ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อพัฒนาการและความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง
Toxicity of Deltamethrin on Development and Mouthpart Deformities of *Chironomus calipterus* (Keiffer)

Prince of Songkla University
Pattani Campus

มันทนา โตะแบ
Montana Toebae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Applied Biology
Prince of Songkla University
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อพัฒนาการและความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง

Toxicity of Deltamethrin on Development and Mouthpart Deformities of *Chironomus calipterus* (Keiffer)

Prince of Songkla University
Pattani Campus

มันทนา โตะแบ
Montana Toebae

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science in Applied Biology
Prince of Songkla University
2558

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อพัฒนาการและความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง
ผู้เขียน นางสาวมันทนา โตะแบ
สาขาวิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณชไม การถนัด)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมพร ประเสริฐส่งสกุล)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรรณชไม การถนัด)

.....กรรมการ
(ดร. นิรัติศัย เพชรสุภา)

.....กรรมการ
(ดร. ภวิกา มหาสวัสดิ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีระพล ศรีชนะ)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

Prince of Songkla University Pattani Campus

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มีส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณชไม การถนัด)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....
(นางสาวมันทนา โตะแบ)
นักศึกษา

Prince of Songkla University
Pattani Campus

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวมันทนา โตะแบ)

นักศึกษา

Prince of Songkla University Pattani Campus

ชื่อวิทยานิพนธ์ ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อพัฒนาการและความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง
ผู้เขียน นางสาวมันทนา โตะแบ
สาขาวิชา ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

เดลตาเมทริน เป็นสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ มีความเป็นพิษสูงต่อสิ่งมีชีวิตในแหล่งน้ำ รวมทั้งตัวอ่อนของริ้นน้ำจืดที่เรียกว่าหนอนแดง *(Chironomus* sp.) ซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินและเหมาะสมที่จะนำมาทดสอบความเป็นพิษ การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังของสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ 2 ชนิด คือ เดลตาเมทรินและเดตาวอส ในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน ให้ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ของเดลตาเมทรินและเดตาวอสในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว (3.19, 13.74 ไมโครกรัมต่อลิตร) และสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน (16.38 และ 36.86 ไมโครกรัมต่อลิตร) ตามลำดับ ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของหนอนแดง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในขณะที่ผลต่อความผิดปกติของรยางค์ปากเมื่อสัมผัสสารในระยะเวลา 10 วัน ทั้งในสภาวะที่มีน้ำและน้ำกับตะกอนดิน พบความผิดปกติของ mentum มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งเมื่อนับความถี่ของชนิดความผิดปกติใน mentum พบว่าชนิด split teeth และ missing teeth สูงขึ้น เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ($p<0.05$) ยกเว้นความผิดปกติในส่วนของ pecten epipharyngis ซึ่งพบได้เมื่อทดสอบกับเดลตาเมทรินและเดตาวอสเฉพาะในสภาวะที่มีน้ำตะกอนดินเท่านั้น ($p<0.05$) ในขณะที่การทดสอบในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ (*In situ* exposure) พบความผิดปกติใน mentum แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังนั้นความผิดปกติของ mentum จึงเป็นเกณฑ์ที่เหมาะสมเพื่อศึกษาการตอบสนองต่อสารพิษของหนอนแดงในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ทั้งในห้องปฏิบัติการและในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ

Thesis Title Toxicity of Deltamethrin on Development and Mouthpart Deformities of *Chironomus calipterus* (Keiffer)
Author Miss Montana Toebae
Major Program Applied Biology
Academic Year 2014

ABSTRACT

Deltamethrin, a pyrethroid insecticide, is highly toxic to aquatic organisms including Midge *(Chironomus* sp.), a benthic invertebrate, which has been used as a good bioindicator of freshwater contamination. The aims of this study were to evaluate the acute and sub-chronic toxicity bioassay of two synthetic pyrethroids Deltamethrin and Detavos® under the condition of water only and water/sediment partition. The results of 48-h LC_{50} value of Deltamethrin and Detavos® under 2 conditions i.e water only (3.19, 13.74 µg/L) and water/sediment partition (16.38, 36.86 µg/L) were shown respectively. Sub-chronic bioassay revealed that growth and number of emergence were not significantly different ($p>0.05$) compared to those of the control. However, the mouthpart, mentum and type of mentum deformity i.e. split teeth and missing teeth significantly increased ($p<0.05$) with increasing dose in both chemicals and conditions of toxicity test. Although, the pecten epipharyngis deformity showed statistically increased ($p<0.05$) only in water/sediment partition of Deltamethrin and Detavos® concentration. Moreover, the *in situ* exposure revealed the mentum deformity significantly incresed compared to those of reference site. It can be concluded that the incidence of mentum deformities may better reflect the potential toxicity of water and sediment than other endpoint for both laboratory and *in situ* exposure.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.วรรณชไม การถนัด อาจารย์ที่ปรึกษาวิยานิพนธ์หลัก ผู้ที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ การตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่ทุกขั้นตอนเพื่อให้การเขียนเอกสารนำเสนอทางวิชาการและวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ที่สุด นอกจากนี้ยังเป็นผู้ให้กำลังใจและชี้แนะมุมมองของทัศนคติที่ดีในการทำงานร่วมกันตลอดมา

ขอขอบคุณแผนกชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ที่ได้ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกเรื่องเครื่องมือ อุปกรณ์ และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์สำหรับการนำมาใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัยและคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้การสนับสนุนเรื่องเงินอุดหนุนการวิจัยการจัดอบรม สัมมนาเกี่ยวกับการดำเนินงานวิจัย

ขอขอบคุณคุณนิรานี บินนิมะ ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยและยังเป็นกำลังใจในการทำงานร่วมกันตลอดเวลาของการศึกษาและคอยช่วยเหลือและติดต่อประสานงานอย่างดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยมีความภาคภูมิใจ ดีใจในความสำเร็จนี้ โดยมีครอบครัวเป็นกำลังสำคัญที่เป็นแรงผลักดัน กำลังใจและให้การสนับสนุนด้วยดีเสมอมา

คุณค่าและประโยชน์ใด ๆ จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ครอบครัวและครูอาจารย์ที่ได้อบรมสั่งสอนและชี้แนะแนวทางการศึกษาแก่ผู้วิจัยมาตลอด

มันทนา โตะแบ

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเกษตรในยุคปัจจุบัน นำความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์เกษตรและเทคโนโลยีมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสินค้า เช่น การใช้สารเคมีทางการเกษตรจำพวกปุ๋ยเคมี สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและฮอร์โมนพืชสังเคราะห์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ผลผลิตที่สูงขึ้นในการลงทุนที่เท่าเดิมในระยะเวลาเดิม เพื่อจะได้มีวัตถุดิบป้อนให้กับโรงงานอุตสาหกรรมและเป็นการประหยัดแรงงาน การใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ทำให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เนื่องจากการใช้สารเคมีในการกำจัดศัตรูพืชและแมลง ในแต่ละครั้งจะใช้ประโยชน์ได้เพียง 25% ที่เหลืออีก 75% จะกระจายสะสมในดินน้ำและอากาศในสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ คือ สารเคมีกำจัดศัตรูพืชไม่ได้ทำลายเฉพาะศัตรูพืชเท่านั้น แต่ยังทำลายแมลงและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในธรรมชาติอีกด้วย ซึ่งเป็นการทำลายความสมดุลของระบบนิเวศในธรรมชาติและผลที่ตามมา คือ การระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืชที่รุนแรงมากขึ้น การนำมาใช้นอกจากจะให้ประโยชน์ก็มักจะมีโทษควบคู่เสมอ บางชนิดมีความเป็นพิษสูงและมีความคงทนในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารกำจัดแมลงอินทรีย์สังเคราะห์ (synthesized organic insecticides)

เดลตาเมทริน (Deltamethrin) เป็นสารเคมีกำจัดแมลง ชนิดสังเคราะห์ที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายสารไพรีทรินส์ที่สกัดมาจากดอกเบญจมาศ ตระกูล Chrysanthemum (Viran *et al*., 2003) เป็นผงสีเหลือง ถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นน้อย ละลายในน้ำได้น้อย แต่ละลายได้ดีในอะซีโตน คลอโรฟอร์ม และไซลีน สารกลุ่มนี้เป็นสารกำจัดแมลงที่มีประสิทธิภาพสูง มีพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำ แต่ด้วยคุณสมบัติที่ไม่ทนต่อแสงของสารนี้ จึงมีการผลิตสารไพรีทรอยด์ (Pyrethroids) สังเคราะห์ขึ้นแทน เพราะทนต่อแสงได้นานกว่า สารกลุ่มนี้ออกฤทธิ์ในการกำจัดแมลงโดยเกิดพิษที่ระบบประสาทของแมลง (Lin *et al*., 2014) แต่สำหรับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมรวมทั้งมนุษย์พบว่าเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงและถูกขับถ่ายออกโดยไม่สะสมในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ส่วนในสิ่งแวดล้อม ดิน และพืช จะเสื่อมสลายอย่างรวดเร็ว สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ อัลเลทริน (allethrin) ไบโออัลเลทริน (bioallethrin) ไบโอเรสเมทริน (bioresmethrin) ไซเพอร์เมทริน (cypermethrin) เพอร์เมทริน (permethrin) ไซฟลูทริน (cyfluthrin) เป็นต้น มักถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งทางด้านการเกษตร ใช้กำจัดด้วงและมอดในโรงงานเก็บผลผลิตทางการเกษตร และกำจัดแมลงที่ทำลายพืชผลทางการเกษตร ด้านสาธารณสุขนำมาใช้เพื่อฉีดพ่นยุงที่เป็นพาหะทำให้เกิดโรคต่าง ๆ เช่น ไข้เลือดออก มาลาเรีย ชิคุนกุนยา ซึ่งเกิดจากยุงลายบ้านและยุงลายสวนเป็นพาหะนำโรค เมื่อยุงลายที่มีเชื้อกัดคนทำให้เกิดอาการของโรค การดำเนินของโรคทำให้ผู้ป่วยมีไข้สูง มีผื่นแดงตามร่างกาย อาจมีอาการคัน ตาแดง ท้องเดิน คลื่นไส้อาเจียน และจะมีอาการปวดข้อ อาจพบข้ออักเสบและมีอาการปวดนานเป็นเดือนหรือเป็นปี เดลตาเมทรินเป็นสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ตัวหนึ่งที่ใช้ในการควบคุมยุงลายตัวเต็มวัยโดยการพ่นหมอกควันและการพ่นฝอยละเอียด โดยมีความเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนกลางที่ควบคุมการเคลื่อนไหว ทำให้แมลงเป็นอัมพาตและเกิดการ knock down

อย่างรวดเร็ว หรือไปแสดงผลที่จุดกำเนิดของเส้นประสาทที่อยู่เหนือประสาทส่วนกลางของสมองขึ้นไปเป็นการทำลายระบบประสาทของแมลงทำให้แมลงตายในที่สุด ยาฆ่าแมลงชนิดนี้เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็น lipophilic ซึ่งจะสามารถดูดซึมผ่านคิวติเคิลที่ห่อหุ้มตัวของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากมีไขมันสูงที่บริเวณดังกล่าว การออกฤทธิ์จะไปขัดขวางการไหลผ่านของโซเดียมที่ช่องโซเดียม (sodium channels) ทำให้การสื่อสารของกระแสประสาทถูกขัดขวาง (no transmission of nerve impulse) ทำให้กระบวนการ depolarization ถูกขัดขวาง (Lund and Narahashi, 1983) ก่อให้เกิดความผิดปกติในระบบประสาท เช่น ระบบประสาททำงานไม่ประสานกัน กล้ามเนื้ออ่อนล้า หมดแรง และเป็นอัมพาต

ดังนั้น จากการนำมาใช้ไม่ได้คงอยู่เฉพาะในบริเวณพื้นที่การเกษตรเพียงเท่านั้น แต่มักจะแพร่กระจายออกไปในสิ่งแวดล้อม (Koprucu and Aydin, 2004) เพราะน้ำที่ไหลผ่านแปลงเกษตรที่มีการฉีดพ่นกำจัดแมลงจะไหลลงไปสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ และทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีในแหล่งน้ำสะสมอยู่ในห่วงโซ่อาหารและในกระบวนการทางชีวภาพ สิ่งมีชีวิตอาจจะบริโภคเข้าไปโดยตรง หรือได้สัมผัส หรือได้รับโดยทางอ้อมและมักพบการปนเปื้อนในตะกอนมากกว่าในน้ำเสมอ เพราะตะกอนมีประจุลบเป็นส่วนใหญ่ ส่วนยาฆ่าแมลงมักมีประจุเป็นบวก จึงมีความสามารถเกาะยึดกันได้ดีกว่าในน้ำ ดังนั้น จึงมักถูกเก็บสะสมกับตะกอนดินในแหล่งน้ำ (Solomon *et al*., 2001) จะเห็นได้ว่าหากมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติ สภาวะที่น้ำตามธรรมชาติถูกปนเปื้อนด้วยสิ่งแปลกปลอม (pollutants) และทำให้คุณภาพของน้ำเปลี่ยนแปลงไป คุณลักษณะทางกายภาพของน้ำที่ใช้ในการประเมินคุณภาพของน้ำ เช่น อุณหภูมิ (temperature) เนื่องจากมีผลต่อการเร่งปฏิกิริยาเคมี และมีผลต่อการละลายของออกซิเจนในน้ำสีและความขุ่น การนำไฟฟ้า กลิ่น ของแข็งในน้ำ และการปนเปื้อนของสารเคมีที่กำจัดศัตรูพืชและสัตว์ สารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (pesticides) ซึ่งใช้กันอย่างกว้างขวางในการเกษตร ได้แก่ กลุ่มคลอริเนตไฮโดรคาร์บอน ซึ่งสลายตัวช้าตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้นาน เช่น ดีดีที เฮ็บตาคลอร์ กลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต นอกจากมีพิษต่อแมลงศัตรูพืชแล้วยังมีพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นสูงมาก ดังนั้นสารในกลุ่มของไพรีทรอยด์จึงถูกนำมาใช้แทนที่สารกลุ่มนี้ เพราะมีการตกค้างน้อยกว่าและเป็นอันตรายน้อยกว่า (Sayeed *et al.*, 2003 and Toumi *et al*., 2014) แต่อย่างไรก็ตามสารเคมีกำจัดแมลงทุกชนิดล้วนแล้วแต่มีพิษทั้งสิ้น

การใช้สิ่งมีชีวิตทดสอบการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม (Bioassay) สามารถทำการศึกษาในกลุ่มของสิ่งมีชีวิตได้หลากหลายชนิด ทั้งที่เป็นสัตว์มีกระดูกสันหลัง เช่น กลุ่มของปลา และสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำ เช่น *Daphnia magna* (Toumi *et al*., 2013) และหนอนแดง (*Chironomus* sp.) (Arambourou *et al*., 2014; Khosrovyan *et al*., 2014; Praet *et al*., 2014; Ozaez *et al*., 2014; Michailova *et al*., 2015) และ ไฮดรา (*Hydra vulgaris*) (Karntanut and Poscoe, 2007) เพื่อเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเป็นพิษของสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม

หนอนแดง (*Chironomus* sp.) เป็นสัตว์หน้าดินที่อาศัยอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติโดยทั่วไปซึ่งเป็นระยะตัวหนอนของริ้นน้ำจืด เป็นแมลงในวงศ์ Chironomidae อับดับ Diptera ซึ่งมีอยู่หลากหลายชนิด เช่น *C. plumosus* (Wang *et al*., 2011; Schaller, 2014), *C. tentans*

(Ha and Choi, 2008a; Lee and Choi, 2009; Muscatello and Liber, 2010; Oberholster *et al*., 2011)*, C. riparius* (Ha and Choi, 2008b; Stefani *et al*., 2014; Park and Kwak, 2014) และ *C. calipterus* เป็นต้น หนอนแดงมีช่วงชีวิตที่อาศัยอยู่ทั้งในน้ำและอาศัยอยู่ในตะกอนดิน แพร่กระจายอย่างกว้างขวางไปทั่วโลก นับว่าเป็นกลุ่มที่พบเจอได้มากที่สุดในกลุ่มของแมลงในแหล่งน้ำธรรมชาติ พบเจอได้ทั้งในบริเวณที่เป็นแหล่งน้ำนิ่งและแหล่งน้ำไหล เช่น ลำคลอง แอ่งน้ำ แม่น้ำ ลำธาร คูระบายน้ำ เป็นต้น หลายชนิดคล้ายกับยุงมาก แตกต่างที่ไม่มีเกล็ดที่ปีกและปากที่ยาว ลำตัวมีขนาดยาว 1-9 มิลลิเมตร จำแนกชนิดแล้วมากกว่า 5,000 ชนิด ตัวอ่อนพบได้ในน้ำหรือใกล้ ๆ น้ำเกือบทุกที่ เช่น โพรงต้นไม้ พืชเน่าเปื่อย ดิน น้ำเสีย และในที่มีน้ำขังชั่วคราว เป็นต้น ตัวอ่อนของริ้นน้ำจืดมีสีแดงเข้ม เนื่องจากมีการสะสมของฮีโมโกลบิน (hemoglobin) มักเรียกว่าหนอนแดง (bloodworms) ตัวอ่อนและดักแด้เป็นอาหารที่สำคัญของปลา เช่น ปลาเทราซ์ ปลาม้าลาย ปลาทอง เป็นต้น สัตว์น้ำอื่น ๆ เช่น กุ้ง นกกินแมลง สัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ โดยส่วนใหญ่แล้วหนอนแดงมักจะอาศัยอยู่ในตะกอนดิน และมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม ปริมาณสารอาหาร และยังมีความสำคัญโดยเป็นตัวบ่งชี้สภาพแวดล้อมของแหล่งที่มันอยู่อาศัย ดังนั้นหนอนแดงจึงมีความเหมาะสม ในการทดสอบความเป็นพิษของสาร ซึ่งด้วยคุณสมบัติที่ดีหลายประการ เช่น วงจรชีวิตค่อนข้างสั้น เพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว ตอบสนองต่อสารพิษได้หลายชนิด ขยายพันธุ์ได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ จึงมักจะถูกนำมาใช้ในการทดสอบความเป็นพิษของสาร เช่น การทดสอบความเป็นพิษของ 4 n-nonylphenol (Meregalli *et al*., 2001), สังกะสีและตะกั่ว (Matinez, 2001) และกลุ่ม acridone (Di Veroli *et al*., 2012) ที่มีต่อหนอนแดง เป็นต้น ปัญหาการปนเปื้อนที่เกิดขึ้น อาจส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางด้านรูปร่างและโครงสร้าง (Meregalli *et al*., 2001) เกิดความผิดปกติในช่วงของการเจริญเติบโต (Dias *et al*., 2008) และความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ จนถึงขั้นรุนแรงที่อาจส่งผลให้เกิดการตายในสิ่งมีชีวิตได้ (Goedkoop *et al*., 2010) ดังนั้นหนอนแดงจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นสัตว์ทดลองเพื่อทดสอบการปนเปื้อนของสารน้ำและในตะกอนดินในสิ่งแวดล้อมเพราะมีช่วงที่ชีวิตอาศัยอยู่ทั้งในน้ำและในตะกอนดินและยังสามารถตอบสนองต่อสารพิษได้หลากหลายชนิดและตอบสนองได้ในช่วงกว้าง

การปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงในแหล่งน้ำ นับเป็นปัญหาสำคัญที่ต้องได้รับการแก้ไข เนื่องจากส่งผลกระทบทั้งทางด้านสุขภาพของมนุษย์ สิ่งแวดล้อมและเศรษฐกิจ ดังนั้น การทดสอบการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมโดยใช้สิ่งมีชีวิต จึงมีความจำเป็นที่ต้องนำมาใช้ในเพื่อเป็นเครื่องมือในการศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้น วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาความเป็นพิษของเดลตาเมทรินต่อหนอนแดงชนิด *Chironomus calipterus* (Keiffer) เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในระบบนิเวศและระบบห่วงโซ่อาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งการที่หนอนแดงได้รับเดลตาเมทรินทั้งในระดับของความเป็นพิษเฉียบพลันและความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง อาจส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติในการเจริญเติบโต (Growth) จำนวนตัวเต็มวัย (Emergence number) และความผิดปกติในส่วนของรยางค์ปาก (Mouthparts deformities) จึงได้ทำการทดสอบความเป็นพิษโดยใช้ความผิดปกติเหล่านี้เป็นเกณฑ์ในการประเมิน

1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 สารกำจัดแมลง (Insecticide)

หมายถึงสารเคมีที่สามารถฆ่า หรือไล่แมลงให้หนีไป สารเคมีชนิดนี้มีการใช้ 2 ทาง คือ ใช้ในทางการเกษตรและใช้ในทางสาธารณสุข เพื่อควบคุมแมลงศัตรูในบ้านเรือนไม่ให้นำโรคมาสู่มนุษย์และสัตว์ ในการใช้สารเคมีดังกล่าวอย่างถูกต้อง มีประสิทธิภาพและปลอดภัย ผู้ใช้จะต้องทราบข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับสารที่ใช้

การแบ่งกลุ่มสารกำจัดแมลง ตามองค์ประกอบทางเคมีเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ

1. สารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compounds) เป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ไม่มีองค์ประกอบของคาร์บอน (C) อยู่ในโครงสร้าง มีคุณสมบัติค่อนข้างคงทน มีการตกค้างยาวนาน ส่วนใหญ่ละลายน้ำได้ แต่สารกลุ่มนี้มักมีพิษสูงและเป็นพิษต่อมนุษย์และสัตว์ เช่น สารหนู (arsenic) กำมะถัน ปรอท เป็นต้น ปัจจุบันสารกลุ่มนี้ถูกแทนที่ด้วยสารประกอบอินทรีย์ไปแล้ว เนื่องจากมีความปลอดภัยและฤทธิ์ตกค้างไม่ยาวนานเกินไป ตัวอย่างสารประกอบกลุ่มนี้ ได้แก่ copper sulfate, sodium arsenite, boric acid, sodium fluoride เป็นต้น

2. สารประกอบอินทรีย์ (Organic compounds) เป็นสารที่มนุษย์สังเคราะห์ หรือสกัดขึ้นมาจากพืชมีธาตุองค์ประกอบที่สำคัญ คือ คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) เป็นหลักและมีธาตุอื่น ๆ มาประกอบร่วมด้วย เช่น คลอรีน (Cl) ออกซิเจน (O) ฟอสฟอรัส (P) และไนโตรเจน (N) ซึ่งธาตุเหล่านี้เป็นธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อหรือสารเคมีต่าง ๆ ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งสารประกอบสามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่าสารประกอบอนินทรีย์ สามารถแบ่งสารประกอบอินทรีย์เป็นกลุ่มย่อยต่าง ๆ ได้แก่

2.1. สารสกัดจากพืช (Botanical insecticide) หรืออาจเรียกว่าสารกำจัดแมลงจากธรรมชาติ (natural insecticides) หมายถึง สารเคมีที่ได้จากพืช แต่เป็นสารที่มีฤทธิ์เป็นสารกำจัดแมลง ได้แก่ สารไพรีทรัม (pyrethrum) เป็นสารที่สกัดได้จากดอกไพรีทรัม มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Chrysanthemum cinerariafolium* มีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์แบบสัมผัสต่อแมลง ทำให้แมลงสลบและตายอย่างรวดเร็ว สารนี้ค่อนข้างปลอดภัยต่อมนุษย์และสัตว์ จึงมีการใช้ในการควบคุมแมลงในบ้านเรือน ไพรีทรัมออกฤทธิ์โดยยับยั้งการส่งผ่านกระแสประสาทในแอกซอน ทำให้แมลงเป็นอัมพาตและตายในที่สุด

2.2 สารประกอบออร์กาโนคลอรีน (Organochlorine compounds) สารกลุ่มนี้เป็นสารอินทรีย์สังเคราะห์เป็นกลุ่มที่ประกอบด้วยธาตุไฮโดรเจน (H), คาร์บอน (C), และคลอรีน (Cl) สารเคมีกลุ่มนี้มีการสลายตัวช้าและพบว่ามีการสะสมอยู่ตามดิน น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในร่างกายของมนุษย์และสัตว์เลี้ยง สารเคมีที่รู้จักกันดีและใช้กันมาก ได้แก่ ดีดีที (DDT), ดีลดริน (dieldrin), ออลดริน (aldrin), ท็อกซาฟีน (toxaphene), คลอเดน (chlordane), ลินเดน (lindane) และแกมม่า เอชซีเอช (gamma HCH) เป็นต้น มีกลไกการออกฤทธิ์โดยไปมีผลต่อการส่งกระแสประสาทในเส้นประสาทแอกซอนโดยทำลายความสมดุลย์ของโซเดียมและโพแทสเซียมไอออนในเส้นประสาทดังกล่าวทั้งในแมลงและสัตว์เลือดอุ่น

2.3. สารกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาในฟอสเฟต (Organophosphorus compounds, OPs) หลังจากที่พบว่า Organo-chlorine มีการสะสมและมีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม

เป็นเวลานาน ทำให้เกิดมลภาวะแก่ดินและน้ำ การใช้สารเคมีกำจัดแมลงจึงได้เปลี่ยนไปใช้พวกสารประกอบที่มีฟอสฟอรัสเป็นตัวหลักมากขึ้น และในขณะนี้เป็นยุคที่มีการใช้สารเคมีกลุ่มนี้มากทั้งในด้านการเกษตรและในวงการสาธารณสุข แต่การเป็นพิษเกิดขึ้นได้เร็วกว่า Organo-chlorine และสลายตัวเร็วกว่า สารเคมีในกลุ่มนี้ที่ใช้กันมาก ได้แก่ มาลาไธออน (malathion), เฟนนิโตรไธออน (fenitrothion), พิริมิฟอสเมธิล (pirimiphos methyl) และไดคลอวอส (dichlorvos หรือ DDVP) เป็นต้น กลไกการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่ม OPs คือ ไปยับยั้งกระบวนการทำงานของเอนไซม์ acetylcholinesterase เมื่อเอนไซม์ถูกจับด้วยโมเลกุลสาร OPs เอนไซม์นั้นอยู่ในรูปที่เรียกว่า phosphorylated enzyme อย่างไรก็ตาม การจับดังกล่าวถูกปลดปล่อยออกมาได้ ผลการยับยั้งเอนไซม์ชนิดนี้ทำให้มีการสะสมของสาร acetylcholine (ACh) บริเวณรอยต่อระหว่างเซลล์ประสาท (neuron/neuron junction) หรือที่เรียกว่าบริเวณ synapse หรือระหว่างเซลล์ประสาทกับกล้ามเนื้อ (neuron/muscle junction) ส่งผลให้กล้ามเนื้อสั่นและชักกระตุกรุนแรงทำให้แมลงอัมพาต และตายในที่สุด

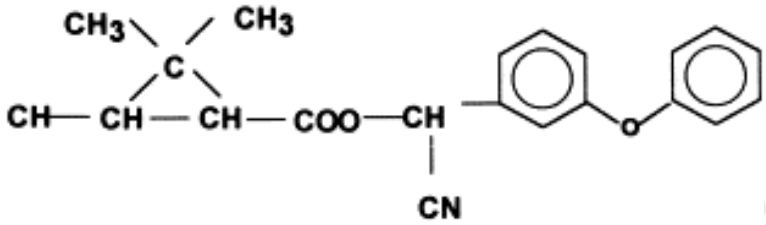
2.4 สารกำจัดแมลงกลุ่มคาร์บาเมท (Carbamate compounds) เป็นสารประกอบอีกกลุ่มหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการกำจัดแมลง อาการเป็นพิษเกิดขึ้นได้เร็วและสลายตัวเร็ว สารเคมีกลุ่มนี้มีคาร์บาริลกรุ๊ปเป็นตัวหลักที่สำคัญ ที่รู้จักกันมาก คือ โพรพ็อกเซอร์ (propoxur), เบนไดโอคาร์บ (bendiocarb), และแลนดริน (landrin) เป็นต้น สารกลุ่มนี้มีการออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงเหมือนสารกลุ่ม organophosphates โดยทั่วไปมีการตกค้างสั้นกว่ากลุ่ม organophosphates สามารถออกฤทธิ์ในการควบคุมแมลงได้กว้างขวาง (broad-spectrum)

2.5 สารกำจัดแมลงกลุ่มไพรีทรอยด์ เป็นสารเคมีกลุ่มที่สังเคราะห์ขึ้นโดยมีความสัมพันธ์ตามโครงสร้างของ pyrethrins ซึ่งสกัดได้จาก pyrethrum (ดอกเบญจมาศ) เป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อแมลงสูง แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลือดอุ่นต่ำ อย่างไรก็ตาม สารเคมีกลุ่มนี้มีราคาแพงมากเมื่อเทียบกับสารเคมีกลุ่มอื่น ๆ ที่เป็นที่รู้จักและใช้กันมากในขณะนี้ ได้แก่ เดลตาเมทริน (Deltamethrin), เพอร์เมทริน (permethrin), เรสเมทริน (resmethrin) และไบโอเรสเมทริน (bioresmethrin) เป็นต้น

1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ

เดลตาเมทรินเป็นสารสังเคราะห์ในกลุ่มไพรีทรอยด์ซึ่งเลียนแบบโครงสร้างทางเคมีของสารไพรีทรินส์ (Pyrethrins) มีฤทธิ์ในการกำจัดแมลง โดยไพรีทรินส์เป็นสารที่ได้จากการสกัดดอกไพรีทรัม (เป็นดอกไม้ในสกุลเดียวกับดอกเบญจมาศ) ซึ่งได้ถูกนำมาใช้เป็นสารในการควบคุมและกำจัดแมลงและถูกยอมรับว่ามีความปลอดภัยต่อมนุษย์สูงและสามารถที่จะทำให้สลายตัวได้ง่ายโดยกระบวนการย่อยสลายด้วยแสง สารไพรีทรอยด์ที่สังเคราะห์เลียนแบบโครงสร้างของไพรีทรินส์มีอยู่ด้วยกัน 2 รูปแบบคือ PyrethroidsType I และ PyrethroidsType II โดยที่ PyrethroidsType II จะมี cyanide อยู่ด้วย ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกันทำให้ความเป็นพิษของสารทั้ง 2 รูปแบบนี้มีความเป็นพิษแตกต่างกัน จากข้อมูลความเป็นพิษของ PyrethroidsType I ทำให้เกิดอาการ T-syndrime (Tremor syndrome) คือ เกิดอาการ Increased sensitivity to stimuli, fine tremor ส่วน Pyrethroids Type II ทำให้เกิดกลุ่มอาการ CS-syndrome (salivation syndrome) คือ อาการ

salivation, coarse tremor, choreoathetosis, hyperreflexia, clonic seizures และ hypothermia (Soderlund *et al*., 2002) ซึ่งทั้ง 2 รูปแบบจะทำหน้าที่ในการควบคุมและกำจัดแมลงที่แตกต่างกันโดย Pyrethroids Type I เป็นสารออกฤทธิ์ทำให้เกิดการตาย ส่วน Pyrethroids Type II จะทำให้สัตว์ที่ได้รับสารเกิดอาการ Knock down เดลตาเมทรินเป็นสารที่จัดอยู่ในกลุ่มไพรีทรอยด์ รูปแบบที่ 2 (ภาพที่ 1.1)



ภาพที่ 1.1 สูตรโครงสร้างของเดลตาเมทริน **(Shukla *et al.*, 2001)**

คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเดลตาเมทริน

ชื่อการค้า : เดลทริน 2.5 (Delthrin 2.5)

ชื่อทางเคมี : Deltamethrin 2.5 % W/V EC

IUPAC: 3-2, 2-[dibromoetheny] -2, 2-dimethylcycpropanecarboxlic acid cyano [32,2dimethylcycopropanecardoxylata]

กลุ่มสาร : pyrethroids insecticide

สูตรโมเลกุล : $C_{22}H_{19}Br_2NO_3$

น้ำหนักโมเลกุล : 505.24

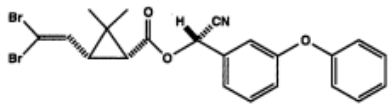
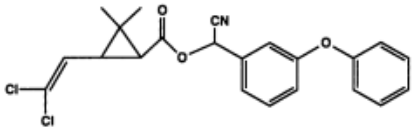
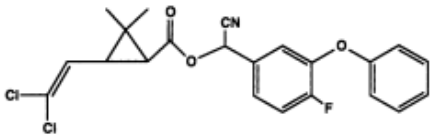
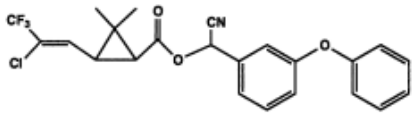
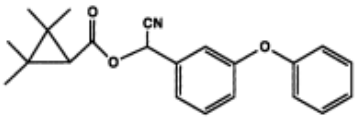
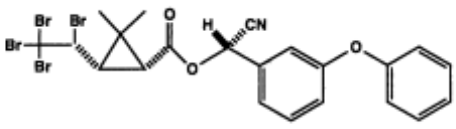
สถานะ : ของเหลว สีใส ไม่มีกลิ่นสามารถละลายได้ในเอทานอล อาซิโตน

กลไกการออกฤทธิ์

การออกฤทธิ์จะไปขัดขวางการไหลผ่านของโซเดียมที่ช่องโซเดียม (Sodium channels) ทำให้การสื่อสารประสาทถูกขัดขวาง (no transmission of nerve impulses) ทำให้คลื่นของดีโพลาไรซ์ถูกขัดขวาง ก่อให้เกิดพิษทางระบบประสาทมอเตอร์ (motor activity) เช่น ประสาททำงานไม่ประสานกัน กล้ามเนื้ออ่อนล้า หมดแรง อัมพาตและตายในที่สุด

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไพรีทรอยด์ (Pyrethroids) ที่ได้จากการสังเคราะห์ (Soderlund *et al*., 2002)

ชื่อสารเคมี	สูตรโครงสร้าง
Deltamethrin	 Deltamethrin
Cypermethrin	 Cypermethrin
Cyfluthrin	 Cyfluthrin
Cyhalothrin	 Cyhalothrin
Fenpropathrin	 Fenpropathrin
Tralomethrin	 Tralomethrin

1.2.3 การทดสอบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินกับสิ่งมีชีวิต

เดลตาเมทรินมีความเป็นพิษสูงต่อสัตว์น้ำหลายชนิด มีการศึกษาเปรียบเทียบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินและไซเปอร์เมทรินที่มีต่อไรน้ำแดงชนิด *Ceriodaphnia dubia* พบว่าความเข้มข้นของสารกลุ่มไพรีทรอยด์เพียงเล็กน้อยก็สามารถส่งผลกระทบต่ออัตราการรอด การสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของ *C. dubia* ซึ่งความเป็นพิษของสารดังกล่าวจะสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นและเวลาเพิ่มขึ้น ค่า EC_{50} ของการทดสอบความเป็นพิษเรื้อรังของไซเปอร์เมทรินและเดลตาเมทริน คือ 97.8 นาโนกรัมต่อลิตร และ 34.7 นาโนกรัมต่อลิตร (Shen *et al*., 2012) และพิษของไซเปอร์เมทรินส่งผลกระทบต่อขนาดและระยะเวลาของการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (emergence time) ของหนอนแดงชนิด *Chironomus riparius* (Meigen) ที่ความเข้มข้นของสารที่ต่ำกว่า 0.8 ไมโครกรัมต่อลิตร ในตะกอนที่มีปริมาณอินทรีย์วัตถุแตกต่างกัน (0, 5 และ 20 %) ส่วนในตะกอนที่ไม่มีอินทรีย์วัตถุไม่พบการรอดชีวิตของหนอนแดง นอกจากนี้เดลตาเมทรินทำให้เกิดความผิดปกติของสัดส่วนของเพศ ขนาดของตัวเต็มวัย ขนาดของพวงไข่และอัตราการรอดใน *C. riparius* (Goedkoop *et al*., 2010) มีความเป็นพิษต่อปลาหลายชนิดที่ระดับความเข้มข้นของเดลตาเมทริน 0.005-50 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่งผลให้เกิดการตายเอ็มบริโอและตัวอ่อนของปลาคาร์พ (*Cyprinus carpio*) เมื่อความเข้มข้นของเดลตาเมทรินเพิ่มขึ้นอัตราการตายทั้งเอ็มบริโอและตัวอ่อนก็เพิ่มขึ้น ทำให้มีผลต่อการฟักตัวของปลาลดลง (Koprucu and Aydin, 2004) เกิดความผิดปกติต่อเนื้อเยื่อของเหงือกตับ และลำไส้ในปลาหางนกยูงที่ความเข้มข้น 0.25 และ 0.50 ไมโครกรัมต่อลิตร ที่ระยะเวลา 20 และ 30 วัน มีการลอกและเกิดการตายของเนื้อเยื่อบางตำแหน่ง หลอดเลือดโป่งพอง มีการขยายตัวของเยื่อบุผิวโครงสร้างของเซลล์ตับเกิดความผิดปกติ คือ เซลล์ตับขยายขนาดเพิ่มขึ้น มีการเพิ่มขึ้นของ Kupffer cell การแคบลงของ sinusoids และมีการสะสมของเนื้อเยื่อไขมันภายในเซลล์ตับ (Cengiz and Unlu, 2006) สำหรับการทดสอบในปลานิล เพื่อดูผลทางชีวเคมีของเลือดซึ่งค่า LC_{50} ของเดลตาเมทรินที่ทดสอบกับปลานิลที่เวลา 96 ชั่วโมง ระดับความเข้มข้น 14.6 ไมโครกรัมต่อลิตร พบว่ามีการตอบสนองของพฤติกรรมที่ผิดปกติ และที่ระดับความเข้มข้นที่สูงกว่า 15 ไมโครกรัมต่อลิตร ทำให้มีปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นการบ่งบอกถึงการที่ร่างกายได้รับสารแปลกปลอมเข้าสู่ร่างกายและโครงสร้างส่วนของลำไส้ เยื่อบุผิวของลำไส้มีการขยายขนาดและการตายของเนื้อเยื่อบางตำแหน่งทำให้มีการแทรกซึมของเม็ดเลือดขาวชนิด leucocyte และ eosinophils เข้าไปภายในโครงสร้างของลำไส้ (El-Sayed *et al*., 2007) และผลของเดลตาเมทรินที่มีต่อเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรสในเหงือกปลาเทราท์ พบว่าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คาร์บอนิกแอนไฮเดรสที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.25, 1.0 และ 2.5 ไมโครกรัมต่อลิตรที่ทำการทดสอบในเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง (Ceyhun *et al*., 2010)

นอกจากนี้มีการศึกษาในพื้นที่ที่มีการปนเปื้อน เช่น ที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นการปนเปื้อนของสารกลุ่มไพรีทรอยด์ พบค่า LC_{50} เท่ากับ 0.006 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Pakvilai *et al*., 2012) และเก็บตัวอย่างของตะกอนดินที่มีการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงทั้งหมดจำนวน 200 ตัวอย่าง ซึ่งสารกลุ่มไพรีทรอยด์เป็นกลุ่มที่มีการใช้อย่างแพร่กระจายมากที่สุดและพบตัวอย่างตะกอนดินที่มีการปนเปื้อนของยาฆ่าแมลงจำนวน 9 ชนิด คือ abamectin, diazinon, dicofol, fenpropathrin, indoxacarb, methylparathion, oxyfluorfen, propargite และ

pyraclostrobin ทดสอบกับสัตว์ทดลอง 2 ชนิด คือหนอนแดงชนิด *C. dilutus* และแอมพิพอดชนิด *Hyalella azteca* พบว่า abamectin มีความเป็นพิษมากที่สุดและ propargite มีความเป็นพิษน้อยสุดสำหรับ fenpropathrin มีความเป็นพิษมากที่สุดกับแอมพิพอดซึ่งค่า LC_{50} เท่ากับ 1-2 ไมโครกรัมต่อกรัม ส่วน abamectin, diazinon และ methyl parathion มีความเป็นพิษระดับกลาง คือ LC_{50} เท่ากับ 2.8-26 ไมโครกรัมต่อกรัม และ dicofol, indoxacarb, oxyfluorfen, propargite และ pyraclostrobin พบว่าไม่เป็นพิษกับหนอนแดงและแอมพิพอด (Ding *et al*., 2011)

1.2.4 ชีววิทยาของหนอนแดง (ตัวอ่อนริ้นน้ำจืด)

สามารถจัดจำแนกตามอนุกรมวิธานได้ดังนี้

Kingdom:	Animalia
Phylum:	Arthropoda
Class:	Insecta
Order:	Diptera
Suborder:	Nematocera
Infraorder:	Culicomorpha
Superfamily:	Chironomoidea
Family:	Chironomidae
Subfamily:	Chironominae
Tribe:	Chironomini
Genus:	*Chironomus*

หนอนแดงเป็นระยะตัวหนอน (Instar Larvae หรือ Chironomid Larvae) ในวงจรชีวิตของริ้นน้ำจืด (non-biting midges) เป็นแมลงในวงศ์ Chironomidae ตัวหนอนของริ้นน้ำจืดนิยมเรียกว่าหนอนแดง (Blood Worms) ซึ่งมีองค์ประกอบของฮีโมโกลบินในเลือดทำให้มีลำตัวสีแดง ส่วนใหญ่หนอนแดงอาศัยอยู่ในตะกอนดินและมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ มาก เช่น ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความเค็ม เป็นต้น ริ้นน้ำจืดอยู่ในอันดับเดียวกันกับยุงและแมลงวัน ริ้นน้ำจืดมีหลายชนิด เช่น *C. plumosus, C. attenuatus, C. tentans, C. riparius* และ *C. plumatisetigerus* (เฉลียว, 2537; Brackenbury, 2000; Paumen *et al*., 2008; Lee and Choi, 2009) ตัวผู้มีหนวดแบบพู่ขนนก (Plumose) ส่วนหัวเล็กชอบหดเข้าไปอยู่ในส่วนอก ขากรรไกรไม่เจริญลำตัวยาว 8-10 มิลลิเมตรมักอยู่เป็นฝูงใกล้ผิวน้ำและใกล้แสงสว่าง ตัวเมียชอบวางไข่ในที่ลมสงบโดยมีวุ้นเหนียว ๆ ยึดเกาะกับวัสดุที่ใกล้กับแหล่งที่ใช้วางไข่ จำนวนไข่เฉลี่ยตัวละ 400-900 ฟองพวงไข่ของหนอนแดงมีลักษณะครึ่งวงกลม คล้ายกับเกือกม้า มีแท่งมีวุ้นหุ้มมีจุดประสีดำ ๆ มองเห็นด้วยตาเปล่าไข่จะฟักเป็นตัวหนอนภายในเวลา 3-6 วัน หนอนแดงลำตัวยาว 3-18 มิลลิเมตร มีสีแดงเพราะมีสารฮีโมโกลบินอยู่ในเลือด วงจรชีวิตแบ่งเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน ระยะดักแด้ และตัวเต็มวัย (Brackenbury, 2000; Pery *et al*., 2005) (ภาพที่ 1.2)

Prince of Songkla University Pattani Campus

วงจรชีวิตของริ้นน้ำจืด

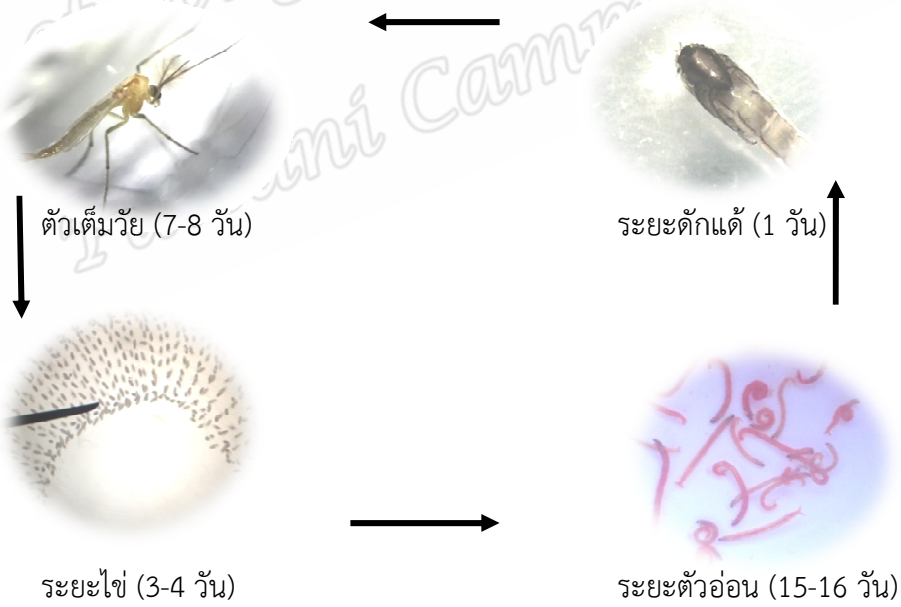
วงจรชีวิตของริ้นน้ำจืด จะนานประมาณ 21-27 วัน ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในแต่ละช่วงเป็นหลักโดยที่ช่วงอุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียส ตัวผู้จะมีวงจรชีวิตประมาณ 22 วัน ในขณะที่ตัวเมียประมาณ 25 วัน ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ ระยะไข่ ระยะตัวอ่อน (มี 4 ระยะ) ระยะดักแด้ และระยะเต็มเต็มวัย

ระยะไข่ (eggs mass) มีลักษณะยาวรี และโปร่งใส ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร คล้ายกับรูปเกือกม้า และมีวุ้นเหนียว ๆ ที่ปลายด้านหนึ่งใช้สำหรับเกาะกับภาชนะที่จะวางไข่ ไข่ที่ถูกผสมจะฝักออกมาภายใน 4-5 วันแต่ยังอาศัยอยู่ในวุ้น

ระยะตัวอ่อน แบ่งเป็น 4 ระยะย่อย คือ ตัวอ่อนระยะที่ 1 ลำตัวยังไม่มีสีและมีขนาดเล็กมาก ส่วนตัวอ่อนระยะที่ 2-4 ลำตัวมีสีแดงและมีขนาดใหญ่ขึ้นตามระยะที่เพิ่มขึ้น มีการสร้างปลอกเพื่อใช้ในการลอกคราบเปลี่ยนระยะ

ระยะดักแด้ เมื่อเข้าสู่ระยะดักแด้จะจมอยู่ที่พื้นท้องน้ำ และจะลอยตัวขึ้นมาที่ผิวน้ำเพื่อลอกคราบเป็นตัวเต็มวัย

ระยะตัวเต็มวัย ตัวผู้จะมีหนวดแบบพู่ขน (Plumose) และมีขนาดลำตัวเล็กกว่าตัวเมีย (Kuvangkadilok, 1994)



ภาพที่ 1.2 วงชีวิตของหนอนแดง (ตัวอ่อนริ้นน้ำจืด)

การประเมินคุณภาพของแหล่งน้ำมักใช้ตัวอ่อนของริ้นน้ำจืดคือ หนอนแดง เพราะหนอนแดงใช้เวลาส่วนใหญ่ของพัฒนาการอยู่บริเวณพื้นผิวของตะกอนจึงมีโอกาสที่จะสัมผัสกับสารที่ปนเปื้อนสูงนอกจากนี้ยังง่ายต่อการเพาะเลี้ยงและมีวงจรชีวิตสั้น (Al-Shami *et al*., 2010) มีการศึกษาวงชีวิตของหนอนแดงโดยดูการเจริญเติบโตการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและการสืบพันธุ์ของหนอนแดง 4 ชนิด คือ *C. plumosus, C. tentan, C. prasinus* และ *C. riparius* และผลจากการศึกษาพบว่าพัฒนาการในแต่ละด้านของหนอนแดงทั้ง 4 ชนิด มีความใกล้เคียงกัน ดังนั้น สามารถที่จะเลือกใช้หนอนแดงชนิดใดก็ได้ในการประเมินความเป็นพิษของสารในสิ่งแวดล้อม เพราะแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Pery *et al*., 2005) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพัฒนาการของหนอนแดง โดยศึกษาผลของอาหารที่มีต่อพัฒนาการพบว่าปริมาณของอาหารมีผลต่อการอยู่รอด อัตราส่วนของเพศ และพัฒนาการของหนอนแดงชนิด *C. tepperi* ทั้งในรุ่นพ่อแม่และรุ่นลูก หากหนอนแดงรุ่นพ่อแม่ได้รับอาหารไม่เพียงพอก็จะส่งผลให้การกลายเป็นตัวเต็มวัยล่าช้าและตัวเมียให้พวงไข่ที่ขนาดเล็ก แต่สัดส่วนของเพศผู้และเพศเมียไม่มีความแตกต่างกัน (Townsend *et al*., 2012) และยังมีการศึกษาโดยนำหนอนแดงไปทดสอบกับสารเคมีหลายชนิด เช่น ทดสอบกับ 17α-ethynylestradiol ที่ระดับความเข้มข้น 1-100 ไมโครกรัมต่อลิตร (Meregalli and Ollevier, 2001) สารในกลุ่ม acridone โลหะหนัก ยาฆ่าแมลง (Di Veroli *et al*., 2010; Di Veroli *et al*., 2012) 4-n-nonylphenol ที่ช่วงความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อลิตร (Meregalli *et al*., 2001) และทดสอบกับสาร octachlorostyrene (OCS) เพื่อดูผลพัฒนาการด้านการเจริญเติบโตที่ความเข้มข้นสูงสุดน้ำหนักแห้งของหนอนแดงลดลงและตัวเต็มวัยไม่มีการวางไข่ (Lee *et al*., 2009) นอกจากนี้ยังสารเคมีหลายชนิดมีผลทำให้การพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยล่าช้า เช่น สารพวกโลหะหนัก ยาฆ่าแมลง สารลดแรงตึงผิว และสารโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (Pery *et al*., 2003; Sanchez *et al*., 2005)

Prince of Songkla University Pattani Campus

1.2.5 รูปร่างและโครงสร้างส่วนของรยางค์ปากในหนอนแดง (Mouthparts structure)

ลักษณะของหนอนแดงแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ (ภาพที่1.3)

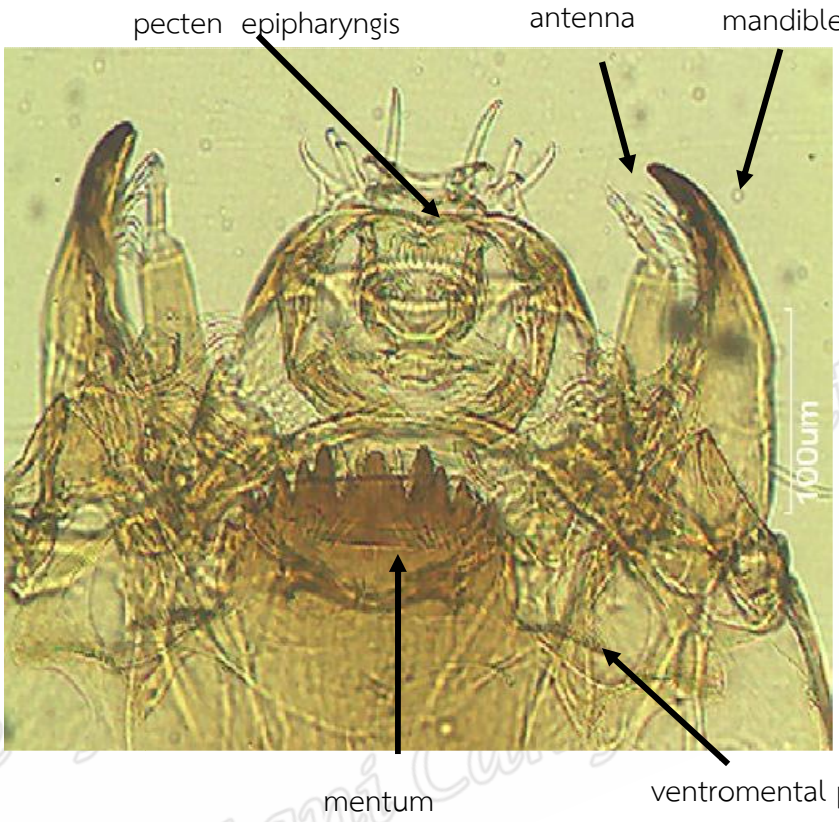
1. ส่วนหัว หัวค่อนข้างเล็กมักจะหดอยู่ในลำตัว ตาเป็นจุดสีดำเล็ก ๆ 1 คู่ มีฟันสีดำ 15 ซี่เรียงกันเป็นแถว ฟันตรงกลางมีลักษณะแหลมคม ขากรรไกรของหนอนแดงค่อนข้างแข็ง เคลื่อนไหวได้ และมีฟันแหลม 4 ซี่เรียงกัน ส่วนหนวดของหนอนแดงประกอบด้วย 5 ปล้องต่อกัน

2. ส่วนอก มีการขยายใหญ่ มีอวัยวะหายใจยื่นออกมา

3. ลำตัว มีลักษณะเรียงยาวเป็นปล้องมีทั้งหมด 12 ปล้อง ปล้องสุดท้ายของลำตัวมีรยางค์คล้ายขาเทียม 1 คู่

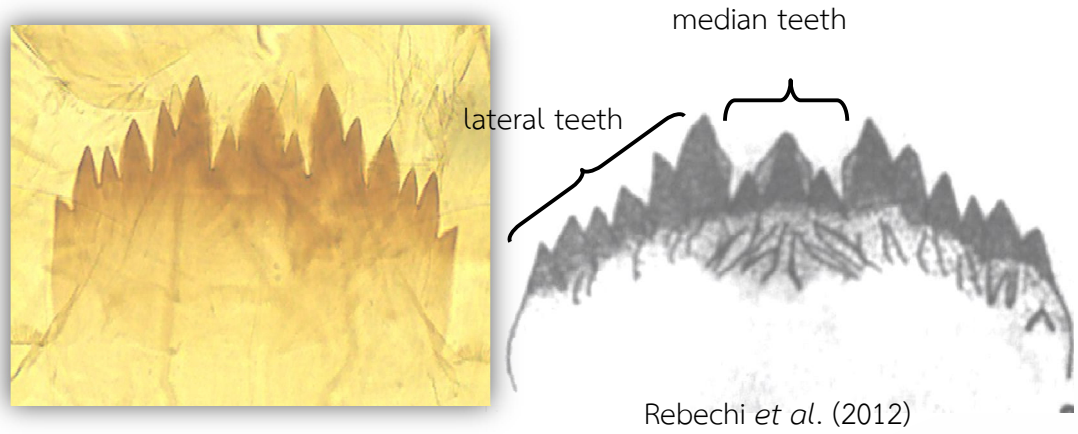
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างของตัวอ่อนหนอนแดง

โครงสร้างส่วนหัว (head capsule) ประกอบด้วยโครงสร้างย่อย ๆ ดังนี้ คือ mentum, mandible, pecten epipharyngis และ antenna (ภาพที่ 1.4)



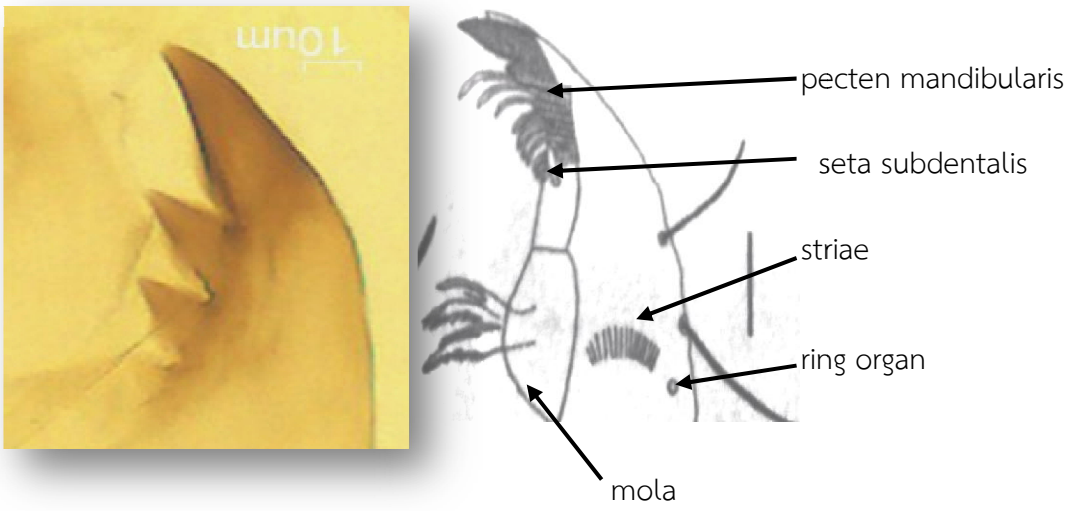
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างของส่วนหัว

1. mentum จะมีฟันทั้งหมด 13 ซี่ ด้านละ 6 ซี่ ซึ่งเรียกว่า leteral teeth และตรงกลางอีก 1 ซี่ ซึ่งเรียกว่า median teeth ในตัวอ่อนระยะที่ 1 ลักษณะฟันโดยทั่วไปแคบและยืดยาว median teeth จะมีความยาวมากกว่าบริเวณอื่น ตัวอ่อนในระยะที่ 2 ฟันเริ่มที่จะขยายออกทำให้ดูกว้างขึ้น median teeth และ leteral teeth มีขนาดใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ยังพบว่า ฟันซี่ที่ 4 นับจาก median teeth ไปจะมีขนาดเล็กกว่าฟันซี่ที่ 3 และ 5 สำหรับตัวอ่อนระยะที่ 3 และ 4 median teeth จะมีขนาดเล็กกว่า leteral teeth (ภาพที่ 1.5)



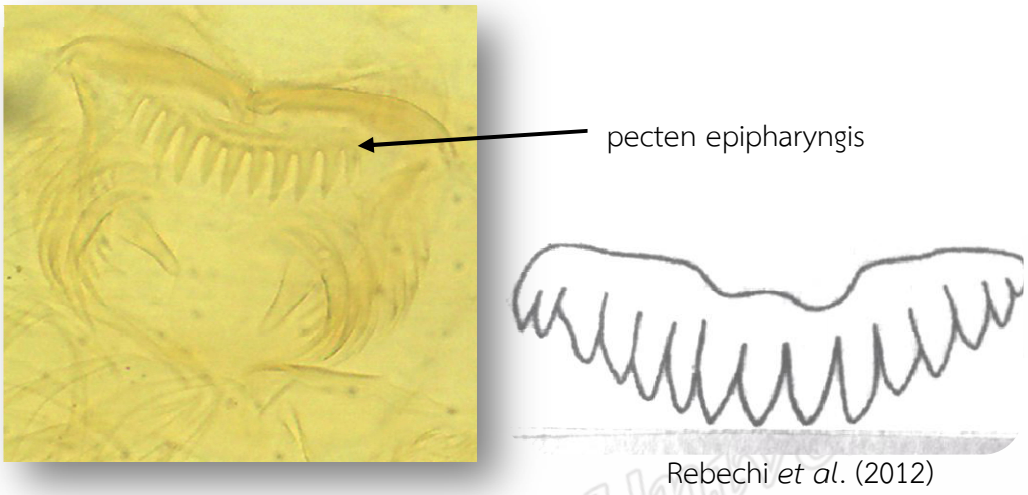
ภาพที่ 1.5 ภาพเปรียบเทียบโครงสร้างของ mentum

2. mandible จะประกอบด้วยโครงสร้างดังต่อไปนี้ คือ throns, striae, ring organ, mola, internal seta, seta subdentalis, pecten mandibularis ตัวอ่อนในระยะที่ 1 ยังไม่มีโครงสร้างของ internal seta, pecten mandibularis, striae และ ring organ ตัวอ่อนในระยะที่ 2 ยังไม่มีโครงสร้างของ striae และ ring organ ส่วนตัวอ่อนในระยะที่ 3 และ 4 จะมีครบทุกโครงสร้างที่เป็นองค์ประกอบของ mandible และจะพบฟัน 5 ซี่ ซึ่งอยู่ทางด้าน Ventral 4 ซี่ และด้าน Dorsal อีก 1 ซี่ (ภาพที่ 1.6)



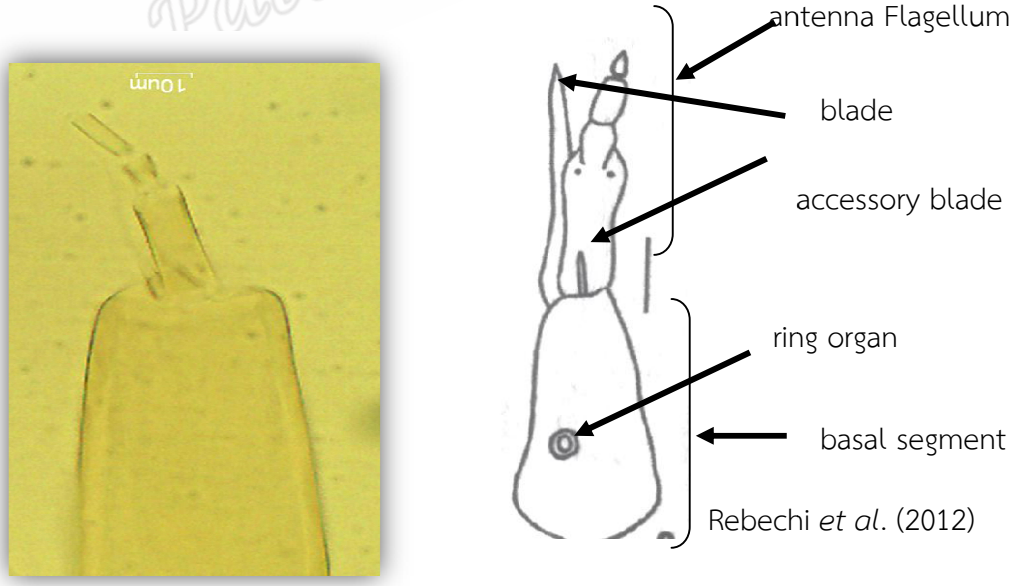
ภาพที่ 1.6 โครงสร้างเปรียบเทียบของ mandible

3. pecten epipharyngis ในตัวอ่อนระยะที่1 ยังไม่พบซี่ฟัน ตัวอ่อนในระยะที่ 2 จะพบซี่ฟันประมาณ 9-11 ซี่ ตัวอ่อนระยะที่ 3 จะพบประมาณ 11-13 ซี่ และตัวอ่อนระยะที่ 4 จะพบประมาณ 14-17 ซี่ (ภาพที่ 1.7)



ภาพที่ 1.7 โครงสร้างเปรียบเทียบของ pecten epipharyngis

4. antenna ประกอบด้วยโครงสร้าง ดังนี้ คือ antenna blade, the accessory blade, basal segment, a flagellum และ ring organ สำหรับตัวอ่อนในระยะที่ 1 รูปร่างของ basal segment จะมีลักษณะแบนและสั้นกว่าระยะอื่น ๆ และจะไม่มีโครงสร้างของ ring organ ส่วนระยะอื่น ๆจะมีโครงสร้างครบสมบูรณ์และมีขนาดใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 1.8)



ภาพที่ 1.8 โครงสร้างเปรียบเทียบของ antenna

Prince of Songkla University Pattani Campus

1.2.6 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม (*In Situ* exposure)

ป่าอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาว เป็นต้นกำเนิดของห้วย คลอง ลำธารหลายสาย ซึ่งไหลมารวมกันเป็นแม่น้ำ คือ แม่น้ำเทพา ซึ่งต้นกำเนิดของแม่น้ำสายนี้อยู่บริเวณเทือกเขาสันกาลาคีรีและไหลลงสู่ที่ราบต่ำเบื้องล่าง ทำให้ราษฎรได้อาศัยน้ำเพาะปลูกและบริโภคใช้สอยตลอดปี ห้วยที่สำคัญ ได้แก่ “ห้วยทรายขาว” ซึ่งราษฎรตำบลทรายขาว ตำบลนาประดู่ และตำบลใกล้เคียงได้ใช้น้ำเพื่อการเพาะปลูกและใช้สอย ปัจจุบันมีการใช้พื้นที่ทำการเกษตรมากขึ้นไม่ว่าจะเป็นสวนผลไม้ สวนยาง สวนปาล์ม และพืชหมุนเวียน ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีเพิ่มมากขึ้นในการทำการเกษตรของชาวนา ชาวสวน และชาวไร่ มีการใช้ปุ๋ยเคมีเพื่อเร่งการเจริญเติบโตของต้นพืช เพื่อให้พืชมีการเจริญเติบโตที่แข็งแรงสมบูรณ์ดูน่ารับประทานและไม่มีร่องรอยการกัดแทะของหนูหรือแมลงต่าง ๆ ที่ส่งผลกระทบให้พืชผลมีความเสียหาย อีกทั้งยังคอยช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชที่มาปรกคลุมต้อนพืชหลักให้เกิดการเสียหาย หรือวัชพืชนั้นอาจส่งผลให้พืชหลักมีการเจริญเติบโตที่ไม่แข็งแรง เลยมีการใช้สารปราบศัตรูพืชเพื่อเป็นการกำจัดศัตรูของพืชได้ง่ายและรวดเร็วนอกจากนี้ยังพบสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคไข้เลือดออก ซึ่งในพื้นที่ของตำบลทรายขาวเองก็มีจำนวนผู้ป่วยทั้งเด็กและผู้ใหญ่ ทำให้หน่วยงานทางสาธารณสุขต้องเข้ามาฉีดพ่นเพื่อกำจัดยุงลายตามบ้านเรือน และโรงเรียนในเขตพื้นที่บริการ ซึ่งสารเคมีที่มักจะนำมาใช้ก็เป็นสารในกลุ่ม ไพรีทรอยด์ เช่น เดลต้า 100® และ เดลการ์ด 50® ซึ่งทั้งสองตัวนี้มีส่วนผสมของเดลตาเมทรินเป็นองค์ประกอบ ดังนั้น เพื่อที่จะประเมินความเป็นพิษของสารที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม จึงได้ออกแบบการทดลองโดยใช้สิ่งมีชีวิตที่มีอยู่ในพื้นที่ คือ ตัวอ่อนของริ้นน้ำจืด (หนอนแดง) เป็นตัวทดสอบการปนเปื้อนในครั้งนี้

1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.3.1 ศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

1.3.2 ศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสต่อพัฒนาการและการเจริญเติบโตของหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

1.3.3 ศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสต่อความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

1.4 ขอบเขตการวิจัย

1.4.1 ทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงชนิด *C. calipterus* (keiffer) ทั้งในน้ำและตะกอนดิน เพื่อหาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range Finding) โดยเลือกใช้ช่วงความเข้มข้น 0-100 ไมโครกรัมต่อลิตร และวิเคราะห์ Dose Response เพื่อคำนวณค่า LC_{50} และ Time Response (LT_{50})

1.4.2. ทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสต่อพัฒนาการของหนอนแดงชนิด *C. calipterus* (keiffer) ทั้งในน้ำและตะกอนดินที่ความเข้มข้น 1/10 และ

1/100 ของค่า LC_{50} เพื่อศึกษาการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยทั้งเพศผู้และเพศเมีย การเจริญเติบโต และความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง

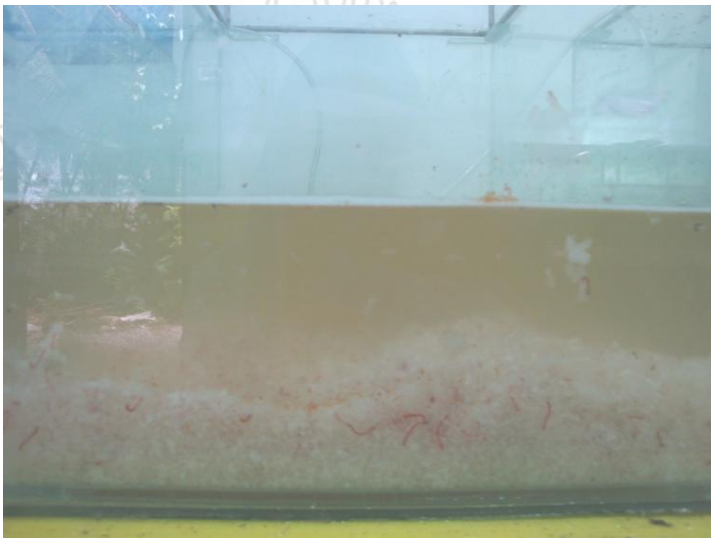
Prince of Songkla University
Pattani Campus

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

2.1 ศึกษาวงชีวิต การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ

นำตะกอนดินที่มีตัวอ่อนของริ้นน้ำจืดจากคูระบายน้ำ บริเวณแฟลต 8 ภายในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มาเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อเพิ่มจำนวนก่อนการทดลอง โดยเลี้ยงในแท็งก์ที่มีฝาครอบ ขนาดความกว้าง 30 เซนติเมตร ความยาว 60 เซนติเมตร ความสูง 30 เซนติเมตร จำนวน 5 แท็งก์ ระหว่างการเพาะเลี้ยงมีการให้ออกซิเจน (air pump) และให้อาหารปลาที่บดละเอียดแล้ว ยี่ห้อ CP OPTIMUM ปริมาณ 30-80 กรัมต่อแท็งก์ ตามระยะของการเจริญเติบโต โดยให้สัปดาห์ละ 3 ครั้ง นอกจากนี้ ยังมีการเติมเยื่อกระดาษปั่นละเอียดลงในตู้เพาะเลี้ยงเพื่อเป็นที่อยู่อาศัยและสร้างปลอกหุ้มตัว โดยที่มีความสูงของเยื่อกระดาษจากขอบตู้ด้านล่างประมาณ 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 การเพิ่มจำนวนหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ

2.2 การเตรียมสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบคือ

- เดลตาเมทริน (AR grade)
- เดลตาวอส (Commercial grade)

2.2.1 เตรียมสารละลาย Stock Deltamethrin ที่ความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่อลิตรโดยใช้ตัวทำละลายคือ อะซีโตน โดยชั่งสาร 100 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยอะซีโตน

2.2.2 เตรียมสารละลาย Stock Detavos® ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเดตาวอส (Deltamethrin 1% w/v) มา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2.2.3 การเตรียม Working Solution โดยเตรียมจาก Stock Solution มาเจือจาง (Dilution) จนได้ความเข้มข้นที่ต้องการทดสอบ

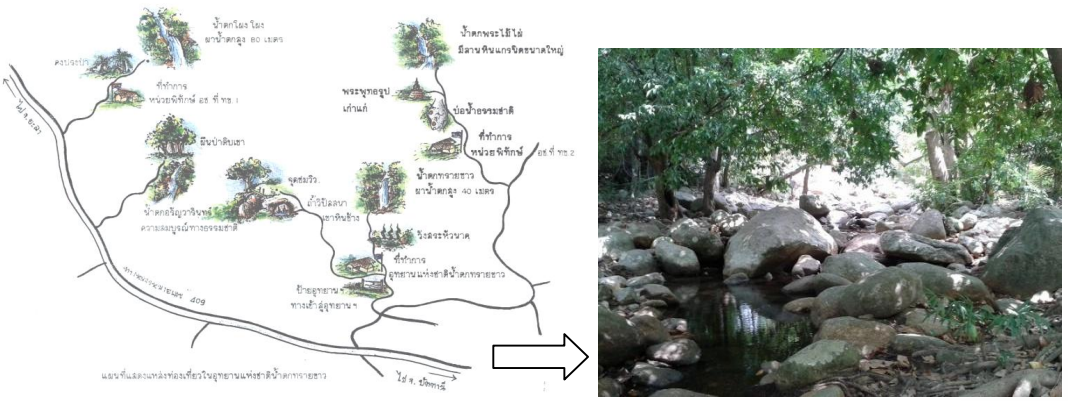
2.3 การศึกษาขนาดและสัดส่วนอนุภาคของดินในแหล่งอาศัย

2.3.1 นำตะกอนดินจากแหล่งอาศัยของหนอนแดงไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นนำมาทุบให้ละเอียดและนำไปร่อนเพื่อแยกขนาดอนุภาคของดินโดยใช้ตะแกรงร่อนขนาดตั้งแต่ 38-500 ไมโครเมตร (ภาพที่ 2.2) เพื่อแยกขนาดอนุภาคของดิน และคำนวณเปอร์เซ็นต์แต่ละขนาดอนุภาค เพื่อนำมาใช้ในการเตรียมอนุภาคดินสำหรับการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันและพิษกึ่งเรื้อรังในตะกอนดินต่อไป

2.3.2 สำหรับตะกอนดินที่ใช้ในการทดสอบ เป็นตะกอนดินที่นำมาจากพื้นที่ป่าต้นน้ำในเขตอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาว (ภาพที่ 2.3) ได้ทดสอบเบื้องต้น (preliminary study) พบว่าไม่ส่งผลต่อพัฒนาการและความผิดปกติในหนอนแดง เก็บตะกอนโดยใช้ตะแกรงที่มีขนาดมากกว่า 500 ไมโครเมตร ร่อนเก็บตะกอนในน้ำ นำตะกอนที่ได้มาล้างทำความสะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำตะกอนที่ได้มาร่อนใหม่อีกครั้งสำหรับเตรียมการทดสอบต่อไป

ภาพที่ 2.2 ภาพของเครื่องมือการร่อนแยกขนาดอนุภาคดิน

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 2.3 ตำแหน่งการเก็บตะกอนดินในเขตอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาว

การศึกษาความเป็นพิษของสาร ทำการทดสอบทั้งความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity test) และความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic toxicity test) ดังรายละเอียดดังต่อไปนี้

การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน จำนวนความเข้มข้นที่ใช้ มี 6 ความเข้มข้น (Nominal concentration) โดยใช้ Progressive bisection of intervals on Logarithmic scale ช่วงความเข้มข้นของเดลตาเมทริน ทั้งในสภาวะน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดินอยู่ในช่วง 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร ส่วนช่วงความเข้มข้นของเดตาวอส คือ 0-100 ไมโครกรัมต่อลิตร แต่ละความเข้มข้นจะทำการทดลอง 2 ซ้ำ ในระยะเวลา 4 วัน ใช้การตายเป็นเกณฑ์ในการตอบสนอง โดยนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า LC_{50} (Median lethal concentration) และ LT_{50} (Median lethal time)

การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง จำนวนความเข้มข้นที่ใช้สำหรับการทดสอบมี 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 1/100 และ 1/10 ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง จากการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดลตาวอส ทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ในแต่ละความเข้มข้น ทำการทดลอง 2 ซ้ำ การทดสอบใช้ระยะเวลา 17 วัน และได้กำหนดเกณฑ์ที่ใช้ในประเมินความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง โดยดูผลในด้านต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(1) ศึกษาการเจริญเติบโต เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำหนอนแดงระยะที่ 4 จำนวน 40 ตัวต่อความเข้มข้น นำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นก็นำมาหาน้ำหนักแห้งในแต่ละความเข้มข้น

(2) การศึกษาจำนวนของเพศผู้และเพศเมีย ในแต่ละความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ โดยบันทึกจำนวนตัวเต็มวัยในเพศผู้ เพศเมียในแต่ละความเข้มข้นทุกวัน โดยเริ่มนับประมาณวันที่ 13 ของการทดสอบต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 5 วัน นับจากที่ตัวเต็มวัยลอกคราบออกมา เมื่อบันทึกจำนวนเรียบร้อยแล้วย้ายตัวเต็มวัยออกจากชุดการทดลอง เพื่อไม่ให้เกิดความผิดพลาดของจำนวนเพศผู้เพศเมียในวันถัดไป เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำจำนวนที่ได้มาคำนวณหาร้อยละของเพศผู้และเพศเมียในแต่ละความเข้มข้น

Prince of Songkla University Pattani Campus

(3) การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปาก โดยทำตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

(3.1) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นำหนอนแดงระยะที่ 4 ความเข้มข้นละ 40 ตัว แช่ในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70%

(3.2) ผ่าตัดเพื่อแยกเอาส่วนหัว (Head capsule) นำไปแช่ในสารละลายโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10% เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อที่จะทำให้ส่วนของเนื้อเยื่อที่ติดอยู่หลุดออกและใสขึ้น

(3.3) ล้างด้วยน้ำกรอง 3 ครั้ง และนำไปแช่ในเอทานอลเพื่อดึงเอาน้ำออกจากเนื้อเยื่อ

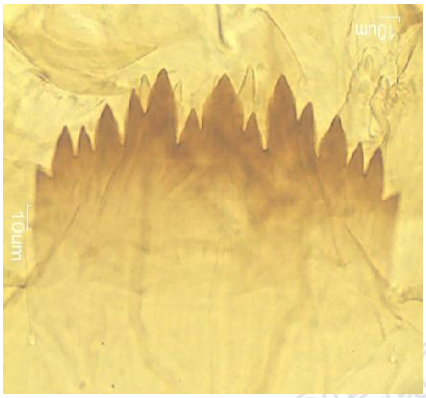
(3.4) นำเอาส่วนของ Head capsule ไปปิดลงบนแผ่นสไลด์โดยเอาด้าน ventral ขึ้นด้านบน

(3.5) ตรวจสอบความผิดปกติภายใต้กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ Zeiss stemi 2000-C พร้อมถ่ายภาพโดยใช้โปรแกรม Motic Images Plus 2.0 วิเคราะห์ความผิดปกติโดยใช้เกณฑ์ในการจำแนกความผิดปกติของ Park and Kwak (2008), Al-Shami *et al*. (2010)

Prince of Songkla University Pattani Campus

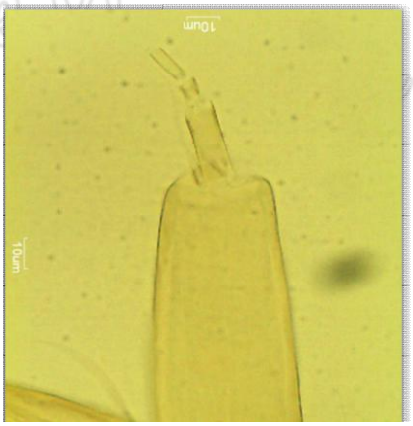
โครงสร้างสำหรับที่จะใช้ในการประเมินความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดงหลังจากที่ทำการทดสอบด้วยเดลตาเมทรินและเดตาวอสแล้ว มี 4 โครงสร้างด้วยกัน คือ mentum, mandible, antenna และ pecten epipharyngis (Vermeulen *et al*., 2000; Martinez *et al*., 2001; Meregalli and Ollevier, 2001; Watts *et al*., 2003; Dias *et al*., 2008)

โครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดงในสภาพปกติ (ภาพที่ 2.4) และโครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดงในสภาพที่ผิดปกติ (ภาพที่ 2.5)



ก. mentum

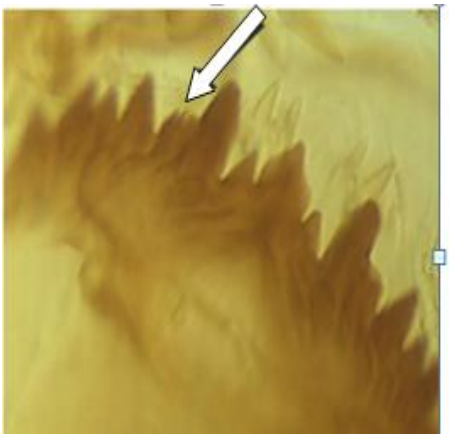
ข. mandible



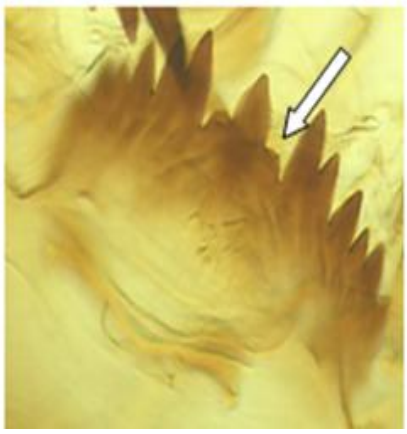
ค. antenna

ง. pecten epipharyngis

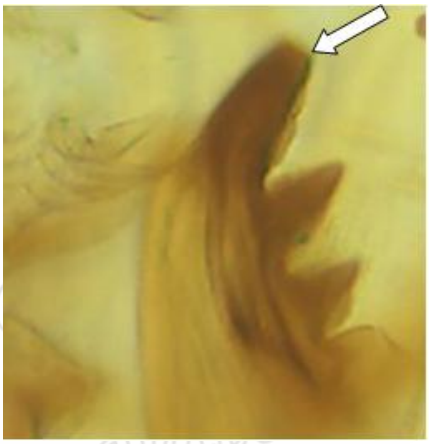
ภาพที่ 2.4 ก-ง โครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดงในสภาพปกติ



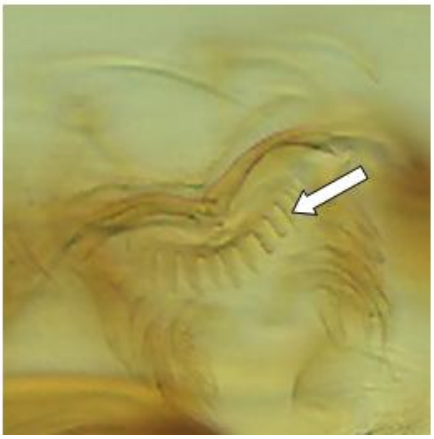
ก. ความผิดปกติของ mentum ชนิด split teeth



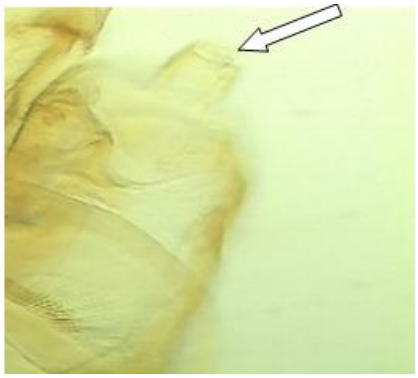
ข. ความผิดปกติของ mentum ชนิดmissing teeth



ค. ความผิดปกติของ mandible



ง. ความผิดปกติของ pecten epipharyngis



จ. ความผิดปกติของ antenna

ภาพที่ 2.5 ก-จ ความผิดปกติในโครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดง

2.4. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (Acute toxicity test)

2.4.1. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง

2.4.1.1การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

2.4.1.1.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range Finding) โดยเลือกใช้ความเข้มข้น คือ 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.4.1.1.2 การเตรียมสารละลายที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน 6 ความเข้มข้น คือ 0, 1.8, 2.1, 2.4, 2.8 และ 3.7 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยเตรียมสารละลายจาก Stock Deltamethrin Solution ปรับปริมาตรจนได้ความเข้มข้นที่ต้องการทำการปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 5.5-6.5 และวัดค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) โดยประมาณ 3-6 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเทสารละลายที่ต้องการทดสอบปริมาตร 30 มิลลิลิตร ใส่ในแก้วการทดลองที่ผ่านการล้างด้วยกรดไนตริก 10% (Acid-Washed) และล้างด้วยน้ำกรองแล้ว พร้อมเขียนความเข้มข้นกำกับและทิ้งสารละลายไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมง ดูดสารละลายในแก้วการทดลองออก และดูดสารละลายที่เตรียมเสร็จใหม่ ๆ ใส่ลงไปในแก้วการทดลองตามความเข้มข้นที่ได้เขียนกำกับไว้ แก้วการทดลองจะวางไว้บนถาดอะลูมิเนียม ซึ่งจัดเรียงความเข้มข้นอย่างเป็นระเบียบเพื่อให้ง่ายในการบันทึกผล

2.4.1.1.3 การเตรียมสัตว์ทดลอง ดูดถ่ายหนอนแดงจากแท็งก์ใส่ลงในกระบะสีขาว แล้วคัดเลือกหนอนแดงระยะ 3 ตอนปลายที่สมบูรณ์ คือ ลำตัวมีสีแดงสด ลักษณะแข็งแรงสมบูรณ์ แล้วใช้หลอดหยดดูดหนอนแดงครั้งละ 1 ตัวถ่ายลงในกระบะสีขาว ทำเช่นนี้อีก 2 ครั้ง เพื่อให้ได้หนอนแดงที่สะอาดไม่มีการปนเปื้อนของเยื่อกระดาษ

2.4.1.1.4 การทดสอบ ใช้หลอดหยดดูดหนอนแดงครั้งละ 1 ตัว ใส่ลงไปในแก้วการทดลองในแต่ละความเข้มข้นจนครบทุกความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 10 ตัวทำการทดลอง 2 ซ้ำ ส่วนชุดควบคุม (Control) มีทั้งที่เป็น negative control ซึ่งใช้ความเข้มข้นของอาซิโตนร้อยละ 0.1 และชุดควบคุมปกติ ใช้น้ำกรองแทนสารละลาย จากนั้นนำไปวางในห้องมีการวัดอุณหภูมิประมาณ 28$\pm$2 องศาเซลเซียส ควบคุมแสง คือ สว่าง 12 ชั่วโมง และมืด 12 ชั่วโมง (12L:12D) สังเกตการตายทุก ๆ 12 ชั่วโมงและบันทึกผล (ภาพที่ 2.6)

2.4.1.1.5 การวิเคราะห์ผลการทดสอบ นำข้อมูลที่บันทึกได้มาทำการวิเคราะห์หาค่า LC_{50}

ภาพที่ 2.6 ชุดการทดลองในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว

2.4.1.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

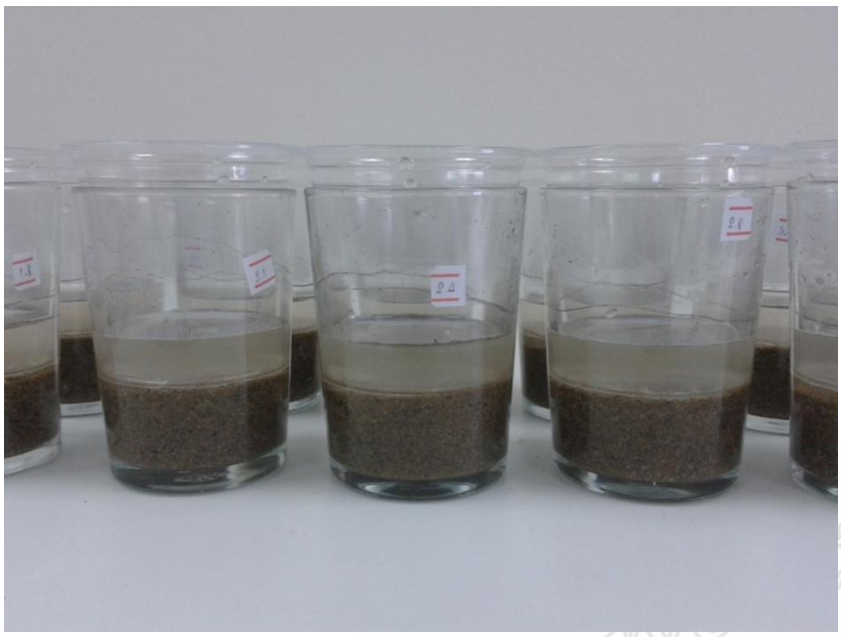
2.4.1.2.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range Finding) โดยเลือกใช้ความเข้มข้น คือ 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.4.1.2.2 ช่วงความเข้มข้นมี 6 ระดับความเข้ม คือ 0, 10, 18, 21, 24 และ 32 ไมโครกรัมต่อลิตร สารละลายที่ใช้ในแต่ละแก้วการทดลองมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร

2.4.1.2.3 สัตว์ทดลองใช้หนอนแดงระยะ 3 ตอนปลายที่สมบูรณ์

2.4.1.2.4 มีการเพิ่มปัจจัยอีก 1 ปัจจัย คือ ตะกอนดินที่มีอนุภาคตามสัดส่วนที่คำนวณได้จากแหล่งที่อยู่จริงตามธรรมชาติของหนอนแดง โดยเตรียมตะกอนดินและขนาดอนุภาคที่น้อยกว่า 500 ไมโครเมตร น้ำหนักของตะกอนที่ใช้ คือ แก้วละ 70 กรัม ทำการเขย่าเพื่อให้สารละลายและตะกอนผสมเข้ากัน โดยเขย่าเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยเครื่องเขย่าสารจากนั้นทำการทดลองในแก้วน้ำดื่มที่ตัดเอาส่วนก้นของแก้วออกแล้วบุด้วยผ้าตาข่ายสีขาวที่มีขนาดเล็ก ซึ่งเป็นผ้าตาข่ายที่หนอนแดงไม่สามารถผ่านลงไปในตะกอนดินมาใช้รองรับตัวสัตว์ทดลองโดยวางแก้วพลาสติกให้สัมผัสกับตะกอนดิน เพื่อให้ง่ายในการค้นหาสัตว์ทดลอง เมื่อบันทึกผลการทดลองส่วนวิธีการอื่น ๆ ทำเช่นเดียวกับการทดสอบความเป็นพิษแบบเฉียบพลันในน้ำ (ภาพที่ 2.7-2.8)

Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 2.7 ชุดการทดลองในสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน

ภาพที่ 2.8 เครื่องเขย่าสารละลายและตะกอนดินให้ผสมเข้าด้วยกัน

2.4.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง

2.4.2.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

2.4.2.1.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range Finding) เลือกใช้ความเข้มข้น คือ 0-100 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.4.2.1.2 การเตรียมสารละลาย 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 10, 18, 32, 42 และ 56 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยเตรียมสารละลายจาก Stock Detavos Solution ปรับปริมาตรจนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ โดยขั้นตอนอื่นทำเช่นเดียวกับการทดสอบในเดลตาเมทรินในน้ำ ข้อที่ 2.4.1.1.2-2.4.1.1.4 ตามลำดับ

2.4.2.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

2.4.2.2.1 การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range Finding) เลือกใช้ความเข้มข้น คือ 0-100 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.4.2.2.2 ช่วงความเข้มข้นที่ใช้มี 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 18, 32, 42, 56, 65 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยชุดควบคุมใช้น้ำกรองแทนสารละลาย และขั้นตอนอื่นทำเช่นเดียวกับการทดสอบในเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน ข้อที่ 2.4.1.2.3-2.4.1.2.4 ตามลำดับ

2.5 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง (Sub-chronic toxicity test)

2.5.1 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง

2.5.1.1 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

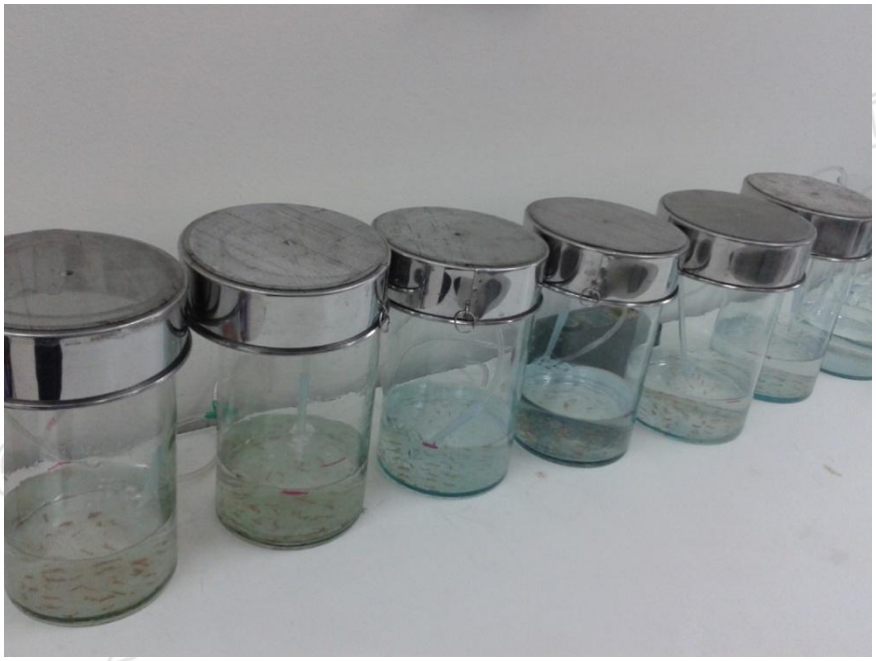
2.5.1.1.1 การเตรียมสารละลาย ใช้ความเข้มข้นของเดลตาเมทริน 1/100 (0.03) และ 1/10 (0.3) ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมงในน้ำ โดยเตรียมสารละลายจาก Stock Deltamethrin ปรับปริมาตรจนได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการมีการปรับค่า pH ในช่วง 5.5-6.5 และค่า DO ประมาณ 3-6 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเทสารละลายที่ต้องการทดสอบใส่ในโหลแก้วที่มีการล้างด้วยกรดไนตริกเข้มข้น 10% (Acid-Washed) ปริมาตร 500 มิลลิลิตรพร้อมเขียนความเข้มข้นกำกับและทิ้งสารละลายไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบ 24 ชั่วโมงแล้ว ก็ดูดสารละลายในโหลแก้วออกแล้วเทสารละลายที่เตรียมเสร็จใหม่ ๆ ใส่ลงไปในโหลแก้วตามความเข้มข้นที่ได้เขียนกำกับไว้ และจัดเรียงความเข้มข้นอย่างเป็นระเบียบเพื่อให้ง่ายต่อการบันทึกผล

2.5.1.1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง นำพวงไข่ที่วางในวันแรกจากตู้เพาะเลี้ยงมาใส่ในโหลแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร รอจนตัวอ่อนระยะที่ 1 ตอนปลายฝักตัวออกมาจนหมด ซึ่งจะใช้เวลาประมาณ 6-7 วัน ซึ่งเป็นระยะที่ต้องการใช้ในการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

2.5.1.1.3 การทดสอบ โดยดูดหนอนแดงระยะที่ 1 จำนวน 125 ตัวในแต่ละความเข้มข้นใส่ลงในแก้วสำหรับการคัดเลือกหนอนแดงที่จะใช้ทดสอบ จากนั้นนำแก้วที่ใส่หนอนแดงที่คัดเลือกแล้ว หยอดใส่ลงไปในโหลแก้ว จนครบทุกความเข้มข้น ในแต่ละความเข้มข้นทำ 2 ซ้ำ

Prince of Songkla University Pattani Campus

ส่วนชุดควบคุม (Control) ใช้น้ำกรองแทนสารละลาย จากนั้นนำไปวางในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิประมาณ 28±2 องศาเซลเซียสและควบคุมแสง คือ สว่าง 12 ชั่วโมงและมืด 12 ชั่วโมง (12L : 12D) ทดสอบเป็นระยะเวลาประมาณ 17 วัน (17 day assay) มีการให้อาหารปลาบดละเอียด 0.35-0.5 มิลลิกรัมต่อตัวและให้ออกซิเจนตลอดการทดลอง แต่ละชุดการทดลองก็จะปิดด้วยฝาครอบที่มุงด้วยตาข่ายขนาดเล็กและจะมีการเปลี่ยนสารละลายใหม่ทุกวัน บันทึกผลการทดลองและสังเกตพฤติกรรมการเคลื่อนไหวในแต่ละชุดการทดลองทุกวัน เพื่อดูผลในด้านต่าง ๆ คือ การเจริญเติบโต (Growth) การพัฒนาเป็นตัวเต็มวัย (Number of Emergence) และความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง (Mouthparts Deformity) (ภาพที่ 2.9)



ภาพที่ 2.9 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังในน้ำ

2.5.1.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

ช่วงความเข้มข้นที่ใช้ คือ ความเข้มข้นของเดลตาเมทริน 1/100 (0.16) และ 1/10 (1.6) ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50} ในน้ำและตะกอนดิน และชุดควบคุมใช้น้ำกรองแทนสารละลาย ในแต่ละแก้วการทดลองจะมีการเพิ่มปัจจัยอีก 1 ปัจจัย คือ ดินที่มีอนุภาคตามสัดส่วนที่คำนวณได้จากแหล่งที่อยู่ตามธรรมชาติของหนอนแดง ขนาดอนุภาคของดินที่เพิ่มเข้าไปคือ ขนาดน้อยกว่า 500 ไมโครเมตร ปริมาณ 250 กรัม จากนั้นนำพลาสติกที่ตัดเอาส่วนท้ายออกแล้วบุด้วยตาข่ายที่มีขนาดเล็ก ซึ่งเป็นตาข่ายที่หนอนแดงไม่สามารถผ่านลงไปในดินตะกอน มาใช้รองรับตัวสัตว์ทดลองโดยวางพลาสติกให้สัมผัสกับดินตะกอนและน้ำในโหลการทดลองที่ผสมสัดส่วนดังกล่าวข้างต้นไว้แล้ว เพื่อการง่ายในการค้นหาสัตว์ทดลองเมื่อบันทึกผลการทดลองทำการเขย่า เพื่อให้สารละลายและตะกอนผสม

เข้ากัน โดยเขย่าเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ด้วยเครื่องเขย่าสาร ส่วนวิธีการอื่น ๆ ทำเช่นเดียวกับการทดสอบความเป็นพิษแบบกึ่งเรื้อรังในน้ำ (ภาพที่ 2.10)

ภาพที่ 2.10 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังในน้ำและตะกอนดิน

2.5.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสต่อหนอนแดง

2.5.2.1 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

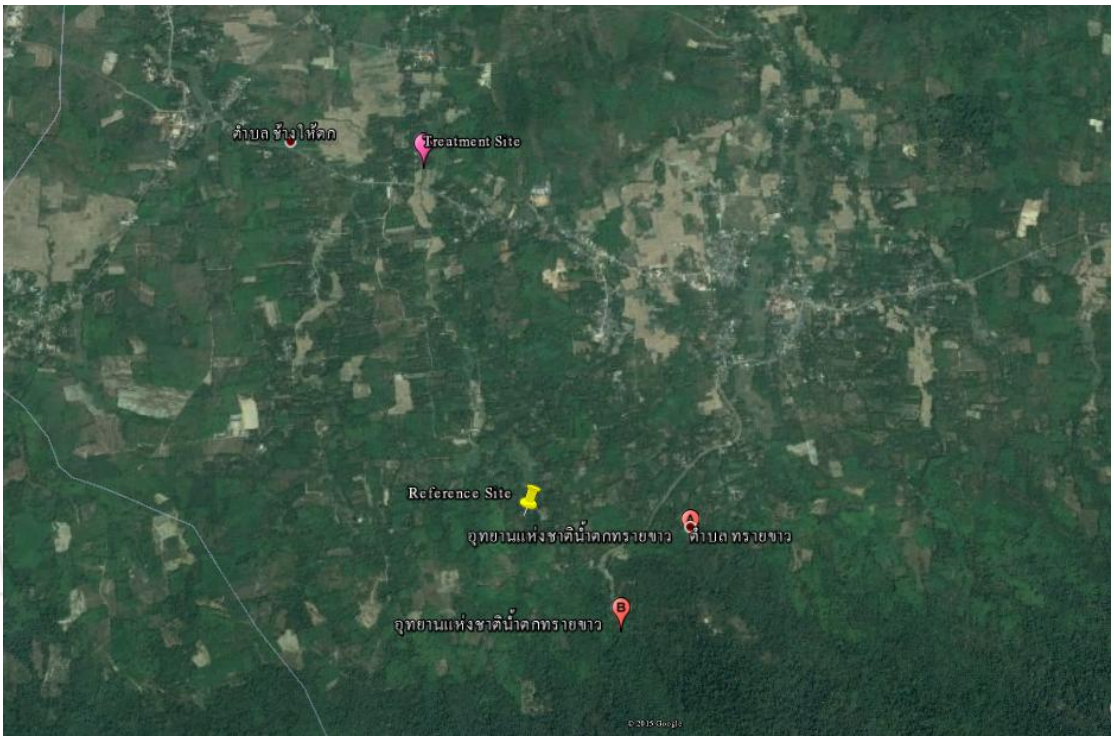
2.5.2.1.1 การเตรียมสารละลาย ใช้ความเข้มข้นของเดตาวอส 1/100 (0.13) และ 1/10 (1.3) ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50}ที่ 48 ชั่วโมงในน้ำ โดยเตรียมสารละลายจาก Stock Detavos Solution ปรับปริมาตรจนได้ตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยขั้นตอนอื่นทำเช่นเดียวกับการทดสอบพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินในน้ำ ข้อที่ 2.5.1.1.2-2.5.1.1.3 ตามลำดับ

2.5.2.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

ช่วงความเข้มข้นที่ใช้ คือ ความเข้มข้นของเดตาวอส 1/100 (0.36) และ 1/10 (3.6) ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50} ในน้ำและตะกอนดิน โดยขั้นตอนอื่นทำเช่นเดียวกับการทดสอบในเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน ข้อที่ 2.5.1.2

2.6 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม (*In Situ* exposure)

2.6.1 สำรวจพื้นที่ที่จะใช้ทำการทดสอบ เป็นคลองส่งน้ำที่รับน้ำจากอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาว และนำมาใช้ประโยชน์ในพื้นที่การเกษตรของคนใน ม.6 ตำบลทรายขาว อำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี วัดระยะทางห่างจากอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาวถึงตำแหน่งสุดท้ายที่ทำการทดสอบประมาณ 3 กิโลเมตร ซึ่งแบ่งเป็น 2 ตำแหน่งคือ ตำแหน่งของ Reference site (ละติจูด 6° 39.701'น, ลองจิจูด 101° 5.424'ตะวันออก) และ ตำแหน่งของ Treatment site (ละติจูด 6° 40.868'น, ลองจิจูด 101° 5.066'ตะวันออก) (ภาพที่ 2.11)



ภาพที่ 2.11 ตำแหน่งที่ใช้ในการทดสอบในพื้นที่ตำบลทรายขาว

2.6.2 เตรียมชุดการทดลอง ซึ่งประกอบด้วย ขวดพลาสติกชนิดหนา ที่มีขนาดความจุประมาณ 20 มิลลิลิตร ที่มีการตัดเอาส่วนท้ายออกแล้วบุด้วยผ้าแก้วเพื่อใช้สำหรับรองรับสัตว์ทดลอง ส่วนของฝาปิดก็ตัดเอาพลาสติกที่บุด้านบนของฝาออก แล้วบุใหม่ด้วยผ้าแก้วเช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2.12)

2.6.3 ระยะเวลาของการทดสอบ ครั้งที่ 1 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2558 และครั้งที่ 2 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2558

2.6.4 ตรวจวัดลักษณะทางกายภาพของแหล่งน้ำ เช่น การวัดค่า pH, อุณหภูมิ, ความเร็วของกระแสน้ำ

2.6.5 การเตรียมสัตว์ทดลองจะใช้สัตว์ทดลองคือ หนอนแดงระยะที่ 2 โดยนำหนอนแดงดูดถ่ายใส่ลงไปในชุดการทดลองที่เตรียมไว้ ทำการทดลองโดยใช้หนอนแดงทั้งสิ้น 920 ตัว

2.6.6 นำชุดการทดลองที่ได้ ไปวางลงในบริเวณผิวดินกลางท้องน้ำที่ระดับความลึกประมาณ 20 เซนติเมตร โดยให้ส่วนท้ายของขวดการทดลองที่มีหนอนแดงสัมผัสกับตะกอนบริเวณผิวหน้าดิน วางไว้เป็นระยะเวลา 7 วัน (ภาพที่ 2.13-2.14)

2.6.7 เมื่อครบตามกำหนดเวลา เก็บตัวอย่างของหนอนแดง ขวดการทดลองละ 30% ของจำนวนสัตว์ทดลอง ใส่ลงในแอลกอฮอล์เข้มข้น 70% และนำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาความผิดปกติในโครงสร้างของรยางค์ปากต่อไป

ภาพที่ 2.12 การออกแบบชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อม

ภาพที่ 2.13 ชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อมตำแหน่ง Reference site

ภาพที่ 2.14 ชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อมตำแหน่ง Treatment site

2.7 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

2.7.1 ผลการศึกษาขนาดและสัดส่วนอนุภาคของดินในแหล่งอาศัย นำค่าที่ได้มาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

2.7.2 ผลการทดลอง ที่ได้จากการบันทึกการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในเดลตาเมทรินและเดตาวอสทั้งในสภาวะที่มีน้ำและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน นำมาวิเคราะห์หาค่า LC_{50} และ LT_{50} โดยใช้โปรแกรม SPSS (Probit Analysis) และนำผลการทดลองที่ได้มานำเสนอเป็นกราฟเส้น สร้างโดยใช้โปรแกรม R

2.7.3 ผลการทดลอง ที่ได้จากการบันทึกการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังในเดลตาเมทรินและเดตาวอสทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน นำมาวิเคราะห์หาค่าดังต่อไปนี้

2.7.3.1 การเจริญเติบโต นำค่าที่ได้มาคิดเป็นค่าเฉลี่ย

2.7.3.2 การพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของเพศผู้และเพศเมียนำค่าที่ได้มาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

2.7.3.3 ความผิดปกติในรยางค์ปาก นำค่าที่ได้จากการบันทึกในแต่ละโครงสร้างมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ SPSS ทดสอบค่า Chi-square และนำผลการทดลองที่ได้มานำเสนอเป็นกราฟแท่ง โดยใช้โปรแกรม R

Prince of Songkla University Pattani Campus

2.8 วัสดุและอุปกรณ์

ตารางที่ 2 รายละเอียดวัสดุและอุปกรณ์

รายการ	แหล่งที่มา
อาหารปลาบดละเอียดยี่ห้อ CP OPTIMUM	-
เยื่อกระดาษ	-
Detavos®	บริษัท พาโตเคมีอุตรสาหกรรม
กรดซิตริกเข้มข้น 10%	บริษัท MERCK
แอทานอล 99.8%	บริษัท ITALMAR
โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 10%	บริษัท MERCK
แทงค์พร้อมฝาครอบขนาด 30 cm x 60 cm x 30 cm	-
ถาดสแตนเลส	-
โหลแก้วขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร	-
กล้องจุลทรรศน์ OLYMPUS BX51	บริษัท Motic
เครื่องปั่นอาหาร ยี่ห้อ National	บริษัท ศรีไพบูลย์อีเล็คทริก จำกัด
กล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ Zeiss stemi 2000-C	บริษัท Motic
ชุดแอร์ปั้ม รุ่น ACO-9905	บริษัท Hailea
ชุดเครื่องแก้ว	บริษัท Fluka
กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ Stemi 2000-	บริษัท Motic
ชุดหลอดไฟ TL-D Super 80 หลอดฟลูออเรสเซนต์ชนิดแท่ง	บริษัท อินเตอร์ไซต์ (ประเทศไทย)
ตู้อบ MEMMERT	บริษัท MERIT TECH
เครื่องตั้งเวลา TG-14	บริษัท CE Rohs
เครื่องชั่ง TE61-L	บริษัท Satorius
Motic Image plus 2.0	บริษัท Motic
กล้องถ่ายภาพดิจิตอล Moticam 10001.3M Pixel USB2.0	บริษัท Motic
ตะแกรงร่อนขนาดอนุภาคดิน	-

- หมายถึง มีขายทั่วไป

Prince of Songkla University Pattani Campus

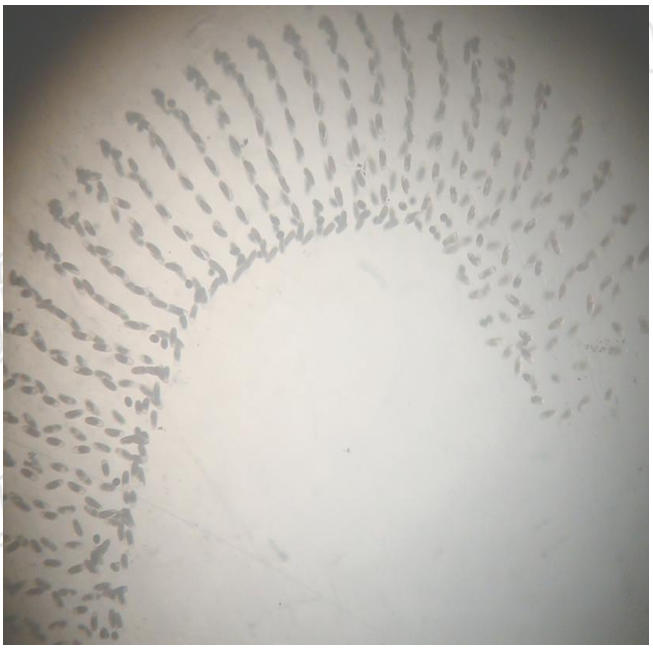
บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 ผลการทดลอง ศึกษาวงชีวิต การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ

ศึกษาวงชีวิตการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ วงชีวิตของหนอนแดงแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

1. ระยะไข่ ลักษณะไข่ของหนอนแดง เป็นรูปยาวรี เรียงกันเป็นแถววกกลับไปกลับมาภายในวุ้นเหนียวที่ห่อหุ้มไข่ไว้ทั้งหมด จึงทำให้ไข่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ระยะไข่ (eggs mass)

2. ตัวอ่อน ประกอบด้วยส่วนหัวและลำตัว หัวหนอนแดงค่อนข้างเล็กและมีเปลือกแข็งหุ้ม การเจริญของหนอนแดงแบ่งออกเป็น 4 ระยะ

ตัวอ่อนวัยแรก ใช้เวลาประมาณ 3-5 วัน มีความไวต่อแสง ยังไม่มีสี (ภาพที่ 3.2)

ตัวอ่อนวันที่สอง ตัวอ่อนอยู่ในระยะนี้ 2-3 วัน ลำตัวเริ่มมีสีแดง

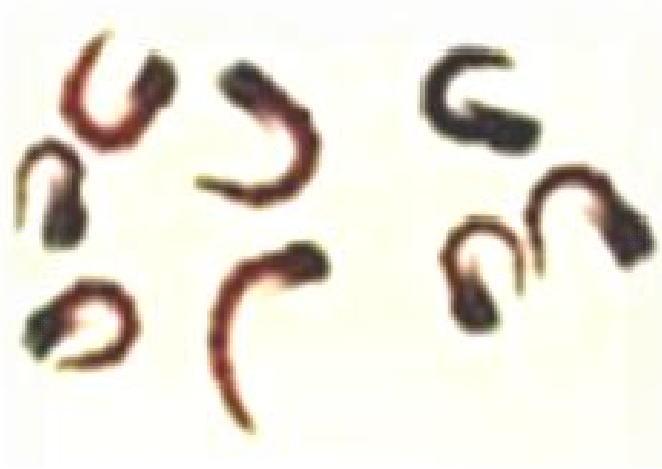
ตัวอ่อนวัยสาม จะเจริญเติบโตเร็วมาก ใช้เวลาประมาณ 3-4 วัน (ภาพที่ 3.3)

ตัวอ่อนวัยที่สี่ ลำตัวสีแดงเข้ม เพศผู้อยู่ในระยะนี้ประมาณ 7-8 วัน ส่วนเพศเมียประมาณ 8-10 วัน

ภาพที่ 3.2 ระยะตัวอ่อน (ระยะที่ 1)

ภาพที่ 3.3 ระยะตัวอ่อน (ระยะที่ 3-4)

3. ดักแด้ ใช้เวลาเพียง 1 วัน (ภาพที่ 3.4)



ภาพที่ 3.4 ระยะดักแด้

4. ตัวเต็มวัย ตัวผู้จะมีหนวดแบบพู่ขน ขนาดลำตัวจะยาวเรียวและผอมบางกว่าเพศเมีย (ภาพที่ 3.5)

เพศผู้ เพศเมีย

ภาพที่ 3.5 ระยะตัวเต็มวัย

Princ makia University

3.2 ผลของการเตรียมสารเคมี

การศึกษาช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม (Range finding) ทั้งของเดลตาเมทรินและเดตาวอส ทำให้ได้ระดับความเข้มข้นของสารที่จะใช้ทดสอบ (Nominal concentration) ดังนี้

3.2.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน

3.2.1.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสในน้ำช่วงความเข้มข้นที่ใช้ คือ 0, 1.8, 2.1, 2.4, 2.8, 3.7, 10, 18, 32, 42 และ 56 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.2.1.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินช่วงความเข้มข้นที่ใช้ คือ 0, 10, 18, 21, 24, 32 42, 56 และ 65 ไมโครกรัมต่อลิตร

3.2.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

3.2.2.1 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดลตาวอสในน้ำ ระดับความเข้มข้นที่ใช้ คือ 0, 0.03, 0.3 และ 0, 0.13, 1.3 ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

3.2.2.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน ระดับความเข้มข้นที่ใช้ คือ 0, 0.16, 1.6 และ 0, 0.36, 3.6 ไมโครกรัมต่อลิตร ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

3.2.2.3 การทดสอบความการปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติ (*In situ* test) ใช้ความเข้มข้นของสารที่คาดว่าน่าจะมีการปนเปื้อนในแหล่งน้ำธรรมชาติเป็นตัวทดสอบ

Prince of Songkla University Pattani Campus

3.3 ผลการศึกษาขนาดและสัดส่วนอนุภาคของดินในแหล่งอาศัย

ขนาดของอนุภาคดินในแหล่งอาศัยของหนอนแดงค่อนข้างที่จะเป็นตะกอน ที่มีขนาดน้อยกว่า 500 ไมโครเมตรซึ่งเหมาะที่จะนำมาใช้ในการสร้างปลอกหุ้มตัวในระหว่างการลอกคราบเปลี่ยนระยะของหนอนแดง (ตารางที่ 3.1)

ตารางที่ 3.1 ขนาดอนุภาคของดิน

ขนาด (ไมโครเมตร)	> 125	75-125	53-75	38-53
(%)	15.11	9.02	17.35	58.52
ลักษณะของดิน				

3.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันที่มีต่อหนอนแดง

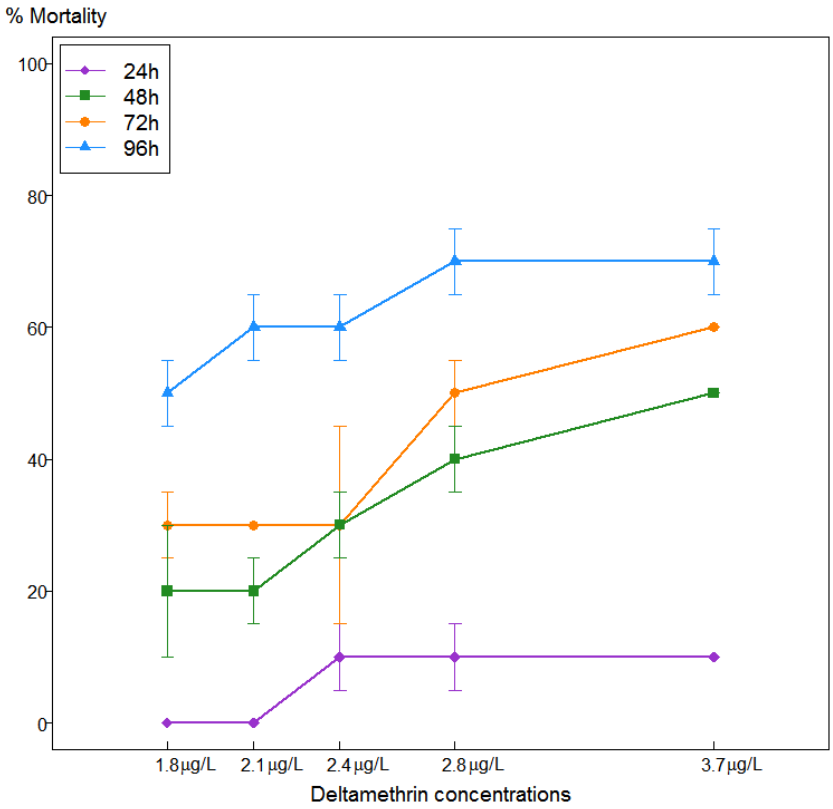
3.4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทริน (Deltamethrin) ที่มีต่อหนอนแดง

จากการศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของเดลตาเมทรินทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0, 1.8, 2.1, 2.4, 2.8 และ 3.7 ไมโครกรัมต่อลิตร (ในน้ำเพียงอย่างเดียว) และ 0, 10, 18, 21, 24 และ 32 ไมโครกรัมต่อลิตร (ในน้ำและตะกอนดิน) ได้ผลการทดลองดังนี้

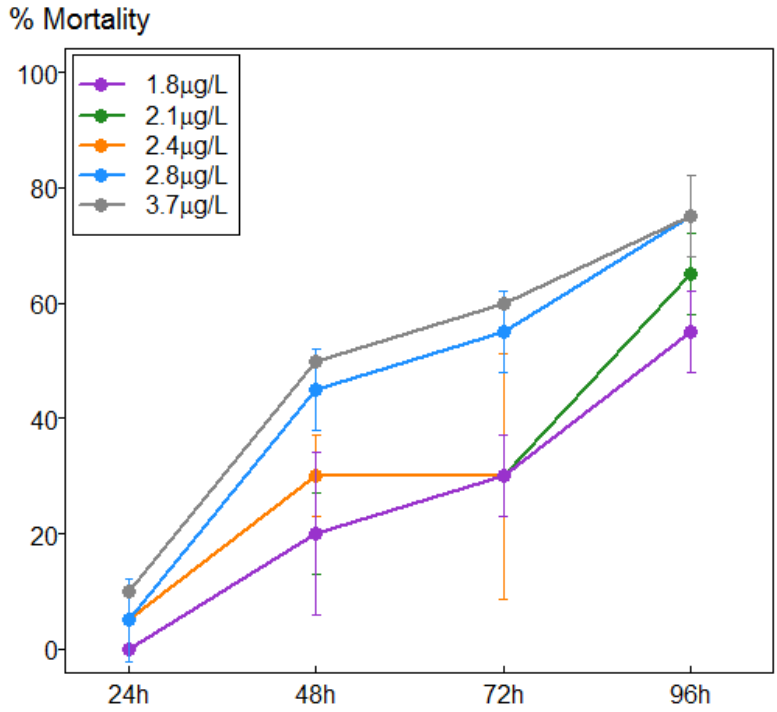
3.4.1.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

จากผลการทดสอบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมงพบว่า หนอนแดงมีการตายสะสมมากขึ้น เมื่อความเข้มข้นของเดลตาเมทรินและเวลาที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.6-3.9) จากกราฟจะเห็นได้ว่า การตายสะสมของสัตว์ทดลองจะสูงถึง 50% เมื่อเวลาที่ 48 ชั่วโมง

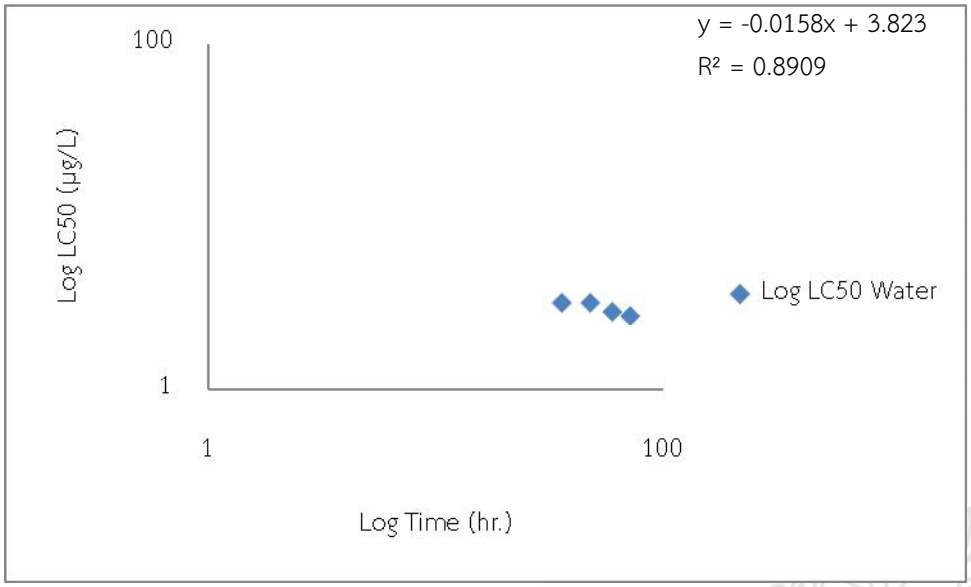
Prince of Songkla University Pattani Campus



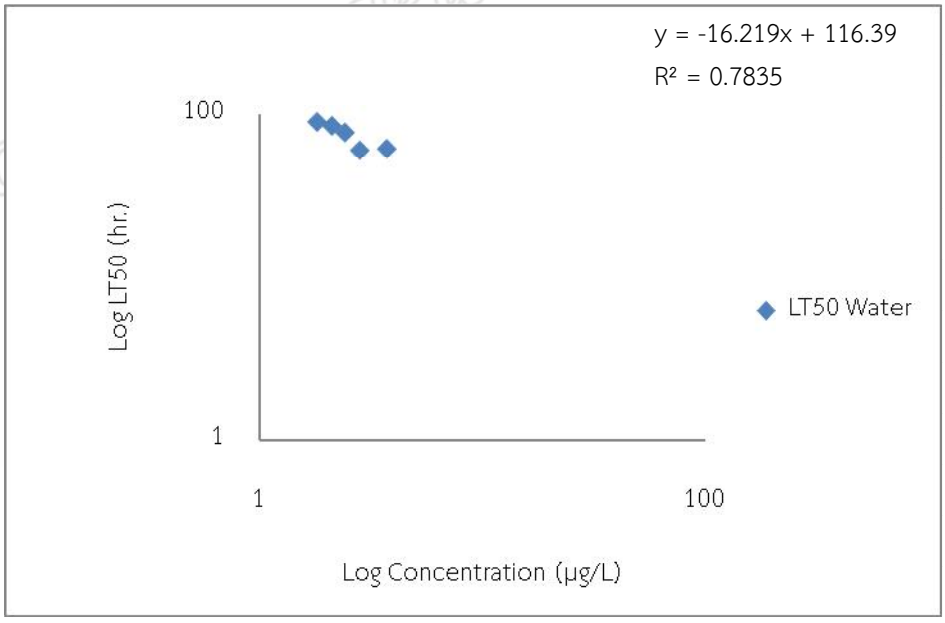
ภาพที่ 3.6 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้น ของเดลตาเมทรินในน้ำที่เวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 3.7 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ



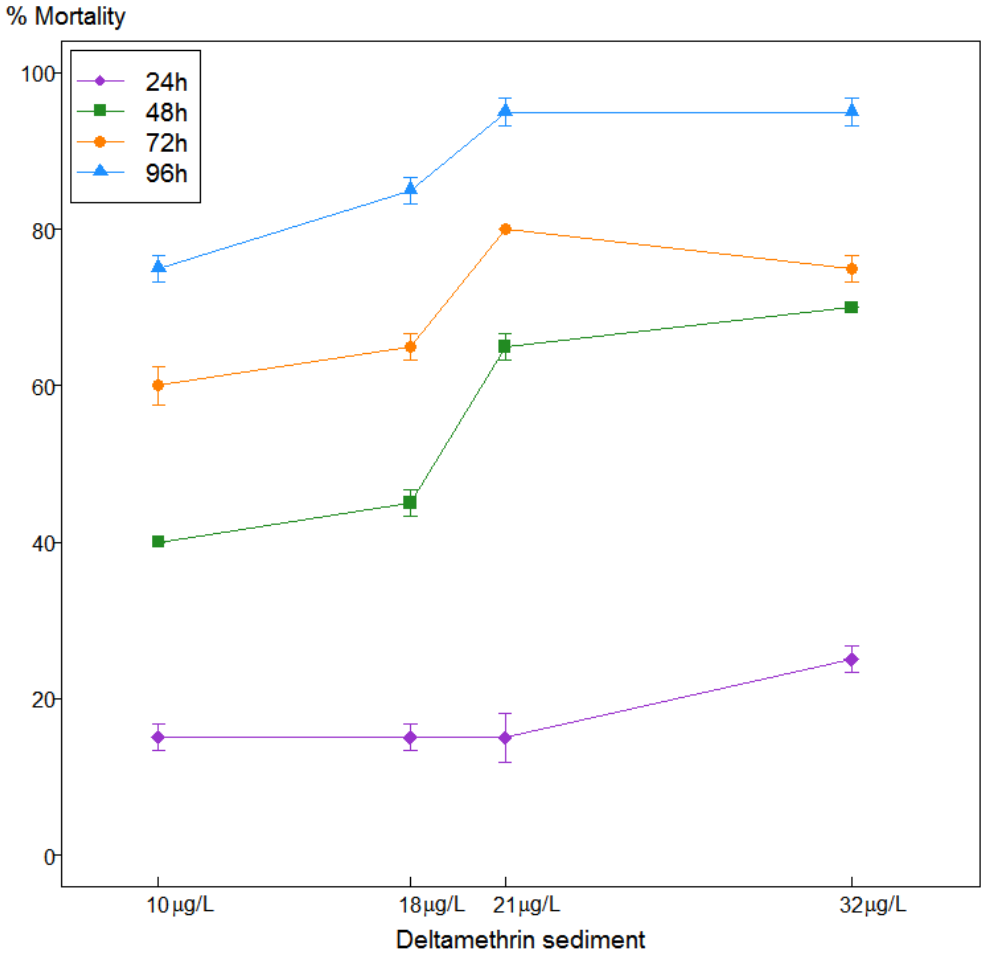
ภาพที่ 3.8 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50}



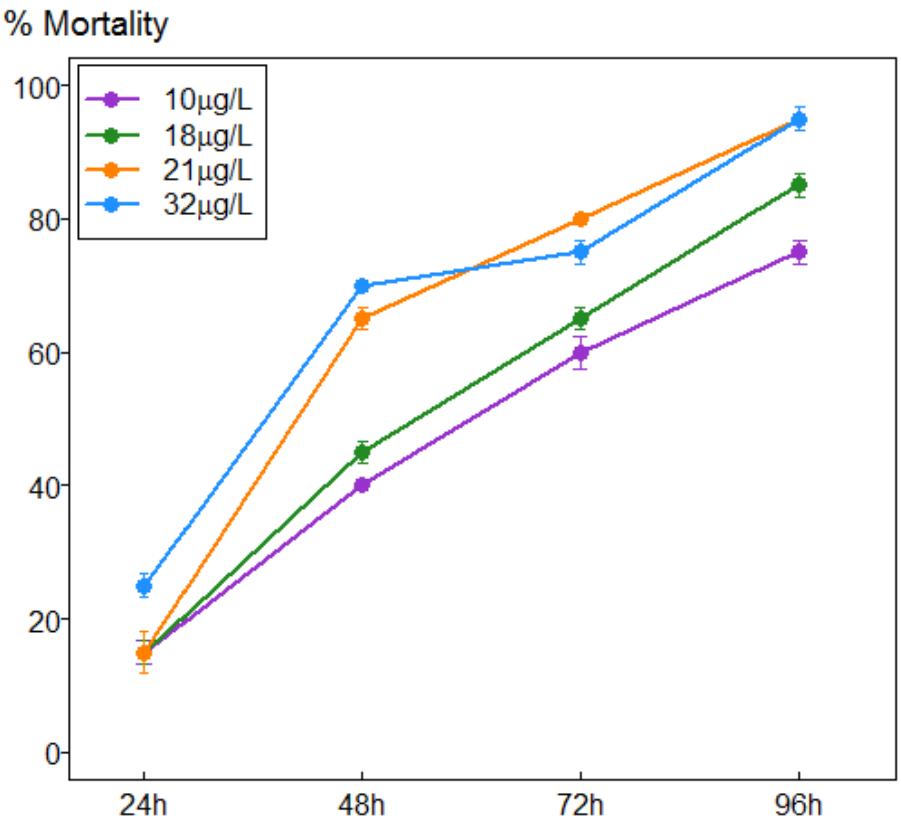
ภาพที่ 3.9 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50}

3.4.1.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดงทั้งในน้ำและตะกอนดิน

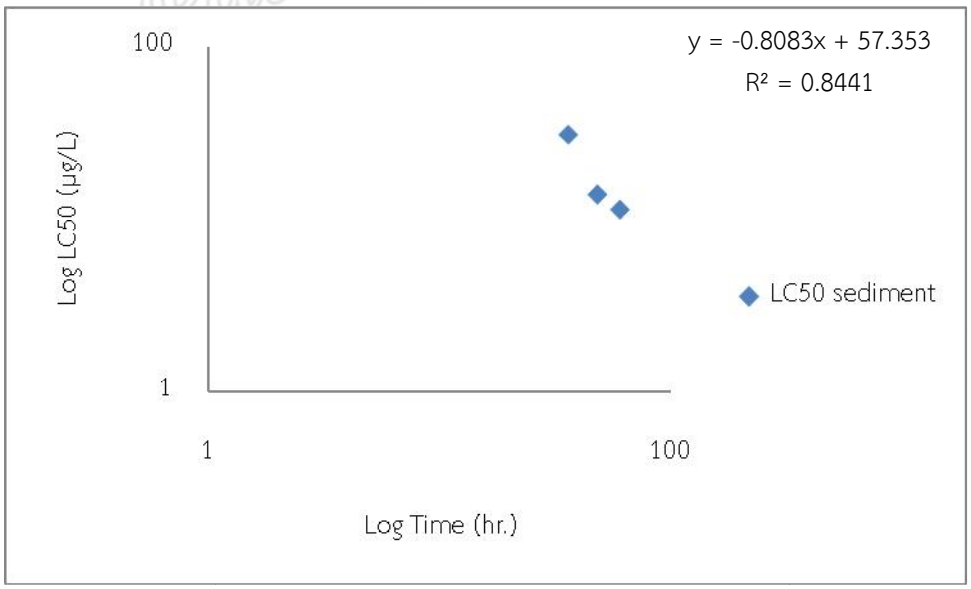
ผลการทดสอบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่มีต่อหนอนแดงพบว่า ในช่วงเวลาที่ 24 ชั่วโมงแรก การตายสะสมของความเข้มข้นที่ 10, 18 และ 21 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าเท่ากัน แต่เมื่อเวลาของการทดสอบเพิ่มขึ้นการตายสะสมของหนอนแดงเพิ่มขึ้น ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.10-3.13) และในทำนองเดียวกันเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นหนอนแดงก็ตายมากขึ้นด้วยเช่นกัน



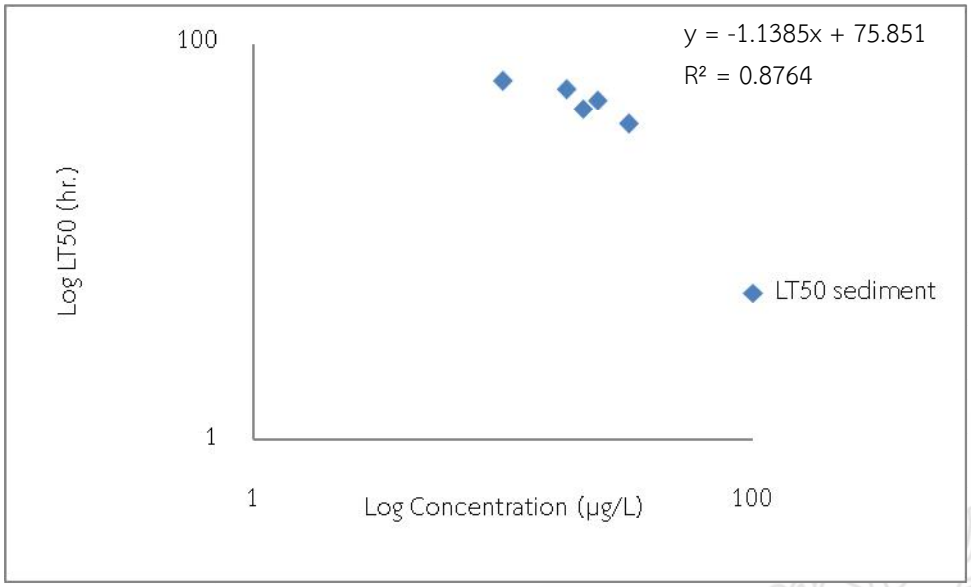
ภาพที่ 3.10 การตายสะสมของหนอนแดงกับความเข้มข้นของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่เวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 3.11 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเดลตาเมทริน ในน้ำและตะกอนดิน



ภาพที่ 3.12 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50}



ภาพที่ 3.13 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50}

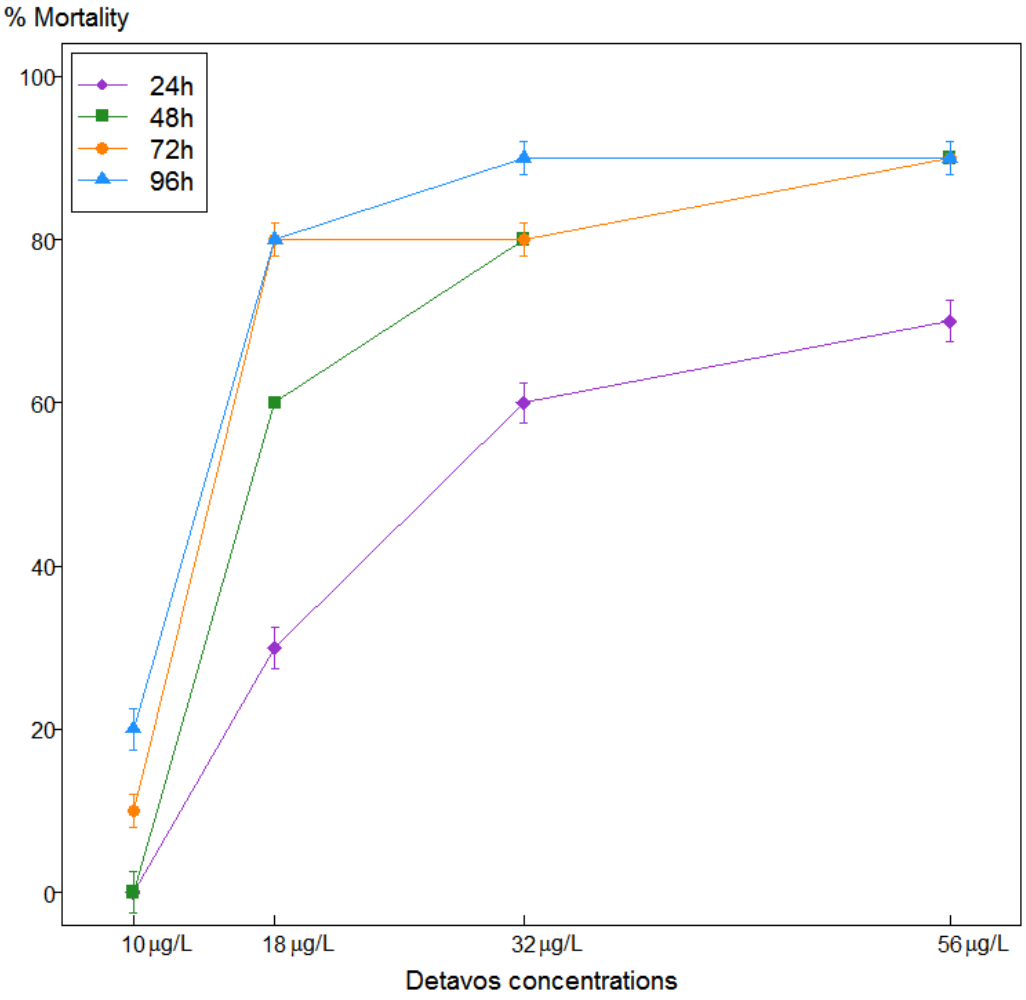
3.4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอส (Detavos) ที่มีต่อหนอนแดง

การศึกษาความเป็นพิษแบบเฉียบพลันของเดตาวอสทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ที่ระดับความเข้มข้น 6 ระดับ คือ 0, 10, 18, 32, 42 และ 56 ไมโครกรัมต่อลิตร (ในน้ำ) และ 0, 18, 32, 42, 56 และ 65 ไมโครกรัมต่อลิตร (ในน้ำและตะกอนดิน) ได้ผลการทดลองดังนี้

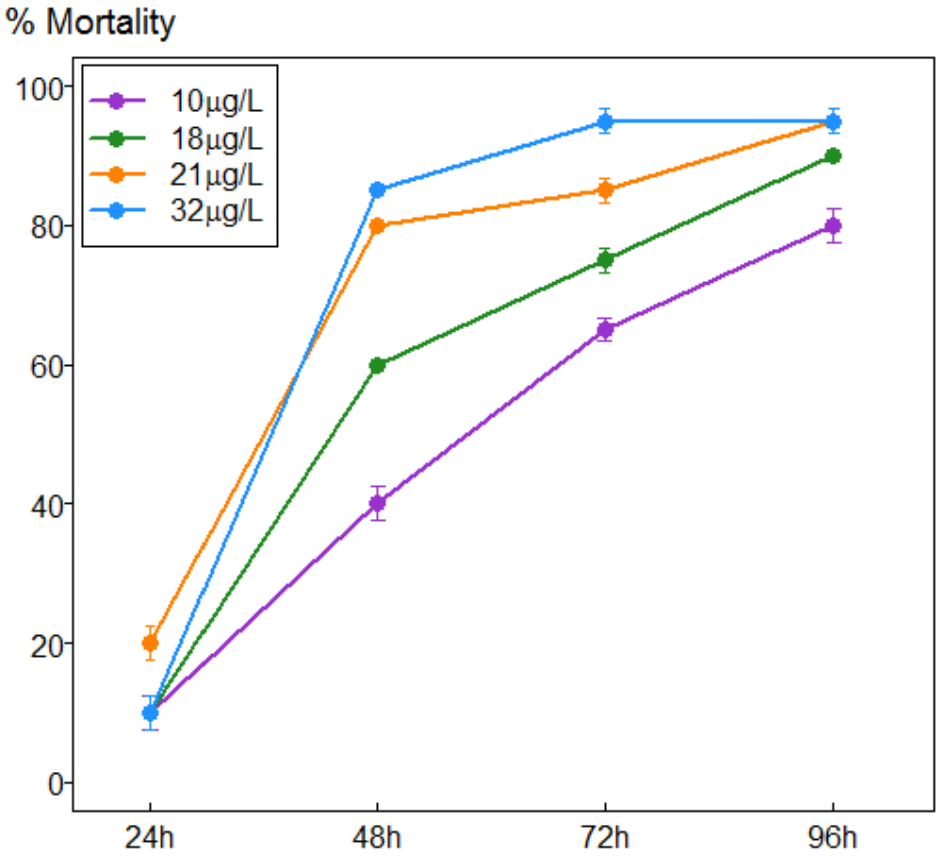
3.4.2.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

ผลการทดสอบความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำที่มีต่อหนอนแดงพบว่า ที่เวลา 24 ชั่วโมง ที่ระดับความเข้มข้น 32 และ 56 การตายสะสมของหนอนแดงมีมากกว่า 50% และหนอนแดงมีการตายสะสมมากขึ้น ตามความเข้มข้นและเวลาที่ใช้ทดสอบ (ภาพที่ 3.14-3.17) การจากทดสอบไม่พบการตายในกลุ่มควบคุม

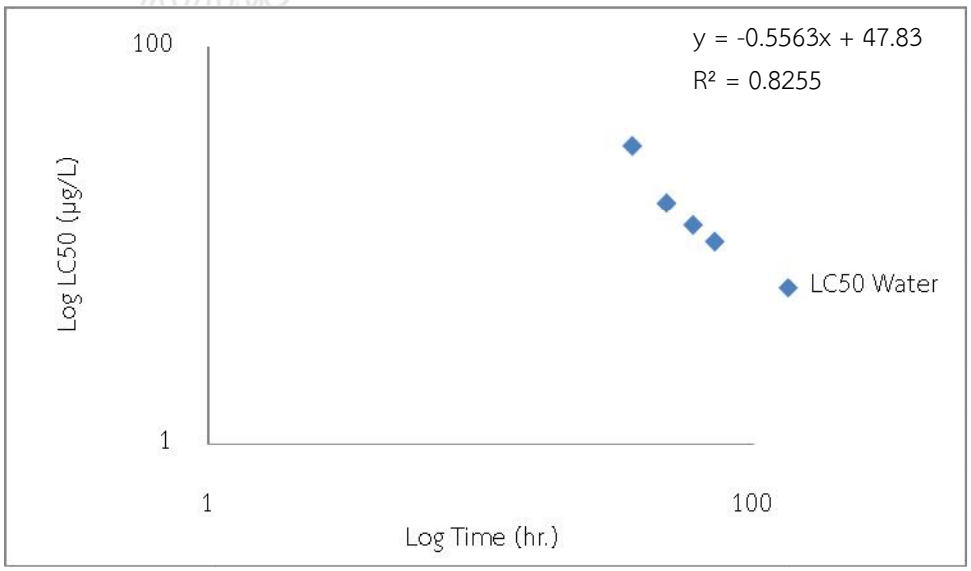
Prince of Songkla University Pattani Campus



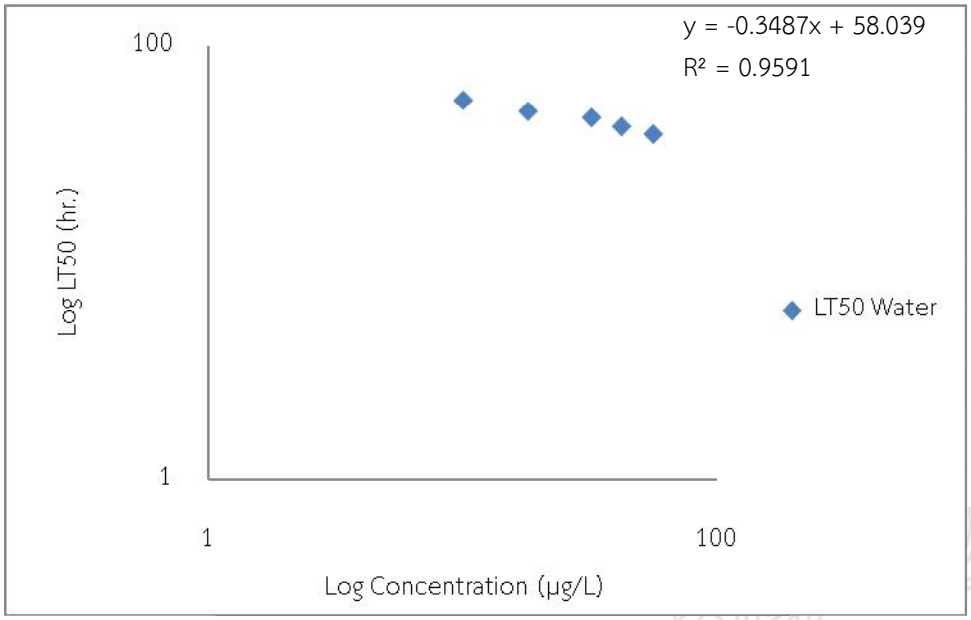
ภาพที่ 3.14 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นของเดตาวอสในน้ำที่เวลาต่าง ๆ



ภาพที่ 3.15 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาวอสในน้ำ



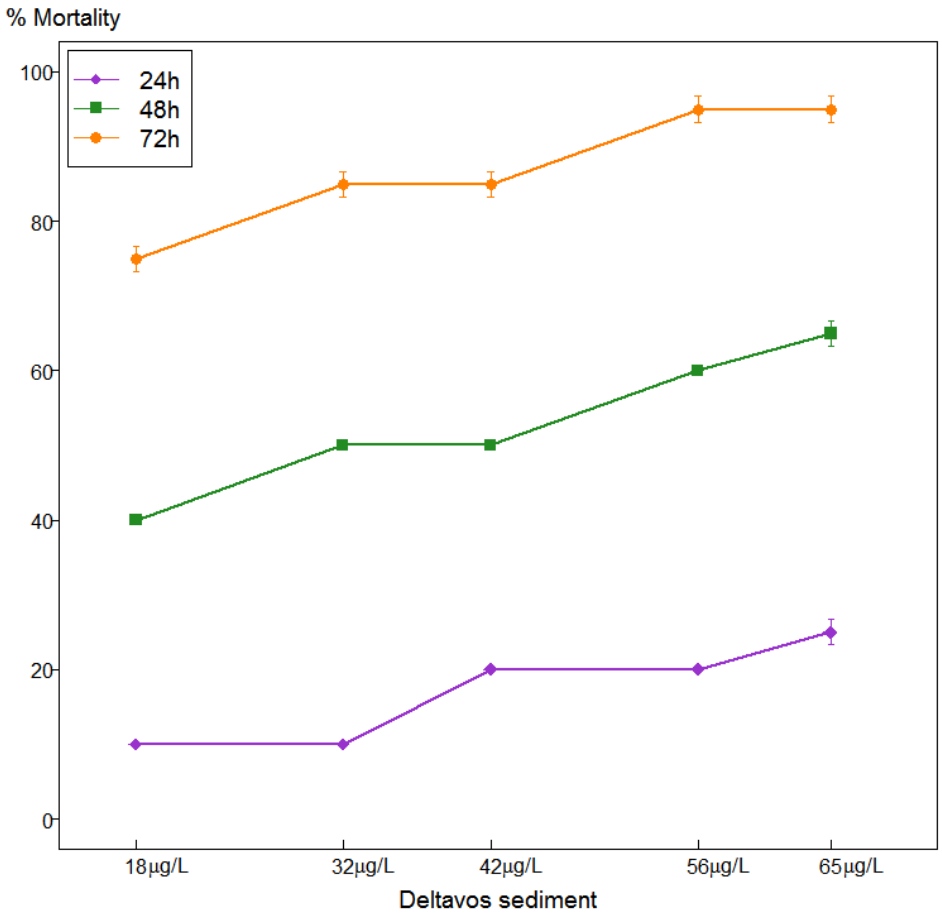
ภาพที่ 3.16 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50}



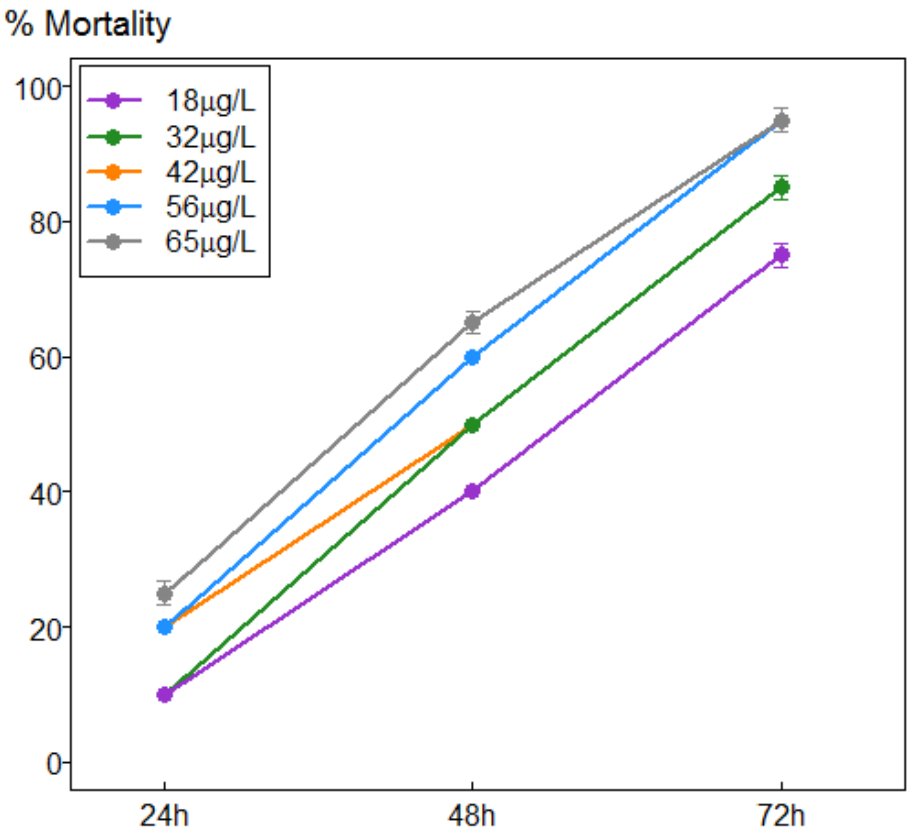
ภาพที่ 3.17 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50}

3.4.2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดงทั้งในน้ำและตะกอนดิน

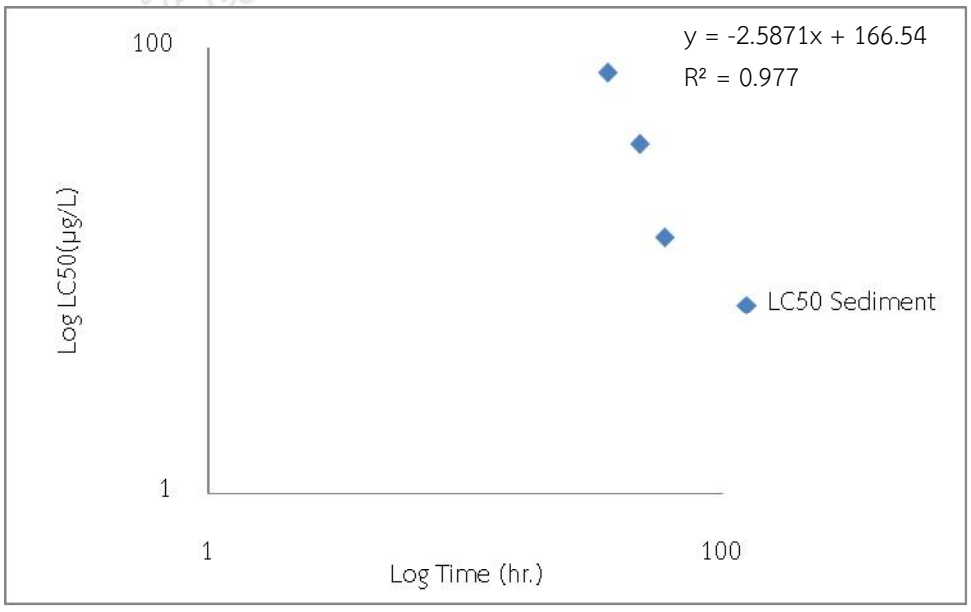
ผลการทดสอบความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินที่มีต่อหนอนแดงพบการตายสะสมของหนอนแดงเพิ่มขึ้นตามเวลาและความเข้มขึ้นที่ใช้ทดสอบ โดยในช่วงแรกที่ทำการทดสอบพบการตายที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดเพียง 20% และอัตราการตายเพิ่มสูงขึ้นถึง 50% เมื่อเวลาที่ใช้ในการทดสอบที่ 48 ชั่วโมง (ภาพที่ 3.18-3.21)



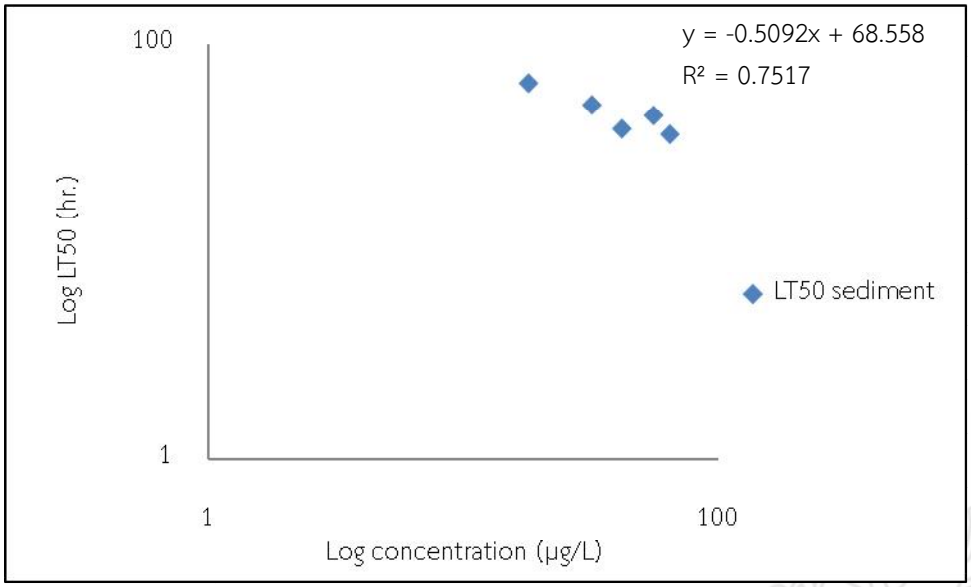
ภาพที่ 3.18 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน ที่เวลาต่างๆ



ภาพที่ 3.19 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาวอสในน้ำและตะกอนดิน



ภาพที่ 3.20 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50}



ภาพที่ 3.21 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50}

ตารางที่ 3.2 การคำนวณค่า Median lethal concentration (LC_{50}±SD) ของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง

เวลา (ชั่วโมง)	LC_{50} (µg/L) สภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว		LC_{50} (µg/L) สภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน	
	เดลตาเมทริน	เดตาวอส	เดลตาเมทริน	เดตาวอส
24	-	-	-	-
36	3.19±0.33	30.66±0.74	31.55±0.59	76.16±7.26
48	3.19±0.53	13.74±3.92	16.38±3.84	36.86±1.54
60	2.83±0.40	11.26±4.95	12.72±3.18	14.07±3.27
72	2.68±0.55	-	10.52±7.43	-

- หมายถึง การตายสะสมไม่สามารถนำมาหาค่า LC_{50} ได้

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 3.3 การคำนวณค่า Median lethal time (LT_{50}±SD) ของเดลตาเมทริน

ในน้ำเพียงอย่างเดียว		ในน้ำตะกอนดิน	
ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อลิตร)	LT_{50} (hr.)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อลิตร)	LT_{50} (hr.)
1.8	89.95±1.47	10	64.24±10.00
2.1	85.06±0.76	18	58.42±6.25
2.4	77.52±9.99	21	46.45±6.25
2.8	60.22±0.03	24	42.34±12.27
3.7	61.59±0.78	32	39.26±2.38

ตารางที่ 3.4 การคำนวณค่า Median lethal time (LT_{50}±SD) ของเดตาวอส

ในน้ำเพียงอย่างเดียว		ในน้ำตะกอนดิน	
ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อลิตร)	LT_{50} (hr.)	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อลิตร)	LT_{50} (hr.)
10	56.22±2.36	18	63.95±11.85
18	50.03±2.26	32	50.35±0.04
32	46.86±3.03	42	38.73±7.92
42	42.65±3.09	56	37.85±10.23
56	39.34±1.99	65	36.46±0.68

Prince of Songkla University Pattani Campus

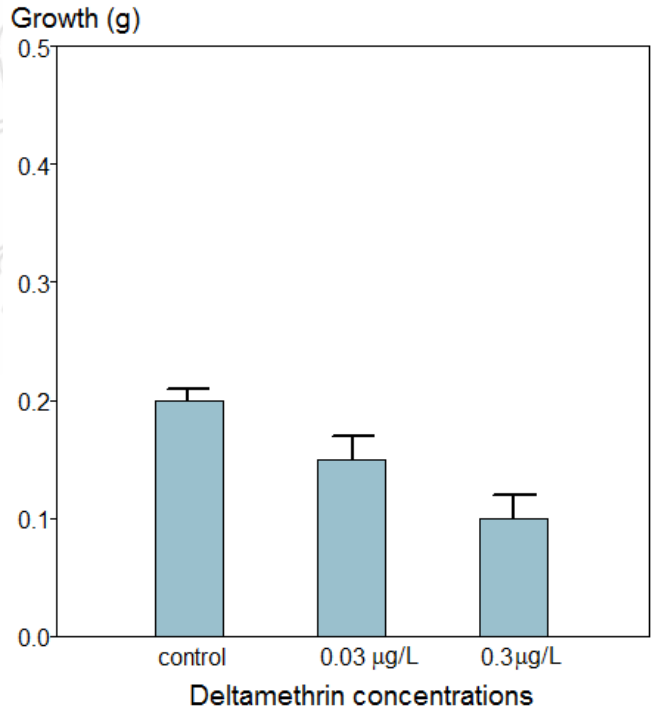
3.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง

3.5.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทริน (Deltamethrin) ที่มีต่อหนอนแดง

3.5.1.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทริน (Deltamethrin) ที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

จากการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1/100 (0.03 ไมโครกรัมต่อลิตร) และ 1/10 (0.3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ของค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังนี้

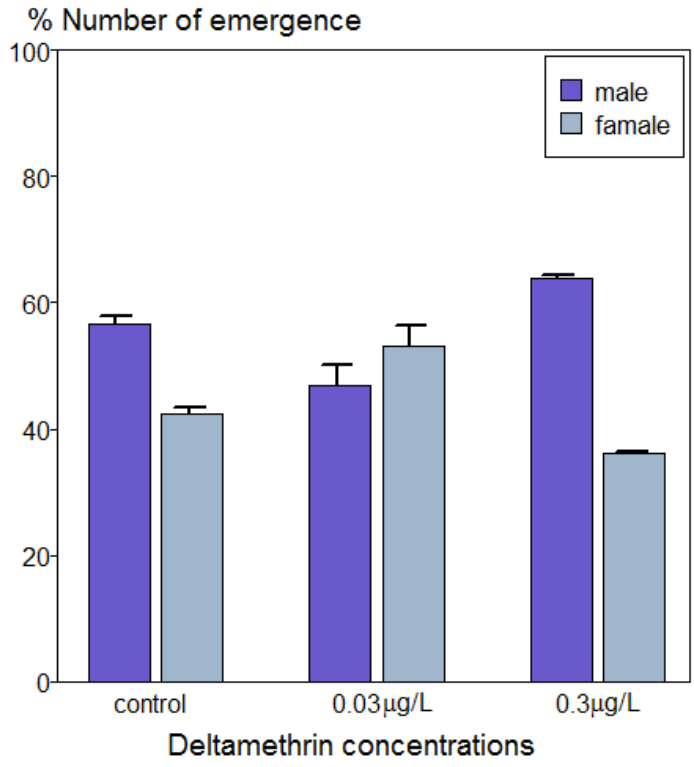
3.5.1.1.1 ผลการศึกษาด้านเจริญเติบโต (Growth) หลังจากที่ทำการทดสอบเป็นระยะเวลา 10 วันสุ่มเอาหนอนแดงในแต่ละความเข้มข้น โดยเลือกใช้ความเข้มข้นละ 20 ตัวนำไปอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งเพื่อที่จะหาน้ำหนักแห้งของหนอนแดง พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดงที่ทดสอบด้วยเดลตาเมทรินเป็นระยะเวลา 10 วัน ไม่ส่งผลต่อพัฒนาการด้านการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่มีแนวโน้มของน้ำหนักลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อความเข้มข้นของเดลตาเมทรินเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจำนวนเพศผู้และเพศเมียในแต่ละระดับความเข้มข้นมีจำนวนใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 3.22)



ภาพที่ 3.22 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ ($p>0.05$)

3.5.1.1.2 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (Number of emergence)

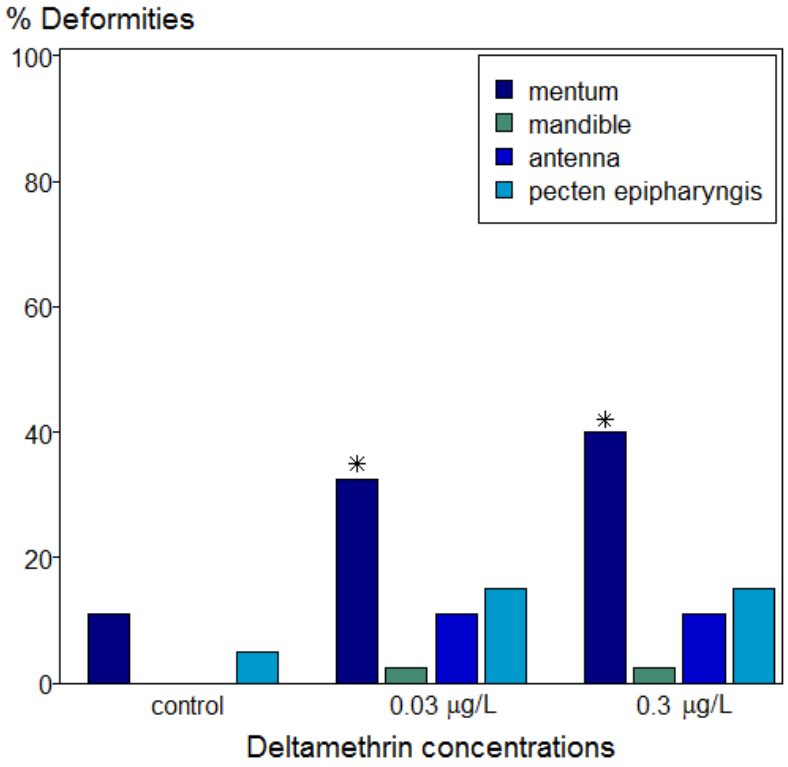
ผลการนับจำนวนของตัวเต็มวัยในแต่ละระดับความเข้มข้น โดยจะบันทึกจำนวนเพศผู้ และเพศเมีย เป็นระยะเวลา 6 วันนับตั้งแต่วันแรกที่ตัวเต็มวัยลอกคราบออกมา จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาร้อยละของเพศผู้และเพศเมียในแต่ละความเข้มข้น ซึ่งให้ผลดัง ภาพที่ 3.23 ซึ่งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่ส่งผลต่อจำนวนเพศของหนอนแดงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 3.23 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ ($p>0.05$)

3.5.1.1.3 การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง (Mouthparts deformity)

การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากจะทำการศึกษาในหนอนแดงระยะที่ 4 ซึ่งก็ตัดเอาส่วนของ head capsule ไปทำการศึกษาความผิดปกติภายใต้กล้อง โดยใช้เกณฑ์ในการศึกษาความผิดปกติในโครงสร้างส่วน mentum, mandible, antenna และ pecten epipharyngis (ภาพที่ 3.24) พบว่า ในแต่ละระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ พบลักษณะความผิดปกติแตกต่างกัน โดยเฉพาะในกลุ่มควบคุมก็พบความผิดปกติเพียงในส่วนของ mentum และ pecten epipharyngis เท่านั้นแต่ที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 1/100 และ 1/10 ของค่า LC_{50} พบความผิดปกติในโครงสร้างทั้ง 4 ส่วน คือ mentum, mandible, pecten epipharyngis และ antenna และโครงสร้างที่มีความเด่นชัดมากที่สุดคือ ส่วนของ mentum ซึ่งพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม

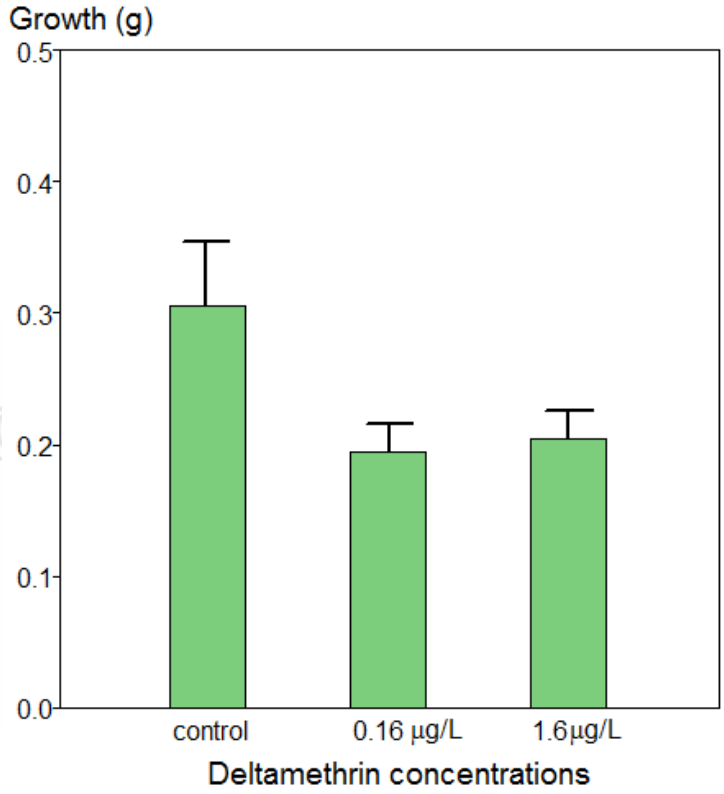


ภาพที่ 3.24 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดงที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ ($p<0.05$)

3.5.1.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทริน (Deltamethrin) ที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

จากการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินทั้งในสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1/100 (0.16 ไมโครกรัมต่อลิตรL) และ 1/10 (1.6 ไมโครกรัมต่อลิตร) ของค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังนี้

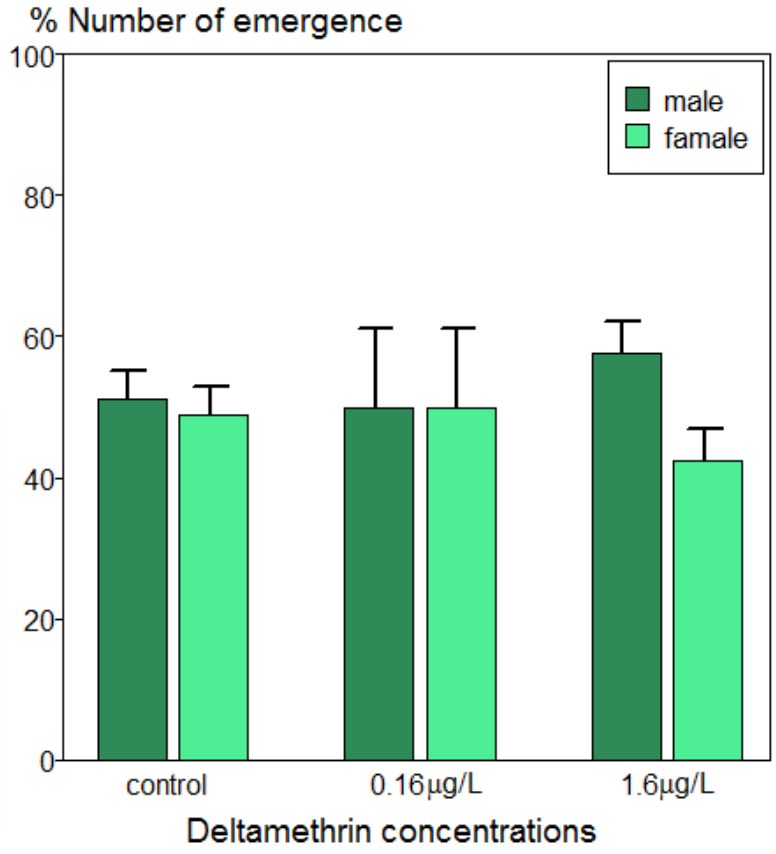
3.5.2.1.1 ผลการศึกษาด้านเจริญเติบโต (Growth) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดงที่ทดสอบด้วยเดลตาเมทรินเป็นระยะเวลา 10 วัน ไม่มีผลต่อพัฒนาการด้านการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่มีแนวโน้มของน้ำหนักที่ลดลง (ภาพที่ 3.25)



ภาพที่ 3.25 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน ($p>0.05$)

3.5.2.1.2 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (Number of emergence)

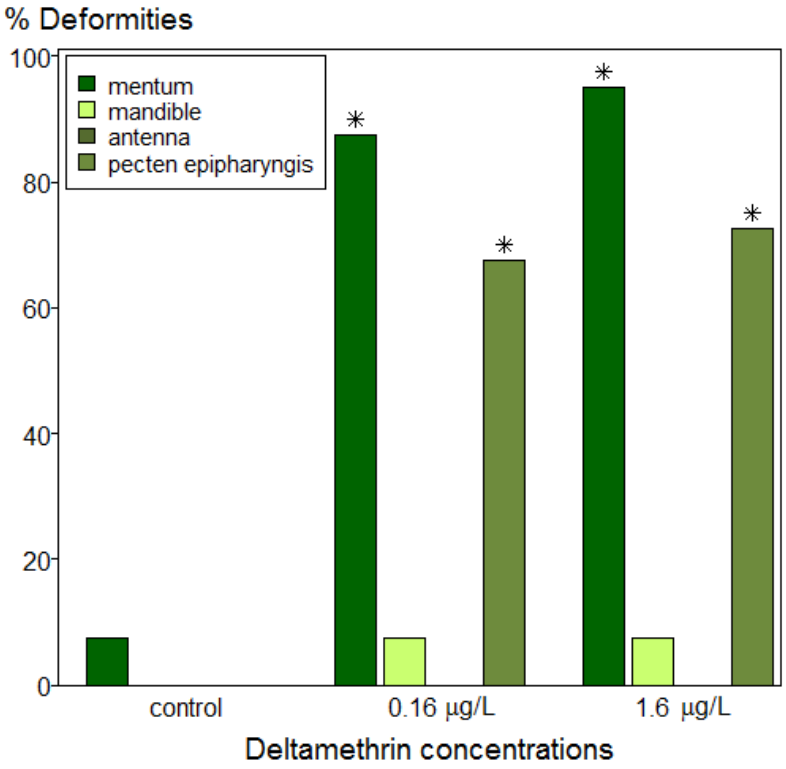
ผลการนับจำนวนของตัวเต็มวัยในแต่ละระดับความเข้มข้นให้ผลดังภาพที่ 3.26 พบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบทั้ง 3 ระดับ เมื่อนำไปคำนวณค่าทางสถิติแสดงให้เห็นว่าเดลตาเมทรินไม่มีผลต่อจำนวนเพศของหนอนแดงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม เห็นได้จากกราฟแสดงตัวเต็มวัยเพศผู้และตัวเต็มวัยเพศเมียมีจำนวนร้อยละใกล้เคียงกัน ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นสูงสุด ตัวเต็มวัยเพศเมียมีจำนวนน้อยกว่าในเพศผู้ประมาณ 10%



ภาพที่ 3.26 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน ($p>0.05$)

3.5.2.1.3 การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง (Mouthparts deformity)

ในแต่ละระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ พบลักษณะความผิดปกติแตกต่างกัน โดยในกลุ่มควบคุม ก็พบความผิดปกติเพียงส่วนของ mentum เพียงเล็กน้อยเท่านั้นแต่ที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 1/100 และ 1/10 พบความผิดปกติของโครงสร้างถึง 3 ส่วน คือ mentum, mandible และ pecten epipharyngis และไม่พบความผิดปกติ ในส่วนของ antenna โดยเฉพาะโครงสร้างของ mentum และ pecten epipharyngis พบว่ามีความผิดปกติแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 3.27)



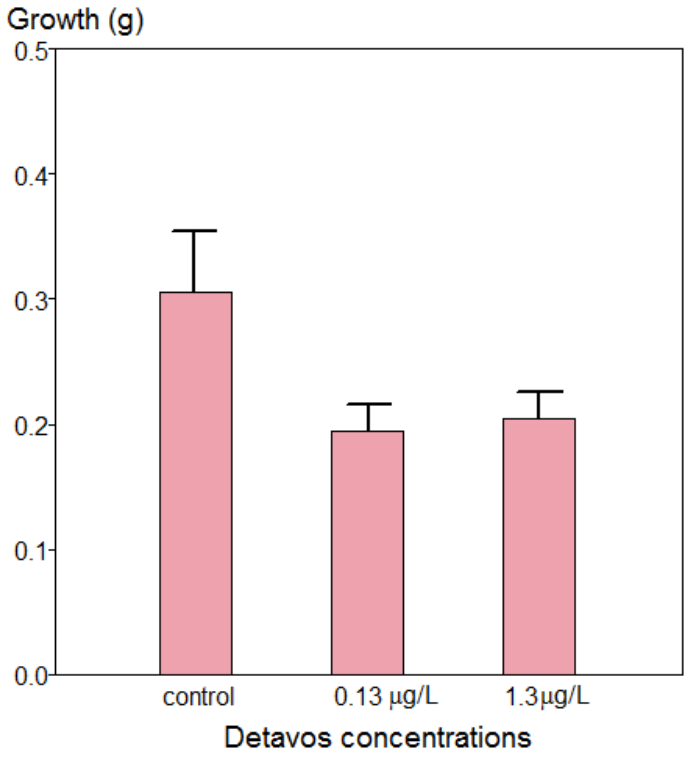
ภาพที่ 3.27 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน ($p<0.05$)

3.5.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอส (Detavos) ที่มีต่อหนอนแดง

3.5.2.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอส (Detavos) ที่มีต่อหนอนแดงในน้ำ

จากการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1/100 (0.13 ไมโครกรัมต่อลิตร) และ 1/10 (1.3 ไมโครกรัมต่อลิตร) ของค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังนี้

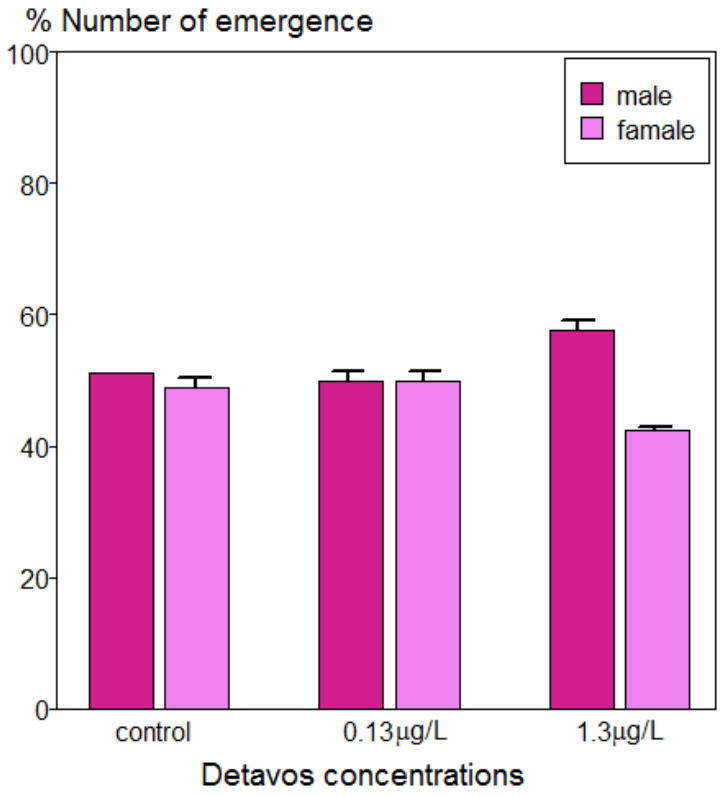
3.5.2.1.1 ผลการศึกษาด้านเจริญเติบโต (Growth) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดงที่ทดสอบด้วยเดตาวอส ไม่ส่งผลต่อพัฒนาการด้านการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ระดับความเข้มข้นทั้งสองที่ใช้ในการทดสอบ พบว่าการเจริญเติบโตของหนอนแดง มีค่าใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 3.28)



ภาพที่ 3.28 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ ($p>0.05$)

3.5.2.1.2.จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (Number of emergence)

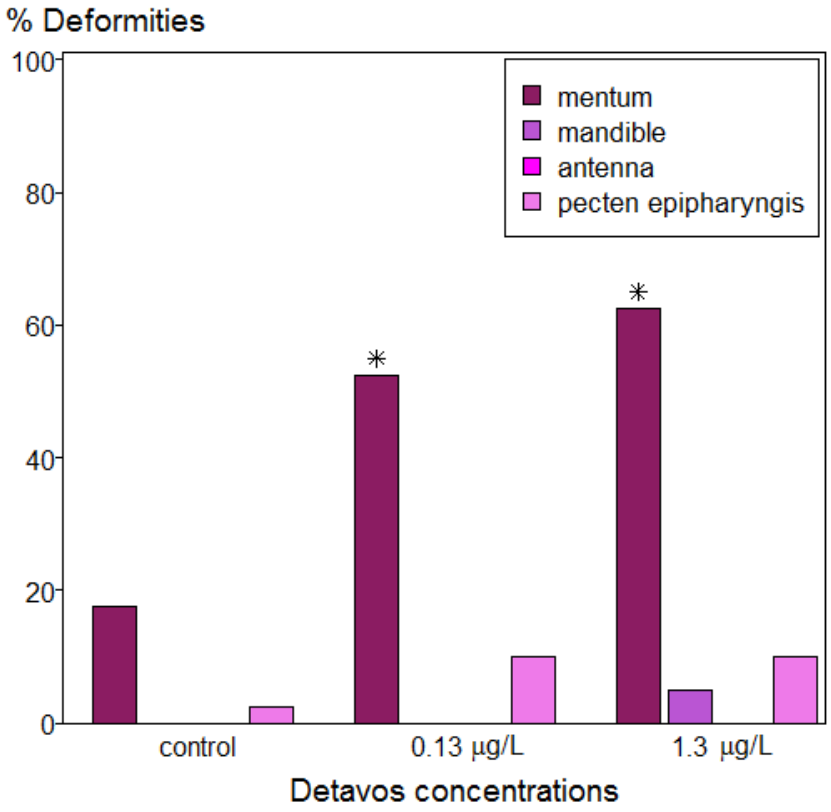
ผลการนับจำนวนของตัวเต็มวัยในแต่ละระดับความเข้มข้น พบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ไม่ส่งผลต่อจำนวนของเพศผู้และเพศเมียเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงสุดจะเห็นได้ว่าจำนวนของเพศเมียมีจำนวนลดลง (ภาพที่ 3.29)



ภาพที่ 3.29 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ ($p>0.05$)

3.5.2.1.3 การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง (Mouthparts deformity)

จากการทดสอบในแต่ละระดับความเข้มข้น พบลักษณะความผิดปกติ โดยเฉพาะในกลุ่มควบคุมพบความผิดปกติเพียงในส่วนของ mentum และ pecten epipharyngis เท่านั้นแต่ที่ระดับความเข้มข้นทั้ง 1/100 และ 1/10 พบตำแหน่งความผิดปกติเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมแต่โครงสร้างที่มีความผิดปกติเด่นชัด แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คือ ส่วนของ mentum และที่ความเข้มข้นสูงสุดก็พบความผิดปกติในส่วนของ mandible ด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 3.30)

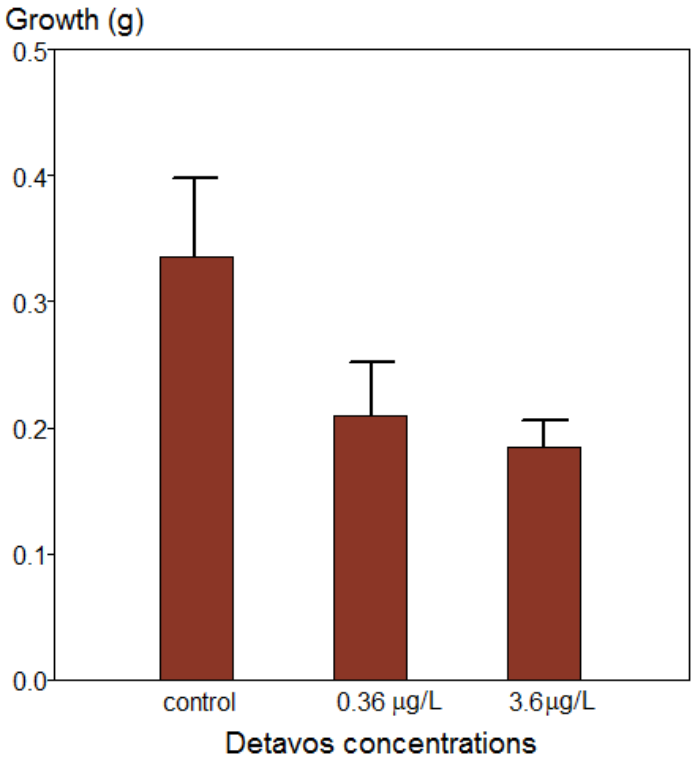


ภาพที่ 3.30 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ ($p<0.05$)

3.5.2.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอส (Detavos) ที่มีต่อหนอนแดงในน้ำและตะกอนดิน

จากการศึกษาความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสทั้งในสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1/100 (0.36 ไมโครกรัมต่อลิตร) และ 1/10 (3.6 ไมโครกรัมต่อลิตรL) ของค่า LC_{50} ที่เวลา 48 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังนี้

3.5.2.2.1 ผลการศึกษาด้านเจริญเติบโต (Growth) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของหนอนแดงที่ทดสอบด้วยเดตาวอสเป็นระยะเวลา 10 วันมีแนวโน้มของน้ำหนักแห้งลดลง ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 3.31)

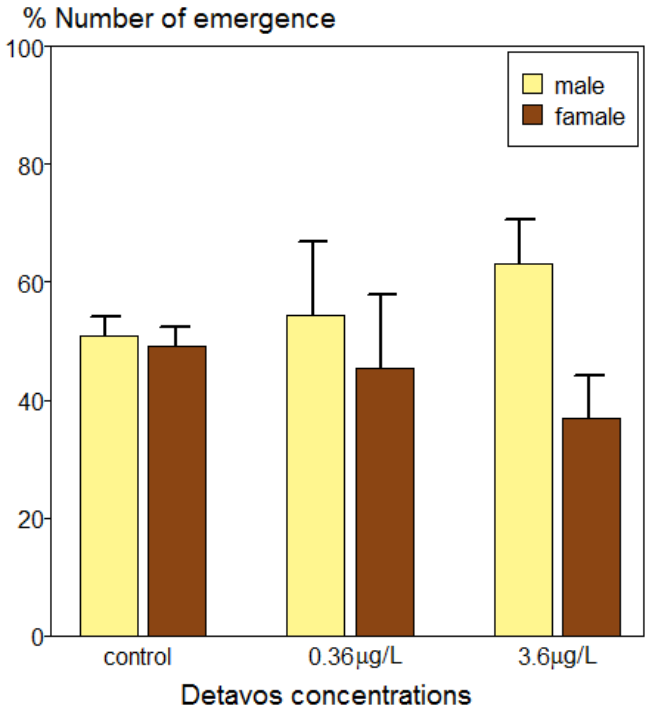


ภาพที่ 3.31 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน ($p>0.05$)

3.5.2.2.2 จำนวนตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย (Number of emergence)

จากระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ จำนวนของเพศผู้เพิ่มขึ้นแต่ในทางตรงข้ามจำนวนเพศเมียกลับลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มสูงขึ้น เมื่อคำนวณค่าทางสถิติพบว่าจำนวนเพศผู้และจำนวนเพศเมียในแต่ละระดับความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (ภาพที่ 3.32)

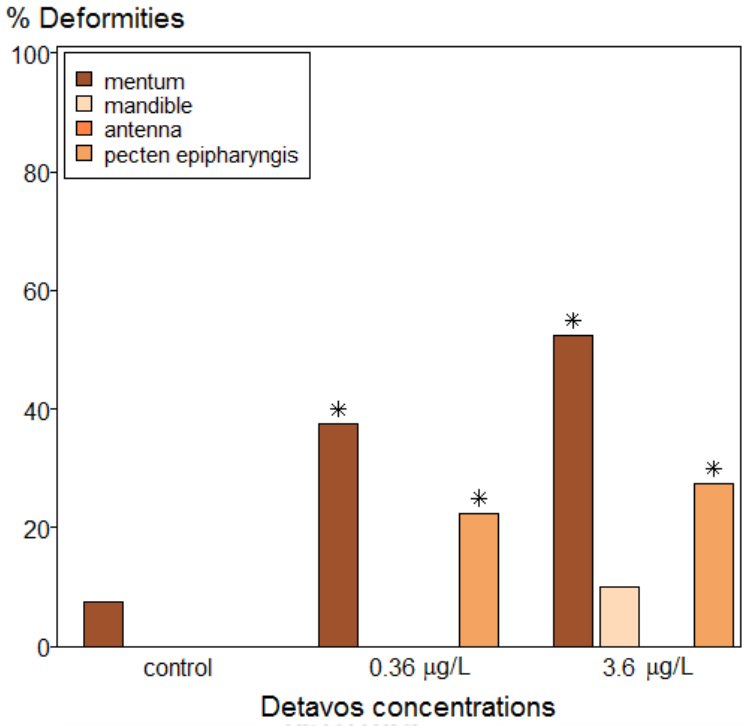
Prince of Songkla University Pattani Campus



ภาพที่ 3.32 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน ($p>0.05$)

3.5.2.2.3 การศึกษาความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดง (Mouthparts deformity)

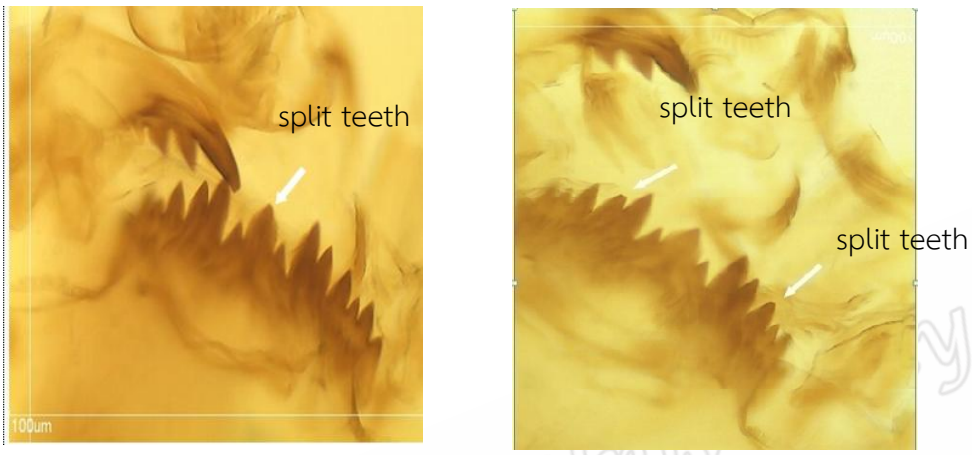
แต่ละระดับความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ ในกลุ่มควบคุมก็พบความผิดปกติเพียงเล็กน้อยในส่วนของ mentum เท่านั้น ที่ระดับความเข้มข้น 1/100 พบความผิดปกติของ mentum และ pecten epipharyngis และที่ความเข้มข้นสูงสุด (1/10) พบความผิดปกติในส่วนของ mentum, mandible และ pecten epipharyngis จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นจะพบความผิดปกติในส่วนของโครงสร้างเพิ่มมากขึ้น แต่โครงสร้างที่มีความผิดปกติแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ คือ โครงสร้างในส่วนของ mentum และ pecten epipharyngis (ภาพที่ 3.33)



ภาพที่ 3.33 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน ($p<0.05$)

Prince of Songkla University Pattani Campus

ความผิดปกติในโครงสร้างของ mentum ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินและเดตาวอส โดยส่วนใหญ่ชนิดความผิดปกติที่สามารถตรวจพบจะเป็นแบบ split teeth และ missing teeth ภาพที่ 3.34-3.35 และ ตารางที่ 3.5-3.6



ก. ข.

ภาพที่ 3.34 ก.-ข. ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ความเข้มข้น 1/100 ไมโครกรัมต่อลิตร

ก. ข.

ภาพที่ 3.35 ก.-ข. ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ความเข้มข้น 1/10 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 3.5 ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ทดสอบกับเดลตาเมทรินและเดตาวอส ในสภาวะน้ำเพียงอย่างเดียว

ชนิดความผิดปกติ	กลุ่มควบคุม		1/100 LC_{50}		1/10 LC_{50}	
	เดลตาเมทริน	เดตาวอส	เดลตาเมทริน	เดตาวอส	เดลตาเมทริน	เดตาวอส
extra teeth	0^{a}	0^{a}	0^{a}	1^{a}	1^{a}	0^{a}
missing teeth	0^{a}	0^{a}	$3^{a, b}$	4^{a}	5^{b}	12^{c}
split teeth	4^{a}	3^{a}	13^{d}	17^{d}	16^{d}	22^{d}

(a, b, c, d แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติ $p<0.05$ ในแนวตั้งและแนวนอน)

ตารางที่ 3.6 ชนิดความผิดปกติส่วนของ mentum ที่ทดสอบกับเดลตาเมทรินและเดตาวอส ในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน

ชนิดความผิดปกติ	กลุ่มควบคุม		1/100 LC_{50}		1/10 LC_{50}	
	เดลตาเมทริน	เดตาวอส	เดลตาเมทริน	เดตาวอส	เดลตาเมทริน	เดตาวอส
extra teeth	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	5^{b}	0^{a}
missing teeth	0^{a}	1^{a}	6^{b}	3^{a}	9^{b}	8^{b}
split teeth	3^{a}	3^{a}	34^{d}	14^{c}	36^{d}	18^{c}

(a, b, c, d แสดงค่าความแตกต่างทางสถิติ $p<0.05$ ในแนวตั้งและแนวนอน)

Prince of Songkla University Pattani Campus

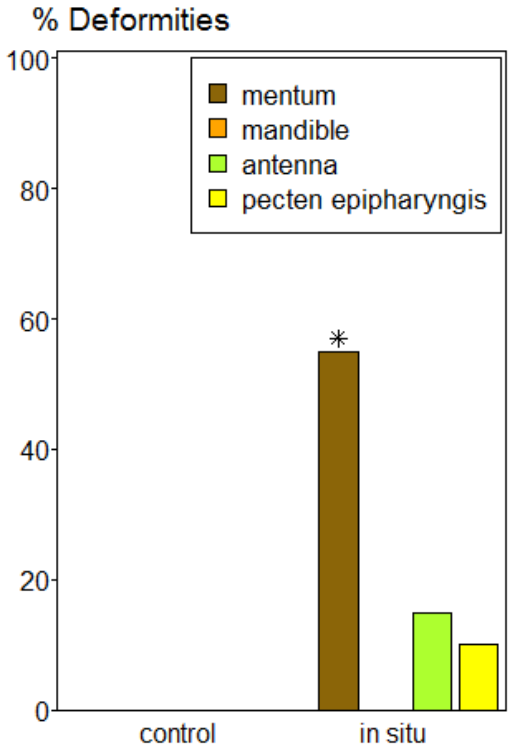
3.6 ผลการใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม (*In Situ* exposure)

3.6.1 จากการสัมภาษณ์เจ้าหน้าที่สาธารณสุขโรงพยาบาลโคกโพธิ์ เกี่ยวกับข้อมูลการใช้ยาฆ่าแมลงในกลุ่มไพรีทรอยด์ชนิดสังเคราะห์ พบว่ามีแนวโน้มของการใช้เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ในพื้นที่ของทางอำเภอโคกโพธิ์ จังหวัดปัตตานี เนื่องจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคไข้เลือดออกและโรคชิกุนคุนยาเกิดขึ้นเป็นประจำทุกปี ทางหน่วยงานของสาธารณสุขก็ได้มีแนวทางการป้องกัน โดยการใช้สารที่มีชื่อว่า เดลการ์ด 50® และ เดลต้า 100® ซึ่งเป็นสารที่มีส่วนผสมของเดลตาเมทรินอยู่ นำมาใช้ในการกำจัดตัวเต็มวัยของยุงโดยการพ่นแบบหมอกควัน (ภาพที่ 3.36) และหากพบสถานการณ์การแพร่ระบาดของไข้เลือดออกในผู้ป่วย 1 ราย ก็จะมีการฉีดพ่นกำจัดยุงจำนวน 3 ครั้ง ในพื้นที่ที่มีการระบาด และพบว่าในพื้นที่ของอำเภอโคกโพธิ์ มีสถิติของผู้ป่วยของโรคไข้เลือดออกในแต่ละปีมีมากกว่า 100 ราย ดังนั้นปริมาณการนำเดลตาเมทรินมาใช้ในการฉีดพ่นก็มีปริมาณมากในทุกปี

ก. ข.

ภาพที่ 3.36 ก.-ข. การใช้สารพ่นกำจัดยุงลายที่มีส่วนผสมของเดลตาเมทรินในพื้นที่ตำบลทรายขาว

3.6.2 ผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพของแหล่งน้ำธรรมชาติ ที่ตรวจวัดได้ คืออุณหภูมิของน้ำในเดือนพฤษภาคมอยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส และเดือนมิถุนายนอยู่ในช่วง 27-28 องศาเซลเซียส ค่า pH 6-7 และความเร็วของกระแสน้ำ คือ 0.053-0.076 เมตรต่อวินาที ลักษณะโดยทั่วไปของแหล่งน้ำในตำแหน่ง Reference site น้ำค่อนข้างใสและมีลักษณะเป็นกรวดทราย ส่วนตำแหน่งของ Treatment site น้ำเป็นสีเหลืองอ่อนและมีตะกอนลอยขึ้นมาที่ผิวน้ำ เมื่อทดสอบเป็นระยะเวลา 7 วัน และศึกษาความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดงหลังจากที่ให้สัมผัสกับตะกอนดินในแหล่งน้ำธรรมชาติ พบว่า โครงสร้างที่พบลักษณะความผิดปกติที่ชัดเจนและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) คือ ส่วนของ mentum ส่วนโครงสร้างอื่นก็พบความผิดปกติเพียงเล็กน้อยและไม่พบความผิดปกติของรยางค์ปากในตำแหน่งของ Reference site (ภาพที่ 3.37)



ภาพที่ 3.37 ความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากจากการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อม

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 4

การอภิปรายผล

4.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง

ความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อตัวอ่อนของหนอนแดง ระยะที่ 4 ทดสอบในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน เมื่อนำการตายสะสมมาคำนวณหาค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ให้ค่า 3.19$\pm$0.53 และ 13.74$\pm$ 3.92 ไมโครกรัมต่อลิตร และ 16.38$\pm$3.84 และ 36.86$\pm$1.54 ไมโครกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Akerblom *et al*. (2008) ที่ทดสอบผลของเดลตาเมทรินต่อ *C. riparius* (Meigen) นอกจากนี้ ยังมีรายงานการศึกษาความเป็นพิษของเดลตาเมทรินกับสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดินชนิดอื่น ๆ เช่น *Gammarus fossarum*, *G. pulex* (Adam *et al*., 2010), *Ceriodaphnia dubia* (Shen *et al*., 2012) freshwater mussel (Koprucu and Seker., 2008) หากนำมาจัดลำดับความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทริน โดยดูจากค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง (ตารางที่ 4.1) สามารถจัดลำดับจากความเป็นพิษมากไปน้อยได้ดังนี้ คือ *G. fossarum* > *G. pulex* > *Ceriodaphnia dubia*> *C. calipterus* (Keiffer) > freshwater mussel นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความเป็นพิษของสารในกลุ่มไพรีทรอยด์ชนิดอื่น เช่น ไซเปอร์เมทริน โดยทดสอบกับ *Ceriodaphnia dubia* (Shen *et al*., 2012) และ *Hyalella curvispina* (Mugni *et al*., 2013) ซึ่งให้ค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง เท่ากับ 0.06 และ 0.006 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบความเป็นพิษของกลุ่มของสารเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อสัตว์น้ำจืดในระยะเอ็มบริโอปลาม้าลาย ซึ่ง Binnima and Karntanut (2014) รายงานค่า LC_{50} ที่ 96 ชั่วโมงเท่ากับ 26.26 และ 22.87 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งแนวโน้มมีความเป็นพิษน้อยกว่าหนอนแดง

หากเปรียบเทียบผลของการทดสอบในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว และสภาวะมีทั้งน้ำและตะกอนดิน พบว่า เดลตาเมทรินและเดตาวอสในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว มีความเป็นพิษมากกว่าสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน อาจเนื่องมาจากคุณสมบัติของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่สามารถยึดเกาะกับตะกอนได้เป็นอย่างดี จึงทำให้ตัวสารถูกเก็บสะสมไว้ในตะกอนดิน (Di Veroli *et al*., 2012) มากกว่าที่จะละลายในน้ำ

ตารางที่ 4.1 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่ทดสอบกับสิ่งมีชีวิตหน้าดินชนิดต่าง ๆ

สารที่ใช้ทดสอบ	สัตว์ทดลอง	ค่า LC_{50} 48h	อ้างอิง
เดลตาเมทริน	chironomid larvae	16 pg/L	Akerblom *et al*. (2008)
เดลตาเมทริน	*Gammarus fossarum*	4.0 ng/L (48h)	Adam *et al*. (2010)
		33.2 ng/L (96h)	
เดลตาเมทริน	*Gammarus pulex*	5.7 ng/L (48h)	Adam *et al*. (2010)
เดลตาเมทริน	*Ceriodaphnia dubia*	0.23µg/L (48h)	Shen *et al*. (2012)
เดลตาเมทริน	*Chironomus*	3.19 µg/L (48h) *	ผลการศึกษาครั้งนี้
	calipterus (Keiffer)	16.38 µg/L (48h)**	
เดตาวอส	*Chironomus*	13.74 µg/L (48h) *	ผลการศึกษาครั้งนี้
	calipterus (Keiffer)	36.86 µg/L (48h)**	
เดลตาเมทริน	*Unio elongatulus*	10.1 mg/L (1h)	Koprucu and Seker (2008)
	eucirrus	8.99 mg/L (24h)	
		8.09 mg/L (48h)	
		7.30 mg/L (72h)	
เดลตาเมทริน	*Cloeon dipterum*	< 0.015 µg/L (96h)	Beketov *et al*. (2004)
	Caenis miliaria		
	Lestes sponsa		
	Cordulia aenea		
เดลตาเมทริน	*Daphnia magna*	0.03 µg/L (96h)	Beketov *et al*. (2004)
ไซเปอร์เมทริน	*Ceriodaphnia dubia*	0.06 µg/L (48h)	Shen *et al*. (2012)
ไซเปอร์เมทริน	*Hyalella curvispina*	0.006 µg/L (48h)	Mugni *et al*. (2013)

* หมายถึง สภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว ** หมายถึง สภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน

Prince of Songkla University Pattani Campus

4.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง

ความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่ทำการทดสอบกับตัวอ่อนของหนอนแดงระยะที่ 1 โดยให้สัมผัสสารต่อเนื่องกันเป็นระยะเวลา 10 วัน ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 1/100 และ 1/10 ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง ทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน

การเจริญเติบโตของตัวอ่อนหนอนแดงเมื่อได้รับสารในระยะเวลา 10 วัน มีผลต่อน้ำหนักแห้งของตัวอ่อนหนอนแดงระยะที่ 4 โดยพบว่าน้ำหนักแห้งของตัวอ่อนหนอนแดงในแต่ละความเข้มข้น ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีแนวโน้มของน้ำหนักแห้งลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gowdkoop *et al*. (2010) ที่ทดสอบกับสารไซเปอร์เมทรินที่มีต่อการเจริญเติบโตของหนอนแดงชนิด *C. riparius* (Meigen) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาความเป็นพิษของเดลตาเมทรินและไซเปอร์เมทรินที่มีต่อ *Ceriodaphnia dubia* พบว่าอัตราการเจริญเติบโตลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น (Shen *et al*., 2012)

การพัฒนาจากตัวอ่อนระยะที่ 4 เป็นตัวเต็มวัยของเพศผู้เพศเมียของหนอนแดงนั้น จากการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังพบว่าจำนวนตัวของเพศผู้และเพศเมียในแต่ละระดับความเข้มข้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่แนวโน้มของจำนวนเพศผู้และเพศเมียลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดสอบเพิ่มขึ้น

ความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากของหนอนแดงหลังจากได้รับสารเดลตาเมทรินและเดตาวอส ทั้งสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน ส่งผลให้เกิดความผิดปกติในโครงสร้างของ mentum แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติของ mentum ในตัวอ่อนของหนอนแดงระยะที่ 4 ที่ทดสอบกับสารทั้งในกลุ่ม endocrine disruptor (Meregalli and Ollevier, 2001; Watts *et al*., 2003; Kwak and Lee, 2005) กลุ่มของโลหะหนัก (Di Veroli *et al*., 2001; Matinez *et al*., 2001) และกลุ่มของยากำจัดวัชพืช (Nazarova *et al*., 2004; Park *et al*., 2010) พบว่าความถี่ของความผิดปกติใน mentum มีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการทดสอบเพิ่มขึ้น

เมื่อพิจารณาถึงรายละเอียดชนิดของความผิดปกติในส่วนของ mentum พบความผิดปกติชนิด split teeth และ missing teeth ซึ่งแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ระดับของความผิดปกติของ mentum เมื่อสัมผัสที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า (1/100 เท่าของ LC_{50}) มักจะพบความผิดปกติชนิด split teeth เป็นส่วนใหญ่ แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นคือ (1/10 เท่าของ LC_{50}) พบความถี่ของความผิดปกติมากขึ้นทั้งชนิด split teeth และ missing teeth ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาโดย Park and Kwak (2008) ซึ่งทดสอบในสารกำจัดวัชพืช ในขณะที่ Burt *et al*. (2003) และ Di Veroli *et al*. (2008) ศึกษาตะกอนที่ปนเปื้อนในแหล่งน้ำ นอกจากความผิดปกติในส่วนของ mentum แล้ว การศึกษาครั้งนี้ยังพบความผิดปกติของรยางค์ปากในส่วนของ pecten epipharyngis ที่ทดสอบในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ด้วยเช่นกันส่วนโครงสร้างของ mandible และ antenna พบความผิดปกติเพียงเล็กน้อยและไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม

จากผลการทดลองความผิดปกติที่เกิดกับรยางค์ปากมักจะแสดงให้เห็นได้ชัดเจนในส่วนของ mentum ซึ่งอาจจะเป็นเพราะ mentum เป็นโครงสร้างที่มีตั้งแต่ตัวอ่อนในระยะที่ 1 จึงมีโอกาสในการสัมผัสสารนานกว่า เลยทำให้แสดงความผิดปกติให้เห็นได้ชัดเจนกว่าโครงสร้างอื่น ๆ ที่ถูกพัฒนาขึ้นทีหลังในตัวอ่อนระยะถัดไป (Rebechi *et al*., 2012; Richadi *et al*., 2013) นอกจากนี้หากพิจารณาถึงสภาวะที่ใช้ในการทดสอบจะเห็นว่า ในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดินส่งผลให้เกิดความผิดปกติสูงกว่าในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว เพราะวงชีวิตส่วนใหญ่ของหนอนแดง ตั้งแต่ตัวอ่อนระยะที่ 2 จะนำเอาตะกอนดินมาใช้ในการสร้างปลอกห่อหุ้มตัวเพื่อป้องกันอันตรายที่จะเกิดระหว่างการลอกคราบและจะอาศัยอยู่ในปลอกตลอดเวลา จนถึงตัวอ่อนระยะที่ 4 ดังนั้นก็มีโอกาสในการสัมผัสสารที่สะสมในตะกอนอยู่ตลอดเวลา ด้วยเหตุนี้การทดสอบทั้งในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดินจึงส่งผลต่อความผิดปกติสูงกว่าในสภาวะน้ำเพียงอย่างเดียว ความผิดปกติที่เกิดขึ้นก็เป็นผลมาจากกลุ่มเซลล์ประสาทที่สามารถสร้างฮอร์โมนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และกิจกรรมต่างๆของพวก arthropod ถูกรบกวนจึงทำให้กลุ่มเซลล์ประสาทที่มีหน้าที่ในการสร้าง molting hormone (ecdysone) และ juvenile hormone ไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ ส่งผลต่อกระบวนการลอกคราบและการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอ่อน จึงทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น (Vermeulen *et al*., 2000; Meregalli and Ollevier, 2001)

4.3 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม (*In Situ* exposure)

จากผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการจะเห็นได้ว่าเกณฑ์ที่เหมาะสมในการทดสอบความเป็นพิษน้อย ๆ ในระยะเวลานานของสารพิษที่มีต่อหนอนแดงมีหลายลักษณะ กล่าวคือ การเจริญเติบโต การพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยและ ความผิดปกติของรยางค์ปากจึงนำไปสู่การทดสอบในแหล่งน้ำตามธรรมชาติ เพื่อที่จะใช้เป็นการยืนยันว่าเกณฑ์ที่เลือกใช้มีความเหมาะสม ทั้งความไวในการตอบสนองและการแสดงออกถึงความผิดปกติได้ชัดเจน การประเมินความเป็นพิษของสารที่มีต่อหนอนแดง โดยนำตัวอ่อนของหนอนแดงในระยะที่ 2 ไปทดสอบในสิ่งแวดล้อมในระยะเวลา 7 วัน พบว่า ผลการทดสอบสามารถยืนยันว่าความผิดปกติของรยางค์ปากโดยเฉพาะในส่วนของ mentum มีความเหมาะสมมากกว่าเกณฑ์อื่น ๆ โดยพบความผิดปกติของ mentum ทั้งชนิดและความถี่ เมื่อหนอนแดงตอบสนองต่อสารปนเปื้อนในแหล่งน้ำ แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งมีรายงานการใช้รยางค์ปากเป็นเกณฑ์ เพื่อทดสอบความเป็นพิษของสารในกลุ่มไพรีทรอยด์และสารเคมีอื่น ๆ ดังตารางที่ 4.2 และโครงสร้างส่วนของรยางค์ปากที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการประเมินความเป็นพิษ คือ mentum (Merigalli *et al*., 2000; Odume and Muller, 2011) เพราะสามารถเห็นความผิดปกติได้ง่ายและค่อนข้างที่จะชัดเจน

ตารางที่ 4.2 โครงสร้างในส่วนของรยางค์ปากที่ใช้ในการประเมินความเป็นพิษของสารในสิ่งแวดล้อม

สิ่งมีชีวิต	สารที่ใช้ในการทดสอบ	โครงสร้างที่ใช้ประเมินความผิดปกติ	อ้างอิง
Chironomus riparius	4-n-nonylphenol	mentum	Meregalli and Ollevier (2001)
Chironomus riparius	17-ethynylestradiol	mentum mandible pecten	Meregalli and Ollevier (2001)
Larval chironomid	anthropogenic stress	mentum	Burt *et al*. (2003)
Chironomus plumosus	Tebufennozide	mentum	Kwak and Lee (2005)
Chironomus riparius	Uranium	mentum	Dias *et al*. (2008)
Chironomus riparius	di(2-ethylhexyl) phthalate	mentum	Park and Kwak (2008)
Chironomus spp.	Anthropogenic and Environmental stress	mentum mandible antennae pecten epipharyngis	Al-Shami *et al*. (2010)
Chironomidae	Anthropogenic impacts	mentum	Odume *et al*. (2012)

Prince of Songkla University Pattani Campus

ตารางที่ 4.2 โครงสร้างในส่วนของรยางค์ปากที่ใช้ในการประเมินความเป็นพิษของสารในสิ่งแวดล้อม (ต่อ)

สิ่งมีชีวิต	สารที่ใช้ในการทดสอบ	โครงสร้างที่ใช้ประเมินความผิดปกติ	อ้างอิง
Chironomidae: Diptera	The heavily polluted Buffalo River	mentum	Diggins and Stewart (1993)
Chironomus riparius	-17α-ethinylestradiol - bisphenol A	mentum mandibles pecten epipharyngis	Watts *et al*. (2003)
Chironomus riparius	herbicide 2,4-D	mentum	Park *et al*. (2010)

ถึงแม้มีรายงานว่าสารในกลุ่มไพรีทรอยด์ มีความเป็นพิษต่ำหรือไม่ส่งผลกับมนุษย์และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ แต่ก็ไม่ได้หมายความว่าปลอดภัย และสารกลุ่มนี้ ได้แก่ เดลตาเมทริน ซึ่งมีความเป็นพิษรุนแรงต่อปลาและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังหน้าดิน ซึ่งหนอนแดงเป็นสัตว์ที่พบได้ในแหล่งน้ำหากมีการใช้โดยไม่มีการควบคุมหรือตระหนักถึงผลกระทบของสารตกค้างที่อาจจะเกิดขึ้นก็อาจจะส่งผลเสียต่อสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ที่อาศัยอยู่ในสภาพแวดล้อมอย่างแน่นอน

Prince of Songkla University Pattani Campus

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงในแหล่งน้ำเป็นปัญหาสำคัญควรได้รับการแก้ไข เนื่องจากส่งผลกระทบทั้งทางด้านสุขภาพของมนุษย์ สิ่งแวดล้อม เศรษฐกิจ และสังคม การศึกษาครั้งนี้ใช้หนอนแดงทดสอบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินและเดตาวอส ทั้งนี้เมื่อทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน (4 วัน) หนอนแดงตอบสนองต่อสารทั้งสองชนิดในช่วงกว้างที่ระดับความเข้มข้น 1-65 ไมโครกรัมต่อลิตร และเดลตาเมทรินมีความเป็นพิษต่อหนอนแดงมากกว่าเดตาวอส เมื่อให้หนอนแดงสัมผัสสารพิษทั้งสองสภาวะเปรียบเทียบกัน พบว่าสภาวะที่ไม่มีตะกอนดินทำให้สารทั้งสองชนิดมีความเป็นพิษต่อหนอนแดงมากกว่า ค่าความเป็นพิษของเดลตาเมทริน LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง มีค่า 3.19 และ 16.38 ไมโครกรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีน้ำอย่างเดียว และสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดินตามลำดับ และเมื่อเทียบกับสัตว์หน้าดินชนิดอื่น หนอนแดงมีความทนทานต่อความเป็นพิษของเดลตาเมทรินได้มากกว่า *Gammarus* และ *Ceriodaphnia* นอกจากนี้เมื่อทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังที่ระดับความเข้มข้นน้อย ๆ (1/10 และ 1/100 ของค่า LC_{50} ที่ 48 ชั่วโมง) แต่เพิ่มระยะเวลาสัมผัสเดลตาเมทรินและเดตาวอส (10 วัน) ทั้งในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียวและสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน มีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยของหนอนแดงอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในขณะที่ความผิดปกติของโครงสร้างรยางค์ปากส่วน mentum และชนิดความผิดปกติของ mentum (split และ missing teeth) เป็นเกณฑ์ที่บ่งชี้ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินได้ชัดเจนกว่าและมีความถี่ของความผิดปกติมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งสองสาร อย่างไรก็ตามหนอนแดงที่สัมผัสสารในสภาวะที่มีตะกอนดินจะมีความผิดปกติของ mentum และ pecten epipharyngis มากกว่าอีกสภาวะหนึ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$) นอกจากนี้เมื่อทดสอบในแหล่งน้ำธรรมชาติ (*in situ* exposure) โครงสร้างรยางค์ปากส่วน mentum ให้ผลการตอบสนองเช่นเดียวกับในห้องปฏิบัติการ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการเผยแพร่ข้อมูลให้กับชุมชนและหน่วยงานของสาธารณสุข ในการติดตามเฝ้าระวัง และควบคุมปริมาณการใช้สารในกลุ่มไพรีทรอยด์ เพื่อลดผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นกับสิ่งมีชีวิตที่มีความสำคัญในระบบห่วงโซ่อาหาร รวมทั้งผลกระทบที่อาจจะเกิดขึ้นในระยะยาวกับสุขภาพของผู้ที่ใช้สารกลุ่มนี้

สารบัญ

สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(10)
รายการภาพประกอบ	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
1.2.1 สารกำจัดแมลง	4
1.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ	5
1.2.3 การทดสอบความเป็นพิษของเดลตาเมทรินกับสิ่งมีชีวิต	8
1.2.4 ชีววิทยาของหนอนแดง	9
1.2.5 รูปร่างและโครงสร้างส่วนของรยางค์ปากในหนอนแดง	12
1.2.6 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม	16
1.3 วัตถุประสงค์การวิจัย	16
1.4 ขอบเขตการวิจัย	16
บทที่ 2 วิธีการวิจัย	18
2.1 ศึกษาวงชีวิต การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ	18
2.2 การเตรียมสารเคมี	18
2.3 การศึกษาขนาดและสัดส่วนอนุภาคของดินในแหล่งอาศัย	19
2.4. การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลัน	24
2.4.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง	24
2.4.2 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง	27
2.5 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง	27
2.5.1 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง	27
2.5.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสต่อหนอนแดง	29
2.6 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม	30
2.7 วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล	32
2.8 วัสดุและอุปกรณ์	33

Prince of Songkla University Pattani Campus

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 ผลการวิจัย 34
3.1 ผลการทดลอง ศึกษาวงชีวิต การเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนของหนอนแดง 34
3.2 ผลของการเตรียมสารเคมี 37
3.3 ผลการศึกษาขนาดและสัดส่วนอนุภาคของดินในแหล่งอาศัย 38
3.4 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันที่มีต่อหนอนแดง 38
3.4.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง 38
3.4.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง 43
3.5 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรัง 51
3.5.1 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินที่มีต่อหนอนแดง 51
3.5.2 ผลการทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง 57
3.6 ผลการใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม 65
บทที่ 4 การอภิปรายผล 67
4.1 การทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง 67
4.2 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังของเดลตาเมทรินและเดตาวอสที่มีต่อหนอนแดง 69
4.3 การใช้หนอนแดงเป็นตัวบ่งชี้การปนเปื้อนของสารพิษในสิ่งแวดล้อม 70
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 73
เอกสารอ้างอิง 74
ประวัติผู้เขียน 81

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการตาราง

ตารางที่ 1 โครงสร้างทางเคมีของไพรีทรอยด์ 7
ตารางที่ 2 รายละเอียดวัสดุและอุปกรณ์ 33
ตารางที่ 3.1 ขนาดอนุภาคของดิน 38
ตารางที่ 3.2 การคำนวณค่า Median lethal concentrationของเดลตาเมทริน 49
ตารางที่ 3.3 การคำนวณค่า Median lethal time ของเดลตาเมทริน 50
ตารางที่ 3.4 การคำนวณค่า Median lethal time ของเดตาวอส 50
ตารางที่ 3.5 ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ทดสอบกับเดลตาเมทรินและเดตาวอสในสภาวะน้ำเพียงอย่างเดียว 64
ตารางที่ 3.6 ชนิดความผิดปกติส่วนของ mentum ที่ทดสอบกับเดลตาเมทรินและเดตาวอสในสภาวะที่มีทั้งน้ำและตะกอนดิน 64
ตารางที่ 4.1 ค่าความเป็นพิษเฉียบพลันของเดลตาเมทรินที่ทดสอบกับสิ่งมีชีวิตหน้าดินชนิดต่าง ๆ 68
ตารางที่ 4.2 โครงสร้างในส่วนของรยางค์ปากที่ใช้ในการประเมินความเป็นพิษของสารในสิ่งแวดล้อม 71

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการภาพประกอบ

ภาพที่ 1.1 สูตรโครงสร้างของเดลตาเมทริน 6
ภาพที่ 1.2 วงชีวิตของหนอนแดง (ตัวอ่อนริ้นน้ำจืด) 10
ภาพที่ 1.3 โครงสร้างของตัวอ่อนหนอนแดง 12
ภาพที่ 1.4 โครงสร้างของส่วนหัว 13
ภาพที่ 1.5 ภาพเปรียบเทียบโครงสร้างของ mentum 14
ภาพที่ 1.6 โครงสร้างเปรียบเทียบของ mandible 14
ภาพที่ 1.7 โครงสร้างเปรียบเทียบของ pecten epipharyngis 15
ภาพที่ 1.8 โครงสร้างเปรียบเทียบของ antenna 15
ภาพที่ 2.1 การเพิ่มจำนวนหนอนแดงในห้องปฏิบัติการ 18
ภาพที่ 2.2 ภาพของเครื่องมือการร่อนแยกขนาดอนุภาคดิน 19
ภาพที่ 2.3 ตำแหน่งการเก็บตะกอนดินในเขตอุทยานแห่งชาติน้ำตกทรายขาว 20
ภาพที่ 2.4 ก-ง โครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดงในสภาพปกติ 22
ภาพที่ 2.5 ก-จ ความผิดปกติในโครงสร้างรยางค์ปากของหนอนแดง 23
ภาพที่ 2.6 ชุดการทดลองในสภาวะที่มีน้ำเพียงอย่างเดียว 25
ภาพที่ 2.7 ชุดการทดลองในสภาวะที่มีน้ำและตะกอนดิน 26
ภาพที่ 2.8 เครื่องเขย่าสารละลายและตะกอนดินให้ผสมเข้าด้วยกัน 26
ภาพที่ 2.9 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังในน้ำ 28
ภาพที่ 2.10 การทดสอบความเป็นพิษกึ่งเรื้อรังในน้ำและตะกอนดิน 29
ภาพที่ 2.11 ตำแหน่งที่ใช้ในการทดสอบในพื้นที่ตำบลทรายขาว 30
ภาพที่ 2.12 การออกแบบชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อม 31
ภาพที่ 2.13 ชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อมตำแหน่ง Reference site 31
ภาพที่ 2.14 ชุดการทดลองการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อมตำแหน่ง Treatment site 32
ภาพที่ 3.1 ระยะไข่ (eggs mass) 34
ภาพที่ 3.2 ระยะตัวอ่อน (ระยะที่ 1) 35
ภาพที่ 3.3 ระยะตัวอ่อน (ระยะที่ 3-4) 35
ภาพที่ 3.4 ระยะดักแด้ 36
ภาพที่ 3.5 ระยะตัวเต็มวัย 36
ภาพที่ 3.6 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้น ของเดลตาเมทรินในน้ำ ที่เวลาต่าง ๆ 39
ภาพที่ 3.7 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของ เดลตาเมทรินในน้ำ 39
ภาพที่ 3.8 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50} 40

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่ 3.9 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50} 40
ภาพที่ 3.10 การตายสะสมของหนอนแดงกับความเข้มข้นของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดิน 41
ภาพที่ 3.11 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของเดลตาเมทริน 42
ภาพที่ 3.12 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50} 42
ภาพที่ 3.13 ความเป็นพิษของเดลตาเมทรินในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50} 43
ภาพที่ 3.14 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นของเดตาวอสในน้ำที่เวลาต่าง ๆ 44
ภาพที่ 3.15 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาวอสในน้ำ 45
ภาพที่ 3.16 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50} 45
ภาพที่ 3.17 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50} 46
ภาพที่ 3.18 การตายสะสมของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดิน 47
ภาพที่ 3.19 การตายสะสมของหนอนแดงกับเวลา ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาวอสในน้ำ 48
ภาพที่ 3.20 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LC_{50} 48
ภาพที่ 3.21 ความเป็นพิษของเดตาวอสในน้ำและตะกอนดินที่สัมพันธ์กับค่า LT_{50} 49
ภาพที่ 3.22 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ 51
ภาพที่ 3.23 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทริน 52
ภาพที่ 3.24 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดงที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทริน 53
ภาพที่ 3.25 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินในน้ำ 54
ภาพที่ 3.26 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดลตาเมทรินใน 55
ภาพที่ 3.27 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเดลตาเมทรินใน 56
ภาพที่ 3.28 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ 57

Prince of Songkla University Pattani Campus

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่ 3.29 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ 58
ภาพที่ 3.30 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ 59
ภาพที่ 3.31 การเจริญเติบโตของหนอนแดงกับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำและ 60
ภาพที่ 3.32 ร้อยละของตัวเต็มวัยเพศผู้และเพศเมีย กับระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของเดตาวอสในน้ำ 61
ภาพที่ 3.33 ความผิดปกติในรยางค์ปากของหนอนแดง ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของเดตาวอสในน้ำ 62
ภาพที่ 3.34 ก.-ข. ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ความเข้มข้น 1/100 ไมโครกรัมต่อลิตร 63
ภาพที่ 3.35 ก.-ข. ชนิดความผิดปกติในส่วนของ mentum ที่ความเข้มข้น 1/10 ไมโครกรัมต่อลิตร 63
ภาพที่ 3.36 ก.-ข. การใช้สารพ่นกำจัดยุงลายที่มีส่วนผสมของเดลตาเมทริน ในพื้นที่ตำบลทรายขาว 65
ภาพที่ 3.37 ความผิดปกติในส่วนรยางค์ปากจากการปนเปื้อนสารพิษในสิ่งแวดล้อม 66

Prince of Songkla University Pattani Campus

เอกสารอ้างอิง

เฉลียว กุวังคะดิลก. 2537. วงจรชีวิตและวิธีเพาะเลี้ยงหนอนแดง. วารสารเกษตรศาสตร์ฉบับวิทยาศาสตร์. 28(4), 535-544.

Adam, O., Degiorgi, F., Crini, G. and Badot, P. 2010. High sensitivity of *Gammarus sp*. juveniles to deltamethrin: Outcomes for risk assessment. Ecotoxicology and Environmental Safety. 73, 1402-1407.

Akerblom, N., Arbjork, C., Hedlund, M. and Goedkoop, W. 2008. Deltamethrin toxicity to the midge *Chironomus riparius* Meigen-Effects of exposure scenario and sediment quality. Ecotoxicilogy and Environmental Safety. 70, 53-60.

Al-Shami, S., Rawi, C.S.M., Nor, S.A.M., Ahmad, A.H. and Ali, A. 2010. Morphological deformities in *Chironomus* spp. (Diptera: Chironomidae) larvae as a tool for impact assessment of anthropogenic and environmental stresses on three river in the Juru River System, Penang, Malaysia. Physiological Ecology. 39(1), 210-222.

Arambourou, H., Beisel, J., Branchu, P. and Debat, V. 2014. Exposure to sediments from polluted rivers has limited phenotypic effects on larvae and adults of *Chironomus riparius*. Science of The Total Environment. 484, 92-101.

Beketov, M.A. 2004. Comparative sensitivity to the insecticides Deltamethrin and esfenvalerate of some aquatic insect larvae (Ephemeroptera and Odonata) and *Daphnia magna*. Russian Journal of Ecology. 35, 200–204.

Binnima, N. and Karntanut, W. 2014. Toxicity of Deltamethrin on zebrafish (*Danio rerio*) embryo and skeletal deformities. The 40th Congress on Science and Technology of Thailand (STT40), Hotel Pullman Khon Kaen Raja Orchid, December 2-4, 2014, 1066-1071.

Brackenbury, J. 2000. Locomotory models in the larva and pupa of *Chironomus plumosus* (Diptera, Chironomidae). Journal of Insect Physiology. 46, 1517-1527.

Burt, J., Ciborowski, J. and Reynoldson, T. 2003. Baseline incidence of mouthpart deformities in Chironomidae (Diptera) from the Laurentian great lakes, Canada. Journal of Great Lakes Reseach. 29(1), 172-180.

Cengiz, E.I. and Unlu, E. 2006. Sublethal effects commercial Deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. Environmental Toxicology and Pharmacology. 21, 246-253.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Ceyhun, S.B., Şenturk, M., Erdogan, O. and Kufrevioglu, O.I. 2010. *In vitro* and *in vivo* effects of some pesticides on carbonic anhydrase enzyme from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) gills. Pesticide Biochemistry and Physiology. 97, 177–181.

Di Veroli, A., Goretti, G., Marcucci, C., Fabrizi, A., Scopetta, L. and Giovanni, M.V. 2008. Incidence of larvae mouthpart deformities in *Chironomus plumosus* (Diptera:Chironomidea) and *Rocladius sp*.(dipteral: Chironomidae) from Piediluco lake, Italy. Department of Cellular and Environmental Biology. 13, 13-20.

Di Verovi, A., Selvaggi, R., Pellegrino, R.M. and Goretti, E. 2010. Sediment toxicity and deformities of chironomid larvae in Lake Piediluco (Central Italy). Chemosphere. 79, 33-39.

Di Veroli, A., Goretti, E., Paumen, M.L., Kraak, M.H.S. and Admiraal, W. 2012. Induction of mouthpart deformities in chironomid larvae exposed to contaminated sediments. Environmental Pollution. 166, 212-217.

Dias, V., Vasseur, C. and Bonzom, V. 2008. Exposure of *Chironomus riparius* larvae to uranium: Effects on survival, development time, growth, and mouthpart deformities. Chemosphere. 71, 574-581

Diggins, T.P. and Stewart, K.M. 1993. Deformities of aquatic larval midge (Chironomidae: Diptera) in the sediments of the Buffalo River, New York. Journal of Great Lakes Research. 19(4), 648-659.

Ding, Y., Weston, D.P., You, J., Rothert, A.K. and Lydy, M.J. 2011. Toxicity of sediment-associated pesticides to *Chironomus dilutus* and *Hyalella azteca*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 61, 83-92.

El-Sayed, Y.S., Saad, T.T. and El-bahr, S.M. 2007. Acute intoxication of Deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. Environmental Toxicology and Pharmacology. 24, 212-217.

Goedkoop, W., Spann, N. and Akerblom, N. 2010. Sublethal and sex-specific cypermethrin effects in toxicity tests with the midge *Chironomus riparius* Meigen. Ecotoxicology. 19, 1201-1208.

Ha, M. and Choi, J. 2008a. Chemical-induced alteration of hemoglobin expression in the 4th instar larvae of *Chironomus tentans* Mg. (Diptera: Chironomidae). Environmental Toxicology and Pharmacology. 25(3), 393-398.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Ha, M. and Choi, J. 2008b. Effects of environmental contaminants on hemoglobin of larvae of aquatic midge, *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae): A potential biomarker for ecotoxicity monitoring. Chemosphere. 71(10), 1928-1936.

Karntanut, W., and Pascoe, D., 2007. A comparison of metal accumulation by the cnidarian *Hydra vulgaris* directly from water or through contaminated prey and effects upon reproduction and regeneration. Songklanakarin Journal of science and Technology. 29(3), 869-880.

Khosrovyan, A., DelValls, T.A. and Riba, I. 2014. Effect of simulated CO_2 escape from sediments on the development of midge *Chironomus riparius*. Aquatic Toxicology. 156, 230-239.

Koprucu, K. and Aydin, R. 2004. The toxic effects of pyrethroid Deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. Pesticide Biochemistry and Physiology. 80, 47-53. Envoronmental Safety. 78, 9-13.

Koprucu, K. and Seker, E. 2008. Acute toxicity of Deltamethrin for freshwater mussel, *Unio elongatulus eucirrus* Bourguignat. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 80, 1–4.

Kuvangkadilok, C. 1994. Laboratory study on the life cycle and breeding of the midges *Chironomus Plumatisetigerus* (Diptera: Chironomedae). Journal of The Science Society of Thailand. 20, 125-133.

Kwak, I. and Lee, W. 2005. Mouthpart deformities and developmental retardation exposure of *Chironomus plumosus* (Diptera: Chironomidae) to tebufennozide. Environmental Contamination and Toxicology.75, 859-865.

Lee, S. and Choi, J. 2009. Multi-level ecotoxicity assay on the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidea) exposed to octachlorostyrene. Environmental Toxicology and Pharmacology. 28(2), 269-274.

Lee, S.W., Park, K., Hong, J. and Choi, J. 2009. Ecotoxicological evaluation of octachlorostyrene in fourth instar larvae of *Chironomus riparius* (Diptera, chironomidae). Environmental Toxicology and Chemistry. 27, 1118–1127.

Lin, T., Wu, H. and Luo, L. 2014. The gene expression profile of *Monochamus alternatus* in response to Deltamethrin exposure. Journal of Asia-Pacific Entomology. 17(4), 893-899.

Lund, A.E. and Narahashi, T., 1983. Kinetics of sodium channel modification as the basis for the variation in the nerve membrane effects of pyrethroids and DDT analogs. Pesticide Biochemistry and Physiology. 20(2), 203-216.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Martinez, E.A., Moore, B.C., Schaumloffel, J. and Dadgupta, N. 2001. Induction of morphological deformities in *Chironomus tentans* exposed to zinc and lead spiked sediments. Environmental Toxicology and Chemistry.20, 2475-2481.

Merigalli, G., Vermeulen, A.C. and Ollevier, F. 2000. The use of chironomid deformation in an *in situ* test for sediment toxicity. Ecotoxicology and Environmental Safety. 47, 231-238.

Meregalli, G. and Ollevier, F. 2001. Exposure of *Chironomus riparius* larvae to 17α-ethynylestradiol: effects on survival and mouthpart deformities. The Science of the Total Environment. 269, 157-161.

Meregalli, G., Pluymers, L. and Ollevier, F. 2001. Induction of mouthpart deformities in *Chironomus riparius* larvae exposed to 4-*n*-nonylphenol. Environmental Pollution. 111, 241-246.

Michailova, P., Ilkova, J., Dean, A.P. and White, K.N. 2015. Cytogenetic index and functional genome alterations in *Chironomus piger* Strenzke (Diptera, Chironomidae) in the assessment of sediment pollution: a case study of Bulgarian and UK rivers. Ecotoxicology and Environmental Safety. 111, 220-227.

Mugni, H., Paracampo, A., Marrochi, N. and Bonetto, C. 2013. Acute toxicity of cypermethrin to the non target organism *Hyalella curvispina*. Environmental Toxicology and Pharmacology. 35, 88-92.

Muscatello, J. and Liber, K. 2010. Uranium uptake and depuration in the aquatic invertabrate *Chironomus tentans.* Environmental Pollution. 158(5), 1696-1701.

Nazarova, L.B., Riss, H.W., Kahlheber, A. and Werding, B. 2004. Some observations of buccal deformities in chironomid larvae (Diptera: Chirnomidae) from the Cienaga Grand De Santa Marta, Columbia. Caldasia. 26(1), 275-290.

Oberholster, P.J., Musee, N., Botha, A-M., Chelule, P.K., Focke, W.W. and Ashton, P.J. 2011. Assessment of the effect of nanometerials on sediment-dwelling invertebrate *Chironomus tentans* larvae. Ecotoxicology and Environmental safety. 74(3), 416-423.

Odume, O.N. and Muller, W.J. 2011. Diversity and structure of Chironomidae communities in relation to water quality differences in the Swartkops River, South Africa. Physics and Chemistry of the Earth. 3, 929-938.

Odume, O.N., Muller, W.J., Palmer, C.G. and Arimoro, F.O. 2012. Mentum deformities in Chironomidae communities as indicators of anthropogenic impacts in Swartkops River. Physics and Chemistry of the Earth. 50-52, 140–148.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Ozaez, I., Martinez-Guitarte, J.L., Morcillo, G. 2014. The UV filter benzophenone 3 (BP-3) activates hormonal genes mimicking the action of ecdysone and alters embryo development in the insect *Chironomus riparius* (Diptera). Environmental Pollution. 192, 19-26.

Pakvilai, N., Prapamontol, T., Thavornyutikarn, P., Mangklabruks, A., Chantara, S. and Santasup, C. 2012. Residues of synthetic pyrethroid pesticides in vegetables, fruit, sediment and water from an intensive agricultural area (Fang district, Chiang Mai, Thailand). Sustainability Today.167, 201.

Park, K. and Kwak, I. 2008. Characterization of heat shock protein 40 and 90 in *Chironomus Riparius* larvae: Effect of di (2-ethylhexyl) phthalate exposure on gene expressions and mouthpart deformities. Chemosphere. 74, 89-95.

Park, K., Park, J., Kim, J. and Kwak, I. 2010. Biological and molecular responses of *Chironomus riparius* (Diptera, Chironomidae) to herbicide 2,4-D (2,4 dichlorophenoxyacetic acid). Comparative Biochemistry and Physiology, Part C. 151, 439-446.

Park, K. and Kwak, I. 2014. The effect of temperature gradients on endocrine signaling and antioxidant gene expression during *Chironomus riparius* development. Science of The Total Environment. 470-471, 1003-1011.

Paumen, M.L., Borgman, E., Kraak, M.H.S., van Gestel, C.A.M. and Admiraal, W. 2008. Life cycle responses of the midge *Chironomus riparius* to polycyclic aromatic compound exposure. Environmental Pollution. 152, 225-232.

Pery, A.R.R., Mons, R., Flammarion, P. and Lagadic, J., 2003. A modeling approach to ling food availability, growth, emergence, and reproduction for the midge *Chironomus riparius*. Environmental Toxicology and Chemistry. 21, 2507-3513.

Pery, A.R., Mons, R. and Garric, J., 2005. Modelling of the life cycle of *Chironomus*species using an energy-base model. Chemosphere. 59, 247-253.

Praet, N.V., Jonge, M.D., Stoks, R. and Bervoets, L. 2014. Additive effects predator cues and dimethoate on different level of biological organisation in the non-biting midge*Chironomus riparius.* Aquatic Toxicology. 155, 236-243.

Rebechi, D., Antonio, M. and Silva, N. 2012. Setting the reference for the use of *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) as bioindicator: ontogenetic of larval head structure. Zoologia. 29(2), 167-171.

Richardi, V.C., Rebechi, D., Aranha, J.M.R. and Navarro-Silva, M.A. 2013. Determination of larvae instars in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures. Zoologia. 30(2), 211-216.

Sanchez, P., Alonso, C., Fernandez, C., Vega, M.M., Garcia, M.P. and Tarazona, J.V. 2005. Evaluation of multi-species test system for assessing acute and chronic toxicity of sediments and water to aquatic invertebrates-effect of pentachlorophenol on *Daphnia magna* and *Chirinomus prasinus*. Journal of Soils and Sediments. 5, 53-58.

Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to Deltamethrin in freshwater fish,*Channa punctatus* Bloch. Ecotoxicology and Environmental Safety. 56(2), 296-301.

Schaller, J. 2014. Bioturbation/bioirrigation by Chironomus plumosus as main factor controlling elemental remobilization from aquatic sediment. Chemosphere. 107, 336-343

Shen, M., Kumar, A., Ding, S. and Grocke, S. 2012. Comparative study on the toxicity of pyrethroids, α-cypermethrin and Deltamethrin to *Ceriodaphnia dubia*. Ecotoxicology and Environmental Safety. 78, 9-13.

Shukla, Y., Arora, A., Singh, A. 2001. Tumourigenic studies on deltamethrin in Swiss albino mice. Toxicology. 163, 1-9

Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J. Sargent, D., Stevens, J.T. and Weiner, M.L. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. Toxicology. 171, 3-59.

Solomon, K., Gidding, J. and Maund, S. 2001. Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids in aquatic ecosystems: distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data. Environmental Toxicology and Chemistry. 20, 652-9.

Stefani, F., Rusconi, M., Valsecchi, S. and Marziali, L. 2014. Evolutionary ecotoxicology of perfluoralkyl substances (PFASs) inferred from multigenerational exposure: A case study with *Chironomus riparius*. (Diptera, Chironomidae). Aquatic Toxicology. 156, 41-51.

Toumi, H., Boumaiza, M., Millet, M., Radetski, C.M., Felten, V., Fouque, C. and Ferard.J.F. 2013. Effects of Deltamethrin (pyrethroid insecticide) on growth, reproduction embryonic development and sex differentiation in two strains of *Daphnia magna*. Science of the Total Environment. 458-460, 47-53.

Toumi, H., Boumaiza, M., Immel, F., Sohm, B., Felten, V. and Ferard, J. 2014. Effect of Deltamethrin (pyrethroid insecticide) on two clones of *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera): a proteomic investigation. Aquatic Toxicology. 148, 40-47.

Prince of Songkla University Pattani Campus

Townsend, K.R., Pettigrove, V.J. and Hoffmann, A.A. 2012. Food limitation in *Chironomus tepperi* : Effect on survival, sex ratios and development across two generations. Ecotoxicology and Environmental Safety. 84, 1-8.

Vermenlen, A.C., Liberloo, G., Dumont, P., Ollevier, F. and Goddeeris, B. 2000. Exposure of *Chironomus riparius* larvae (diptera) to lead, mercury and β-sitosterol: effect on mouthpart deformation and moulting. Chemosphere. 41, 1581-1591

Viran, R., ErKoc, F.U., Polat, H. and Kocak, O. 2003. Investigatoin of acute toxicity of Deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicology and Environmental Safety. 55(1), 82-85.

Wang, F., Bu, Q., Xia, X. and Shen, M. 2011. Contrasting effects of black carbon amendments on PAH bioaccumulation by *Chironomus plumosus* larvae in two distinct sediments: role of water absorption and particle ingestion. Environmental Pollution. 159(7), 1905-1913.

Watts, M.M., Poscoe, D. and Carroll, K. 2003. Exposure to 17α-ethynylestradial and bisphenol A-effect on larval moulting and mouthpart structure of *Chironomus riparius.* Ecotoxicology and Environmental Safety. 54, 207-215.

Prince of Songkla University Pattani Campus

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ - สกุล นางสาวมันทนา โตะแบ
รหัสประจำตัวนักศึกษา 5420320503

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	**ชื่อสถาบัน**	**ปีที่สำเร็จการศึกษา**
วิทยาศาสตรบัณฑิต (ศึกษาศาสตร์)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2549

ทุนการศึกษา

- ทุนอุดหนุนการทำวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Toebae, M. and Karntanut, W. 2557. Toxicity of Deltamethrin on Development and Mouthpart Deformities of *Chironomus calipterus* (Keiffer). The 40th Congress on Science and Technology of Thailand (STT40), Hotel Pullman Khon Kaen Raja Orchid, December 2-4, 2014, 1072-1078.

Prince of Songkla University Pattani Campus