: Nutritional Benefits, Environmental Contamination, and Health* (pp. 525-555). United States of America: John Wiley & Sons.
- Shuhaimi-Othman, M., Nur-Amalina, R., & Nadzifah, Y. (2012). Toxicity of metals to a freshwater snail, *Melanooides tuberculata*. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-10.
- Sze, P. W. C., & Lee, S. Y. (1995). The potential role of mucus in the depuration of copper from the mussels *Perna viridis* (L.) and *Septifer virgatus* (Wiegmann). *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 390-393.
- Tanhan, P., Sretarugsa, P., Pokethitiyook, P., Kruatrachue, M., & Upatham, E. S. (2005). Histopathological alterations in the edible snail, *Babylonia areolata* (spotted babylon), in acute and subchronic cadmium poisoning. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 20(2), 142-149.

- Usero, J., Morillo, J., & Gracia, I. (2005). Heavy metal concentrations in molluscs from the Atlantic coast of southern Spain. *Chemosphere*, 59(8), 1175-1181.
- Usheva, L. N., Vaschenko, M. A., & Durkina, V. B. (2006). Histopathology of the digestive gland of the bivalve mollusk *Crenomytilus grayanus* (Dunker, 1853) from southwestern Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Russian Journal of Marine Biology*, 32(3), 166-172.